

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

OPTIMISATION HYDRODYNAMIQUE ET CHOIX DU SUPPORT BACTÉRIEN
D'UN BIORÉACTEUR À LIT MOBILE POUR LA DÉNITRIFICATION
DE L'EAU DE MER AU BIODÔME DE MONTREAL

MARIANNE DUPLA
DÉPARTEMENT DE GÉNIE CHIMIQUE
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE CHIMIQUE)
NOVEMBRE 2004



Library and
Archives Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Published Heritage
Branch

Direction du
Patrimoine de l'édition

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

ISBN: 0-494-01314-1

Our file Notre référence

ISBN: 0-494-01314-1

NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé:

OPTIMISATION HYDRODYNAMIQUE ET CHOIX DU SUPPORT BACTÉRIEN
D'UN BIORÉACTEUR À LIT MOBILE POUR LA DÉNITRIFICATION
DE L'EAU DE MER AU BIODÔME DE MONTREAL

présenté par: DUPLA Marianne

en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

M. STUART Paul, Ph.D., président

M. JOLICOEUR Mario, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. COMEAU Yves, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M. PERRIER Michel, Ph.D., membre

DEDICACE

À ma grand-mère, tu serais bien fière de ta petite-fille...
À mes parents, à mon grand-père, à ma sœur,
À François, mon amour.

REMERCIEMENTS

Comment remercier au mieux toutes les personnes qui m'ont aidée et soutenue tout au long de ces deux années de maîtrise...Ce mémoire n'y suffirait pas.

Je tiens à remercier MM. Mario Jolicoeur et Yves Comeau, qui m'ont offert la chance de réaliser ce beau projet, merci pour leur soutien, leur aide et surtout la confiance qu'ils m'ont témoignée.

Merci beaucoup à Serge Parent, tes conseils avisés et ton aide précieuse pendant mon projet et ma rédaction contribuent grandement à la mise en œuvre de ce mémoire.

Denis, que dire de toi, mon technicien-conseiller, confident, ma gratitude ne sera jamais assez grande...

Merci à tous les techniciens et intervenants du Biodôme pour toute l'aide dont j'ai pu bénéficier, spécialement à Léandre Côté et Claire Vasseur.

Bien sûr, le soutien moral était au rendez-vous, merci François, Audrey, Caroline, Anne, Candice, Christophe, Annie, Normand, Véronique et surtout Damien, mon stagiaire préféré !

J'ai une pensée toute particulière pour ma famille, bien loin maintenant, mais pour qui un océan, ce n'est qu'un avion à prendre...Merci de m'avoir encouragé dans mon voyage au Québec, voyage qui n'en voit jamais la fin d'ailleurs...

Finalement, j'aimerais remercier Richard Villemur, l'instigateur de ce grand projet, qui a permis le soutien financier du Conseil de recherche en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG), ainsi que le Biodôme de Montréal.

RESUME

Le Saint-Laurent marin (SLM) du Biodôme de Montréal est un mésocosme du Golfe du Saint-Laurent. Le bassin d'eau de mer artificielle contient 3000 m³ d'eau qui est traitée en circuit fermé. L'accumulation des nitrates, posant des problèmes de toxicité chronique pour les invertébrés marins, a entraîné en 1998 l'installation d'une filière de dénitrification biologique, qui n'atteint pas les objectifs de conception, en raison de problèmes hydrauliques et biologiques.

L'objectif de cette étude était d'optimiser la configuration hydrodynamique d'un réacteur à échelle réduite et de choisir le support microbien le mieux adapté à la croissance et au maintien d'un biofilm actif. Le bioréacteur étudié est un réacteur à lit mobile, dans lequel les supports sont mis en mouvement grâce à un jet de recirculation d'eau. La configuration du réacteur devait être telle que les zones mortes du mélange soient éliminées et que les supports microbiens soient nettoyés en continu. Les supports ont été choisis d'après leurs surfaces spécifiques, leur taille, densité et forme. L'application principale de ces supports est le garnissage de lits filtrants ou de lits mobiles.

Le réacteur de dénitrification est complètement mélangé, et l'hydrodynamique n'est pas altérée par la présence de supports couverts de biomasse. Une étude de traçage visuel a permis de déterminer un taux de remplissage optimal de 30% du volume total ainsi que le choix d'une grille de rétention conique d'angle 45°. Les supports ont été sélectionnés suivant l'essai visuel et d'après leurs caractéristiques physiques. Des essais de dénitrification biologique en continu ont validé le choix d'une configuration de réacteur et de supports jugés optimaux. Les deux supports sélectionnés parmi 10 supports étudiés, soient les supports TriPack1 et Cascade 1A colonisés depuis 1 mois, ont présentés les mêmes performances de dénitrification, en raison de la même surface efficace pour les deux supports. Les taux de dénitrification surfacique ont atteint un

maximum de $27 \text{ g N.m}^{-2} \text{ support.jour}^{-1}$ pour un taux volumétrique de $2.9 \text{ kg N.m}^{-3} \text{ support.jour}^{-1}$. Le support TriPack colonisé depuis 8 mois a montré des performances volumétriques similaires. Le support Bioflow9, utilisé au Biodôme, n'a atteint que 50% du taux volumétrique maximum obtenu par les supports de garnissage TriPack dans les mêmes conditions de débit d'eau et de source de carbone.

La force de cisaillement du liquide et les collisions entre les supports ont permis de maintenir un biofilm mince et robuste malgré des épisodes de sulfato-réduction. L'accroissement de la vitesse de recirculation a mené à une augmentation des performances du bioréacteur tout en diminuant l'épaisseur du biofilm.

ABSTRACT

The Montreal Biodome operates a closed mesocosm, the "Saint-Lawrence marine", containing 3.25 million L artificial seawater. Within six years, nitrate levels reached values as high as 180 mg NO₃-N/L and the mesocosm was equipped with a 1 m³ MBBR denitrification system in 1998, with the goal of reducing nitrate at levels below 20 mg NO₃-N/L. Denitrification plant never reached expected performances due to hydraulic and biological problems.

The aim of the study was to optimize reactor hydraulic behavior and to select carrier to better control the biofilm thickness. Studied bioreactor is a moving-bed bioreactor, and the carriers on which bacteria grow move freely in the liquid, due to water recirculation injector. No dead-zones and continuous autocleaning of the carriers is required. Packing-bed and moving-bed carriers selection was based on their density, size and shape, and on their surface area.

Tracer studies showed a completely-mixed tank and biomass did not influence liquid hydrodynamics. Video studies with the carriers assessed in defining operating conditions (30% filling ratio and 45° retention grid angle) and in selecting the Cascade 1A and the TriPack 1 for the denitrification experiments. Continuous denitrification experiments were leaded to confirm reactor hydrodynamic configuration and carriers choice. Selected carriers (TriPack1 and Cascade 1A) reached same denitrification rate due to the same specific surface area (111 m²/m³). Maximum surfacic rate reached 27 g N.m⁻² carrier.d⁻¹ and volumetric rate reached 2.9 kg N.m⁻³carrier.d⁻¹. 8month colonised TriPack 1 showed similar denitrification performances. Bioflow9 carrier, currently used in the Biodome denitrification plant, reached only half of TriPack 1 volumetric denitrification rate by assuming same hydraulic and substrate loading rates.

Liquid shear forces and carriers collisions allowed thin and robust biofilm despite of sulfate-reduction periods. Increasing recirculation velocity lead to increase bioreactor denitrification performances and decrease biofilm thickness.

TABLE DES MATIERES

DÉDICACE	IV
REMERCIEMENTS	V
RÉSUMÉ	VI
ABSTRACT	VIII
TABLE DES MATIÈRES.....	IX
LISTE DES TABLEAUX	XIII
LISTE DES FIGURES	XIV
LISTE DES ANNEXES	XV
 CHAPITRE I INTRODUCTION	 1
1.1 Problématique	1
1.2 Approche double : hydrodynamique et biologie.....	3
1.2.1 Problèmes recensés sur le réacteur de dénitrification	3
1.2.2 Hypothèses de travail	3
1.3 Objectifs de recherche.....	4
1.4 Contenu du mémoire	5
 CHAPITRE II REVUE DE LITTÉRATURE	 6
2.1 Introduction	6
2.2 procédés de dénitrification biologique	9
2.2.1 Biomasse libre	9
2.2.2 Biomasse attachée	10
2.2.3 Dénitrification biologique appliquée à l'eau de mer	22
2.3 Biofilms et hydrodynamique.....	26
2.3.1 Mécanisme de formation des biofilms	26
2.3.2 Effet de la charge en substrat et de la source de carbone.....	29
2.3.3 Influence des forces de cisaillement	30
2.3.4. Influence des supports sur le détachement du biofilm	32

2.4 Supports microbiens.....	33
2.4.1 Supports microbiens utilisés en procédés biologiques.....	33
2.4.2 Influence des supports et du biofilm sur l'hydrodynamique des bioréacteurs BRLM.....	35
2.5 Conclusion	37
 CHAPITRE III APPROCHE MÉTHODOLOGIQUE.....	38
3.1 Conception et assemblage des réacteurs pilotes	38
3.1.1 Choix du réacteur	38
3.1.2 Conception d'un réacteur polyvalent	38
3.2 Évaluation de l'hydrodynamique du réacteur à lit mobile et des supports bactériens.....	40
3.2.1 Tests de traçage	40
3.2.2 Evaluation de l'efficacité de la circulation des supports par évaluation visuelle	43
3.2.3 Tests de K_{La}	45
3.2.3.1 Méthode de détermination du K_{La}	45
3.2.3.2 Correction de la solubilité et de la saturation de l'oxygène dissous dans une eau marine.	46
3.3 Préparation des solutions	46
3.3.1 Source de carbone	46
3.3.2 Métaux trace.....	48
3.3.3 Source de nitrates	49
3.4 Test en cuvée.....	50
3.4.1 Préparation	50
3.4.2 Échantillonnage.....	51
3.5 Suivi de l'évolution de la biomasse en cas de défaillance opérationnelle	51
3.6 Suivi analytique.....	53
3.6.1 Suivi de paramètres physico-chimiques.....	53
3.6.2 Mesure des nitrates et nitrites.....	53
3.6.3 Caractérisation du biofilm.....	53
3.6.3.1 Mesure des MVES et MES dans le biofilm	53
3.6.3.2 Mesure de l'épaisseur du biofilm.....	54
3.6.3.3 Mesure de la densité du biofilm	54

CHAPITRE IV OPTIMISATION D'UN BIORÉACTEUR À LIT MOBILE SANS LAVAGE À	
CONTRE-COURANT POUR LA DÉNITRIFICATION DE L'EAU DE MER	55
4.1 Présentation de l'article.....	55
4.2 Design optimization of a self-cleaning moving-bed bioreactor for seawater	
denitrification	56
4.2.1 Abstract	56
4.2.2 Introduction	56
4.2.3 Materials and methods	58
4.2.3.1 Feeding medium.....	58
4.2.3.2 Experimental set-up	58
4.2.3.2.1 Bioreactor system.....	58
4.2.3.2.2 Hydrodynamic studies.....	61
4.2.3.2.3 Video observation	62
4.2.3.2.4 Denitrification experiments.....	63
4.2.3.3 Analytical methods	64
4.2.3.4 Statistical analyses	64
4.2.4 Results and discussion	65
4.2.4.1 Reactor design optimization.....	65
4.2.4.2 Carriers and operating conditions to avoid in MBBRs	65
4.2.4.3 Carrier circulation pattern	66
4.2.4.4 Seawater denitrification performances.....	68
4.2.4.4.1 Studying modified MBBR with Biodome denitrification carriers..	68
4.2.4.4.2 Packing-bed denitrification performance	70
4.2.4.4.3 Packing-bed carrier performance comparison	70
4.2.4.5 General evaluation	72
4.2.5 Conclusion	76
4.2.6 Acknowledgements.....	76
4.2.7 References.....	77
 CHAPITRE V RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES	 81
5.1 Tests d'activité.....	81
5.2 Traçage avec biomasse.....	83
5.3 Test extrême et influence sur la biomasse.....	86
5.4 Mesure du transfert d'oxygène par diffusion	88
5.5 Bilan de masse.....	90

CHAPITRE VI DISCUSSION, CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS	91
6.1 Discussion générale.....	91
6.1.1 Tests de traçage à la fluorescéine.....	91
6.1.2 Transfert d'oxygène	92
6.1.3 Résultats de dénitrification.....	93
6.1.4 Entretien des réacteurs de dénitrification.....	94
6.1.5 Améliorations du réacteur à pleine échelle	95
6.2 Conclusions	98
6.3 Recommandations	99
RÉFÉRENCES	101
ANNEXES	115

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 : Évolution de la concentration en nitrates dans le SLM	1
Figure 1.2 : Filière de dénitrification du Biodôme de Montréal	2
Figure 2.1 : Principaux réacteurs de dénitrification	21
Figure 3.1 : Schéma du réacteur de dénitrification en continu	39
Figure 3.2 : Vue de face et de côté (90°) d'un réacteur de dénitrification lors de l'évaluation visuelle	44
Figure 3.3 : Schéma du montage expérimental	50
Figure 3.4 : Schéma des réacteurs de laboratoire	52
Figure 4.1 : Schematic diagram of the MBBR used in denitrification experiments	59
Figure 4.2 : Carriers used in experiments.	60
Figure 4.3 : Circulation intensity for optimal filling ratios and carriers	67
Figure 4.4 : Schematic diagram of carrier and liquid movement	68
Figure 4.5 : Specific denitrification rate and biomass versus time during continuous denitrification with 8-month-old colonized TriPack1 carrier	73
Figure 4.6 : Specific denitrification rate and biomass versus time during continuous denitrification in comparison experiment	75
Figure 5.1 : Suivi des nitrates et nitrites au cours du temps lors des tests en cuvée	82
Figure 5.2 : Courbe de suivi de la concentration de traceur en fonction du temps avec les supports Cascade 1A	84
Figure 5.3 : Courbe de suivi de la concentration de traceur en fonction du temps avec les supports TriPack1	85
Figure 5.4 : Évolution de la quantité de biomasse attachée aux supports en fonction du temps	86
Figure 5.5 : Droites obtenues expérimentalement dont la pente correspond au K_{la}	89
Figure 6.1 : Composition chimique du biofilm séché à 550°C (A) et 105°C (B)	93
Figure 6.2 : Modifications envisagées au réacteur de dénitrification.	95
Figure 6.3: Support microbien Cascade 1A (Koch Glitsch inc.)	99

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE A : PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX.....	116
Section 1 : Protocole MD ScA 01- Traçage à la fluorescéine des pilotes de dénitrification	116
Section 2 : Protocole MD ScA 02. Estimation de la quantité de matières en suspension et de matières volatiles sur des supports plastiques colonisés. 128	
Section 3 : Protocole MD ScA 03. Mesure du transfert d'oxygène dans les pilotes de dénitrification.....	136
Section 4 : Protocole MD ScA 04. Mesure des nitrates dans l'eau de mer filtrée à l'affluent et l'effluent des dénitrificateurs par la méthode Hach	142
Section 5 : Protocole MD ScA 05. Test d'activité de la dénitrification de la biomasse du réacteur de dénitrification.....	148
Section 6 : Protocole MD ScA 06. Estimation du potentiel de dénitrification avec différents supports bactériens en réacteur pilote.....	154
Section 7 : Protocole MD ScA 07. Test d'impact sur la biomasse attachée des différentes conditions résultant d'un problème d'opération.	162
ANNEXE B : RÉSULTATS D'ESSAIS.....	169
Section 1 : Test de traçage à la fluorescéine du réacteur de dénitrification.....	169
Section 2 : Validation du protocole MD ScA 02 -mesure des MVES dans le biofilm.....	173
Section 3 : Test de transfert d'oxygène.....	176
Section 4 : Test d'activité.....	180
Section 5 : Résultats d'essais en continu.....	184
Section 6 : Conditions extrêmes.....	191
Section 7 : Bilan de masse	195

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1.1 PROBLEMATIQUE

Le bassin du Saint Laurent marin (SLM) du Biodôme de Montréal reproduit un écosystème présent dans le Golfe du Saint-Laurent. Il est constitué d'une plate-forme immergée et de trois bassins (bassin médical, bassin principal et cuvette des marées) qui représentent un volume d'eau de mer artificielle de 3.25 millions de litres. Cette eau est traitée en circuit fermé afin de réduire les coûts entraînés par de fréquents changements d'eau. Lors de changements d'eau annuels, la fabrication de l'eau de mer est effectuée à partir d'eau douce et de sels commerciaux dont la composition se rapproche des sels présents dans les océans.

La filière de traitement actuelle est composée de six filtres à sable de 3.6 m de diamètre, avec une vitesse de filtration de 56L/s qui retiennent les matières en suspension et effectuent une partie de la nitrification des eaux.

L'eau de mer traverse ensuite un lit percolant afin que la nitrification de l'effluent soit achevée. Si le taux d'ammoniaque est maintenu bas par la filière de nitrification, la concentration en nitrates augmente en conséquence. La figure 1.1 illustre l'évolution des nitrates dans le bassin du SLM.

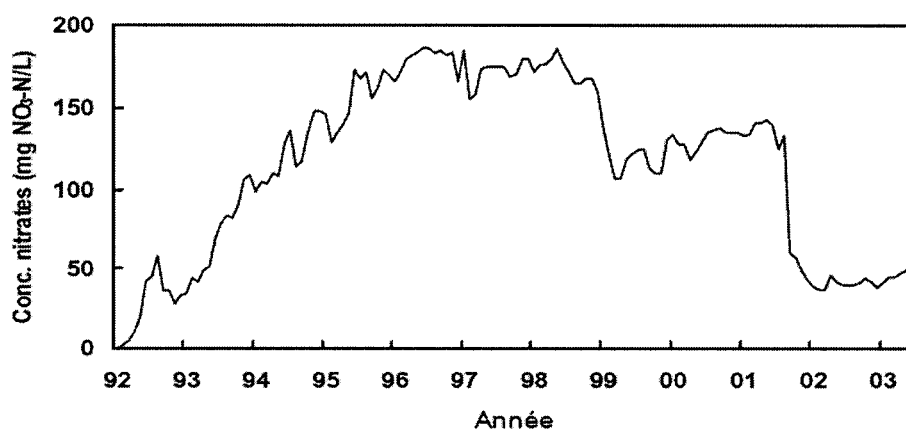


Figure 1.1 : Évolution de la concentration en nitrates dans le SLM

Une concentration supérieure à 180 mg N/L est observée après cinq ans d'opération de la filière de traitement.

Bien que les nitrates soient moins toxiques que l'ammoniaque ou les nitrites pour la vie marine, une concentration supérieure à 50 mg N/L n'est pas recommandée pour maintenir des collections vivantes (Spotte, 1991).

Afin de réduire le taux de nitrates dans le bassin, une filière de dénitrification a été mise en place en 1998. Cette filière comprend une tour de désoxygénation de type lit filtrant submergé à écoulement piston, un réacteur de dénitrification à lit mobile, d'un écumeur de protéines et d'un bassin de transfert. L'eau ainsi dénitrifiée est recirculée en tête des filtres à sable.

Le méthanol est utilisé comme source de carbone pour les réacteurs de désoxygénation et de dénitrification.

Le schéma de la filière de dénitrification est présenté sur la figure 1.2.

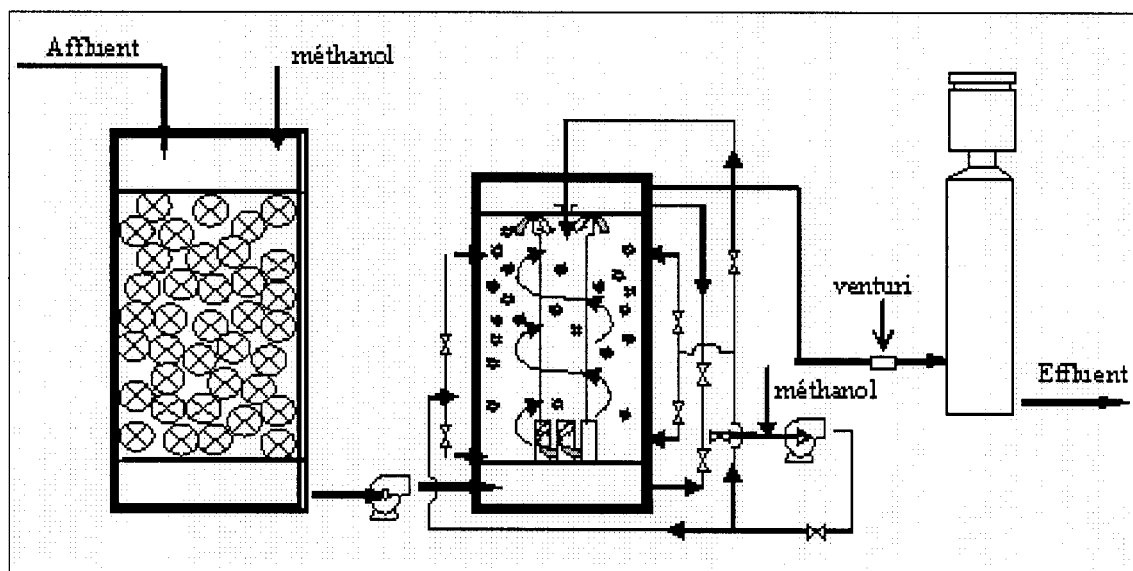


Figure 1.2 : Filière de dénitrification du Biodôme de Montréal

1.2 APPROCHE DOUBLE : HYDRODYNAMIQUE ET BIOLOGIE

1.2.1 Problèmes recensés sur le réacteur de dénitrification

Une étude réalisée pendant la mise en route et le suivi de la filière de dénitrification recense de nombreux problèmes dus à une configuration non optimale du bioréacteur de dénitrification et à un support microbien friable et compressible (Sauvé, 2000).

Le taux de dénitrification maximum obtenu (0,1 kg N/j) était dix fois inférieur au taux spécifié par le fabricant (Eco Mat, CA).

Un changement de support est effectué en 1999 pour pallier aux principaux problèmes de colmatage des grilles de rétention et augmenter le taux de dénitrification. L'ajout de métaux trace augmente également le taux de dénitrification (Labbé et al., 2003).

Cependant, des problèmes persistants de colmatage des grilles, de zones mortes dans le réacteur de dénitrification et un colmatage des supports en plastique obligent à une révision de l'hydrodynamique du réacteur et du choix d'un support microbien mieux adapté à la dénitrification de l'eau de mer.

1.2.2 Hypothèses de travail

La principale hypothèse de ce travail est que la connaissance approfondie de l'hydrodynamique du réacteur expérimental et un choix d'un support basé sur de multiples critères tels leur circulation dans le liquide et leurs propriétés physiques comme la surface efficace (m^2/m^3) ou le volume de vide augmentent le rendement et le taux de dénitrification biologique.

Ainsi, en limitant le colmatage des supports et en maintenant une agitation importante ainsi qu'un contrôle du biofilm par la force de cisaillement, il est possible d'améliorer les taux de dénitrification obtenus par le réacteur du Biodôme sans effectuer de changements majeurs dans sa configuration.

1.3 OBJECTIFS DE RECHERCHE

Les objectifs du projet étaient de concevoir des réacteurs pilotes afin de tester différents supports microbiens généralement utilisés dans des lits à garnissage et possédant des surfaces spécifiques et volumes de vide importants.

Pour déterminer la meilleure configuration de réacteur et choisir le support le mieux adapté, les études suivantes sont réalisées :

- Une étude hydrodynamique afin de connaître le comportement hydraulique du réacteur et des différents supports choisis.
- Étude visuelle établissant le taux de remplissage du réacteur par les supports et le choix d'une grille de rétention contribuant à l'amélioration de la circulation des supports.

La validation des résultats de l'étude hydrodynamique devait être validée par des expériences de dénitrification biologique.

Afin d'évaluer les capacités de dénitrification des supports, les expériences suivantes sont réalisées :

- Les supports utilisés dans le réacteur du Biodôme étaient testés afin de vérifier leur capacité de dénitrification dans le réacteur expérimental.
- Utilisation d'un support de garnissage (TriPack 1) précédemment utilisé dans un réacteur pilote de dénitrification d'eau de mer de 110 L (Labelle, 2004)
- Deux supports de garnissage (Cascade 1A et TriPack1) choisis suivant les critères d'intensité de circulation et colonisés depuis 1 mois en mode cuvée avec alimentation en méthanol.

L'étude à la fois hydrodynamique et biologique devait faire l'objet d'un article scientifique soumis à la revue *Water Research*.

1.4 CONTENU DU MEMOIRE

Une revue de littérature portant sur les procédés de dénitrification biologique en eau douce et en eau salée, ainsi que sur les conditions de contrôle du développement du biofilm a été rédigé dans le cadre de ce projet de maîtrise. Les différents supports recensés dans la littérature sont également présentés, ainsi que leur impact sur l'hydrodynamique. Cette revue est présentée dans le chapitre 2.

Le chapitre 3 décrit les réacteurs utilisés et la méthodologie employée au cours des essais réalisés au cours de la maîtrise.

Le chapitre 4 présente en intégralité l'article soumis à la revue *Water Research* portant sur l'optimisation d'un réacteur de dénitrification et sa validation biologique avec des supports utilisés pour le garnissage.

Les résultats obtenus au cours du projet de maîtrise mais non discutés dans l'article sont présentés dans le chapitre 5. Ce chapitre présente les résultats obtenus lors d'expériences en cuvette et de mesures de transfert d'oxygène

L'impact de la présence de biomasse sur les tests de traçage est également présenté, ainsi qu'un test effectué pour vérifier l'impact de conditions opératoires défaillantes sur la biomasse développée sur les supports TriPack1.

Le chapitre 6 discute des résultats obtenus par les différents essais présentés dans les chapitres 4 et 5, puis présente les conclusions et recommandations relatives à l'étude et à l'amélioration de la filière de dénitrification du Biodôme.

CHAPITRE II

REVUE DE LITTÉRATURE

2.1 INTRODUCTION

Dans les eaux usées d'origine industrielle ou municipale, l'azote est principalement présent sous forme de matière organique et d'ammoniaque. Dans les systèmes d'aquacultures et d'aquarium, la source majeure d'azote provient du métabolisme des protéines contenues dans la nourriture des animaux aquatiques. L'ammoniaque, excrété par les poissons, les mollusques et les crustacés, est le principal produit final du catabolisme des protéines. Sous sa forme non-ionisée (NH_3), il est gazeux et toxique pour les poissons et les invertébrés (Colt et Armstrong, 1981; Boardmann et al., 2004). Un système de nitrification des effluents est donc généralement mis en place afin d'oxyder l'ammoniaque en nitrites puis en nitrates, forme la moins toxique d'azote inorganique pour les animaux marins (Colt et Armstrong, 1981).

Cependant, les effluents riches en nitrates produits par les aquacultures, agricultures et diverses industries (fertilisants, préparation de fruits de mer, industries de finition de métal) ne doivent pas être négligés, car ils sont une cause d'eutrophisation dans les cours d'eau, une contamination pour les eaux souterraines, voire même un danger pour la santé des jeunes enfants au-delà d'une concentration de $10 \text{ mgNO}_3^- \text{-N/L}$ (US EPA, 2002; Glass et Silverstein, 1999).

De plus, l'accroissement du taux de nitrates dans les aquariums et aquacultures en circuit fermé (peu ou pas de changements d'eau) pose un problème de toxicité pour les invertébrés marins (Muir et al., 1991). Des concentrations supérieures à $150 \text{ mgNO}_3^- \text{-N/L}$ ont un effet négatif sur la croissance des poissons, et une concentration supérieure à $1 \text{ gNO}_3^- \text{-N/L}$ est létale pour la majorité des poissons et des mollusques (Colt et

Amstrong, 1981). Spotte (1991) recommande de ne pas dépasser 50 mgNO₃⁻-N/L pour les poissons.

Les coûts élevés rapportés aux changements d'eau des grands bassins aquacoles et d'aquariums conduisent à la mise en place de systèmes permettant le traitement des nitrates qui soit moins onéreux et plus respectueux de l'environnement que le déversement des effluents chargés en nitrates dans les cours d'eau.

Des traitements physico-chimiques sont connus pour enlever les nitrates de l'eau (US EPA, 2002):

- L'échangeur d'ions utilise une résine anionique forte pouvant être employée comme support d'échange pour les nitrates;
- Le procédé d'osmose inverse permet la séparation des ions et des molécules de l'eau.

Cependant, de nombreux inconvénients (régénération des résines, décolmatage des membranes et nécessité de prétraitements, coûts élevés) n'en font pas des choix avantageux.

En effet, comparé aux méthodes d'enlèvement physico-chimique de l'azote aqueux, le traitement biologique des effluents azotés est généralement moins coûteux, plus robuste et beaucoup plus répandu.

Un système biologique dénitrifiant efficace doit répondre aux quatre critères de base suivants (Payne, 1981) :

- Donneur d'électron dans la solution aqueuse;
- Un des oxydes d'azote comme accepteur d'électron;
- Contenir et favoriser le développement de bactéries actives;
- Une faible concentration en oxygène dissout car la réaction de dénitrification sera en compétition avec l'utilisation de l'oxygène libre comme accepteur d'électrons.

Les bactéries dénitrifiantes sont omniprésentes dans la nature et donc se retrouvent généralement naturellement dans le système de traitement des eaux usées municipales, industrielles, d'aquariums et d'aquacultures. En effet, les bactéries dénitrifiantes hétérotrophes facultatives sont capables de réduire l'oxygène ou les nitrates afin d'oxyder la matière organique. En milieu anoxie (en l'absence d'oxygène), ces bactéries utilisent l'oxygène contenu dans les nitrates comme accepteur d'électron.

La réduction des nitrates se fait en deux étapes :

Conversion des nitrates en nitrites : $\text{NO}_3^- \Rightarrow \text{NO}_2^-$ (Eq. 2.1)

Conversion des nitrites en azote gazeux suivant plusieurs étapes :

$\text{NO}_2^- \Rightarrow \text{NO} \Rightarrow \text{N}_2\text{O} \Rightarrow \text{N}_2$ (Eq. 2.2)

Dans le cas des eaux peu chargées en matière organique oxydable, comme c'est le cas dans les effluents aquacoles ou dans les eaux filtrées, une source externe de carbone est requise afin de fournir un donneur d'électron à la chaîne respiratoire. Dans la majorité des systèmes de dénitrification des aquacultures et aquariums, le méthanol est employé comme supplément carboné (Grguric et Coston, 1998; Catalan-Sakairi et al., 1996; Menasveta et al., 2001), mais d'autres sources peuvent être employées, comme l'éthanol (Sauthier et al., 1998) ou encore des polymères biodégradables servant aussi de support bactérien (Boley et al., 2000).

De nombreux procédés biologiques sont disponibles, tels les bassins de boues activées ou les procédés à biomasse fixée sur un support bactérien. Il convient de faire le choix d'un procédé suivant des critères économiques, de facilité d'opération mais également des critères de taille du procédé et de performances de dénitrification.

Les procédés à biomasse suspendue sont faciles à opérer et d'un coût énergétique moindre, mais nécessitent un grand bassin et un système de clarification des boues.

Les réacteurs à biomasse fixée présentent un meilleur rapport taille du procédé/performances de dénitrification, mais demandent une opération plus complexe et un

contrôle de la croissance de la biomasse sur le support afin d'éviter des problèmes de colmatage des supports et du réacteur.

Cette revue de littérature a pour but de recenser les principaux procédés de dénitrification (enlèvement biologique des nitrates) des eaux usées existants sur le marché, ainsi que les procédés adaptés à la dénitrification des eaux salées, en terme d'opération et de performances.

L'attention est également portée sur le contrôle du développement bactérien et sur la maintenance du biofilm, point majeur des procédés à biomasse fixée.

Enfin, les divers supports servant de base au développement du biofilm dans les procédés à biomasse fixée sont étudiés plus particulièrement.

2.2 PROCEDES DE DENITRIFICATION BIOLOGIQUE

2.2.1 Biomasse libre

Les procédés à biomasse libre utilisent des amas de populations bactériennes et microbiennes (flocs) maintenus en suspension dans l'eau à traiter. Dans le cas de la dénitrification, les procédés incluent souvent une séquence de zones aérobies et anoxies pour compléter consécutivement la nitrification et la dénitrification.

Deux types de procédés à biomasse suspendue se distinguent dans la littérature (Metcalf et Eddy, 2003). Tout d'abord, il y a les procédés à une étape, c'est-à-dire ne comportant qu'un seul clarificateur pour les deux zones aérobie/anoxie, avec retour des boues en amont. Nous retrouvons aussi les procédés à deux étapes, avec un clarificateur après chaque étape, afin d'obtenir deux types de boues. Les procédés à biomasse libre impliquent un contrôle de la concentration de la biomasse, et de nombreuses études tentent de développer des paramètres de contrôle tels que le potentiel d'oxydo-réduction et le cycle d'aération (Zhao et al., 1999), ou la mesure de la production d'azote gazeux et le pH (Beaubien et al., 1995). La dénitrification par de tels procédés s'avère efficace pour les eaux très riches en nitrates (Glass et Silverstein, 1999; Constantin et Fick, 1997)

et l'acclimatation des boues activées à un effluent à haute teneur en sels a été démontrée (van der Hoek et al., 1987; Dahl et al., 1997), bien que le taux de dénitrification diminue avec l'augmentation de salinité dans le milieu (Glass et Silverstein, 1999; van der Hoek et al., 1987).

Mahne et al. (1996) ont démontré la possibilité de nitrification et dénitrification simultanées pour des effluents industriels très chargés (jusqu'à 3000 mgN/l) avec une source externe de carbone. Un autre procédé, le réacteur biologique séquentiel (RBS) permet d'effectuer toutes les étapes d'enlèvement des composés azotés dans un espace unique et compact en utilisant des cycles anoxie/aérobie/décantation (Hallin et al., 1996; Munch et al., 1996).

La mise en œuvre d'un procédé de boues en suspension est relativement simple et peu coûteuse en énergie. Par contre, la taille des systèmes (bassins, etc.) et la difficulté de contrôle de tels systèmes peuvent s'avérer limitants pour certaines installations à petites et moyennes échelles comme les aquacultures et le aquariums. Des procédés plus compacts sont alors recherchés, permettant de minimiser les espaces et volumes requis. À ce titre, plusieurs technologies orientées sur le confinement des microorganismes ont été proposées et ce sujet est traité dans la section qui suit.

2.2.2 Biomasse attachée

Un procédé d'encapsulation des cellules microbiennes a fait l'objet d'études. Les cellules sont immobilisées dans un gel polymérique afin de coupler un procédé de dénitrification à un échangeur d'ion (Nitisoravut et Yang, 1992) ou d'immobiliser des boues bactériennes dénitrifiantes et méthanogènes dans une même matrice (Lin et Chen, 1995). La structure poreuse du gel permet la diffusion du substrat organique et des nitrates dans les pores internes afin de faciliter la dénitrification. De plus, l'application de ce procédé permet d'éliminer un post-traitement de l'effluent (Yang et al., 1995).

Les procédés à biomasse fixée utilisent la capacité des micro-organismes à sécréter des exopolysaccharides qui leur permettent d'adhérer à un support pour constituer un biofilm. La concentration de biomasse devient donc très importante pour un espace réduit, car ces procédés optimisent la surface disponible pour la formation d'un biofilm (pas clair). Les industries et aquacultures qui possèdent un espace restreint pour leurs installations de traitement sont donc enclines à privilégier cette technologie (Chudoba et al., 1998; Matsumura et al., 1997).

Les avantages attribuables à ce type de procédé sont l'accumulation de grandes quantités de biomasse par attachement naturel, des taux d'enlèvement volumétriques importants, un temps de rétention faible. De plus, ces systèmes ne nécessitent pas de clarificateur en aval. Les inconvénients majeurs par rapports à un système par boues activées sont une instrumentation et un contrôle plus complexe, et un coût d'exploitation plus élevé. De plus, la biomasse produite en excès doit être enlevée afin d'éviter des problèmes de colmatage du réacteur et une augmentation des pertes de charge. Un système de lavage à contre-courant peut donc être utilisé, fonctionnant généralement sur une base journalière, dépendant de l'accumulation de solides et de la perte de charge (Metcalf et Eddy, 2003).

Les technologies disponibles sont nombreuses, les plus utilisées étant les lits filtrants ou lits fixes, dans lesquels l'eau à traiter est filtrée à travers des supports couverts de biomasse. Les lits fluidisés sont des procédés requérant un faible encombrement. Les supports sont maintenus en suspension par une circulation d'eau (et d'air pour des systèmes aérobies). Les bioréacteurs à lit mobile utilisent la technologie existante des boues activées : des supports plastiques sont placés dans le bassin de boues activées et augmentent ainsi leurs performances en réduisant les coûts de dénitrification (Jardin et al., 2000). Cette technologie peut être étendue à un système de biomasse fixée de faible

volume utilisant les supports plastiques et une agitation mécanique (Odegaard et al., 1994).

Les supports choisis dans les procédés afin d'augmenter la surface de développement d'un biofilm par unité de volume actif doivent être évalués avec soin. Les supports les plus couramment étudiés sont les matériaux granulaires comme le sable, le charbon actif et la brique ou l'argile concassée, des billes de verre, des éponges cellulose ou des matériaux synthétiques (billes et cylindres de plastique) (Canziani et al., 1999; Odegaard et al., 1994). Les critères menant au choix de ces supports sont présentés ultérieurement dans cette revue de la littérature.

2.2.2.1 Lits filtrants

Les réacteurs à lit filtrant (ou fixe) sont composés de matériaux filtrants immobiles sur lesquels va croître une biomasse. L'eau à traiter s'écoule à travers le support bactérien et si les conditions désirées sont anoxiques, ces lits filtrants sont submergés. Les filtres permettent à la fois l'enlèvement des matières en suspension et la dénitrification par la croissance microbienne sur la surface du support. Cependant, les principaux inconvénients de ce type de traitement sont l'accroissement graduel de la perte de charge due à la rétention des matières en suspension, aux écoulements préférentiels, à la non homogénéité d'efficacité et d'activité biologique, à l'accumulation de biofilm et à l'azote gazeux produit par la dénitrification (Metcalf et Eddy, 2003). Il est donc nécessaire de dégazer périodiquement les filtres en effectuant un court lavage à rebours de quelques secondes. De plus, des lavages à contre-courant doivent être effectués afin de décolmater les supports filtrants et enlever la biomasse et les matières retenues en excès. Lorsque l'effluent est pauvre en source carbonée, il est nécessaire d'ajouter une source de carbone externe pour s'assurer de la croissance de la biomasse et du rendement de dénitrification. Les systèmes de traitements utilisent généralement le méthanol comme source externe de carbone, en raison de son faible coût et de la faible

production de boues engendrées (Koch et Siegrist, 1997; Lemmer et al., 1997; Horn et Telgmann, 2000).

