Université du Québec Institut national de la recherche scientifique Eau, Terre et Environnement

# Contrôle des éléments nutritifs dans le grand bassin marin de l'Aquarium du Québec

Par

Marie-Christine Simard B.Sc. microbiologie

#### Mémoire présenté

Pour l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.) en sciences de l'eau

Jury d'évaluation

Examinateur externe

Examinateur interne

Codirecteur de recherche

Codirecteur de recherche

Directeur de recherche

Serge Parent Biodôme de Montréal Hamel Benmoussa CRIQ Guy Mercier INRS-ETE Stéphane Masson Aquarium du Québec Jean-François Blais

**INRS-ETE** 

© DROITS RÉSERVÉS DE MARIE-CHRISTINE SIMARD, 2010

#### REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur de recherche Jean-François Blais non seulement pour m'avoir offert ce merveilleux projet de maîtrise mais également pour avoir été toujours présent durant ces dernières années. Je voudrais dire merci à mon co-directeur Stéphane Masson pour sa présence, son support moral et sa bonne humeur contagieuse. Merci également à M. André Roy et Mme Jill Marvin, ainsi que tous les employés de l'Aquarium du Québec pour m'avoir si bien accueillie dans votre belle équipe. De plus, j'aimerais remercier Guy Mercier, le personnel de l'INRS, en particulier Julie, Anissa et Sébastien, l'équipe d'assainissement et tous mes collègues. Merci à M. Serge Parent chercheur au Biodôme de Montréal et M Hamel Benmoussa, chercheur au CRIQ et professeur invité à l'INRS, pour avoir pris le temps de corriger mon mémoire. Finalement, un immense merci à mes parents sans qui tout cela n'aurait pas été possible et également à toute ma famille, amis et mon copain pour être toujours là pour me supporter.



### RÉSUMÉ

Le Grand Océan de l'Aquarium du Ouébec permet l'observation de milliers de spécimens de vertébrés et d'invertébrés dans un immense bassin de 350 m<sup>3</sup> d'eau marine à une salinité entre 28 et 30 ‰. Afin d'obtenir une eau de qualité, le bassin possède son propre système de traitement à circuit fermé récupérant ainsi la majorité de l'eau. Actuellement, un changement d'eau d'environ 10 m<sup>3</sup> aux deux semaines est nécessaire pour éviter l'accumulation de certains nutriments comme les nitrates et les phosphates. Par contre, cette action de nettoyage engendre des coûts élevés considérant que l'Aquarium du Québec produit sa propre eau marine. L'objectif de cette étude consistait à évaluer une filière de traitement pour l'élimination des nitrates et des phosphates en eau marine. La méthode la plus utilisée en aquariophilie est une méthode biologique, soit la dénitrification. La dénitrification hétérotrophe a déjà fait ses preuves dans le traitement des eaux, par contre, son opération difficile, sa maintenance rigoureuse et l'ajout d'une source de carbone organique, représentent des inconvénients notables. Afin de contourner ces problèmes, la présente étude a donc porté sur l'étude de la performance de la dénitrification autotrophe à base de soufre élémentaire. Effectivement, cette dernière nécessite un substrat oxydable inorganique, le soufre, qui peut également être utilisé sous forme solide et, ainsi, servir de support bactérien au système. Le principal désavantage de ce système résulte de la diminution de pH suite à l'oxydation du soufre en acide sulfurique, d'où l'utilité d'intégrer un système passif d'ajout de carbonates fait d'écailles d'huîtres concassées.

Les travaux ont été réalisés dans quatre biofiltres de laboratoire de 14 L de volume utile faits en plexiglas et recouverts de papier d'aluminium. Ces colonnes ont été remplies de soufre élémentaire et alimentées avec de l'effluent provenant du bassin Grand Océan. Quatre filtres en plexiglas de 1.3 L de volume utile remplis d'écailles d'huîtres concassées ont été utilisés comme

ν

source de carbonates et ce, pour augmenter l'alcalinité des eaux suite au traitement par dénitrification biologique. La performance des systèmes de dénitrification a été évaluée principalement sur la base de l'élimination des nitrates, mais plusieurs autres paramètres ont été suivis dont les nitrites, le pH, l'alcalinité, la dureté, les sulfates et le phosphore.

La biomasse dénitrifiante a d'abord été acclimatée en fiole conique pour permettre l'inoculation des biofiltres à base de soufre. Une fois la biomasse adaptée en mode discontinu dans le système, différentes configurations en mode continu et différents temps de rétention hydraulique ont été testés afin d'optimiser les conditions de traitement. Un rendement de dénitrification de 100% a été obtenu avec l'utilisation d'un temps de rétention hydraulique (TRH) de 16 h et 19 h et les colonnes d'écailles d'huîtres placées en aval de celles au soufre. Le pH diminue d'environ une unité et l'alcalinité d'environ 100 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, par contre, après le passage dans les colonnes d'écailles d'huîtres le pH et l'alcalinité reviennent pratiquement aux valeurs initiales.

D'un autre côté, la déphosphatation chimique et l'électrocoagulation ont été évaluées comme méthodes d'élimination du phosphore. Les deux méthodes ont montré des rendements élevés d'élimination des phosphates. Par contre, en électrocoagulation, les électrodes de fer laissent une coloration rouille et une quantité de fer résiduel élevée dans l'eau traitée même après filtration.

# TABLE DES MATIÈRES

<i>1</i> .	MIŞ	E EN CONTEXTE	3
1.	1	Aquarium du Québec	3
	1.1.1	Description	3
	1.1.2	Grand Océan	4
1.	2	Problématique des nitrates et des phosphates	9
	1.2.1	Azote	9
	1.2.2	Phosphore	12
1.	3	Objectifs et approche méthodologique	13
2.	REV	<b>UE DE LITTÉRATURE</b>	15
2.	1	Méthodes physico-chimiques de traitement des éléments nutritifs	15
	2.1.1	Enlèvement du phosphore	15
	2.1.2	Enlèvement de l'azote	23
	2.1.3	Enlèvement de l'azote et du phosphore de l'eau usée avec du bittern	25
2.	.2	Méthode biologique : Dénitrification	26
	2.2.1	Information générale	26
	2.2.2	Dénitrification hétérotrophe	
	2.2.3	Dénitrification autotrophe sur soufre	29
	2.2.4	Microbiologie de la dénitrification autotrophe sur soufre	
	2.2.5	Facteurs influençant la dénitrification autotrophe sur soufre	41
	2.2.6	Inconvénients de la dénitrification autotrophe sur soufre	47
	2.2.7	Ajout d'un substrat tampon	
	2.2.8	Bioréacteur de dénitrification autotrophe et réacteur au calcium	56
2.	.3	Filières de traitement utilisées dans les aquariums du monde	
	2.3.1	Biodôme de Montréal	
	2.3.2	Aquarium du New Jersey	60
	2.3.3	Living Seas, Walt Disney	62
	2.3.4	Aquarium de St-Malo	63
	2.3.5	Filtration sur lits d'algues	65
<i>3</i> .	MÉ	THODOLOGIE	67
3.	.1 ·	Biofiltres	67
	3.1.1	Colonnes de soufre	67
	312	Colonnes d'écailles d'huître	69

3.2	Caractérisation du système de traitement	70
3.3	Acclimatation des souches bactériennes à l'eau salée	71
3.4	Démarrage du système en mode discontinu	72
3.5	Système en mode continu	73
3.5.	1 Démarrage	
3.5.	2 Effet du temps de rétention hydraulique et colonnes d'écailles d'huître	
3.5.	3 Essais en série	
3.6	Essais de déphosphatation	75
3.6.	1 Spéciation du phosphore dans l'eau du Grand Océan	
3.6.	2 Précipitation chimique	
3.6.	3 Électrocoagulation	
3.7	Paramètres suivis	78
3.7.	1 pH et alcalinité	
3.7.	2 Potentiel d'oxydoréduction et oxygène dissous	
3.7	3 Sulfate	
3.7.	4 Dureté et calcium	
3.7.	5 Nutriments	
4. RÉ	SULTATS ET DISCUSSION	81
4.1	Caractérisation du système de traitement	81
4.2	Acclimatation de la microflore dénitrifiante	83
4.2.	1 Thiosulfate	
4.2.	2 Soufre granulaire	84
4.3	Opération du système en mode cuvée	86
4.3.	1 Effet de la lumière	
4.3	2 Démarrage des colonnes S1 et S4	
4.4	Opération du dénitratateur en mode continu	91
4.4	1 Démarrage à un TRH de 12 h avec colonnes d'écailles d'huîtres en amont	
4.4	2 Essai à un TRH de 19 h avec colonnes d'écailles d'huîtres en amont	
4.4	3 Opération avec colonnes d'écailles d'huîtres an aval	
4.4	4 Effet du temps de rétention hydraulique	
4.5	Déphosphatation	112
4.5	1 Phosphore dans le Grand Océan	
4.5	2 Coagulation chimique	
4.5	3 Électrocoagulation	
4.6	Paramètres de mise à l'échelle	116

	4.6.1	Système de dénitrification	116
	4.6.2	Électrocoagulation	
5.	CON	CLUSIONS ET RECOMMENDATIONS	
6.	BIBL	LIOGRAPHIE	

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Caractéristiques physico-chimiques de l'eau du Grand Océan à l'Aquarium du Québec	8
Tableau 2	Composition d'un biofilm sur la surface d'une particule de soufre selon l'analyse de l'ARN 16S	34
Tableau 3	Réactions biochimiques possibles des unités taxonomiques opérationnelles (UTOs)	36
Tableau 4	Distribution bactérienne dans le biofiltre	38
Tableau 5	Influence de la température sur la dénitrification sur soufre (Koenig et Liu, 2004)	42
Tableau 6	Effet de l'ajout de sels sur la dénitrification autotrophe à 25°C	44
Tableau 7	Constantes cinétiques de demi-ordre lors la dénitrification autotrophe sur soufre	51
Tableau 8	Paramètres cinétiques lors de la dénitrification autotrophe sur soufre	55
Tableau 9	Teneurs en impuretés dans le soufre élémentaire utilisé pour la dénitrification biologique	68
Tableau 10	Paramètres du système de filtration	
Tableau 11	Paramètres du système aux écailles d'huître	70
Tableau 12	Caractérisation du système de traitement du Grand Océan à l'Aquarium du Québec	83
Tableau 13	Enrichissement de la microflore autotrophe en eau salée avec thiosulfate à partir de cinq inoculums ([NO <sub>3</sub> -N] <sub>i</sub> = 277 mg L <sup>-1</sup> ; T°= 22°C; concentration exprimée en mg L <sup>-1</sup> )	85
Tableau 14	Enrichissement de la microflore autotrophe en eau salée avec 5 g de soufre granulaire à partir de cinq inoculums débuté le 02-fév-09 ([NO <sub>3</sub> -N] <sub>i</sub> = 277 mg $L^{-1}$ ; $T^{\circ}$ = 22°C; concentration exprimée en mg $L^{-1}$ )	85
Tableau 15	Concentrations en sulfate, dureté et phosphate lors de l'essai en cuvée sur l'effet de la lumière	88
Tableau 16	Concentrations en sulfate et en phosphate lors du démarrage du 26 mai 2009 des colonnes SI et S4	91
Tableau 17	Concentrations moyennes et écarts type de différents paramètres analysés à l'entrée (initiale) et à la sortie des colonnes d'écailles d'huîtres sur une période de 59 jours	93
Tableau 18	Concentrations moyennes et écarts type mesurées à l'entrée (initiale) et à la sortie des colonnes de soufre pour un TRH de 12 h sur une période de 59 jours	95
Tableau 19	Concentrations moyennes et écarts type de différents paramètres analysés à l'entrée (initiale) et à la sortie des colonnes d'écailles d'huîtres sur une période de 32 jours	96
Tableau 20	Concentrations moyennes mesurées et écarts type à l'entrée (initiale) et à la sortie des colonnes de soufre pour un TRH de 19 h sur une période de 32 jours	99
Tableau 21	Concentrations moyennes et écarts type des sulfates et des phosphates à l'entrée (initiale) et à la sortie des colonnes au soufre et au calcium pour un TRH de 19 h sur une période de 20 jours	102
Tableau 22	Concentrations moyennes et écarts type du calcium, de la dureté, des sulfates et des phosphates à l'entrée (initiale) et à la sortie des colonnes au soufre et au calcium pour des TRH de 8, 12, 16 et 19 h sur une période de 14 jours	105
Tableau 23	Concentrations moyennes et écarts type du calcium, de la dureté, des sulfates et des phosphates à l'entrée (initiale) et à la sortie des colonnes au soufre en série pour des TRH de 4, 8, 12 et 16 h et à la sortie de la colonne d'écailles d'huîtres en aval sur une période de 14 jours	108

xi

Tableau 24

Tableau 25

## LISTE DES FIGURES

Figure 1	Schéma du système de traitement du Bassin « Grand Océan » à l'Aquarium du Québec	6
Figure 2	Relation en le pH et l'ammoniaque (Tirée de www.scientillula.net)	10
Figure 3	Organisation des ions (+ et -) autour d'une particule colloïdale (Poulin, 2005)	17
Figure 4	Arrangement des électrodes dans un réacteur d'électrocoagulation : (a) la connexion monopolaire. (b) la connexion bipolaire (Chen, 2004)	22
Figure 5	Processus de dénitrification (Zumft, 1997)	27
Figure 6	Cycle de vie d'un biofilm (Tirée de http://biofilmbook.hypertextbookshop.com)	31
Figure 7	Biofilm présent à la surface d'une particule de soufre. A) tiré de Koeing et al. (2005), B) tiré de Blais et al. (1994)	33
Figure 8	Arbre phylogénétique des microorganismes d'un biofilm prélevé sur une particule de soufre; ( ) Séquences retrouvées dans le biofilm (Koeing et al., 2005)	35
Figure 9	Relations suggérées pour les UTOs de l'étude et leur possible distribution dans le biofilm sur une particule de soufre (Koeing et al., 2005)	37
Figure 10	Schéma des interactions chimiques lors du processus de dénitrification autotrophe (Koenig et Liu, 1997)	40
Figure 11	Équation de dénitrification autotrophe avec du thiosulfate comme source de soufre	43
Figure 12	Schéma du système de traitement inventé par Olivier (2007). 1, filtration; 2, chambre aérobie; 3, chambre anaérobie avec soufre; 4 et 5, réacteurs au calcium; 6, chambre de dégazage; 7, chambre au charbon; 8, d'une tour d'oxygénation; 9, puisard; 10,	
	aquarium	56
Figure 13	Système de traitement du Saint-Laurent marin. IP, Bassin d'isolation; MP, Bassin de la baie, Bassin médical, Bassin de la côte rocheuse; OT, tour d'ozone; RSF, Filtre au sable rapide; TF, Lits filtrants. Flèche blanche: circulation normal de l'eau; Flèche noire: chemin pour le nettoyage des filtres et changement d'eau partiel (Trépanier et al., 2002)	59
Figure 14	Schéma de système de traitement de l'aquarium du New Jersey. Flèches pleines: circulation normale; Flèches pointillées: injection du méthanol	61
Figure 15	Schéma du système de traitement de l'aquarium « The Leaving Seas » à Walt Disney	63
Figure 16	Bioréacteurs pilotes de dénitrification opérés à l'Aquarium du Québec	68
Figure 17	Soufre solide dans un bioréacteur de dénitrification	69
Figure 18	Écailles d'huîtres dans une colonne au calcium	70
Figure 19	Opération en mode discontinu des deux premières colonnes de dénitrification	72
Figure 20	Système en mode continu parallèle: Exemple des colonnes S1 et S4. 1, Bac de pompage. 2, Pompes péristaltiques. 3, Colonne d'écailles d'huîtres. 4, Colonne au soufre	74
Figure 21	Schéma de principe de la cellule d'électrocoagulation de 2 L branchée en mode monopolaire comprenant 4 anodes et 4 cathodes en alternance	77
Figure 22	Évolution des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c) et de l'alcalinité (d) de deux colonnes opérées en mode cuvée et exposées (S3) ou non (S2) à la lumière sur une période d'un mois	87
Figure 23	Évolution sur un mois des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c) et de l'alcalinité (d) lors du démarrage des deux autres colonnes (SI et S4) de dénitrification en mode cuvée	90

Figure 24	Évolution des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c) et de l'alcalinité (d) pour les colonnes S1, S2, S3 et S4 en mode continu à un TRH de 12 h avec des colonnes d'écailles d'huîtres en amont	94
Figure 25	Évolution des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c) et de l'alcalinité (d) pour les colonnes S1, S2, S3 et S4 en mode continu à un TRH de 19 h avec des colonnes d'écailles d'huîtres en amont	98
Figure 26	Évolution des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c), de l'alcalinité (d), du calcium (e) et de la dureté (f) à la sortie des colonnes SI et S2 et des colonnes H1 et H2 placées en aval en mode continu à un TRH de 19 h	101
Figure 27	Évolution des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c) et de l'alcalinité (d) à des temps de rétention de 8 h, 12 h, 16 h et 19 h récoltés à la sortie des colonnes au soufre en mode continu parallèle avec des colonnes d'écailles d'huîtres en aval	103
Figure 28	Évolution des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c) et de l'alcalinité (d), à des temps de rétention de 4, 8, 12 et 16 h, après les colonnes au soufre en mode continu en série avec des colonnes d'écailles d'huîtres en aval	107
Figure 29	Évolution des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c) et de l'alcalinité (d) à des temps de rétention de 4, 8, 12 et 16 h après les colonnes au soufre en mode continu en série avec des colonnes d'écailles d'huîtres au milieu et en aval sur une période de 21 jours	110
Figure 30	Concentrations de phosphore en solution et pH après coagulation avec des solutions de sulfate ferrique et de sulfate d'aluminium à différents rapports éq/mol-P	113
Figure 31	Concentration de phosphore dans l'eau du Grand Océan après un traitement d'électrocoagulation avec des électrodes de fer (a) et d'aluminium (b)	114
Figure 32	Apparence de l'eau après traitement d'électrocoagulation, décantation et filtration avec les électrodes d'aluminium (a) et de fer (b)	116

# LISTE DES ÉQUATIONS

Équation 1	$NH_4^+ + 3/2 O_2> 2 H^- + H_2O + NO_2^-$	11
Équation 2	$NO_2^- + 1/2 O_2> NO_3^-$	11
Équation 3	$Fe^{3+} + H_n PO_4^{n-3} \rightarrow FePO_4 + n H^+$	
Équation 4	$Al^{3+} + H_n PO_4^{n-3} \rightarrow AlPO_4 + n H^+.$	
Équation 5	$M^{3^+} + H_n PO_4^{n-3} \to MPO_4 + n H^+.$	
Équation 6	$Fe(OH)_2 + Fe(OH)_2 \rightarrow (OH)Fe-O-Fe(OH) + H_2O$	
Équation 7	$Al(OH)_3 + Al(OH)_3 \rightarrow (OH)_2Al - O - Al(OH)_2 + H_2O$	20
Équation 8	$Mg^{2+} + NH_4^+ + H_2PO_4^- + 6 H_2O \rightarrow MgNH_4PO_4.6H_2O + 2H^+$	
Équation 9	$5 S^{o} + 6 NO_{3}^{-} + 6 H_{2}O \rightarrow 3 N_{2} + 5 SO_{4}^{-2-} + 4 H_{3}O^{+}$	
Équation 10	$11 S^{\circ} + 10 NO3^{-} + 4,1 HCO3^{-} + 0.5 CO_2 + 1.72 NH4^{+} + 2.54 H_2O \rightarrow 0.92 C_5H_7NO_2 + 11 SO4^{2^{-}} + 5.4 N_2 + 9.62 H^{+}.$	
Équation 11	$55 S^{o} + 50 NO3^{-} + 20 CO_{2} + 38H_{2}O + 4 NH_{4}^{+} \rightarrow 4 C_{5}H_{7}NO_{2} + 25 N_{2} + 55 SO_{4}^{-2} + 64 H^{+} \dots$	39
Équation 12	$\rho = 1 - e\left(\frac{-143,5}{Cv(41+I)}\right)$	44
Équation 13	$pH = -log [H^+]$	
Équation 14	$CaCO_{3}(s) + H^{+} = HCO_{3}^{-} + Ca^{2+}$	48
Équation 15	$HCO_3^- + H^+ = H_2CO_3$	48
Équation 16	$H_2CO_3 = H_2O + CO_2$	48
Équation 17	$K_{L/2v} = -2Ce - C0 tH.$	51
Équation 18	$K_s = \frac{1}{2} k$	52
Équation 19	K = - ds dt Ks + SS X.	52
Équation 20	$Y=g$ de biomasse formée x $g^{-1}$ de substrat consommé	53
Équation 21	$K_d = dxdt - Y - dsdtX$	53
Équation 22	$Y = 21.5714 + 0.31171*X_1 - 8.48835*X_2 + 0.0076386*(X_1)^2 + 0.79334*(X_2)^2 - 0.10691*X_1*X_2$	



# LISTE DES ABRÉVIATIONS

$\mu_{max}$	Taux spécifique maximal de croissance
COD	Carbone organique dissous
COT	Carbone organique total
Cv	Charge volumique
EPS	Polysaccharides extracellulaires
Ι	Salinité
$K_d$	Constante de mortalité (détachement du biofilm)
$K_s$	Constante de la concentration de substrat correspondant à la moitié du taux de croissance maximum
NTK	Azote total Kjeldahl
OD	Oxygène dissous
POR	Potentiel d'oxydoréduction
SVS	Solides volatiles en suspension
TCE	Trichloroéthylène
TRH	Temps de rétention hydraulique
Y	Coefficient de rendement des microorganismes
ρ	Rendement

#### **INTRODUCTION**

L'ère de l'industrialisation et de la consommation excessive a occasionné de nombreux problèmes environnementaux dus à l'émission de gaz nocifs ou aux rejets d'eaux contaminées. La société de consommation dans laquelle nous vivons a obligé des domaines comme l'agriculture et l'industrie piscicole à s'adapter face à cette nouvelle vague. Malheureusement, ce changement drastique a causé des dommages aux écosystèmes qui se sont dégradés. Le rejet direct ou indirect de nutriments, tels l'azote et le phosphore, dans les plans d'eau aquatique a amené plusieurs problèmes de prolifération extrême de cyanobactéries qui ont été observés au cours des dernières années.

Au cours de l'histoire, les gouvernements ont émis des lois et des règlements pour que les industries se responsabilisent quant à leur rejet de pollution afin de conserver la santé des habitats naturels. Le monde industriel s'est conscientisé face à cette réalité de développement durable qui a astreint les entreprises à gérer et à traiter de façon écologique et efficace leurs rejets contaminés. Des technologies de traitement des eaux dont le but est de diminuer les impuretés tout en valorisant les déchets et en diminuant la consommation d'eau ont été développées. La question monétaire n'est d'ailleurs pas à négliger, c'est pourquoi les chercheurs œuvrent au développement de systèmes épuratoires économiquement viables.

Dans certaines entreprises d'aquaculture, l'utilisation d'un système de récupération de l'eau à circuit fermé ou partiellement fermé s'est avérée une issue adéquate. Ce type de système nécessite un traitement rigoureux puisque le renouvellement de l'eau est rarissime. Les contaminants présents dans ces systèmes proviennent essentiellement de l'activité physiologique des espèces aquatiques. On y retrouve en grande partie l'ammoniac, l'urée, les phosphates et des matières en suspension (MES) dues principalement aux rejets solides. Certains nutriments,

1

comme les nitrates et les phosphates, sont réfractaires face aux traitements conventionnels ce qui nécessite un changement d'eau régulier qui est, pour l'instant, la solution la plus simpliste, mais financièrement peu intéressante.

Plusieurs technologies sont présentement utilisées dans différents aquariums du monde pour éliminer les nitrates et les phosphates. Au cours des 10 dernières années, le Biodôme de Montréal a testé un système de dénitrification hétérotrophe avec méthanol comme source de carbone. Un système comparable a également été implanté dans d'autres aquariums dont certains aux États-Unis. Bien que ce système se soit révélé efficace dans certains cas, il est difficilement opérable et nécessite un suivi rigoureux. En Europe, le système de traitement utilisé est plutôt basé sur la dénitrification autotrophe sur soufre. L'avantage majeur de ce type de système est qu'il n'est pas nécessaire d'ajouter une source de carbone ce qui le rend plus autonome, plus facilement opérable et plus économique.

La présente étude vise donc à identifier le système de traitement pour l'élimination des nitrates et phosphates qui est le plus efficace, économique et approprié aux besoins de l'Aquarium du Québec. Ce mémoire débute par une revue de littérature mettant en situation les différentes filières de traitement utilisées pour l'élimination des nitrates et des phosphates. Ensuite, le deuxième chapitre traite de la méthodologie de la recherche. Le troisième chapitre présente et discute des résultats obtenus en cours d'expérimentation. La dernière section présente les conclusions de nos travaux et les recommandations pour d'autres avenues de recherche.

2

#### 1. MISE EN CONTEXTE

#### 1.1 Aquarium du Québec

#### 1.1.1 Description

L'Aquarium du Québec a été créé par un spécialiste de la biologie marine et un ancien dirigeant de l'équipe de chercheurs du Ministère des Pêcheries, le Dr Vadim D. Vladykov. À cette époque, le Dr. Vladykov ne possédait pas l'équipement ni l'espace nécessaire à la réalisation de ses nombreux projets et il aspirait depuis longtemps à créer un centre de recherche muni de laboratoires et d'équipements sophistiqués. Au cours des années 50, le Dr Vladykov mis sur pied le Centre biologique de Québec, qui deviendra l'Aquarium du Québec comme nous le connaissons aujourd'hui. Déjà, dès sa création, l'Aquarium avait des objectifs bien précis, soit de contribuer à la recherche dans un climat idéal et du même coup d'éduquer le public aux sciences naturelles. Après un long processus de conception, c'est le 18 juin 1959 que le premier visiteur de l'Aquarium du Québec entra sur le site. Cependant, à la fin des années 2000, les installations devenaient désuètes et la direction de l'Aquarium pris la décision de fermer ses portes au public afin d'entreprendre des rénovations majeures, entraînant ainsi la relocalisation temporaire de la majorité de sa collection. Après deux ans de travaux, l'Aquarium du Québec ouvrit ses portes présentant ainsi un nouveau visage et des installations renouvelées qui offraient un plus grand confort à ses pensionnaires et un maximum de divertissements au public. La collection animale de l'Aquarium du Québec a ainsi été présentée au public sous de nouvelles problématiques: l'arctique, les milieux humides, les berges et les eaux douces du Saint-Laurent, l'Atlantique et le Pacifique comprenant le Grand Océan. L'Aquarium du Québec possède des mammifères marins tels que les morses de l'Atlantique et du Pacifique, plusieurs espèces de phoques, deux ours blancs, ainsi qu'un nombre impressionnant d'espèces de poissons et d'invertébrés d'eau douce et marine.

#### 1.1.2 Grand Océan

Le Grand Océan est un ajout de taille suite aux travaux réalisés en 2000. Effectivement, ce grand bassin de près de 7 m de profondeur contient 350 m<sup>3</sup> d'eau marine d'une salinité se situant entre 28 et 30‰ et une température qui est maintenue à environ 12°C. Cet océan artificiel loge environ 3 300 spécimens d'invertébrés appartenant à 56 espèces, ainsi que 27 espèces de poissons pour un total de 235 individus. Les principaux invertébrés sont: des étoiles de mer, des oursins, des anémones, des concombres de mer et des mollusques. L'Aquarium du Québec dénombre également 1 300 anémones de neuf espèces distinctes. Parmi les poissons qui résident dans le Grand Océan, on peut souligner entre-autres le bar rayé, la morue charbonnière, l'hexagramme de roche, l'esturgeon blanc, dix espèces de sébaste, le loup anguille et le requin léopard. Les résidents profitent d'un habitat sain et propice à la vie, puisque la totalité de l'eau du Grand Océan est traitée en mode continu.