Les performances et supports bactériens utilisés sont résumés dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Conditions opératoires et performances de lits filtrants

Effluent	Support bactérien	C _{source}	V _{filtration}	C _{NO3-N}	r _{dn}	Fr.lav	Réf
Eaux usées municipales	Sable et basalte	Méthanol	29	35	6.3	1 jour	a
Eaux usées municipales	Argile et grains de quartz	Méthanol	5-10	10-25	1	2 jours	b
CaNO ₃ +MgSO ₄ +eau distillée	Argile expansée (Biolite)	Ethanol Boues hydrolysées	1-5	25	2.5	1 jour	c
Effluent pisciculture	Brique concassée	Ethanol	-	60	1.6	3 jours	d
Eaux usées municipales	Anthracite et gravier	Isopropanol	4.1	20	1.2	1 jour	e
Eau usée synthétique	Anneaux de Raschig Siporax™	Glucose	31	14	0.8	-	f
Légende : C _{source} = source carbonée ajoutée V _{filtration} = Vitesse de filtration du lit (m/h) C _{NO3-N} = mg NO ₃ -N/L à l'affluent r _{dn} = kg NO ₃ -N réduit. m ⁻³ réacteur. jour ⁻¹ Fr.lav.= Fréquence des lavages à contre-courant							
Références : (a) Horn et Telgmann, 2000; (b) Koch et Siegrist, 1997 ; (c) Åsøy et al., 1998 ; (d) Sauthier et al., 1998; (e) Hwang et al., 1994 ; (f) Menoud et al., 1999							

La fréquence du lavage dépend de la charge en azote appliquée et des matières organiques présentes dans l'effluent. De plus, le lavage ne doit enlever qu'une partie de la biomasse, sinon le filtre perd son efficacité. En effet, après plusieurs lavages, l'activité de la biomasse dénitrifiante est réduite à cause de la perte du biofilm, et les conditions d'alimentation en source de carbone doivent s'adapter à ces changements (Koch et Siegrist, 1997). Menoud et al. (1999) évaluent à six jours (après le lavage à contre-courant) le temps nécessaire pour obtenir les performances d'avant lavage. Cependant, cette durée peut-être réduite par le choix d'un support bactérien poreux qui retient une

grande partie de la biomasse. Le temps nécessaire pour retrouver les performances peut alors être réduit à 1 heure ou moins (Rahmani et al., 1995, Sauthier et al., 1998).

2.2.2.2 Disques rotatifs

Les biodisques rotatifs consistent en une série de disques circulaires en polystyrène ou en chlorure de polyvinyle, tournant sur eux-mêmes à l'aide d'un arbre de rotation au centre. Les disques sont en contact avec l'eau et l'air extérieur pour des systèmes aérés mais peuvent aussi être submergés lorsqu'un milieu anoxie est requis pour la dénitrification. Ils offrent une grande surface disponible pour la croissance des biofilms (9300-13900 m²/unité de traitement) et présentent une grande facilité d'opération et un faible coût énergétique. Les taux de dénitrification sont élevés (3.25 gNO₃-N/m²/j) mais ils sont principalement employés pour le traitement des eaux usées municipales (Metcalf et Eddy, 2003). En effet, Une dénitrification hétérotrophe est trop complexe dans un système de traitement industriel, car il nécessite un prétraitement (précipitation, floculation, sédimentation et adsorption sur charbon actif). Des études sur la dénitrification autotrophe dans des biofilms nitrifiants sont ainsi menées pour des eaux usées riches en ammoniacque (Koch et al., 2000).

2.2.2.3 Réacteurs à lit fluidisé

L'utilisation de bioréacteurs à lit fluidisé a fait l'objet d'une attention accrue depuis plusieurs années comme procédé de dénitrification (Vredenburg et al., 1997; Popel et Kristeller, 1997, Kim et al., 2004). Dans un réacteur à lit fluidisé, un flux ascendant maintient le support bactérien couvert de biofilm en suspension dans le liquide. La vitesse de recirculation doit être suffisante pour fluidiser le lit composé généralement de sable (Bosander et Westlund, 2000; Sen et Dentel, 1998; Semon et al., 1997 ; Metcalf et Eddy, 2003) ou de billes de verre (Yu et Rittmann, 1997).

Des réacteurs à fluidisation inversée ont également été utilisés; dans ce cas, des billes et cylindres de plastique (polyéthylène ou polypropylène) de densité inférieure à l'affluent

à traiter sont fluidisées par un courant descendant, ce qui permet un bon contrôle de la biomasse (Karamanev et Nikolov, 1992) et augmente les performances du bioréacteur ainsi que sa stabilité.

Le mélange important dans le réacteur implique un transfert de matière plus élevé, ainsi le transfert des nitrates entre la solution et la biomasse est maximisé par cette voie. Un biofilm dense peut ainsi se développer pour atteindre une concentration dans le réacteur de 20 à 30 g de biomasse/L pour des applications de post-dénitrification (Metcalf et Eddy, 2003). Un ratio de recirculation de 2 :1 à 5 :1 est requis pour maintenir une vitesse de liquide suffisante pour fluidiser le lit (Metcalf et Eddy, 2003). En raison du mouvement des supports bactériens dans le liquide, les risques de colmatage du lit par la biomasse sont réduits par rapport à un lit fixe. L'azote gazeux produit par la dénitrification est plus facilement dégazé et la biomasse en excès peut aussi se détacher pour être évacuée à l'effluent du réacteur. Cependant, ce système n'est pas assez efficace pour permettre un autonettoyage régulier des supports bactériens et peut mener rapidement au colmatage des supports et donc entraîner des limitations diffusionnelles intra-biofilm. Des systèmes de recirculation des supports bactériens au moyen d'une pompe sont installés dans le réacteur ou en dehors, afin de séparer la biomasse des grains de sable, et permettre un retour du sable nettoyé dans le lit fluidisé (Popel et Kristeller, 1997; Bosander et Westlund, 2000). Les grilles de rétention doivent également être nettoyées à intervalles réguliers pour éviter des pertes de charge.

La surface d'attachement des bactéries est très importante dans le cas des lits fluidisés, car toute la surface des grains de sable est disponible pour la croissance de la biomasse, contrairement aux lits fixes. Cette surface est d'environ $1000 \text{ m}^2/\text{m}^3$ de volume de réacteur (Metcalf et Eddy, 2003) et peut même atteindre $3000 \text{ m}^2/\text{m}^3$ (Bosander et Westlund, 2000), ce qui est bien supérieur aux surfaces disponibles dans un lit fixé.

Les performances des lits fluidisés sont rapportées au tableau 2.2.

Tableau 2.2 : Conditions opératoires et performances de lits fluidisés ascendants

Effluent	Support bactérien			Temp °C	V _{filtr.}	C _{source}	C _{NO3-N}	r _{dn}	Réf
	Type	Aire m ² /m	Taille mm						
Eaux usée ¹	Sable		0.4	30	25	Acide acétique	330	2	a
Effluent	Sable	2720	2-2.6	25	10	Alcool ²	30-35	3	b
Lixiviats	Grains de soufre	-	2-3.4	20	-	Soufre	700	3.4	c
Eaux usées	Sable	-	0.46	11-25	36	Méthanol	3.8-	6.1	d
Eaux usées ³	Sable	3000	0.5	10-20	39	Méthanol	18	6.3	e
Eaux usées	Sable	3000	0.3	15-20	20-30	Méthanol	24	5.2	f
Légende : C _{source} = source carbonée ajoutée V _{filtr.} = vitesse de filtration du lit (m/h) C _{NO3-N} = mg NO ₃ -N/L à l'affluent r _{dn} = kg NO ₃ -N réduit. m ⁻³ réacteur. jour ⁻¹ ¹ eau usée d'une centrale thermique au charbon, 32-38 g Cl/L ² mélange d'eau, de méthanol (25%) et d'alcool jusqu'à C-8 (50%) ³ eaux usées municipales et industrielles (pâtes et papiers, brasseries)									
Références : (a) Vredenbregt et al., 1997; (b) Canziani et Bonomo, 1998 ; (c) Kim et al., 2004 ; (d) Semon et al., 1997; (e) Bosander et Westlund, 2000 ; (f) Popel et Kristeller, 1997									

Bien que les performances des lits fluidisés soient très élevées en raison de la surface spécifique offerte au développement bactérien, Sutton et Mishra (1990) recensent quatre problèmes majeurs lors des opérations à grande échelle :

- La séparation des supports et le système de contrôle de la biomasse posent problème;
- Manque de contrôle de l'expansion souhaitable du lit se faisant selon les différences de densité/accroissement de biofilm;
- Sensibilité accrue au colmatage à cause de la biomasse (configuration de pré dénitrification)
- Contrôle incertain d'une fluidisation stable (vitesse de fluidisation élevée et constante requise)

Bien que les lits fluidisés soient très efficaces pour la dénitrification du point de vue biologique, les conditions hydrauliques requises nécessitent un contrôle important pour une fluidisation optimale. En raison de ces inconvénients, les réacteurs à pleine échelle sont généralement employés dans les systèmes de traitement industriels et pour les traitements anaérobies (Chudoba et al., 1998).

2.2.2.4 Bioréacteurs à lit mobile (BRLM)

Les bioréacteurs à lit mobile (BRLM) sont utilisés pour le traitement des eaux usées depuis une dizaine d'années, et un intérêt croissant leur est porté. Ces bioréacteurs ont prouvé leur efficacité à la fois en nitrification des eaux usées municipales (Bonomo et al., 2000; Andreottola et al., 2000; Rusten et al., 1995), des lixiviats (Welander et al., 1998) mais aussi en dénitrification des eaux usées (Kramer et al., 2000; Aspegren et al., 1998). Par contre, peu de données sur l'efficacité de ce procédé pour le traitement des eaux industrielles sont disponibles, certainement en raison de son application récente.

Le principe du procédé repose sur l'utilisation de supports solides (plastiques ou autres), maintenus en suspension dans le liquide à traiter. Dans le cas d'un réacteur anoxie, le mouvement des supports est engendré par un agitateur mécanique à la place du bullage d'air, afin d'éviter l'introduction d'oxygène. Le support ayant été le plus utilisé est un petit cylindre en polyéthylène présentant une grande aire spécifique (environ $500 \text{ m}^2/\text{m}^3$ de support) pour une optimisation de la concentration en biomasse (Aspegren et al., 1998; Welander et Mattiasson, 2003). Cependant, le procédé peut aussi utiliser des cubes de mousse (Maurer et al., 1999) ou encore du sable (Kramer et al., 2000) comme supports du biofilm. L'avantage des BRLM par rapport aux lits fluidisés réside dans le fait que la mise en suspension des supports est effectuée par brassage mécanique (pales) plutôt que par un jet de recirculation dont il faut constamment surveiller la vitesse, celle-ci évoluant avec la croissance de la biomasse.

Cette technologie peut également être insérée dans des procédés à boues activées afin d'augmenter la surface disponible pour la croissance des microorganismes (Metcalf et Eddy, 2003). Une étude pilote sur l'utilisation de supports plastiques dans des procédés de boues activées a montré l'efficacité des supports sur la réduction de l'azote inorganique total à l'effluent et insiste sur la possibilité d'augmenter les performances du système de traitement sans construire de réservoirs supplémentaires, simplement en ajoutant des supports (Munch et al., 2000).

Pastorelli et al. (1997) ont appliqué le procédé à lit mobile pour un réacteur biologique séquentiel sans source de carbone additionnelle, en utilisant le carbone contenu dans l'affluent d'une eau municipale et montrent un taux de dénitrification élevé par rapport à la faible charge en substrat. Maurer et al. (2001) ont également utilisé le lit mobile dans des installations de boues activées avec l'eau usée comme source de carbone mais la dénitrification était limitée par la concentration en nitrates. Cette étude a permis de recenser les différents procédés de traitement biologique de l'azote dans l'eau usée municipale et industrielle. Le schéma des différents réacteurs est indiqué dans la figure 2.1. Le tableau 2.4 récapitule l'ensemble des avantages et inconvénients de chacun des systèmes étudiés.

Tableau 2.4 : Avantages et inconvénients des systèmes de dénitrification

Procédé	Avantages	Inconvénients
Boues activées	Facilité d'opération Coût énergétique faible	Grand espace réactionnel Clarification requise
Disque rotatif	Facilité d'opération Grande surface spécifique Coût énergétique faible	Clarification requise
Lit fixé	Taux de dénitrification élevé Facilité d'opération	Pertes de charges Surface spécifique réduite Colmatage des supports
Lit fluidisé	Bon transfert de matière Taux de dénitrification très élevé Pas de clarification Grande surface spécifique Espace réactionnel réduit	Difficulté de contrôle à grande échelle Lavage à contre-courant ou nettoyage des supports
Lit mobile	Pas de lavage contre-courant Pas de pertes de charge Contrôle du biofilm Procédé continu et facile à opérer Espace réactionnel réduit	Taux de dénitrification peu élevés Coût énergétique élevé

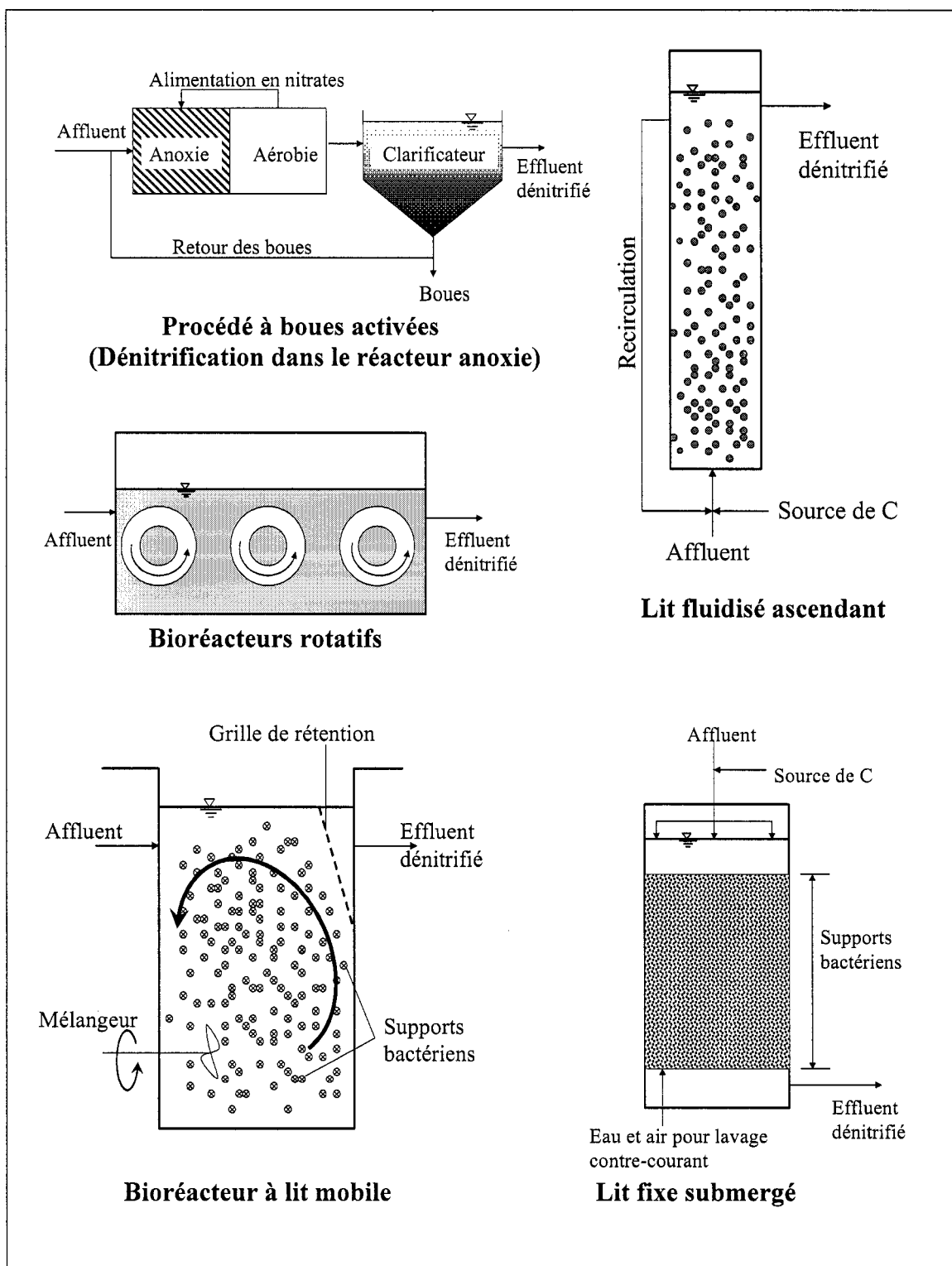


Figure 2.1: Principaux réacteurs de dénitrification

2.2.3 Dénitrification biologique appliquée à l'eau de mer

2.2.3.1 Nécessité de la dénitrification en système fermé

Dans les grands aquariums en circuit fermé, l'ammoniaque provenant des déjections de poissons et oiseaux est convertie en nitrates dans les systèmes de nitrification. Les changements d'eau sont coûteux, et en l'absence d'un système de dénitrification, les nitrates s'accumulent rapidement. Le tableau 2.5 présente la concentration maximale en nitrate avant la mise en place d'un système de dénitrification.

Tableau 2.5 : Concentration en nitrates dans les grands aquariums marins.

Aquarium	Volume du bassin (million de litres)	Durée d'opération (ans)	Taux de nitrates atteint (mgNO ₃ -N/l)	Référence
Living Seas (Floride)	23	5	136	Grguric et Coston, 1998
Ocean Tank (New Jersey)	2.9	6	133	Grguric et al., 2000
Mesocosme Saint Laurent	3	3	150	Parent et Morin, 2000

Après la mise en place d'une filière de dénitrification par biomasse fixée, les taux de dénitrification ont chuté : en un an, une baisse de 45 mgNO₃-N/l était constatée pour un aquarium contenant 23 millions de litres (Grguric et Coston, 1998).

2.2.3.2 Contraintes et inhibitions des sels sur la dénitrification

Plusieurs études ont démontré que le rendement de dénitrification est diminué avec l'augmentation de la salinité dans le milieu (Van der Hoek et al., 1987; Dinçer et Kargi, 1999; Yang et al., 1995). Ces travaux ont débuté par une biomasse cultivée en eau douce, puis soumise à une augmentation progressive de salinité. Dinçer et Kargi (1999) notent une variation faible du rendement de dénitrification pour des teneurs en sels

jusqu'à 30 g/l (10% de perte d'efficacité), mais une concentration de 60 g/l affecte le rendement de dénitrification de 70%. De même, Yang et al. (1995) concluent de leur étude que la dénitrification est affectée pour des concentrations en NaCl ou NaHCO₃ supérieures à 20g/l (baisse de 40% du rendement pour une concentration de 30g/l de NaCl par rapport à une eau douce). La même conclusion est apportée pour la nitrification d'une eau usée salée : Rosa et al. (1998) observent une perte de 50% du rendement de nitrification lorsque la concentration en sels passe de 0 à 50 g NaCl/l.

Cependant, d'autres études montrent la capacité de dénitrification de boues activées acclimatées progressivement à de hautes teneurs en nitrates et en sels (5.4 gNO₃-N/l et 70g NaCl/l) pour un pH=9, alors que la dénitrification est complètement inhibée dans les mêmes conditions mais avec un pH de 7.5. Une hypothèse sur la toxicité des nitrites à ce pH est alors avancée. Par contre, le taux de dénitrification est diminué avec l'augmentation de salinité dans les cas où la dénitrification est effective (Glass et Silverstein, 1999). Van der Hoek et al. (1987) soulignent la capacité d'acclimation des bactéries après trois semaines dans un effluent de salinité de 25gNaCl/l, par une augmentation de 45 à 65% de la valeur optimale obtenue en eau douce.

Vredenburg et al. (1997) montrent également la capacité d'adaptation des bactéries dénitrifiantes à une augmentation de salinité de 0 à 33 g NaCl/l. En effet, la dénitrification est complétée après deux semaines, et le taux de dénitrification est inchangé.

La dénitrification en eau salée est donc possible après acclimation de la biomasse durant quelques semaines (Dahl et al., 1997), mais les bactéries directement présentes dans l'eau de mer ou dans l'effluent des piscicultures peuvent également dénitrifier un effluent lorsque les conditions d'anoxie, de support bactérien et de source de carbone sont présentes (Sauthier et al., 1998). Afin d'optimiser la présence de bactéries résistantes à des effluents salés, des inoculum provenant de gravier d'aquarium (Catalan-Sakairi et al., 1996) ou de sols de mangrove (Menasveta et al., 2001) sont utilisés dans les réacteurs de dénitrification.

2.2.3.3 Les différents systèmes en opération

Afin de réduire le taux de nitrates dans leurs bassins en circuit fermé, de grands aquariums ont installé des systèmes de dénitrification biologique. Le Living Seas aquarium en Floride (23 millions de l), l'Ocean Tank à l'aquarium du New Jersey (2.9 millions de l) et le mésocosme du Saint Laurent marin au Biodôme de Montréal (3 millions de l) possèdent de telles installations. Les réacteurs de dénitrification sont des lits fluidisés (Grguric et Coston, 1998), ou des réacteurs à lit mobile (Sauvé, 2000).

Les aquacultures en circuit fermé nécessitent également un système d'enlèvement des nitrates, spécialement dans les conditions où un changement d'eau s'avère onéreux ou contraignant (Ridha et Cruz, 2001; Al-Hafedh et al., 2003).

En ce sens, de nombreuses études ont été réalisées en eau de mer afin de mettre en place ou d'optimiser les réacteurs de dénitrification biologiques :

- Des tests en lit filtrant avec différents supports bactériens et sources de carbone (Menasveta et al., 2001; Sauthier et al., 1998, Al-Hafedh et al., 2003; Boley et al., 2000)
- Instrumentation du contrôle des bioreacteurs (Whitson et al., 1993)
- Design d'un réacteur à lit mobile avec vortex (Matsumura et al., 1997)

2.3 BIOFILMS ET HYDRODYNAMIQUE

La formation et le maintien d'un biofilm efficace constituent un point majeur dans la mise en route et l'opération de réacteurs à biomasse fixée. Ainsi, afin de mieux comprendre la conduite et les performances de chaque système de traitement, il importe de connaître les bases de l'attachement et du détachement des cellules bactériennes et du biofilm au sein de ces procédés. Le contrôle de ces paramètres permet de parvenir à un meilleur contrôle du bioréacteur et ainsi optimiser ses performances à long terme.

2.3.1 Mécanisme de formation des biofilms

2.3.1.1 *Formation et composition d'un biofilm*

Lors de la mise en contact de microorganismes avec une surface solide, on assiste à la formation d'un biofilm. Au niveau du traitement des pollutions par biofiltration, dans lequel les micro-organismes sont accrochés à un support, la présence d'un biofilm permet un gain d'espace au niveau des installations de traitement, des performances d'épuration élevées et un meilleur contrôle des populations bactériennes (Villasenor et al., 2000). Il devient dans ce cas important d'optimiser l'attachement de la biomasse sur les supports.

Trulear et Characklis (1982) résument brièvement les étapes qui mènent à la présence d'un biofilm sur une surface donnée:

Le développement d'un biofilm sur une surface exposée au passage d'un fluide est le résultat de plusieurs procédés physiques, chimiques et biologiques incluant

- le transport et l'adsorption de molécules organiques à la surface du matériau,
- le transport des cellules microbiennes à la surface,
- l'attachement des microorganismes,
- les transformations microbiennes (croissance et production de substances polymériques exocellulaires (l'abréviation SPE sera employée pour plus de

commodité dans la suite de la revue de littérature) qui conduisent à la formation d'un biofilm,

L'adsorption d'une couche organique se déroule en quelques minutes après l'exposition d'une surface propre à un écoulement d'un fluide contenant des microorganismes, des nutriments et des molécules organiques dispersés. Le transport des cellules dépend du régime d'écoulement du fluide, et la production du biofilm est l'effet combiné de la reproduction cellulaire et de la sécrétion de SPE. La croissance du biofilm est le résultat d'un transfert de matière du substrat et de sa conversion par le biofilm (van Loosdrecht et al., 1995). Les biofilms ayant une grande densité ont tendance à contenir beaucoup de SPE, quelque soit le mode de culture (Ohashi et al., 1999).

2.3.1.2 Attachement des cellules bactériennes

Une surface rugueuse va promouvoir l'attachement des bactéries (Gjaltema et al., 1997a; Picioreanu et al., 2000).

Alves et al. (1999) ont comparé quatre micro-soutports poreux (argile, pouzzolane, verre expansé et sépiolite) et leur étude mène à la conclusion que la sépiolite a la plus grande capacité de rétention (exprimée par unité de volume de lit fixé) suivie par le verre expansé, l'argile et la pouzzolane. Or, la sépiolite a la surface la plus rugueuse et le meilleur volume de pores internes pour une colonisation par la biomasse alors que le verre expansé a des pores plus larges et une surface plus lisse. Ainsi, la rugosité du support est un facteur important à la fois dans le transport et l'adsorption des macromolécules et des cellules microbiennes. Le transport convectif est plus grand près d'une surface micro-rugueuse que d'une surface lisse. En effet, l'adsorption est plus grande, les microrugosités, en abritant les cellules adsorbées des forces de cisaillement, réduisent le taux de désorption, et augmentent la surface disponible pour le contact cellule-support (Characklis et Marshall, 1990).

La force d'adhésion n'est pas uniforme dans le biofilm, mais a tendance à augmenter avec la profondeur du biofilm et la progression de la formation du biofilm (Ohashi et Harada, 1994). De plus, Ohashi et al. (1999) montrent que la force d'adhésion des biofilms a tendance à augmenter avec le développement du biofilm, pour atteindre une échelle de 500 à 1000 Pa, ce qui est loin du cisaillement subi dans des réacteurs de traitement d'eaux.

2.3.1.3 Processus de détachement

Le détachement du biofilm est l'enlèvement des cellules du biofilm existant vers le liquide en contact avec celui-ci. C'est ainsi un facteur important d'équilibre pour la croissance des cellules au sein du biofilm, qui permet d'obtenir un régime stable et continu.

Peyton et Characklis (1993) décrivent le processus de détachement comme une combinaison de :

- L'érosion : enlèvement continu de fines particules de biofilm, résultant des forces de cisaillement;
- Le détachement massif : détachement aléatoire de grandes parties de biofilm, se déroulant souvent dans des biofilms âgés et épais, ou exposés à des changements environnementaux radicaux;
- L'abrasion : Enlèvement du aux collisions de particules solides avec le biofilm, particulièrement dans des lits fluidisés;
- Le détachement : enlèvement du à l'action humaine par des moyens chimiques ou physiques
- L'effet de prédation : consommation de la matière du biofilm par les protozoaires

Sous les mêmes conditions hydrodynamiques, les biofilms à croissance rapide ont un taux de détachement plus important que les biofilms se développant lentement. En effet, des taux élevés de croissance entraînent une instabilité du biofilm et des pertes de biomasse plus importantes lorsque les nutriments ne sont pas limitants (Picioreanu et al., 2000).

2.3.2 Effet de la charge en substrat et de la source de carbone

L'épaisseur d'un biofilm est augmentée lorsque la charge en substrat augmente (Peyton, 1996; Kwok et al., 1998). Le manque de substrat peut aussi influencer la quantité de biomasse présente : en effet, le tableau 2.7 présente la quantité de biofilm détaché après avoir supprimé la source de carbone (glucose) : le détachement est important, et augmente avec les caractéristiques hydrodynamiques du milieu. D'après Melo et Viera (1999), si la diffusion de la source de carbone est meilleure dans le cas d'un biofilm mince et atteint les couches profondes, les biofilms minces et denses sont plus dépendants au substrat que les biofilms épais. Le tableau 2.7 montre les résultats qui permettent de tirer cette conclusion.

Tableau 2.7 : Fraction de biofilm détaché après la suppression de la source de carbone (Melo et Viera, 1999)

Vitesse du liquide pendant la formation du biofilm (m/s)	Fraction de biofilm détaché
0.34	21.4%
0.54	79.4%
0.72	90.7%

Les principales sources de carbone utilisées sont le méthanol, l'éthanol, l'acide acétique, le propionate et l'isopropanol. La densité d'un biofilm développé avec du méthanol (100-120 g MVES/l) est plus élevée qu'avec l'utilisation du formate ou du formaldéhyde (20-35 g MVES/l). Ainsi la densité du biofilm pourrait être influencée par le degré de réduction de la source de carbone (Villasenor et al., 2000).

Le rendement cellulaire est affecté par la source de carbone : l'utilisation de l'éthanol produit un rendement cellulaire trois fois plus important qu'avec l'acide acétique. Ainsi, la croissance de la biomasse est favorisée et le rendement global de dénitrification est plus élevé (Constantin et Fick, 1997).

2.3.3 Influence des forces de cisaillement

L'influence des forces de cisaillement sur le biofilm est très importante et difficile à quantifier. Les études portant sur cette influence sont plutôt des études qualitatives. Le taux de détachement augmente avec l'augmentation de la force de cisaillement, cette dernière augmentant à la fois avec la masse du biofilm et la vitesse rotationnelle (Trulear et Characklis, 1982). Le taux de détachement peut atteindre une grande valeur pour une masse de biofilm importante : la force de cisaillement peut ainsi limiter la quantité maximale de biofilm attaché dans un régime turbulent.

Des études en lit fluidisé montrent l'importance de l'attrition du biofilm due aux collisions particules-particules (Chang et al., 1991). De plus, la turbulence due à la fluidisation entraîne également un contrôle du biofilm.

D'après Mulcahy et Shieh (1987), l'épaisseur du biofilm est le paramètre important qui affecte la fluidisation et la concentration en biomasse d'un lit fluidisé de dénitrification. Le contrôle de l'épaisseur du biofilm est aussi souligné par van Loosdrecht et al (1995), qui présente que le cisaillement contrôle la croissance du biofilm, et ainsi stabilise le système réactionnel. De plus, l'étude souligne la nécessité d'appliquer un certain cisaillement sur le biofilm afin d'obtenir un biofilm approprié et stable, afin d'éviter les phénomènes de lessivage du biofilm.

Le tableau 2.8 illustre l'importance du cisaillement à appliquer afin d'éviter de perdre une grande partie de biomasse lors de changements brusques de l'hydrodynamique du réacteur.

En effet, la plus grande partie du biofilm se détache dans les premières secondes où l'augmentation du cisaillement s'applique, et la quantité de biomasse détachée dépend principalement de l'épaisseur du biofilm avant détachement (Horn et al., 2003).

Tableau 2.8 : Effet de la vitesse du liquide sur la densité du biofilm et sa stabilité physique (Melo et Viera, 1999)

Vitesse du liquide pendant la formation du biofilm (m/s)	Densité sèche du biofilm (kg/m ³)	Fraction de biofilm enlevé lors de l'accroissement de la vitesse du liquide à 1 m/s
0.35	14	40%
0.62	28	0%

Beyenal et Lewandowski (2002) avancent l'hypothèse que les biofilms, dépendant de la vitesse du liquide lors de leur croissance, arrangent leur architecture interne afin de contrôler le transport des nutriments et leur résistance mécanique au cisaillement du liquide. Ainsi, les biofilms croissant à des vitesses de liquide faibles possèdent une densité faible et une diffusivité effective importante, mais ne résistent pas à une augmentation de la force de cisaillement.

Casey et al. (2000) ont également montré que la vitesse du fluide influence le transfert de matière dans la couche limite de diffusion, le taux de détachement et l'épaisseur du biofilm.

Les conditions physico-chimiques du support peuvent influencer l'adhésion dans des conditions d'opération particulières: le tableau 2.9 montre différents tests d'adhésion réalisés sur des billes de verre dont la surface a été physiquement ou chimiquement modifiée : sous des conditions de mélange doux (exposition pendant 2h avec une agitation de temps en temps pour exposer toutes les surfaces des billes à *Pseudomonas putida*) on constate une meilleure adhésion sur des surfaces hydrophobes ou chargées positivement.

Cependant, sous les conditions de réacteur (régime turbulent), l'adhésion n'est plus favorisée, quelles que soient les conditions physico-chimiques de la surface. Ainsi, dans des réacteurs airlift, l'adhésion et la formation du biofilm sont dominées par les conditions hydrodynamiques et la collision entre particules.

Tableau 2.9 : Adhésion de *P. putida* à la surface de billes de verre standards ou modifiées (Gjaltema et al., 1997a).

	Adhésion (nombre de cellules±déviati on standard, $\times 10^7/\text{m}^2$)	
Surface des billes de verre	Test d'adhésion	Conditions de réacteur
Standard	41±24	0.7±1.0
rugueuse par décapage	6.8±4.1	3.7±5.6
hydrophobe	100±37	0.5±1.0
chargée positivement	90±56	4.1±3.9

2.3.4. Influence des supports sur le détachement du biofilm

Lorsque le taux de remplissage du réacteur avec les supports bactériens augmente, les forces de détachement sont plus élevées en raison du plus grand nombre de collisions particule-particule, mais le détachement est plus faible, et le biofilm plus stable (Kwok et al., 1998).

La taille des supports bactériens influence également l'abrasion causée par les collisions entre particules. Plus la taille augmente et plus le taux d'abrasion est augmenté.

De plus, les caractéristiques de la surface des supports influent sur la force de l'impact : les supports rugueux et irréguliers causent plus de dommages que les supports lisses (Gjaltema et al., 1997b).

2.4 SUPPORTS MICROBIENS

2.4.1 Supports microbiens utilisés en procédés biologiques

Dans les procédés à biofilm, des supports sont utilisés pour l'attachement et la croissance des micro-organismes à la surface. Les réacteurs à lit fluidisé utilisent des supports possédant une grande surface spécifique (environ $1000 \text{ m}^2/\text{m}^3$), généralement du sable ou du charbon actif (Metcalf et Eddy, 2003). Les supports sont maintenus en suspension par un écoulement ascendant ou descendant.

Initialement, les bioréacteurs à lit mobile ont été développés avec des Kaldnes®, petits supports cylindriques en plastique, avec des arêtes externes et une croix interne afin d'optimiser la surface spécifique ($500 \text{ m}^2/\text{m}^3$). Cependant, ces supports ne sont pas les seuls à avoir été testés dans ce type de réacteur : le sable (Kramer et al., 2000), les cubes de mousse (Maurer et al., 2001) ou l'argile en poudre (Chudoba et al., 1998) font partie des supports étudiés pour la dénitrification des eaux usées.

Surface spécifique

Différents supports en plastique sont aussi utilisés afin de vérifier l'influence de la surface spécifique sur l'efficacité du procédé. Ainsi, plusieurs études montrent que le taux d'enlèvement de la charge organique (Odegaard et al., 2000) ou des nitrates (Rajapakse et Scutt, 1999) est accru lorsque la surface spécifique des supports augmente, quelque soit la forme ou la taille des supports. Cependant, si Welander et al. (1998) parviennent à la même conclusion, l'attention est portée sur l'importance d'un équilibre entre la surface spécifique et les ouvertures du support, afin de faciliter les transferts de matière entre le liquide et le biofilm.

Les divers supports utilisés dans les systèmes de traitement des effluents et leurs applications sont résumés dans le tableau 2.10.

Tableau 2.10 : Supports bactériens

Support bactérien	type	Taille mm	$A_{\text{spec.}}$ m ² /m ³	Procédé	Applications de traitement	Réf.
minéral	Sable	0.2-0.5	3000	Lit fluidisé, fixé, mobile	NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺	a; b; c; d
	Anthracite	3	1400	Lit fixé	NO ₃ ⁻	e
	Argile expansée	1.6-2.5	-	Lit fixé	NO ₃ ⁻	f; g; h; i
	Coquillage écrasé	50-200	-	Lit fixé	NO ₃ ⁻	J
	Siporax TM (verre)	15*15	-	Lit fixé	NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻	k
	Billes de verre	0.68	-	Lit fluidisé	NO ₃ ⁻	l
	Pouzzolane	3.5	-	Lit fixé	NO ₂ ⁻	m
	Basalte	0.6	4000	Réacteur airlift	DCO	n
Plastique	Rouleau troué	35*75	278	Lit mobile	DCO	o
	Flocor-RMP®	15*20	160			
	Cylindre KMT	7*10	500	Lit mobile	DCO, NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻	p; q
	Tuyau PVC	25*50	536	Lit fixé	NH ₄ ⁺ , NO ₂ ⁻	r
	Cylindre Natrix		190	Lit mobile	DCO, NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻	s; t
	Mousse de polyuréthane	10.5	-	Lit mobile	NO ₃ ⁻	u
	EtaPak	-	200	Lit fixé	NO ₃ ⁻ , DCO	v
	IP-Spacers	-	500			
	Cylindre PP	6.3*3.9	200	Lit fixé	NH ₄ ⁺	w
Biopolymère	Biopol PHB	-	-	Lit fixé	NO ₃ ⁻	y
cellulose	Aquacel TM	1-5	3150	Lit fluidisé*	NO ₃ ⁻ ; NH ₄ ⁺	z; aa

Légendes

$A_{\text{spec.}}$ = surface spécifique du support en m²/m³

* Lit fluidisé avec jet de recirculation tangentiel des supports

Références : (a) Bosander et Westlund, 2000; (b) Canziani et Bonomo, 1998; (c) Sen et Dentel, 1998; (d) Kramer et al., 2000; (e) Hwang et al., 1994; (f) Lemmer et al., 1997; (g) Moore et al., 2001; (h) Chudoba et al., 1998; (i) Aesoy et al., 1998; (j) Menasveta et al., 2001; (k) Menoud et al., 1999; (l) Mulcahy et Shieh, 1987; (m) Rahmani et al., 1995; (n) Villasenor et al., 2000; (o) Andreottola et al., 2000; (p) Bonomo et al., 2000; (q) Welander et Mattiasson, 2003; (r) Al-Hafedh et al., 2003; (s) Odegaard et al., 2000; (t) Welander et al., 1998; (u) Maurer et al., 1999; (v) Rajapakse et Scutt, 1999; (w) Ridha et Cruz, 2001; (y) Boley et al., 2000; (z) Matsumura et al., 1997; (aa) Catalan-Sakairi et al., 1997a

2.4.2 Influence des supports et du biofilm sur l'hydrodynamique des bioréacteurs BRLM

L'influence des supports sur l'hydrodynamique des réacteurs est surtout étudiée pour des lits fluidisés, dans lesquels la connaissance de la vitesse minimale de fluidisation (V_{mf}) est importante pour l'opération du réacteur. La vitesse de sédimentation d'un support plus dense que l'eau est diminuée par la présence d'un biofilm, de densité 1.14g/cm^3 , proche de l'eau (Hermanowicz et Ganczarczyk, 1983). Ainsi, la rugosité du support cause une augmentation de la force d'entraînement de la particule (Turan et Ozturk, 2001), car il facilite l'attachement de la biomasse (Gjaltema et al., 1997a). La V_{mf} d'un support est aussi affectée par la densité, la taille, la forme et le volume de vide de celui-ci (Moore et al., 1999).