#### 1.1.2.1 Système de traitement

L'eau du Grand Océan est traitée directement dans le bâtiment principal. Le système est en circuit fermé, c'est-à-dire que l'eau recircule complètement dans le système avant de revenir au Grand Océan et ce, avec peu d'apport de nouvelle eau de mer (Figure 1). Cependant, du à l'accumulation de certains éléments nutritifs dans le système, dont les nitrates et les phosphates, un changement d'eau d'environ 10 m<sup>3</sup> doit être effectué à chaque deux semaines. Ce changement d'eau s'effectue en nettoyant le fond du Grand Océan à l'aide d'une balayeuse. L'eau entrant dans la balayeuse est d'abord filtrée par un tamis grossier (TAM-507) afin d'enlever les grosses particules. Cette eau retourne, une semaine sur deux, dans la boucle secondaire du système de

traitement du Grand Océan, tandis que l'autre semaine, elle est envoyée aux égouts. La boucle de traitement primaire du Grand Océan est constituée, dans l'ordre de traitement, de trois filtres au sable (FIL-520, FIL-530, FIL-540), d'un système de refroidissement (ECH-635, ECH-636), d'une tour de contact d'ozonation, d'un écumeur de protéines et d'une tour de dégazage. Cette eau est continuellement pompée dans cette boucle primaire à un débit de 330 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> et une fois qu'elle a parcouru tout le système, elle revient au Grand Océan. Les filtres au sable sont lavés à tour de rôle à une fréquence de 72 h par un retour d'eau à contre-courant, alors que l'eau de lavage est envoyée dans un bassin de rétention de la boucle secondaire afin d'être traitée.

La boucle secondaire de récupération est constituée d'un filtre au sable (FIL-680), d'un système de refroidissement (ECH-690) et d'un écumeur à protéines (MOU-685). L'eau traitée est entreposée dans un autre bassin tampon et renvoyée dans le système de traitement primaire pour combler la perte d'eau par le lavage des filtres au sable. Le filtre au sable de la boucle secondaire est lavé après 500 h de fonctionnement afin de conserver son efficacité de traitement biologique.

Le lavage du filtre au sable de la boucle secondaire se fait en trois étapes: le pré-lavage, le lavage et le rinçage. Le pré-lavage consiste à faire passer de l'eau douce dans le sens de la filtration afin d'y déloger l'eau marine. Cette dernière retournera dans le système de traitement de la boucle secondaire ce qui permettra de récupérer le plus d'eau de mer possible. Par la suite, le lavage permet le nettoyage du filtre en faisant circuler à contre-courant de l'eau douce qui est envoyée directement à l'égout. Le rinçage fait entrer cette fois-ci de l'eau de mer dans le sens de la filtration. L'eau de rinçage est envoyée à l'égout. Ces étapes créent des pertes d'eau de mer qui doivent être comblées par de l'eau de mer neuve qui est produite à l'usine 2 à l'aide de poches de sel Instant Océan.





#### 1.1.2.2 Caractéristiques physico-chimiques

L'eau du Grand Océan fait l'objet d'analyses hebdomadaires et mensuelles. Le Tableau 1 résume les données récoltées sur une base annuelle de l'eau du Grand Océan et du système de récupération de la boucle secondaire.

Le pH, l'alcalinité, la salinité, la dureté, l'ammoniac et les nitrites sont mesurés et dosés à chaque semaine au laboratoire de l'Aquarium du Québec. Par contre, l'analyse des autres paramètres est réalisée à l'externe une fois par mois. La boucle secondaire est échantillonnée aux deux semaines et fait l'objet d'analyses internes seulement.

Selon le Tableau 1, la concentration moyenne de nitrate est de 28,5 mg N-NO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, ce qui est plus élevée que le taux recommandé de 20 mg N-NO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> (Camargo *et al.*, 2005). Le niveau moyen de phosphore est de 4,64 mg P L<sup>-1</sup> ce qui dépasse l'objectif visé de 2 mg P L<sup>-1</sup>. Le changement d'eau est la solution utilisée par l'Aquarium du Québec afin de remédier à ce problème. Cette pratique occasionne des pertes d'eau de 10 m<sup>3</sup> d'eau de mer qui coûte très cher à produire. L'objectif étant donc de trouver une alternative au changement d'eau afin d'éviter la perte d'eau marine.

Paramètres	Grand Océan		A shares		Récupération	Récupération boucle secondaire (C)		
	Moyenne	Écart type	Maximum	Minimum	Moyenne	Écart type	Maximum	Minimum
Alcalinité* (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	193	16	231	167	213	53	460	173
Aluminium (mg L <sup>-1</sup> )	1.1	0.2	1.7	0.9	-	-	-	-
Ammonium* (mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N L <sup>-1</sup> )	0.01	0.01	0.03	0.00	0.00	0.01	0.03	0.00
Bore (mg L <sup>-1</sup> )	3.48	1.10	4.36	0.04		-	-	-
Calcium (mg L <sup>-1</sup> )	372	10	394	356	-		-	
Conductivité (mS cm <sup>-1</sup> )	40.7	1.8	43.7	38		-	-	-
Cuivre (mg L <sup>-1</sup> )	0.04	0.01	0.06	0.03	-			-
Dureté (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	4340	330	4803	3889				-
Fer $(mg L^{-1})$	0.27	0.03	0.32	0.21				
Magnésium (mg L <sup>-1</sup> )	948	55	1057	880			. <del>.</del> .	
Manganèse (mg L <sup>-1</sup> )	0.04	0.01	0.05	0.03	-	1.1.4	_	-
Molybdène (mg L <sup>-1</sup> )	0.367	0.101	0.553	0.267	-	- 140	-	-
Nitrates (mg NO <sub>3</sub> -N L <sup>-1</sup> )	28.5	0.8	29.8	27.2	-	-	-	
Nitrites* (mg NO <sub>2</sub> -N L <sup>-1</sup> )	0.003	0.000	0.010	0.000	0.005	0.005	0.018	0.001
pH*	7.8	0.1	8.1	7.7	8.0	0.1	8.3	7.8
Phosphore (mg L <sup>-1</sup> )	4.64	0.78	7.13	4.14			·	- 101
Potassium (mg L <sup>-1</sup> )	317	65	427	225	-			-
Salinité* (‰)	28.2	0.7	29.6	26.9	29.1	3.6	43.0	25.0
Silice (mg L <sup>-1</sup> )	1.2	0.1	1.3	1.1	-			-
Sodium (mg L <sup>-1</sup> )	9350	1857	10278	3242	-	-	Sec. 25. 2.	~ 요즘 지수 말했
Soufre (mg L <sup>-1</sup> )	576	42	642	513				
Strontium (mg L <sup>-1</sup> )	7.7	0.2	8.1	7.3		-	1	
Sulfate (mg L <sup>-1</sup> )	1712	129	1922	1538		-	-	
TDS (mg $L^{-1}$ )	26058	1148	27968	24320	-	-		
Zinc (mg L <sup>-1</sup> )	0.09	0.01	0.11	0.08				-

Tableau 1 Caractéristiques physico-chimiques de l'eau du Grand Océan à l'Aquarium du Qu
---

Paramètres mesurés directement au laboratoire de l'Aquarium du Québec.

#### **1.2 Problématique des nitrates et des phosphates**

L'azote et le phosphore sont des éléments essentiels à la survie et sont donc présents dans l'alimentation de tous les êtres vivants. Cependant, les réactions biochimiques qui s'engendrent dans l'organisme et dans l'environnement aquatique ont pour effet de produire certaines substances pouvant s'avérer toxiques qui doivent être éliminées du milieu ou maintenues à des valeurs les plus basses possibles.

#### 1.2.1 Azote

L'azote peut se retrouver sous différentes formes dans l'organisme et ce, dans plusieurs composés dont principalement les protéines. Chez l'humain, ce sont les reins qui ont le rôle de filtrer le sang afin d'éliminer, entre autre, l'azote en excès sous forme d'urée. Le principe est semblable chez les poissons. L'ammonium et l'urée sont les composés majoritaires d'excrétion (Randall et Wright, 1987). Le foie est le site principal de production d'ammonium, par contre les enzymes responsables de la formation de l'ammoniaque (NH<sub>3</sub>) ont été découverts dans des sites secondaires tels que les reins, les branchies et les muscles des os (Randall et Wright, 1987). La majorité de l'ammoniaque produite est secrétée par les branchies, mais une quantité minime peut être excrétée par les reins et la peau (Randall et Wright, 1987). L'urée est secrétée également par les branchies mais aussi par la peau, l'urine et les fèces (Mommsen et Walsh, 1992). Même si l'urée est peu toxique, l'ammoniaque, NH<sub>3</sub>, est la forme d'azote la plus nocive pour les êtres aquatiques. La toxicité de l'ammoniaque est principalement influencée par le pH comme le démontre la Figure 2.

9



Figure 2 Relation en le pH et l'ammoniaque (Tirée de <u>www.scientillula.net</u>)

À des pH acide, l'ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) n'est pas toxique par contre, à des pH alcalins, il se transforme en ammoniac (NH<sub>3</sub>) et devient toxique (Wurts, 2003). Le seuil limite de l'ammoniac est variable d'une espèce à l'autre et dépend des conditions du milieu, mais il est d'environ 0.1 mg NH<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> pour la plupart des poissons (Lavigne, 1993a; Person-Le Ruyet et Bœuf, 1998; Boardman *et al.*, 2004), de 0.28 mg NH<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> pour les anémones (Anderson, 2001) et entre 0.08 et 0.25 mg NH<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> pour les élasmobranches (Mohan et Aiken, 2004). Le système de traitement de l'Aquarium du Québec, ainsi que celui de plusieurs autres aquariums dans le monde, permet d'éliminer l'ammoniac sécrété par les animaux aquatiques par les bactéries nitrifiantes qui colonisent les filtres au sable ou par les biofiltres des systèmes de traitement qui permettent de transformer l'ammoniac en nitrate selon les réactions suivantes (Shrimali et Singh, 2001):

Nitritation:

Nitrosomonas spp.

Équation 1  $NH_4^+ + 3/2 O_2 - 2 H^+ + H_2O + NO_2^-$ 

Nitratation:

Nitrobacter spp.

Équation 2  $NO_2^{-} + 1/2 O_2^{-} - NO_3^{-}$ 

L'ammoniaque est donc transformée en nitrate en condition aérobie. Les nitrates sont moins nocifs pour la santé des animaux, car les branchies sont moins perméables aux nitrates qu'à l'ammoniac ou aux nitrites (Camargo *et al.*, 2005). Les seuils de létalité des nitrites sont fixés à environ 0.5 mg NO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup> pour les poissons (Lavigne, 1993a), à 0.03 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> pour les élasmobranches (Mohan et Aiken, 2004) et à 0.1 mg NO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup> pour les anémones (Anderson, 2001). Le mécanisme de toxicité de l'ammoniac est mal connu. Il semblerait que l'ammoniac causerait des troubles cérébraux sévères comme la diminution du glutamate qui agit comme neuromédiateur excitateur de certains neurones du cortex du cerveau (Person-Le Ruet et Bœuf, 1998). Le niveau maximal de nitrates recommandé en eau marine est de 20 mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> pour la faune aquatique marine (Camargo *et al.*, 2005). Les nitrates et les nitrites, comme les quinones et les chlorates, entraînent la modification de l'hémoglobine en méthémoglobine qui empêche la fixation et ainsi le transport de l'oxygène dans l'organisme (Camargo *et al.*, 2005). Le Biodôme de Montréal a déterminé que la principale source d'azote dans leur grand bassin du Saint-Laurent provenait de la nourriture donnée aux poissons et aux invertébrés avec 58% de l'azote entrant (Parent et Morin, 2000).

#### 1.2.2 Phosphore

Le système de traitement de l'Aquarium du Québec ne permet pas d'éliminer spécifiquement le phosphore contenu dans le bassin. La gamme de phosphore normalement retrouvée dans des aquariums marins est de 0.5 à 6 mg P L<sup>-1</sup> (Trépanier et al., 2002). Par ailleurs, le phosphore n'a pas été démontré comme étant toxique pour les animaux aquatiques, cependant, une quantité importante combinée avec de l'azote, peut entraîner la prolifération d'algues indésirables (Trépanier et al., 2002). Les algues qui se développent sont nuisibles mais peuvent également secréter des toxines. Trépanier et al. (2002) ont évalué les entrants de phosphore dans le bassin du St-Laurent du biodôme de Montréal qui est colonisé par des invertébrés, des poissons et des oiseaux. Ils ont établi qu'il y avait cinq sources de phosphore soit: (1) la nourriture donnée aux poissons et aux invertébrés, (2) les excréments des oiseaux, (3) les invertébrés, (4) les poissons ajoutés au bassin et (5) l'ajout de phosphate par l'ajout d'eau de mer fraîchement fabriquée. Le phosphore est éliminé par (1) l'enlèvement de poissons du bassin, (2) le système de filtration (filtre au sable, ozonateur, biofiltre), (3) le nettovage et (4) par la perte d'eau via les lavages de filtre au sable. L'apport majoritaire du phosphore provient de la nourriture donnée aux animaux, suivi des excréments des oiseaux, les autres sources étant considérées comme mineures. La filtration et le nettoyage sont des opérations importantes afin d'éliminer la majorité du phosphore dans leur bassin, mais ces activités n'empêchent pas son accumulation. La forme de phosphore la plus importante est le phosphore réactif dissous, principalement les orthophosphates, et le reste est présent dans la biomasse des poissons et des invertébrés.

#### 1.3 **Objectifs et approche méthodologique**

L'objectif principal de cette recherche consistait à élaborer une filière de traitement qui pourrait maintenir l'eau du Grand Océan à un niveau de nitrates en deçà de 20 mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> et de phosphore sous 2 mg P L<sup>-1</sup>. Tout d'abord, la caractérisation du système de traitement du Grand Océan a été effectuée afin d'établir un niveau moyen de nitrate et de phosphore ainsi que leur fluctuation dans le temps. La microflore utilisée pour coloniser le système a été acclimatée à une eau salée, ainsi qu'à un substrat solide soit le soufre élémentaire. Le système, le dénitratateur au soufre, a été opéré en mode discontinu suite à l'inoculation pour permettre à la biomasse de coloniser le biofiltre. L'opération du système en mode continu consistait à déterminer les paramètres optimaux permettant d'atteindre l'objectif visé. Ainsi, différents temps de rétention hydraulique et différentes configurations ont été étudiés. Le système en mode continu comprend quatre colonnes au soufre et quatre colonnes d'écailles qui sont opérés en parallèle. Des essais ont été effectués avec les colonnes d'écailles d'huîtres en amont et d'autre avec les colonnes d'écailles d'huîtres en aval des colonnes au soufre et ce, à différents temps de rétention hydraulique. Les colonnes au soufre ont été branchées en série avec une colonne d'écaille d'huîtres en aval et d'autres essais ont été faits avec les colonnes d'écailles d'huîtres en milieu et en fin de système. Des essais de déphosphatation chimique et d'électrocoagulation ont été effectués afin d'éliminer le phosphore.

13

### 2. REVUE DE LITTÉRATURE

La revue littérature présente l'ensemble des technologies utilisées pour éliminer le phosphore ainsi que les nitrates et ce dans différents domaines. Tout d'abord, les méthodes physicochimiques qui sont surtout utilisées en traitement de l'eau potable et de l'eau usée. Ensuite, la méthode la plus utilisé en aquariologie soit la dénitrification. Les deux types de dénitrification, hétérotrophe ou autotrophe, sont discutés. Finalement, des exemples concrets de différents aquariums du monde sont présentés.

#### 2.1 Méthodes physico-chimiques de traitement des éléments nutritifs

#### 2.1.1 Enlèvement du phosphore

#### 2.1.1.1 Déphosphatation chimique

La déphosphatation chimique est une méthode simple d'enlèvement du phosphore utilisée de façon courante dans les stations d'épuration des eaux usées et de production d'eau potable partout dans le monde (Morse *et al.*, 1998). La déphosphatation chimique consiste à la sédimentation d'un précipité insoluble qui est produit par l'ajout d'un sel métallique divalent ou trivalent à l'eau qui est à traiter (Morse *et al.*, 1998). Selon Jiang et Graham (1998), cette technique d'élimination se divise en trois étapes bien distinctes, soit (1) la coagulation, (2) la déstabilisation des colloïdes et des particules, et (3) l'agrégation des particules.

L'étape de coagulation consiste à l'ajout d'un sel d'ions métalliques multivalents. Les sels les plus utilisés au Québec sont le chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) et le sulfate d'aluminium (alun,  $Al_2(SO_4)_3.14 h_2O$ ), tandis que les sels moins fréquemment utilisés sont les sulfates ferreux (FeSO<sub>4</sub>) et ferrique (Fe<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>), de même que l'hydroxyde de calcium (chaux, Ca(OH)<sub>2</sub>) (Poulin,

2005). Le mécanisme d'action des sels d'aluminium et de fer (III) avec le phosphore est décrit par les Équations 3 et 4 et résumé par l'Équation 5 (Poulin, 2005).

Équation 3  $\operatorname{Fe}^{3+} + \operatorname{H}_n \operatorname{PO}_4^{n-3} \to \operatorname{FePO}_4 + n \operatorname{H}^+$ 

Équation 4  $Al^{3+} + H_n PO_4^{n-3} \rightarrow AlPO_4 + n H^+$ 

Équation 5  $M^{3+} + H_n PO_4^{n-3} \rightarrow MPO_4 + n H^+$ 

Selon Poulin (2005), les équilibres chimiques présentés ci-haut démontrent que la réaction avec le phosphore se fait selon un rapport d'une mole pour une mole, par contre, le calcul de produits chimiques nécessaire est difficilement réalisable en utilisant seulement ces équations simplifiées, c'est pourquoi l'essai en laboratoire est souvent la meilleure façon d'établir le dosage optimal et d'évaluer par la suite si la réaction ne produit aucun résidu toxique pour les organismes. Étant donné la diminution de l'utilisation de la chaux au Québec, à cause de la production élevée de boues, les réactions de précipitation par ce réactif ne seront pas décrites.

La coagulation permet de briser l'équilibre chimique qui existe entre les petites particules colloïdales qui restent en suspension, donc difficilement séparables par décantation. Cet équilibre est principalement dû à la présence de deux couches positives, liées et diffuses, formées par l'attraction des ions positifs à la surface des colloïdes chargés négativement (Figure 3). Ces couches ont pour effet de créer des répulsions électrostatiques entre les particules participant ainsi à leur stabilité tout comme les collisions du mouvement brownien.



Figure 3 Organisation des ions (+ et -) autour d'une particule colloïdale (Poulin, 2005)

Les sels multivalents permettent de neutraliser ou de diminuer les charges superficielles autour des colloïdes réduisant du même coup la répulsion entre les particules. Les agents de coagulation ne sont pas directement le Fe<sup>3+</sup> ou Al<sup>3+</sup>, mais plutôt leurs produits d'hydrolyse comme par exemple des *hydroxo complexes* tels que  $[M(H_2O)_5OH]^{2+}$  et surtout des complexes polynucléaires tels que :



Les particules, étant maintenant moins répulsives, peuvent s'agglomérer pour former des flocs plus facilement décantables. Cette étape peut être améliorée par l'ajout de floculant, soit principalement des polymères. Lors de la décantation, les particules plus grosses rattrapent les plus petites et il peut y avoir adhérence entre les deux, formant ainsi des flocs plus importants. Le phosphore se retrouve dans les boues qui pourront être disposées de différentes façons.

Les inconvénients de cette méthode est l'utilisation de produits chimiques et la production d'une grande quantité de boues (Jiang et Graham, 1998). Par ailleurs, les boues contiennent une quantité importante d'aluminium et de fer qui seront plus difficilement disposables.

#### 2.1.1.2 Enlèvement du phosphore par des matériaux naturels à base de carbonate de calcium

L'élimination du phosphore peut se faire de façon passive en faisant passer l'effluent à traiter dans une colonne contenant des matériaux naturels à base de carbonate de calcium. Takeuchi et Komada (1998) ont testé l'efficacité d'enlèvement du phosphore de différents matériaux carbonatés sur des eaux usées de ferme porcine. Les matériaux les plus efficaces ont été respectivement les mactres de Sakhalin, les écailles d'huîtres, les coquilles Saint-Jacques, du sable de coraux, les coquillages fossilisés et finalement le moins efficace la dolomite. Les auteurs ont conclu que les jeunes mollusques provenant de l'embranchement des Conchifères marins était les matériaux calcaires les plus efficaces pour l'élimination du phosphore. Selon les auteurs, le mécanisme de déphosphatation se fait par remplacement des carbonates par les phosphates.
# 2.1.1.3 Électrocoagulation

L'électrocoagulation est une technique électrochimique dérivée de la coagulation chimique standard (Drogui *et al.*, 2007). C'est une technique de traitement des eaux potables et des eaux usées (Ghosh *et al.*, 2008a; Yildiz *et al.*, 2008) qui offre la possibilité de générer *in-situ* un agent coagulant suite à une dissolution anodique et à la production d'hydroxyde de fer ou d'aluminium qui possède une capacité d'adsorption considérable (Drogui *et al.*, 2007). Ainsi, cette approche permet de minimiser tout risque de contamination lié à l'accumulation de produits chimiques (Mollah *et al.*, 2001). Cette technique a également l'avantage d'assurer (1) une meilleure efficacité d'élimination des polluants, (2) une facilité de traitement compacte, et (3) une possibilité d'automatisation complète (Adhoum et Monser, 2004; Chen, 2004).

L'électrocoagulation se caractérise par un équipement très simple, soit des électrodes d'aluminium ou de fer à l'anode (Kumar *et al.*, 2004) et des électrodes en acier à la cathode. Les électrodes de fer et d'aluminium sont les principales électrodes utilisées dans un processus d'électrocoagulation (Chen, 2004) étant donné leurs prix abordables et leurs formes ioniques qui présentent une valence élevée (Bennajah, 2007). Selon Chen (2004), les électrodes d'aluminium sont surtout utilisées pour le traitement de l'eau potable, alors que les électrodes de fer sont spécifiques pour le traitement des eaux usées.

Le procédé d'électrocoagulation englobe des phénomènes chimiques et physiques qui se produisent en trois principales étapes successives (Mollah *et al.*, 2001) :

- La formation des coagulants par une dissolution électrochimique de l'anode ;
- La déstabilisation des contaminants, des particules en suspension et la rupture de l'émulsion ;

• L'agrégation de la phase déstabilisée et la formation de flocs.

Dans un processus d'électrocoagulation composé d'une anode (de fer ou d'aluminium) et d'une cathode, l'application d'un potentiel à partir d'une source d'alimentation externe génère *in-situ* le coagulant par la dissolution d'une anode, alors qu'au niveau de la cathode, il y a une évolution de l'hydrogène (Ghosh *et al.*, 2008a). En effet, cette dissolution anodique produit des espèces cationiques, soit des ions ferreux ( $Fe^{2+}$ ) ou d'aluminium ( $Al^{3+}$ ), qui réagissent immédiatement avec les ions hydroxydes (OH) dans la solution pour produire respectivement  $Fe(OH)_2$  et  $Al(OH)_3$  (Drogui *et al.*, 2007). Une fois les espèces d'hydroxydes métalliques (hydroxyde de fer ou d'aluminium) produites en grande quantité, la réaction de polymérisation est initiée résultant à la formation de polymères complexes décrits par les Équations 6 et 7 (Jolivet, 1994).

# Équation 6 $Fe(OH)_2 + Fe(OH)_2 \rightarrow (OH)Fe-O-Fe(OH) + H_2O$

Équation 7  $Al(OH)_3 + Al(OH)_3 \rightarrow (OH)_2Al-O-Al(OH)_2+H_2O$ 

Par un mécanisme d'adsorption, ces polymères ainsi formés permettent d'éliminer les polluants présents dans l'eau. De même, les ions ferreux générés par oxydation électrochimique au niveau de l'anode peuvent former différentes formes telles que Fe  $(H_2O)_6^{3+}$ , Fe  $(H_2O)_5(OH)^{2+}$ , Fe $(H_2O)_4(OH)_2^+$ , Fe $_2(H_2O)_8(OH)_2^{4+}$ , Fe $_2(H_2O)_6(OH)_4^{4+}$  (Drogui *et al.*, 2007) et l'hydrolyse des ions d'aluminium génère des espèces (monomères et polymères) positifs et négatifs tels que Al $(OH)_2^+$ , Al $_2(OH)_2^{4+}$ , Al $_4(OH)_4^-$ , Al $_6(OH)_{15}^{3+}$ , Al $_7(OH)_{17}^{4+}$ , Al $_{13}O_4(OH)_{24}^{7+}$ , Al $_{13}(OH)_{34}^{5+}$  dont leur forme en solution dépend essentiellement du pH (Mollah *et al.*, 2001).

Selon les arrangements de l'électrode, il est possible de rencontrer soit des branchements en mode monopolaire, soit en bipolaire. Cependant, du point de vue application, les deux configurations sont utilisées, mais certains auteurs (Drogui et al., 2007; Laridi et al., 2005) prétendent que la configuration bipolaire est préférable vu que peu de raccordements électriques sont exigés et qu'il se produit moins de dissipation de puissance dans le circuit externe. Une cellule électrolytique monopolaire (Figure 4(a)) est composée de morceau de plaques d'électrodes parallèles et rectangulaires, où chacune des électrodes est branchée au générateur en alternant les anodes et les cathodes (Drogui et al., 2007). Une cellule électrolytique bipolaire (Figure 4(b)) est plutôt composée de morceaux de plaques d'électrodes en série dont seulement les deux électrodes, placées à l'extrémité, sont branchées au générateur de courant (Ghosh et al., 2008a). Les autres électrodes intermédiaires fonctionnent comme anode sur une face et comme cathode sur l'autre face. L'origine du fonctionnement de ces électrodes intermédiaires est due principalement à la mobilité des ions dans la solution, chaque ion présent dans la solution transporte une fraction de l'intensité de courant (Drogui et al., 2007). Sur le plan pratique, Asselin et al. (2008) prévoient aussi que la consommation de l'énergie en utilisant la configuration monopolaire est beaucoup plus faible que la configuration bipolaire. En effet, pour la même intensité de courant imposée (1.0 A), la consommation de l'énergie dans une cellule électrolytique bipolaire est approximativement 17 à 18 fois plus élevée que celle de la cellule électrolytique monopolaire.



(a) Configuration monopolaire



- (b) Configuration bipolaire
- Figure 4 Arrangement des électrodes dans un réacteur d'électrocoagulation : (a) la connexion monopolaire. (b) la connexion bipolaire (Chen, 2004)

Plusieurs paramètres influencent l'efficacité de l'électrocoagulation. Le pH est une variable opératoire importante car, comme mentionné précédemment, il influence la forme des espèces en solution. Selon Vik *et al.* (1984), l'accroissement du pH est principalement dû à la formation des

ions hydroxydes à la cathode lors de l'électrolyse de l'eau et à l'évolution des ions hydrogène. Toutefois, Chen *et al.* (2000) prévoient qu'une augmentation du pH est le résultat d'une libération du  $CO_2$  qui est sursaturé dans l'eau en raison de la perturbation des bulles de H<sub>2</sub>. Par ailleurs, l'intensité de courant appliqué détermine la quantité d'ions de Fe<sup>2+</sup> ou de Al<sup>3+</sup> libérée respectivement d'une électrode de fer ou d'aluminium dans le milieu (Chen, 2004). L'application d'une intensité de courant très faible entraîne la production d'une faible quantité d'hydroxyde et le dégagement d'une faible quantité d'hydrogène à la cathode, alors qu'un courant beaucoup plus élevé provoque une augmentation de la vitesse de la réaction et, par conséquent, une consommation rapide des électrodes. De plus, la conductivité du milieu doit être très élevée afin d'assurer un bon transfert ionique. Finalement, la distance entre les électrodes est un paramètre à tenir compte, puisque une distance trop élevée entraîne une diminution du taux d'efficacité d'enlèvement des polluants.

D'après la littérature (Kumar et al., 2004; Koparal et al., 2002; Ghosh et al., 2008a; Ghosh et al., 2008b; Vasudevan et al., 2009; Bektas et al., (2004)), le processus d'électrocoagulation est considéré comme une technologie simple, fiable, rentable et effective pour traiter les eaux contenant des fluorures, des nitrates, de l'arsenic, du fer et des phosphates.

#### 2.1.2 Enlèvement de l'azote

Suite aux problèmes de contamination en nitrates des nappes souterraines, les technologies de traitement d'eau potable se sont multipliées au cours des dernières décennies. Les méthodes physico-chimiques les plus connues sont les résines échangeuses d'ions, l'osmose inverse et l'électrodialyse. Selon Kapoor et Viraraghavan (1997), l'échange ionique permet de remplacer certains ions dans l'eau par les ions de la résine synthétique composée d'anions de bases fortes. Les ions nitrates prennent la place des ions chlorure et bicarbonate qui eux sont relâchés dans le

milieu et ce, jusqu'à ce que la résine soit saturée en nitrates. Par la suite, les résines sont régénérées, soit par des solutions concentrées en chlorure de sodium ou en bicarbonate de sodium. Cette technologie est très efficace en eau potable pour éliminer les nitrates et les phosphates, entre autre, mais pratiquement inapplicable en eau salée (Lavigne, 1993b). Par ailleurs, cette technologie est assez onéreuse dû aux coûts associés à la disposition de la solution concentrée en nitrates, ce qui limite l'expansion de son utilisation (Kapoor et Viraraghavan, 1997).