La taille (Moore et al., 2001) et la densité (Mann et al., 1995) d'un support peuvent aussi influencer l'hydraulique d'un réacteur piston. Ainsi, un support petit (1.5-3mm) donne de meilleures conditions piston qu'un support plus grand (2.5-4.5mm) qui va augmenter le mélange et la canalisation de l'eau dans le réacteur (Moore et al., 2001).

Des tests de traçage menés par Maurer et al. (1999) montrent des zones mortes lorsque les tests sont menés en présence de supports en mousse expansée (37% de remplissage), alors que sans supports, le mélange est idéal. Cependant, la forme des courbes de concentration en traceur révèle tout de même un bon mélange avec les supports.

Les caractéristiques physiques des supports jouent également sur le lavage à contre-courant : Turan et al. (2003) montrent ainsi que les forces de cisaillement hydrodynamiques augmentent avec l'augmentation de la densité et de la taille des supports pendant cette période. Séguret et al. (2000) montrent par des tests de traçage que le temps de rétention avec un lit formé de petits supports en plastique augmente par rapport à un lit filtrant composé de roches granulaires. Moore et al. (1999) concluent sur l'importance de tests de traçage avec supports bactériens afin d'éviter des problèmes potentiels de canalisation ou de rétention excessive du liquide. De plus, l'attention est

portée sur la nécessité de bien choisir le support suivant l'application que l'on veut effectuer.

Le support n'est pas la seule source d'influence du mélange de l'effluent dans les réacteurs. La présence d'un biofilm peut ainsi modifier le temps de rétention.

Sharp et al. (1999) ont mené des tests de traçage avec des réacteurs piston contenant des supports non colonisés et colonisés. Ils concluent que le développement du biofilm a un effet significatif sur le temps de rétention de la fluorescéine. Le temps de sortie (transport) est raccourci en raison des canalisations. Par contre, la dispersivité hydrodynamique longitudinale et le temps de rétention sont augmentés à cause de porosités créées par les biofilms. La même conclusion est tirée par Moore et al. (1999), qui observent la présence de canaux préférentiels, après un lavage à contre-courant des supports couverts de biofilm. Cependant, d'après cette étude, le développement de la biomasse avant le lavage réduit ces canaux préférentiels en les fermant et en compactant le lit filtrant. Ainsi, le biofilm a une influence sur le comportement hydrodynamique de l'effluent : Séguret et al. (2000) tiennent compte d'un modèle biodiffusionnel pour déterminer le comportement hydrodynamique de lits filtrants à pleine échelle.

2.5 CONCLUSION

Le but de cette revue bibliographique était de recenser les procédés de dénitrification existants et de comparer leurs performances. Une attention particulière a été portée aux procédés à biomasse fixée, de loin les plus performants et utilisés en aquaculture, en raison de leur taille réduite.

Il ressort de cette étude que les procédés à biomasse attachée nécessitent une maintenance et un contrôle accru par rapport aux procédés à biomasse suspendue.

En effet, le biofilm est un paramètre clé de la dénitrification, et une connaissance des conditions de développement, de maintien et de détachement des cellules est importante afin d'optimiser de tels procédés. Les influences sur le maintien du biofilm sont nombreux (effluent, source de carbone, support bactérien).

Il apparaît que le développement d'un biofilm stable est contrôlé principalement par les forces de cisaillement dues aux collisions entre les supports et l'érosion du biofilm causée par la vitesse du fluide. Cependant, d'autres paramètres sont importants, et le choix d'un support adapté à l'application désirée doit faire l'objet d'une attention particulière, en raison de son influence sur l'hydrodynamique du réacteur.

La dénitrification en eau de mer apparaît possible, et la salinité, si elle est inhibitrice à court terme sur une biomasse non adaptée, n'apparaît pas comme un obstacle à une dénitrification efficace d'un effluent marin.

CHAPITRE III

APPROCHE METHODOLOGIQUE

3.1 CONCEPTION ET ASSEMBLAGE DES REACTEURS PILOTES

3.1.1 Choix du réacteur

Le réacteur de dénitrification installé au Biodôme de Montréal est un réacteur à lit mobile à flux descendant et comprenant des entrées d'eau tangentielles. Sa conception devait être optimisée dans le cadre du projet de recherche présent. La technologie devant rester la même, deux réacteurs de dénitrification ont été conçus et construits sur le modèle du réacteur à lit mobile, à l'échelle 2/7.

Les réacteurs sont conçus pour fonctionner en mode continu, à l'image de la filière de dénitrification du Biodôme.

3.1.2 Conception d'un réacteur polyvalent

Le réacteur utilisé pour la désoxygénation de l'eau est une cuve cylindrique conçue pour l'étude de la dénitrification de l'eau de mer dans le cadre de la même subvention de recherche, dont les caractéristiques sont un volume utile de 110L, un diamètre de 46 cm et une possibilité de fonctionner en lit fixe à courant ascendant (Labelle, 2004).

Il est rempli de billes de plastique de type Nupac de 6 cm de diamètre (Lantec products inc., Agoura Hills, CA) qui favorisent la formation d'une biomasse désoxygénante en raison de sa grande surface spécifique ($131 \text{ m}^2/\text{m}^3$).

Les réacteurs de dénitrification utilisés dans ce projet sont composés d'une cuve cylindrique en PVC transparent de 28 cm de diamètre et 43 cm de hauteur. Le réacteur est muni d'une boucle de recirculation qui permet une fluidisation ascendante ou descendante des supports. La boucle de recirculation est munie d'un rotamètre. Des

entrées tangentielles (4) sont installées afin de favoriser le brassage de l'eau. La figure 3.1 présente le schéma de configuration d'un réacteur pilote de dénitrification.

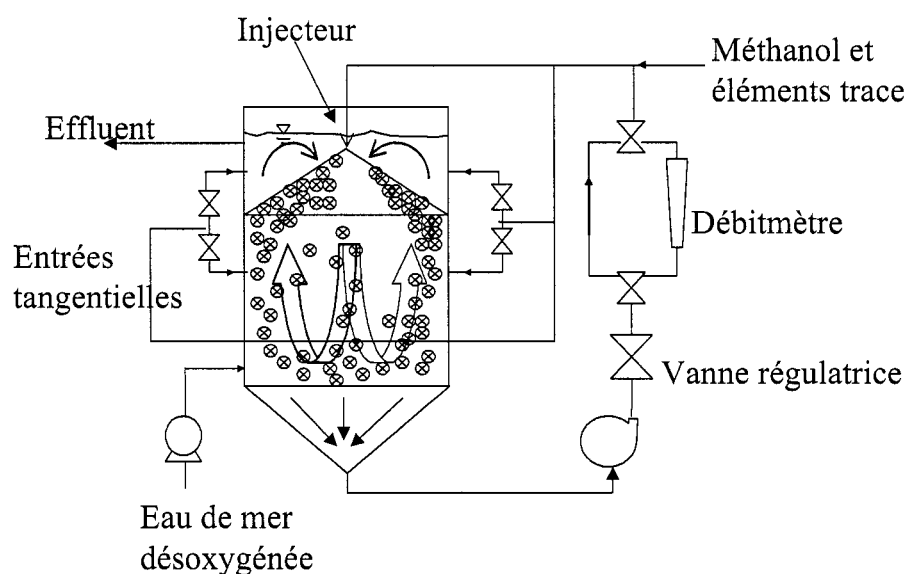


Figure 3.1 : Schéma du réacteur de dénitrification en continu

Le réglage du débit d'alimentation en eau s'effectue au moyen d'une pompe péristaltique équipée d'un variateur de vitesse. Le débit de recirculation de l'eau est régulé par une vanne située en aval de la pompe centrifuge de recirculation.

L'eau de mer à l'effluent est évacuée par trop-plein.

Une grille de rétention des supports est placée au fond du réacteur (dans le cas d'une fluidisation descendante), afin d'éviter l'aspiration des supports dans la conduite de recirculation. Une grille de rétention de forme conique est placée au-dessus des supports.

3.2 ÉVALUATION DE L'HYDRODYNAMIQUE DU REACTEUR A LIT MOBILE ET DES SUPPORTS BACTERIENS.

3.2.1 Tests de traçage

Le but de l'essai de traçage est d'évaluer le comportement hydrodynamique du liquide dans le réacteur pilote. La fluorescéine est choisie afin de ne pas interférer lors de la mesure de l'échantillon avec les composés présents dans l'eau de mer.

Le protocole de traçage est décrit en annexe A, section 1.

Les mesures sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 490 nm. La courbe d'étalonnage a été réalisée en eau de mer afin de limiter au maximum les interférences. La courbe montre une bonne linéarité ($r^2=0,9913$) jusqu'à 50 mg fluorescéine/l (annexe 3 du protocole de traçage MD ScA 01).

Les essais de traçage ont été effectués dans le réacteur pilote de 33 L suivant différentes configurations (Tableau 3.1).

Tableau 3.1 : Conditions d'opération des essais de traçage avec la fluorescéine

Essai	Mode de fluidisation	Entrées tangentielles	Débit de recirculation (l/min)	Diamètre du jet de recirculation	Remplissage 30%
1	Ascendant	Oui	20	4,8 mm	Non
2	Descendant	Non	20	''	Cascade 1A
3	''	Oui	20	''	Non
4	''	Oui	20	''	Pall Ring 1''
5	''	Oui	16	''	Cascade 1A
6	''	Non	16	''	aucun
7	''	Non	20	8 mm	Cascade 1A
8	''	Non	20	4,8 mm	Cascade 1A
9	''	Non	20	4,8 mm	TriPack1

Les essais 1 à 7 sont réalisés sans biomasse. Les essais 8 et 9 sont effectués avec des supports couverts de biomasse. L'injection du traceur est réalisé en une fois, suivant le protocole de traçage.

Le point d'échantillonnage se situe en aval de la sortie du réacteur, afin de ne pas perturber l'hydrodynamique dans le réacteur.

Lorsque les échantillons sont prélevés dans les réacteurs contenant de la biomasse, il faut placer des filtres dans les tubes à échantillon afin que la lecture par spectrophotométrie ne soit pas déviée par la présence de matières en suspension.

L'efficacité du mélange peut être estimée visuellement en comparant la courbe obtenue par lecture des échantillons à la courbe théorique correspondant à un réacteur complètement mélangé.

L'équation de la courbe de concentration en fonction du temps d'un réacteur complètement mélangé pour une injection ponctuelle est la suivante (Metcalf et Eddy, 2003) :

$$C(t) = C_0 e^{-t\left(\frac{Q}{V}\right)} \quad (\text{Éq. 3.1})$$

où C_0 = Concentration initiale en fluorescéine, estimée par la quantité de fluorescéine ajoutée (g) divisée par le volume du réacteur (g/L)

t = temps (min)

Q = Débit d'alimentation en eau

V = Volume du réacteur (L)

En superposant les deux courbes, une estimation qualitative peut être effectuée.

Cependant, une estimation quantitative doit être menée afin de déterminer précisément l'efficacité du mélange. Une mesure du temps de rétention hydraulique moyen (TRHm) est effectuée pour être comparée au TRH théorique calculé par :

$$TRH_{théorique} = \frac{\text{Volume du réacteur}}{\text{Débit d'alimentation en eau}} \quad (\text{Éq. 3.2})$$

Le TRHm est défini comme l'abscisse du centre de gravité de la courbe expérimentale de la concentration de fluorescéine en fonction du temps.

Il peut être estimé avec l'expression suivante :

$$TRHm = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} t_i C_i \Delta t_i}{\sum_{i=1}^{i=n} C_i \Delta t_i} \quad (\text{Eq. 3.3})$$

Où C_i = Concentration de traceur à l'effluent du réacteur au temps t_i (mg/L)

Δt_i = temps écoulé entre deux échantillons consécutifs (min)

t_i = temps écoulé depuis le début de l'essai (min)

n = nombre total d'échantillons

Une analyse complète des paramètres permettant d'évaluer un réacteur complètement mélangé peut se trouver dans le protocole de traçage aux fluorures effectué pour le Biodôme (Sauvé, 2000).

La validité de l'essai peut être évaluée en vérifiant la masse de traceur récupérée au cours du temps et à la fin de l'expérience.

Cette masse de traceur peut se mesurer par triangulation afin de déterminer l'aire sous la courbe.

Elle est estimée par la relation suivante :

$$Masse\ traceur = \sum_{i=1}^{i=n} \left(\frac{C_i + C_{i-1}}{2} \right) Q_{a\ lim\ entation} \Delta t_i + C_{t=n} \Delta(t_n - t_{n-1}) \quad (\text{Éq. 3.4})$$

Pour qu'un essai de traçage soit valide, la masse de traceur récupérée doit être supérieure à 90% de la masse introduite au début de l'essai. Ceci indique qu'il n'y a pas eu d'interférences au cours de l'essai et que la période d'échantillonnage était adéquate.

Un pourcentage recouvré entre 75 et 90% est acceptable, mais peut indiquer la présence de zones mortes dans le réacteurs, que l'essai a été arrêté trop tôt ou que l'horaire d'échantillonnage n'était pas optimal.

3.2.2 Evaluation de l'efficacité de la circulation des supports par évaluation visuelle

Un des principaux points de recherche reposant sur le choix d'un nouveau support de croissance pour le réacteur du Biodôme, 10 supports sont testés à l'aide d'une évaluation visuelle. Afin d'optimiser le mouvement des supports dans le liquide, différentes configurations du réacteur sont également testées.

Les conditions opératoires sont :

- Un flux de recirculation ascendant ou descendant, dépendant de la densité du support évalué ;
- La possibilité d'entrées d'eau tangentielles en plus de la recirculation ascendante ou descendante ;
- Trois cônes de rétention des supports différant par leur angle d'inclinaison (10, 45 ou 60°).

Les différentes conditions opératoires sont filmées par deux caméras placées à 90° l'une de l'autre. Des supports colorés (vert, jaune et rouge) sont placés avec les supports non colorés pour servir de traceurs visuels. La figure 3.2 présente une vue de face et de côté d'un réacteur contenant des supports colorés et non colorés.

Le test vidéo est exécuté pour chaque condition opératoire et pour chaque support pendant 5 minutes après 30 minutes d'attente pendant lesquelles les conditions sont stabilisées.

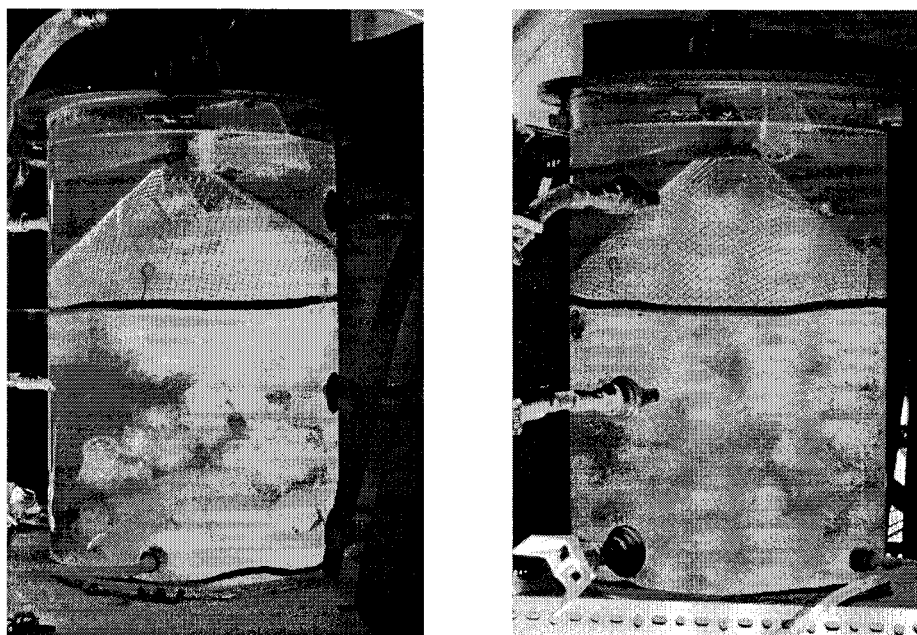


Figure 3.2 : Vue de face et de côté (90°) d'un réacteur de dénitrification lors de l'évaluation visuelle

Les films ainsi obtenus sont visualisés une première fois afin d'écarter les conditions et/ou supports ne convenant pas au mode de fluidisation voulue (majorité des supports restant immobiles pendant la durée du visionnement).

Les films restants sont ensuite analysés visuellement au moyen des supports colorés ajoutés. Le nombre de passage de chaque support de couleur devant le jet de recirculation est compté pendant la durée de la séquence vidéo. Une moyenne du nombre de passage des trois supports colorés est effectuée pour chaque séquence de film de 5 minutes. La vue simultanée de deux côtés du réacteur facilite l'évaluation visuelle des traceurs.

L'analyse statistique de l'intensité de circulation (exprimée en nombre de passages par heure) est effectuée avec le logiciel JMP IN 4.0. Une différence est significative lorsque $p < 0.05$.

3.2.3 Tests de K_La

La dénitrification doit se dérouler dans des conditions anoxiques. Ainsi, l'eau est préalablement désoxygénée avant d'entrer dans les réacteurs de dénitrification. Cependant, un apport d'oxygène peut s'effectuer par la surface de l'eau, en raison de l'agitation créée par la vitesse de recirculation. La détermination du transfert d'oxygène de l'atmosphère au milieu liquide peut se mesurer par la mesure du K_La , ou taux de transfert d'oxygène, en t^{-1} .

Ce taux doit être minimisé afin de ne pas apporter trop d'oxygène au milieu, ce qui pourrait fausser les calculs d'ajout de source de carbone, basés sur une oxygénation nulle de l'eau à traiter.

3.2.3.1 Méthode de détermination du K_La

Le transfert d'oxygène se mesure par la méthode du régime non-permanent. Le réacteur fonctionne en circuit fermé sans apport d'eau supplémentaire. Le taux d'oxygène est abaissé à 0 par l'ajout de bisulfite de sodium (réaction catalysée par le chlorure de cobalt) suivant la réaction :



Le protocole de détermination du K_La est disponible en annexe A section 3.

Au cours de l'essai en régime semi permanent, la variation de la concentration en oxygène dissous peut se résumer suivant la relation :

$$\frac{dC}{dt} = K_La(C_S - C) \quad (\text{Éq. 3.6})$$

Cette relation peut être intégrée pour exprimer C en fonction du temps :

$$C_L = C_S - (C_S - C_0)e^{-K_La (t-t_0)} \quad (\text{Éq. 3.7})$$

où C_0 = concentration en oxygène au temps $t=t_0$

t_0 = temps initial

et elle est réorganisée pour donner :

$$\ln \frac{C_s - C_0}{C_s - C} = K_l a (t - t_0) \quad (\text{Éq. 3.8})$$

dont la pente de la droite donne le $K_l a$.

3.2.3.2 Correction de la solubilité et de la saturation de l'oxygène dissous dans une eau marine.

L'équation qui permet d'évaluer la saturation de l'oxygène dissous dans une eau marine peut être exprimée comme suit (Benson et Krause, 1984):

$$\ln C_{s(\mu\text{mol/L})} = A + B/T + C/T^2 + D/T^3 + E/T^4 - S \times (F + G/T + H/T^2)$$

Avec les constantes A à H suivantes en $\mu\text{moles/L}$:

$$A = -135,90205$$

$$B = +1,575701 \times 10^5$$

$$C = -6,642308 \times 10^7$$

$$D = +1,243800 \times 10^{10}$$

$$E = -8,621949 \times 10^{11}$$

$$F = +0,017674$$

$$G = -10,754$$

$$H = +2140,7$$

Le domaine d'application est Température $T=0-40^\circ\text{C}$ et Salinité $S=0-40 \text{ g/L}$.

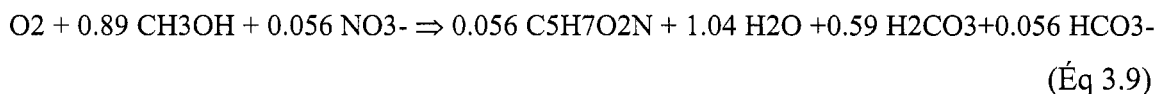
La solubilité $C_s (\text{mg/L})$ est obtenue en multipliant $C_{s(\mu\text{mol/L})}$ par 0,0319988.

3.3 PREPARATION DES SOLUTIONS

3.3.1 Source de carbone

L'alimentation en source de carbone des réacteurs de désoxygénation et de dénitrification s'effectue avec une solution commerciale de méthanol (50/50) diluée suivant les besoins des microorganismes dans chaque réacteur.

Dans le cas de la désoxygénation, la réaction stœchiométrique est la suivante :

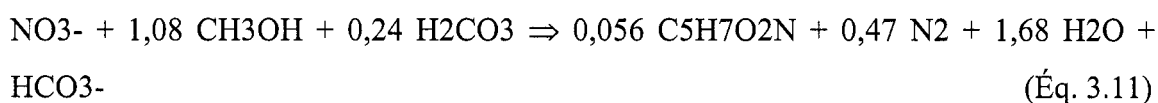


Le ratio théorique de consommation du méthanol lors de la désoxygénation est donc:

$$R_{CH_3OH \text{ désox}} = \frac{0,89 \text{ mol } CH_3OH}{1 \text{ mol } O_2} \times \frac{32 \text{ g } CH_3OH}{\text{mol } CH_3OH} \times \frac{1 \text{ mol } O_2}{32 \text{ g } O_2} \quad (\text{Eq. 3.10})$$

$$= 0,89 \text{ g } CH_3OH/\text{g } O_2 \text{ réduit}$$

La réaction globale de dénitrification se produit suivant la réaction stœchiométrique :



Le ratio théorique de consommation du méthanol lors de la dénitrification est donc:

$$R_{CH_3OH \text{ dénitr.}} = \frac{1,08 \text{ mol } CH_3OH}{1 \text{ mol } NO_3^-} \times \frac{32 \text{ g } CH_3OH}{\text{mol } CH_3OH} \times \frac{1 \text{ mol } NO_3^-}{14 \text{ g } N} \quad (\text{Eq. 3.12})$$

$$= 2,46 \text{ g } CH_3OH/\text{g } NO_3\text{-N dénitrifié}$$

Les besoins en méthanol pour la désoxygénation et la dénitrification ont été révisés lors d'essais pilotes en continu pour la même eau de mer (Labelle, 2004).

Les besoins s'élèvent à 130% du ratio stœchiométrique pour la désoxygénation et à 120% des besoins pour la dénitrification.

Connaissant les teneurs en oxygène et nitrates de l'eau à traiter, ainsi que le débit entrant, on peut calculer le débit de méthanol à injecter en continu dans chaque réacteur.

Désoxygénation :

Si la teneur en O_2 entrante est de 9 mg O_2 /L pour un débit entrant de 1 L/min, le calcul s'effectue selon :

$$Q_{\text{méthanol commercial}} = \frac{9 \text{ mg } O_2 / L}{395 \text{ mg } CH_3OH / \text{ml solution}} \times \frac{0,89 \times 1,3 \text{ mg } CH_3OH}{\text{mg } O_2} \times 1 \text{ L/min} \times \frac{60 \text{ min}}{\text{heure}} \quad (\text{éq.3.13})$$

$$= 1,58 \text{ ml solution commerciale /heure}$$

Ce débit étant très faible, il est nécessaire de diluer la solution commerciale par 10 dans ce cas.

Dénitrification :

Si la teneur en $\text{NO}_3\text{-N}$ est de 50 mg/L pour un débit entrant de 0,35 L/min, le calcul s'effectue selon :

$$Q_{\text{méthanol commercial}} = \frac{50 \text{ mg NO}_3 - \text{N} / \text{L}}{395 \text{ mg CH}_3\text{OH} / \text{ml solution}} \times \frac{2,46 \times 1,2 \text{ mg CH}_3\text{OH}}{\text{mg NO}_3 - \text{N}} \times 0,35 \text{ L/min} \times \frac{60 \text{ min}}{\text{heure}} \quad (\text{Éq. 3.14})$$

$$= 7,8 \text{ ml solution commerciale / heure}$$

Ce débit étant également faible, une dilution par deux est suffisante.

Les solutions seront préparées à partir de la solution commerciale de méthanol et diluées dans de l'eau distillée suivant la proportion voulue.

Les solutions sont préparées dans des bidons de 20 L.

3.3.2 Métaux trace

La concentration en métaux trace à ajouter a été préalablement déterminée (Labbé et al., 2003). Les concentrations qui doivent être ajoutées sont les suivantes :

- 150 $\mu\text{g Fe/L}$ d'eau à traiter
- 30 $\mu\text{g Mn/L}$ d'eau à traiter
- 10 $\mu\text{g Cu/L}$ d'eau à traiter.

Afin de faciliter l'ajout de ces éléments trace, ils sont dilués dans la solution de méthanol utilisée pour la dénitrification.

La connaissance du débit d'eau à traiter et du débit de la solution de méthanol permet de déterminer les concentrations de chaque métaux trace dans la solution diluée de méthanol.

Les métaux trace sont disponibles sous forme de $\text{FeSO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O}$ (ajout de fer), $\text{MnSO}_4, \text{H}_2\text{O}$ (ajout de manganèse) et de $\text{CuSO}_4, 5 \text{ H}_2\text{O}$ (ajout de cuivre).

Ainsi, les calculs à effectuer pour l'ajout de Fe sont les suivants :

$$C_{\text{FeSO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O}} = \frac{L_{\text{eau}} / \text{min} \times 150 \mu\text{g} / L_{\text{eau}}}{mL_{\text{méthanol}} / \text{min}} \times \frac{277,9 \text{ g FeSO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O}}{\text{mol FeSO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O}} \times \frac{1 \text{ mol Fe}}{55,8 \text{ g Fe}} \quad (\text{Éq. 3.15})$$

$$= 900 \text{ mg FeSO}_4, 7 \text{ H}_2\text{O} / L_{\text{solution diluée de méthanol}}$$

Les calculs à effectuer pour les autres métaux trace sont les mêmes que pour le fer, en tenant compte de la concentration désirée et des masses molaires de chaque composé.

Lors de la préparation de la solution, le pH doit être abaissé à 2 avant de dissoudre les métaux trace afin d'éviter leur précipitation dans le méthanol.

3.3.3 Source de nitrates

Lors d'un changement d'eau dans le bassin du Saint-Laurent, les concentrations en nitrates chutent car aucune source de nitrates n'est rajoutée avec la nouvelle eau.

Lorsque les expériences nécessitent une charge en nitrates constante sans changer le débit, une source extérieure de nitrate est alors requise.

Le choix de la source de nitrates se porte sur le nitrate de sodium NaNO_3 . En effet, le sodium est le composé le plus abondant dans l'eau de mer, il n'y a donc pas d'interférences notables dues au sodium ajouté artificiellement.

La détermination de la concentration de la solution de nitrates et du débit à appliquer dépendent du débit d'eau entrant et de la concentration initiale en nitrates de l'eau.

Le calcul s'effectue en fixant une concentration pour la solution de nitrates à ajouter.

Le débit ajouté doit en effet être le plus bas possible, afin de ne pas diluer l'eau entrant dans le réacteur de dénitrification et de modifier la charge entrante.

Une concentration de 100 g NaNO_3 /L est donc choisie pour la solution de nitrates concentrée soit une concentration de 16,5 g N/L. Si la concentration avant le changement d'eau est de 50 mg N/L et la concentration après le changement d'eau est de 20 mg N/L, le débit à fournir dans chaque réacteur est calculé de la façon suivante :

$$Q_{\text{nitrates concentrés}} = \frac{(50 - 20) \text{ mg N} / L_{\text{eau}} \times 0,35 L_{\text{eau}} / \text{min}}{16,5 \text{ mg N} / mL_{\text{solution concentrée}}} \times \frac{60 \text{ min}}{\text{heure}} \quad (\text{Éq. 3.16})$$

$$= 38 \text{ mL}_{\text{solution concentrée}} / \text{heure}$$

La solution est préparée avec 2 kg de nitrate de sodium en poudre dilué dans 20 L d'eau distillée et le débit est réglé à l'aide d'une pompe péristaltique variable (Cole-Parmer, Masterflex).

3.4 TEST EN CUVÉE

Les essais en cuvette permettent de confirmer les taux de dénitrification obtenus en continu dans les réacteurs pilotes de dénitrification et de mesurer en laboratoire la cinétique d'élimination des nitrates et nitrites de l'eau de mer désoxygénée.

3.4.1 Préparation

Afin de déterminer la durée de cuvette et l'intervalle d'échantillonnage, le taux de dénitrification en continu le jour du prélèvement est important à mesurer.

En effet, connaître le taux de dénitrification en $\text{g N g}^{-1}\text{MVES jour}$ permet d'estimer le nombre de supports à utiliser dans le test en fonction de la durée de l'essai voulue.

Une mesure des MVES doit donc être effectuée la veille de la prise d'échantillon et lorsque la dénitrification en continu est en état d'équilibre depuis au moins 5 jours.

La préparation et la mise en route de l'essai sont détaillées dans le protocole MD ScA 05, annexe A section 5. La figure 3.3 reprend le montage expérimental.

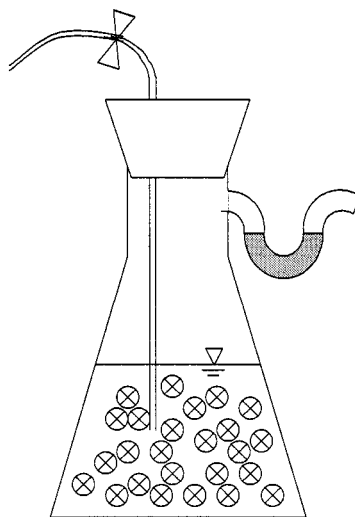


Figure 3.3 : Schéma du montage expérimental

Le dosage du méthanol est calculé de façon à couvrir 3 fois les besoins en source de carbone des microorganismes. Ainsi, aucune limitation par le substrat ne ralentit la réaction de dénitrification. Si le volume d'eau ajoutée est 800 ml et la concentration en nitrates de l'eau est 50 mg/L, l'ajout de solution commerciale de méthanol 50/50 est le suivant:

$$V_{\text{Sol. MeOH}} = 0,8 L_{\text{eau}} \times 60 \text{ mg N} / L_{\text{eau}} \times \frac{3 \times 2,88 \text{ mg méthanol}}{\text{mg N}} \times \frac{\text{ml solution}}{395 \text{ mg méthanol}}$$

$$= 1,05 \text{ ml} \quad (\text{Eq. 3.17})$$

3.4.2 Échantillonnage

Des échantillons sont prélevés toutes les 15 minutes en prenant soin d'éviter l'entrée d'oxygène dans le milieu, suivant le protocole d'échantillonnage MD ScA 05. Les échantillons prélevés sont immédiatement filtrés à 0,45µm puis placés à 4°C.

Les analyses doivent être effectuées dans la journée de l'essai.

3.5 SUIVI DE L'ÉVOLUTION DE LA BIOMASSE EN CAS DE DÉFAILLANCE OPÉRATIONNELLE

Des tests à l'échelle de laboratoire sont menés avec différentes conditions opératoires, simulant une panne d'une pompe ou un colmatage du tuyau d'alimentation en eau ou en source de carbone. Le protocole de réalisation de l'essai se trouve en annexe A section 7. La figure 3.4 présente les diverses conditions appliquées aux réacteurs de 1 L. Elle est reprise du protocole de réalisation.

L'alimentation en eau provient de l'eau de mer du désoxygénateur de 110 L et la source de carbone est du méthanol injecté en continu dans les réacteurs A et C suivant le ratio C/N=4,3.

L'échantillonnage de cinq supports est effectué tous les jours durant une semaine, puis de l'azote gazeux est bullé pour enlever l'oxygène introduit lors de la prise

d'échantillons. Les analyses sont effectuées immédiatement après le prélèvement suivant le protocole MD ScA 02 en annexe A, section 2.

Les supports prélevés sont remplacés par des supports non colonisés, afin que la collision entre les supports ait la même fréquence.

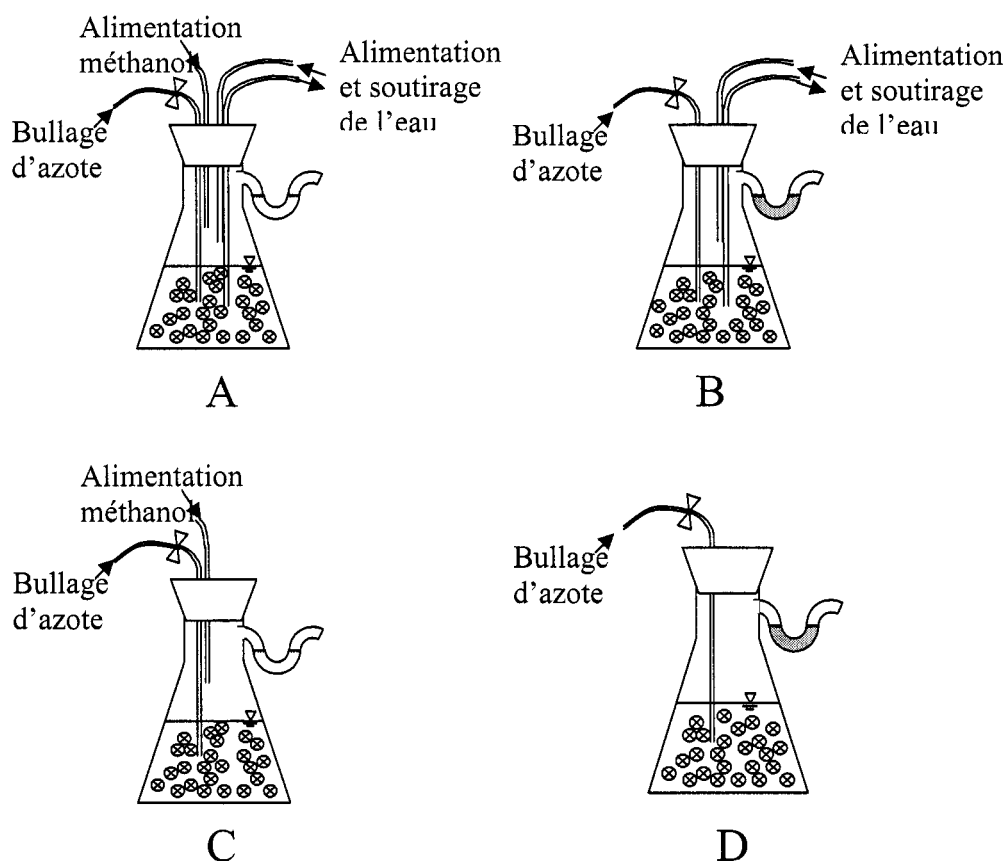


Figure 3.4 : Schéma des réacteurs de laboratoire utilisés pour les essais de défaillance

Le débit d'alimentation en eau de mer est fixé à 6 ml/min afin de maintenir un TRH constant entre les réacteurs pilotes et les réacteurs de laboratoire ci-dessus.

Le débit de méthanol est fixé à 1,3 ml/heure suivant l'équation 3.14 avec une dilution par 10 afin que l'ajout de méthanol dans les réacteurs soit inférieure à 5% du volume

total. Au moment du prélèvement des supports, un volume équivalent au volume rajouté par le méthanol est prélevé à l'aide d'une seringue de 50 ml.

Il est important de suivre les consignes indiquées dans le protocole pour conserver un environnement anoxie et ne pas fausser les résultats en conséquence.

3.6 SUIVI ANALYTIQUE

3.6.1 Suivi de paramètres physico-chimiques

La mesure du carbone organique dissous mesuré lors du bilan de masse a été effectuée suivant la méthode standard 5310-C (APHA et al., 1995).

Les mesures de pH sont effectuées avec un pHmètre (AC50, Dual Channel, Fisher) suivant la méthode standard 4500-H⁺-B. L'oxygène dissout est mesuré in situ par un oxymètre portatif (Model 57, sonde 5739, YSI inc.)

3.6.2 Mesure des nitrates et nitrites

Les mesures de nitrates sont effectuées suivant le protocole MD ScA 04 de l'annexe A. Cette méthode, dite méthode Hach, est une adaptation de la méthode spécifiée dans la méthode standardisée 4500-NO₃⁻.

La mesure de nitrites est effectuée en conformité avec la méthode standard 4500-NO₂⁻.

3.6.3 Caractérisation du biofilm

3.6.3.1 Mesure des MVES et MES dans le biofilm

La mesure des matières attachées (MES) et des matières volatiles ou biomasse (MVES) est déterminée par séchage puis pesée des supports échantillonnés à 105°C. Le biofilm séché est ensuite récupéré manuellement à l'aide d'une tige rigide dans une nacelle puis calciné à 550°C. Les MVES sont ainsi déterminées après pesée de la nacelle calcinée contenant les résidus minéraux.

La détermination des MES et MVES contenus dans le biofilm est explicité en détails dans le protocole MD ScA 02. La déviation standard a été mesuré sur 25 essais de 10 supports chacun et elle est de $\pm 4,5 \%$.

3.6.3.2 Mesure de l'épaisseur du biofilm

L'épaisseur du biofilm est mesurée par un microscope à dissection équipé d'un oculaire micrométrique à un grossissement de 12X. Chaque graduation de l'oculaire représente une longueur de 84,25 μm .

L'épaisseur du biofilm de chaque support est mesurée à 10 endroits différents. Ces données sont moyennées afin de déterminer l'épaisseur moyenne de biofilm.

3.6.3.3 Mesure de la densité du biofilm

La densité du biofilm est déduite par la mesure de l'épaisseur du biofilm de 5 supports et du calcul des MVES pour ces mêmes supports.

La connaissance de la surface efficace colonisée par le biofilm par support est requise.

La densité de la biomasse est calculée suivant :

$$\text{Densité (mg MVES/mL)} = \frac{\text{mg MVES / Support}}{\text{épaisseur du biofilm(cm)} \times \text{surface colonisée(cm}^2\text{)}} \quad (\text{Éq. 3.18})$$

CHAPITRE IV

OPTIMISATION D'UN BIOREACTEUR A LIT MOBILE SANS LAVAGE A CONTRE-COURANT POUR LA DENITRIFICATION DE L'EAU DE MER

4.1 PRESENTATION DE L'ARTICLE

Ce chapitre reprend intégralement un manuscrit soumis pour publication à la revue *Water Research*. L'article présente des points saillants de ce projet de recherche, concernant les études hydrodynamiques et les suivis biologiques des réacteurs de dénitrification.

Une revue de littérature replace le projet dans son contexte, puis l'approche méthodologique et la description des réacteurs et des supports bactériens utilisés est indiquée dans un deuxième temps.

Les essais de traçage à la fluorescéine sont décrits puis les résultats du traçage visuel sont explicités et discutés. Le choix des supports est commenté à l'aide du traçage visuel et de la littérature.

Les essais de validation biologique des résultats précédents sont décrits en détail dans la section matériels et méthodes, puis les résultats sont présentés et comparés avec la littérature.

Enfin, une réflexion générale portant sur l'importance du maintien d'un biofilm mince et sur l'influence de l'accroissement de la vitesse de recirculation est présentée et discutée.

4.2 DESIGN OPTIMIZATION OF A SELF-CLEANING MOVING-BED BIOREACTOR FOR SEAWATER DENITRIFICATION

4.2.1 Abstract

The hydrodynamic behavior and denitrification capacity of a downflow self-cleaning moving bed bioreactor (MBBR) using floating packed bed carriers was investigated. Water mixing in the MBBR was determined by tracer studies, which showed a completely stirred tank reactor. Ten different types of patented plastic packed bed carriers were selected based on their density, shape and specific surface area. Video studies of the carriers were used to determine operating conditions and select the Cascade 1A and TriPack 1 carriers for denitrification experiments. Both carriers showed a similar performance level in terms of the denitrification capacity of the resulting MBBR. The improvement in liquid circulation is thought to explain the high denitrification rates that reached $27 \text{ g N m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ and the maintenance of a thin biofilm. Increasing the overall liquid velocity profile led to an increase of up to 30% in the denitrification rate in conditions with a 1-month-old biofilm. This MBBR design seemed to control biofilm development and could easily be scaled up to denitrify seawater or freshwater systems.

4.2.2 Introduction

In seawater aquariums, nitrates are produced in the biological aerobic treatment units by nitrification of excreted ammonia, which is toxic in its un-ionized form (Boardman et al., 2004). An excessive nitrate concentration can cause toxicity problems for invertebrates (Muir et al., 1991). The recommended level of nitrates in an artificial seawater ecosystem is $50 \text{ mg NO}_3\text{-N/l}$, which is low compared to its generation rate in a closed system (Spotte, 1991). Nitrate buildup is therefore a major problem in large closed seawater systems, requiring frequent and expensive water changes. Nitrate removal by biological treatment represents an economical alternative for controlling nitrate concentrations in closed seawater systems (Catalan-Sakairi et al., 1997a; Grguric et al., 2000; Sauthier et al., 1998).

Multiple bioreactor designs have been proposed (Matsumura et al., 1997) with denitrifying biofilms generally preferable to suspended biomass since it optimizes the bioreactor's active volume and avoids sludge settleability problems. Fluidized bed bioreactors ensure homogeneous environmental conditions for all biofilm surfaces and can increase mass transfer (Popel and Kristeller, 1997). The problems with fluidized bed bioreactors, both for upward and downward fluidization, are that the active volume is low and that the fluidization performance can change over time and may not remain optimum because the density of the carriers can change as the biofilm grows.

An alternative to a fluidized bed bioreactor is the moving bed biofilm reactor (MBBR), which has carriers that are continuously in motion. An MBBR is self-cleaning and with a low head-loss (Rusten et al., 2000). Bioreactors with up to 60% of the working volume occupied by carriers have been studied and shown to perform effectively (Maurer et al., 2001; Welander et al., 1998). As the water circulates, the carriers move through the water between two retention grids and are stirred mechanically or hydrodynamically from liquid jets (Odegaard et al., 1994). High shear stresses from water circulation and carrier collision help control biofilm development and stabilize the reactor system (Van Loosdrecht et al., 1995).

Since 1992, the Montreal Biodome has been operating a closed mesocosm containing 3250 m³ cold (10°C) artificial seawater (28-30 g/L). Within six years, nitrate levels reached values as high as 180 mg NO₃-N/L (Parent and Morin, 2000). The mesocosm was equipped with a 1 m³ MBBR denitrification system in 1998, with the goal of reducing nitrate to levels below 20 mg NO₃-N/L. Carrier circulation in the Biodome's MBBR is ensured by means of high flowrate water recirculation, which creates completely mixed conditions in the bioreactor (Sauvé, 2000). To support the biofilm, the MBBR was originally filled with macro-porous cellulose carriers 10 mm in size. Those carriers caused operating and carrier attrition problems, resulting in poor performance by the denitrification system. In 2002, they were replaced with low density plastic carriers (Bioflow 9) 9 mm in size. Since then, the denitrification rate has never reached the required performance level. Rapid clogging and jamming of the carriers below the upper

grid led to biomass buildup and reactor head-loss, causing the upper retention grid to break. The aim of the present study was to investigate different ways of achieving the required MBBR performance level. This was done by studying the hydrodynamic behavior and denitrification performance of different plastic carriers and of various bioreactor configurations.

4.2.3 Materials and methods

4.2.3.1 Feeding medium

Seawater from the Montreal Biodome marine mesocosm was used in the experiments. The water is prepared using Instant Ocean (Aquarium Systems, Inc., Mentor, OH) at a salinity of 28 g/l. Its properties have been previously described (Labelle et al., 2004). Trace elements (TE) were added to seawater and were composed of $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (150 $\mu\text{g Fe/l}$ reactor), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (30 $\mu\text{g Mn/l}$) and $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (10 $\mu\text{g Cu/l}$) as recommended by Labbé et al. (2003) using a variable speed peristaltic pump (Cole-Parmer's Masterflex®). Methanol 50% was used as the carbon source for denitrification at a C/N ratio of 4.3.

4.2.3.2 Experimental set-up

4.2.3.2.1 Bioreactor system

A deoxygenation unit was installed upstream from the denitrification unit. It consisted of a packed bed bioreactor with a working volume of 110 L. Plastic packed bed carriers (Nupac2, Lantec Products, Inc., Norwood, MA) were placed randomly. Methanol was used as the carbon source.

The denitrification units consisted of two identical cylindrical reactors made of PVC, 40 cm high and 28 cm in diameter (Figure 4.1).

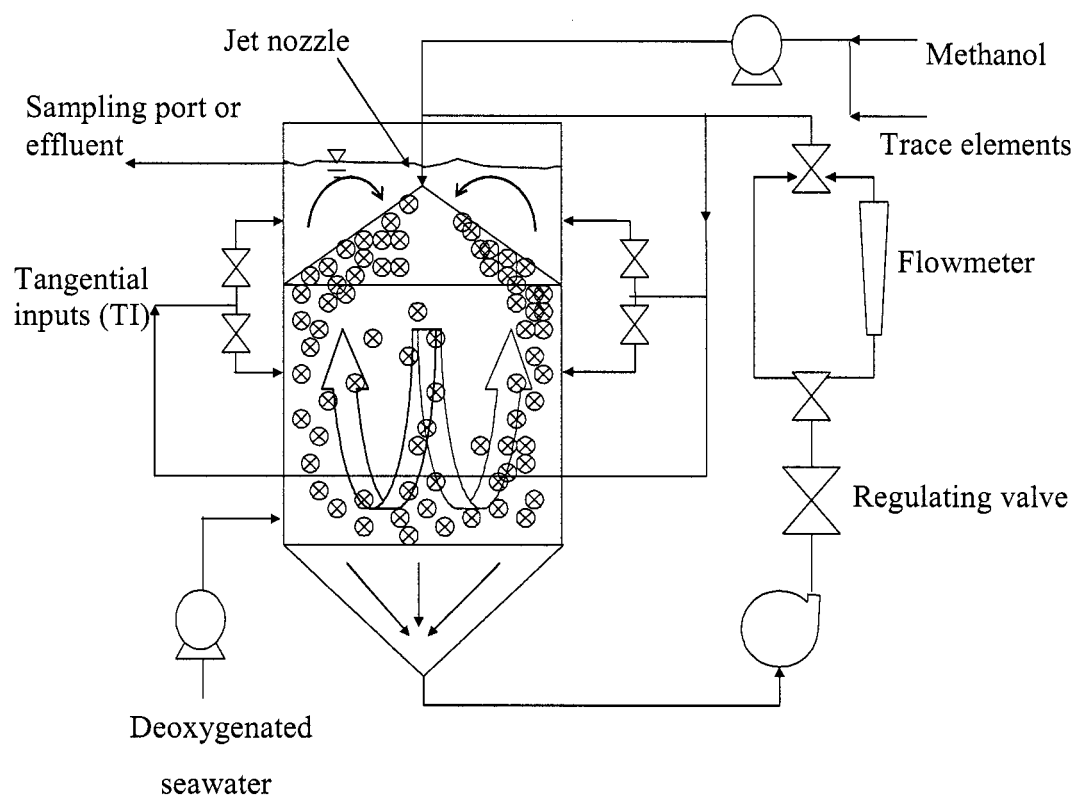


Figure 4.1 : Schematic diagram of the MBBR used in denitrification experiments (arrows show water circulation)

Each reactor contained 33 L of water and was equipped with a recirculation loop and piping that allowed tangential recirculating water inputs, ensuring rotational movement of the liquid. Welded stainless steel grid cones (10°, 45° or 60° inclination) were used to retain the carriers (5 mm openings, wire diameter of 0.56 mm, TWP Inc., Berkeley, CA). Two jet nozzles with an output diameter of 4.8 mm (small) and 8 mm (large) were available for different water recirculation velocities.

2.2.2. Packed bed carriers

Various plastic packed bed carriers currently used in biological processes were studied (figure 4.2).

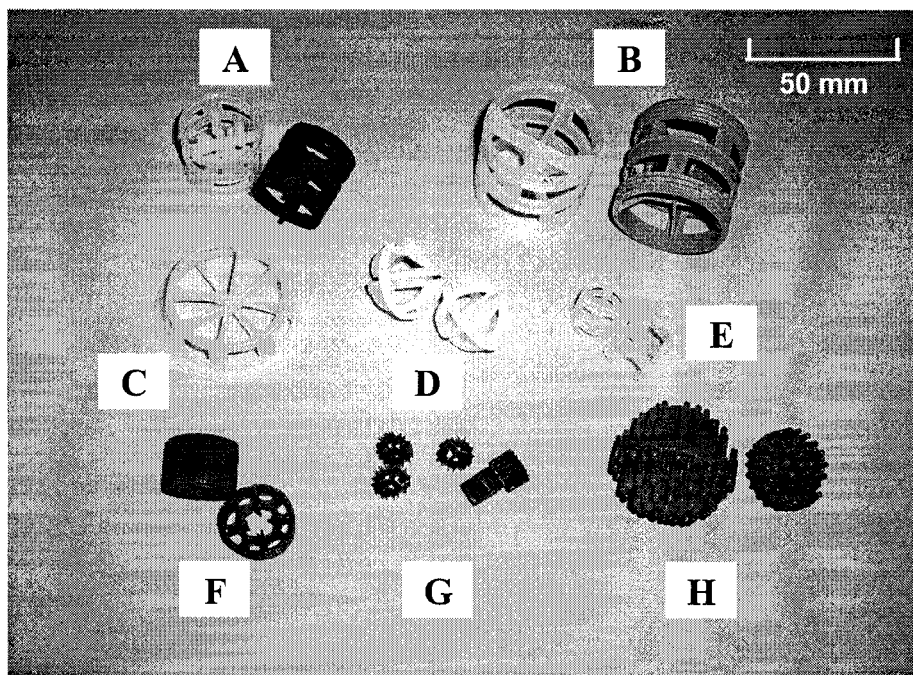


Figure 4.2 : Carriers used in experiments. A: Pall ring 1; B: Pall ring 1½; C: Cascade 1A; D: TriPack1; E: Pall ring 5/8; F: Hydroxyl-Pac; G: Bioflow 9; H: Bioball 1 and 1½

Carrier selection was based on specific surface area, density and size (Table 4.1).

Table 4.1 : Carrier characteristics

Carrier	Size ¹ (mm)	Commercial supplier	Material	Void fraction (%)	Density (kg/dm ³)	Specific surface area (m ² /m ³)
Tri-Pack 1	25.4	Jaeger Inc., USA	Polypropylene (PP)	90	0.89	279
Hydroxyl- Pac	15.8	Mabarex, Canada	Polyethylene (PE)	N/A	0.94	568
BioBall 1	25.4	Aquatic Ecosystems, USA	PE	N/A	0.90	525
BioBall 1½	38	" "	PE	N/A	0.90	322
Pall ring 5/8	15.8	Koch-Glitsch, Canada	PP	87	0.95	286
Pall ring 1	25.4	" "	PP	92	0.95	205
Pall ring 1½	38	" "	PP	91	0.81	118
Cascade 1A	38	" "	PP	97	0.95	185
Pall ring 1 HD	25.4	" "	High Density PP (HDPP)	92	1.20	200
Pall ring 1½ HD	38	" "	HDPP	91	1.40	118
Bioflow 9	9.5	Rauschert, USA	PE	85	1.05	855

1: carrier size refer to the longest segment

4.2.3.2.2 Hydrodynamic studies

Tracer studies using fluorescein were performed to determine the effect of the carrier filling and operating modes on water mixing. The operating conditions are summarized in Table 2. Fluorescein was injected once at $t=0$ and samples from the effluent (Figure 4.1) were taken at 5 min time interval during 5 theoretical hydraulic retention times (HRT). Samples were analyzed using a spectrophotometer at 490 nm (Sharp et al., 1999). The average hydraulic retention time (aHRT) was determined and the results were compared with the HRT for a theoretical completely stirred tank reactor (CSTR).

Table 4.2 : Hydraulic and filling conditions during tracer studies in the experimental MBBR (Theoretical CSTRs HRT=47 min)

Experiment	Fluidization mode	Tangential inputs (4)	Recirculating flow rate (L/min)	Recirculating injector (jet nozzle size)	Carrier filling ratio (%)	Measured average HRT (min)
1	Upflow	Yes	20	Small (4.8mm)	0	46.2
2	Downflow	No	20	" "	30	46.2
3	"	Yes	20	" "	0	47.8
4	"	Yes	20	" "	30	44.2
5	"	Yes	16	" "	30	49.8
6	"	No	16	" "	0	45.6
7	"	No	20	Large (8 mm)	30	44.0

4.2.3.2.3 Video observation

For each carrier type, 10 clean carriers were placed in the MBBR and 18 different operating conditions were tested: three filling ratios (15, 30 and 50%), three retention grid inclinations (10, 45 and 60°) and two tangential water inputs (with or without). Each time, carrier movement was monitored using two digital cameras (Canon Optra20 and Sony PD150) installed at 90° from each other. After a 30 min time period allowing steady-state hydrodynamic conditions, the two digital cameras simultaneously recorded the MBBR for 5 min. Three of the 10 carriers were colored (red, yellow and green) to allow carrier movement to be monitored in the liquid. Videos were recorded at a resolution of 1.2 megapixels and the recording speed was set a 24 images per second. The videos were then visually analyzed to determine the circulation pattern of each colored carrier and the frequency of carrier passage below the jet nozzle. The carrier circulation intensity (passages/h) was then calculated from the average of the three observations. The Hydroxyl-Pac carrier (Figure 4.2, F) could not be analyzed due to difficulties in visually monitoring the three colored carriers (opacity due to few opened areas in the sides).

4.2.3.2.4 Denitrification experiments

Three denitrification experiments were performed with the MBBR using a 30% filling ratio and a retention grid inclination of 45°. Five carriers were withdrawn every five days in order to measure TSS and VSS biofilm content. The first continuous denitrification experiment was performed using 2-year-old colonized Bioflow 9 carriers taken from the Biodome's MBBR. The goal was to test the denitrification performance of the modified MBBR using the Biodome's carriers that were completely clogged with biofilm. A loading rate of $0.5 \text{ kg NO}_3\text{-N m}^{-3} \text{ reactor d}^{-1}$ was applied for 32 days. Reactor 1 was equipped with a 4.8 mm recirculation jet nozzle while Reactor 2 had a 8 mm nozzle. No TE solution was added during this experiment in order to keep the operating conditions similar to those of the Biodome's MBBR.

The second denitrification experiment was done in duplicate using 8-month-old colonized TriPack1 carriers that had previously been used in a denitrification unit where methanol and seawater medium were added (Labelle et al., 2004). The reactors were fed in parallel from the same deoxygenated water. After 5 days of steady-state denitrification, TE solution was continuously added to each reactor. The experiment lasted 68 days while the loading rate was increased from 0.5 to $0.8 \text{ kg NO}_3\text{-N m}^{-3} \text{ reactor d}^{-1}$ by increasing the deoxygenated water flowrate. The recirculation jet nozzle diameter was reduced from 8 mm to 4.8 mm on day 34 to raise fluid velocity at the injection site, thereby increasing the shear stress on the carriers.

The purpose of the third and last experiment was to compare two packed bed carriers (Cascade1A and TriPack1) that had the same colonization age (1 month). Those carriers were previously colonized in batch mode with no external inoculum but with methanol and seawater feeding medium added. TE solution was added continuously during the experiment and the loading rate was increased from 0.33 to $0.85 \text{ kg NO}_3\text{-N m}^{-3} \text{ reactor d}^{-1}$ by increasing the deoxygenated water flowrate. The recirculation jet nozzle was changed from 8 mm to 4.8 mm on day 64 to increase shear stress in both MBBRs.

4.2.3.3 Analytical methods

Dissolved oxygen, pH, temperature, nitrates and nitrites were monitored daily during the denitrification experiments. Temperature and dissolved oxygen were measured in-situ using a thermometer and a portable oxymeter (Model 57, probe 5739, YSI Incorporated, Yellow Spring, OH). The pH was measured using a pH-meter (Dual Channel, Fisher). NO_x concentrations were determined by the Hach 8039-cadmium reduction method (Hach Company, Loveland, CO). NO_2^- was measured by the colorimetric method according to Standard Method 4500- NO_2^- (APHA et al., 1995). Samples that could not be analyzed immediately were filtered over a $0.45\mu\text{m}$ filter and frozen at -20°C prior to analysis. All methods were assessed for the effects of salinity.

The biofilm thickness was determined using a dissecting microscope equipped with an ocular micrometer. Biofilm thickness was measured in ten different parts of a carrier and was then averaged. The VSS content of the biofilm was determined by collecting five carriers from the reactor tank. Carrier samples were taken after the recirculation pump was stopped and the retention grid was removed. They were placed for 2 min in a Beaker with 400 ml water, magnetically gently stirred to remove residual salts. Water containing detached biomass was filtered on a $1.2\mu\text{m}$ glass-fiber filter. Carriers and filter were placed in an oven for 24 h at 105°C . The biofilm was then manually removed, weighed and placed in an oven at 550°C (APHA et al., 1995). The ashes were weighed and the VSS/TSS fraction and mg VSS/carrier were calculated. The standard deviation for the method was $\pm 4.5\%$, which was determined using 20 series of ten Bioflow 9 carriers.

4.2.3.4 Statistical analyses

The statistical analyses were performed using JMP IN 4 (SAS Institute). Carrier circulation intensities were compared using ANOVA and t-tests. Statistical significance was assumed at a p value of <0.05 .

4.2.4 Results and discussion

4.2.4.1 Reactor design optimization

The two 33 L MBBRs were designed with two goals in mind: ensure uniform environmental conditions for each carrier and effectively control biofilm thickness. Tracer studies were performed in one of the MBBRs to qualify the bioreactor's mixing capacity under different hydraulic conditions (Table 4.2). The low average hydraulic retention times obtained under all experimental conditions suggest that the MBBR behaved as a completely mixed reactor with no dead zones (theoretical HRT=measured aHRT). Adding tangential water inputs and changing the recirculation jet nozzle diameter when the carrier filling ratio was 30% v/v did not influence the MBBR's hydrodynamic behavior. This can be explained by the high recirculation ratio ($Q_{\text{recirculation}}/Q_{\text{input}}=28$).

The second important objective was a bioreactor design that enabled biofilm thickness to be controlled over time. The selected design forced the carriers to pass under the central water jet repetitively and frequently (evaluation by video record as explained above) which increased the shear stress from water flow as well as carrier-carrier collision frequency. Biofilm grown at low water flow velocities (i.e. low shear stresses) became fragile when subjected to high shear stress over time (Beyenal and Lewandowski, 2002). Continuously applying considerable shear stress on the biofilm is necessary to keep the biofilm stable (Van Loosdrecht et al., 1995).

4.2.4.2 Carriers and operating conditions to avoid in MBBRs

In tests, dense carriers (Pall ring 1" HD and Pall ring 1½" HD) did not perform adequately, with little movement in the reactor and frequent carrier blockage at the bottom of the reactor. The tests with Bioball 1 and Bioball 1½ showed that they jammed at a filling ratio of 30% in all reactor configurations. Consequently, no other experiments were performed using these carriers. The 10° conical grid without tangential inputs was not retained for further experimentation because carrier jamming was observed.

Similarly, the 50% filling ratio was not retained for further experimentation because a large volume of stalled carriers was observed with all tested carriers.

4.2.4.3 Carrier circulation pattern

Video records were used to determine reactor behavior with five different carriers. The impact of carrier size and shape, filling ratio (15% and 30%) and grid inclination (45° and 60°) on carrier distribution was evaluated (Figure 4.3). Carriers passed under the jet more often with a 15% filling ratio than with a 30% filling ratio ($p=0.001$), probably due to the smaller number of carriers. The conical grid inclination did not have an apparent impact ($p=0.59$). However, it should be noted that a 30% filling ratio doubles the number of carriers and therefore the available surface area which is essential denitrification performance (Odegaard et al., 1994). With a 30% filling ratio, the 10° inclination grid showed significantly lower circulation intensity than the two other grid inclinations tested ($p=0.001$). In the schematic configuration of the reactor (Figure 4.4), principal and secondary carrier movements in the liquid are shown by thick and thin arrows respectively. With the 60° inclination grid, carriers circulated well without jamming but were concentrated at the bottom of the reactor, reducing the effective working volume. Carrier movement was better with the 45° inclination grid since the carriers fully occupied the working volume.

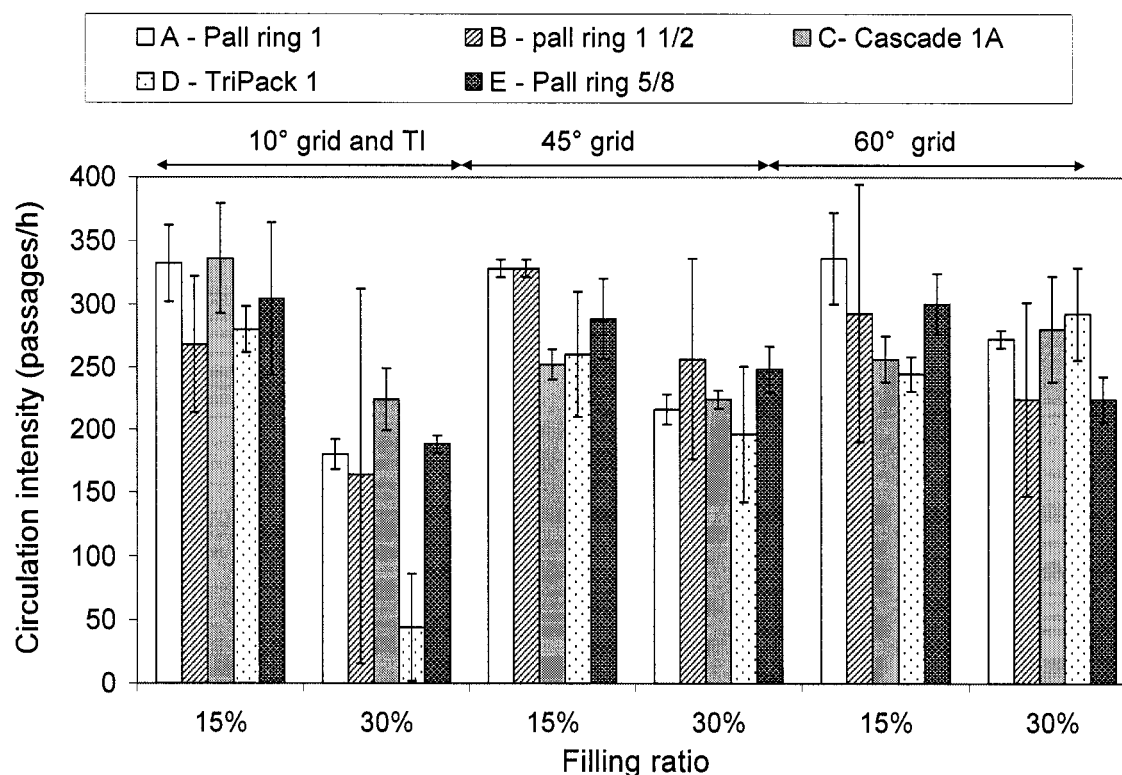


Figure 4.3 : Circulation intensity for optimal filling ratios and carriers

Based on these observations, a 45° grid inclination and a 30% filling ratio were chosen for denitrification experiments. No significant impact of carrier size and shape was detected during video tests ($p=0.186$). Additional criteria were therefore needed to select the carriers for the denitrification experiments. Surface area should not be the only selection parameter. Factors such as expected biofilm thickness and void space must also be considered (Rajapakse and Scutt, 1999; Welander et al., 1998). A large void space is necessary as the carrier used in the Biodome denitrification unit clogged after 5 months of use (best surface area but small opening for water flow and effluent contact). Based on these parameters and previous hydrodynamic results, two carriers were chosen to evaluate the seawater denitrification performance of the experimental MBBR. The TriPack1 was chosen because of its large specific surface area ($279 \text{ m}^2/\text{m}^3$) and the Cascade 1A ($185 \text{ m}^2/\text{m}^3$) because of its large void space.

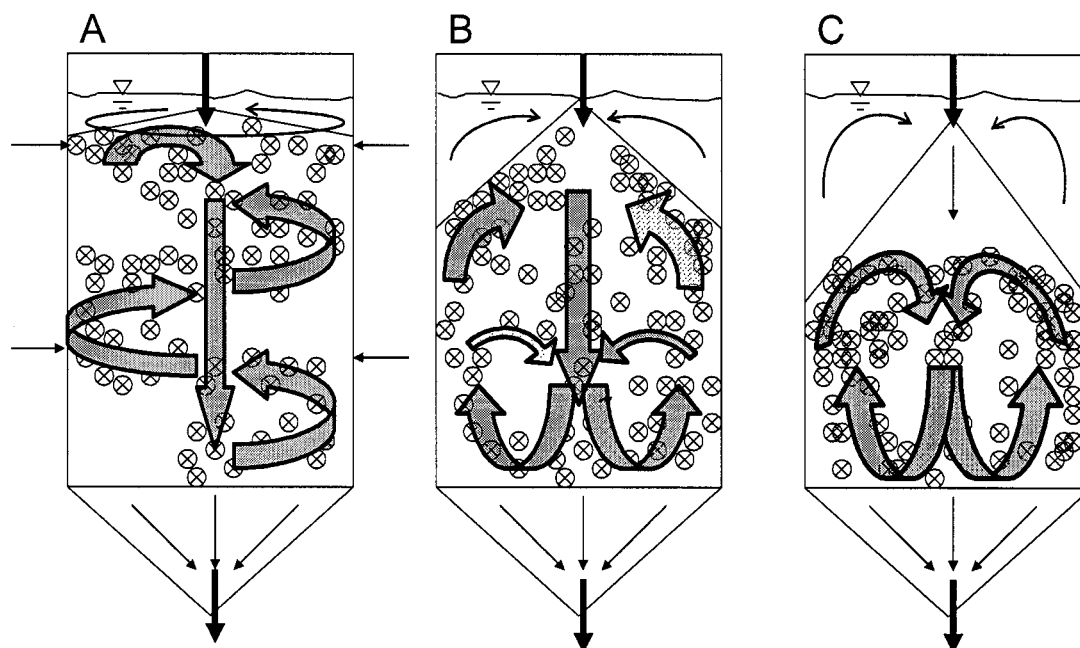


Figure 4.4: Schematic diagram of carrier (wide arrows) and liquid (thin arrows) movement. (A) 10° inclination grid and tangential inputs; (B) 45° inclination grid; (C) 60° inclination grid

4.2.4.4 Seawater denitrification performances

4.2.4.4.1 Studying modified MBBR with Biodome denitrification carriers

The first denitrification experiment was conducted to evaluate how the hydrodynamic changes would improve denitrification with the carriers presently used in the Biodome's MBBR (Bioflow 9). The results are shown in Table 4.3 A-B. With a loading rate of $2.24 \text{ kg N m}^{-3} \text{ carrier d}^{-1}$, the denitrification rate reached $0.8 \text{ kg N m}^{-3} \text{ carrier d}^{-1}$ in Reactor 1 and $0.6 \text{ kg N m}^{-3} \text{ carrier d}^{-1}$ in Reactor 2. The VSS content of the biofilm (attached VSS) was the same in both reactors ($166 \pm 5 \text{ g VSS}$), reaching a specific denitrification rate of $0.057 \text{ kg N g}^{-1} \text{ VSS d}^{-1}$ in Reactor 1.

Because of preexisting biomass clogging of the carriers, different shear stress levels caused by the recirculation jet had no impact on the biofilm thickness. Indeed, biomass was trapped inside and the volatile fraction of the biofilm was only 30%. As a result,

penetration problems may have occurred, and in spite of the carriers' very large specific surface area, denitrification was not effective (Table 4.3).

Table 4.3 : Denitrification performances of the modified MBBR–(A-B) 2-year-old colonized Bioflow9 (B9); (C) 8-month-old colonized TriPack1 (TP1); (D) 1-month-old colonized TriPack 1 and Cascade 1A (C1A) carriers

	Run	Time period	HRT (h)	Trace elements ¹	Injector	N removal (%)			Maximum denitrification rate kgN/m ³ carrier/d		
						B9	TP1	C1A	B9	TP1	C1A
A	1	1-32	2.2	No TE	8 mm	35			0.8		
B	1	1-32	2.2	No TE	4.8 mm	27			0.6		
C	1	1-6	2.75	No TE	8 mm		74			1.45	
	2	7-12	2.2	"	"		60			1.4	
	3	12-26	2.2	TE	"		91			2	
	4	26-34	1.6	"	"		80			2.5	
	5	35-70	1.6	"	4.8 mm		75			2.7	
D	1	1-8	3	"	8 mm	92	93		1.4	1.4	
	2	9-27	2.6	"	"	84	87		1.8	1.9	
	3	28-37	1.8	"	"	63	68		1.6	1.7	
	4	38-64	1.8	"	"	71	70		2.4	2.4	
	5	65-80	1.8	"	4.8 mm	85	90		2.8	2.9	

1: No TE means no trace elements were added, however no measurement of the intrinsic TE that are present in the seawater were performed

Such precipitate problems have been noted in previous studies (Flemming et al., 1999; Cooke et al., 2001). During seawater nitrification, the formation of precipitates inside porous carriers limited nutrient transfer and caused inefficient circulation of carriers in the liquid (Catalan-Sakairi et al., 1997b). This experiment showed that carrier clogging could not be solved solely by improving the reactor hydrodynamics, and the Bioflow 9 carriers had to be replaced.

4.2.4.4.2 Packing-bed denitrification performance

The second experiment was conducted to evaluate how denitrification could be improved by using a packed bed carrier with a large surface area (TriPack 1). The experiment was divided into five runs (table 4.3 C).

Adding trace elements on day 12 resulted in a 30% increase in both NO_x removal and denitrification rate. Previous studies showed increased seawater denitrification with the addition of trace metals, especially iron, manganese and copper (Labbé et al., 2003; Catalan-Sakairi et al., 1997a). On day 22, a 50% water change in the Biodome mesocosm resulted in a 50% reduction in the nitrate load. Concentrated NaNO_3 solution was then added to the influent to maintain the same nitrate load. No noticeable change in the denitrification rate was observed after this change. Increasing the loading rate to $3.5 \text{ kg N m}^{-3} \text{ carrier d}^{-1}$ (run 4) resulted in 75% NO_x removal, and in a denitrification rate of $2.65 \text{ kg N m}^{-3} \text{ carrier d}^{-1}$. During Run 5, a decrease in the recirculation jet nozzle diameter caused a 40% VSS loss in the carriers. Within three days, NO_x removal and the surface specific denitrification rate reached previous performance levels, resulting in a 66% increase in the biomass specific denitrification rate ($0.4 \text{ kg N kg}^{-1} \text{ VSS d}^{-1}$). The stability of the system was tested on day 48 with a 48 h sulfate reduction period. Three days later, NO_x removal was back at 75%. Despite 30% biofilm VSS loss during the sulfate reduction period, $2.7 \text{ kg N m}^{-3} \text{ carrier d}^{-1}$ was achieved and the biomass specific denitrification rate was further increased by 25%, reaching a value of $0.5 \text{ kg N kg}^{-1} \text{ VSS d}^{-1}$, very high compared to a previous study of a denitrification MBBR, which reported a denitrification rate of $0.045 \text{ kg N kg}^{-1} \text{ VSS d}^{-1}$ with settled wastewater (Pastorelli et al., 1997).

4.2.4.4.3 Packing-bed carrier performance comparison

The third and last experiment was done with Cascade 1A and TriPack1 carriers to compare the denitrification performance of each. The experiment was divided into five runs (Table 4.3 D). Throughout the runs, the two carriers showed similar denitrification performance levels. During Run 1, at a nitrate loading rate of $1.35 \text{ kg N m}^{-3} \text{ carrier d}^{-1}$,

92% $\text{NO}_x\text{-N}$ was achieved. In Runs 2 and 3, the $\text{NO}_3\text{-N}$ loading rate was increased to 1.7 and 2 $\text{kg N m}^{-3} \text{ carrier d}^{-1}$, respectively, by raising the flowrate (Run 2) and the NO_3 concentration (Run 3) to 60 $\text{mg NO}_3\text{-N/L}$. During Run 3, 82% $\text{NO}_x\text{-N}$ removal was reached while during Run 4, 70% $\text{NO}_x\text{-N}$ removal was achieved for both carriers. Methanol feeding problems were encountered during days 51-55 and 62-63, but the denitrification rate recovered within 2 days each time. During those periods, biomass losses of 30 and 23% were observed for Cascade 1A and TriPack1, respectively. But the biomass returned to the previous level after 3 days of stability. In Run 5, a decrease in recirculation jet nozzle diameter led to a substantial increase in denitrification performance for the Cascade 1A and TriPack 1 carriers (Table 4.3 D). Due to increasing shear stress, the Cascade 1A and TriPack 1 carriers lost 20 and 13% of their respective biomass after the jet nozzle change.

The fact that the carriers showed similar denitrification performance levels in spite of different total surface areas can be explained by their similar effective surface areas. In both cases, the biofilm was continuously removed from the outer surface by the collisions between the carriers (abrasion). Moreover, the Cascade1A and TriPack1 carriers have respectively 60% and 40% (m^2/m^2) of their inner surface where biofilm can develop, which results in the same effective surface area ($111 \text{ m}^2/\text{m}^3$). Similar removal rates can be obtained based on the same effective surface area, regardless of the size and shape of the plastic carriers (Odegaard et al., 2000). Based on the carrier volumetric rate, the reactors achieved denitrification performance levels that equaled or exceeded the performance levels of other denitrification processes with either freshwater or seawater feedings. Taking into account the surface specific rate, the denitrification rate reached in the third experiment was twice more efficient than the rates reported for freshwater MBBRs (Table 4.4).

Table 4.4 : Comparative denitrification performances with different biological processes

Process	Influent	Carrier material	Volumetric rate (kg N/m ³ carrier/d)	Surface specific rate (g N/m ² carrier/d)	Ref.
Fluidized bed	Marine closed aquaculture system	Brick granules	2.4	1.1	a
Moving bed	Synthetic medium	PP 10 mm-Kaldnes	N/A	4.6	b
Fluidized bed	Fresh water + NaNO ₃	PP carrier	0.26	N/A	c
Moving bed	Municipal landfill leachate	PP Natrix 6/6	3.3	15.7	d
Moving bed	Municipal wastewater	PP 10 mm-Kaldnes	1.33	2.5	e
Moving bed	Municipal wastewater	PP 10 mm-Kaldnes	0.1	0.3	f
Moving bed	Municipal wastewater	PP 10 mm-Kaldnes	2.3	5.1	g
Moving bed	Closed aquarium seawater	PP carrier	2.7	27	h

References: ^aSauthier et al., 1998, ^bWelander and Mattiasson, 2003, ^cRajapakse and Scutt, 1999, ^dWelander et al., 1998, ^eAspegren et al., 1998, ^fPastorelli et al., 1997, ^gMaurer et al., 2001, ^hThis study

4.2.4.5 General evaluation

The results show that reactor optimization and carrier choice are important for biological denitrification processes since they can reduce reactor volume, control biofilm thickness and ensure that carriers are evenly distributed throughout the water. The MBBR with a recirculating loop was able to distribute the floating carriers even at a high filling ratio, and jet nozzle choice allowed increasing shear stress to be generated on the carrier surface in order to detach excess biomass and degas the carriers.

The experimental results showed that biofilm control has an impact on denitrification performance. Biofilm erosion exerted by moving fluid is stronger in the inner part of carriers. Despite the loss of 13 - 40% of the attached biomass after the jet nozzle change, specific denitrification rates increased for all experimental runs (figure 4.5 and 4.6). An 8-month-old biofilm seemed to be more sensitive and less resistant to the increase in shear stress than a 1-month-old biofilm (40% vs. 13% TriPack1 biomass loss) which can be explained by the sloughing of a large portion of the biofilm, which often occurs in

older, thicker biofilm or when environmental conditions change rapidly (Peyton and Characklis, 1993).

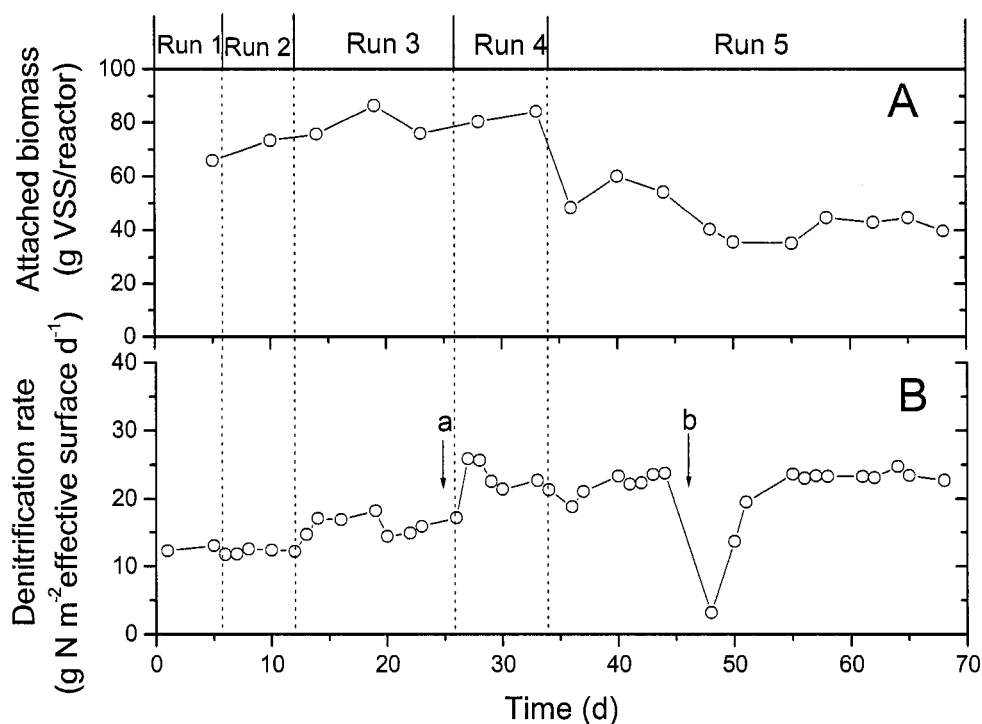


Figure 4.5 : Specific denitrification rate and biomass versus time during continuous denitrification with 8-month-old colonized TriPack1 carrier (a) 50% water exchange; (b) Problems with water feeding (48 h sulfate reduction)

However, thin biofilms in carriers were sensitive to lack of substrate or to sulfate-reduction periods and loss of 30% of attached biomass during these periods. Care must be taken to avoid these situations, despite of the rapid recovery. Thin biofilms are more dependant of the substrate availability than thick biofilm (Melo and Vieira, 1999).