Toujours selon la revue de Kapoor et Viraraghavan (1997), l'osmose inverse est une technique de traitement des eaux qui permet de forcer le passage de l'eau à travers une membrane semiperméable, soit d'une solution plus concentrée vers une solution moins concentrée en ions. Ce phénomène est possible grâce à l'application d'une pression plus élevée que la pression osmotique directe, phénomène naturel sur lequel est basée l'osmose inverse. Les membranes utilisées dans ce type de système sont composées d'acétate de cellulose, de polyamides ou de composites qui ne sont pas sélectifs pour les ions. Cette technique amène plusieurs désavantages dont l'encrassement, la compaction et la détérioration des membranes dans le temps dus au dépôt de matériaux solubles, de matière organique, de particules en suspension ou colloïdales ou dus aux variations de pH et à l'exposition aux chlorures, ce qui force l'eau à subir un prétraitement. De plus, cette technique est encore plus dispendieuse que l'échange d'ions et l'électrodialyse.

Le procédé d'électrodialyse est le passage d'ions à travers une membrane sélective d'une solution moins concentrée vers une solution plus concentrée sous l'effet d'un courant électrique. L'électrodialyse a été utilisée pour produire de l'eau potable à partir de l'eau salée et pour traiter de l'eau douce. Cependant, ce type de technique nécessite un suivi rigoureux et présente les mêmes désavantages que l'osmose inverse, puisque c'est également un système membranaire.

Par ailleurs, ces dernières technologies sont peu utilisées en aquariologie et, encore moins, en eau salée ou marine dû à la présence élevée de chlorures (Lavigne, 1993b).

# 2.1.3 Enlèvement de l'azote et du phosphore de l'eau usée avec du bittern

Cette technologie consiste à former de la struvite, engrais à libération lente, par précipitation de l'azote et du phosphore présents dans l'eau grâce à une source de magnésium (Lee *et al.*, 2003; Laridi, 2006). La struvite est un solide cristallin composé de magnésium, de phosphore et d'ammonium en concentration molaire égale (MgNH<sub>4</sub>PO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O). La struvite se forme selon la réaction suivante:

# Équation 8 $Mg^{2+} + NH_4^+ + H_2PO_4^- + 6 H_2O \rightarrow MgNH_4PO_4.6H_2O + 2H^+$

Le facteur limitant lors de la précipitation de la struvite n'est pas les nutriments, mais bien le magnésium. Le bittern, sous-produit de l'industrie du sel, l'eau de mer et le MgCl<sub>2</sub> peuvent être utilisés comme source de magnésium. Ce type de traitement peut être assez complexe d'utilisation et demande un suivi très rigoureux. Par ailleurs, aucune expérimentation n'a été faite en aquariologie pour prouver son efficacité.

# 2.2 **Méthode biologique : Dénitrification**

#### 2.2.1 Information générale

La dénitrification est la voie biologique la plus utilisée en aquariologie pour l'élimination des nitrates (Lavigne, 1993b). En effet, ce procédé change peu l'équilibre chimique de l'eau et l'efficacité du procédé est peu affectée par les MES et la salinité. L'efficacité de cette technologie a été prouvée dans le traitement en aquariologie marine (Balderston et Sieburth, 1976; Sauthier *et al.*, 1998; Tal *et al.*, 2003).

La dénitrification est une partie du cycle de l'azote qui est effectuée par certaines bactéries. Dépendant des conditions du milieu environnant, les nitrates seront réduits afin de subvenir aux différents besoins des bactéries. Il existe deux voies de réduction des nitrates, l'assimilatrice et la dissimulatrice (Zumft, 1997). La voie assimilatrice permet aux microorganismes de transformer les nitrates en ammonium afin de l'incorporer dans leur organisme pour la production des composants cellulaires, tandis que la voie dissimulatrice fournie l'énergie nécessaire à leur croissance. Pour que cette dernière se produise, la cellule requiert différents caractéristiques essentielles dont la présence d'un accepteur et d'un donneur d'électrons, un environnement anaérobique/anoxique, des nutriments et un pH optimal (Pan, 2007). L'oxydation d'un donneur d'électrons résulte en un relâchement d'électrons qui permet aux microorganismes de produire de l'énergie (Pan, 2007). La formation de l'énergie chez un microorganisme s'explique par la formation de molécules énergétiques communément appelé ATP (adénosine-5'-trisphosphate). Dans le cas de la dénitrification, les nitrates sont les accepteurs d'électrons et la source d'électrons provient d'un substrat oxydable (Pan, 2007). Dépendant du type de dénitrification, soit hétérotrophe ou autotrophe, la source de carbone varie. Pour une dénitrification dite hétérotrophe, la source de carbone sera de nature organique, tandis que pour une dénitrification

autotrophe, la source de carbone sera plutôt de type inorganique, généralement du  $CO_2$  (Pan, 2007). Les conditions anoxique/anaérobique sont également nécessaires puisque la plupart des microorganismes effectuant la dénitrification sont appelés aérobies facultatifs, c'est-à-dire que s'il y a présence d'oxygène dans le milieu, ils utiliseront préférentiellement l'oxygène aux nitrates comme accepteur d'électrons, puisque ce gaz permet une plus grande production d'énergie.



Figure 5 Processus de dénitrification (Zumft, 1997)

Cette transformation est assurée par le complexe enzymatique présenté à la Figure 5. L'enzyme nitrate-réductase (NAR) entame la réaction en changeant les nitrates ( $NO_3^-$ ) en nitrites ( $NO_2^-$ ). Ensuite, l'enzyme nitrite-réductase (NiR) réduit les nitrites en oxyde nitrique (NO) qui seront par la suite convertis en oxyde nitreux ( $N_2O$ ) par l'enzyme oxyde-nitrique-réductase (NOr). La réaction se complète lorsque l'enzyme  $N_2Or$ -réductase transforme le  $N_2O$  en azote gazeux ( $N_2$ ). Cette réaction produit deux molécules d'ATP en anaérobiose pour la réduction d'une molécule de nitrate. La NaR et la NO réductase sont des enzymes transmembranaires, tandis que la NiR et la  $N_2Or$  sont des enzymes périplasmiques (Zumft, 1997).

# 2.2.2 Dénitrification hétérotrophe

Il existe plusieurs microorganismes dans la nature capables d'effectuer la dénitrification hétérotrophe. Les plus communs sont les espèces du genre *Pseudomonas* et *Bacillus* qui sont présentes en quantités appréciables dans l'environnement (Pan, 2007). Comme mentionné précédemment, la dénitrification hétérotrophe a été prouvée comme étant efficace en traitement de l'eau dans le domaine de l'aquaculture. Par contre, pour que cette technique soit efficace, il faut fournir en quantité assez précise et ce de façon continue, une source de carbone organique tel que le méthanol, l'acide acétique ou l'éthanol. Cette technique nécessite donc un suivi rigoureux. Plusieurs expérimentations ont été réalisées afin d'étudier l'effet de différents paramètres sur la dénitrification, comme par exemple le type de support bactérien, l'influence du rapport C/N et l'impact de la salinité.

# 2.2.2.1 Support bactérien

Une étude de dénitrification a été effectuée en comparant deux supports, soit l'alginate et l'alcool polyvinyle, Nagadomi *et al.* (1999) ont permis de réaliser que le matériau fixant influençait la dénitrification. Les auteurs ont utilisé deux aquariums contenant chacune cinq carpes (Nishikigoi). Le premier aquarium était colonisé de *Rhodobacter sphaeroides* fixés sur des billes d'alginate, tandis que le deuxième aquarium contenait *Rhodobacter sphaeroides* fixés sur l'alcool polyvinyle. Les résultats ont montré que l'alcool polyvinyle permettait l'accumulation des nitrates comparativement à l'alginate. Deux carpes sont mortes dans l'aquarium avec l'alcool polyvinyle à 60 g L<sup>-1</sup> dû à une accumulation de nitrites. L'alcool polyvinyle inhiberait fortement l'enzyme nitrite-réductase et l'acide borique, utilisée pour le durcissement des billes d'alcool polyvinyle, et inhiberait légèrement la nitrate-réductase ce qui expliquerait l'accumulation des nitrates et des nitrites.

# 2.2.2.2 Rapport Carbone / Azote

Balderston et Sieburth (1976) ont prouvé que le rapport C/N est un paramètre important lors de la dénitrification hétérotrophe. Selon leurs travaux, un rapport de 1/1 permettrait l'enlèvement complet des nitrates. Cependant, à un rapport inférieur, la dénitrification serait incomplète résultant en une accumulation de nitrites. Sautier *et al.* (1998) ont également constaté un débalancement dans le rapport C/N suite à la cessation de l'approvisionnement en carbone et à la dilution de la concentration en nitrate. L'interruption de l'alimentation en carbone entraîne l'interruption de la dénitrification, alors que la dilution des nitrates crée une accumulation de sulfure (S<sup>2-</sup>) à 2 mg L<sup>-1</sup> qui est toxique pour les poissons. Effectivement, ces deux évènements pourraient se produire lors d'un usage industriel, d'où l'importance de vérifier leurs impacts.

#### 2.2.2.3 Salinité

La composition de l'eau douce et de l'eau marine est très différente, surtout par la présence élevée en chlorure. Tal *et al.* (2003) ont voulu vérifier l'influence de la salinité sur la dénitrification. Ils ont utilisé *Pseudomonas* et l'ont immobilisé sur l'alginate. Des lits dénitrifiants ont été installés dans deux aquariums comprenant 400 g de poissons dont l'une était en eau salée à 30 g L<sup>-1</sup> et l'autre en eau douce. En eau marine, les résultats ont montré un taux spécifique d'enlèvement de 5  $\mu$ g de NO<sub>3</sub> billes<sup>-1</sup> jr<sup>-1</sup> et en eau douce de 50  $\mu$ g de NO<sub>3</sub> billes<sup>-1</sup> jr<sup>-1</sup>.

# 2.2.3 Dénitrification autotrophe sur soufre

Les microorganismes autotrophes oxydent un substrat inorganique, par exemple le soufre, afin de libérer des électrons et de produire l'énergie nécessaire à leur croissance résultant en la libération de gaz (Pan, 2007). La source de carbone que ce type de microorganismes utilise est le dioxyde de carbone. Ce système est donc autonome puisqu'il n'est pas obligatoire de l'enrichir avec une source de carbone externe. (Jang, 2005, Benmoussa, 1997). Le soufre élémentaire granulaire peut être utilisé comme support bactérien et substrat énergétique dans un biofiltre. Le système autotrophe sur soufre offre plusieurs avantages comme: (1) la production moindre de boue par rapport à la dénitrification hétérotrophe, et (2) moins de N<sub>2</sub>O produit qu'avec les bactéries hétérotrophes (Sengupta *et al.*, 2007). Ce système a prouvé son efficacité dans différents domaines comme: (1) le traitement d'eau souterraine (Wang, 1998; Soares, 2002; Pan, 2007), (2) le traitement d'eaux usées (Nugroho *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2002; Sengupta *et al.*, 2006), (3) le traitement de lixiviat provenant de site d'enfouissement (Koenig et Liu, 1996), (4) en aquariologie (Hignette *et al.*, 1996) et (5) au niveau du traitement d'eau salée (Gu *et al..2*004; Koeing et Liu, 2004; Zhao *et al.*, 2004).

# 2.2.4 Microbiologie de la dénitrification autotrophe sur soufre

# 2.2.4.1 Caractéristiques des microorganismes

Il existe quatre classes de microorganismes capables d'oxyder les composés soufrés, tels que le soufre élémentaire (S<sup>0</sup>), les sulfites (SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), et le thiosulfate (S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>): (1) les chimiolithoautotrophes obligatoires, (2) les chimiolithoautotrophes facultatifs, (3) les chimiolithohétérotrophes, et (4) les hétérotrophes (Oh *et al.*, 2001). Les chimiolithoautotrophes obligatoires tels que *Thiobacillus denitrificans* et *Thiomicrospira denitrificans* sont obligés de tirer leur énergie uniquement des composés soufrés, tandis que les chimiolithoautotrophes facultatifs comme *Thiobacillus versutus, Thiobacillus thyasiris, Thiosphaera pantotropha*, et *Paracoccus denitrificans* peuvent croître, non seulement, en utilisant le soufre comme source d'énergie, mais sont aussi aptes à se développer de façon hétérotrophe en utilisant une source organique (Oh *et al.*, 2001). Ils peuvent donc s'adapter à plusieurs conditions environnementales (Jang, 2005).

# 2.2.4.2 Biofilm

Au cours des années 90, les microbiologistes ont conclu que les microorganismes croissaient mieux dans une matrice attachée à une surface qu'ils ont nommé « biofilm » (Costerton, 2004). Selon Melo (2003), un biofilm est une matrice gélatineuse fixée à un substrat qui est composée de microorganismes et de polysaccharides extracellulaires (EPS) qu'ils forment et sécrètent à partir de substances absorbées. Le biofilm est constitué de plus de 90% d'eau et ses propriétés dépendent de trois principaux facteurs: biologique (microbiologique), chimique (composition du fluide) et physique (conditions hydrodynamiques et thermiques). Par ailleurs, un biofilm peut atteindre des tailles jusqu'au millimètre, donc être visible à l'œil nu. Cette forme d'arrangement procure divers bénéfices dont la proximité et la protection. Un biofilm se forme selon plusieurs étapes distinctives (Figure 6).





La formation d'un biofilm débute par (1) la fixation de bactéries libres à une surface et qui amorcent la production d'EPS. (2) La production de polysaccharides permet ainsi la formation

d'un complexe tridimensionnel qui sera fortement lié à la surface et engendrera la croissance du biofilm. (3) Une fois le biofilm mature, il y aura relâchement de certains microorganismes libres ou attachés et le cycle pourra se renouveler.

Koeing *et al.* (2005) et Blais *et al.* (1994) ont étudié la composition microbienne dans un système autotrophe sur soufre. Les Figures 7a et 7b illustrent les microorganismes présents à la surface d'une particule de soufre.

La première présente bien les molécules permettant aux cellules de se cimenter ensemble et de se fixer à la particule de soufre, les exopolysaccharides. Jang *et al.* (2005) affirment que la composition et le rapport glucides/protéines des EPS varie selon la position du biofilm dans le filtre. Effectivement, le rapport glucides/protéines diminue lorsque leur position est plus haute dans le réacteur ce qui suggère que la population microbienne est différente selon la position verticale.

L'analyse de l'ARN 16 S d'un biofilm présenté à la Figure 7a par Koenig *et al.* (2005) a révélé une importante diversité microbienne. Les auteurs ont comparé les séquences qu'ils ont obtenues avec des séquences connues de GenBank. Le Tableau 2 présente leur conclusion. Effectivement, puisqu'il n'y a pas 100% de similarité, il peut avoir place à l'interprétation. Comme par exemple, ADB-67 a seulement 87% de similarité avec *Trichlorobacter thiogenes* alors la souche identifiée dans le système peut être une autre souche non connue mais qui ressemble au microorganisme comparé. L'arbre phylogénétique (Figure 8) présente la classification des unités taxonomiques opérationnelles (UTOs) trouvées dans le biofilm.



B)

A)



Figure 7

Biofilm présent à la surface d'une particule de soufre. A) tiré de Koeing *et al.* (2005), B) tiré de Blais *et al.* (1994)

# Tableau 2 Composition d'un biofilm sur la surface d'une particule de soufre selon

Unité taxonomique opérationnelle	Espèce la plus similaire dans GenBank	Similarité (%)	Abondance (%)
ADB-2	Thibacillus denitrificans	95	32
ADB-67	Trichlorobacter thiogenes	87	22
ADB-66	Bactérie non-cultivée PHOS-HE36	97	17
ADB-13	Xanthomonas maltophilia	93	8
ADB-3	Rhodobacter sphaeroides	94	6
ADB-12	Sinorhizobium sp.	97	4
Autres	Non-identifié	-	11

ľ	analy	se de	I'A	RN	16 <b>S</b>
	STATES A Y	De ue			IUN

*Thiobacillus denitrificans*, ADB-2, serait l'espèce prédominante du biofilm ce qui n'est pas une surprise puisque *T. denitrificans* est reconnu depuis longtemps comme bactérie dénitrifiante utilisant le soufre. Les autres microorganismes présents sont très diversifiés puisqu'ils proviennent de trois grands groupes: (1) les  $\alpha$ -Protéobactéries, (2) les  $\gamma$ -Protéobactéries et (3) les bactéries vertes sulfureuses. La bactérie du groupe des *desulfuromonas* similaire à 87%, ADB-67, est probablement une espèce spéciale qui a la propriété de réduire le soufre en sulfure d'hydrogène en utilisant l'acétate, le propionate et l'éthanol comme accepteur d'électrons, mais ne réduisant jamais les sulfates ou d'autres oxoanions dérivés du soufre. La bactérie non-cultivée ADB-66 a déjà été identifiée dans une autre communauté dénitrifiante. Appartenant au groupe des bactéries vertes sulfureuses, elle est photoautotrophe, mais elle est également capable d'utiliser l'acétate comme source de carbone et aussi d'oxyder le sulfure d'hydrogène en soufre ou en sulfate. Parfois, les oxoanions dérivés du soufre et l'hydrogène peuvent être utilisés par d'autres microorganismes comme donneur d'électrons. *Rhodobacter sphaeroides*, similaire à 94% à ADB-3, fait partie des  $\alpha$ -Protéobactéries photosynthétiques, mais elle peut être photoautotrophe (anaérobie), photohétérotrophe (anaérobie/lumière) et chemoautotrophe

(aérobie). Finalement, ADB-12 serait un microorganisme hétérotrophe tirant son énergie des cellules mortes. Suite à ces observations, Koenig et ses collaborateurs (2005) ont divisé les microorganismes autotrophes et hétérotrophes afin de suggérer un mécanisme de fonctionnement du biofilm (Tableau 3).



Figure 8 Arbre phylogénétique des microorganismes d'un biofilm prélevé sur une particule de soufre; (

Séquences retrouvées dans le biofilm (Koeing *et al.*, 2005)

# Tableau 3 Réactions biochimiques possibles des unités taxonomiques opérationnelles

Type trophique	UTOs	Donneur d'électrons	Accepteur d'électrons	État oxique
Autotrophe	ADB-2	$S \rightarrow SO_4^{2-}$	$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow N_2$	Anaérobique
(54% du total)	ADB-66	$H_2S \rightarrow S \rightarrow SO_4^{2-}$	$CO_2 + H_2O \rightarrow MO$	Anaérobique
	ADB-3	$H_2S \rightarrow S \rightarrow SO_4^{2-}$	$CO_2 + H_2O \rightarrow MO$	Facultatif
Hétérotrophe (35% du total)	ADB-67	$MO \rightarrow CO_2 + H_2O$	$SO_4^{2-} \rightarrow S \rightarrow H_2S$	Anaérobique
	ADB-13	$MO \rightarrow CO_2 + H_2O$	$NO_3^- \rightarrow NO_2^-$	Facultatif
	ADB-12	$MO \rightarrow CO_2 + H_2O$	$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow N_2$	Facultatif

(UTOs)

MO = Matière organique.

Le modèle de distribution et de fonctionnement du biofilm est présenté à la Figure 9. Les auteurs ont basé leur hypothèse sur les affirmations de Batchelor et Lawrence (1978) mentionnant que l'activité microbienne dans un biofilm se fait en deux étapes: (1) le donneur d'électrons, c'est-àdire le soufre, doit être transporté de la particule à travers le biofilm afin d'être oxydé et, (2) l'accepteur d'électrons (les nitrates) doit diffuser du milieu à travers le biofilm afin d'être réduit. Selon leur modèle, ADB-2, probablement *T. denitrificans*, serait le premier microorganisme à coloniser la particule de soufre et au fur et à mesure que le biofilm grossit, la concentration de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> diminue résultant en la lyse cellulaire des microorganismes. Les cellules mortes servent de nourriture pour les microorganismes réducteurs de soufre, ADB-67 qui, en absence de nitrate, réduisent le soufre en sulfure d'hydrogène. Ce sulfure d'hydrogène formé est un donneur d'électrons pour les microorganismes autotrophes ADB-3 et ADB-66 servant à produire du soufre et des sulfates. Les microorganismes hétérotrophes ADB-12 et ADB-13 peuvent se retrouver dans des endroits variables dépendant des conditions du milieu et/ou du transport et des taux de réaction des accepteurs et donneurs d'électrons puisqu'ils utilisent les cellules mortes. Finalement, la composition et le fonctionnement d'un biofilm est beaucoup plus complexe qu'on aurait pu le croire. Par ailleurs, les auteurs rappellent qu'il peut y avoir des erreurs d'interprétations et que la méthode utilisée peut être également une source d'erreur. De futurs travaux seraient nécessaires afin de vérifier l'hypothèse du fonctionnement du biofilm présentée dans leur étude.



Figure 9 Relations suggérées pour les UTOs de l'étude et leur possible distribution dans le biofilm sur une particule de soufre (Koeing *et al.*, 2005)

Parallèlement à l'expérimentation précédente, Jang *et al.* (2005) ont également étudié la composition microbienne d'un biofiltre autotrophe au soufre. Ils ont d'abord vérifié les différentes compositions d'un biofilm en fonction du positionnement vertical dans le bioréacteur. Les résultats sont présentés au Tableau 4.

	Hauteur (m)	Hétérotrophe	Dénitrifiante autotrophe facultative	Dénitrifiante autotrophe obligatoire	H/A (%)
Affluent (cell. mL <sup>-1</sup> )	28.72.1	8.5 x 10 <sup>8</sup>	$4.25 \ge 10^7$	$6.02 \ge 10^5$	95:5
Nb cellules par particule de soufre	1.5	1.4 x 10 <sup>8</sup>	1.91 x 10 <sup>7</sup>	$1.04 \ge 10^6$	87:13
	1.0	$2.8 \times 10^8$	$2.40 \ge 10^7$	5.54 x 10 <sup>6</sup>	90:10
	0.5	$2.4 \ge 10^8$	$3.23 \times 10^7$	8.05 x 10 <sup>6</sup>	85:15

Tableau 4 Distribution bactérienne dans le biofiltre

Ces résultats démontrent que la plus grande partie des microorganismes autotrophes se retrouvent dans le bas du réacteur. De plus, il n'y a pas plus que 15% de bactéries autotrophes et l'enlèvement des nitrates a toujours été d'au moins 90%. Il y a donc une bonne partie des nitrates qui sont réduits par les microorganismes hétérotrophes.

# 2.2.4.3 Thiobacillus denitrificans

La dénitrification autotrophe la plus étudiée est celle impliquant *Thiobacillus denitrificans*. Le premier chercheur à avoir isolé ce microorganisme est Beinjerinck, en 1904 en démontrant que celui-ci pouvait croître en absence d'oxygène tout en réduisant les nitrates et en oxydant le soufre (Baalsrud et Baalsrud, 1954). Suite à ces travaux, en 1912, Lieske s'est intéressé à *T*. *denitrificans* et a établi que celle-ci était obligatoirement autotrophe, puisqu'elle ne pouvait se développer sans la présence de soufre (Baalsrud et Baalsrud, 1954).

*Thiobacillus* nécessite une certaine quantité d'éléments pour sa croissance. Baalsrud et Baalsrud (1954) ont démontré que des sels d'ammonium facilitaient la croissance de *T. denitrificans* à partir d'une concentration de 0.0083% (p.v<sup>-1</sup>) de NH<sub>4</sub>Cl et que le fer favorisait la croissance à partir de 0.25 mg Fe L<sup>-1</sup>, cela suggère par le fait même que les cytochromes sont directement impliqués lors de la dénitrification. Le principe de cette dénitrification est basé les réactions suivantes (Benmoussa, 1997):

Équation 9 5 S<sup>0</sup> + 6 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + 6 H<sub>2</sub>O  $\rightarrow$  3 N<sub>2</sub> + 5 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> + 4 H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>

Équation 10 11 S<sup>o</sup> + 10 NO3<sup>-</sup> + 4,1 HCO3<sup>-</sup> + 0.5 CO<sub>2</sub> + 1.72 NH4<sup>+</sup> + 2.54 H<sub>2</sub>O  $\rightarrow$  0.92 C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub> + 11 SO4<sup>2-</sup> + 5.4 N<sub>2</sub> + 9.62 H<sup>+</sup>

L'équation 10 se rapproche du bilan total obtenu par Batchelor et Lawrence (1978) :

Équation 11 55 S<sup>o</sup>+ 50 NO3<sup>-</sup> + 20 CO<sub>2</sub>+ 38H<sub>2</sub>O + 4 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>  $\rightarrow$  4 C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub> + 25 N<sub>2</sub> + 55 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> +64 H<sup>+</sup>

Effectivement, *T. denitrificans* tire son énergie du soufre et réduit les nitrates en azote gazeux sous condition anaérobie. De plus, il a été démontré qu'il peut y avoir également dégagement de gaz carbonique dû à la transformation des bicarbonates en acide carbonique par les ions  $H^+$  produits lors de la respiration anaérobie, comme le démontre la Figure 10 (Koenig et Liu, 1997).



Figure 10 Schéma des interactions chimiques lors du processus de dénitrification autotrophe (Koenig et Liu, 1997)

La formation d'oxyde nitreux (N<sub>2</sub>O) est aussi possible et dépend du taux de charge et de la concentration en nitrates. À un taux de charge de 1.37 kg NO<sub>3</sub>-N m<sup>-3</sup> jr<sup>-1</sup> et à une concentration en NO<sub>3</sub>-N de 175 mg L<sup>-1</sup>, il n'y avait pas de production d'oxyde nitreux. Par contre, pour un même taux de charge et une concentration en nitrates plus élevée, il y avait production d'oxyde nitreux (Park *et al.*, 2002). Les auteurs rappellent qu'une étude plus poussée serait nécessaire afin d'identifier les facteurs qui influencent la production de N<sub>2</sub>O (Park *et al.*, 2002). La production de sulfates est aussi importante, soit 1.1 mole de sulfate par mole de nitrate éliminée. En eau de mer, ce phénomène n'a pas posé de problèmes puisque celle-ci contient déjà une grande quantité de cet ion (885 mg SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> L<sup>-1</sup>) (Hignette *et al.*, 1996). Il est important de souligner que cette réaction acidifie le milieu par la production de 1.28 mole de H<sup>+</sup> par mole de nitrate

# 2.2.5 Facteurs influençant la dénitrification autotrophe sur soufre

#### 2.2.5.1 pH et température

La plupart des bactéries dénitrifiantes hétérotrophes ont un pH optimal entre 7 et 8 (Knowles, 1982), comparativement aux microorganismes dénitrifiants autotrophes utilisant le soufre qui ont un pH optimal de 6 à 9 (Oh *et al.*, 2001). Trouve *et al.* (1998) ont expérimenté l'influence du pH sur le pourcentage d'enlèvement des nitrates en dénitrification autotrophe sur soufre. Ils ont soumis neuf différentes souches de *Thiobacillus denitrificans* à des pH entre 5 et 8 pendant cinq jours dans un milieu contenant des nitrates. Toutes les souches ont présenté un pourcentage d'enlèvement de 100% à des pH se situant entre 6 et 7.5, tandis qu'à un pH de 5, seulement trois souches ont atteint le 100% de dénitrification et les six autres souches ont obtenu des pourcentages d'enlèvement variant de 25 à 85%. À un pH de 5,5, deux souches ont dénitrifié les nitrates à 80 et 88%, les autres ont atteint le 100% de dénitrification. Ceci indique que le pH optimal était neutre ou légèrement acide (Baalsrud et Baalsrud, 1954; Trouve *et al.*, 1998) et que l'acidité affecte la dénitrification. Oh *et al.* (2000) ont plutôt conclu que l'intervalle de pH optimal était de 6.5-7.5 et qu'à des pH à l'extérieur de la gamme de 6 à 9, la dénitrification était complètement arrêtée.

L'effet de la température sur l'efficacité de la dénitrification a également été vérifié par Trouve *et al.* (1998). Le temps de traitement était plus long à basse température, 10°C et 5°C, malgré cela, les nitrates pouvaient complètement être éliminés. Cependant, une seule souche a présenté un pourcentage optimal d'enlèvement des nitrates à 10°C. Il est cependant à remarquer que les souches utilisées ont été isolées durant l'hiver. De plus, la production de sulfates était quatre fois plus faible à 5°C qu'à 20°C. Les souches que Oh *et al.* (2000) ont utilisées présentaient un optimum de dénitrification à des températures se situant entre 33-35°C, tandis qu'ils ont observé

une inhibition totale à 40°C. Koenig et Liu (2004) ont obtenu des résultats similaires comme le démontre le Tableau 5.

# Tableau 5 Influence de la température sur la dénitrification sur soufre (Koenig et Liu,

Température (°C)	Taux de dénitrification maximal (mg N L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )			
15	17.4			
20	24.5			
25	40.2			
30	55.4			
35	45.1			
40	25.4			
45	20.1			
50	0.0			

2004)

#### 2.2.5.2 Source de soufre

La disponibilité du soufre pour les microorganismes dépend de sa forme dans le milieu aqueux, soit soluble ou granulaire. Des expérimentations ont montré que le thiosulfate était la forme de soufre la plus efficace pour l'enlèvement des nitrates et que le soufre élémentaire ne semble pas une source efficace d'électrons (Trouve *et al.*, 1998). Les auteurs ont classé l'efficacité de la source de soufre selon l'ordre suivant:  $S_2O_3^2 > FeS > FeS_2 > S^0$ . Par contre, les résultats d'autres études démontrent que le soufre élémentaire utilisé comme remplissage dans un lit filtrant était une source de soufre efficace pour la dénitrification (Campos *et al.*, 2008). Selon Campos *et al.*, (2008), la dénitrification avec le thiosulfate est de deux à cinq fois plus élevée qu'avec du soufre élémentaire. La différence d'efficacité entre les études pourrait être due aux types de souches bactériennes utilisées et à l'acclimatation de ces dernières (Campos *et al.*, 2008).

# 2.2.5.3 Effet du rapport S/N

Si l'on considère le thiosulfate comme source de soufre selon la Figure 11, on peut calculer un rapport S/N optimal à 3.84 g  $g^{-1}$  (Campos *et al.*, 2008).

$$0.844 \text{ S}_2\text{O}_3^{-2} + \text{NO}_3^{-} + 0.347 \text{ CO}_2 + 0.086 \text{ HCO}_3^{-} + 0.086 \text{ NH}_4^{+} + 0.434 \text{ H}_2\text{O}_3^{-}$$

 $1.689 \text{ SO}_4^{2-} + 0.500 \text{ N}_2 + 0.086 \text{ C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N} + 0.697 \text{ H}^+$ 

# Figure 11 Équation de dénitrification autotrophe avec du thiosulfate comme source de soufre

Cette valeur est semblable à celle déterminée expérimentalement à  $3.72 \text{ g } \text{S}_2\text{O}_3\text{-}\text{S } \text{g}^{-1}$  NO<sub>3</sub>-N par Oh *et al.* (2000). En présence d'un rapport S/N plus élevé, 6.67 g g<sup>-1</sup>, les nitrates deviennent le facteur limitant et une concentration élevée en nitrites a été observée après l'élimination totale des nitrates (Campos *et al.*, 2008). De plus, à un rapport moindre,  $1.16 \text{ g } \text{g}^{-1}$ , le thiosulfate devient le facteur limitant et les nitrates ne peuvent être complètement éliminés résultant également à une accumulation de nitrites due à une dénitrification incomplète (Campos *et al.*, 2008).

# 2.2.5.4 Salinité

Bien que l'efficacité du système ait été prouvée en milieu marin, il semblerait que la salinité aurait une certaine action inhibitrice à partir de 20 g NaCl L<sup>-1</sup> (Claus et Kutzner, 1985). L'action se traduirait selon la formule suivante (Santana *et al.*, 1996):

$$\rho = 1 - e \left( \frac{-143,5}{Cv(41+I)} \right)$$

ρ= Rendement;

Salinité (g L<sup>-1</sup>); I =

Charge volumique (kg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> m<sup>-3</sup> S jr<sup>-1</sup>).  $C_v =$ 

Selon cette équation, à une charge volumique de 1.5 kg et à une salinité de 28 g L<sup>-1</sup> (Hignette et al., 1996), le rendement serait de 75%. De plus, Koenig et Liu (2004) ont testé l'effet de différents sels sur la dénitrification. Le Tableau 6 résume les conclusions de leur étude.

$\frac{Na_2SO_4}{(g SO_4 L^{-1})}$	CaCl <sub>2</sub> (mg Ca L <sup>-1</sup> )	$MgCl_2 \cdot 6 H_2O$ (mg Mg L <sup>-1</sup> )	NaCl (g Na L <sup>-1</sup> )	Nb moles totales des ions	Pression osmotique (atm)	Taux de dénitrification (mg N L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	Taux de dénitrif. relatif (%)
5	0	0	0	0.16	3.827	40.5	100
5	400	450	0	0.24	5.921	40.5	100
5	400	1350	0	0.42	10.24	40.5	100
5	400	1350	5	0.69	16.76	40.5	100
5	200	1350	10	0.97	23.64	35.7	88.2
Eau de mer				1.10	26.88	29.4	72.6
5	200	1350	15	1.25	30.53	23.2	58.6
5	200	1350	20	1.53	37.41	14.0	35.3
5	200	1350	25	1.81	44.30	9.52	24.1
5	200	1350	30	2.09	51.18	7.42	18.6

Tableau 6 Effet de l'ajout de sels sur la dénitrification autotrophe à 25°C

Selon le Tableau 6, l'effet inhibiteur causé par les sels provient de la pression osmotique du milieu et non par le type de sel ajouté. La pression osmotique régule le mouvement des substances dans la membrane cytoplasmique et du même coup leur activité métabolique, c'est pourquoi elle influence la dénitrification. Malgré une diminution de l'efficacité due à la salinité, diverses études ont prouvé l'efficacité du système en eau salée avec des pourcentages d'enlèvement de 97.5% à une concentration de 250 mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> et à une salinité de 33.0 g NaCl L<sup>-1</sup> dans un fermenteur (Gu *et al.*, 2004; Zhao *et al.*, 2004). En aquariologie marine, ce type de système a fait ses preuves avec un pourcentage d'enlèvement de près de 100% (Hignette *et al.* (1996).

# 2.2.5.5 Autres facteurs

# 2.2.5.5.1 Taux de charge en nitrate

Le taux de charge prend en compte deux paramètres soit la concentration de nitrate et le temps de rétention. Selon Claus and Kutzner (1985), plus le taux de charge augmente plus la dénitrification diminue. Effectivement, à un taux de charge de 20 kg m<sup>-3</sup>·jr<sup>-1</sup>, le taux de dénitrification est de 100% tandis qu'à un taux de charge de 30 kg m<sup>-3</sup>·jr<sup>-1</sup>, la dénitrification est de 80%. De plus, le temps de rétention est important puisque s'il est trop court les nitrites formés en bas de la colonne ne pourront pas être réduits et ils s'accumuleront. Lors de leur expérimentation, à un taux de charge de 20 à 25 kg m<sup>-3</sup>·jr<sup>-1</sup> il y avait de 96% à 98% d'élimination de nitrate et ce, sans accumulation de nitrites.

#### 2.2.5.5.2 Contaminants potentiels

Lors du traitement d'eaux usées, il peut y avoir présence de polluants qui pourraient inhiber la croissance des microorganismes dénitrifiants. Moon *et al.* (2006a) ont testé l'effet d'un polluant soit le trichloroéthylène et de certains métaux lourds comme le zinc, le cuivre et le chrome (VI). Ils ont soumis le système dénitrifiant autotrophe à trois concentrations de TCE soit 10, 20 et  $80 \text{ mg L}^{-1}$  avec une concentration initiale en nitrate de 30 mg N L<sup>-1</sup>. Les deux premières

concentrations testées n'affectaient pas le métabolisme des microorganismes puisqu'il y avait enlèvement de 97% de la concentration initiale en nitrate. Or, à une concentration de 80 mg L<sup>-1</sup> en TCE, moins de 50% des nitrates étaient éliminés. Par ailleurs, les constantes de demi-réaction obtenues étaient semblables pour des concentrations en TCE de 0, 10 et 20 mg L<sup>-1</sup> soit 2.261, 2.173, et 1.905 mg-N<sup>1/2</sup> L<sup>-1/2</sup> jr<sup>-1</sup> respectivement. À 80 mg L<sup>-1</sup>, le modèle n'était pas applicable et c'est la raison pour laquelle la constante n'a pas été déterminée. De plus, le zinc et le cuivre inhibe l'activité des microorganismes autotrophes dénitrifiants à partir d'une concentration de 0.5 mg L<sup>-1</sup>. Pour des concentrations de zinc de 0, 0.1, 0.5, 1.0 mg L<sup>-1</sup>, les constantes de cinétique étaient respectivement de 3.636, 3.579, 2.382 et 1.922 mg-N<sup>1/2</sup> L<sup>-1/2</sup> jr<sup>-1</sup>. La présence du cuivre inhibe également les microorganismes puisque les constantes de demi-ordre sont de 2.182, 2.170, 1.929 et 1.541 mg-N<sup>1/2</sup> L<sup>-1/2</sup> jr<sup>-1</sup> pour des concentrations 0, 0.1, 0.5 et 1 mg L<sup>-1</sup>. L'ajout, à faible concentration, des éléments traces comme le cuivre et le fer améliore la dénitrification (Labbé et al., 2003). Le chrome (VI) ne semble pas inhiber l'activité bactérienne à des concentrations entre 0,1 et 1,0 mg Cr L<sup>-1</sup>.

# 2.2.5.5.3 Matière organique

Les microorganismes autotrophes ne nécessitent pas l'ajout de matière organique. Or, comme il a été discuté précédemment, le biofilm présent dans un système autotrophe est formé également de microorganismes hétérotrophes. L'expérimentation de Oh *et al.* (2001) a permis d'affirmer que la matière organique augmentait la dénitrification. Effectivement, les constantes de cinétique sans ajout de méthanol, avec ajout de 132.8 mg L<sup>-1</sup> de méthanol et avec ajout de 571.4 mg L<sup>-1</sup> de méthanol sont respectivement de 1.4, 1.92 et 2.7 kg m<sup>-3</sup>·jr<sup>-1</sup>. De plus, le temps de rétention en présence de matière organique est plus court pour l'élimination complète des nitrates que lorsque la colonne est seulement sous condition autotrophe.

# 2.2.6 Inconvénients de la dénitrification autotrophe sur soufre

# 2.2.6.1 Sulfates

La dénitrification autotrophe a comme produit final, majoritairement, les sulfates. Il est donc primordial de déterminer l'effet de ceux-ci sur le processus de dénitrification. Dans un premier temps, l'inhibition due aux sulfates en culture mixte débute à 2 g SO<sub>4</sub> L<sup>-1</sup> (Oh *et al.*, 2000). Par contre, en culture pure de *T. denitrificans*, l'inhibition débute à 5 g SO<sub>4</sub> L<sup>-1</sup> et l'inhibition est complète à 20 g SO<sub>4</sub> L<sup>-1</sup> (Claus et Kutzner, 1985). L'effet dû aux sulfates est donc similaire à l'effet observé pour la salinité (Campos *et al.*, 2008). La production de sulfates varie d'une étude à l'autre: 6.91 mg SO<sub>4</sub> mg<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub>-N (Pan, 2007) et 7.89 mg SO<sub>4</sub> mg<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub>-N (Koenig et Liu, 1996). Finalement, la production de sulfates combinée à la production d'ion H<sup>+</sup> mène à la production d'acide sulfurique et, ainsi, cause une diminution du pH.

# 2.2.6.2 Diminution du pH et de l'alcalinité

Le pH donne une indication de la teneur de l'eau en ions  $H^+$ . La mesure du pH se définit selon un facteur logarithmique qui définit que lorsque la concentration en  $H^+$  augmente de 10 fois plus, le pH diminue d'une unité comme le démontre l'équation suivante (Lenntech, 2000):

Équation 13  $pH = -log [H^+]$ 

Comme il a été discuté précédemment, la réduction d'une mole de nitrate par *Thiobacillus* denitrificans produit 1.10 mole de H<sup>+</sup>. Par ailleurs, la production de H<sup>+</sup> a également pour effet de diminuer l'alcalinité de l'eau. L'alcalinité d'une eau se définit comme étant la présence de bicarbonates (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), de carbonates (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) et d'hydroxydes (OH<sup>-</sup>) (Drogui, 2009). Ces ions

permettent de déterminer le pouvoir tampon d'un milieu, c'est-à-dire sa capacité à limiter les variations de pH lors de l'ajout d'acide ou de base. Afin de remédier à ce problème, il est possible d'ajouter au système un substrat tampon.

# 2.2.7 Ajout d'un substrat tampon

Le substrat le plus utilisé lors de la dénitrification autotrophe sulfurée est le calcaire. Sa capacité de neutralisation se traduit par les équations suivantes (Liu et Koenig, 2002):

Équation 14 CaCO<sub>3</sub>(s)+H<sup>+</sup>= HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>+Ca<sup>2+</sup>

Équation 15  $HCO_3^+H^+=H_2CO_3$ 

Équation 16  $H_2CO_3 = H_2O+CO_2$ 

Selon différents auteurs, la consommation d'alcalinité théorique lors de la dénitrification est de  $4.5 \text{ mg CaCO}_3 \text{ mg}^{-1} \text{ NO}_3\text{-N}$  (Moon *et al.*, 2006b; Sengupta *et al.*, 2007). Par contre, en pratique les résultats diffèrent légèrement selon les études: (1) 4.77 mg CaCO<sub>3</sub> mg<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub>-N (Moon *et al.*, 2006b) et (2) 5.6 mg CaCO<sub>3</sub> mg<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub>-N (Zhang et Lampe, 1999). La méthode la plus commune pour ajouter un substrat basique est le mélange de granules de calcaire selon un rapport précis avec le soufre solide présent dans le dénitrificateur et la moins utilisée est l'ajout d'un système indépendant rempli seulement avec le substrat solide tampon (Hignette *et al.*, 1996).

# 2.2.7.1 Rapport Soufre: Calcaire et alcalinité initiale

Selon l'expérimentation en cuvée de Liu et Koenig (2002), le choix du rapport Soufre/Calcaire optimal dépend de différents facteurs dont: (1) le pH: la dénitrification sera fortement diminuée à

un pH inférieur à 6.8 et (2) le rapport alcalinité initiale versus l'alcalinité théorique. Comme suggéré également par Moon *et al.* (2006b), l'alcalinité initiale devrait être d'au moins deux fois l'alcalinité théorique pour avoir une dénitrification complète. Effectivement, l'alcalinité initiale théorique pour l'élimination de 109 mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> serait de 427 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> ce qui a été prouvé comme inefficace s'il n'y a pas d'ajout de calcaire. Par ailleurs, afin d'obtenir une dénitrification optimale, il faut que la quantité de soufre soit la plus élevée possible puisque, plus la quantité de calcaire augmente, plus le taux de dénitrification maximal diminue. De plus, chaque rapport testé dans cette étude était caractérisé par un pH à l'équilibre selon lequel le pH ne descendra pas sous cette valeur lors du processus de dénitrification: (1) à un rapport S/C de 1:1 et de 1:0.8 le pH à l'équilibre est de 6.5, (2) à un rapport de S/C de 1:0.5 et de 1:0.4 le pH à l'équilibre est de 6.3, et (3) pour un rapport S/C de 1/1.6 le pH équilibrant est de 6.8. Selon les études, le rapport optimal diffère passant de 1:1 selon Liu et Koenig (2002) par des rapports de 1:1, 1:2 et 2:1 donnant les mêmes résultats selon Van der Hoek *et al.* (1992) et, finalement, à un rapport optimal de 3:1 selon Zhang et Lampe (1999).

### 2.2.7.2 Autre substrats tampons

Dans la littérature, il y a des études concernant d'autres substrats carbonatés comme la calcite  $(CaCO_3)$ , la dolomite  $(CaMg(CO_3)_2)$ , les écailles d'huîtres  $(CaCO_3)$  et les morceaux de marbre  $(CaCO_3)$ . Ces différents substrats se distinguent par leur composition mais surtout par leurs pourcentages en CaCO<sub>3</sub> qui est de 93, 91 et 51 pour les écailles d'huîtres, la calcite et la dolomite respectivement (Moon *et al.*, 2006b). Toutes les études se concordent pour affirmer que l'écaille d'huîtres est le meilleur substrat à cause de sa grande performance pour l'élimination des nitrates, de l'obtention d'une turbidité moyenne, d'une moins grande fréquence de lavage, d'un meilleur maintien du pH et d'une meilleure production d'alcalinité (Moon *et al.*, 2006b;

Sengupta *et al.*, 2006; Sengupta *et al.*, 2007). Selon Moon *et al* (2006b), les écailles d'huîtres éliminent plus de nitrate en sept jours que la calcite et la dolomite avec des concentrations finales respectives de 1, 3 et 9 mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> parce qu'elles sont plus friables ce qui permet aux carbonates d'être disponible en solution plus facilement que les autres substrats. Ce phénomène entraîne la production de plus de sulfates pour les écailles d'huîtres dû à un plus haut taux de dénitrification (Sengupta *et al.*, 2007). De plus, les écailles d'huîtres permettent une accumulation plus faible des nitrites. (Sengupta *et al.*, 2006). Les écailles d'huîtres relâchent moins de particules que le calcaire, mais plus que les morceaux de marbre pour des turbidités finales après cinq jours de dissolution de 284, 7104 et 5.25 NTU respectivement (Sengupta *et al.*, 2007). Ce paramètre procure un grand avantage aux écailles sur le calcaire, car ce dernier se doit d'être remplacé plus rapidement étant donné que les particules relâchées sont perdues dans l'effluent du système (Sengupta *et al.*, 2007). Les écailles d'huîtres peuvent relâcher dans le milieu jusqu'à 1.0 g CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> après dix jours (Moon *et al.*, 2006b) et leur taux de dissolution est mieux contrôlé dû à un grand pourcentage de nanoflocons de calcite et une plus grande phase cristalline réduisant ainsi les fréquences de lavage (Sengupta *et al.*, 2007).

# 2.2.7.3 Cinétique de dénitrification

Depuis plusieurs années, l'évaluation des paramètres cinétiques de la dénitrification autotrophe utilisant le soufre a été largement étudiée. Il a été établi qu'à travers le biofilm, la dénitrification suivait la relation de Monod (Zeng et Zhang, 2005). La relation cinétique dépend de la concentration en nitrate, puisqu'à une faible concentration, la relation est de premier ordre dans le liquide interstitiel et à une concentration élevée la relation est d'ordre zéro (Zeng et Zhang, 2005). En général, la dénitrification démontre une cinétique de demi-ordre. Le Tableau 7 montre les différentes constantes cinétiques de demi-ordre qui ont été déterminées selon le type de substrat qui est décrite selon l'équation suivante (Darbi et Viraraghavan, 2003) :

Équation 17  $K_{1/2\nu} = -2\left(\frac{\sqrt{Ce}-\sqrt{C0}}{tH}\right)$ 

Ce = Concentration de l'effluent (mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup>);

 $C_0$  = Concentration de l'affluent (mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup>);

tH = Temps de résidence du réacteur vide

#### 

Type de substrat	[NO <sub>3</sub> -N] (mg L <sup>-1</sup> )	Taille du substrat (mm)	Porosité	$\frac{K_{L^{2\nu}}}{(\text{mg (NO_3-N)}^{1/2})^{1/2}}$ L <sup>-1/2</sup> h <sup>-1</sup> )	T° (°C)	Références
S	60	2.8-5.6	0.40	2.94-3.60	20-25	Koenig et Liu (2001)
S	60	5.6-11.2	0.40	1.49-2.04	20-25	Koenig et Liu (2001)
S	60	11.2-16	0.40	1.12-1.34	20-25	Koenig et Liu (2001)
S	60-90	2.38-4.76	0.42	1.89–2.17	21±1	Darbi et Viraraghavan (2003)
S+C*	60-90	1.34-1.54	0.42	1.89–2.17	21±1	Darbi et Viraraghavan (2003)
S	60	< 2 mm	-	0.12	30	Moon et al. (2006a)
S	60	2-5 mm	-	0.10	30	Moon et al. (2006a)
S	60	> 5 mm	-	0.03	30	Moon et al. (2006a)

\*C représente des granules de calcaires et S, le soufre

Les résultats démontrent que la grosseur de la particule de soufre influence la cinétique d'un dénitrificateur. Effectivement, leur relation est inversement proportionnelle, car plus la particule

est fine, c'est-à dire un aire spécifique élevé, plus le système est efficace. Par ailleurs, l'expérimentation de Darbi et Viraraghavan (2003) a permis d'observer que l'ajout d'une substance carbonatée comme le calcaire diminuait l'efficacité du système. Le Tableau 8 présente différents paramètres cinétiques qui ont été évalués lors de plusieurs expérimentations. Le premier paramètre discuté est  $K_s$  c'est-à-dire la constante représentant la concentration de substrat correspondant à la moitié du taux de croissance maximum (Lee et Lin, 2007). Il est défini par l'équation suivante :

Équation 18  $K_s = \frac{1}{2} k$ 

Les deux premières expérimentations offrent des résultats similaires, bien que la concentration en nitrate soit différente. Des expérimentations plus récentes démontrent des valeurs de  $K_s$  plus élevées. Les valeurs de k permettent d'évaluer le taux spécifique d'utilisation maximum de substrat selon l'équation suivante (Oh *et al.*, 2000) :

Équation 19 
$$K = -\left(\frac{ds/dt(Ks+S)}{SX}\right)$$

ds/dt =Taux de conversion du substrat en mg substrat L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>;  $K_s$  = Concentration du substrat à la moitié du taux maximum en mg L<sup>-1</sup>; S = Concentration du substrat en mg L<sup>-1</sup>; X = Concentration spécifique du substrat en mg L<sup>-1</sup>.

Ces résultats montrent que le thiosulfate est consommé plus rapidement que le soufre particulaire. Effectivement, le soufre dissous est plus facilement utilisable que le soufre solide comme le démontrent les résultats du taux spécifique maximal de croissance (1/temps),  $\mu_{max}$ , qui est beaucoup plus faible lorsqu'on utilise le thiosulfate soluble. La production de biomasse dans un système est évaluée par Y, le coefficient de rendement des microorganismes :

# Équation 20 Y= g de biomasse formée x g<sup>-1</sup> de substrat consommé

Il faut remarquer que les résultats ne sont pas exprimés dans les mêmes unités, mais que celles-ci sont équivalentes et peuvent donc être comparées entre elles. Il est donc valable d'affirmer que le thiosulfate est la forme de soufre qui produit le moins de biomasse dans un biofiltre, suivi du soufre en poudre et du soufre particulaire dont la production en biomasse est plus élevée. Finalement, la détérioration et le détachement du biofilm sont représentés par la constante  $K_d$  (Oh *et al.*, 2006) :

Équation 21  $K_d = \left(\frac{(dx/dt) - Y(-ds/dt)}{X}\right)$ 

 $dx/_{dt}$  = Taux net de la croissance bactérienne en mg SVS L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>;  $ds/_{dt}$  = Taux de conversion du substrat en mg substrat L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>; Y = Coefficient de rendement des microorganismes en g g<sup>-1</sup>; X = Concentration spécifique du substrat en mg L<sup>-1</sup>.

Or, les deux études qui ont évaluées ce paramètre démontrent que le biofilm se détériore plus rapidement avec le soufre en poudre plutôt que particulaire.

Par ailleurs, Zhang et Zeng (2006) ont développé un modèle de surface-réponse en fonction de la concentration en nitrate et du temps de rétention hydraulique (TRH).

Équation 22 Y =  $21.5714 + 0.31171*X_1 - 8.48835*X_2 + 0.0076386*(X_1)^2 + 0.79334*(X_2)^2 - 0.0076386*(X_1)^2 + 0.0076386*(X$ 

où:

 $Y = [NO_3-N] \text{ effluent (mg L<sup>-1</sup>);}$  $X_1 = [NO_3-N] \text{ affluent (mg L<sup>-1</sup>);}$ 

 $X_2 = TRH$  (h).

Cette relation polynomiale a certaines limitations puisqu'elle ne représente pas toute la réalité du système biologique. Les auteurs ont déterminé que leur système était valable selon les conditions suivantes:  $20 < X_1 > 110$  et  $2 < X_2 > 9$ .
	·				
Sources	Batchelor et Lawrence (1978)	Claus et Kutzner (1985)	Hashimoto <i>et al.</i> (1987)	Oh <i>et al.</i> (2000)	Zeng et Zhang (2005)
Substrat	S <sup>0</sup>	S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	S <sup>0</sup>	S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	S <sup>0</sup>
Type de substrat	Poudre	Dissout	Poudre	Dissout	Particules (2.38-4.76 mm)
Réacteur	En suspension	En suspension	En suspension	En suspension	filtre
Concentration NO <sub>3</sub>	30 mg (NO <sub>3</sub> -N) L <sup>-1</sup>	208 mg (NO <sub>3</sub> -N) L <sup>-1</sup>	50 mg (NO <sub>3</sub> -N) L <sup>-1</sup>	277 mg (NO <sub>3</sub> -N) L <sup>-1</sup>	0.4-1200 mg (NO <sub>3</sub> -N) L <sup>-1</sup>
Volume du réacteur	6 L	10 L	4 L	4 L	0.21 L (k <sub>s</sub> et <i>k</i> ) 0.39 L (k <sub>d</sub> et Y)
T°	20°C	30°C	25°C	33-35°C	n.a
Ks	0.03 mg (NO <sub>3</sub> -N) L <sup>-1</sup>	0.045 mg (NO <sub>3</sub> -N) L <sup>-1</sup>	n.a	3-10 mg (NO <sub>3</sub> -N) L <sup>-1</sup> 0.68-2.26 mg (NO <sub>3</sub> -N) L <sup>-1</sup>	0.40 mg (NO <sub>3</sub> -N) L <sup>-1</sup>
k	n.a	0.18 g (NO <sub>3</sub> -N) g cell. <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	n.a.	0.3-0.4 h <sup>-1</sup>	0.0062 g (NO <sub>3</sub> -N) g MVES <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>
Y <sub>NO3</sub> .	0.66 g cell. g (NO <sub>3</sub> -N) <sup>-1</sup>	0.57 mg biomasse mg (NO <sub>3</sub> -N) <sup>-1</sup>	0.62 g cell. g (NO <sub>3</sub> -N) <sup>-1</sup>	0.4-0.5 mg biomasse mg (NO <sub>3</sub> -N) <sup>-1</sup>	0.85-1.11 g MVES g (NO <sub>3</sub> -N) <sup>-1</sup>
$\mu_{max}$	n.a.	0.11 h <sup>-1</sup>	n.a.	0.12-0.20 h <sup>-1</sup>	0.006 h <sup>-1</sup>
K <sub>d</sub>	n.a.	n.a.	0.058 jr <sup>-1</sup>	n.a.	0.09-0.12 jr <sup>-1</sup>

# Tableau 8 Paramètres cinétiques lors de la dénitrification autotrophe sur soufre

### 2.2.8 Bioréacteur de dénitrification autotrophe et réacteur au calcium

Ce type de système sert à traiter l'eau en aquariologie pour éliminer les nitrates tant en eau salée, en eau saumâtre et en eau douce et ce, à différentes températures. Olivier (2007), est l'inventeur de ce système qui a été breveté. Les composantes de son système sont les suivantes : un système de filtration, une chambre aérobie, une chambre anaérobie avec soufre, des réacteurs au carbonate, une étape de dégazage, un réacteur au charbon, une tour d'oxygénation et un puisard pour l'évacuation des eaux usées (Figure 12).