However, thin biofilms in carriers were sensitive to a lack of substrate or to sulfate-reduction periods and lost 30% of their attached biomass during these periods. Care must be taken to avoid these situations, despite the rapid return to previous levels. Thin biofilms are more dependant on substrate availability than thick biofilms (Melo and

Vieira, 1999). Despite periods of instability, increasing the shear stress on the biofilm significantly increased the denitrification performance of carriers, especially for younger biofilm (23 - 46% increase in N removal). As shown in Table 4.5, increasing shear stress reduced biofilm thickness by 30% in two cases, but biofilm dry density increased which suggests that biofilm morphology could adapt itself to high shear stress conditions. These results are in accordance with studies showing increasing biofilm density with increasing shear stress (Melo and Vieira, 1999; Van Loosdrecht et al., 1995; Chang et al., 1991; Mulcahy and Shieh, 1987).

Table 4.5 : Biofilm density and thickness as a function of the size of the jet nozzle

	Biofilm thickness (μm)		Biomass density (mg VSS/mL)	
	injector 8 mm	injector 4.8 mm	injector 8 mm	injector 4.8 mm
Cascade1A	650 $\pm$ 50	420 $\pm$ 90	32 $\pm$ 3	33 $\pm$ 7
TriPack 1	731 $\pm$ 80	530 $\pm$ 100	35 $\pm$ 4	42 $\pm$ 8

Based on the denitrification performances in this study, biofilm that is thin and young seems to be more sensitive to an increase in shear stress which can be explained by higher VSS/SS content in the case of younger versus older biofilm (70% vs 50% VSS biofilm content). In older biofilm, a decrease in VSS biofilm content should increase substrate penetration problems due to inorganics precipitation in the biofilm.

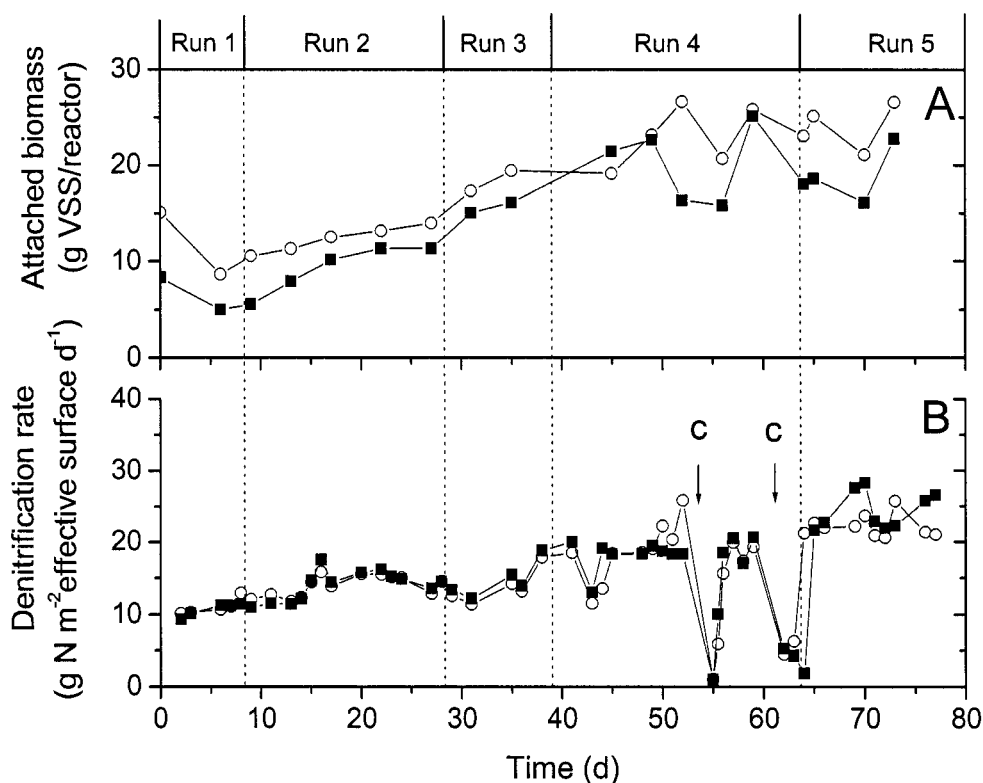


Figure 4.6 : Specific denitrification rate and biomass versus time during continuous denitrification in comparison experiment ○ TriPack 1 carrier; ■ Cascade 1A carrier; (c) Problems with methanol feeding

High biofilm precipitate content does not seem to affect denitrification performance as measured by the biomass and surface specific rates (figure 4.5). Indeed, this precipitate content occurs in the biofilm-carrier interface, and even if it reduces substrate penetration in the deepest layers of biofilm, active surface layers do not seem to be affected.

In comparing carriers, Cascade 1A showed the best removal results once the shear stress was increased, likely because of larger openings than for the TriPack1, allowing better mass transfer between liquid and biofilm. Thus, under the conditions studied and to

control biofilm thickness and optimize mass transfer, the Cascade 1A carrier would be the recommended one for further optimization studies.

4.2.5 Conclusion

A modified downflow MBBR for seawater denitrification was optimized, in terms of its operating conditions (45° retention grid inclination and a 30% filling ratio) and choice of carrier, resulting in one of the highest reported volumetric and surface specific rates (27 g N m⁻² effective area d⁻¹) for a submerged MBBR, without backwashing. Due to hydrodynamic control by means of the jet nozzle, the carriers did not clog and a thin biofilm was maintained.

The Cascade 1A carriers met selected hydrodynamic and biological performance criteria due to their large openings as well as their large effective surface for biofilm development (60% of the total area). The modified MBBR could be scaled up easily to denitrify the effluent from seawater or freshwater systems.

4.2.6 Acknowledgements

The authors thank Denis Bouchard of École Polytechnique de Montréal and Jean Bouvrette and the technical staff of the Biodôme de Montréal for technical assistance and Brian Colwill for linguistic revision. The authors would also like to thank Marc-André Labelle, Normand Labbé and Damien Sanchez for their help in operations and laboratory analyses. This research was financially supported by a strategic grant from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) to R. Villemur and by the Biodôme de Montréal.

4.2.7 References

APHA, AWWA, WEF. (1995) Standard Methods for the examination of water and wastewater, 19th Ed. American Public Health Association, Washington, DC, USA.

Aspegren, H., Nyberg, U., Andersson, B., Gotthardsson, S. and La Cour Jansen, J. (1998) Post denitrification in a moving bed biofilm reactor process. *Water Science and Technology* **38**(1), 31-38.

Beyenal., H. and Lewandowski, Z. (2002) Internal and external mass transfer in biofilm grown at various flow velocities. *Biotechnology Progress* **18**(1), 55-61.

Boardman, G.D., Starbuck, S.M., Hudgins, D.B., Li, X. and Kuhn, D.D.(2004) Toxicity of ammonia to three marine fish and three marine invertebrates. *Environmental Toxicology* **19**(2) 2004, p 134-142

Catalan-Sakairi, M.A., Wang, P.C. and Matsumura, M. (1997a) High-rate seawater denitrification utilizing a macro-porous cellulose carrier. *Journal of Fermentation and Bioengineering* **83**(1), 102-108.

Catalan-Sakairi, M.A., Wang, P.C. and Matsumura, M. (1997b) Nitrification performance of marine nitrifiers immobilized in Polyester- and macro-porous cellulose carriers. *Journal of Fermentation and Bioengineering* **84**(6), 563-571.

Chang, H.T., Rittmann, B.E., Amar, D., Heim, R., Ehlinger, O. and Lesty, Y. (1991) Biofilm detachment mechanisms in a liquid-fluidized bed. *Biotechnology and Bioengineering* **38**(5), 499-506.

Cooke, A.J., Rowe, R.K., Rittmann, B.E., VanGulck, J. and Millward, S. (2001) Biofilm growth and mineral precipitation in synthetic leachate columns. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering* **127**(10), 849-856.

Flemming, I.R., Rowe, R.K. and Cullimore, D.R. (1999) Field observations of clogging in a landfill leachate collection system. *Canadian Geotechnical Journal* **36**(4), 685-707.

Grguric, G., Wetmore, S.S. and Fournier, R.W. (2000) Biological denitrification in a closed seawater system. *Chemosphere* **40**, 549-555.

Labbé, N., Parent, S. and Villemur, R. (2003) Addition of trace metals increase denitrification rate in closed marine systems. *Water Research* **37**(4), 914-920.

Labelle, M.A., Juteau, P., Jolicoeur, M., Villemur, R., Parent, S. and Comeau, Y. (2004) Seawater denitrification in a closed mesocosm by a submerged moving bed biofilm reactor. *Water Research*, submitted.

Matsumura, M., Tsubota, H., Ito, O., Wang, P.-C. and Yasuda K. (1997) Development of bioreactors for denitrification with immobilized cells. *Journal of Fermentation and Bioengineering* **84**(2), 144-150.

Maurer, M., Fux, C., Graff, M. and Siegrist, H. (2001) Moving-bed biological treatment (MBBT) of municipal wastewater: denitrification. *Water Science and Technology* **43**(11), 337-344.

Melo, L.F. and Vieira, M.J. (1999) Physical stability and biological activity of biofilms under turbulent flow and low substrate concentration. *Bioprocess Engineering* **20**, 363-368.

- Muir, P.R., Sutton, D.C. and Owens, L. (1991) Nitrate toxicity to *Penaeus monodon* protozoa. *Marine Biology* **108**, 67-71.
- Mulcahy, L.T. and Shieh, W.K. (1987) Fluidization and reactor biomass characteristics of the denitrification fluidized bed biofilm reactor. *Water Research* **21**(4), 451-458.
- Odegaard, H., Gisvold, B. and Strickland, J. (2000) The influence of size and shape in the moving bed biofilm process. *Water Science and Technology* **41**(4-5), 383-391.
- Odegaard, H., Rusten, B. and Westrum, T. (1994) A new moving bed biofilm reactor - applications and results. *Water Science and Technology* **29**(10-11), 157-165.
- Parent, S. and Morin, A. (2000) N budget as water quality management tool in closed aquatic mesocosms. *Water Research* **34**(6), 1846-1856.
- Pastorelli, G., Andreottola, G., Canziani, R., de Fraja Frangipane, E., De Pascalis, F., Gurrieri, G. and Rozzi, A. (1997) Pilot-plant experiments with moving-bed biofilm reactors. *Water Science and Technology* **36**(1), 43-50.
- Peyton, B.M. and Characklis, W.G. (1993) A statistical analysis of the effect of substrate utilization and shear stress on the kinetics of biofilm detachment. *Biotechnology and Bioengineering* **41**(7), 728-735.
- Popel, H.J. and Kristeller, W. (1997) Post-denitrification at the Frankfurt-Niederrad wastewater treatment plant by fluidized-bed technology. *Water Science and Technology* **35**(10), 95-102.
- Rajapakse, J.P. and Scutt, J.E. (1999) Denitrification with natural gas and various new growth media. *Water Research* **33**(18), 3723-3734.

Rusten, B., Hellström, B.G., Hellström, F., Sehested, O., Skjelfoss, E. and Svendsen, B. (2000) Pilot testing and preliminary design of moving bed biofilm reactors for nitrogen removal at the FREVAR wastewater treatment plant. *Water Science and Technology* **41**(4-5), 13-20.

Sauthier, N., Grasmick, A. and Blancheton, J.P. (1998) Biological denitrification applied to a marine closed aquaculture system. *Water Research* **32**(6), 1932-1938.

Sauvé, I. (2000) Characterization of the seawater denitrification unit at the Montreal Biodome (In French). Master Thesis. Ecole Polytechnique of Montreal, 210p.

Sharp, R.R, Cunningham, A.B., Komlos, J. and Billmeyer, J. (1999) Observation of thick biofilm accumulation and structure in porous media and corresponding hydrodynamic and mass transfer effects. *Water Science and Technology* **39**(7), 195-201.

Spotte, S. (1991) *Captive Seawater Fishes: Science and Technology*. John Wiley & Sons. Toronto, 942 pp.

Van Loosdrecht, M.C.M., Eikelboom, D., Gjaltema, A., Mulder, A., Tijhuis, L. and Heijnen, J.J. (1995) Biofilm structures. *Water Science and Technology* **32**(8), 35-43.

Welander, U., Henrysson, T. and Welander, T. (1998) Biological nitrogen removal from municipal landfill leachate in a pilot scale suspended carrier biofilm process. *Water Research* **32**(5), 1564-1570.

Welander, U. and Mattiason, B. (2003) Denitrification at low temperatures using a suspended carrier biofilm process. *Water Research* **37**(10), 2394-2398.

CHAPITRE V

RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES

Ce chapitre présente les résultats obtenus au cours des essais de caractérisation des réacteurs avec biomasse, les tests d'activité de la biomasse ainsi que les données de transfert d'oxygène. Il contient aussi les résultats d'un test réalisé afin de simuler les problèmes d'opération que pourraient rencontrer les réacteurs de dénitrification ainsi qu'un bilan de masse permettant de valider les échantillonnages et analyses réalisées pendant le projet.

5.1 TESTS D'ACTIVITÉ

A la fin des test comparatifs en continu entre les supports Cascade 1A et TriPack 1, un test d'activité a été mené afin de comparer les performances de dénitrification obtenues dans les pilotes de dénitrification à ceux obtenus dans des conditions de laboratoire (test réalisé en cuvée dans des erlenmeyers).

Les matières attachées et la biomasse sont estimées afin de comparer les taux de dénitrification, et la biomasse est estimée suivant le protocole MD ScA 02.

Le test en cuvée est effectué en conformité avec le protocole MD ScA 05, un triplicata est réalisé pour vérifier la validité de la mesure. Les résultats complets de cet essai sont joints à la section 3 de l'annexe B.

La figure 5.1 présente les moyennes du suivi des NO_2 et NO_x au cours du temps.

La moyenne des matières volatiles (biomasse) est de 820 ± 95 mg MVES par réacteur.

Le taux de dénitrification observé est de $0,71 \pm 0,11$ g N. g^{-1} MVES. jour^{-1} lors du test en laboratoire. Cette performance est similaire à celle mesurée à la filière de dénitrification le jour précédent ($0,695$ g N. g^{-1} MVES. jour^{-1} dans le réacteur 2). Ceci permet de conclure à la validité des mesures effectuées dans les pilotes de dénitrification.

Les bactéries du réacteur de dénitrification dénitrifient dans les mêmes conditions que l'essai en laboratoire. Elles reçoivent donc suffisamment de source de carbone et ne sont pas inhibées par le résiduel d'oxygène dans le milieu et dans la source d'eau entrante.

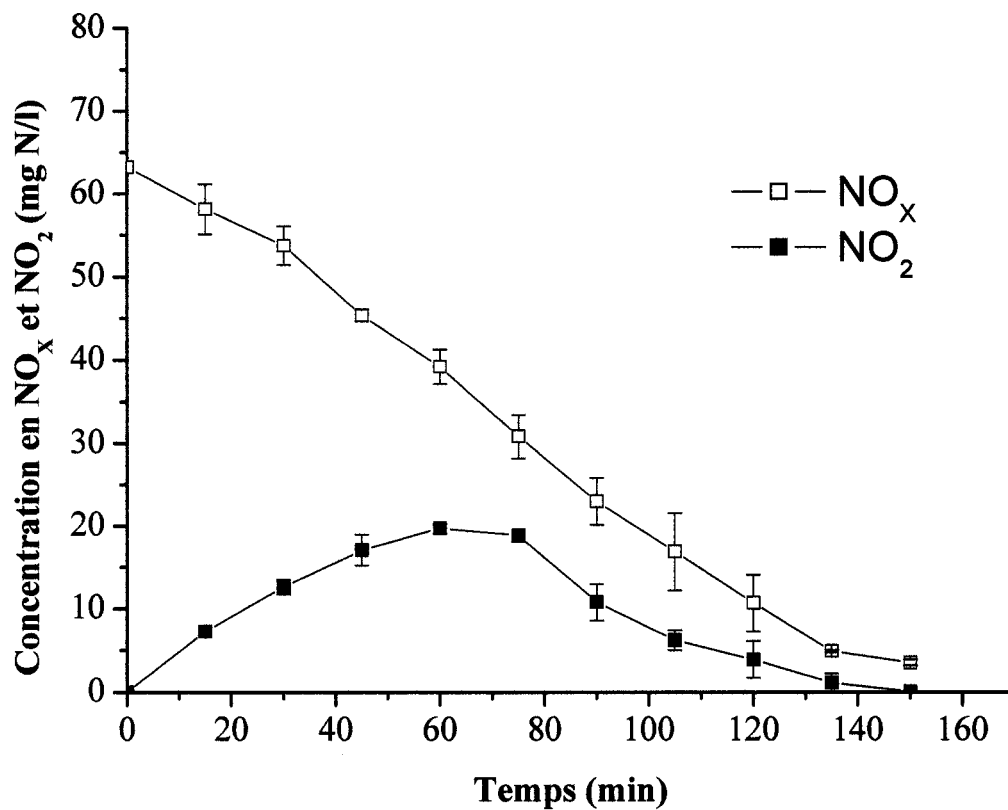


Figure 5.1 : Suivi des nitrates et nitrites au cours du temps lors des tests en cuvée

5.2 TRAÇAGE AVEC BIOMASSE

L'hydrodynamique des réacteurs pilotes de dénitrification a été caractérisée par un essai de traçage à la fluorescéine. Les résultats des traçages sans biomasse sont présentés dans l'article du chapitre 4. Les tests complémentaires menés visent à étudier l'influence de supports colonisés sur l'hydrodynamique des réacteurs.

Ces tests sont effectués en conformité avec le protocole MD ScA 01. Les résultats bruts sont présentés en annexe B, section 1. La figure 5.2 montre la courbe expérimentale obtenue par l'essai réalisé dans le réacteur contenant les supports cascade 1A. Cette figure présente également la courbe théorique correspondante. Ces deux courbes sont quasiment confondues, ce qui indique un comportement presque idéal du réacteur 1.

Le temps de rétention hydraulique est de 46,7 min pour un TRH théorique de 47,1 min. Cette différence inférieure à 1% montre que le réacteur contenant les supports cascade 1A se comporte comme un réacteur complètement mélangé. Cette similarité indique l'absence de zones mortes ou de courants préférentiels.

La masse de traceur récupéré (98,4%) indique que l'échantillonnage a été adéquat et valide ainsi l'essai réalisé.

Ce test montre que la présence de biomasse sur les supports Cascade 1A et dans le réacteur 1 n'influence pas le mélange du liquide.

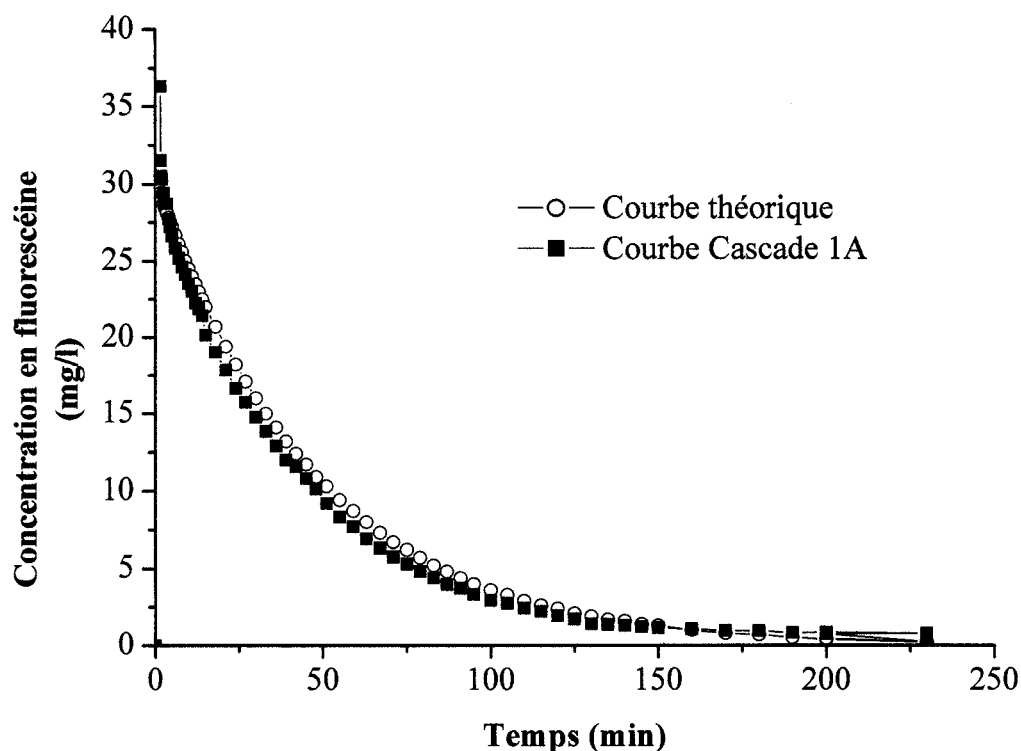


Figure 5.2 : Courbe de suivi de la concentration de traceur en fonction du temps avec les supports Cascade 1A

La figure 5.3 montre la courbe expérimentale obtenue par l'essai réalisé dans le réacteur contenant les supports TriPack 1 et la courbe théorique associée.

La courbe expérimentale est légèrement décalée par rapport à la courbe théorique. Cependant, le temps de rétention hydraulique est de 50,2 min pour un THR théorique de 50 min. Cette différence est inférieure à 1% et montre que le réacteur semble complètement mélangé. Cette similarité indique l'absence de zones mortes ou de courants préférentiels.

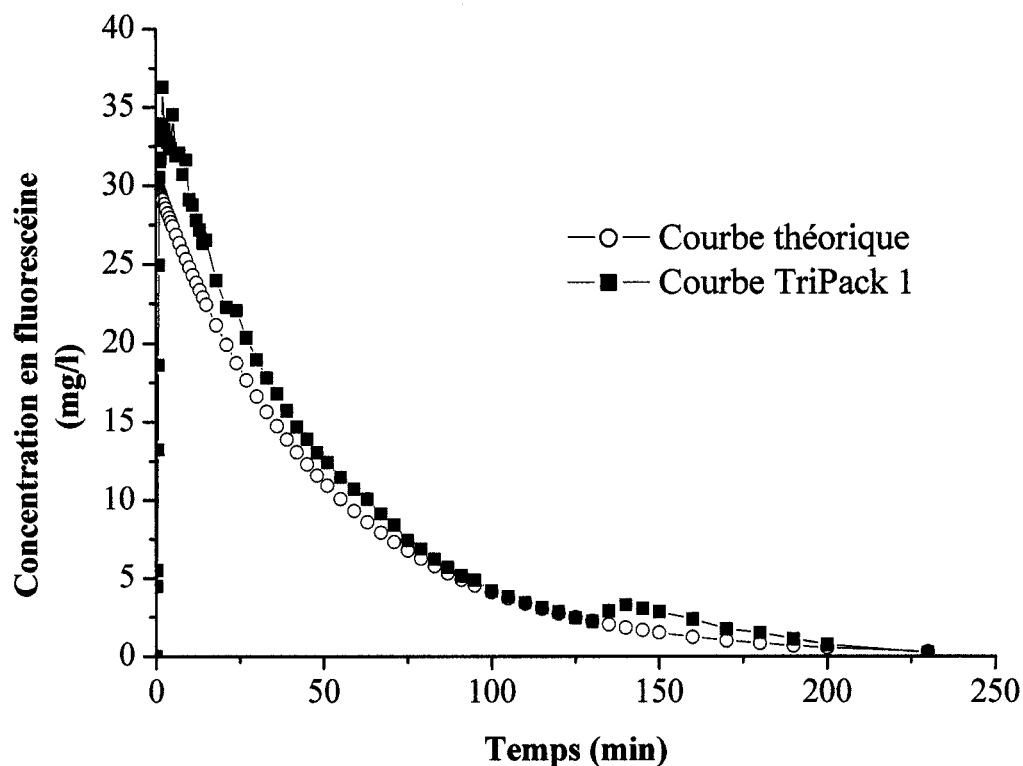


Figure 5.3 : Courbe de suivi de la concentration de traceur en fonction du temps avec les supports TriPack1

La masse de traceur récupéré (114%) indique cependant que l'échantillonnage n'a pas été adéquat ou qu'il y a des courants préférentiels dans le réacteur. L'erreur est certainement due à la présence de mousse à la surface de l'eau, qui a retenu une partie de la fluorescéine lors de l'injection. Le point d'échantillonnage se trouvant à la sortie du trop-plein, la fluorescéine concentrée ne s'est pas bien diluée dans les premières minutes et s'est retrouvée dans les flacons d'échantillonnage, une concentration élevée en fluorescéine pourrait expliquer la masse recouvrée très importante au début de l'essai.

5.3 TEST EXTRÊME ET INFLUENCE SUR LA BIOMASSE

Ce test est réalisé afin de déterminer l'influence de conditions opératoires non désirées sur la biomasse présente sur les supports.

Ce test est réalisé suivant le protocole MD ScA 07. Les résultats bruts sont disponibles dans la section 5 de l'annexe B. Ce test simule quatre conditions distinctes sur une semaine.

Les causes d'erreur opératoire envisagées sont la défaillance de l'alimentation en eau de mer désoxygénée, ainsi que la défaillance de l'alimentation en source de carbone.

Les deux conditions simultanées sont également étudiées et un témoin est réalisé.

La figure 5.4 présente l'évolution de la biomasse attachée en fonction du temps pour les quatre conditions citées ci-dessus.

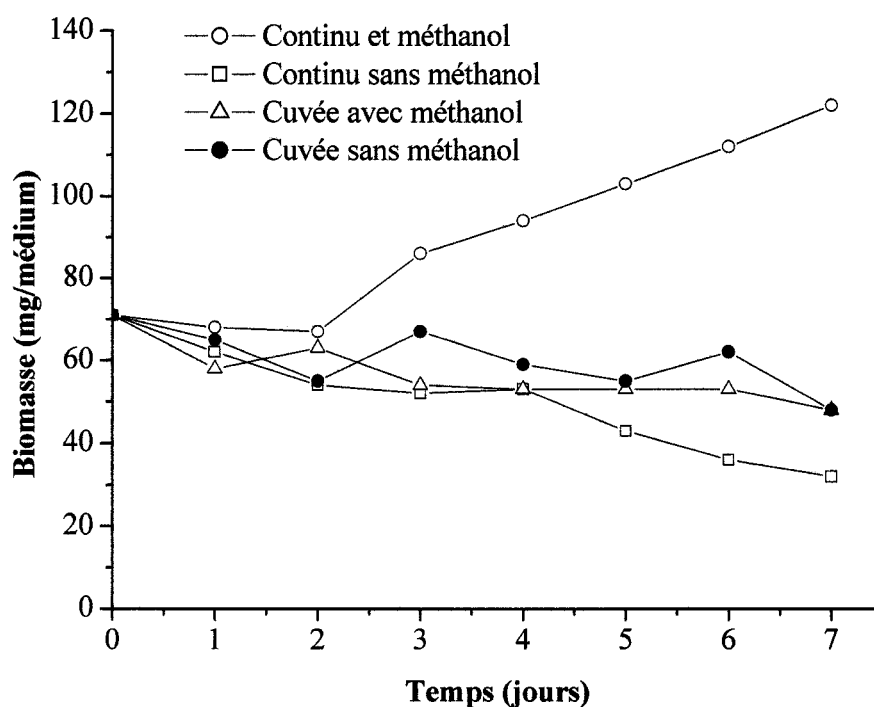


Figure 5.4 : Évolution de la quantité de biomasse attachée aux supports en fonction du temps

Le témoin (continu et méthanol) montre une croissance de la biomasse sur les supports. En effet, l'agitation obtenue grâce aux plaques agitatrices est inférieure aux forces de cisaillement auxquelles les supports sont soumis. En revanche, les trois conditions défaillantes montrent une perte de biomasse sur les supports jusqu'à 74% au dernier jour de l'expérience pour la condition d'alimentation en eau continue mais sans ajout de méthanol.

Les deux autres conditions entraînent une perte de 60% de la biomasse attachée. La condition de défaillance de l'alimentation en eau entraîne une phase de sulfato-réduction, et donc une activité des bactéries sulfato-réductrices au détriment des bactéries dénitrifiantes. La condition de défaillance simultanée entraîne un début de sulfato-réduction lorsque les nitrates sont réduits. Ensuite, les bactéries entrent en phase de latence pendant laquelle aucune source de carbone ou d'accepteur d'électron n'est ajoutée.

Cette perte de biomasse confirme les observations lors d'un épisode de sulfato-réduction lors de la seconde expérimentation en continu avec les supports TriPack colonisés depuis 8 mois. Dans ce cas, la perte de biomasse avait été de 40%.

Ce test montre ainsi l'importance de l'entretien des pompes et des tuyaux d'alimentation du réacteur, afin que la biomasse ne soit pas perdue. Cependant, les tests en continu montrent que le processus de sulfato-réduction peut être rapidement surmonté en moins de trois jours.

5.4 MESURE DU TRANSFERT D'OXYGENE PAR DIFFUSION

Le transfert d'oxygène est un paramètre important dans la réaction de dénitrification. Une teneur élevée en oxygène ralentit voire inhibe la réaction de réduction des nitrates en nitrites puis en azote gazeux. Il est donc important de connaître le transfert d'oxygène par la surface. La connaissance du K_{La} permettra de vérifier si les conditions d'anoxie nécessaires peuvent être possibles malgré la forte agitation du liquide dans les réacteurs pilotes.

Les tests de K_{La} sont effectués suivant le protocole MD ScA 03. Les résultats bruts sont accessibles en annexe B section 3. La figure 5.5 présente les courbes obtenues dont la pente donne le K_{La} en min^{-1} . Les valeurs du transfert d'oxygène (K_{La}) sont indiquées dans le tableau 5.1.

Ces valeurs montrent que le transfert d'oxygène est diminué par 2 en aménageant les réacteurs (couvercle fermé mais non étanchéisé). L'installation d'un col de cygne en sortie du trop plein des réacteurs et le placement d'un joint étanche sous le couvercle permet de diminuer le transfert d'oxygène et ainsi d'optimiser la dénitrification.

L'augmentation du diamètre de l'injecteur diminue le transfert d'oxygène de 10%. L'embout plus large diminue la vitesse de recirculation et donc l'agitation à la surface de l'eau.

Les essais sont menés en eau de mer sans supports. La présence, lors de la dénitrification, d'une mousse à la surface de l'eau, permet sans doute de réduire encore le transfert d'oxygène par diffusion.

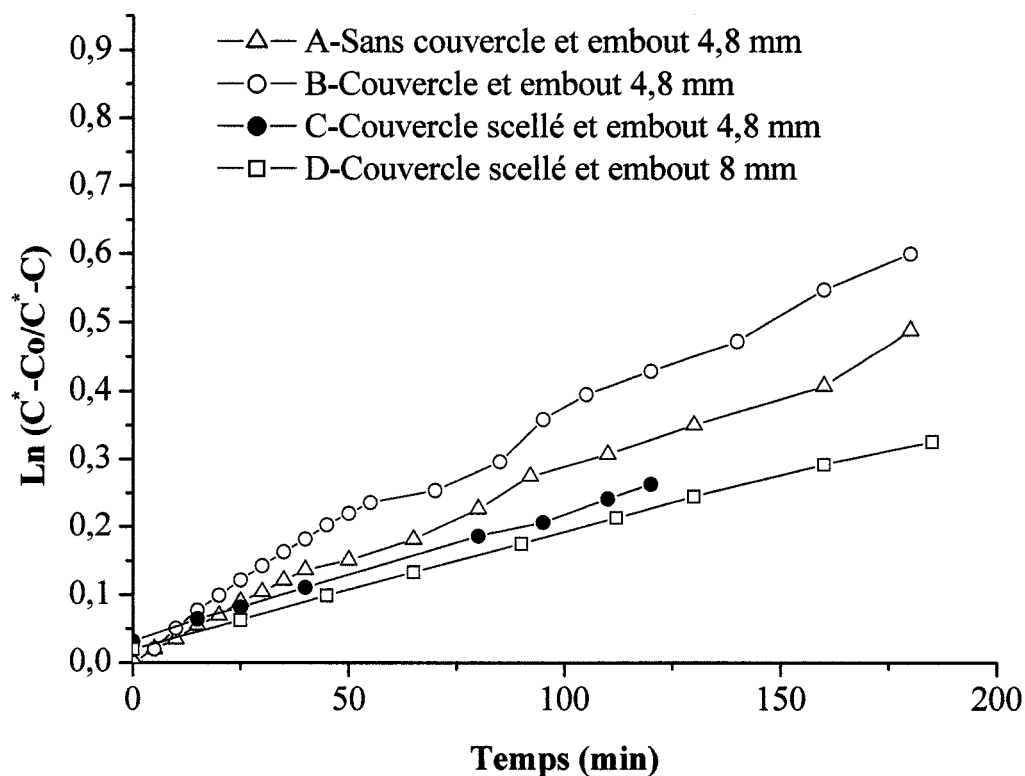


Figure 5.5 : Linéarisation des courbes de transfert d'oxygène

Tableau 5.1 : Valeur du K_{La} dans chaque conditions et linéarité de la courbe

Test	$K_{La} (h^{-1})$	Coefficient de régression linéaire
A	0,264	0,999
B	0,240	0,996
C	0,150	0,998
D	0,132	0,999

Ces valeurs pourraient encore être abaissées si l'injecteur était placé plus en profondeur dans le liquide.

5.5 BILAN DE MASSE

Le bilan de masse permet de valider les résultats obtenus par les mesures des paramètres biologiques. Pour effectuer un bilan, il faut connaître toutes les concentrations entrantes, assimilées et sortantes des éléments carbonés, phosphorés et azotés.

Le bilan de masse a été effectué lors de la première expérience en continu avec les supports utilisés dans le réacteur de dénitrification du Biodôme. Les échantillons ont été pris après une semaine de stabilité des taux de dénitrification, dans le réacteur 2 (jour 26) et les résultats des analyses sont présentés en annexe B section 7.

Le tableau 5.2 résume les résultats obtenus pour le carbone, le phosphore et l'azote.

Les bilans ferment très bien pour le phosphore et l'azote. Il faut cependant prendre en compte le fait que la quantité d'azote gazeux produit a été calculée par stœchiométrie et non pas par mesure de débit lors de l'essai, cette mesure étant difficile à effectuer, les réacteurs n'étant pas conçus pour être parfaitement étanches. Le bilan sur le carbone est moins précis, une différence de 12.3% entre les entrées et les sorties étant mesurée.

Il est possible que la volatilisation du méthanol réduise la teneur en carbone de l'effluent.

Tableau 5.2 : Pourcentage de masses recouvrées au cours du bilan de masse

Composé	Résultat du bilan sorties/entrées
P	99,4%
N	99,6%
C	87,7%

Le bilan de masse a permis de vérifier que les échantillonnages et les analyses sont effectués correctement et que la connaissance du système est avérée.

CHAPITRE VI

DISCUSSION, CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

6.1 DISCUSSION GENERALE

Cette discussion porte sur les résultats présentés non seulement dans le cadre de l'article en chapitre 4 mais aussi sur les résultats complémentaires et les protocoles développés pour la réalisation de l'étude.

6.1.1 Tests de traçage à la fluorescéine

Les traçages à la fluorescéine effectués sans biomasse ont permis de montrer un réacteur complètement mélangé, sans zones mortes ou écoulements préférentiels. Cependant, les essais préliminaires étaient réalisés sans la présence de biomasse dans les réacteurs. Il convenait donc de déterminer l'influence des supports couverts de biomasse sur l'hydraulique du réacteur. Les résultats de traçage ont conclu que la présence de biomasse n'influence pas ou peu le mélange du liquide dans le réacteur. Les résultats obtenus avec le support Cascade 1A montrent l'absence de zones mortes et de courants préférentiels. Ces supports sont en effet très ouverts (volume de vide de 97%), ce qui facilite l'écoulement du fluide à travers les ouvertures du support. Les supports TriPack1 montrent également un bon comportement lors de ces essais de traçage. Il convient de souligner que les essais ont été réalisés avec un biofilm mince développé sur les supports, ce qui a dû faciliter l'écoulement de l'eau à travers les supports. Il serait intéressant d'effectuer le test avec ces mêmes supports colmatés par le biofilm.

L'influence du biofilm et des supports sur le mélange du liquide dans les réacteurs biologiques a été souligné précédemment (Maurer et al., 1999; Moore et al., 1999). La présence d'un biofilm épais conduisait à des zones mortes et une canalisation de d'effluent (Sharp et al., 1999). Or, les essais réalisés lors du projet ne montrent pas d'effet aussi important que ceux rapportés dans la littérature. Ces résultats sont certainement dus à la nature des supports microbiens. En effet, les supports utilisés par

Sharp et al. (1999) ou Maurer et al. (1999) sont des supports macroporeux qui sont susceptibles de retenir le traceur dans leur structure, et ainsi de jouer un rôle important sur la rétention du traceur et influencer sur l'hydrodynamique du réacteur. Ce n'est pas le cas dans les essais réalisés dans cette étude, en raison de l'ouverture des supports et de la finesse du biofilm présent.

Ces tests montrent ainsi l'importance de maintenir un biofilm mince qui n'influe pas sur le mélange du liquide dans le réacteur.

6.1.2 Transfert d'oxygène

Les essais de caractérisation du transfert d'oxygène ont montré l'importance d'étanchéiser le réacteur par la mise en place d'un col de cygne en aval du réacteur et de la présence d'un scellant au niveau du couvercle. Ces mesures ont permis de diminuer par deux le transfert d'oxygène par la surface de l'eau. Cependant, d'autres modifications devraient être apportées au réacteur, essentiellement au niveau de la profondeur de l'injecteur dans le liquide. En effet, dans la configuration actuelle, l'injecteur de recirculation n'est enfoncé que de 2 cm dans l'eau, ce qui favorise les remous à la surface de l'eau et l'introduction d'oxygène. Le transfert d'oxygène est ainsi deux fois plus élevé que dans les réacteurs utilisés dans une autre étude et considéré comme négligeable (Labelle, 2004), dont l'injecteur de recirculation s'enfonce à 20 cm de la surface de l'eau.