Figure 12 Schéma du système de traitement inventé par Olivier (2007). 1, filtration; 2, chambre aérobie; 3, chambre anaérobie avec soufre; 4 et 5, réacteurs au calcium; 6, chambre de dégazage; 7, chambre au charbon; 8, d'une tour d'oxygénation; 9, puisard; 10, aquarium

La première étape de filtration permet d'éliminer les particules et d'autres matières solides de 50 µm et plus. La chambre aérobie contient les microorganismes nitrifiants permettant de transformer l'ion ammonium (NH4<sup>+</sup>) en nitrate et de consommer l'oxygène de l'eau avant l'arrivée de l'eau dans la chambre anaérobie. Cette dernière contient les microorganismes autotrophes anaérobies qui réduisent les nitrates et qui oxydent le soufre en sulfates. Ce réacteur est également opaque puisque les microorganismes anaérobies croissent mieux à la noirceur. Cette étape entraîne une diminution du pH et c'est pourquoi il faut ajouter au système des réacteurs au carbonate pour ramener le pH à la neutralité. La source de carbonates peut être de nature différente comme la dolomite, l'aragonite, la calcite et le corail broyé. De plus, le calcium est bénéfique pour plusieurs organismes marins, comme les coraux, qui l'utilisent dans la formation de leur squelette ou de leur coquille. L'étape suivante consiste à un dégazage grâce à un écumeur de protéines, d'une tour de dégazage ou d'un système Venturi. Cette étape est utile pour ré-oxygéner l'eau, éliminer les contaminants potentiels, tels le sulfure d'hydrogène et d'augmenter le pH. Un autre moyen d'éliminer les gaz contaminants est l'ajout d'une colonne de charbon actif fait avec du bois ou coquilles de noix de coco afin d'adsorber les polluants. L'autre étape pouvant être ajoutée au système est une « oxytower » qui utilise les algues et les bactéries pour augmenter l'élimination des contaminants potentiels restants. Elle oxygènera l'eau, augmentera le pH, éliminera les phosphates, les sulfates et les nitrates restants. La nouveauté du système est l'ajout de solutions d'anolyte et de catholyte qui sont des solutions activées par un processus électrochimique. L'ajout d'ions négatifs au milieu a différent bienfaits comme l'absorption dans le sang, ce qui aide les animaux aquatiques à transformer les aliments plus rapidement, ce qui nécessite donc moins de nourriture pour les garder en bonne santé. Par ailleurs, la solution catholyte aide à la coagulation-floculation ce qui peut réduire le nombre de filtres nécessaires. Cette solution est ajoutée un peu partout dans les étapes du système et représente 1 à 20% de volume total. Dans cette invention, l'anolyte sert de puissant désinfectant contre les bactéries, les virus et les algues. Un exemple d'expérimentation faite par l'auteur dans un aquarium de  $1.89 \text{ m}^3$  avec un nombre élevé de poissons montre que le système est efficace avec une concentration initiale de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> à 50 mg L<sup>-1</sup>. Après 3 semaines d'opération, la quantité de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> avait diminué à moins de 5 mg L<sup>-1</sup> et était stable pendant des mois.

## 2.3 Filières de traitement utilisées dans les aquariums du monde

#### 2.3.1 Biodôme de Montréal

Le Biodôme de Montréal est un musée naturel qui reproduit différents écosystèmes comme la forêt tropicale, la forêt Laurentienne, le Saint-Laurent marin, l'Arctique et l'Antarctique. Les eaux riches et poissonneuses de l'estuaire et du Golfe Saint-Laurent sont reproduites dans le secteur du Saint-Laurent marin. Il comprend un bassin de 3 250 m<sup>3</sup> d'eau de mer (28-30‰) à 10°C dans lequel résident des centaines de poissons de 20 espèces de poissons du Saint-Laurent dont la morue, le bar rayé, le flétan, le saumon, l'esturgeon noir, la raie tachetée et l'aiguillat commun, ainsi que des invertébrés dont l'étoile de mer, l'anémone, le concombre de mer, le buccin, l'oursin et le crabe. Le tout est agrémenté de différents oiseaux bordant le Saint-Laurent comme les mouettes, les canards eiders, les sarcelles à ailes vertes, le canard pilet et le tournepierre à collier (www.biodome.qc.ca). La Figure 13 montre les installations du système de traitement du bassin du Saint-Laurent.

58



Figure 13 Système de traitement du Saint-Laurent marin. DU, réacteur de dénitrification; IP, Bassin d'isolation ; MP, Bassin de la baie, Bassin médical, Bassin de la côte rocheuse ; OT, tour d'ozone ; R, réservoir; RSF, Filtre au sable rapide ; TF, Lits filtrants. Flèche blanche: circulation normal de l'eau ;
Flèche noire: chemin pour le nettoyage des filtres et changement d'eau partiel (Trépanier *et al.*, 2002)

Le débit du système de traitement principal est de 21 600 L min<sup>-1</sup> (Parent et Morin, 2000). Selon Labbé *et al.* (2003a), le système de dénitrification est composé d'un réservoir de désaération de 1 m<sup>3</sup>, un réacteur de dénitrification de 1 m<sup>3</sup>, un écumeur de protéines et un réservoir de tropplein. Le réservoir de désaération est un lit filtrant contenant un support plastique de type NuPac de 9 cm et le réacteur comprend  $0.3 \text{ m}^3$  de support bioflow de 9 mm. Puisque le système est opéré en mode hétérotrophe, il doit être alimenté par une source de carbone externe, soit le méthanol. Les principales sources d'azote et de phosphore sont la nourriture administrée aux animaux et les excréments d'oiseaux (Parent et Morin, 2000). Suite à des expérimentations faites par Labbé *et al.* (2003b), des métaux traces sont ajoutés deux fois par jour au réservoir de désaération afin d'améliorer la performance du système, soit 370 mg FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 130 mg MnSO<sub>4</sub>.4 h<sub>2</sub>O et 20 mg CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (Labbé *et al.*, 2003a). À bas dosage, (20 µg Fe L<sup>-1</sup>; 3 µg Cu L<sup>-1</sup>; 3 µg Zn L<sup>-1</sup>; 23 µg Mo L<sup>-1</sup>; 9 µg Mn L<sup>-1</sup>) la dénitrification a augmenté de 20% et à haut dosage (181 µg Fe L<sup>-1</sup>; 11 µg Cu L<sup>-1</sup>; 11 µg Zn L<sup>-1</sup>; 199 µg Mo L<sup>-1</sup>; 78 µg Mn L<sup>-1</sup>) la dénitrification a augmenté de 250% (Labbé *et al.*, 2003b). Par ailleurs, durant cette étude, ils en sont venus à la conclusion que le fer était l'élément le plus important et le principale responsable de l'augmentation de la performance. Par contre, le cuivre, le molybdène et le zinc n'ont pas d'effet sur la dénitrification, tandis que le manganèse cause une légère augmentation de la dénitrification, mais seulement en présence du fer. L'efficacité maximale du système est de 900 g NO<sub>x</sub>-N par jour (Labbé *et al.*, 2003a).

### 2.3.2 Aquarium du New Jersey

L'aquarium du New Jersey est un des plus grands aquariums de la Côte-Est des États-Unis avec 2.9 ML d'eau. La salinité de l'eau se situe entre 28-30‰ et la température est de 20°C. Le débit total du système de traitement est de 16 m<sup>3</sup> min<sup>-1</sup>, l'eau circule dans 12 filtres au sable et par la suite dans un biofiltre. La totalité de l'eau recircule en 3 h. Une augmentation des nitrates de 67.2  $\mu$ g NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> jr<sup>-1</sup> a été observée au cours des années suivant l'implantation de ce système. En 1998, une concentration en nitrate de 133 mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> a été observée ce qui est toxique pour les invertébrés d'eau douce, tandis que pour l'eau marine le maximum atteint était de 21 mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup>. La décision a donc été prise d'installer un dénitrificateur hétérotrophe au système de traitement déjà existant, comme le démontre la Figure 14 (Grguric *et al.*, 2000).



Figure 14 Schéma de système de traitement de l'aquarium du New Jersey. Flèches pleines: circulation normale; Flèches pointillées: injection du méthanol

Le système de dénitrification fonctionne séparément du système de traitement principal et son débit est de 24,6 L min<sup>-1</sup>. L'eau de mer est pompée dans un réacteur de 2.7 m<sup>3</sup> et est désaérée par *Pseudomonas* qui utilise le méthanol comme source de carbone afin de réduire l'oxygène. Ensuite, l'eau anoxique est pompée dans la chambre de dénitrification de 1.5 m<sup>3</sup>. *Pseudomonas*, fixé sur un support poreux, utilise les nitrates afin d'oxyder le méthanol qui est injecté en continu. Ensuite, l'eau de la chambre de dénitrification est amenée vers un briseur de mousse et par la suite dans un filtre au sable. Finalement, l'eau traitée est pompée dans un réservoir de 800 L afin de pouvoir diriger l'eau dans deux conduits, soit vers l'aquarium, soit à nouveau vers la chambre de dénitrification. Après 20 h d'opération, les concentrations de nitrate se sont stabilisées entre 2.8 et 4.2 mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup>, soit à 3% de la concentration initiale. Les nitrites, qui présentaient une concentration initiale de moins de 70  $\mu$ g NO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup>, ont quand à eux augmenté

après 5 h d'opération pour, par la suite, diminuer plus lentement que les nitrates. À la fin du cycle, la concentration ne représentait plus que 7% de la concentration initiale de nitrate, démontrant ainsi que la dénitrification était pratiquement complétée. La concentration en ammonium était indétectable après cinq heures de fonctionnement, cependant une concentration de 0.80 mg NH<sub>4</sub>-N L<sup>-1</sup> était mesurée à la fin du cycle. Le pH a subi une augmentation après la dénitrification, soit de 7.5 à 8.1. Aussi, l'alcalinité est également passée de 125 (2.5 meq) à 500 (10 meq) mgCaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> (1 meq correspond à 50 mg de CaCO<sub>3</sub>) dû à la production de dioxyde de carbone. Un deuxième essai a été fait en continu en ligne (débit partiel) avec le système. Après 100 jours d'opération, le système a permis de diminuer la concentration moyenne de 133 mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> à 98 mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup>.

# 2.3.3 Living Seas, Walt Disney

Cet aquarium contient 23 ML, dont 21.8 ML se retrouvent dans le réservoir principal. Le débit du système est de 129 000 L min<sup>-1</sup>et la désinfection est faite par ozonation et l'eau a une salinité de 28 à 30 ‰ . En 1991, une concentration en nitrate de 136 mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> a été mesurée dans le bassin principal de l'aquarium. La direction a donc décidé d'ajouter un système de dénitrification au système de traitement déjà présent comme représenté par la Figure 15 (Grguric et Coston, 1998). Le débit du système est de 0,20 L cm<sup>-2</sup>min<sup>-1</sup> et le diamètre du dénitratateur est de 20 cm.



Figure 15 Schéma du système de traitement de l'aquarium « The Leaving Seas » à Walt Disney

L'ajout au système consiste à un bassin de dénitrification de 1.1 ML d'eau et une série de filtres dénitrifiants. Au début, la concentration en oxygène est de 1.8 mg  $O_2 L^{-1}$  et les bactéries sont en milieu aérobie. Après un à deux jours, l'oxygène dissous devient indétectable et le système devient en anaérobie. À ce moment, les bactéries *Pseudomonas* utilisent les nitrates comme accepteur final d'électrons et les transforment en azote gazeux. La source de carbone utilisé est le méthanol. Après 350 jours de fonctionnement du système, la concentration en nitrate a diminué par un facteur trois.

### 2.3.4 Aquarium de St-Malo

L'aquarium de St-Malo possède un bassin de 60 000 L d'eau. Cet aquarium utilise un système de dénitrification autotrophe basé sur le soufre. Le système comprend deux unités identiques de dénitrification comprenant deux grandes colonnes de 240 L remplies avec 425 kg de soufre et une autre petite colonne contenant du maërl (squelettes d'algues calcaires) (Hignette *et al.*,

1996). Les deux unités fonctionnent en parallèle. Le système a d'abord été testé dans une cuve de 10 000 L d'eau de mer pour éviter le rejet de nitrites dans le système existant. Le débit était de 50 L h<sup>-1</sup> colonne<sup>-1</sup> (200 L h<sup>-1</sup> au total) et la concentration initiale de nitrate était de 320 mg L<sup>-1</sup>. En 13 jours, la concentration en NO3 a diminué de 220 à 110 mg L<sup>-1</sup>. Par la suite, le débit a été augmenté à 500 L h<sup>-1</sup> et en 15 jours, la concentration en NO<sub>3</sub> a été réduite à 20 mg L<sup>-1</sup>. Finalement, le débit a été réglé à 1 500 L h<sup>-1</sup> et la concentration en NO<sub>3</sub> a varié entre 4 et 10 mg L<sup>-1</sup>. La dénitrification fait diminuer le pH, c'est la raison pour laquelle une colonne de 150 kg de maërl a été ajoutée à chaque unité dénitrifiante. Cependant, ces colonnes colmatent rapidement et il est nécessaire de remplacer régulièrement le maërl. Aussi, la décomposition du maërl libère des ions calcium dans le système jusqu'à des concentrations voisines de 600 mg  $L^{-1}$ . Ce système a été annexé au système existant de l'aquarium et après six mois, une délitation du soufre a également été remarquée. Une injection d'air à la base permet le décolmatage de la colonne. Les principaux inconvénients de l'utilisation du système avec le soufre est l'acidification du milieu et la production de sulfates. Un débordement est survenu dans la colonne de maërl et a provoqué le relâchement d'environ 5 300 mg SO<sub>4</sub> L<sup>-1</sup>. A la suite de cet événement les poissons n'ont montré aucune modification de comportement et aucune mortalité n'a été enregistrée. Les sulfates semblent précipiter au fond de la colonne de maërl, évitant ainsi le relâchement dans le système, ce qui montre l'importance de l'utilisation d'un substrat calcaire pour maintenir le pH et éviter le relâchement des sulfates. Malgré ces imprévus, le système est toujours en opération et semble très efficace pour limiter l'accumulation des nitrates dans l'aquarium.

### 2.3.5 Filtration sur lits d'algues

La filtration sur lits d'algues consiste à faire passer l'eau à traiter à la surface d'un bassin colonisé par des microorganismes tels que des cyanobactéries, des algues filamenteuses, des diatomées, des bactéries aérobies et des champignons (Craggs, 2001). Ce lit d'algues permet d'éliminer le phosphore et l'azote de l'eau de mer sans en affecter la composition chimique et en améliorant la qualité de l'eau (Adey et Loveland, 1998). Ce type de système requiert beaucoup d'espace, de la main-d'œuvre et de l'énergie lumineuse (Adey et Loveland, 1998). Cette méthode permet au Musée Smithsonian de maintenir en captivité un récif de corail et a également faite ses preuves dans le traitement du fumier (Mulbry *et al.*, 2008).



# 3. MÉTHODOLOGIE

# 3.1 **Biofiltres**

### 3.1.1 Colonnes de soufre

Le système de dénitrification biologique qui a été utilisé pour les expérimentations à l'Aquarium du Québec est composé de quatre colonnes de plexiglas, dont trois sont identiques avec une hauteur de 150 cm, tandis que l'autre est plus courte, soit 145 cm. Leur diamètre interne est équivalent à 11.4 cm et leur volume utile est de 14.9 L pour les plus longues et de 14.4 L pour la plus courte. La Figure 16 montre une représentation schématique des colonnes utilisées en tant que bioréacteurs de dénitrification et les points d'échantillonnage 1, 2 et 3.

Le support ayant servi de remplissage est du soufre élémentaire (S<sup>0</sup>) sous forme de particules solides, dont les caractéristiques sont présentées au Tableau 9. Le soufre a été fourni par *Buck Expert*, une compagnie distributrice de produits de chasse située à Saint-Benjamin (QC, Canada). La quantité de soufre ajoutée était de 12.0 kg pour les colonnes de 150 cm et de 11.6 kg pour la colonne la plus courte. Par ailleurs, le soufre a été préalablement tamisé afin de garder seulement les morceaux plus gros que 2 mm. Le volume de liquide en présence du support était de 8.00 L pour les trois premières colonnes et de 7.25 L dans la plus courte. Le Tableau 10 résume les caractéristiques des colonnes et la Figure 17 donne une idée de l'aspect visuel du soufre dans un bioréacteur.





Tableau 9Teneurs en impuretés dans le soufre élémentaire utilisé pour la<br/>dénitrification biologique

Métal	Teneur (mg kg <sup>-1</sup> )	Métal	Teneur (mg kg <sup>-1</sup> )
Antimoine	0.013	Fer	1.237
Aluminium	19.88	Manganèse	0.034
Baryum	0.048	Nickel	0.009
Bore	0.194	Phosphore	0.071
Calcium	7.385	Plomb	0.216
Cobalt	0.002	Silicium	0.112
Chrome	0.040	Thallium	0.159
Cuivre	0.026		



Figure 17 Soufre solide dans un bioréacteur de dénitrification

### Tableau 10 Paramètres du système de filtration

Caractéristiques de colonnes	S1-S3-S4	S2	2.1
Volume total sans support (L)	14.90	14.39	5.2.5
Volume de liquide avec support (L)	8.00	7.25	
Quantité de soufre (kg)	12.0	11.6	
Diamètre interne (cm)	11.4	11.4	

### 3.1.2 Colonnes d'écailles d'huître

Les quatre colonnes remplies avec les écailles d'huîtres sont beaucoup plus petites que les précédentes. Elles ont également été fabriquées en plexiglas et ont une hauteur de 44 cm, un diamètre interne de 8 cm pour un volume total de 4.5 L.

Elles ont été remplies avec 1.6 kg d'écailles d'huîtres pour un volume utile de liquide de 1.3 L. Les écailles d'huîtres ont été achetées à *Unicoop coopérative agricole* de St-Charles de Bellechasse (QC, Canada). Le Tableau 11 résume les caractéristiques de ces colonnes et la Figure 18 montre l'aspect des écailles d'huîtres dans les petites colonnes.

Tableau II Talametres uu systeme aux ecames u nui	Tableau	11	Paramètres	du	système	aux	écailles	d'huît
---	---------	----	------------	----	---------	-----	----------	--------

Caractéristiques de colonnes	Valeurs
Volume total sans support (L)	4.5
Volume de liquide avec support (L)	1.3
Quantité d'écailles d'huîtres (kg)	1.6
Diamètre interne (cm)	8



Figure 18 Écailles d'huîtres dans une colonne au calcium

# 3.2 Caractérisation du système de traitement

Le système de traitement du Grand Océan (Figure 1) a été échantillonné à quatre endroits et un contrôle a été effectué dans un aquarium récifal possédant un système de traitement indépendant du Grand Océan. L'entrée du Grand Océan, la sortie, la récupération et l'aquarium récifal ont été échantillonnés à une fréquence de trois fois par deux semaines tandis que l'échantillonnage de la vidange a été fait à chaque lavage du filtre au sable de la boucle secondaire, c'est-à-dire à une

fréquence de 500 h de fonctionnement. Les échantillons ont été filtrés et conservés à 4°C pour les analyses de COT et de l'azote total et au congélateur à -20°C pour l'analyse du phosphore total, du phosphore soluble, des nitrites et des nitrates.

## 3.3 Acclimatation des souches bactériennes à l'eau salée

Afin de faciliter la mise en route du système, l'acclimatation de la microflore dénitrifiante sulfurique a été effectuée des fioles coniques de 500 mL pendant 224 jours. Le milieu de culture utilisé comprend 5.0 g L<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.5H<sub>2</sub>O, 2.0 g L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2.0 g L<sup>-1</sup> KNO<sub>3</sub>, 1.0 g L<sup>-1</sup> NaHCO<sub>3</sub>, 0.5 g L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub>Cl, 0.5 g L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O et 0.01 g L<sup>-1</sup> FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (Gu et al., 2004; Koenig et Liu, 2001). Les milieux ont été ensemencés avec cinq inoculums, soient du lisier de porc, des sédiments de la Baie des Ha!Ha! au Saguenay, du sol de jardin, des boues secondaires de la station d'épuration des eaux usées de la Ville de Québec et un échantillon de marais du parc des Maizerets à Québec. Un volume de 50 mL pour les inoculums liquides et un poids de 5 g ont été déposés dans 450 mL de milieu et incubés à température de la pièce, à la noirceur et sans agitation. Les nitrites et nitrates ont été analysés et, lorsque leurs concentrations étaient presque nulles, des repiquages ont étaient effectués avec un ajout supplémentaire de 5 g NaCl L<sup>-1</sup>. Ce processus a été répété en augmentant l'apport de chlorure de sodium de 5 g L<sup>-1</sup> à chaque enrichissement, jusqu'à atteindre une concentration de 25 g NaCl L<sup>-1</sup>. Une fois la concentration de sel obtenue, le thiosulfate a été remplacé par 5 g L<sup>-1</sup> de soufre élémentaire granulaire à une salinité 30 g NaCl L<sup>-1</sup>. Ces cinq derniers enrichissements ont été mélangés et ce mélange a servi pour l'inoculation du soufre élémentaire.

71

# 3.4 Démarrage du système en mode discontinu

Le mode cuvée a été démarré d'abord dans deux colonnes (Figure 18). Deux des quatre colonnes au soufre ont été inoculées avec 1.25 L du mélange des cinq derniers enrichissements. L'eau de remplissage a été prélevée directement à la sortie du bassin Grand Océan de l'Aquarium du Québec. Le système a été opéré en anaérobie. Une colonne a été exposée à la lumière du local (S3) pendant la journée, soit environ 8 h et l'autre a été maintenue à la noirceur par du papier d'aluminium (S2) (Figure 19), afin de tester l'effet de la lumière et ce, pendant 30 jours. Des échantillons ont été récoltés à chaque semaine pour des fins d'analyses sans apport de nouvelle eau. Après un mois d'attente, la biomasse des deux colonnes était bien acclimatée puisque la concentration en nitrate était nulle et les deux autres colonnes étaient prêtes à être inoculées. La colonne S1 a été inoculée avec 4 L d'eau de la colonne S3 et la colonne S4 avec le même volume mais de la colonne S2. Le volume des colonnes a été comblé avec de l'eau du Grand Océan et un mois a été nécessaire pour acclimater la biomasse.



Figure 19 Opération en mode discontinu des deux premières colonnes de dénitrification

# 3.5 Système en mode continu

### 3.5.1 Démarrage

Une fois l'acclimatation terminée, les quatre colonnes ont été opérées en mode continu. Chaque colonne a été alimentée par une pompe péristaltique digitale de marque Masterflex équipées de tubes de calibre 17 (Figure 20). Aucun apport d'oxygène n'a été effectué durant les essais, puisque la dénitrification s'effectue en milieu anoxique. De plus, toutes les colonnes au soufre ont été enrobées de papier d'aluminium afin que le système soit opéré à la noirceur. Le temps de rétention hydraulique initial était d'environ 12 h afin d'acclimater le système au mode continu et d'amener toutes les colonnes au même niveau soit que la concentration en nitrate à la sortie soit la même pour chaque bioréacteur au soufre. L'eau du Grand Océan a été pompée de deux barils de 200 L à des débits de 11 mL min<sup>-1</sup> pour les colonnes S1, S3 et S4 et à 10 mL min<sup>-1</sup> pour la colonne S2. L'eau à traiter passait d'abord dans les colonnes avec les écailles d'huîtres par le bas afin d'augmenter le pH et l'alcalinité au maximum et entrait par la suite dans les réacteurs au soufre également par le bas. Cette expérimentation a duré 35 jours.

#### 3.5.2 Effet du temps de rétention hydraulique et colonnes d'écailles d'huître

Suite à la stabilisation du système, différents TRH ont été testés en parallèle. Initialement, les colonnes d'écailles d'huîtres étaient placées en amont des colonnes de dénitrification. Ces conditions ont été conservées afin de vérifier le comportement du système à des TRH de 12 h et de 19 h. Un essai de 60 jours a été réalisé avec un TRH de 12 h avec les colonnes d'écailles d'huîtres en amont, suivi par un essai de 32 jours avec un TRH de 19 h. Par la suite, les colonnes d'écailles d'huîtres ont été placées en aval des colonnes de dénitrification à un TRH de 19 h pendant 20 jours et, par la suite, des TRH de 8, 12, 16 et 19 h ont été expérimentés parallèlement durant 15 jours. L'eau sortant des réacteurs au soufre par le haut percolait dans les colonnes

d'écailles d'huîtres par le haut de ces dernières. L'échantillonnage a été effectué à l'entrée du système, à la sortie des réacteurs au soufre et à la sortie des colonnes d'écailles d'huîtres.



Figure 20 Système en mode continu parallèle: Exemple des colonnes S1 et S4. 1, Bac de pompage. 2, Pompes péristaltiques. 3, Colonne d'écailles d'huîtres. 4, Colonne au soufre

## 3.5.3 Essais en série

Finalement, les colonnes de dénitrification ont été reliées en série afin que l'eau à traiter traverse chaque colonne l'une après l'autre pour terminer dans une colonne d'écailles d'huîtres pendant 21 jours. Une pompe a été installée entre chaque bioréacteur afin d'améliorer le transfert d'une colonne à l'autre et, ainsi, diminuer les risques de débordement. Le TRH a été ajusté à 4 h par colonne, donc des TRH cumulatifs de 4, 8, 12 et 16 h ont pu être testés par échantillonnage de

l'effluent de chaque colonne. Ensuite, des colonnes d'écailles d'huîtres ont été ajoutées entre chaque bioréacteur au soufre. Des échantillons ont été récoltés à l'entrée et à la sortie de chaque colonne de soufre, ainsi qu'à la sortie des réacteurs avec les écailles d'huîtres sur une période de 14 jours.

## 3.6 Essais de déphosphatation

### 3.6.1 Spéciation du phosphore dans l'eau du Grand Océan

Afin de vérifier sous quelles formes se retrouve le phosphore dans l'eau, une simulation a été faite par le logiciel PITEM. Ce programme est utilisé pour calculer l'équilibre parmi les phases dissoutes, solides et adsorbées dans des solutions aqueuses basé sur des constantes thermodynamiques (Djedidi, 2009). Dans cette étude, la composition du Grand Océan présentée au Tableau 1 a été utilisée pour faire la simulation. La température utilisée était de 298 K et 100 cycles d'itération ont été effectués lors de la simulation.

### 3.6.2 Précipitation chimique

#### 3.6.2.1 Solutions coagulantes

Des solutions d'agents coagulants ont été préparées en dissolvant du sulfate ferrique ( $Fe_2(SO_4)_3$ ) (*Labmat*, Québec, QC, Canada) et du sulfate d'aluminium ( $Al_2(SO_4)_3$ 14 h<sub>2</sub>O) (*Anachemia Science*, Lachine, QC, Canada) dans de l'acide sulfurique 0.01 M de façon à obtenir des solutions de 0.01 M en fer et en aluminium. Elles ont été préparées dans une solution acide pour améliorer leur stabilité dans le temps. Les agents coagulants ont été ajoutés afin d'obtenir des rapports éq./mol-P d'environ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0.

# 3.6.2.2 Procédure

Tout d'abord, les essais de coagulation chimique ont été effectués à température ambiante et en triplicata. Des volumes de 200 mL d'eau du bassin du Grand Océan, dont le pH avait été préalablement mesuré, ont été versés dans des fioles coniques en verre de 500 mL munis de chicanes internes. La quantité de solution coagulante nécessaire a été ajoutée et le pH a été mesuré. Les fioles coniques ont été agités sur une plaque agitatrice (*OrbitShaker, Lab-Line*) à 100 rpm pendant 5 min, ensuite à 50 rpm pendant 30 min. Les mesures de pH ont été prises à nouveau et les solutions dans les fioles coniques ont été décantées pendant 60 min. Une partie du surnageant a été filtrée sur des filtres en polycarbonate de 0.4 µm (*Osmonics Inc.*, Minnetonka, MN, États-Unis) et des volumes de 20 mL ont été conservés au congélateur avant leurs analyses de phosphore à l'autoanalyseur *Technicon* et à l'ICP-AES.

### 3.6.3 Électrocoagulation

#### 3.6.3.1 Procédure

Les essais d'électrocoagulation ont été effectués à température ambiante avec de l'eau du Grand Océan. Une cellule de 2 L comprenant 8 électrodes dont 4 anodes et 4 cathodes en acier inoxydable mises en alternance à une distance inter-électrode de 1 cm. Les essais ont été faits avec des anodes d'aluminium et de fer afin de comparer l'efficacité de chaque type d'électrodes. Les électrodes ont été complètement plongées dans l'eau à traiter et branchées en mode monopolaire sur un générateur de courant *XFR-40-70 (Xantrex Technology Inc.*, Burnaby, BC, Canada) par 4 fils rouges pour les anodes et 4 fils noirs pour les cathodes. Le système a été placé sur une plaque agitatrice de marque *Corning (Corning Life Sciences*, Lowell, MA, États-Unis) dans le but de maintenir l'homogénéisation de la solution pour la durée du traitement. Le générateur fonctionnait de façon à garder une intensité constante et un voltage variable. La Figure 21 montre l'installation du système.





### 3.6.3.2 Optimisation du temps de traitement et de l'intensité de courant

Des intensités constantes de 0.5, 1, 2, 3 et 4 A ont été appliquées sur une période de 60 min pour les anodes d'aluminium et de 20 à 60 min dépendant des intensités pour les électrodes de fer. Effectivement, le fer rend l'eau de couleur rouille et, après une certaine période de temps, l'eau devient verte foncée. La coloration verte est attribuable à la production de fer ferreux en solution, lequel était, par la suite, oxydé en fer ferrique, causant une coloration rouille. Le fer ferrique étant très peu soluble à pH neutre et alcalin, il s'agit de précipités d'hydroxydes de fer ferrique (Fe(OH)<sub>3</sub>). Le voltage a été noté afin de calculer la consommation d'énergie. Des volumes de 20 mL ont été récoltés avec une pipette sérologique au centre de la cellule. Les échantillons ont été par la suite filtrés sur des filtres en polycarbonate de 0.4 µm (*Osmonics Inc.*, Minnetonka, MN, États-Unis). La conservation a été effectuée à 4°C si l'analyse de phosphore était faite le lendemain, sinon les échantillons étaient congelés.

### 3.6.3.3 Essai en cuvée

Les essais en cuvée ont été effectués à température de la pièce avec la même cellule de 2 L remplie de l'eau du Grand Océan. Un essai a été fait avec les électrodes d'aluminium et un avec les électrodes de fer branchées en mode monopolaire à une intensité de 1 A pendant 5 min. Par la suite, les électrodes ont été enlevées et la totalité de l'eau a été laissée en décantation pendant 60 min. Des volumes de 20 mL ont été récoltés au centre de la cellule et filtrés sur des filtres de 0.4 µm comme dans les essais précédents. La conservation a été faite à 4°C puisque les échantillons ont été analysés pour le phosphore le lendemain.

### 3.7 Paramètres suivis

### 3.7.1 pH et alcalinité

Pour la caractérisation du système de traitement et pour les essais de dénitrification, le pH et l'alcalinité ont été mesurés le jour de l'échantillonnage au laboratoire de l'Aquarium du Québec. Un pH-mètre *Thermo Orion* de *modèle 525 Aplus* de la compagnie *Thermo Fisher Scientific* (Waltham, MA, États-Unis) branché à une électrode de pH *Orion* Ag/AgCl<sub>2</sub> rechargeable a été utilisé et calibré à chaque utilisation entre 4 et 10. L'alcalinité a également été déterminée à l'Aquarium du Québec selon la méthode 2320B (APHA *et al.*, 1999). Pour la partie déphosphatation, les mesures de pH ont été réalisées à l'INRS-ETE en utilisant un pH-mètre *Accumet Research* modèle *AR 25 Dual Channel pH/Ion meter* de *Fisher Scientific* (Nepean, ON,

Canada) équipé d'une double jonction *Cole-Parmer* avec une électrode de pH de type Ag/AgCl calibrée chaque jour entre 4 et 9 (*Cole Parmer Instrument*, Anjou, QC, Canada).

### 3.7.2 Potentiel d'oxydoréduction et oxygène dissous

Les mesures du potentiel d'oxydoréduction (POR) et l'oxygène dissous (OD) ont été prises en plongeant directement l'électrode à la sortie des colonnes de soufre. L'électrode à POR est de type platinum band de chez *Cole-Parmer* (*Cole Parmer Instrument*, Anjou, QC, Canada) et elle était branchée à un pH mètre *Accumet Research* modèle *AR 25 Dual Channel pH/Ion meter* de *Fisher Scientific* (Nepean, ON, Canada). L'oxymètre utilisé est un modèle *Oxi 330i* équipé d'une sonde *DurOx 325* tous les deux de la compagnie *WTW* (Aquamerik, St-Nicolas, QC, Canada).

### 3.7.3 Sulfate

Les sulfates ont été déterminés à l'Aquarium du Québec selon la méthode turbidimétrique 4500- $SO4^{2-}$  E (APHA *et al.*, 1999) avec une courbe standard de 0-40 mg L<sup>-1</sup>  $SO_4^{2-}$  à l'aide d'un spectrophotomètre UV de marque *HACH DR/4000V*.

### 3.7.4 Dureté et calcium

La dureté a été analysée selon la méthode 2340C (APHA *et al.*, 1999) consistant à effectuer un titrage avec du EDTA 0.02 M (*Labmat*, Québec, QC, Canada) avec comme indicateur de la calmagite (*Labmat*, Québec, QC, Canada). Le calcium a été déterminé selon la méthode présentée dans le document Weber (2007) qui suggère un titrage avec du EDTA d'un échantillon dont le pH a été augmenté entre 12 et 14 avec comme indicateur le murexide (*Labmat*, Québec, QC, Canada).

#### 3.7.5 Nutriments

Les nitrites, nitrates, phosphates et le phosphore total ont été quantifiés sur un autoanalyseur *Technicon* de *Lachat Instruments* (Loveland, CO, États-Unis) selon différentes méthodes *QuickChem* soit *31-107-04-1-A* (NO<sub>2</sub>-NO<sub>3</sub> en eau de mer), 31-115-01-1-I (PO<sub>4</sub><sup>2-</sup> en eau salée, Ptot). L'analyse du phosphore total nécessitait une étape de digestion basée sur la méthode 10-107-06-2-K (NTK). Les échantillons étaient d'abord filtrés, sauf pour le phosphore total, sur une membrane de polycarbonate de 0.4 µm (*Osmonics Inc.*, Minnetonka, MN, États-Unis) et, ensuite, congelés jusqu'aux temps des analyses. Un échantillon certifié (lot : 116191-116192 et lot : 123327-123328, *Nutrients APGplus QC Standard*, phosphate et nitrite-nitrate, *ERA*, Belpre, OH, États-Unis) a été utilisé en tant que contrôle. L'azote total et le carbone total dissous ont été analysés avec un appareil TOC-analyzers de modèle *TOC-VCPH* de la compagnie *Shimadzu Scientific Instruments* (Columbia, MD, États-Unis) avec un contrôle certifié (lot : 123157, *Demand AGplus OC Standard*, Carbone organique dissous, *ERA*, Belpre, OH, États-Unis).

# 4. RÉSULTATS ET DISCUSSION

### 4.1 Caractérisation du système de traitement

Le Tableau 12 présente les résultats moyens (± écarts-types) des différents paramètres aux cinq points d'échantillonnage du système de filtration du Grand Océan illustré à la Figure 1. La comparaison avec le Tableau 1 montre que les valeurs sont légèrement plus élevées que les données présentées ci-dessous. Il est à remarquer que la période d'échantillonnage du Tableau 1 s'est effectuée sur une année, tandis que les résultats suivants s'échelonnent sur seulement quatre mois. Par ailleurs, les méthodes d'analyses sont différentes ce qui peut expliquer le léger écart.

L'azote total englobe tous les composés azotés organiques (urée, peptides, etc.) et inorganiques comprenant les nitrites, les nitrates et l'ammonium. À chaque point d'échantillonnage, il y a un léger écart entre l'azote total et la somme des nitrites et nitrates laissant croire qu'une légère partie de l'azote est sous forme d'azote organique, donc liée à la matière organique. L'azote ammoniacal n'a pas été mesuré car il est dosé de façon continue à l'Aquarium du Québec et les valeurs n'ont jamais dépassées 0.03 mg  $NH_4^+$ -N L<sup>-1</sup> (voir Tableau 1). L'azote ammoniacal, ainsi que les nitrites, sont très peu concentrés, voire même nuls, dû à la colonisation du système par des bactéries nitrifiantes transformant l'ammonium en nitrate. Par ailleurs, aucune accumulation de nitrites n'est observée. En effet, Aleem et Alexander (1958) affirment que la nitratation se fait rapidement car les nitrites à une concentration de 12 µg NO<sub>2</sub>-N mL<sup>-1</sup> sont complètement transformés en nitrate en 90 min par *Nitrobacter agilis*. Les nitrates sont le produit final de la nitrification, par conséquent, ils s'accumulent puisqu'aucun procédé n'est intégré dans le système de traitement du Grand Océan pour effectuer la dénitrification.

81

En général, les données de phosphore total sont légèrement plus élevées que celles du phosphore soluble à l'entrée, à la sortie, à la balayeuse, ainsi qu'à la récupération. Par contre, en considérant les valeurs d'écarts-types, on peut conclure qu'à ces points d'échantillonnage, la quantité de phosphore total correspond à la quantité d'orthophosphates. Ces résultats sont tout à fait plausibles, étant donné que l'eau échantillonnée à ces endroits était pratiquement exempt de matières en suspension. Les valeurs de l'eau de vidange sont généralement plus faibles qu'ailleurs dans le système de traitement. En effet, cette eau ne se retrouve pas dans le bassin car elle représente l'eau de lavage du filtre à sable de la boucle secondaire. Cette eau est envoyée aux égouts et ne retournera pas dans le système de traitement. L'écart entre le phosphore total et les phosphates est notable, puisque cette eau contient beaucoup de MES comparativement aux autres points d'échantillonnage.

L'équilibre tend à se maintenir dans le système puisque les valeurs des paramètres à l'entrée, à la sortie, à la balayeuse et à la boucle secondaire de récupération sont semblables. Le fait que le débit du système de filtration est de  $330 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  peut expliquer cette homogénéité. Les actions de nettoyage effectuées régulièrement sont nécessaires afin de maintenir un équilibre et, ainsi, éviter une hausse excessive des éléments nutritifs, spécialement des nitrates et des phosphates

	Tableau 12	Caractérisation	du système	de traitement du	Grand Océan	à l'Aquarium du
--	------------	-----------------	------------	------------------	-------------	-----------------

Échantillonnage	Entrée (A)	Sortie (B)	Récupération (C)	Balayeuse (D)	Vidange (E)
Nitrate (mg NO <sub>3</sub> -N $L^{-1}$ )	$25.20 \pm 5.67$	$24.38 \pm 3.64$	$23.25 \pm 4.78$	$23.22 \pm 5.74$	$19.08 \pm 2.89$
Nitrite (mg NO <sub>2</sub> -N L <sup>-1</sup> )	$0.00\pm0.01$	$0.01\pm0.01$	$0.00\pm0.00$	$0.01\pm0.01$	$0.00 \pm 0.00$
Azote total (mg N L <sup>-1</sup> )	$29.25\pm0.69$	$29.21 \pm 0.77$	$28.34 \pm 0.83$	$29.90 \pm 0.81$	$20.03 \pm 1.85$
Phosphate (mg PO <sub>4</sub> -P L <sup>-1</sup> )	$3.57\pm0.27$	$3.65\pm0.39$	$3.45\pm0.42$	$3.74\pm0.39$	$2.27\pm0.49$
Phosphore (mg P L <sup>-1</sup> )	3.93 ±0.60	$4.19\pm0.76$	$4.01 \pm 0.66$	$4.10 \pm 0.41$	$3.93 \pm 0.73$
COT (mg C L <sup>-1</sup> )	$2.62 \pm 0.57$	$2.56\pm0.60$	2.40 ±0.52	$2.69\pm0.82$	$2.67\pm0.76$

Québec

# 4.2 Acclimatation de la microflore dénitrifiante

#### 4.2.1 Thiosulfate

L'acclimatation des bactéries a d'abord été effectuée avec une source de soufre soluble, le thiosulfate. Le Tableau 13 présente les résultats de nitrites et de nitrate à la fin de l'enrichissement à partir des différents inoculums. Une dénitrification efficace a été démontrée par des concentrations en nitrate et en nitrites pratiquement nulles. En moyenne, il a suffit une période d'un mois à chaque enrichissement pour dénitrifier la totalité des nitrates. Les enrichissements inoculés avec de l'eau d'un marais et des boues d'épuration ont été plus lents à dénitrifier les nitrates, contrairement à l'enrichissement provenant de la Baie des Ha! Ha! qui, dès le début, a été productive pour finalement perdre de l'efficacité avec le temps. Effectivement, chaque inoculum provenait de sources différentes, par conséquent, leur composition était distincte. L'objectif de l'acclimatation a tout de même été atteint puisque, pour tous les enrichissements, la dénitrification a été presque complète à une concentration en sel de 25 g NaCl  $L^{-1}$ .

### 4.2.2 Soufre granulaire

Suite aux résultats encourageants de l'étape précédente, le thiosulfate a été remplacé par du soufre granulaire afin d'adapter la microflore au substrat insoluble utilisé pour la dénitrification autotrophe. Les résultats sont présentés au Tableau 14. Les cultures ont été inoculées le 2 février 2008 avec les enrichissements contenant du thiosulfate. L'acclimatation a été au moins deux fois plus longue qu'avec le thiosulfate et même qu'après deux mois, certains enrichissements auraient eu besoin de plus de temps. Effectivement, selon Trouve *et al.* (1998) une période de 15 jours n'est pas suffisante à 9 souches de *Thiobacillus denitrificans* pour effectuer la dénitrification en présence de soufre élémentaire, tandis que la totalité des nitrates fut transformée en l'espace de seulement 2 jours avec du thiosulfate en milieu synthétique.

Tableau 13 Enrichissement de la microflore autotrophe en eau salée avec thiosulfate à partir de cinq inoculums ([NO<sub>3</sub>-N]<sub>i</sub> =

Durée de l'enrich	nissement (jour)	Salinité ajouté	La Baie de	s Ha! Ha!	Marais		Boue		Sol	."	Lisier	
Début	Fin	(%)	NO <sub>2</sub> -N	NO <sub>3</sub> -N								
0	15	0	0.07	0.07	17.00	104	17.0	31.0	0.09	0.28	-	0.58
15	35	5	0.10	<0.03	0.95	201	0.01	0.05	0.04	0.02	0.11	12.4
35	54	10	0.06	< 0.03	0.03	0.00	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02
54	86	15	0.07	<0.03	0.06	0.02	0.07	<0.03	0.05	< 0.03	0.08	< 0.03
86	117	20	0.06	0.05	0.02	0.04	0.06	<0.03	0.07	<0.03	0.00	0.07
117	145	25	3.36	134	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	4.00

277 mg  $L^{-1}$ ; T°= 22°C; concentration exprimée en mg  $L^{-1}$ )

 Tableau 14
 Enrichissement de la microflore autotrophe en eau salée avec 5 g de soufre granulaire à partir de cinq inoculums

débuté le 02-fév-09 ( $[NO_3-N]_i = 277 \text{ mg } \text{L}^{-1}$ ; T°= 22°C; concentration exprimée en mg L<sup>-1</sup>)

Jour de l'analyse	Salinité ajouté	La Baie de	es Ha! Ha!	Marais		Boue		Sol		Lisier	
	(‰)	NO <sub>2</sub> -N	NO <sub>3</sub> -N	NO <sub>2</sub> -N	NO3-N	NO <sub>2</sub> -N	NO <sub>3</sub> -N	NO <sub>2</sub> -N	NO <sub>3</sub> -N	NO <sub>2</sub> -N	NO <sub>3</sub> -N
176	30	0.01	251	0.04	47.0	1.45	98.0	0.70	153	15.0	180
224	30	32.0	184	7.00	27.0	12.0	70.0	12.0	136	15.0	77.0

## 4.3 **Opération du système en mode cuvée**

### 4.3.1 Effet de la lumière

La lumière régule plusieurs phénomènes biologiques soit de façon négative ou positive. Effectivement, van de Graff *et al.* (1996) ont démontré que la lumière diminuait de 30 à 50% le taux d'élimination de l'ammonium des microorganismes autotrophes dans un réacteur. Afin de vérifier l'influence de la lumière sur la dénitrification, une colonne en mode cuvée a été exposée à l'éclairage du local, tandis que l'autre a été enveloppée dans le papier d'aluminium comme présenté dans la partie méthodologie. La Figure 22 présente les résultats de différents paramètres pour ces deux colonnes.

La Figure 22a montre des profils de nitrites semblables pour les deux colonnes démontrant que la lumière n'aurait probablement pas d'effet sur la production des nitrites. Ces résultats sont en contradiction avec ceux présentés par Barak *et al.* (1998) qui dit que la lumière inhibe la réduction des nitrites résultant à une accumulation de ces derniers. Il semblerait que la lumière oxyderait les cytochromes c de la souche JR12 de *Pseudomonas* sp., inhibant ainsi la nitrite réductase lors du processus de dénitrification hétérotrophe.

L'élimination des nitrates a été plus rapide dans le système opéré à l'obscurité (Figure 22b). En date du 12 mai 2009, les concentrations en nitrate étaient semblables, par la suite, ils ont augmenté dans la colonne S3 (avec lumière) et diminué dans la colonne S2 (obscurité). En milieu naturel, Sundbäck *et al.* (2004) ont démontré que la dénitrification augmentait avec la profondeur. À l'automne, la lumière pénètre plus et la dénitrification est plus efficace en profondeur soit à la noirceur, tandis qu'au printemps, la lumière pénètre moins profondément et le taux de dénitrification est en général plus élevé dans le milieu. Par ailleurs, Olivier (2007) affirme que les bactéries anaérobies préfèrent un environnement sans ou avec peu de lumière et

que cette dernière influencerait l'efficacité d'élimination des nitrates, pour cette raison, sa chambre anaérobie a été fabriquée avec un matériel opaque.



Figure 22 Évolution des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c) et de l'alcalinité (d) de deux colonnes opérées en mode cuvée et exposées (S3) ou non (S2) à la lumière sur une période d'un mois

87

Selon la Figure 22c, le pH change de façon semblable d'une colonne à l'autre, mais est légèrement plus élevé dans la colonne S3. L'alcalinité est un paramètre très variable, il est donc difficile d'obtenir une conclusion de ce paramètre.

Le Tableau 15 présente les autres paramètres analysés lors des essais. Les résultats de sulfate et de dureté sont très peu variables et il est pratiquement impossible d'établir une corrélation avec l'un ou l'autre des autres paramètres. Les résultats de phosphates sont surprenants puisqu'une hausse importante a été observée surtout dans la colonne S2. Ces résultats sont d'autant plus inattendus car l'analyse du soufre présenté au Tableau 9, démontre une quantité faible de phosphore de  $0.071 \text{ mg L}^{-1}$ . Le relâchement du phosphore est peut-être dû à l'activité métabolique des microorganismes étant donné la différence importante entre les colonnes S2 et S3. Effectivement, la dénitrification est plus élevée dans la colonne S2 et la concentration en phosphate l'est également dans cette dernière.

#### Tableau 15 Concentrations en sulfate, dureté et phosphate lors de l'essai en cuvée sur

Jour	Sulfate (mg S-SO <sub>4</sub>	<sup>2-</sup> L <sup>-1</sup> )	Dureté (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )		
	S2	S3	S2	S3	
0	440	440	5280	5280	
8	494	520	5880	4840	
15	524	534	6080	6920	
22	440	651	5880	5880	
29	554	588	5840	6560	

l'effet de la lumière

Finalement, puisque la lumière semble avoir un effet négatif sur la dénitrification, les essais subséquents ont toujours été menés à la noirceur en enveloppant les colonnes au soufre dans du papier d'aluminium.

### 4.3.2 Démarrage des colonnes S1 et S4

Deux autres colonnes ont été démarrées en mode cuvée afin de les coloniser de bactéries dénitrifiantes. Elles ont été inoculées avec de l'eau des deux premières colonnes et remplies d'eau du bassin Grand Océan et laissées à la noirceur. La Figure 23 présente certains résultats obtenus pendant la période d'acclimatation, soit environ un peu plus d'un mois.

Les deux colonnes ont progressé similairement autant pour les nitrites que les nitrates. En effet, du 26 mai 09 au 9 juin 09, les valeurs de nitrites étaient pratiquement identiques. La colonne S4 présente une droite presque parfaite pour l'élimination des nitrates, tandis que la colonne S1 a subi un peu plus de variations. Par contre, les deux colonnes ont éliminé la totalité des nitrates sur la même période de temps. Le pH ainsi que l'alcalinité diminuent également de façon semblable dans les deux colonnes. Le pH étant devenu légèrement acide, un ajout de 1 g de NaHCO<sub>3</sub> a été fait dans chaque colonne, afin de conserver la biomasse efficace car la dénitrification est complètement arrêtée à un pH plus bas que 6 (Oh *et al.*, 2000). Cet ajout a permis d'éviter une diminution trop importante du pH et de l'alcalinité et la dénitrification a pu être complétée. Effectivement, les deux colonnes ont été acclimatées dans les mêmes conditions, c'est pourquoi les paramètres varient de façon semblable. Comme dans l'essai précédent, une augmentation des phosphates a été remarquée dans les deux colonnes. Les sulfates ont subi une légère augmentation entre le moment de l'inoculation et le jour 14.

89



Figure 23 Évolution sur un mois des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c) et de l'alcalinité (d) lors du démarrage des deux autres colonnes (S1 et S4) de dénitrification en mode cuvée
# Tableau 16Concentrations en sulfate et en phosphate lors du démarrage du 26 mai 2009

Jour	Sulfate (mg S-SO4 <sup>2-</sup> L <sup>-1</sup>	)	Phosphate (mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> L <sup>-1</sup>		
	S1	S4	S1	S4	
0	537	571	-	-	
7	855	751	16.9	16.1	
14	880	902	18.1	21.8	
21	797	793	24.2	27.0	
28	719	700	24.4	29.8	
35	740	712	24.8	23.8	

des colonnes S1 et S4

Les résultats initiaux de phosphate ont été calculés selon la concentration en phosphore dans l'eau d'inoculation et dans l'eau du Grand Océan. Effectivement, aucun échantillon n'a été récolté directement des colonnes lors de l'inoculation. Les biomasses dénitrifiantes des quatre colonnes étant dès lors acclimatées, les essais en mode continu ont démarré.

# 4.4 Opération du dénitratateur en mode continu

# 4.4.1 Démarrage à un TRH de 12 h avec colonnes d'écailles d'huîtres en amont

Le premier essai en mode continu a été effectué à un TRH de 12 h et en faisant passer l'eau à traiter dans un premier temps dans une colonne d'écailles d'huîtres, et par la suite dans une colonne de soufre. L'eau entrait par le bas dans les deux colonnes. Le Tableau 17 présente les résultats moyens pour plusieurs paramètres suivis pendant 59 jours, soit l'eau du Grand Océan avant son entrée dans les colonnes d'écailles d'huîtres, et les mesures prises à la sortie de cellesci. Tous les paramètres varient très peu dans le temps. En effet, les données variaient très peu dans le temps, c'est pourquoi ils ont été présentés sous forme de tableau plutôt que de figure. Les valeurs sont très comparables avec celles mesurées à l'entrée. Ce résultat laisse supposer qu'il y a très peu de réactions qui se produisent au niveau des colonnes d'écailles d'huîtres placées en amont des colonnes de soufre. Ainsi l'utilité d'une colonne d'écailles d'huîtres placée en amont du système est remise en question.

Effectivement, la composition de l'eau de mer du Grand Océan (Tableau 1) est déjà très riche en ions. Il se peut que l'eau soit déjà saturée en calcium et en carbonates et qu'il n'y ait pas de dissolution des écailles d'huîtres.

La Figure 24 montre le comportement de différents paramètres dans chaque système à la sortie des colonnes de soufre. Chaque système réagit différemment, même si les systèmes ont été opérés dans des conditions semblables. Par contre, les colonnes n'ont pas toutes été inoculées en même temps. Les colonnes S2 et S3 ont été plus longtemps en mode discontinu, soit sans circulation. La colonne S2 a été celle qui a le mieux fonctionné et il est possible de faire le lien entre les différents paramètres. Au cours des 20 premiers jours, une augmentation des nitrites a été observée, par la suite, il y a eu une disparition progressive. Suite à cette période, du jour 20 au jour 30, la concentration en nitrate a été à son plus bas, le tout associé à une diminution du pH et de l'alcalinité également à leur niveau le plus bas de l'essai. Il est donc possible d'affirmer qu'il existe un lien direct entre l'élimination des nitrates et la diminution du pH et de l'alcalinité, comme il a été également démontré dans d'autres études (Hignette *et al.*, 1996; Gu *et al.*, 2004; Pan, 2007). Les autres colonnes n'ont pas eu une période d'efficacité aussi importante que la colonne S2.

# Tableau 17Concentrations moyennes et écarts type de différents paramètres analysés à

Paramètres	Initiale (Grand Océan)	H1	H2	H3	H4
Nitrites (mg NO <sub>2</sub> -N $L^{-1}$ )	0.00 ± 0.01	$0.02 \pm 0.03$	$0.07 \pm 0.08$	$0.04 \pm 0.03$	0.04 ± 0.06
Nitrates (mg NO <sub>3</sub> -N $L^{-1}$ )	27.01 ± 2.35	27.25 ± 1.12	27.20 ± 1.29	26.79 ± 1.53	26.50 ± 1.79
pH	$7.92 \pm 0.10$	$7.90\pm0.08$	$7.91\pm0.07$	$7.95\pm0.05$	$7.93 \pm 0.07$
Alcalinité (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	186 ± 7	186 ± 7	186 ± 8	186 ± 4	187 ± 7
Dureté (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	5173 ± 201	5186 ± 175	5172 ± 160	5282 ± 135	5232 ± 159
Calcium (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	340 ± 16	335 ± 12	331 ± 17	333 ± 25	324 ± 37
Sulfate (mg S-SO $_4^{2-}$ L <sup>-1</sup> )	671 ± 39	675 ± 36	656 ± 41	678 ± 49	671 ± 44
Phosphate (mg P-PO <sub>4</sub> <sup><math>3-</math></sup> L <sup>-1</sup> )	$3.38 \pm 0.18$	3.31 ± 0.17	3.30 ± 0.12	3.29 ± 0.18	$3.25 \pm 0.17$

l'entrée (initiale) et à la sortie des colonnes d'écailles d'huîtres sur une

période de 59 jours



Figure 24 Évolution des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c) et de l'alcalinité (d) pour les colonnes S1, S2, S3 et S4 en mode continu à un TRH de 12 h avec des colonnes d'écailles d'huîtres en amont

Les paramètres présentés dans le Tableau 18 ont très peu variés lors de l'essai. Pour cette raison, leur évolution n'a pas été présentée dans une figure.

Tableau 18Concentrations moyennes et écarts type mesurées à l'entrée (initiale) et à la<br/>sortie des colonnes de soufre pour un TRH de 12 h sur une période de 59

Paramètres	Initiale (Grand Océan)	S1	S2	S3	S4
Dureté (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	5218 ± 50	5198 ± 138	5208 ± 162	5282 ± 135	5232 ± 159
Calcium (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	331 ± 5	334 ± 17	334 ± 15	333 ± 16	327 ± 25
Sulfate (mg S-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> L <sup>-1</sup> )	670 ± 10	687 ± 42	$702 \pm 49$	680 ± 46	681 ± 47
Phosphate (mg P-PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> L <sup>-1</sup> )	3.29 ± 0.03	3.26 ± 0.21	3.19 ± 0.11	3.24 ± 0.21	3.28 ± 0.18

jours

Afin de vérifier que l'environnement anaérobie a été atteint, la concentration en oxygène et le potentiel d'oxydoréduction ont été suivis tout au long de l'expérimentation. La concentration d'oxygène dissous a toujours été autour de 1 mg  $O_2 L^{-1}$  à la sortie des colonnes de soufre. Effectivement, l'électrode a été insérée dans le haut de la colonne à travers une petite ouverture permettant la sortie des gaz formés lors de la dénitrification, soit principalement le N<sub>2</sub>. C'est pour cette raison qu'on a pu détecter une faible concentration d'oxygène. Par ailleurs, le potentiel redox a toujours présenté des valeurs négatives avec des fluctuations importantes passant de - 9 mV au début à -337 mV durant les plus grandes périodes de dénitrification. Ces résultats sont également valables pour les autres essais en parallèle. Lors des essais en série, ces paramètres n'ont pas été suivis. Des sondes automatiques de mesure de potentiel d'oxydoréduction et d'oxygène pourraient être intégrées dans un système pleine échelle afin d'éviter les erreurs de mesure.

Au vu des faibles performances de trois des quatre colonnes à un TRH de 12 h, il a été décidé d'augmenter le TRH à 19 h pendant 32 jours.

# 4.4.2 Essai à un TRH de 19 h avec colonnes d'écailles d'huîtres en amont

La séquence de traitement n'a pas été modifiée pour cet essai et les résultats à la sortie des écailles d'huîtres ressemblent à ceux de l'essai précédent, c'est-à-dire peu de variabilité par rapport à l'eau entrant dans le système, comme en démontre le Tableau 19. Ces résultats montrent encore une fois l'inutilité des colonnes d'écailles d'huîtres en amont des colonnes de soufre.