En raison de la configuration de la grille de rétention, un compromis devra être trouvé entre un transfert d'oxygène faible et un volume réactionnel (entre les grilles de rétention) élevé.

6.1.3 Résultats de dénitrification

Les différents essais de dénitrification ont montré que le support utilisé dans le réacteur à pleine échelle n'est pas efficace quant au rendement de dénitrification (inférieur à 50%), malgré une optimisation de l'hydraulique des supports et du liquide dans le réacteur. La présence d'un précipité de phosphore et calcium formé depuis quelques mois (figure 6.1) nuit certainement à la diffusion du liquide au sein du biofilm, dont la biomasse ne représente que 30% du biofilm sec.

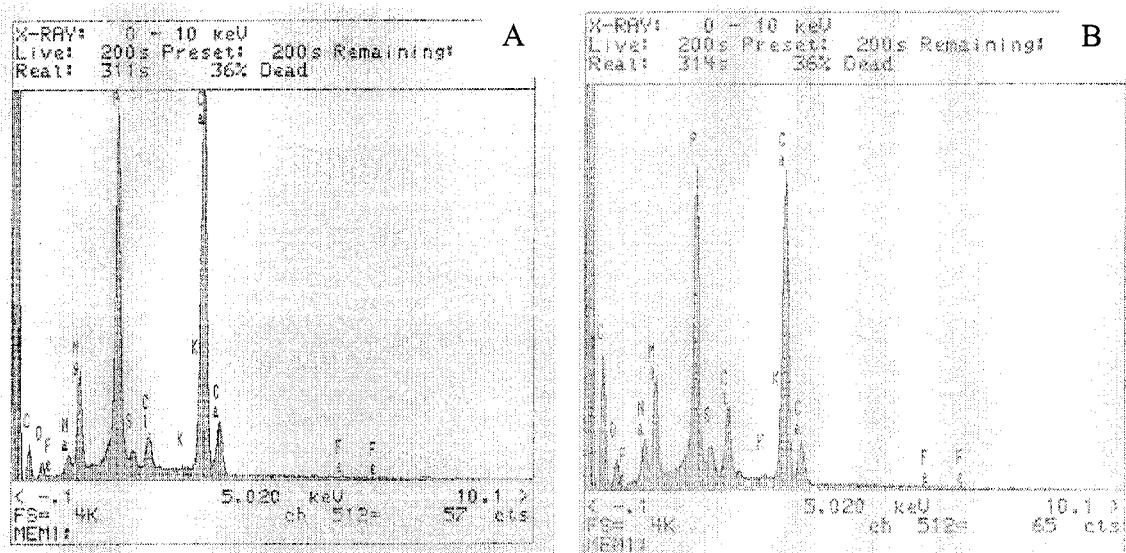


Figure 6.1 : Composition chimique du biofilm séché à 550°C (A) et 105°C (B)

Cependant, l'apparition de ce précipité à l'interface support-biofilm dans les essais suivants avec les supports TriPack et Cascade ne nuit pas au rendement de dénitrification. Les supports étant plus ouverts et la force de cisaillement suffisante pour maintenir un biofilm mince, la diffusion du liquide au sein du biofilm n'est pas gênée. Il est cependant important de suivre l'évolution de la formation de ce précipité afin de le relier à une baisse de performance dans le temps. Le biofilm étant maintenu mince grâce au jet de recirculation, les cinétiques de réaction sont augmentées (diminution des problèmes de diffusion dans le biofilm). Cependant, le pourcentage d'inertes inorganiques ne doit pas constituer la majorité du biofilm, et ainsi freiner la diffusion des nitrates dans les couches de microorganismes dénitrifiants du biofilm. Un suivi de la

quantité d'inertes inorganiques dans le biofilm devra être réalisé de deux à quatre fois par mois. Lorsque le pourcentage d'inertes dépassera 50% du biofilm sec, un changement des média devra être effectué.

Les taux de dénitrification relatifs à la biomasse et surfaciques observés avec les supports de garnissage sont égaux ou supérieurs aux taux obtenus en eau douce. Une optimisation du procédé et un choix de supports ouverts et avec une surface spécifique efficace élevée se révèlent donc efficaces quant à la dénitrification biologique en eau de mer. Le taux de remplissage pourrait être sans doute augmenté dans le réacteur à pleine échelle, ce qui augmenterait encore le taux de dénitrification, puisque celui-ci est relié à la surface efficace disponible pour l'accroissement du biofilm.

Les conditions de défaillance de l'alimentation en eau ou en source de carbone montrent que le biofilm est affecté par les conditions environnementales. Cependant, lors des essais en continu, le taux de dénitrification est recouvré après 2 ou 3 jours, ce qui indique la robustesse du biofilm. Cette stabilité est sans doute due au contrôle de l'épaisseur du biofilm, qui empêche des phénomènes de détachement massif intervenant lorsque le biofilm est épais et peu dense.

6.1.4 Entretien des réacteurs pilotes de dénitrification

En raison du faible débit d'alimentation (0.35 L/min au maximum), la biomasse s'accumule à la surface du liquide et n'est pas évacuée par le trop-plein. Il est donc nécessaire d'écumer la mousse produite 3 ou 4 fois par semaine afin de ne pas colmater le tuyau de sortie de l'affluent. Les tuyaux de sortie doivent également être désencrassés 2 fois par mois, pour ne pas gêner la sortie de l'effluent.

Ce problème de mousse devrait être réglé sur le système à pleine échelle par l'installation d'une conduite d'arrivée d'eau des filtres à sable permettant une purge de l'eau à un débit important. En plus d'éliminer la mousse produite, les conduites seraient également nettoyées par le fort débit d'eau.

6.1.5 Améliorations du réacteur à pleine échelle

Les principaux problèmes du réacteur de dénitrification du Biodôme étant l'introduction d'oxygène par la surface et la croissance excessive de biomasse sur les parois et sur les grilles de rétention, une configuration différente de la cuve pourrait être envisagée, suivant la figure 6.2.

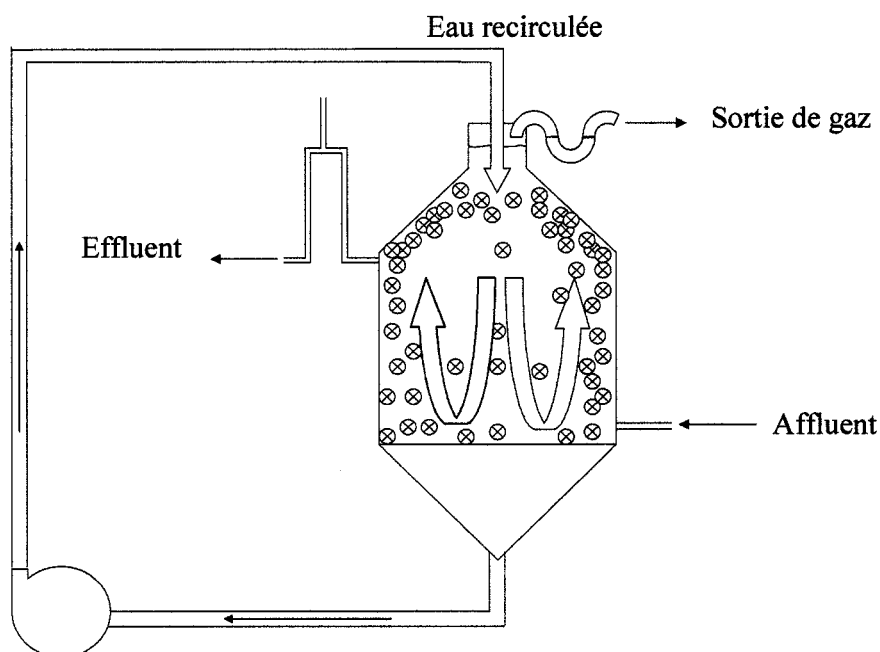


Figure 6.2 : Modifications envisagées au réacteur de dénitrification.

La modification du sommet de la cuve évite la mise en place d'une grille de rétention supérieure, réduisant ainsi les risques de colmatage. De plus, le volume d'air est réduit au minimum, et comporte une sortie des gaz produits lors de la dénitrification tout en évitant les entrées d'oxygène grâce au col de cygne.

Cependant, si le choix se porte sur l'amélioration de la configuration du réacteur déjà en place mais sans en modifier la cuve, il faudrait tout d'abord interrompre la filière, vider le réacteur de son contenu et adapter une grille conique à la place de la grille plate. Cette nouvelle grille en acier inoxydable aura des ouvertures plus grandes (2.5 cm) car les supports utilisés ont une taille plus grande que les supports actuellement en place. Les

ouvertures élargies diminueront le risque de colmatage de la grille par la biomasse et ainsi l'entretien du réacteur.

L'étanchéisation du couvercle et la mise en place d'un col de cygne en surface pourraient réduire l'introduction d'oxygène dans le liquide. Le réacteur pourra être rempli de supports Cascade 1A avec un remplissage de 30% du volume total pour commencer.

Le réacteur devra fonctionner initialement en mode cuvée afin que les supports soient colonisés et qu'un biofilm complet soit présent (et non des microorganismes ne réalisant que la première étape de dénitrification). La source de carbone sera le méthanol, avec des dosages prescrits dans le projet de Marc-André Labelle (2004). Un inoculum externe n'est pas nécessaire. Le réacteur sera ensuite alimenté en continu avec l'eau désoxygénée.

Un suivi hebdomadaire de la biomasse sur les supports devra être effectué afin de vérifier le contrôle du biofilm par le jet de recirculation. Si le biofilm est trop épais, le débit de recirculation devra être augmenté, ou le diamètre de l'injecteur sera réduit. Afin de faciliter le prélèvement de support pour analyse du biofilm, il est recommandé d'amménager une trappe mobile dans la grille supérieure. Lors du prélèvement des supports, le débit d'eau sera arrêté, le niveau d'eau baissé, puis la trappe ouverte. Les supports seront prélevés puis la trappe refermée. La pompe d'alimentation en eau sera enfin remise en marche.

Afin d'éviter l'accumulation de biofilm dans les conduites, l'entrée du trop-plein sera installée à la surface de l'eau (pas de col de cygne) et un lavage devra être effectué deux fois par semaine en augmentant pendant quelques secondes le débit d'alimentation au maximum de la capacité de la pompe.

Les entrées transversales seront fermées, mais resteront présentes, afin de remettre en mouvement des supports qui se seraient immobilisés au niveau de la grille supérieure de rétention. Cette sécurité empêchera un colmatage trop important des supports immobiles et ainsi des grilles de rétention.

La détermination du débit du réacteur à pleine échelle est réalisée en considérant que les temps de rétention hydraulique sont les mêmes que dans le réacteur pilote. Ainsi, on a

$$TRH_{pilote} = TRH_{réacteur} \quad (\text{Eq. 6.1})$$

$$\text{Soit } \frac{V_{pilote}}{Q_{pilote}} = \frac{V_{réacteur}}{Q_{réacteur}} \quad (\text{Eq. 6.2})$$

$$Q_{réacteur} = \frac{V_{réacteur}}{V_{pilote}} \times Q_{pilote} = \frac{1430}{33} \times 21 \text{ L/h} = 910 \text{ L/h} \quad (\text{Eq. 6.3})$$

Dans le cas de la pompe de recirculation, si la similitude est basée sur la puissance par unité de volume, on a la relation suivante :

$$\frac{P_{pilote}}{V_{pilote}} = \frac{P_{réacteur}}{V_{réacteur}} \quad (\text{Eq. 6.4})$$

$$\text{Soit } P_{réacteur} = \frac{V_{réacteur}}{V_{pilote}} \times P_{pilote} \quad (\text{Eq. 6.5})$$

$$P_{réacteur} = \frac{1430}{33} \times 60 = 2600 \text{ W}$$

La puissance de la pompe du réacteur actuel est de 2250 W, elle ne sera pas changée dans un premier temps. Par contre, si le développement de la biomasse est important sur les supports (risque de colmatage), il faudra dans un premier temps diminuer le diamètre de l'injecteur pour augmenter le cisaillement sur les supports, puis changer la pompe si le premier changement ne règle pas le problème de croissance excessive de la biomasse. Un traçage par la fluorescéine ou un autre composé inerte sera réalisé afin de vérifier l'hypothèse d'un réacteur complètement mélangé.

Le mode d'alimentation en cuvée pourrait également être une option envisageable, puisque les étapes de désoxygénation et de dénitrification seraient effectuées dans une même cuve, permettant ainsi d'utiliser les deux cuves présentes au Biodôme comme deux réacteurs biologiques séquentiels. De plus, le problème d'accumulation des mousses en surface serait résolu par leur évacuation lors de la vidange des réacteurs, une fois le cycle de dénitrification complété. Enfin, la concentration en nitrites serait considérablement réduite à l'effluent, en raison d'une dénitrification complète, arrêtée

avant la sulfato-réduction, contrairement au mode d'alimentation en continu, pouvant favoriser la première étape de dénitrification. Il est cependant important de considérer les ajouts de vannes contrôlées par un automate programmable dans les modifications à effectuer sur les deux cuves présentes au Biodôme de Montréal, ainsi que les coûts associés à ces modifications. Une description complète du fonctionnement du mode cuvée, ainsi que le détail du contrôle des cycles d'opération se trouve dans le mémoire de Labelle (2004).

6.2 CONCLUSIONS

L'objectif de ce projet de maîtrise était de choisir le support microbien le plus adapté dans le cas de la dénitrification de l'eau de mer du SLM et d'optimiser un réacteur de dénitrification à lit mobile à l'échelle pilote. Pour cela, des études hydrodynamiques du procédé ont permis de conclure à un réacteur complètement mélangé, même en présence de supports colonisés et pour différentes conditions opératoires du réacteur.

Le choix des supports a été évalué visuellement à l'aide de traceurs colorés pour plusieurs configurations de grille de rétention et de mode de fluidisation du réacteur. Cette étude a permis de sélectionner plusieurs supports, dont deux (TriPack 1 et Cascade 1A) ont été choisis sur leurs bases géométriques (surface colonisable par le biofilm et volume de vide) pour des essais de dénitrification biologique.

Des essais effectués sur les supports colmatés du Biodôme ont montré la nécessité de remplacer ceux-ci par des supports plus grands et ouverts. L'application d'un important débit de recirculation du liquide et l'augmentation des forces de cisaillement ont permis de conclure quant à l'importance de la maintenance d'un biofilm mince et actif à la surface des supports.

Dans le cas de l'application de forces de cisaillement importantes au niveau du jet de recirculation et de la circulation importante des supports dans le liquide, les taux de dénitrification surfaciques et spécifiques à la quantité de biomasse ont été au dessus des taux rapportés dans la littérature. Le biofilm a montré sa robustesse face aux chocs environnementaux malgré des épisodes de sulfato-réduction de 48h ou de manque de substrat en recouvrant son efficacité en moins de 3 jours. La présence d'un précipité à l'interface support-biomasse n'interfère pas sur l'efficacité de dénitrification pour la durée de colonisation des supports (5 ou 10 mois selon les essais).

L'étude hydrodynamique et visuelle a permis d'optimiser le réacteur pilote et le taux de remplissage des supports et les essais de dénitrification biologique ont orienté le choix du support le mieux adapté, soit le support Cascade 1A (figure 6.3).

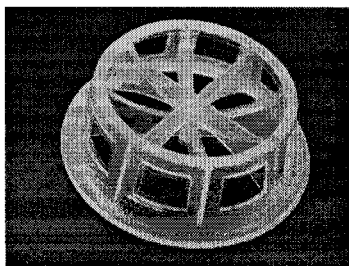


Figure 6.3: Support microbien Cascade 1A (Koch Glitsch inc.)

Ce support a présenté des performances de dénitrification équivalentes ou supérieures à l'autre support testé lors des tests biologiques et son grand volume de vide (97%) permet un contact optimal entre le liquide et la biomasse colonisant le support.

6.3 RECOMMANDATIONS

Une mise à l'échelle des réacteurs pilotes devrait être réalisée afin de vérifier les taux de dénitrification obtenus en réacteurs pilotes et prendre en compte les effets des parois et de confirmer le choix d'un angle du cône de rétention des supports. Une étude portant sur l'évaluation du taux de cisaillement appliqué au biofilm et au support par le jet de recirculation et l'impact des autres supports permettrait de préciser une mise à l'échelle

par similitude dynamique. Un des moyens de quantifier le cisaillement appliqué est fourni par la compagnie Mach1chemicals, utilisant des senseurs encapsulés qui libèrent des indicateurs visuels en fonction du cisaillement appliqué.

Des tests de quantité de biomasse par support devraient être effectués régulièrement afin de suivre l'évolution du précipité de phosphore et le ratio biomasse/biofilm sec. Cette mesure pourrait servir d'indicateur du contrôle du biofilm par le jet de recirculation et des collisions entre les supports. Si le précipité devient majoritaire dans le biofilm, les supports devraient être changés ou nettoyés. Une analyse plus poussée de la composition du biofilm pourrait révéler la cause de la formation du précipité et ainsi de diminuer son développement si possible.

Le choix du support pourrait être optimisé encore par un suivi de particules sur une durée plus longue, et prenant en compte d'autres paramètres comme l'occupation des supports dans l'espace offert. Ce suivi pourrait être réalisé par un suivi de particules radioactives sur une période de 8 heures.

Un test de traçage devra être réalisé sur le réacteur à pleine échelle, afin de vérifier qu'il n'y a pas de formation de zones mortes ou de courants préférentiels. Si c'est le cas, des entrées tangentielles devraient être ajoutées à la base de la grille de rétention des supports afin de favoriser leur mouvement en cas de stagnation de ceux-ci.

Il conviendra de limiter au maximum les entrées d'air dans le réacteur en plaçant le ou les injecteurs de recirculation, principale cause du transfert d'oxygène au liquide, assez profondément pour ne pas altérer la biomasse dénitrifiante. Un test du transfert d'oxygène devra être alors réalisé.

RÉFÉRENCES

ÆSOY, A., ØDEGAARD, H., BACH, K., PUJOL, R. ET HAMON, M. (1998) Denitrification in a packed bed biofilm reactor (Biofor)-experiments with different carbon sources. Water Research, **32**, 1463-1470.

AL-HAFEDH, Y.S., ALAM, A. ET ALAM, M.A. (2003) Performance of plastic biofilter media with different configuration in a water recirculation system for the culture of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquacultural Engineering, **29**, 139-154.

ALVES, M.M., PEREIRA, M.A., NOVAIS, J.M., POLANCO, F.F. ET MOTA, M. (1999). A new device to select microcarriers for biomass immobilization: application to an anaerobic consortium. Water Environment Research, **71**, 209-217.

ANDREOTTOLA, G., FOLADORI, P., RAGAZZI, M. ET TATANO, F. (2000) Experimental comparison between BRLM and activated sludge system for the treatment of municipal wastewater. Water Science and Technology, **41**, 375-382.

APHA, AWWA, WEF. (1995) Standard Methods for the examination of water and wastewater, 19th Ed. American Public Health Association, Washington, DC, USA.

ASPEGREN, H., NYBERG, U., ANDERSSON, B., GOTTHARDSSON, S. ET LA COUR JENSEN, J. (1998) Post-denitrification in a moving bed biofilm reactor process. Water Science and Technology, **38**, 31-38.

BEAUBIEN, A., HU, Y., BELLAHCEN, D., URBAIN, V. ET CHANG, J. (1995) Monitoring metabolic activity of denitrification processes using gas production measurements. Water Research, **29**, 2269-2274.

BENSON, B.B. ET KRAUSE, D., JR. (1984) The concentration and isotopic fractionation of oxygen dissolved in freshwater in equilibrium with the atmosphere. Limnology and Oceanography, 29, 620-632.

BEYENAL, H. ET LEWANDOWSKI, Z. (2002) Internal and external mass transfer in biofilm grown at various flow velocities. Biotechnology Progress, 18, 55-61.

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. Environmental Toxicology, 19, 134-142.

BOLEY, A., MULLER, W.-R. ET HAIDER, G. (2000) Biodegradable polymers as solid substrate and biofilm carrier for denitrification in recirculated aquaculture systems. Aquacultural Engineering, 22, 75-85.

BONOMO, L., PASTORELLI, G., QUINTO, E. ET RINALDI, G. (2000) Tertiary nitrification in pure oxygen moving bed biofilm reactors. Water Science and Technology, 41, 361-368.

BOSANDER, J. ET WESTLUND, A.D. (2000) Operation of full-scale fluidized bed for denitrification. Water Science and Technology, 41, 115-121.

CANZIANI, R. ET BONOMO, L. (1998) Biological denitrification of a textile effluent in a dynamic sand filter. Water Science and Technology, 38, 123-132.

CANZIANI, R., VISMARA, R., BASILICO, D. ET ZINNI, L. (1999) Nitrogen removal in fixed-bed submerged biofilters without backwashing. Water Science and Technology, 40, 145-152.

CATALAN-SAKAIRI, M.A, WANG, P.C. ET MATSUMURA, M. (1997) High-rate seawater denitrification utilizing a macro-porous cellulose carrier. Journal of Fermentation and Bioengineering, 82, 102-108.

CATALAN-SAKAIRI, M.A., WANG, P.C. ET MATSUMURA, M. (1997b) Nitrification performance of marine nitrifiers immobilized in Polyester- and macro-porous cellulose carriers. Journal of Fermentation and Bioengineering, 84, 563-571.

CATALAN-SAKAIRI, M.A., YASUDA, K. ET MATSUMURA, M. (1996) Nitrogen removal in seawater using nitrifying and denitrifying bacteria immobilized in porous cellulose carrier. Water Science and Technology, 34, 267-274.

CASEY, E., GLENNON, B. ET HAMER, G. (2000) Biofilm development in a membrane-aerated biofilm reactor: effect of flow velocity on performance. Biotechnology and Bioengineering, 67, 476-486.

CHANG, H.T., RITTMANN, B.E., AMAR, D., HEIM, R., EHLINGER, O. ET LESTY, Y. (1991) Biofilm detachment mechanisms in a liquid-fluidized bed. Biotechnology and Bioengineering, 38, 499-506.

CHARACKLIS, W.G. ET MARSHALL, K.C. (1990). Biofilms. Wiley Science, New York, NY.

CHUDоба, P., PANNIER, M., TRUC, A. ET PUJOL, R. (1998) A new fixed-film mobile bed bioreactor for denitrification of wastewaters. Water Science and Technology, 38, 233-240.

COLT, J.E. ET AMSTRONG, D.A. (1981) Nitrogen toxicity to crustaceans, fish, and molluscs. Bio-Engineering Symposium for Fish Culture, L.J. Allen, E.C. Kinney, American Fisheries Society, Bethesda, MD, 34-47.

CONSTANTIN, H. ET FICK, M. (1997) Influence of C-sources on the denitrification rate of a high-nitrate concentrated industrial wastewater. Water Research, 31, 583-589.

COOKE, A.J., ROWE, R.K., RITTMANN, B.E., VANGULCK, J. ET MILLWARD, S. (2001) Biofilm growth and mineral precipitation in synthetic leachate columns. Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering 127, 849-856.

DAHL, C., SUND, C., KRISTENSEN, G.H. ET VREDENBREGT, L. (1997) Combined biological nitrification and denitrification of high-salinity wastewater. Water Science and Technology, 36, 345-352.

DINÇER, A.R. ET KARGI, F. (1999) Salt inhibition of nitrification and denitrification in saline wastewater. Environmental Technology, 20, 1147-1153.

FLEMMING, I.R., ROWE, R.K. ET CULLIMORE, D.R. (1999) Field observations of clogging in a landfill leachate collection system. Canadian Geotechnical Journal 36, 685-707.

GJALTEMA, A., VAN DER MAREL, N., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. ET HEIJNEN, J.J. (1997a) Adhesion and biofilm development on suspended carriers in airlift reactors: hydrodynamic conditions versus surface characteristics. Biotechnology and Bioengineering, 55, 880-889.

GJALTEMA, A., N., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. ET HEIJNEN, J.J. (1997b) Abrasion of suspended biofilm pellets in airlift reactors: effect of particle size. Biotechnology and Bioengineering, 55, 206-215.

GLASS, C. ET SILVERSTEIN, J. (1999) Denitrification of high-nitrate, high-salinity wastewater. Water Research, 33, 223-229.

GRGURIC, G. ET COSTON, C.J. (1998) Modeling of nitrate and bromate in a seawater aquarium. Water Research, 32, 1759-1768.

GRGURIC, G., WETMORE, S.S. ET FOURNIER, R.W. (2000) Biological denitrification in a closed seawater system. Chemosphere, 40, 549-555.

HALLIN, S., ROTHMAN, M. ET PELL, M. (1996) Adaptation of denitrifying bacteria to acetate and methanol in activated sludge. Water Research, 30, 1445-1450.

HERMANOWICZ, S.W. ET GANCZARCZYK (1983) Some fluidisation characteristics of biological beds. Biotechnology and Bioengineering, 25, 1321-1330.

HORN, H. ET TEIGMANN, U. (2000) Simulation of tertiary denitrification with methanol in an upflow biofilter. Water Science and Technology, 41, 185-190.

HORN, H., REIFF, H. ET MORGENROTH, E. (2003) Simulation of growth and detachment biofilm systems under defined hydrodynamic conditions. Biotechnology and Bioengineering, 81, 607-617.

HWANG, Y., SAKUMA, H. ET TANAKA, T. (1994) Denitrification with isopropanol as a carbon source in a biofilm system. Water Science and Technology, 30, 69-78.

JARDIN, N., RATH, L., SABIN, A., SCHMITT, F., THOLE, D. ET KUHN, S. (2000) Cost-effective upgrading of the Arnsberg WWTP by post denitrification with a moving-bed system. Water Science and Technology, 41, 123-130.

KARAMANEV, D.G. ET NIKOLOV, L.N. (1992) Bed expansion of liquid-solid inverse fluidization. AIChE Journal, 38, 1916-1922.

KIM, H.-R., LEE, I.-S., BAE, J.-H. (2004) Performance of a sulphur-utilizing fluidized bed reactor for post-denitrification. Process Biochemistry, 39, 1591-1597.

KOCH, G., EGLI, K., VAN DER MEER, J.R. ET SIEGRIST, H. (2000) Mathematical modeling of autotrophic denitrification in a nitrifying biofilm of a rotating biological contactor. Water Science and Technology, 41, 191-198.

KOCH, G. ET SIEGRIST, H. (1997) Denitrification with methanol in tertiary filtration at wastewater treatment plant Zürich-Werdhölzli. Water Science and Technology, 36, 165-172.

KRAMER, J.P., WOUTERS, J.W., NOORDINK, M.P.M., ANINK, D.M.E. ET JANUS, J.M. (2000) Dynamic denitrification of 3,600 m³/h sewage effluent by moving bed biofiltration. Water Science and Technology, 41, 29-33.

KWOK, W.K., PICIOREANU, C., ONG, S.L., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., NG, W.J. ET HEIJNEN, J.J. (1998) Influence of biomass production and detachment forces on biofilm structures in a biofilm airlift suspension reactor. Biotechnology and Bioengineering, 58, 400-407.

LABBÉ, N., PARENT, S. ET VILLEMUR, R. (2003) Addition of trace metals increases denitrification rate in closed marine systems. Water Research, 37, 914-920.

LABELLE, M.A. (2004) Optimisation d'un bioprocédé de dénitrification d'un système aquacole marin en circuit fermé au Biodôme de Montréal. 133p. Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal, Montréal.

LABELLE, M.A., JUTEAU, P., JOLICOEUR, M., VILLEMUR, R., PARENT, S. ET COMEAU, Y. (2004) Seawater denitrification in a closed mesocosm by a submerged moving bed biofilm reactor. Water Research, soumis.

LEMMER, H., ZAGLAUER, A. ET METZNER, G. (1997) Denitrification in a methanol-fed fixed-bed reactor. Part 1: physico-chemical and biological characterization. Water research, 31, 1897-1902.

LIN, Y-F. ET CHEN, K-C. (1995) Denitrification and methanogenesis in a co-immobilized mixed culture system. Water Research, 29, 35-43.

MAHNE, I., PRINČIČ, A. ET MEGUŠAR, F. (1996) Nitrification/denitrification in nitrogen high-strength liquid wastes. Water Research, 30, 2107-2111.

MANN, A., FITZPATRICK, C.S.B. ET STEPHENSON, T. (1995) Comparison of floating and sunken media biological aerated filters using tracer study techniques. Process Safety and Environmental Protection: Transactions of the Institution of Chemical Engineers, 73, 137-143.

MATSUMURA, M., TSUBOTA, H., ITO, O., WANG, P-C. ET YASUDA, K. (1997) Development of bioreactors for denitrification with immobilized cells. Journal of Fermentation and Bioengineering, 84, 144-150.

MAURER, M., FUX, C., GRAFF, M. ET SIEGRIST, H. (2001) Moving-bed biological treatment (MBBT) of municipal wastewater: denitrification. Water Science and Technology, 43, 337-344.

MAURER, M., FUX, C., LANGE, D. ET SIEGRIST, H. (1999) Modelling denitrification in a moving bed of porous carriers from a low-loaded wastewater treatment plant. Water Science and Technology, 39, 251-259.

MELO, L.F. ET VIERA, M.J. (1999) Physical stability and biological activity of biofilms under turbulent flow and low substrate concentration. Bioprocess Engineering, 20, 363-368.

MENASVETA, P., PANRITDAM, T., SIHANONTH, P., POWTONGSOOK, S. CHUNTAPA, B. ET LEE, P. (2001) Design and function of a closed, recirculating system with denitrification for the culture of black tiger shrimp broodstock. Aquacultural Engineering, 25, 35-49.

MENOUD, P., WONG, C.H., ROBINSON, H.A., FARQUHAR, A., BARFORD, J.P. ET BARTON, G.W. (1999) Simultaneous nitrification and denitrification using Siporax packing. Water Science and Technology, 40, 153-160.

METCALF AND EDDY INC. (2003) Wastewater Engineering Treatment and Reuse, 4^e éd., McGraw-Hill, New York, NY.

MOORE, R.E., QUARMBY, J. ET STEPHENSON, T. (1999) BAF media: Ideal properties and their measurement. Process Safety and Environmental Protection: Transactions of the Institution of Chemical Engineers, 77, 291-297.

MOORE, R., QUARMBY, J. ET STEPHENSON, T. (2001) The effects of media size on the performance of biological aerated filters. Water Research, **35**, 2514-2522.

MUIR, P.R., SUTTON, D.C. ET OWENS, L. (1991) Nitrate toxicity to *Penaeus monodon* protozoa. Marine Biology, **108**, 67-71.

MULCAHY, LT. ET SHIEH, W.K. (1987) Fluidization and reactor biomass characteristics of the denitrification fluidized bed biofilm reactor. Water Research, **21**, 451-458.

MÜNCH, E.V., BARR, K., WATTS, S. ET KELLER, J. (2000) Suspended carrier technology allows upgrading high-rate activated sludge plants for nitrogen removal via process intensification. Water Science and Technology, **41**, 5-12.

MÜNCH, E.V., LANT, P. ET KELLER, J. (1996) Simultaneous nitrification and denitrification in bench-scale sequencing batch reactors. Water Research, **30**, 277-284.

NITISORAVUT, S. ET YANG, P.Y. (1992) Denitrification of nitrate-rich water using entrapped-mixed-microbial cells immobilization technique. Water Science and Technology, **26**, 923-931.

ØDEGAARD, H., GISVOLD, B. ET STRICKLAND, J. (2000) The influence of carrier size and shape in the moving bed biofilm process. Water Science and Technology, **41**, 383-391.

ØDEGAARD, H., RUSTEN, B. ET WESTRUM, T. (1994) A new moving bed biofilm reactor-Applications and results. Water Science and Technology, **29**, 157-165.

OHASHI, A. ET HARADA, H. (1994) Adhesion strength of biofilm developed in an attached-growth reactor. Water Science and Technology, 29, 281-288.

OHASHI, A., KOYAMA, T., SYUTSUBO, K. ET HARADA, H. (1999) A novel method for evaluation of biofilm strength resisting erosion. Water Science and Technology, 39, 261-268.

PARENT, S. ET MORIN, A. (2000) N budget as water quality management tool in closed aquatic mesocosms. Water Research, 34, 1846-1856.

PASTORELLI, G., ANDREOTTOLA, G., CANZIANI, R., DE FRAJA FRANGIPANE, E., DE PASCALIS, F., GURRIERI, G. ET ROZZI, A. (1997) Pilot-plant experiments with moving-bed biofilm reactors. Water Science and Technology, 36, 43-50.

PAYNE, W.J. (1981) Denitrification, John Wiley & Sons Inc., New York, NY.

PEYTON, B.M. (1996) Effects of shear stress and substrate loading rate on *pseudomonas aeruginosa* biofilm thickness and density. Water Research, 30, 29-36.

PEYTON, B.M. ET CHARACKLIS, W.G. (1993) A statistical analysis of the effect of substrate utilization and shear stress on the kinetics of biofilm detachment. Biotechnology and Bioengineering, 41, 728-735.

PICIOREANU, C., VAN LOSDRECHT, M.C.M. ET HELJEN, J.J. (2000) Two-dimensional model of biofilm detachment caused by internal stress from liquid flow. Biotechnology and Bioengineering, 72, 205-218.

POPEL, H.J. ET KRISTELLER, W. (1997) Post-denitrification at the Frankfurt-Nierrad wastewater treatment plant by fluidized-bed technology. Water Science and Technology, 35, 95-102.

RAJAPAKSE, J.P. ET SCUTT, J.E. (1999) Denitrification with natural gas and various new growth media. Water Research, 33, 3723-3734.

RAHMANI, H., ROLS, J.L., CAPDEVILLE, B., CORNIER, J.C. ET DEGUIN, A. (1995) Nitrite removal by a fixed culture in a submerged granular biofilter. Water Research, 29, 1745-1753.

RIDHA, M.T. ET CRUZ, E.M. (2001) Effect of biofilter media on water quality and biological performance of the Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. reared in a simple recirculating system. Aquacultural Engineering, 24, 157-166.

ROSA, M.F., FURTADO, A.A.L., ALBUQUERQUE, R.T., LEITE, S.G.F. ET MEDRONHO, R.A. (1998) Biofilm development and ammonia removal in the nitrification of a saline wastewater. Bioresource Technology, 65, 135-138.

RUSTEN, B., HELLSTROM, F., SEHESTED, O., SKJELFOSS, E. ET SVENDSEN, B. (2000) Pilot testing and preliminary design of moving bed biofilm reactors for nitrogen removal at the FREVAR wastewater treatment plant. Water Science and Technology, 41, 13-20.

SAUTHIER, N., GRASMICK, A. ET BLANCHETON, J.P. (1998) Biological denitrification applied to a marine closed aquaculture system. Water Research, 32, 1932-1938.

SAUVÉ, I (2000) Caractérisation de la filière de dénitrification des eaux de mer du Biodôme de Montréal. 210p. Mémoire de maîtrise, Ecole Polytechnique de Montréal, Montréal.

SÉGURET, F., RACAULT, Y. ET SARDIN, M. (2000) Hydrodynamic behaviour of full scale trickling filters. Water Research, **34**, 1551-1558.

SEMON, J., SADICK, T., PALUMBO, D., SANTORO, M. ET KEENAN, P. (1997) Biological upflow fluidized bed denitrification reactor demonstration projet-Stamford, ct, USA. Water Science and Technology, **36**, 139-146.

SEN, P. ET DENTEL, S.K. (1998) Simultaneous nitrification-denitrification in a fluidized bed reactor. Water Science and Technology, **38**, 247-254.

SHARP, R.R, CUNNINGHAM, A.B., KOMLOS, J. ET BILLMAYER, J. (1999) Observation of thick biofilm accumulation and structure in porous media and corresponding hydrodynamic and mass transfer effects. Water Science and Technology, **39**, 195-201.

SPOTTE, S. (1991) Captive Seawater Fishes: Science and Technology. John Wiley & Sons. Toronto, 942 pp.

SUTTON, P.M. ET MISHRA, P.N. (1990) Fluidized bed biological wastewater treatment: effects of scale-up on system performance. Water Science and Technology, **22**, 419-430.

TRULEAR, M.G. ET CHARACKLIS, W.G. (1982) Dynamics of biofilm processes. Journal of Water Pollution Control Federation, **54**, 1288-1301.

TURAN, M. ET OZTURK, I. (2001) Influence of different bioparticles on bed expansion characteristics of anaerobic fluidized bed reactors. Journal of Environmental Science and Health-A, 36, 1041-1053.

TURAN, M., SABAH, E., GULSEN, H. ET CELIK, M.S.(2003) Influence of media characteristics on energy dissipation in filter backwashing. Environmental Science and Technology, 37, 4288-4292.

U.S. EPA (2002) Onsite wastewater treatment systems manual, EPA 625/R-00/008, U.S. Environmental protection Agency, Cincinnati, OH.

VAN DER HOEK, J.P., LATOUR, P.J.M. ET KLAPWIJK, A. (1987) Denitrification with methanol in the presence of high salt concentrations and at high pH levels. Applied Microbiology and Biotechnology, 27, 199-205.

VAN LOOSDRECHT, M.C.M., EIKELBOOM, D., GALTEMA, A., MULDER, A., TIJHUIS, L. ET HEIJNEN, J.J. (1995) Biofilm structures. Water Science and Technology, 32, 35-43.

VILLASEÑOR, J.C., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., PICIOREANU, C. ET HEIJNEN, J.J. (2000) Influence of different substrates on the formation of biofilms in a biofilm airlift suspension reactor. Water Science and Technology, 41, 323-330.

VREDENBREGT, L.H.J., NIELSEN, K., POTMA, A.A., KRISTENSEN, G.H. ET SUND, C. (1997) Fluid bed biological nitrification and denitrification in high salinity wastewater. Water Science and Technology, 36, 93-100.

WELANDER, U. ET MATTIASSON, B. (2003) Denitrification at low temperatures using a suspended carrier biofilm process. Water Research, 37, 2394-2398.

WELANDER, U., HENRYSSON, T. ET WELANDER, T. (1998) Biological nitrogen removal from municipal landfill leachate in a pilot scale suspended carrier biofilm process. Water Research, 32, 1564-1570.

WHITSON, J., TURK, P. ET LEE, P. (1993) Biological denitrification in a closed recirculating marine culture system. Techniques for Modern Aquaculture, American Society of Agricultural Engineers, St-Joseph, MI, 458-466.

YANG, P.Y., NITISORAVUT, S. ET WU, J.S. (1995) Nitrate removal using a mixed-culture entrapped microbial cell immobilization process under high salt conditions. Water Research, 29, 1525-1532.

YU, H. ET RITTMANN, B.E. (1997) Predicting bed expansion and phase hold-ups for three-phase fluidized-bed reactors with and without biofilm. Water research, 31, 2604-2616.