Tableau 19Concentrations moyennes et écarts type de différents paramètres analysés à<br/>l'entrée (initiale) et à la sortie des colonnes d'écailles d'huîtres sur une<br/>période de 32 jours

Paramètres	Initiale (Grand Océan)	HI	H2	НЗ	H4
Dureté (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	5243 ± 59	5236 ± 36	5229 ± 76	5243 ± 67	5237 ± 77
Calcium (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	341 ± 10	346 ± 16	$340 \pm 27$	345 ± 10	341 ± 12
Sulfate (mg S-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> $L^{-1}$ )	699 ± 32	706 ± 24	$694 \pm 29$	687±23	693 ± 43
Phosphate $(mg P-PO_4^{3-} L^{-1})$	3.33 ± 0.07	3.25 ± 0.10	$3.25 \pm 0.09$	3.24 ± 0.15	3.24 ± 0.12

Par contre, les résultats pour la dénitrification sont plus encourageants que pour l'essai précédent comme le confirme la Figure 25. La Figure 25a illustre encore une fois une période initiale de production de nitrites due aux changements de débit. Ce changement nécessite une période d'adaptation pour la biomasse qui résulte en une période de production de nitrites. Par contre, une fois le système bien enclenché, les nitrites se retrouvent en concentrations presque nulles. Les différents réacteurs réagissent de façon similaire pour ce qui est de la production des nitrites, sauf pour la colonne S4 qui a eu une production moindre en nitrites. Cette dernière est également celle qui dénitrifie moins, puisqu'après un mois la dénitrification est seulement de 56%, comparativement aux trois autres dont l'élimination est de plus de 80%. La différence d'efficacité entre chaque bioréacteur peut être expliquée par les chemins préférentiels qui se forment dans les colonnes. Les profils de dénitrification et d'alcalinité sont très semblables et suivent la même tendance. Ces profils démontrent encore une fois la corrélation entre la dénitrification et l'abaissement de l'alcalinité. Effectivement, la colonne S3 étant la plus efficace pour la dénitrification, est également celle qui a présenté la plus grande diminution de l'alcalinité. Inversement, la colonne S4 qui a été la moins efficace, présente l'alcalinité la plus élevée. La Figure 25c ne permet pas d'établir des conclusions aussi évidentes étant donné que les valeurs de pH sont plus variables. Cependant, il est possible d'affirmer que, comme l'alcalinité, la colonne la moins efficace montre un pH plus élevé et la plus dénitrifiante, un pH plus acide. On voit tout de même une diminution progressive du pH lors des dix à douze premiers jours, période au cours de laquelle les valeurs de nitrites, de nitrate et d'alcalinité ont toutes diminuées.



Figure 25 Évolution des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c) et de l'alcalinité (d) pour les colonnes S1, S2, S3 et S4 en mode continu à un TRH de 19 h avec des colonnes d'écailles d'huîtres en amont

Le Tableau 20 présente les autres paramètres analysés durant les derniers essais. Ceux-ci varient très peu, ce qui ne permet pas de les corréler avec d'autres paramètres.

# Tableau 20Concentrations moyennes mesurées et écarts type à l'entrée (initiale) et à la<br/>sortie des colonnes de soufre pour un TRH de 19 h sur une période de 32

Paramètres	Initiale (Grand Océan)	S1	S2	S3	S4
Dureté (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	5243 ± 59	5249 ± 73	5271 ± 101	5249 ± 86	5249 ± 49
Calcium (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	341 ± 10	350 ± 8	341 ± 10	343 ± 11	342 ± 12
Sulfate (mg S-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> $L^{-1}$ )	699 ± 32	737 ± 26	751 ± 27	$750 \pm 21$	714 ± 31
Phosphate $(mg P-PO_4^{3-} L^{-1})$	$3.33 \pm 0.07$	$3.26 \pm 0.07$	3.22 ± 0.15	3.21 ± 0.14	3.24 ± 0.09

0	POL	
U		
 ~	 	

La dénitrification a été plus importante à un TRH de 19 h, par contre, l'inutilité des réacteurs au calcium en amont a encore une fois été prouvée dans cet essai. Le prochain essai permettra de vérifier si les écailles d'huîtres pouvaient influencer certains paramètres, mais cette fois ci en plaçant la colonne d'écailles d'huîtres en aval des bioréacteurs au soufre.

# 4.4.3 Opération avec colonnes d'écailles d'huîtres an aval

# 4.4.3.1 Essai à un TRH de 19 h

Deux colonnes ont été testées avec les colonnes d'écailles d'huîtres en aval à un TRH de 19 h pendant 20 jours et les résultats sont présentés à la Figure 26. L'eau entrait par le haut dans les colonnes, ce qui permettait une percolation à travers les écailles d'huîtres. La production de nitrites a été moindre pour ces deux colonnes étant donné que le débit n'a pas été modifié, soit des concentrations inférieures à 1 mg NO<sub>2</sub> -N L<sup>-1</sup>, comparativement à plus de 5 mg NO<sub>2</sub> -N L<sup>-1</sup> pour l'expérience précédente (Figure 25a) À la Figure 26a, on remarque que la colonne S1 a présenté une légère augmentation des nitrites comparativement à l'autre colonne de soufre. Cependant, on peut remarquer que lorsque l'eau passe à travers la colonne H1, la concentration de nitrites diminue d'un facteur de 5 à 8. Ce résultat montre que les colonnes d'écailles d'huîtres permettent d'éliminer les nitrites qui peuvent être formés dans les réacteurs au soufre. L'expérimentation de Sengupta et al. (2007) a permis de vérifier que les écailles d'huîtres empêchent l'accumulation des nitrites. Cet avantage que procurent les écailles d'huîtres est de taille, puisqu'elles peuvent neutraliser un éventuel épisode de production de nitrites qui pourrait subvenir dans les réacteurs au soufre. Comme il a été mentionné dans le chapitre 1, les nitrites sont plus toxiques pour les animaux aquatiques que les nitrates. Selon la Figure 26b, les écailles d'huîtres n'ont pas d'effet sur l'élimination des nitrates. La différence notable qu'il est possible d'observer, lorsque les réacteurs au calcium sont placés à la suite des dénitratateurs, est illustrée aux Figure 26c et 26d. Les écailles d'huîtres permettent d'augmenter le pH, soit en moyenne de 0.5 unité de pH, et d'accroître l'alcalinité d'environ 100 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>. Effectivement, le pH de l'eau sortant du réacteur à soufre étant plus acide, la dissolution des écailles d'huîtres est plus facile et cela permet un relâchement dans le milieu de carbonate  $(CO_3^{2^-})$  et de calcium  $(Ca^{2^+})$ entraînant ainsi une augmentation du pH et de l'alcalinité. L'augmentation du calcium à la sortie des réacteurs au calcium est illustrée par la Figure 26e. D'ailleurs, la dureté est également influencée par l'augmentation des ions calcium. Les valeurs de dureté étant plus variables, il est plus difficile de conclure de l'influence des écailles d'huîtres. Par contre, il est tout de même possible d'affirmer que la dureté augmente à la sortie des réacteurs au calcium.



Figure 26 Évolution des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c), de l'alcalinité (d), du calcium (e) et de la dureté (f) à la sortie des colonnes S1 et S2 et des colonnes H1 et H2 placées en aval en mode continu à un TRH de 19 h

Les écailles d'huîtres ne semblent pas avoir d'effet sur les sulfates et les phosphates comme le démontre le Tableau 21.

Tableau 21Concentrations moyennes et écarts type des sulfates et des phosphates à<br/>l'entrée (initiale) et à la sortie des colonnes au soufre et au calcium pour un<br/>TRH de 19 h sur une période de 20 jours

	Initiale (Grand Océan)	S1	H1	S2	H2	
Sulfate (mg S-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> L <sup>-1</sup> )	$714 \pm 40$	772 ± 19	761 ± 37	770 ± 34	779 ± 42	
Phosphate $(mg P-PO_4^{3-}L^{-1})$	3.29 ± 0.11	$3.34 \pm 0.11$	3.34 ± 0.20	3.15 ± 0.26	3.33 ± 0.17	

Cet essai a permis de vérifier l'utilité des colonnes d'écailles d'huîtres en aval du système. Effectivement, elles permettent d'augmenter le pH, l'alcalinité et la dureté presqu'aux conditions initiales et d'éliminer les nitrites qui pourraient être produits dans les réacteurs biologiques.

# 4.4.4 Effet du temps de rétention hydraulique

### 4.4.4.1 Essai en parallèle

Le TRH qui a été le plus efficace est de 19 h. Le système étant maintenant bien acclimaté à un mode continu, des débits plus élevés peuvent être testés. Chaque réacteur a été soumis à des débits différents avec une colonne d'écailles d'huîtres en aval ce qui a permis de tester des TRH de 8, 12, 16 et 19 h. Le système avec un TRH de 19 h sert de contrôle étant donné que ces conditions de fonctionnement n'ont pas été modifiées. La Figure 27 montre l'évolution des différents paramètres suivis dans chaque bioréacteur.



Figure 27 Évolution des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c) et de l'alcalinité (d) à des temps de rétention de 8 h, 12 h, 16 h et 19 h récoltés à la sortie des colonnes au soufre en mode continu parallèle avec des colonnes d'écailles d'huîtres en aval

En regardant de façon générale les quatre graphiques de la Figure 27, on peut remarquer que les colonnes avec des TRH de 12, 16 et 19 h agissent de façon similaire dans le temps. Effectivement, ces trois colonnes dénitrifient presqu'à 100% dès les premiers jours d'opération et ce, jusqu'à la fin de l'essai. Par ailleurs, elles n'ont pas subi de grosse période de production

de nitrites, ceci laisse croire que la biomasse n'a pas eu besoin de s'adapter aux nouvelles conditions. La colonne qui a un TRH de 8 h dénitrifie seulement 50% des nitrates initiaux. De plus, celle-ci a subi une période de production de nitrites, nécessitant ainsi une période d'adaptation plus importante que les autres colonnes. Le pH a diminué d'environ 0.5 unité pour un TRH de 8 h, tandis que pour les autres TRH, il a diminué d'au moins une unité. Ce résultat montre encore une fois que la dénitrification diminue le pH. Le principe est le même pour l'alcalinité comme le démontre la Figure 27d.

Le Tableau 23 présente les résultats de pH, de calcium, de duretés, de sulfates et de phosphates pour les différents TRH à la sortie des réacteurs au soufre et à la sortie des réacteurs au calcium. Comme il a été montré précédemment, les colonnes d'écailles d'huîtres permettent d'augmenter le pH, le calcium et la dureté. Le pH à la sortie des réacteurs avec les écailles d'huîtres est semblable pour les différents TRH ce qui peut laisser croire qu'il y a une limite à l'augmentation du pH à environ 7.7, probablement dû à la limite de solubilité des écailles d'huîtres. La même observation peut être faite pour le calcium étant donné que la concentration maximale de calcium observée à la sortie des colonnes d'écailles d'huîtres est d'environ 400 mg Ca<sup>2+</sup> L<sup>-1</sup>. Les résultats de dureté sont très peu précis étant donné que la méthode nécessite une dilution d'un facteur 100 et que le dosage se fait par titrage. Il est donc difficile de tirer des conclusions à partir de ce paramètre. Contrairement aux essais précédents, il est possible de remarquer une hausse significative des sulfates pour les TRH de 12, 16 et de 19 h. Comme précédemment observée, les résultats de phosphates sont très peu concluants, puisqu'aucune tendance n'est observée.

# Tableau 22Concentrations moyennes et écarts type du calcium, de la dureté, des sulfates et des phosphates à l'entrée<br/>(initiale) et à la sortie des colonnes au soufre et au calcium pour des TRH de 8, 12, 16 et 19 h sur une période de

# 14 jours

Paramètres	Initiale	ale TRH 8 h		TRH 12 h		TRH 16 h	TRH 16 h		TRH 19 h	
		Soufre	Écailles	Soufre	Écailles	Soufre	Écailles	Soufre	Écailles	
pH	$7.92\pm0.01$	$7.43\pm0.21$	$7.72\pm0.08$	$6.77\pm0.08$	$7.60\pm0.07$	$6.81\pm0.10$	$7.68\pm0.12$	$6.79\pm0.20$	$7.64\pm0.06$	
Calcium (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	347 ± 4	360 ± 14	410 ± 20	354 ± 15	405 ±13	353 ± 14	392 ±17	352 ± 11	404 ± 19	
Dureté (mgCaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	5309 ±46	5343 ± 100	5389 ± 83	5383 ±73	5491 ± 136	5337 ± 257	5503 ± 107	5349 ± 64	$5383 \pm 95$	
Sulfate (mg S- $SO_4^{2-}L^{-1}$ )	688 ± 14	725 ± 35	725 ± 28	769 ± 18	776 ± 36	765 ± 19	774 ±35	745 ± 18	741 ±11	
Phosphate (mg P-PO $_4^{3-}$ L <sup>-1</sup> )	$3.07\pm0.07$	$3.19\pm0.14$	$3.18 \pm 0.24$	3.37 ± 0.11	$2.82\pm0.27$	3.20 ± 0.31	$2.89\pm0.42$	3.33 ± 0.60	3.01 ± 0.28	

Dans les essais précédents, il a été possible de remarquer que les colonnes d'écailles d'huîtres permettaient de diminuer les concentrations de nitrites. Dans cet essai, la colonne avec un TRH de 8 h est la seule qui a démontré une production de nitrites. La concentration maximale de nitrites qui a été produite par cette colonne est de 1.2 mg NO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup> et la colonne d'écailles d'huîtres placée en aval de cette colonne permet de neutraliser seulement 0.64 mg NO<sub>2</sub>-N L<sup>-1</sup>. Ce résultat indique que les écailles d'huîtres permettent d'éliminer une partie des nitrites.

Cet essai permet de conclure que des TRH de 12, 16 et 19 h sont efficaces pour dénitrifier presque la totalité des nitrates initiaux. Par contre, un TRH de 8 h n'est pas suffisant puisque la dénitrification se fait à peine à 50%.

# 4.4.4.2 Essai en série avec colonne d'écailles d'huîtres en fin de système

Les colonnes branchées en série permettent de vérifier l'efficacité de différents TRH et du même coup d'avoir un débit d'entrée plus élevé. En effet, chaque colonne a un TRH de 4 h qui s'additionne d'une colonne à l'autre. La Figure 28 montre les résultats pour l'essai en série à la sortie de chaque colonne au soufre, soit à des TRH de 4, 8, 12 et 16 h. Les Figures 28c et 28d montrent aussi les résultats à la sortie de la colonne d'écailles d'huîtres placée en aval des quatre colonnes de soufre. La Figure 28a montre que plus les colonnes sont en aval du système, plus il y a production de nitrites. L'élimination des nitrates se stabilisent entre 5 et 10 mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup> et ce, pour les TRH de 8, 12 et 16 h. Le débit d'entrée dans ces colonnes est peut-être trop élevé pour permettre à la biomasse de dénitrifier les nitrates sortant de la première colonne. De plus, déjà après la deuxième colonne, soit pour un TRH de 8 h, le pH est d'environ 7, tandis qu'après 16 h, le pH se situe plutôt près de 6. D'ailleurs, à la Figure 28d, il est possible de remarquer que l'alcalinité a chuté à près de 60 mg CaCO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>. Les valeurs de pH et d'alcalinité sont assurément trop basses pour permettre la dénitrification déjà après 8 h.



Figure 28 Évolution des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c) et de l'alcalinité (d), à des temps de rétention de 4, 8, 12 et 16 h, après les colonnes au soufre en mode continu en série avec des colonnes d'écailles d'huîtres en aval

Les Figures 28c et 28d montrent bien que les colonnes d'écailles d'huîtres augmentent le pH et l'alcalinité comme il a été démontré précédemment.

Le Tableau 23 présente les autres paramètres suivis lors de l'essai. La quantité de calcium varie très peu d'une colonne à l'autre sauf évidemment à la sortie de la colonne au calcium qui permet d'augmenter la concentration en calcium. La dureté est encore une fois trop peu précise pour tirer des conclusions. Pour ce qui est des sulfates, il est possible de remarque une légère augmentation à partir d'un TRH de 8 h. Une fois de plus, les concentrations de phosphates ne varient pas.

Tableau 23Concentrations moyennes et écarts type du calcium, de la dureté, des sulfates<br/>et des phosphates à l'entrée (initiale) et à la sortie des colonnes au soufre en<br/>série pour des TRH de 4, 8, 12 et 16 h et à la sortie de la colonne d'écailles<br/>d'huîtres en aval sur une période de 14 jours

Paramètres	Initiale	TRH=4 h	TRH=8 h	TRH=12 h	TRH=16 h	Écailles
Calcium (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	331 ± 8	341 ± 7	343 ± 11	340 ± 11	343 ± 9	387 ± 21
Dureté (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	5340 ± 70	$5360 \pm 67$	$5347 \pm 48$	5340 ± 49	5360 ± 36	5440 ± 72
Sulfate (mg S-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> L <sup>-1</sup> )	671 ± 19	711 ± 32	$732 \pm 20$	$740 \pm 26$	731 ± 22	752 ± 27
Phosphate (mg P-PO4 <sup>3-</sup> L <sup>-1</sup> )	3.48 ± 0.11	$3.50 \pm 0.07$	$3.48 \pm 0.12$	3.37 ± 0.21	$3.43 \pm 0.07$	3.46 ± 0.10

Étant donné que la dénitrification atteint un plateau aux environs de 5 mg  $NO_3$ - $N L^{-1}$  et que le pH et l'alcalinité chutent à un niveau où la dénitrification semble s'avérer difficile, des colonnes d'écailles d'huîtres ont été insérées entre la 2<sup>e</sup> et la 3<sup>e</sup> colonne de soufre soit entre le TRH de 8 et de 16 h.

# 4.4.4.3 Essai en série avec colonne d'écailles d'huîtres en milieu et en fin de système

Afin de vérifier si le pH légèrement acide et la diminution de l'alcalinité sont la source de la mauvaise efficacité su système, une colonne d'écailles d'huîtres a été intégrée au centre du système en plus de celle déjà présente en aval. Les résultats sont présentés à la Figure 29. Les résultats à la sortie des colonnes d'écailles d'huîtres ne sont pas intégrés dans ces figures pour éviter de trop charger ces dernières. Ils seront plutôt présentés dans le Tableau 25.

Il est possible de remarquer que la colonne d'écailles d'huîtres placée entre 8 et 12 h a permis d'avoir une meilleure efficacité pour l'élimination des nitrates (Figure 29b). Effectivement, après 12 jours, les nitrates sont nuls à la sortie des troisième et quatrième colonnes. Par contre, il y a eu une hausse des nitrates les jours suivants, pour par la suite, décroître à la fin de l'essai. De plus, cette colonne d'écailles d'huîtres a permis de garder un pH plus stable aux alentours de 7.0 et 7.5. L'alcalinité a été variable, mais a augmenté à un TRH de 12 h. Cette expérience montre que la colonne insérée au milieu du système est d'une grande utilité et permet d'augmenter la dénitrification. Les résultats présentés au Tableau 24 indiquent également que cette colonne permet d'augmenter le pH et l'alcalinité afin que la dénitrification puisse se poursuivre. Le calcium a également augmenté suite au passage de l'eau dans cette colonne et a augmenté progressivement de colonne en colonne jusqu'à la fin. Les autres paramètres sont dans la même lignée que les autres essais.



Figure 29 Évolution des nitrites (a), des nitrates (b), du pH (c) et de l'alcalinité (d) à des temps de rétention de 4, 8, 12 et 16 h après les colonnes au soufre en mode continu en série avec des colonnes d'écailles d'huîtres au milieu et en aval sur une période de 21 jours

Tableau 24Concentrations moyennes et écarts type du pH, de l'alcalinité, du calcium, de<br/>la dureté, des sulfates et des phosphates à l'entrée (initial) et à la sortie des<br/>colonnes au soufre placées en série pour des TRH de 4, 8, 12 et 16 h et à la<br/>sortie des colonnes au calcium au milieu et en aval sur une période de 21<br/>jours

Paramètres	Initiale	TRH=4 h	TRH=8 h	Écailles	TRH=12 h	TRH=16 h	Écailles
pH	$7.89\pm0.04$	$7.45 \pm 0.11$	$7.04\pm0.18$	$7.42\pm0.10$	$7.24 \pm 0.13$	$6.87\pm0.18$	$7.45\pm0.09$
Alcalinité (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	$159 \pm 2$	111 ± 11	75 ± 39	153 ± 38	93 ± 27	$77\pm18$	172 ± 22
Calcium (mg Ca <sup>2+</sup> L <sup>-1</sup> )	348 ± 11	364 ± 9	367 ± 7	395 ± 14	399 ± 7	398 ± 7	439 ± 17
Dureté (mg CaCO <sub>3</sub> L <sup>-1</sup> )	$5439\pm89$	5556 ± 86	5542 ± 53	5638 ± 89	5653 ± 53	5587 ± 35	5698 ± 104
Sulfate (mg S-SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> L <sup>-1</sup> )	$712 \pm 26$	746 ± 24	763 ± 28	$762 \pm 40$	$762 \pm 40$	783 ± 15	798 ± 35
Phosphate $(mg P-PO_4^{3-}L^{-1})$	3.38 ± 0.21	3.48 ± 0.13	$3.42 \pm 0.34$	3.57 ± 0.21	3.26 ± 0.35	$3.42 \pm 0.24$	3.60 ± 0.27

# 4.5 **Déphosphatation**

Contrairement aux attentes, le système de dénitrification et toutes les configurations qui ont été testées ne permettent pas d'éliminer le phosphore. Comme il a été démontré dans d'autre études (Takeuchi et Komada, 1998; Ádám *et al.*, 2007), le phosphore peut être éliminé par un matériau contenant du calcium comme les écailles d'huîtres. Dans la présente étude, les écailles d'huîtres n'ont toutefois pas permis l'élimination du phosphore. La teneur initiale en carbonates dans l'eau du Grand Océan étant élevée, les écailles d'huîtres n'ont pas été dissoutes de manière importante, ce qui n'a pas permis de rendre le calcium disponible pour la précipitation du phosphore.

# 4.5.1 Phosphore dans le Grand Océan

La simulation avec le logiciel PITEM a permis de prédire sous quelles formes se retrouvaient les phosphates dans l'eau du Grand Océan. Les résultats sont présentés au Tableau 25.

# Tableau 25 Formes et concentration de phosphore présentes dans le Grand Océan selon une simulation par le logiciel PITEM

Espèces	PO4 <sup>3-</sup>	$Ca_2Fe(PO_4)^{3+}$	$CaH_2 (PO_4)^+$	CaH (PO <sub>4</sub> )	Ca (PO <sub>4</sub> ) -	NaH (PO <sub>4</sub> ) <sup>-</sup>
Concentration (mM)	3.10 E <sup>-24</sup>	1.00 E <sup>-5</sup>	4.79 E <sup>-21</sup>	6.20 E <sup>-19</sup>	1.65 E <sup>-19</sup>	1.40 E <sup>-4</sup>

Cet exercice a permis de découvrir que les formes prédominantes de phosphore seraient  $NaH(PO_4)^-$  et  $Ca_2Fe(PO_4)^{3+}$  qui sont toutes deux des formes solubles comme toutes les formes présentées au Tableau 25. Alors, aux conditions de pH du Grand Océan, les phosphates se retrouvent tous sous formes solubles.

# 4.5.2 Coagulation chimique

Des solutions de sulfate ferrique et de sulfate d'aluminium ont été utilisées à différents rapport éq./mol-P dont les résultats sont présentés à la Figure 30.



Figure 30 Concentrations de phosphore en solution et pH après coagulation avec des solutions de sulfate ferrique et de sulfate d'aluminium à différents rapports éq/mol-P

Selon toutes attentes, plus le rapport éq/ mol-P augmente plus la quantité de phosphore diminue. Effectivement, plus il y a de molécules de fer ou d'aluminium, plus les colloïdes seront déstabilisés et auront tendance à précipiter. Selon les résultats, le fer et l'aluminium donnent un rendement semblable pour la précipitation du phosphore. Par ailleurs, le pH varie très peu durant l'essai dû au grand pouvoir tampon de l'eau du Grand Océan. L'expérimentation étant satisfaisante, l'électrocoagulation sera également testée afin de comparer les deux méthodes.

# 4.5.3 Électrocoagulation

# 4.5.3.1 Optimisation du temps de traitement et de l'ampérage

Afin de vérifier le temps de traitement et l'ampérage optimal, l'électrocoagulation a été faite à 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 et 4.0 A pendant 60 min pour les électrodes d'aluminium et de 20 à 60 min pour les électrodes de fer. Les résultats sont présentés à la Figure 31. Il est à noter que les échantillons récoltés ont été filtrés sur des filtres de 0.4 µm avant leur analyse, comme il a été expliqué dans la section méthodologie.



Figure 31 Concentration de phosphore dans l'eau du Grand Océan après un traitement d'électrocoagulation avec des électrodes de fer (a) et d'aluminium (b)

Ces résultats démontrent que le traitement est très efficace ce qui est très peu surprenant car l'eau de mer du Grand Océan est conductrice. L'efficacité des électrodes de fer a été démontrée puisqu'après 5 min et ce, même à 0.5 A, la concentration en phosphore est nulle. Le traitement avec les électrodes d'aluminium est moins efficace, puisqu'à 0.5 A il faut au moins 20 min avant l'élimination complète du phosphore. Suite à ces résultats, des tests en mode cuvée ont été effectués.

### 4.5.3.2 Essai d'électrocoagulation en mode cuvée

Les tests en cuvée ont été faits avec 2 L d'eau du Grand Océan à 1.0 A pendant 5 min. Après le traitement, l'eau est laissée à décanter pendant 60 min et filtrée sur des filtres de 0.4 µm.

Déjà après 5 min, la totalité des phosphates est pratiquement éliminée. Effectivement, il ne reste que 0,15 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> L<sup>-1</sup> avec les électrodes de fer et la concentration en phosphates est sous la limite de détection soit <0.03 mg P-PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> L<sup>-1</sup> avec les électrodes d'aluminium. De plus, l'électrocoagulation est plus simple, moins de manipulation et présente une possibilité d'automatisation (Bektas *et al.*, 2004; Irdemez *et al.*, 2006).

Les résultats montrent que les deux électrodes permettent l'élimination des phosphates mais que celle d'aluminium est un peu plus efficace. L'avantage avec les électrodes d'aluminium est que l'eau reste claire car avec les électrodes de fer l'eau reste de couleur rouille même après la filtration. De plus, cette couleur rouille tache la cellule ainsi que la tuyauterie. Effectivement, la concentration d'aluminium résiduel après filtration est très faible soit de 0.0519 mg Al L<sup>-1</sup>, comparativement à la quantité de fer qui est beaucoup plus élevée soit une concentration de 15.6 mg Fe L<sup>-1</sup>. La Figure 32 montre la différence de couleur entre le traitement avec les électrodes de fer et d'aluminium.



Figure 32 Apparence de l'eau après traitement d'électrocoagulation, décantation et filtration avec les électrodes d'aluminium (a) et de fer (b)

# 4.6 Paramètres de mise à l'échelle

### 4.6.1 Système de dénitrification

Le système de traitement de l'Aquarium du Québec est conçu pour minimiser les pertes d'eau étant donné que cette dernière est marine et est conçue directement sur le site avec des poches de sel Instant Ocean ce qui engendre des coûts élevés. Les pertes d'eau proviennent de deux sources dans le système : (1) l'eau de nettoyage du filtre au sable de la boucle secondaire, et (2) du changement d'eau aux deux semaines. L'eau de vidange du filtre au sable qui est jetée aux égouts est pratiquement de l'eau douce. Effectivement, les étapes de nettoyage ont été pensées pour récupérer le plus d'eau de mer possible (Chapitre 1). Par contre, l'eau évacuée par le changement d'eau passe directement aux égouts sans récupération de l'eau de mer. Les

paramètres de mise à l'échelle ont été évalués afin de traiter l'eau issue du changement d'eau qui est d'environ 10 m<sup>3</sup> aux deux semaines. Selon les résultats obtenus, le temps de rétention qui semblait le plus efficace et le plus approprié est de 16 h. Le volume théorique qui devrait être traité par jour est donc de 720 L, par contre, une marge de 20% est ajouté à l'estimation pour s'assurer que le système puisse subvenir aux besoins de traitement donc, le volume à traiter par jour a été évalué à environ 850 L. Afin d'atteindre les objectifs de traitement, le système devra avoir un débit d'entrée de 595 mL min<sup>-1</sup>, un volume total de 1071 L et contenir 950 kg de soufre pour un volume utile de 570 L. Les dimensions du système dépendront de l'espace disponible pour son implantation. Pour ce qui est des colonnes d'écailles d'huîtres, les variables ont été déterminées selon les mêmes conditions ce qui donne un volume total de 55 L avec 45 kg d'écailles d'huîtres pour un volume utile de 36 L. Ces dernières seront placées en aval du réacteur au soufre et l'entrée d'eau se fera par percolation, soit par le haut étant donné que la force gravitaire n'est pas suffisante pour permettre l'entrée par le bas de la colonne d'écailles d'huîtres.

La consommation du soufre et des écailles d'huîtres a également été estimée afin de prédire la quantité de support à remplacer par année. La quantité de soufre a été calculée selon une moyenne entre les rapports de production de sulfate de 6.91 mg SO<sub>4</sub> mg<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub>-N (Pan, 2007) et 7.89 mg SO<sub>4</sub> mg<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub>-N (Koenig et Liu, 1996) soit une moyenne de 7.4 mg SO<sub>4</sub> mg<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub>-N. Selon ce rapport, une consommation de soufre de 75 g S m<sup>-3</sup> d'eau traité a été établie, cette quantité mène à un remplacement de 21.3 kg de soufre par année, soit 2.5% de la quantité initiale. Cette masse correspond à environ une poche de 50 livres (22.7 kg) qui se vend aux alentours de 38 \$ (Buck expert, St-Benjamin, QC, Canada). Les écailles d'huîtres se consomment un peu plus rapidement soit à environ 35.5 kg par année en posant l'hypothèse que

117

les écailles d'huîtres sont composées à 100% de CaCO<sub>3</sub>. Cette quantité représente presque la totalité de la masse initiale, soit 80%. Du point de vue économique, une poche de 50 livres (22.7 kg) d'écailles d'huîtres coûte environ 13 \$ (*Unicoop coopérative agricole* de St-Charles de Bellechasse (QC, Canada)) et deux poches seraient nécessaires par année soit environ 26 \$ pour les écailles d'huîtres. Le système pourrait donc être opéré pour moins de 100 \$ par année pour ce qui est du coût des produits chimiques.

# 4.6.2 Électrocoagulation

Une cellule de 16 cm de large, 16 cm de profondeur et de 18 cm de haut a un volume total de 4.61 L et pourrait contenir 10 électrodes, soit 5 anodes et 5 cathodes, de 15 cm par 15 cm avec 0.5 cm d'épaisseur. Ces électrodes occuperont un volume 1.13 L ce qui laisse un volume utile de 3.48 L pour traiter à un débit d'environ 1 m<sup>3</sup> jour<sup>-1</sup>. En considérant que le système sera opéré à

1A pendant 5 min, il est possible d'affirmer que 14.0 g d'aluminium et 43.4 g de fer seront consommés pour 1 m<sup>3</sup> d'eau traitée. Les anodes d'aluminium devront être remplacées après 86.3 jours tandis que cela nécessitera 82.6 jours pour les électrodes de fer. La consommation énergétique pour l'électrocoagulation est très faible soit de 0.038 kWh m<sup>-3</sup> pour l'aluminium et de 0.054 kWh m<sup>-3</sup> pour le fer. Considérant que le prix pour un kWh est d'environ 0.080 \$ (www.hydroquebec.com), le prix pour traiter 1 m<sup>3</sup> serait d'environ 0.003 \$ pour l'aluminium et d'environ 0.004 \$ pour le fer. Comparativement, la coagulation chimique à échelle industrielle engendrerait des coûts légèrement plus élevés soit environ 0.034 \$ US m<sup>-3</sup> pour le fer et environ 0.025 \$ US m<sup>-3</sup> pour l'aluminium (www.icis.com) en tenant compte d'un rapport éq./mol-P de 2.

118

# 5. CONCLUSIONS ET RECOMMENDATIONS

La présente étude visait à identifier le système le plus efficace et le moins coûteux pour éliminer les nitrates du Grand Océan. Suite à une revue de la littérature, le projet s'est orienté sur la mise au point et l'optimisation d'un système de dénitrification autotrophe sur soufre avec colonne d'écailles d'huîtres pour l'élimination des nitrates et des phosphates pour l'eau du Grand Océan de l'Aquarium du Québec. Pour ce faire, différentes variantes du système ont été testées soit en mode discontinu, en mode continu parallèle à différents temps de rétention avec des colonnes d'écailles d'huîtres en amont et en aval et en mode continu en série avec différentes intégrations des colonnes d'écailles d'huîtres.

En mode cuvée, les résultats ont été concluants puisqu'après un mois, sans ajout de nouvelle eau, la totalité des nitrates a été dénitrifiée. Cette étape a également servi d'acclimatation à un substrat solide pour la biomasse dénitrifiante. Effectivement, une étape d'acclimatation en fiole conique avait précédé l'expérimentation en colonne afin d'adapter la biomasse bactérienne à une salinité élevée soit de 30 g L<sup>-1</sup>. Il est primordial de suivre de près le pH et l'alcalinité afin de s'assurer qu'ils ne baissent pas à un niveau critique où la dénitrification diminue voire même arrête complètement. Cette étape a également permis d'affirmer que la lumière nuisait à la dénitrification et c'est pourquoi les colonnes ont été enveloppées de papier d'aluminium.

Le premier essai en continu à 12 h de temps de rétention a été laborieux puisque les réacteurs ont fonctionnés pendant presque deux mois sans résultats concluants. Seulement une colonne a réussi à dénitrifier à 100% sur une courte période. Le débit était possiblement trop élevé pour un premier essai en continu. En augmentant le temps de rétention à 19 h, les résultats ont été plus intéressants. Le pourcentage de dénitrification se situait entre 50 et 100%. Par contre, l'objectif

visé n'était pas encore atteint. Ces deux essais ont également permis de prouver que les colonnes d'écailles d'huîtres étaient d'une inutilité évidente en amont du système.

Les colonnes d'écailles d'huîtres ont été déplacées en aval du système et cela a permis d'affirmer que ces dernières permettaient d'augmenter le pH et l'alcalinité presqu'aux conditions initiales. Effectivement, la dénitrification au soufre entraîne d'une part une production d'ions  $H^+$  qui diminuent le pH d'environ une unité et une diminution de l'alcalinité d'au moins 100 mg CaCO<sub>3</sub>L<sup>-1</sup>. Les écailles d'huîtres sont composées de Ca<sup>2+</sup> et de carbonates (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) et leur dissolution libère ces éléments dans le milieu. Ces éléments permettent ainsi de limiter les baisses de pH et de l'alcalinité. Par ailleurs, les écailles d'huîtres permettent de neutraliser une partie des nitrites qui pourrait être produits dans le système au soufre.

En parallèle, différents temps de rétention ont été testés soit 8, 12, 16 et 19 h. À un TRH de 8 h, seulement 50 à 60% des nitrates sont éliminés, ce qui est insuffisant. Par contre, à 12 h, de 80 à 85% des nitrates sont dénitrifiés et à 16 et 19 h, 100% sont éliminés. En série, à partir de 8 h de temps de rétention, 70% des nitrates sont dénitrifiés et les résultats sont semblables pour 12 h et 16 h, tandis qu'après 4 h, la dénitrification est d'environ 50%. Étant donné que la dénitrification stagnait entre 5 à 10 mg NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup>, une colonne d'écailles d'huîtres a été intégrée entre les temps de rétention de 8 et 12 h et les résultats ont été encore plus intéressants, puisqu'après 4 h, environ 50% des nitrates étaient dénitrifiés, après 8 h, environ 60% et après 12 et 16 h, le 100% a été atteint.

La production de sulfates par le système a été difficilement observable étant donné que la méthode utilisée était très peu précise et que les écarts types étaient plutôt élevés. La situation s'applique également à la dureté puisque les écarts type étaient trop élevés pour tirer des conclusions. Les phosphates ont très peu varié tout au long des essais, ce qui prouve que le

système n'est pas efficace pour l'élimination du phosphore. Ce résultat implique donc l'utilisation de méthodes alternatives. C'est la raison pour laquelle la coagulation chimique et l'électrocoagulation ont été testées avec succès.

Une dernière recommandation porterait sur le démarrage du système de dénitrification. En effet, la biomasse bactérienne semble sensible et le passage du mode cuvée au mode continu s'est probablement fait trop drastiquement, ce qui n'a pas permis à la microflore de bien s'adapter. Le temps de rétention hydraulique à imposer initialement devrait être élevé, environ 19 h, afin que le débit soit faible pour permettre à la biomasse de bien s'accommoder au mode continu.



# 6. **BIBLIOGRAPHIE**

- Ádám, K., Krogstad, T., Vråle, L., Søvik, A.K. et Jenssen, P.D. (2007) Phosphorus retention in the filter materials shellsand and filtrate-P<sup>®</sup>-Batch and column experiment with synthetic P solution and secondary wastewater. *Ecolo. Eng.* 29, 200-208.
- Adey, W.H. et Loveland, K. (1998) Dynamic aquaria: building living ecosystems. Second Edition. Academic Press, Londres, Angleterre.
- Adhoum, N. et Monser, L. (2004) Decolourization and removal of phenolic compounds from olive mill wastewater by electrocoagulation. *Chem. Eng. Proc.* 43, 1281-1287.
- Aleem, M.I.H. et Alexander, M. (1958) Cell-free nitrification by nitrobacter. J. Bacteriol. 76, 510-514.
- APHA, AWWA et WPCF (1999) Standards methods for examination of water and wastewaters.
   20<sup>th</sup> Edition. American Public Health Association (APHA), American Water Works
   Association (AWWA) et Water Pollution Control Federation (WPCF), Washington, DC,
   États-Unis.
- Anderson, R.C. (2001) Aquarium husbandry of Pacific Northwest marine invertebrates. Dans : What's beneath the surface. The Seattle Aquarium, Seattle, Washington, États-Unis, pp.18-19.
- Asselin, M., Drogui, P., Brar, S.K., Benmoussa, H. et Blais, J.F. (2008) Organics removal in oily bilgewater by electrocoagulation process. *J. Hazard. Mater.* 151, 446-455.
- Baalsrud, K. et Baalsrud, K.S. (1954) Studies on *Thiobacillus denitrificans. Archiv für microbiol.*20, 34-62.

- Balderston, W.L., et Sieburth, J.M.N. (1976) Nitrate removal in closed-system aquaculture by columnar denitrification. *Appl Environ. Microbiol.* 32, 808-818.
- Barak, Y., Tal, Y. et van Rijn, J. (1998) Light-mediated nitrite accumulation during denitrification by *Pseudomonas* sp. strain JR12. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 813-817.
- Batchelor, W. et Lawrence, A.W. (1978) Autotrophic denitrification using elemental sulfur. J. Water Pollut. Control Fed. 50, 1986–2001.
- Bektas, N., Akbulut, H., Inan, H. et Dimoglo, A. (2004) Removal of phosphate from aqueous solutions by electro-coagulation. *J. Hazard. Mater.* 106B, 101-105.
- Bennajah, M. (2007) Traitement des rejets industriels liquides par électrocoagulation/électroflotation en réacteur airlift. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France, 204 p.
- 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.

Biodôme de Montréal (2009) Site Web: http://www.biodome.gc.ca. (consulté le 8 juin 2009).

- Blais, J.F., Tyagi, R.D., Meunier, N. et Auclair, J.C. (1994) The production of extracellular appendages during bacterial colonization of elemental sulfur. *Proc. Biochem.* 29, 475-482.
- Boardman, G.D., Starbuck, S.M., Hudgins, D.B., Li, X et Kuhn, D.D. (2004) Toxicity of ammonia to three marine fish and three marine invertebrates. *Environ. Toxicol.* 19(2), 134-142.
- Camargo, J.A., Alonso, A. et Salamanca, A. (2005) Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. *Chemosphere* 58, 1255-1267.

- Campos, J.L., Carvalho, S., Portela, R., Mosquera-Corral, A. et Méndez, R. (2008) Kinetics of denitrification using sulphur compounds: Effets of ratio S/N, endogenous and exogenous compounds. *Biores. Technol.* 99, 1293-1299.
- Chen, G. (2004) Electrochemical technologies in wastewater treatment. Sep. Purif. Technol. 38, 11-41.
- Chen, X., Chen, G. et Po, L.Y. (2000) Separation of polluants from restaurant wastewater by electrocoagulation. *Sep. Purif. Technol.* 19, 65-76.
- Claus, G. et Kutzner, H.J. (1985) Physiology and kinetics of autotrophic denitrification by Thiobacillus denitrificans. Appl. Microbiol. Biotechnol. 22, 283-288.
- Costerton, J.W. (2004) A short history of development of the biofilm concept. Dans : *Microbial biofilms*. Ghannoum, M. et O'Toole, G.A. (Éditeurs), ASM Press, Washington, DC, États-Unis, pp. 4-17.
- Craggs, R.J. (2001) Wastewater treatment by algal turf scrubbing. *Water Sci. Technol.* 44, 427-433.
- Darbi, A. et Viraraghavan, T. (2003) A kinetic model for autotrophic denitrification using sulphur: limestone reactors. *Water Qual. Res. J. Can.* 38, 183-192.
- Djedidi, Z. (2009) Développement d'un modèle informatique prédictif de traitement par précipitation des effluents métalliques. Thèse de doctorat, INRS-ETE, Université du Québec, Québec, QC, Canada, 320 p.
- Drogui, P. (2009) Le traitement des eaux pour la production d'eau potable: Procédés physicochimiques unitaire du traitement des eaux. Notes de cours, INRS-ETE, Université du Québec, Québec, QC, Canada, pp. 40-45.

- Drogui, P., Blais, J.F. et Mercier, G. (2007) Review of electrochemical technologies for environmental applications. *Recent Patents Eng.* 1, 257-272.
- Ghosh, D., Medhi, C.R. et Purkait, M.K. (2008b) Treatment of fluoride containing drinking water by electrocoagulation using monpolar and bipolar electrode connections. *Chemosphere* 73, 1393-1400.
- Ghosh, D., Solanki, D. et Purkait, M.K. (2008a) Removal of Fe(II) from tap water by electrocoagulation technique. J. Hazard. Mater. 155, 135-143.
- Grguric, G. et Coston, C.J. (1998) Modeling nitrate and bromate in a seawater aquarium. *Water Res.* 32, 1759-1768.
- Grguric, G., Wetmore, S.S. et Fournier, R.W. (2000) Biological denitrification in a closed seawater system. *Chemosphere* 40, 549-555.
- Gu, J.D., Qiu, W., Koenig A. et Fan, Y. (2004) Removal of high NO<sub>3</sub><sup>-</sup> concentrations in saline water through autotrophic denitrification by the bacterium *Thiobacillus denitrificans* strain MP. *Water Sci. Technol.* 49, 105-112.
- Hashimoto, S., Furukawa, K. et Shioyoma, M.N. (1987) Autotrophic denitrification using elemental sulfur. *J. Fermentation Technol.* 65, 683-692.
- 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.

Hydro-Québec (2010) site web: <u>www.hydroquebec.com</u> (consulté le 23 mars 2010). Icis (2010) site web: www.icis.com/StaticPages (consulté le 23 mars 2010).
- Irdemez, S., Demircioglu, N., Yildiz Y.S. et Bingul, Z. (2006) The effects of current density and phosphate concentration on phosphate removal from wastewater by electrocoagulation using aluminium and iron plate electrodes. *Sep. Purif. Technol.* 52, 218-223.
- 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.
- Jiang, J.Q. et Graham, N.J.D. (1998) Pre-polymerised inorganic coagulants and phosphorus removal by coagulation A review. *Water SA* 24, 237-244.
- Jolivet, J.P. (1994) De la solution à l'oxyde, Condensation des cations en solution aqueuse, Chimie des surfaces des oxydes. Inter Édition, Paris, France.
- Kapoor, A. et Viraraghavan, T. (1997) Nitrate removal from drinking water-review. J. Environ. Eng. Div. ASCE. 123, 371-380.

Knowles, R. (1982) Denitrification. Microbiol. Rev. 46, 43-70.

- Koenig, A. et Liu, L.H. (1996) Autotrophic denitrification of landfill leachate using elemental sulphur. *Water Sci. Technol.*, 34, 469-476.
- Koenig, A. et Liu, L.H. (2001) Kinetic model of autotrophic denitrification in sulphur packedbed reactor. *Water Res.* 35, 1969-1978.
- Koenig, A. et Liu, L.H. (2004) Autotrophic denitrification of high-salinity wastewater using elemental sulfur: Batch test. *Water Environ. Res.* 76, 37-46.
- 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. Margherita di Pula, S. (Éditeur), Cagliari, Italy, 13 au 17 octobre, pp. 283-292.

- Koenig, A., Zhang, T., Liu, L.H. et Fang, H.H.P. (2005) Microbial community and biochemistry process in autosulfurotrophic denitrifying biofilm. *Chemosphere* 58, 1041-1047.
- Koparal, A.S. et Ogutveren, U.B. (2002) Removal of nitrate from water by electroreduction and electrocoagulation. J. Hazard. Mater. B89, 83-94.
- Kumar, P.R., Chaudhari, S., Khilar, K.C. et Mahajan, S.P. (2004) Removal of arsenic from water by electrocoagulation. *Chemosphere* 55, 1245-1252.
- Labbé, N., Juteau, P., Parent, S. et Villemur, R. (2003a) Bacterial diversity in a marine methanolfed denitrification reactor at the Montreal Biodome, Canada. *Microb. Ecol.* 46, 12-21.
- Labbé, N., Parent, S. et Villemur, R. (2003b) Addition of trace metals increases denitrification rate in closed marine systems. *Water Res.* 37, 914-920.
- Laridi, R. (2006) Réduction de nutriments (P & N) du lisier de porc par précipitation controlée et récupération de la struvite. Thèse de doctorat, INRS-ETE, Université du Québec, Québec, QC, Canada, 176 p.
- Laridi, R., Drogui, P., Benmoussa, H., Blais, J.F. et Auclair, J.C. (2005) Removal of refractory organic compounds in liquid swine manure obtained from a biofiltration process using an electrochemical treatment. *J. Environ. Eng. Div. ASCE* 131, 1302-1310.

Lavigne, R. (1993a) La dénitrification biologique. Aquarama 130, 27-38.

Lavigne, R. (1993b) La dénitrification biologique: 2<sup>e</sup> Partie. Aquarama 131, 42-50.

Lee, C.C. et Lin, S.D. (2007) Handbook of environnemental engineering calculations. McGraw-Hill Professional, New York, NY, États-Unis, 637 p.

- Lee, S.I., Weon, S.Y., Lee, C.W. et Koopman, B. (2003) Removal of nitrogen and phosphate from wastewater by addition of bittern. *Chemosphere* 51, 265-271.
- Lenntech (2000) pH et alcalinité. Site Web: <u>http://www.lenntech.com/français/pH-et-alcalinite.htm</u>. (consulté le 4 juin 2009).
- Liu, L.H. et Koeing, A. (2002) Use of limestone for pH control in autotrophic denitrification: batch experiments. *Proc. Biochem.* 37, 885-893.
- Melo, L.F. (2003) Biofilm formation and its role in fixed film processes. Dans : Handbook of water and wastewater microbiology. Mara, D. et Horan, N. (Éditeurs), Academic Press, Elsevier, New York, NY, États-Unis, Chap. 20, pp. 337-349.
- Mohan, P.J. et Aiken A. (2004) A Water Quality and Life Support Systems for Large Elasmobranch Exhibits. Dans : *Elasmobranch husbandry manual*. Smith, M., Warmolts, D., Thoney, D. et Hueter, R. (Éditeurs), Ohio Biological Survey, inc. Colombus, OH, États-Unis, p. 70.
- Mollah, M.Y.A., Schennach, R., Parga, J.R. et Cocke, D.L. (2001) Electro-coagulation (EC) -Science and applications. *J. Hazard. Mater.* B84, 29-41.
- Mommsen, T.P. et Walsh, P.J. (1992) Biochemical and environmental perspectives on nitrogen metabolism in fishes. *Cell. Mol. Life. Sci.* 48, 583-593.
- Moon, H.S., Chang, S.W., Nam, K., Choe, J. et Kim, J.Y. (2006a) Effect of reactive media composition and co-contaminants on sulfur-based autotrophic denitrification. *Environ. Pollut.* 144, 802-807.

- Moon, H.S., Nam, K. et Kim, J.Y. (2006b) Initial alkalinity requirement and effect of alkalinity sources in sulfur-based autotrophic denitrification barrier system. J. Environ. Eng. Div. ASCE 132, 971-975.
- Morse, G.K., Brett, S.W., Guy, J.A. et Lester, J.N. (1998) Review: Phosphorus removal and recovery technologies. *Sci. Total Environment* 212, 69-81.
- Mulbury, W., Kondrad, S., Pizarro, C et Kebede-Westhead, E. (2008) Treatment of diary manure effluent using freshwater algae: Algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers. *Biores. Technol.* 99, 8137-8142.
- 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.
- Nugroho, R., Takanashi, H., Hirata, M. et Hano, T. (2002) Denitrification of industrial wastewater with sulfur and limestone packed column. *Water Sci. Technol.* 46, 99-104.
- 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.
- Oh, S.E., Yoo, Y.B., Young, J.C. et Kim, I.S. (2001) Effect of organics on sulfur-utilizing autotrophic denitrification under mixotrophic conditions. J. Biotechnol. 92, 1-8.
- Olivier, L. (2007) Autotrophic denitrification chamber and calcium reactor. US patent, No. 7.306.733 B2.

- Pan, S.H. (2007) Autotrophic denitrification of groundwater in a granular sulfur-packed up-flow reactor. Ph.D. Thesis, The University of Texas at Arlington, Arlington, Texas, États-Unis, 148 p.
- Parent, S. et Morin, A. (2000) N budget as a water quality management tool in closed aquatic mesocosms. *Water Res.* 34, 1846-1856.
- Park, J.H., Shin, H.S., Lee, I.S. et Bae, J.H. (2002) Denitrification of high NO<sub>3</sub>-N containing wastewater using elemental sulfur; nitrogen loading rate and N<sub>2</sub>O production. *Environ. Technol.* 23, 53-65.
- Person-Le Ruet, J. et Bœuf, G. (1998) L'azote ammoniacal, un toxique potentiel en élevage de poissons: le cas du Turbot. *Bulletin français de la pêche et de la pisciculture*. 71, 350-351, 393-412.
- Poulin, E. (2005) Transformation et valorisation des boues rouges de l'industrie de l'aluminium en tant qu'agent de déphosphatation. Mémoire de maîtrise, INRS-Eau, Université du Québec, Sainte-Foy, QC, Canada, 113 p.
- Randall, D.J. et Wright, P.A. (1987) Ammonia distribution and excretion in fish. Fish Physiol. Biochem. 3, 107-120.
- Santana, F.P.S., Martin, G. et Taha, S. (1996) Incidence du chlorure de sodium sur la dénitrification d'éluats de résines par une bactérie chimioautotrophe soufre-oxydante. *Rev. Sci. Eau* 3, 333-350.
- Sauthier, N., Grasmick, A. et Blancheton, P. (1998) Biological denitrification applied to a marine closed aquaculture system. *Water Res.* 32, 1932-1938.

- Scientillula (2003) Domaines de prédominance, relation d'Henderson, diagramme de distribution. Site Web: <u>http://www.scientillula.net/tstc/chimie/partieB/page23/corps.html</u>. (consulté le 22 juillet 2009).
- Sengupta, S., Ergas, S.J. et Lopez-Luna, E. (2007) Investigation of solid-phase buffers for sulfuroxidizing autotrophic denitrification. *Water Environ. Res.* 79, 2519-2526.
- Sengupta, S., Ergas, S.J., Lopez-Luna, E., Sahu, A.K. et Palaniswamy, K. (2006) Autotrophic biological denitrification for complete removal of nitrogen from septic system wastewater. *Water Air Soil Pollut.* 6, 111-126.
- Shrimali, M. et Singh, K.P. (2001) New method of nitrate removal from water. *Environ. Pollut.* 112, 351-359.
- Soares, M.I.M. (2002) Denitrification of groundwater with elemental sulfur. *Water Res.* 36, 1392-1395.
- 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.
- Tal, Y. Nussinovitch, A. et Rijn, J.V. (2003) Nitrate removal in aquariums by immobilized *Pseudomonas. Biotechnol. Prog.* 19, 1019-1021.
- Takeuchi, M. et Komada, M. (1998) Phosphorus removal from hoggery sewage using natural calcium carbonate. *JARQ*. 32, 23-30.
- The biofilm hypertextbook. (2009) Introduction to biofilms. Site Web: <u>http://www.erc.montana.edu/biofilmbook/MODULE\_01/Mod01\_Blue/Mod01\_S01\_Blue.h</u> <u>tm</u>. (consulté le 2 juin 2009).

- Trépanier, C., Parent, S., Comeau, Y. et Bouvrette, J. (2002) Phosphorus budget as a water quality management tool for closed aquatic mesocosms. *Water Res.* 36, 1007-1017.
- Trouve, C., Chazal, P.M., Gueroux, B. et Sauvaitre, N. (1998) Denitrification by a new strains of *Thiobacillus denitrificans* under non-standard physicochemical conditions. Effect of temperature, pH and sulphur source. *Environ. Technol.* 19, 601-610.
- Van de Graff, A.A., de Bruijn, P., Robertson, L.A., Jetten, M.S.M. et Kuenen, J.G. (1996) Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology* 142, 2187-2196.
- Van der Hoek, J.P., Hijnen, W.A., Van Bennekom, C.A. et Mijnarends, B.J. (1992) Optimization of sulphur-limestone filtration process for nitrate removal from ground water. J. Water SRT-Aqua. 41, 209-218.
- Vasudevan, S., Lakshmi, J., Jayaraj, J. et Sozhan, G. (2009) Remediation of phosphatecontaminated water by electrocoagulation with aluminium, aluminium alloy and mid steel anodes. J. Hazard. Mater. 164, 1480-1486.
- Vik, E.A., Carlson, D.A., Eikum, A.S. et Gjessing, T. (1984) Electrocoagulation of potable water. *Water Res.* 18, 1355-1360.
- Wang, Z. (1998) Application of biofilm kinetics to the sulfur/lime packed bed reactor for autotrophic denitrification of groundwater. *Water Sci. Technol.* 37, 97-104.
- Weber, M. (2007) Determination of seawater Mg<sup>2+</sup> and Ca<sup>2+</sup> concentration. Analyt. Lab. Octobre.

Wurts, W.A. (2003) Daily pH cycle and ammonia toxicity. World Aquaculture 34, 20-21.

- Yildiz, Y.S., Koparal, A.S. et Keskinler, B. (2008) Effect of initial pH and supporting electrolyte on the treatment of water containing high concentration of humic substances by electrocoagulation. *Chem. Eng. J.* 138, 63-72.
- Zeng, H. et Zang, T.C. (2005) Evaluation of kinetic parameters of a sulfur-limestone autotrophic denitrification biofilm process. *Water Res.* 39, 4941-4952.
- Zhang, T.C. et Lampe, D.G. (1999) Sulfur:limestone autotrophic denitrification processes for treatment of nitrate-contaminated water: batch experiments. *Water Res.* 33, 599-608.
- Zhang, T.C. et Zeng, H. (2006) Development of a response surface for prediction of nitrate removal in sulphur-limestone autotrophic denitrification fixed-bed reactors. J. Environ. Eng. Div. ASCE 132, 1068-1072.
- Zhao, Z., Qiu, W., Koening, 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, 1201-1210.
- Zumft, W.G. (1997) Cell biology and molecular basis of denitrification. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61, 533-616.

## 7. ANNEXE

## 7.1 Dimensionnement du réacteur de dénitrification autotrophe

Paramètres	Valeurs	Unités	Calculs
Volume d'eau à traiter (VTJ)	10000	L/(2sem)	
Volume d'eau à traiter (VET)	714	L/jr	VTJ / 14(jours)
Facteur de sécurité (FAS)	20	%	
Capacité du système (CAI)	857	L∕jr	VET*(1+FAS/100)
Capacité du système (CAS)	35.7	L <b>/</b> h	CAJ / 24(h/jr)
TRH(TRH)	16	h	
Volume utile (liquide) (VUL)	571	L	CAS * TRH
Concentration de soufre (CSO)	1.66	kg/L	
Quantité de soufre (QTS)	949	kg	VUL*CSO
Densité du soufre (DES)	1.90	kg/L	
Volume occupé par le soufre (VOS)	500	L	QTS/DES
Volume total du réacteur (VTR)	1071	L	VUL+VOS