ZHAO, H.W., MAVINIC, D.S., OLDHAM, W.K. ET KOCH, F.A. (1999) Controlling factors for simultaneous nitrification and denitrification in a two-stage intermittent aeration process treating domestic sewage. Water Research, 33, 961-970.

ANNEXES

ANNEXE A : PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

SECTION 1 : PROTOCOLE MD SCA 01- TRAÇAGE A LA FLUORESCEINE DES PILOTES DE DENITRIFICATION

PROTOCOLE EXPERIMENTAL	
PE N° : MD ScA 01	Date de réalisation : 05-07-03
Auteur : Marianne Dupla	Révisé par : Serge Parent
Titre : Traçage à la fluorescéine des pilotes de dénitrification	

TABLE DES MATIERES

1. OBJECTIFS	118
2. PRINCIPE.....	118
3. CHOIX PRELIMINAIRES	118
3.1 Choix des débits et du temps de rétention hydraulique.....	118
3.2 Choix des modes hydrauliques	119
3.3 Présence des supports.....	119
3.4 Choix du traceur et du type d'essai	119
4. MATERIEL, REACTIFS ET INSTRUMENTS	120
5. MODE D'OPERATION.....	120
5.1 Préparation de la solution de traçage	120
5.3 Méthode d'analyse des échantillons	123
6. CALCULS ET ANALYSE DES RESULTATS	124
7. CONSIGNES DE SECURITE.....	124
8. REFERENCES	124

1. OBJECTIFS

Ce protocole expérimental a pour objectif de déterminer le comportement hydrodynamique des réacteurs à lit mobile suivant plusieurs configurations. Le traçage permettra de vérifier à quel point les réacteurs sont complètement mélangés.

2. PRINCIPE

Les débits d'entrée et sortie sont fixés. Les conditions hydrodynamiques du réacteur sont également fixées (débit de recirculation et vitesses tangentielles).

La fluorescéine en quantité exactement connue est injectée à l'entrée du réacteur, puis sa concentration est suivie à la sortie en fonction du temps par spectrophotométrie à $\lambda=490$ nm.

3. CHOIX PRELIMINAIRES

3.1 Choix des débits et du temps de rétention hydraulique

Le comportement hydraulique d'un réacteur fluctue en fonction des débits appliqués. C'est pourquoi il est souhaitable d'effectuer des essais proches de la réalité du réacteur du Biodôme.

Le temps de rétention hydraulique se calcule par la formule suivante :

$TRH = \text{volume du réacteur} / \text{débit de l'affluent}$.

Le débit maximal que peut fournir la pompe alimentant le dénitrificateur en place au Biodôme étant de 25 L/min pour un volume de 1000 L, le temps de rétention minimum est de 40 minutes. C'est ce temps de rétention qui sera appliqué aux pilotes de dénitrification pendant les essais de traçage.

Le volume des réacteurs étant de 33 l, le débit à appliquer en entrée sera 0.7 L/min.

3.2 Choix des modes hydrauliques

Les pilotes étant conçus avec des possibilités de vitesses tangentielles, l'impact de celles-ci seront étudiées par un traçage avec et sans ces débits tangentiels.

Deux différents débits de recirculation seront également étudiés (16 L/min et 20 L/min).

3.3 Présence des supports

L'effet de la présence des supports et leur géométrie sera également étudié par des essais de traçage avec supports, et en utilisant 2 sortes de supports différant en géométrie, en taille et en densité.

3.4 Choix du traceur et du type d'essai

3.4.1 Choix du traceur

Le milieu étudié étant de l'eau de mer, les traceurs chimiques comme les chlorures ou les nitrites sont à proscrire en raison des interférences causées par la grande quantité de sels dissous présents dans l'eau.

Les traceurs colorimétriques semblent donc indiqués, et la fluorescéine est idéale au point de vue analytique (dosage spectrophotométrique), car le dosage n'interfère pas avec la composition de l'eau de mer (cf. annexe 3).

Une solution de fluorescéine sera injectée à l'affluent des réacteurs et l'eau sera purgée à l'égout.

3.4.2 Choix du type d'essai

Dans le cas des pilotes, injecter un débit continu est désavantageux, car les équipements nécessaires à cette procédure sont difficiles à mettre en œuvre dans ce cas (absence de pompes et de débitmètres adéquats).

L'essai avec injection ponctuelle permet de calculer le temps de rétention moyen, la variance et la masse de traceur à la sortie de l'effluent. Ces données permettent de valider l'essai et de définir s'il y a présence de zones mortes et d'écoulement préférentiel dans les pilotes testés (Sauvé, 2000).

3.4.3 Quantité requise de traceur

La courbe d'étalonnage nous donne un domaine de validité des mesures entre 0 et 50 mg/L. Si on ne souhaite pas de dilutions avant les mesures par spectrophotométrie, la concentration optimale devra se trouver entre 30 et 40 mg/L.

On suppose que chaque réacteur est complètement mélangé. Le traceur sera donc dilué très rapidement pour atteindre un optimum C_R que l'on désire proche de 30 mg fluorescéine/L.

La masse de traceur à injecter peut être ainsi déterminée :

Masse de traceur nécessaire = $V_R \times C_R = 34 \times 30 = 1020$ mg de fluorescéine.

4. MATERIEL, REACTIFS ET INSTRUMENTS

Pilotes de dénitrification

Poudre de fluorescéine

Balance de pesée précise à 0,001 mg

Bécher 100 ml

Eau de mer filtrée

Flacons d'échantillonnage

Spectrophotomètre avec λ fixée à 490 nm

Supports (2 types)

5. MODE D'OPERATION

5.1 Préparation de la solution de traçage

La solubilité de la fluorescéine est de 500 g/L à 20°C (catalogue Merck). Le volume d'eau de mer utilisé pour la dissolution peut donc être réduit à 10 ml, soit 100g/l. Pour plus de facilité de préparation, une solution à 20 g/L est préparée. La masse de traceur ajoutée doit être très précise, par contre la précision de la solution de traçage est moins

critique. Lors de l'injection, il faut s'assurer d'avoir versé tout le traceur, ainsi, le bécher est rincé 3 fois à l'eau de mer, et l'eau de rinçage est versée dans le réacteur au point d'injection. La solution de traçage sera donc préparée en pesant exactement 1 g de fluorescéine qui sera dissous dans environ 50 ml d'eau de mer filtrée. La solution est ensuite injectée dans le réacteur au niveau de l'affluent.

5.2 Méthode et protocole d'échantillonnage

5.2.1 Localisation des points d'échantillonnage (annexe 1)

La concentration en fluorescéine est suivie à l'effluent des réacteurs testés. La prise d'échantillon est réalisée à la sortie du tuyau d'évacuation du trop plein, une purge de la voie d'échantillonnage n'est donc pas nécessaire. Le volume d'eau prélevé doit être suffisant pour réaliser un dosage par spectrophotométrie, soit environ 3 ml. Afin de pouvoir réaliser des dosages de vérification, un volume de 10 ml est prélevé.

5.2.2 Horaire d'échantillonnage et durée des essais

La durée de l'essai sera d'environ 4 fois le TRH théorique des réacteurs. L'essai est terminé lorsque la concentration en fluorescéine à l'effluent est inférieure à 0.3 mg/L, soit moins de 1% de la concentration optimale. La possibilité de doser les échantillons pendant l'essai permet de déterminer avec précision la fin de celui-ci.

Il est nécessaire d'avoir au moins 30 points d'échantillonnages afin d'obtenir une courbe de résultats exploitable. Ainsi, un grand nombre d'échantillons (67) sera prélevé, quitte à n'en analyser qu'une partie.

Un témoin est prélevé avant l'essai pour s'assurer de l'absence de fluorescence à 490 nm dans le milieu.

Les contenants utilisés sont des tubes à essais de 10 ml identifiés par un numéro d'échantillon correspondant à une grille d'échantillonnage précise en fonction du temps.

Les échantillons sont analysés immédiatement après l'essai de traçage. Néanmoins, ils peuvent être conservés pour analyse ultérieure à l'abri de la lumière pendant 1 semaine sans variation de la concentration.

Le protocole d'échantillonnage est établi en fonction du comportement d'un réacteur complètement mélangé : dans ce cas, le traceur est immédiatement dilué, la concentration est maximale au début de l'essai puis elle décroît lentement au cours du temps par dilution avec l'entrée d'eau non tracée. Les points d'échantillonnage sont donc nombreux au début de manière à ne pas manquer l'optimum, puis sont de plus en plus espacés dans le temps.

La grille d'échantillonnage en annexe 2 est résumée dans le tableau A1-1 :

Tableau A1-1 : Protocole d'échantillonnage pour un réacteur complètement mélangé.

	Début	Fin	Nombre d'échantillons	Fréquence d'échantillonnage
Partie 1	0	0.04 TRH	12	0.0033 TRH
Partie 2	0.04 TRH	0.1 TRH	6	0.01 TRH
Partie 3	0.1 TRH	0.3 TRH	10	0.02 TRH
Partie 4	0.3 TRH	1 TRH	12	0.06 TRH
Partie 5	1 TRH	2 TRH	11	0.09 TRH
Partie 6	2 TRH	3 TRH	10	0.1 TRH
Partie 7	3 TRH	4 TRH	6	0.17 TRH

5.2.3 Méthode de vérification du débit

Le débit doit être constant tout au long de l'essai. Celui-ci doit donc être vérifié régulièrement, avant, pendant (15 à 20 fois) et après l'essai de traçage, par mesure manuelle à l'aide d'un chronomètre et d'un cylindre gradué de 500 ml. La mesure est effectuée au tuyau de sortie du réacteur. La durée du chronométrage est de 1 minute. Le volume d'eau recueilli doit être égal au débit requis (en L/min). Si le débit est inadéquat, il doit être réajusté et vérifié immédiatement.

5.3 Méthode d'analyse des échantillons

5.3.1 Étalonnage du spectrophotomètre

Fixer la longueur d'onde à 490 nm.

Préparer une solution mère à 500 mg/L en pesant 250 mg de fluorescéine en poudre et en la diluant dans 500 ml d'eau de mer prélevée à la sortie d'un filtra à sable du Biodôme.

Préparer des solutions étalons de fluorescéine à 100, 50, 25, 10, 5 et 2 mg/L à partir de la solution mère.

Le zéro est réalisé avec de l'eau de mer issue des filtres.

Les solutions sont versées dans des cellules en verre, celles-ci sont essuyées puis analysées au spectrophotomètre.

Lire l'absorbance pour chaque concentration et tracer la droite d'étalonnage (annexe 3).

Une fois terminée, la calibration est enregistrée dans une séquence afin de pouvoir la réutiliser lors d'un nouvel essai de traçage.

Pour la lecture des échantillons, le ZERO doit être fait au début des lectures et vérifié à la fin avec le témoin.

5.3.2 Préparation et analyse des échantillons

La courbe standard est linéaire, et l'on peut lire les échantillons entre 0 et 50 mg/L, la précision étant néanmoins plus grande entre 0 et 25 mg/L. Il est ainsi préférable d'obtenir des valeurs dans cette fourchette de concentration.

Les échantillons seront ainsi dilués si nécessaires 1 dans 2 fois, si la lecture initiale dépasse 40 mg/L.

Déposer le témoin dans l'appareil, couvrir et peser sur « ZERO ABS ». Enlever le témoin et déposer la cellule en verre contenant l'échantillon dans le spectrophotomètre.

Couvrir et lire directement la concentration. Noter cette concentration ainsi que la dilution le cas échéant. L'annexe 3 propose une grille d'échantillonnage.

6. CALCULS ET ANALYSE DES RESULTATS

Analyse des données

L'analyse des résultats sera effectuée suivant les directives de Teeffy (1996) et Sauvé (2000).

Les paramètres calculés sont la masse totale de traceur recouvrée, le temps de rétention moyen, la variance et le nombre de réacteurs complètement mélangés, N_{RCM} .

Un réacteur complètement mélangé à une valeur $N_{RCM}=1$. Plus la valeur N_{RCM} est élevée, moins le réacteur est mélangé.

7. CONSIGNES DE SECURITE

Si possible, traiter tous les échantillons de la même façon et toujours par la même personne. Le port de la blouse et de gants est nécessaire lors de la manipulation de la fluorescéine.

Conservation des échantillons

Les échantillons se conservent une semaine en flacon à l'abri de la lumière.

8. REFERENCES

Catalogue en ligne Merck Chemicals : www.merck.co.th/eng/chemicals/

SAUVE I. (2000). Caractérisation de la filière de dénitrification des eaux de mer du Biodôme de Montréal. Mémoire de maîtrise. Ecole Polytechnique de Montréal, 210 p.

TEEFY S. (1996). Tracer studies in water treatment facilities: a protocol and case studies. AWWARF (American Water Works Association Research Foundation), Denver, CO.

Annexe A1-1. Localisation des points d'échantillonnage

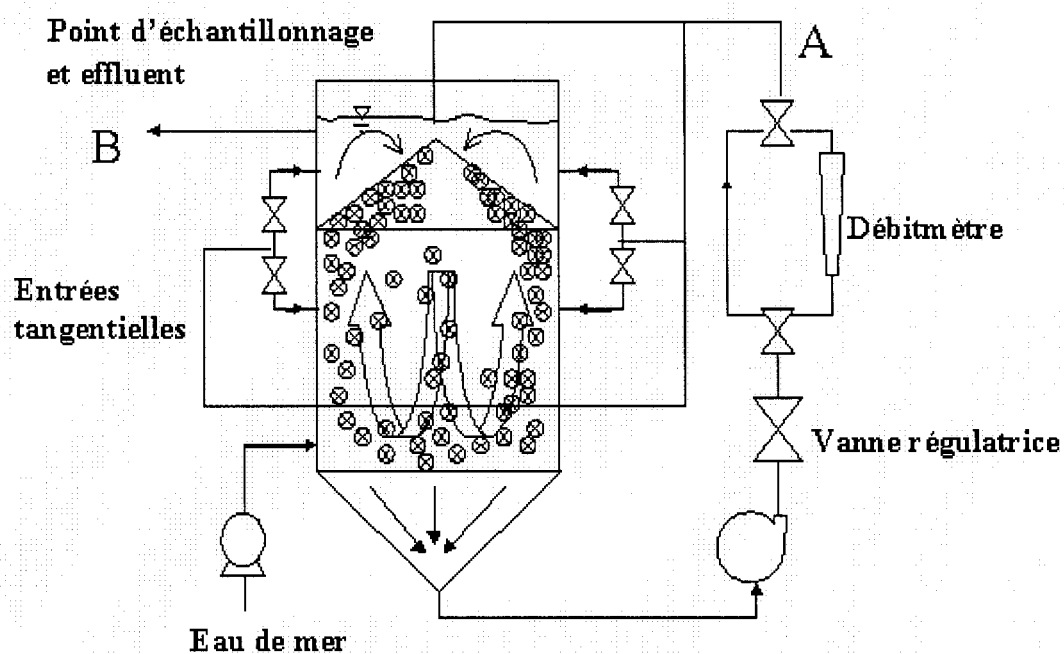


Figure A1-1. Schéma du réacteur à flux descendant et points d'injection (A) et d'échantillonnage (B).

Annexe A1-2. Grille d'échantillonnage pour le traçage par la fluorescéine

Détermination hydrodynamique : Essai de traçage avec la fluorescéine				
Opérateur :		Date :	Réacteur étudié :	
Débit d'entrée :		Supports et volume:	Débit de recirculation :	
Entrées transversales :			Remarques :	
Numéro d'échantillon	temps (min)	Concentration mesurée en mg/l	Dilution	Concentration réelle en mg/l
0	0			
1	0.17			
2	0.33			
3	0.50			
4	0.67			
5	0.83			
6	1			
7	1.17			
8	1.33			
9	1.50			
10	1.67			
11	1.83			
12	2			
13	2.5			
14	3			
15	3.5			
16	4			
17	4.5			
18	5			
19	6			
20	7			
21	8			
22	9			
23	10			
24	11			
25	12			
26	13			
27	14			
28	15			
29	18			

Annexe A1-3. Courbe de calibration de la fluorescéine au spectrophotomètre

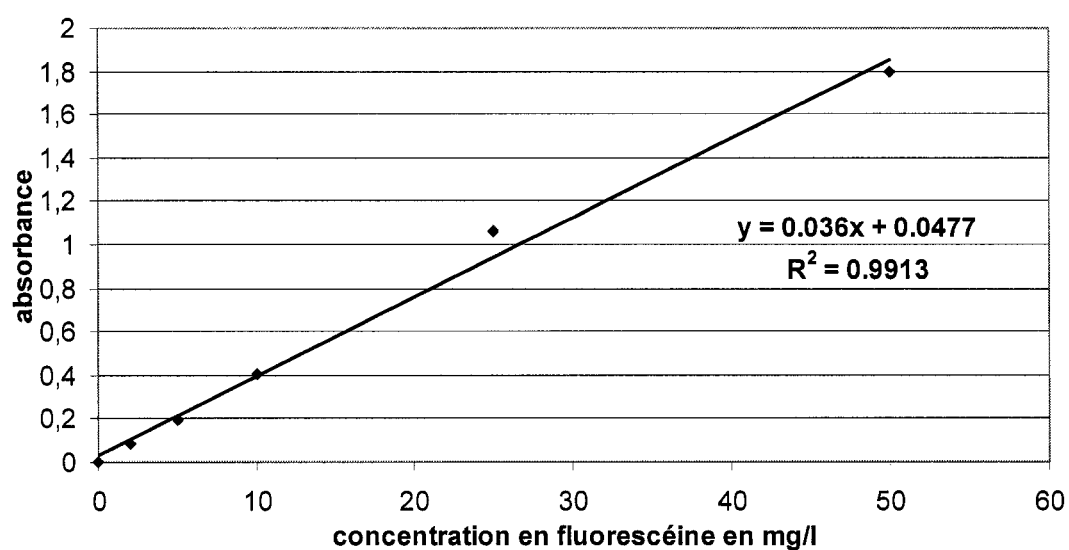


Figure A1-2. Droite d'étalonnage du spectrophotomètre à $\lambda=490$ nm (solutions étalons préparées dans l'eau de mer)

ANNEXE A : PROTOCOLES EXPERIMENTAUX (SUITE)

SECTION 2 : PROTOCOLE MD SCA 02. ESTIMATION DE LA QUANTITE DE MATIERES EN SUSPENSION ET DE MATIERES VOLATILES SUR DES SUPPORTS PLASTIQUES COLONISES

PROTOCOLE EXPERIMENTAL	
PE N° : MD ScA 02	Date de réalisation : 20-10-03
Auteur : Marianne Dupla	Révisé par : Mario Jolicoeur et Serge Parent
Titre : Estimation de la quantité de matières en suspension et de matières volatiles sur des supports plastiques colonisés	

TABLE DES MATIERES

1. OBJECTIFS.....	130
2. DEFINITIONS	130
3. PRINCIPE	130
4. MATERIEL, REACTIFS ET INSTRUMENTS	131
5. MODE OPERATOIRE	132
5.1 Préparation	132
5.2 Elimination des sels extérieurs.....	132
5.3 Récupération de la biomasse détachée dans l'eau de lavage	133
5.4 Préparation et pesée des filtres et des supports	133
5.5 Détermination des MVES	133
6. CALCULS.....	134
7. CONSIGNES EN CAS DE PROBLEME	134
8. EXEMPLE DE CALCULS.....	134

1. OBJECTIFS

Ce protocole expérimental a pour objectif de définir la démarche à suivre afin de mesurer les matières en suspension (MES) et les matières volatiles en suspension (MVES) présentes sur les supports bactériens.

La connaissance de la quantité de MES permet de connaître l'état de colonisation des supports bactériens étudiés par les bactéries présentes, et ainsi évaluer le type de supports le plus adapté et son état de colmatage. L'estimation des MVES nous donne la quantité de biomasse présente sur les supports (ce qui pourra permettre par la suite un estimé de la performance réelle du réacteur en terme de rendement de dénitrification par gramme de biomasse présente).

2. DEFINITIONS

Les matières en suspension sont composées de matières organiques non dissoutes (biomasse) et de matières inertes (sels intracellulaires et intercellulaires et précipités absorbés sur la biomasse).

Les MES sont les matières recueillies sur un filtre en fibre de verre ayant une porosité d'environ 1,2 μm (entre 1 et 1.5 μm) puis séchées 24 h à 105°C.

Les MVES sont par définition les matières organiques qui se sont volatilisées lors du passage à 550°C (lipides, acides aminés...), les matières inertes restant sur le filtre.

3. PRINCIPE

Des supports sont prélevés du réacteur, puis placés dans un bécher d'eau déionisée agitée afin d'enlever la portion de sels restant en surface du biofilm et du supports. Les supports sont ensuite pesés pour obtenir la masse humide, passés à 105°C puis repesés (masse sèche), nettoyés et pesés à nouveau. L'eau contenant les sels dissous et une partie de biomasse détachée lors de l'agitation est filtrée afin de récupérer cette dernière. Le filtre est séché 24h à 105°C, puis pesé. Le total des MES sur les supports et sur le filtre donne les MES totales présentes initialement sur les supports échantillonnés.

Le filtre est ensuite passé à 550°C afin de déterminer le rapport MVES/MES du biofilm dénitrifiant.

4. MATERIEL, REACTIFS ET INSTRUMENTS

Supports plastiques colonisés

Filtres en fibre de verre de 1,2 μm porosité environ et de 47 mm de diamètre (WHATMAN)

Matériel de filtration (pompe à vide, filtre Büchner)

Balance de précision 0,0001 g

Agitateur magnétique et barreau aimanté

Sonde à conductivité

Bécher de 150 ml

Bécher de 1 L

Eau déionisée

Papier d'aluminium

Nacelles en aluminium

Four à 105°C

Four à 550°C

5. MODE OPERATOIRE

Les pesées à effectuer sont nombreuses, afin de clarifier les calculs, chaque pesée est identifiée :

m_1 : masse du filtre en fibre de verre propre et sec

m_{gn} : masse de la grande nacelle destinée à contenir les supports lors du passage de ceux-ci à 105°C

m_{pn} : masse de la petite nacelle destinée à recueillir les matières détachées mécaniquement (des supports séchés à 105°C) celles-ci étant passées à 550°C.

m_2 : masse totale après passage à 105°C du filtre et de la matière recueillie par filtration

m_3 : masse des 5 supports colonisés après passage à 105°C.

m_4 : masse des 5 supports nettoyés mécaniquement (propres et secs)

m_5 : masse de la matière détachée mécaniquement des supports

m_6 : masse des matières volatiles déduite par calcul ($m_5 - m_{inertes}$)

$m_{inertes}$: masse des matières résiduelles après le passage à 550°C (matières minérales)

5.1 Préparation

Prélèvement et égouttage dans une passoire de cinq (5) supports plastiques.

Passage des filtres en fibre de verre et d'une nacelle en aluminium à 550 °C et mise en place dans le dessiccateur avant utilisation.

Pesée des filtres de 1.2 μm : (m_1).

5.2 Elimination des sels extérieurs

Verser 100 ml d'eau déionisée dans un bécher, puis agiter

Etalonner la sonde conductimétrique avec la solution étalon de conductivité 995 μS .

Mesure de la conductivité de l'eau

Mise en place d'un support dans l'eau

Brassage par agitation à l'aide d'un barreau aimanté pendant environ 1 min

Le suivi est réalisé par sonde conductimétrique, le brassage est terminé lorsque la conductivité de la solution est stabilisée

L'eau de trempage est versée dans un bécher de 1L.

Les opérations 1 à 7 (excepté l'étalonnage de la sonde) sont répétées pour les 5 media plastiques.

5.3 Récupération de la biomasse détachée dans l'eau de lavage

Préparer le matériel de filtration, placer le filtre et faire le vide.

Rincer le filtre à l'eau distillée pour qu'il adhère au support.

Filtrer l'eau de lavage contenue dans le bécher de 1 L sur le filtre de porosité 1,2 μm pour récupérer les matières en suspension. Si le colmatage du filtre est réalisé avant la filtration du volume total, il est conseillé d'utiliser un second filtre en ayant soin de l'identifier et de le peser.

5.4 Préparation et pesée des filtres et des supports

Mettre les 5 supports dans une grande nacelle d'aluminium préalablement pesée.

Placer le filtre et les supports dans une étuve à 105°C pendant 24 heures.

Refroidir au dessiccateur et peser le filtre et les supports (m_2 et m_3).

Nettoyer les supports manuellement avec une fine spatule afin d'obtenir la masse de supports propres et secs (m_4), et récupérer les matières détachées (voir 5.5).

5.5 Détermination des MVES

La matière détachée des supports est placée dans une nacelle d'aluminium préalablement passée à 550°C et pesée (m_{pn}), puis l'ensemble est pesé ($m_{pn}+m_5$) avant de passer pendant une heure à 550°C. La capsule est refroidie au dessiccateur puis pesée ($m_{pn}+m_{inertes}$)

6. CALCULS

Masse des MES recueillie sur le filtre : $m_2 - m_1$ (g)

Masse des MES sur les supports : $m_3 - m_4$ (g)

Les MES totales contenues initialement sur les supports échantillonnés sont donc la somme des masses obtenues ci-dessus. On divise ce résultat par le nombre de billes échantillonnées pour obtenir la quantité de MES par support bactérien. Ce résultat peut être multiplié par le nombre de billes totales dans le réacteur afin d'avoir une estimation de la quantité de MES à la surface des supports bactériens.

Les MVES (m_6) sont obtenues par $m_5 - m_{\text{inertes}}$ (g)

Le rapport MVES/MES est donc obtenu par en divisant la valeur obtenue m_6 par la masse de biomasse détachée des supports soit $MVES/MES = m_6/m_5$

7. CONSIGNES EN CAS DE PROBLEME

Ce protocole est susceptible de générer des résultats de poids humide et sec très différents lorsqu'il est effectué par différents opérateurs, à cause de l'enlèvement manuel de la biomasse et de la récupération dans une nacelle d'aluminium. Si possible, traiter tous les échantillons de la même façon et toujours par la même personne.

8. EXEMPLE DE CALCULS

5 supports de type Koch Glitsch Cascade 1A sont prélevés du réacteur.

Après passage de chacune dans le bain d'eau déionisée (100ml) afin de dissoudre les sels extérieurs, elles sont placées dans une grande nacelle d'aluminium préalablement pesée ($m_{gn} = 3.435$ g).

La masse de la nacelle et des supports humides est de 28,955 g.

La masse du filtre de 1,2 μm propre et sec est de $m_1 = 0.1132$ g.

L'eau de trempage est filtrée, et le filtre, ainsi que les 5 media humides dans la nacelle sont placées au four à 105°C pendant 24 h.

La masse du filtre après séchage est de $m_2 = 0.1162\text{g}$

La masse des 5 media et de la nacelle après séchage est de $m_{gn} + m_3 = 17.1374\text{g}$

La masse des 5 media après séchage est donc de $m_3 = 13.7018\text{g}$

La masse des 5 media après nettoyage manuel est $m_4 = 13.083\text{g}$.

Les MES totaux présents par support Cascade lors de l'échantillonnage sont :

$$\{(m_2 - m_1) + (m_3 - m_4)\} / 5 = \mathbf{0.124 \text{ g MES/support}}$$

Pour le calcul des MVES :

Masse de la petite nacelle en aluminium passée à 550°C $m_{pn} : 1.0179\text{g}$

Masse de la nacelle + matière détachée ($m_{pn} + m_5$) = 1.5795 g soit $m_5 = 0.5616\text{ g}$.

Masse de l'ensemble après passage à 550°C $m_{pn} + m_{inertes} = 1.0883\text{ g}$ soit $m_{inertes} = 0.0704\text{ g}$.

La masse de MVES est déduite $m_6 = m_5 - m_{inertes} = 0.4912\text{g}$.

On obtient donc un rapport $MVES/MES = m_6/m_5 = 0.875$.

Il y a donc $0.875 * 0.124 = \mathbf{0.109 \text{ g MVES/support}}$ dans le réacteur

ANNEXE A : PROTOCOLES EXPERIMENTAUX (SUITE)**SECTION 3 : PROTOCOLE MD SCA 03. MESURE DU TRANSFERT D'OXYGENE DANS LES
PILOTES DE DENITRIFICATION**

PROTOCOLE EXPERIMENTAL	
PE N° : MD ScA 03	Date de réalisation : 21-01-04
Auteur : Marianne Dupla	Révisé par : Serge Parent
Titre : Mesure du transfert d'oxygène dans les pilotes de dénitrification	

TABLE DES MATIERES

1. OBJECTIFS	138
2. PRINCIPE.....	138
3. CHOIX PRÉLIMINAIRES	139
3.1 Choix des débits	139
3.2 Choix du type d'essai	139
3.3 Choix des réactifs.....	140
4. MATÉRIEL, RÉACTIFS ET INSTRUMENTS.....	140
5. MODE D'OPÉRATION	140
5.1 Calibration de la sonde à oxygène	140
5.2 Méthode	141

1. OBJECTIFS

Ce protocole expérimental a pour objectif de déterminer le transfert d'oxygène au liquide dans les réacteurs à lit mobile suivant plusieurs configurations. La mesure du K_La permettra de déterminer si la condition d'anoxie de la dénitrification est respectée dans le pilote.

2. PRINCIPE

La dénitrification est réalisée en anoxie, c'est à dire dans un milieu exempt d'oxygène dissous. La connaissance du transfert d'oxygène par la surface du liquide, en raison du débit de recirculation important, donne une indication de la composition du biofilm qui se forme sur les supports bactériens. En effet, un transfert d'oxygène trop important va accroître une population désoxygénante au détriment d'une biomasse dénitrifiante.

La détermination du transfert de l'oxygène dans l'eau en absence de biomasse est caractérisée par la relation :

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

avec C = concentration en oxygène au temps t (mgO_2/l)

t = temps en min

K_La = coefficient global de transfert d'oxygène (min^{-1})

C_s = concentration de saturation en oxygène (mgO_2/l)

Les conditions hydrodynamiques du réacteur sont fixées (débit de recirculation maximum et une vitesse tangentielle près de la surface du réacteur).

3. CHOIX PRELIMINAIRES

3.1 Choix des débits

Le comportement hydraulique d'un réacteur fluctue en fonction des débits appliqués. C'est pourquoi il est souhaitable d'effectuer des essais dans les conditions de recirculation suffisants pour assurer une fluidisation des supports bactériens.

Le débit de recirculation est donc de 20 l/min pour un injecteur de 4.8 mm et de 32 l/min pour un injecteur de 8 mm.

3.2 Choix du type d'essai

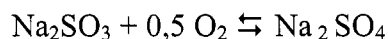
Les essais sont réalisés par désoxygénation de l'eau de mer puis par suivi de l'oxygène dissous en fonction du temps (réoxygénation).

Les essais sont effectués pour différents aménagements du réacteur :

- Un premier essai sans couvercle mais avec chicanes permettra de déterminer la valeur du Kla en min^{-1} .
- Un autre essai avec couvercle donnera une idée de l'importance des fuites d'air dans le système.
- Un test avec un couvercle dont les ouvertures ont été colmatées et les jointures étanchéisées avec du silicone montrera l'importance relative de l'étanchéisation du réacteur pour un moindre transfert d'oxygène.
- Un dernier test sera effectué dans les conditions d'étanchéité, avec un injecteur plus grand, pour déterminer si la vitesse du jet influe sur le transfert d'oxygène dans le liquide.

3.3 Choix des réactifs

La phase de désoxygénation est réalisée par ajout de sulfite de sodium suivant la réaction :



Le chlorure de cobalt est utilisé pour catalyser la réaction.

4. MATERIEL, REACTIFS ET INSTRUMENTS

Pilotes de dénitrification

Eau de mer filtrée

Sulfite de sodium

Chlorure de cobalt (catalyseur)

Balance de pesée précise à 0,001 mg

Sonde à oxygène

Thermomètre

5. MODE D'OPERATION

5.1 Calibration de la sonde à oxygène

Les mesures d'oxygène se font par électrode à membrane (Hach Instruments). Pour le point de calibration de 0% d'oxygène dissous, placer l'électrode dans une solution d'eau du robinet saturée en sulfite de sodium.

Pour le point de 100%, placer l'électrode à l'air dans une bouteille contenant un coton imbibé d'eau et attendre l'équilibre. Une grille de concentration en fonction de la température en eau douce (fournie) permet d'ajuster la calibration de la sonde.

Lors des mesures, il faut que l'électrode soit toujours agitée, afin d'éviter une consommation d'oxygène par la sonde trop importante et un biais de la calibration.

5.2 Méthode

Le réacteur de dénitrification est rempli avec de l'eau de mer filtrée par les filtres à sable.

5.2.1 Désoxygénation

Mettre en place la sonde à oxygène et le thermomètre dans le liquide du réacteur.

Mesurer la température et l'oxygène dissous (O.D.) de l'eau du réacteur.

Mettre la pompe de recirculation en marche.

Ajouter 120% de la quantité théorique de sulfite de sodium nécessaire pour désoxygéner complètement l'eau.

Ajouter 1 mg/l de chlorure de cobalt.

S'assurer que la concentration en oxygène dissous est inférieure à 0,1 mg/l avant de déclencher le chronomètre.

5.2.2 Oxygénation

Quand la valeur de l'O.D. est suffisamment basse ($<0,1$ mg/l), noter la température, déclencher le chronomètre ($t=0$), et noter l'O.D.

Dès que l'O.D. commence à remonter, mesurer la température et l'O.D. toutes les 5 minutes pendant une heure puis tous les 15 ou 30 minutes ensuite jusqu'à stabilisation de la valeur de l'O.D.

ANNEXE A : PROTOCOLES EXPERIMENTAUX (SUITE)

SECTION 4 : PROTOCOLE MD SCA 04. MESURE DES NITRATES DANS L'EAU DE MER FILTREE A L'AFFLUENT ET L'EFFLUENT DES DENITRIFICATEURS PAR LA METHODE HACH

PROTOCOLE EXPERIMENTAL	
PE N° : MD ScA 04	Date de réalisation : 08-07-03
Auteur : Marianne Dupla et Damien Sanchez	Révisé par : Léandre Côté
Titre : Mesure des nitrates dans l'eau de mer filtrée à l'affluent et l'effluent des dénitrificateurs par la méthode Hach	

TABLE DES MATIERES

1. OBJECTIFS.....	144
2. PRINCIPE DE LA MÉTHODE	144
3. MATÉRIEL, RÉACTIFS ET INSTRUMENTS	144
4 MODE OPÉRATOIRE	145
4.1 Préparation des dilutions	145
4.2 Préparation des échantillons.....	145
4.3 Utilisation du spectrophotomètre	145
5. CONSIGNE EN CAS DE PROBLÈME ET SÉCURITÉ	146
6 EXEMPLE DE CALCULS.....	146
7. VALIDATION DES RÉSULTATS OBTENUS PAR LA MÉTHODE HACH	146

1. OBJECTIFS

Ce protocole expérimental a pour objectif d'établir la marche à suivre afin de mesurer la concentration en nitrates dans l'eau de mer filtrée à l'affluent et l'effluent des dénitrificateurs par la méthode Hach.

Ces résultats sont indispensables au suivi des réacteurs étudiés et permettent de conclure quant à leur efficacité et leurs performances.

2. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

La méthode d'analyse est une modification de la méthode standardisée 4500-NO₃⁻ de réduction du cadmium (APHA et al., 1995) et utilise de l'acide gentistique comme réactif. Le cadmium métallique réduit le nitrate présent dans l'échantillon en nitrite. Le nitrite réagit avec l'acide sulfanilique pour former un sel de diazonium. Ce sel réagit avec l'acide gentistique pour former un complexe coloré ambre.

La méthode détermine ainsi la somme des nitrates et nitrites présents dans l'échantillon. La concentration en nitrates est ainsi déterminée de manière indirecte.

3. MATÉRIEL, RÉACTIFS ET INSTRUMENTS

Erlenmeyers de 50 mL

Eau déionisée (dans une pissette et dans une bouteille équipée d'un doseur – dose de 15 mL)

Pipette graduée de 10 mL

Parafilm préalablement coupé en carré

Cuvette en quartz de 1 cm.

Chronomètres

Sachets NitraVer V (Hach)

4 MODE OPERATOIRE

Allumer le spectrophotomètre 15 minutes avant utilisation.

4.1 Préparation des dilutions

La méthode est précise jusqu'à une concentration de 25 mg $\text{NO}_3\text{-N}$ /L. Effectuer les dilutions nécessaires à la lecture de mesure (entre 0 et 25 mg $\text{NO}_3\text{-N}$ /L) si la concentration est supérieure à celle-ci.

4.2 Préparation des échantillons

Verser 25 ml d'eau déionisée dans un erlenmeyer.

Une fois les dilutions nécessaires effectuées, verser 25 mL d'échantillon dans un erlenmeyer,

Ouvrir le sachet de réactif NitraVer5,

Préparer les carrés de parafilm,

Verser le contenu du sachet dans l'échantillon dilué,

Rapidement boucher l'erlenmeyer avec le parafilm.

Pendant **1** minute, homogénéiser **énergiquement et constamment**

Laisser reposer pendant **5** minutes afin de permettre la décantation de la poudre en suspension.

On peut noter la coloration brune du mélange indiquant la présence de nitrates.

4.3 Utilisation du spectrophotomètre

Choisir la méthode de mesure pour le spectrophotomètre : la longueur d'onde doit être fixée à 500 nm.

Une courbe standard étalonnée avec l'eau de mer est déjà déterminée à l'avance.

Faire le zéro avec l'échantillon blanc.

Passer l'échantillon dans la cuve en quartz, celle ci étant préalablement bien nettoyée et placée dans le sens du rayon absorbant et lire la concentration en $\text{mgNO}_3^- \text{ N/L}$.

5. CONSIGNE EN CAS DE PROBLEME ET SECURITE

Ce protocole est susceptible de générer des résultats différents lorsqu'il est effectué par différents opérateurs, à cause de l'agitation manuelle du sachet avec l'eau à analyser et la reproductibilité des résultats. Si possible, traiter tous les échantillons de la même façon et toujours par la même personne. Le port des gants est fortement conseillé, en raison de la présence de cadmium dans la solution.

Les échantillons ne doivent pas être jetés à l'évier après la mesure, mais doivent être versés dans un baril prévu à cet effet.

6 EXEMPLE DE CALCULS

Valeur réelle = valeur relevée sur le spectrophotomètre * coefficient de dilution

Les résultats seront exprimés en mg NO₃-N/L.

7. VALIDATION DES RESULTATS OBTENUS PAR LA METHODE HACH

Quelques échantillons sont filtrés à 0,45 µm, congelés puis analysés suivant la méthode standardisée 4500-NO₃⁻. Les mêmes échantillons sont filtrés à 0,45 µm, puis analysés la journée du prélèvement par la méthode décrite dans ce protocole.

Les résultats sont visibles dans le tableau A4-1.

Tableau A4-1 : Comparaison entre 2 méthodes d'analyse des NO_x

méthode	Lachat	Hach
échantillon	NOx mgN/l	NOx mgN/l
S. RÉACT 1 03-11	36,49	38,20
S. RÉACT 1 03-12	37,27	36,00
S. RÉACT 1 03-15	36,30	37,64
S. RÉACT 1 03-18	11,30	11,00
S. RÉACT 2 03-11	46,57	44,00
S. RÉACT 2 03-12	46,26	43,40
S. RÉACT 2 03-15	42,92	44,00
S. RÉACT 2 03-18	16,70	15,75
ENTRÉE DESOX 03-11	53,77	54,20
SORTIE DESOX. 03-11	52,12	51,00
SORTIE DESOX. 03-12	49,69	52,60
SORTIE DESOX. 03-15	55,810	53,58
SORTIE DESOX. 03-18	52,220	50,50

ANNEXE A : PROTOCOLES EXPERIMENTAUX (SUITE)

SECTION 5. PROTOCOLE MD SCA 05. TEST D'ACTIVITE DE LA DENITRIFICATION DE LA BIOMASSE DU REACTEUR DE DENITRIFICATION

PROTOCOLE EXPERIMENTAL	
PE N° : MD ScA 05	Date de réalisation : 23-05-04
Auteur : Marianne Dupla	Révisé par : Ø
Titre : Test d'activité de la dénitrification de la biomasse du réacteur de dénitrification avec les supports TriPack (Jaeger, Inc)	

TABLE DES MATIÈRES

1. OBJECTIF	150
2. PRINCIPE	150
3. MATÉRIEL, RÉACTIFS ET INSTRUMENTS	150
4. MODE OPÉRATOIRE	151
4.1 Échantillonnage des supports.....	151
4.2 Préparation de l'essai	151
4.3 Échantillonnage pendant l'essai.....	152
4.4 Analyse des nitrates et nitrites.....	152
5. CALCUL DU TAUX DE DÉNITRIFICATION	152
6. CONSIGNES.....	153

1. OBJECTIF

L'objectif de ce test l'activité en laboratoire est de mesurer le taux de dénitrification ($\text{gNO}_3^- \text{ N} / \text{g MVES} / \text{h}$) atteint avec les supports TriPack1 (Jaeger) colonisés dans le réacteur R2 depuis 3 mois.

2. PRINCIPE

L'eau de mer désoxygénée est mise en présence d'un nombre précis de supports avec une source de carbone en excès afin d'éviter la limitation par le substrat. Un suivi de la consommation des nitrates et nitrites est réalisé.

3. MATERIEL, REACTIFS ET INSTRUMENTS

L'expérience étant réalisée en triplicata, le matériel nécessaire est le suivant :

Trois erlenmeyers de 1 L de type Buchner

90 supports colonisés

Solution commerciale de méthanol

Eau de mer de sortie des filtres à sable du Biodôme

Bonbonne d'azote

Pipette réglable

Nitrate de sodium

Seringue de 10 ml

Filtres à 0,45 μm

Plaque agitatrice

La figure A5-1 illustre le montage expérimental. Les erlenmeyers sont bouchés à l'aide d'un bouchon de caoutchouc. Un tube passe au travers du bouchon de manière étanche afin de prendre les échantillons.

Un col de cygne est installé afin de faciliter l'évacuation de l'azote gazeux produit et d'éviter l'introduction d'oxygène dans le milieu réactionnel.

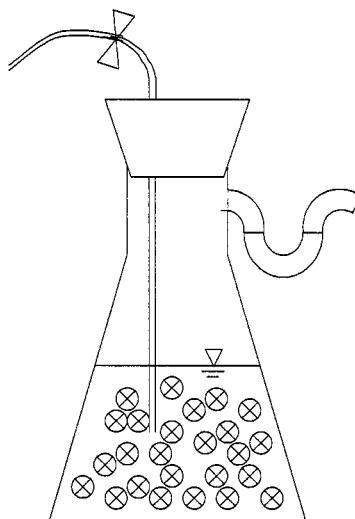


Figure A5-1. Schéma du montage expérimental

4. MODE OPERATOIRE

4.1 Échantillonnage des supports

Les supports sont échantillonnés dans le réacteur R2. La pompe de recirculation est arrêtée, et le couvercle est enlevé. Les supports sont prélevés et placés dans un seau rempli d'eau de mer désoxygénée afin de ne pas affecter la biomasse dénitrifiante. Le couvercle est remis en place et la pompe est redémarrée.

4.2 Préparation de l'essai

Prélever 3 L d'eau de mer à la sortie des filtres à sable. La concentration en nitrates et nitrites est immédiatement déterminée.

Ajuster la concentration en nitrates à 60 mg N/L avec du nitrate de sodium (NaNO_3).

Verser un volume égal d'eau de mer (800 mL) dans chaque réacteur.

Boucher les erlenmeyers avec les bouchons.

Remplir le col de cygne avec de l'eau de mer.

Faire buller de l'azote gazeux pendant 10 minutes à l'aide du tuyau d'échantillonnage.

Ouvrir le réacteur

Verser la source de carbone avec la pipette réglable.

Placer 30 supports colonisés dans chaque réacteur, fermer le réacteur et mettre la plaque agitatrice en marche.

Faire buller l'azote gazeux pendant 5 minutes.

4.3 Échantillonnage pendant l'essai

Prélever 10 ml d'eau toutes les 15 minutes pendant 3 heures en prenant soin d'éviter l'entrée d'oxygène dans le tuyau

Placer la seringue de 10 ml sur le tuyau d'échantillonnage. Enlever le serre tube et remplir la seringue afin de mettre les tuyaux à concentration. Reverser le liquide dans le d'échantillonnage. Prélever à nouveau 10 ml, remettre le serre tube et enlever la seringue. Placer le filtre de 0,45µm sur la seringue et filtrer l'échantillon dans un tube fermé. Placer le tube à 4°C.

4.4 Analyse des nitrates et nitrites

L'analyse doit être effectuée dans la journée de prélèvement.

L'analyse des nitrates et des nitrites est effectuée suivant le protocole d'analyse MD ScA 04 et de la méthode standard 4500-NO₂⁻.

5. CALCUL DU TAUX DE DENITRIFICATION

Les résultats du suivi des nitrates et nitrites sont représentés dans un graphique. Le taux de dénitrification en g NO₃-N /h correspond à la pente de la courbe.

La biomasse sur les supports est évaluée en prélevant 5 supports à la fin de l'essai et en utilisant le protocole MD ScA 02 d'évaluation de la biomasse attachée.

Cette valeur sera utilisée pour déterminer le taux de dénitrification de la biomasse en divisant le taux de dénitrification en g NO₃-N /h par la quantité de biomasse déterminée plus haut.

6. CONSIGNES

Le temps d'échantillonnage doit être noté avec soin afin d'établir une courbe précise et ainsi d'évaluer le taux de dénitrification.

L'opérateur devra s'assurer de la présence constante de l'eau dans le col de cygne.

Il est important de respecter la procédure de prélèvement des échantillons afin d'éviter l'introduction d'oxygène dans le liquide.

ANNEXE A : PROTOCOLES EXPERIMENTAUX (SUITE)

SECTION 6 : PROTOCOLE MD SCA 06. ESTIMATION DU POTENTIEL DE DENITRIFICATION AVEC DIFFERENTS SUPPORTS BACTERIENS EN REACTEUR PILOTE

PROTOCOLE EXPERIMENTAL	
PE N° : MD ScA 06	Date de réalisation : 05-11-03
Auteur : Marianne Dupla	Révisé par : Ø
Titre : Estimation du potentiel de dénitrification avec différents supports bactériens en réacteur pilote	

TABLE DES MATIERES

1. OBJECTIFS.....	156
2. PRINCIPE	156
3. MATERIEL, REACTIFS ET INSTRUMENTS	156
5. MODE OPERATOIRE	157
5.1 Démarrage de la période d’essai	157
5.2 Prélèvement des échantillons	158
5.3 Entretien des réacteurs	158
6. ANALYSES DE LABORATOIRE.....	159
6.2 Analyse des échantillons d’eau de mer en sortie du désoxygénateur et des dénitrificateurs.....	159
6.3 Suivi de la biomasse attachée aux supports bactériens	160
6.4 Fréquence d’échantillonnage	160
7. ÉCHEANCIER.....	160
8. CONSIGNES EN CAS DE PROBLEME	161

1. OBJECTIFS

Ce protocole expérimental a pour objectif de définir la démarche à suivre afin de comparer différents supports bactériens en terme de contrôle de la biomasse attachée et de potentiel de dénitrification pour différentes vitesses hydrauliques.

Cette comparaison donnera une orientation quant au choix du support le plus adapté à la filière de dénitrification du Biodôme de Montréal.

2. PRINCIPE

Deux réacteurs de 33 L sont opérés avec un remplissage de 30% v/v de supports en polypropylène.

L'alimentation est l'eau du Saint Laurent marin à la sortie des filtres à sable et préalablement désoxygénée par un réacteur de désoxygénation de 100 L.

Le méthanol est utilisé comme source de carbone.

Des mesures de biomasse à l'effluent et sur les supports permettent d'estimer la quantité de biomasse présente dans le réacteur afin de vérifier le contrôle de la croissance du biofilm à la surface des supports.

Un suivi des nitrates et nitrites en amont et en aval du réacteur donne une estimation du rendement de dénitrification par la biomasse présente, en fonction des différents supports testés.

3. MATERIEL, REACTIFS ET INSTRUMENTS

2 réacteurs pilotes de 33 L

1 réacteur de désoxygénation de 100 L

Supports plastiques colonisés

Pompe péristaltique à 2 têtes à vitesse variable (alimentation en eau désoxygénée des réacteurs pilotes)

Pompe péristaltique à 2 têtes à vitesse variable (alimentation en source de carbone des réacteurs pilotes)

Pompe péristaltique à tête variable (alimentation en source de carbone du désoxygénéateur)

Solution commerciale de méthanol à 50%

5. MODE OPERATOIRE

Le débit d'alimentation en eau de mer désoxygénée est déterminé en fonction des essais.

Le taux de remplissage est fixe et de 30% du volume total.

Le débit de recirculation est fixé à 20 L/min. Deux embouts peuvent être utilisés (diamètre de sortie de 4.8mm ou 8 mm).

Les supports testés sont Bioflow9 (Rauschert), Cascade n° 1A (Koch Glitsch) et TriPack 1 (Jaeger inc.).

5.1 Démarrage de la période d'essai

Mettre en marche la pompe d'alimentation en eau de mer, et remplir le réacteur de désoxygénation.

Mettre en route la pompe d'alimentation en méthanol, et placer ce tuyau d'alimentation dans la conduite de recirculation de l'eau du réacteur, afin d'obtenir une homogénéisation du méthanol dans l'eau de mer.

Attendre le temps nécessaire pour que la teneur en oxygène dissous soit inférieur à 1 mgO₂/L dans le désoxygénéateur (cette étape dure généralement 1 à 2 jours).

Placer les supports comptés dans le réacteur et mettre en place le cône de rétention,

Fixer le débit de la pompe d'alimentation en eau désoxygénée des réacteurs de dénitrification.

Remplir les réacteurs de dénitrification avec l'eau désoxygénée.

Mettre en marche la pompe de recirculation et régler le débit de recirculation avec la vanne située en aval de la pompe centrifuge.

Démarrer l'alimentation en méthanol et régler le débit afin d'obtenir un ratio C/N=4.3.

Effectuer les échantillonnages suivant le tableau A6-1

5.2 Prélèvement des échantillons

5.2.1 Échantillons d'eau

Les échantillons d'eau de l'affluent sont prélevés dans la conduite d'alimentation en eau de mer désoxygénée. L'effluent est échantillonné à la sortie de la conduite de trop plein du réacteur de dénitrification.

Les échantillons sont prélevés dans une bouteille ambrée de 1L.

5.2.2 Prélèvement des supports

Prélever 5 supports colonisés dans les réacteurs de 110 et marquer chaque support d'une encoche.

Arrêter la pompe de recirculation

Ouvrir le couvercle des réacteurs de dénitrification.

Prélever 5 supports et les remplacer par les supports marqués prélevés dans le réacteur de 110L.

Cette manœuvre est effectuée afin de conserver un nombre de supports colonisés constant dans le réacteur de dénitrification. La marque permet d'identifier les supports provenant d'un autre réacteur. Ces supports ne doivent plus être échantillonnés par la suite, afin de ne pas introduire d'erreur dans la mesure des matières attachées.

Fermer le couvercle

Remettre en place la pompe de recirculation.

5.3 Entretien des réacteurs

L'excès de mousse produite par les microorganismes doit être quotidiennement enlevée pour ne pas risquer de colmater le tuyau de sortie du réacteur de dénitrification.

Pour cela :

Arrêter la pompe de recirculation

Enlever le couvercle des réacteurs

Enlever la mousse à l'aide d'une épuisette

Remettre en place le couvercle

Mettre en route la pompe de recirculation.

Les tuyaux d'alimentation et de sortie de l'eau de mer doivent être régulièrement nettoyés au jet haute pression (2 fois/mois) afin de prévenir une croissance excessive du biofilm.

6. ANALYSES DE LABORATOIRE

6.1 Analyse *in situ*

Les mesures d'oxygène dissous sont réalisées grâce à un oxymètre YSI modèle 57 (Hach Instruments) calibrée avant chaque mesure. La salinité doit être réglée sur 28-30 g/L.

Des mesures de température et de pH (AR50 dual Channel pH/ion/conductivity meter, Fisher Scientific) sont également réalisées quotidiennement.

6.2 Analyse des échantillons d'eau de mer en sortie du désoxygénateur et des dénitrificateurs

6.2.1 Traitement des échantillons

Les échantillons doivent être traités immédiatement après le prélèvement.

Une partie de l'échantillon (100 ml) est filtrée à 0,45µm sur filtre Buchner. 20 ml de filtrat est conservé dans une fiole en plastique et placée au congélateur à -20°C. Le filtrat restant est conservé au réfrigérateur à 4°C pour analyse des nitrates et nitrites le jour même.

6.2.2 Suivi des nitrates et des nitrites

Les nitrates sont mesurés selon la méthode Hach présentée dans le protocole MD SCA 04. Les nitrites sont déterminés par colorimétrie à 543 nm au spectrophotomètre, méthode standardisée 4500-NO₂⁻ (APHA et al., 1995).

6.2.3 Suivi des MES et MVES dans l'eau de mer

Traiter l'échantillon prélevé chaque jour suivant la méthode standard 2540 D-E (APHA et al., 1995)

6.3 Suivi de la biomasse attachée aux supports bactériens

La quantification de la biomasse attachée est réalisée suivant le protocole MD MSA 02.

6.4 Fréquence d'échantillonnage

La fréquence d'échantillonnage est indiquée dans le tableau A6-1.

Tableau A6-1 : Analyses à effectuer et fréquence d'échantillonnage

Analyses	Lieu de prélèvement	Fréquence
MES et MVES (biofilm)	supports	1/5 jours
MES et MVES (liquide)	affluent	1/jour
	effluent	1/jour
Nitrates	affluent	1/jour
	effluent	1/jour
Nitrites	affluent	1/jour
	effluent	1/jour
Oxygène dissous	In situ	1/jour
pH	In situ	1/jour
Température	In situ	1/jour

7. ÉCHÉANCIER

La durée de chaque essai dépend de la durée d'acclimatation de la biomasse et de l'attachement et de la maintenance de celle-ci à la surface des supports.

La fin de la période d'essai est atteinte lorsque l'un des deux paramètres de suivi (taux de dénitrification et quantité de MVES sur les supports bactériens) ont atteint un plateau. Dans ce cas, une autre période d'essai avec de nouvelles conditions opératoires est mise en place (augmentation de la vitesse hydraulique au niveau du jet de recirculation ou diminution du TRH).

8. CONSIGNES EN CAS DE PROBLEME

Si les tuyaux d'alimentation ou de sortie de l'eau de mer sont recouverts par une biomasse importante (risque de colmatage et de débordement des réacteurs), les pompes d'alimentation et de recirculation doivent être stoppées et les tuyaux rapidement nettoyés à l'aide d'un jet sous pression. Ils doivent ensuite être remis en place puis le système est redémarré suivant le protocole de mise en marche (cf. 5. Mode opératoire ci-dessus).

Effectuer le prélèvement des supports toujours par le même opérateur, suivant la procédure MD MsA 02.

ANNEXE A : PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX (SUITE)

SECTION 7 : PROTOCOLE MD SCA 07. TEST D'IMPACT SUR LA BIOMASSE ATTACHÉE DES DIFFÉRENTES CONDITIONS RESULTANT D'UN PROBLÈME D'OPÉRATION.

PROTOCOLE EXPERIMENTAL	
PE N° : MD ScA 07	Date de réalisation : 05-06-04
Auteur : Marianne Dupla	Révisé par :
Titre : Test d'impact sur la biomasse attachée des différentes conditions résultant d'un problème d'opération.	

TABLE DES MATIÈRES

1. OBJECTIF	164
2. PRINCIPE	164
3. MATÉRIEL, RÉACTIFS ET INSTRUMENTS	165
4. MODE OPÉRATOIRE	167
4.1 Échantillonnage des supports.....	167
4.2 Préparation de l'essai	167
4.3 Échantillonnage pendant l'essai.....	167
4.4 Analyse du biofilm.....	168
5. CONSIGNES.....	168

1. OBJECTIF

L'objectif de ce test est de mesurer l'impact sur le biofilm et la biomasse de conditions résultant d'un problème d'opération du réacteur

2. PRINCIPE

Dans des conditions de laboratoire, l'eau de mer désoxygénée est mise en présence d'un nombre précis de supports colonisés. La source de carbone est ajoutée suivant le ratio utilisé lors des essais de dénitrification en continu. Le tableau A7-1 présente les différentes conditions opératoires simulées en fonction des problèmes pouvant intervenir lors des essais de dénitrification en continu.

Tableau A7-1. Conditions opératoires appliquées lors du test

Condition	Ajout continu d'eau désoxygénée	Ajout continu de méthanol	Problème simulé
A	Oui	Oui	Témoin
B	Oui	Non	Panne de la pompe d'alimentation ou réservoir de méthanol vide
C	Non	Oui	Panne de la pompe d'alimentation en eau ou colmatage des tuyaux d'alimentation
D	Non	Non	Panne des pompes d'alimentation en eau et en méthanol ou colmatage des tuyaux

Chaque condition est testée durant 7 jours et un suivi du biofilm et de la biomasse attachée est réalisé tous les jours.

3. MATERIEL, REACTIFS ET INSTRUMENTS

Le matériel nécessaire est le suivant :

Quatre erlenmeyers de 1 L de type Buchner

1 pompe péristaltique à 2 têtes (alimentation en méthanol)

1 pompe péristaltique à 4 têtes (alimentation et soutirage en eau)

2 tuyaux de 1.5 mm de diamètre (méthanol)

4 tuyaux de 6.35 mm de diamètre (eau)

10 tiges creuses en acier inoxydable (à installer sur le bouchon de caoutchouc)

140 supports colonisés

Solution commerciale de méthanol

Eau de mer de sortie du réacteur de désoxygénation de la filière pilote.

Bonbonne d'azote

Pipette réglable

Plaque agitatrice

La figure A7-1 illustre le montage expérimental. Les erlenmeyers sont bouchés à l'aide d'un bouchon de caoutchouc. Les tubes en acier inoxydable passent au travers du bouchon de manière étanche afin d'alimenter les réacteurs en eau et en méthanol.

Un col de cygne est installé afin de faciliter l'évacuation de l'azote gazeux produit et d'éviter l'introduction d'oxygène dans le milieu réactionnel.

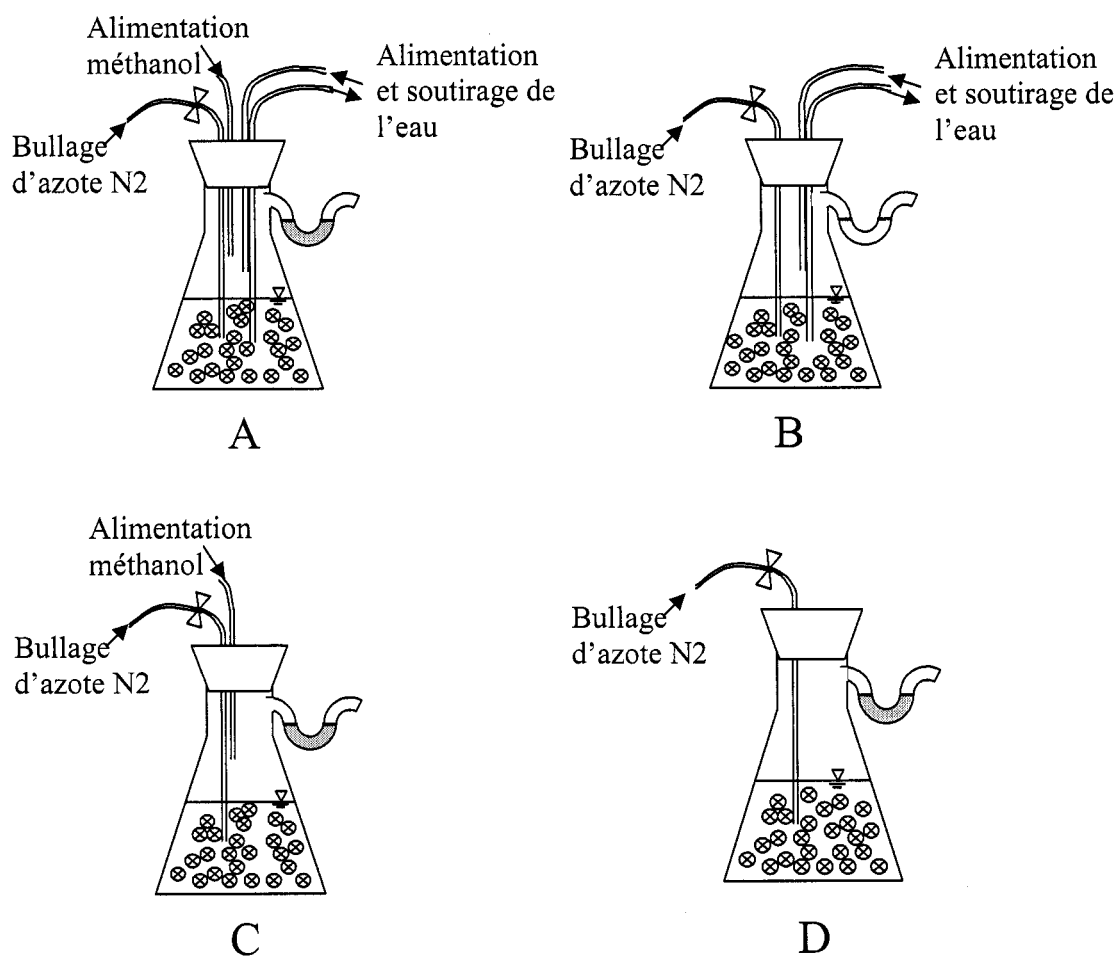


Figure A7-1. Schéma du montage expérimental

4. MODE OPERATOIRE

4.1 Échantillonnage des supports

Les supports sont échantillonnés dans le réacteur R2. La pompe de recirculation est arrêtée, et le couvercle est enlevé. Les supports sont prélevés et placés dans un seau rempli d'eau de mer désoxygénée afin de ne pas affecter la biomasse dénitrifiante.

Le couvercle est remis en place et la pompe est redémarrée.

4.2 Préparation de l'essai

Arrêter l'alimentation en eau du réacteur de désoxygénation. Prélever 25 L d'eau de mer dans le réacteur au moyen d'une vanne transversale. Remettre l'alimentation en eau.

Verser un volume égal d'eau de mer (800 mL) dans chaque réacteur.

Placer 35 supports colonisés dans chaque réacteur et verser la source de carbone avec la pipette réglable.

Boucher les erlenmeyers avec les bouchons.

Remplir le col de cygne avec de l'eau de mer puis mettre la plaque agitatrice en marche.

Faire buller de l'azote gazeux pendant 10 minutes à l'aide du tuyau prévu à cet effet.

Le débit d'eau dans les réacteurs A et B est fixé au même TRH que celui appliqué aux réacteurs de dénitrification au moment du prélèvement des supports.

Le TRH étant de $33\text{L}/0,25\text{ L min}^{-1}=132\text{ min}$, le débit à appliquer aux réacteurs remplis de 0,8L d'eau est de : $0,8/132\text{ min}=6\text{ mL/min}$ soit un volume d'eau de mer de 8,64 L à fournir chaque jour.

La solution d'eau de mer désoxygénée sera donc à renouveler tous les 3 jours.

4.3 Échantillonnage pendant l'essai

L'échantillonnage des supports doit être réalisé tous les jours. Pour cela :

Arrêter la plaque agitatrice. Enlever le bouchon du réacteur A. Prélever 5 media à l'aide d'une tige en métal. Remettre le bouchon en place, et la plaque agitatrice en route. Faire buller de l'azote pendant 10 minutes, afin d'éliminer l'oxygène introduit lors de l'échantillonnage des supports.

Répéter cette manipulation pour chaque réacteur.

4.4 Analyse du biofilm

L'analyse doit être effectuée immédiatement après le prélèvement pour ne pas laisser sécher le biofilm. La mesure du biofilm et de la biomasse attachée est effectuée suivant le protocole MD ScA 02.

5. CONSIGNES

Il est très important de s'assurer que les débits d'alimentation et de soutirage de l'eau soient les mêmes afin d'éviter une variation du volume d'eau dans les réacteurs.

L'opérateur devra s'assurer de la présence constante de l'eau dans le col de cygne.

Il est important de faire buller l'azote après chaque prélèvement afin de s'assurer que les conditions anoxiques sont vérifiées.

ANNEXE B : RESULTATS D'ESSAIS

SECTION 1 :TEST DE TRAÇAGE A LA FLUORESCEINE DU REACTEUR DE DENITRIFICATION

RESULTATS D'ESSAIS	
Auteur : Marianne Dupla	Date des essais : 15-08-03
Titre des essais: Test de traçage à la fluorescéine du réacteur de dénitrification	

Les conditions opératoires des essais 1 à 7 sont résumées dans l'article en chapitre 4.

Les essais 8 et 9 représentent les tests de traçage menés dans les réacteurs contenant les supports colonisés. Les résultats sont discutés dans le chapitre 5. Les conditions opératoires sont :

Essai 8 : Supports Cascade1A 30% remplissage, $Q=0,7$ L/min, fluidisation descendante.

Essai 9 : Supports TriPack1 30% remplissage, $Q=0,66$ L/min, fluidisation descendante.

Ech.	Temps	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	0,17	25,3	1,3	33,7	35,9	36,9	28,9	82,7	87,0	4,5
2	0,33	27,9	30,6	27,4	27,6	27,6	28,4	28,3	86,0	5,5
3	0,50	27,7	28,5	27,3	27,9	27,7	28,4	27,7		13,2
4	0,67	27,6	28,6	27,1	27,8	27,6	28,3	27,5	74,0	18,6
5	0,83	27,5	28,6	27,0	27,7	27,6	28,2	27,4	53,0	24,9
6	1	27,4	28,5	26,9	27,7	27,5	28,1	27,3	47,0	30,5
7	1,17	27,3	28,4	26,8	27,6	27,4	28,0	27,3	42,6	31,5
8	1,33	27,0	28,2	26,7	27,2	27,3	27,9	27,1		31,8
9	1,50	26,7	28,2	26,6	27,2	27,2	27,9	27,1	36,3	32,9
10	1,67	27,0	28,0	26,5	27,2	27,2	27,7	27,1	31,5	32,9
11	1,83		27,9	26,4	27,0	27,1	27,6	26,8	30,5	34,0
12	2	26,6	27,8	26,3	27,0	26,9	27,2	26,8	30,3	36,3
13	2,5			26,1	26,8	26,7	27,0		29,4	33,6
14	3	26,4	27,3	25,8	26,5	26,3	26,8	26,3	28,7	33,0
15	3,5			25,6	26,2	26,2	26,5		28,7	32,8
16	4	25,7	26,8	25,4	26,0	25,9	26,3	25,8	27,7	32,6
17	4,5			25,2	25,7	25,8	26,0		27,2	32,3
18	5	25,1	26,2	25,0	25,5	25,4	25,5	25,3	26,6	34,6
19	6			24,6	25,0	25,0	25,0	24,9	25,8	31,9
20	7	24,4	25,2	24,3	24,4	24,5	24,6	24,3	25,2	32,1
21	8	23,7	24,8	24,0	24,0	24,0	24,1	23,9	24,6	30,7

Ech.	Temps	1	2	3	4	5	6	7	8	9
22	9	23,3	24,3	23,6	23,5	23,6	23,6	23,4	24,1	31,6
23	10	22,9		23,3	23,1	23,2	23,1		23,5	29,1
24	11	22,8	23,3	22,9	22,6	22,7	22,7	22,6	23,0	28,8
25	12		22,9	22,6	22,1	22,3	22,2		22,3	27,8
26	13	21,6	22,5	22,3	21,8	21,9	21,8	21,7	21,9	27,2
27	14			21,7	21,3	21,5	21,4		21,4	26,3
28	15	21,5	21,6	21,3	20,9	21,0	20,7	20,9	20,2	26,5
29	18	20,4	20,2	20,1	19,7	19,8	19,9	19,9	19,0	24,0
30	21	19,0	18,9	19,0	18,4	18,8	19,0	18,6	17,8	22,3
31	24	17,7	17,8	18,0	17,5	17,8	18,0	17,6	16,7	22,1
32	27	17,2	16,9	17,0	16,6	16,8	16,9	16,6	15,7	20,4
33	30	16,3	15,9	16,0	15,7	15,9	16,0	15,7	14,8	19,0
34	33	15,2	15,0	15,2	14,7	15,0	15,1	14,8	13,9	17,8
35	36	14,3	14,1	14,3	14,0	14,2	14,2	14,0	12,9	16,8
36	39	13,8	13,4	13,6	13,2	13,5	13,5	13,3	12,0	15,7
37	42		12,6	12,8	12,4	12,7	12,7	12,6	11,6	14,7
38	45	12,2	11,9	12,1	11,7	12,0	12,0	11,9	10,8	13,9
39	48		11,1	11,5	11,1	11,4	11,4	11,2	10,1	13,1
40	51	11,1	10,6	10,9	10,5	10,8	10,7	10,6	9,2	12,4
41	55	10,1	9,8	10,1	10,3	10,1	10,0	9,9	8,3	11,5
42	59	9,7	9,2	9,6	9,2	9,5	9,5	9,4	7,7	10,7
43	63		8,6	8,8	8,5	8,8	8,7	8,4	6,9	10,1
44	67	8,3	7,9	8,1	7,7	8,1	8,0	7,8	6,3	9,1
45	71		7,2	7,5	7,2	7,5	7,4	7,4	5,7	8,4
46	75,2	7,0	6,4	6,9	6,6	7,0	6,8	6,8	5,3	7,4
47	79		5,8	6,3	6,1	6,4	6,4	6,2	4,8	6,9
48	83	5,4	5,3	5,8	5,5	5,9	5,9	5,7	4,4	6,2
49	87		4,8	5,4	5,1	5,4	5,4	5,2	4,0	5,7
50	91	4,9	4,3	4,9	4,5	5,0	5,0	4,9	3,7	5,2
51	95		3,9	4,5	4,1	4,6	4,6	4,5	3,3	4,9
52	100	4,0	3,5	4,1	3,8	4,2	4,0		2,9	4,2
53	105	3,5	3,1	3,6	3,4	3,8	3,6	3,5	2,7	3,8
54	110	3,2	2,8	3,3	3,0	3,3	3,2	3,3	2,4	3,4
55	115		2,5	2,9	2,7	3,0	2,9	3,0	2,2	3,1
56	120	2,6	2,3	2,7	2,2	2,8	2,6	2,6	1,9	2,8
57	125		2,0	2,4	1,9	2,5	2,3	2,4	1,7	2,5
58	130	2,0	1,8	2,1	1,7	2,3	2,1	2,2	1,4	2,2
59	135		1,6	1,9	1,5	2,3	1,8	1,9	1,4	2,9
60	140	1,6	1,5	1,7	1,3	2,2	1,7	1,7	1,3	3,3
61	145	1,4	1,3	1,5	1,3	1,9	1,5		1,2	3,1
62	150	1,2	1,2	1,4	1,0	1,7	1,3	1,4	1,2	2,8
63	160		0,9	1,1	0,7	1,2	1,1	1,1	1,1	2,4

Ech.	Temps	1	2	3	4	5	6	7	8	9
64	170	0,7	0,7	1,0	0,5	1,0	0,8	0,9	1,0	1,7
65	180		0,6	0,9	0,4	0,8	0,7	0,8	1,0	1,5
66	190	0,4	0,4	0,6	0,2	0,7	0,5	0,6	0,8	1,1
67	200	0,2	0,4	0,4	0,1	0,5	0,4	0,5	0,9	0,8
68	230	0,1	0,2	0,1	0,0	0,3	0,2	0,2	0,8	0,2

ANNEXE B : RESULTATS D'ESSAIS (SUITE)

SECTION 2 : VALIDATION DU PROTOCOLE MD SCA 02 -MESURE DES MVES DANS LE BIOFILM

RESULTATS D'ESSAIS	
Auteur : Marianne Dupla	Date des essais : 11-09-03
Titre des essais: validation du protocole MD ScA 02- mesure des MVES dans le biofilm	

Le protocole MD ScA 02 n'étant pas standardisé, une étude de la déviation standard de la mesure devait être réalisée.

Cette étude a porté sur 25 applications de ce protocole aux supports colmatés Bioflow9 utilisés dans le dénitrificateur du Biodôme.

Les supports étant complètement remplis de biomasse, l'hypothèse est que les supports contiennent la même quantité de biofilm.

Les résultats des 25 essais sont présentés dans le tableau B2-1 ci-dessous.

La moyenne des MES est de 0.0748 ± 0.0035 g MES/support soit une déviation standard de 4.67%.

La moyenne des MVES est de 0.0202 ± 0.0009 g MVES/support soit une déviation standard de 4.5%.

Cette déviation standard inférieure à 5% rend le protocole valable pour les essais suivants.

Tableau B2-1. Résultats des mesures de biomasse sur les supports Bioflow9

Échantillons	10	10	10	10	10	10	10
nacelle alu (g)	0,1515	0,1893	0,2809	0,2715	0,226	0,1971	0,1862
nacelle +support (g)	5,4921	6,173	6,2932	6,1772	6,0315	5,8802	6,2871
n+ support 105°C (g)	2,9756	3,1004	3,1015	3,2169	3,2073	3,1238	3,1567
supports vides (g)	2,0862	2,1883	2,1121	2,1899	2,2121	2,1915	2,2046
filtre propre (g)	0,1134	0,1132	0,1142	0,1153	0,1139	0,1131	0,1139
filtre+ biomasse 105°C (g)	0,1134	0,1134	0,1151	0,1218	0,1142	0,1133	0,1146
biomasse totale (g)	0,7379	0,723	0,7094	0,762	0,7695	0,7354	0,7666
g MES/support	0,07379	0,0723	0,07094	0,0762	0,07695	0,07354	0,07666
nacelle alu 550°C (g)	0,1987	0,2585	0,3145	0,315	0,349	0,3914	0,3128
nacelle+ bio. détachée (g)	0,9413	1,0017	1,0348	1,0696	1,0876	1,1263	1,0763
n+ bio 550°C (g)	0,7462	0,7923	0,8334	0,8729	0,8986	0,9291	0,8689
g MVES/g MES	0,263	0,282	0,280	0,261	0,256	0,268	0,272
g MVES/support	0,019	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,021
% récupération biomasse	100,6	102,8	101,5	99,0	96,0	99,9	99,6

Échantillons	10	10	10	10	10	10	10
nacelle alu (g)	0,372	0,1873	0,2863	0,193	0,3207	0,2141	0,1987
nacelle +support (g)	6,119	5,9204	6,0644	5,995	6,3872	6,368	6,2392
n+ support 105°C (g)	3,2974	3,1384	3,2184	2,984	3,2524	3,1564	3,1721
supports vides (g)	2,1927	2,1925	2,2265	2,0067	2,198	2,2073	2,257
filtre propre (g)	0,112	0,1123	0,1136	0,1143	0,1136	0,1133	0,1132
filtre+ biomasse 105°C (g)	0,1145	0,1147	0,1143	0,1178	0,1136	0,1134	0,1143
biomasse totale (g)	0,7352	0,761	0,7063	0,7878	0,7337	0,7351	0,7175
g MES/support	0,07352	0,0761	0,07063	0,07878	0,07337	0,07351	0,07175
nacelle alu 550°C (g)	0,2672	0,3498	0,2	0,2066	0,2001	0,2753	0,2762
Nac.+ biom détachée (g)	0,9982	1,0973	0,8844	0,9761	0,9207	0,9936	0,9725
n+ bio 550°C (g)	0,796	0,8925	0,7026	0,7713	0,7309	0,8034	0,7773
g MVES/g MES	0,277	0,274	0,266	0,266	0,263	0,265	0,280
g MVES/support	0,020	0,021	0,019	0,021	0,019	0,019	0,020
% récupération biomasse	99,4	98,2	96,9	97,7	98,2	97,7	97,0

Échantillons	10	10	10	10	10	10	10
nacelle alu (g)	0,2153	0,2069	0,2007	0,2872	0,2094	0,2168	0,1197
nacelle +support (g)	6,2643	6,0163	5,8103	5,9486	5,5999	6,1717	6,2161
n+ support 105°C (g)	3,1657	2,9702	3,1388	3,2692	3,1495	3,1747	3,1608
supports vides (g)	2,2252	2,0634	2,1997	2,2289	2,249	2,1756	2,2397
filtre propre (g)	0,1143	0,1136	0,1125	0,1145	0,1136	0,1134	0,113
filtre+ biomasse 105°C (g)	0,1143	0,1147	0,1155	0,1145	0,1137	0,1144	0,1141
biomasse totale (g)	0,7252	0,701	0,7414	0,7531	0,6912	0,7833	0,8025
g MES/support	0,07252	0,0701	0,07414	0,07531	0,06912	0,07833	0,08025
nacelle alu 550°C (g)	0,2007	0,2677	0,2949	0,2556	0,2012	0,3188	0,3208
nacelle+ bio. détachée (g)	0,9185	0,9716	1,0296	1,009	0,9631	1,0136	1,0309
n+ bio 550°C (g)	0,7206	0,7782	0,8284	0,8038	0,7562	0,8214	0,8339
g MVES/g MES	0,276	0,275	0,274	0,272	0,272	0,277	0,277
g MVES/support	0,020	0,019	0,020	0,021	0,019	0,022	0,022
% récupération biomasse	99,0	100,4	99,1	100,0	110,2	88,7	88,5

Échantillons	10	10	10	10
nacelle alu (g)	0,2005	0,2102	0,2173	0,2887
nacelle +support (g)	5,9313	6,2805	6,1128	6,2111
n+ support 105°C (g)	3,1235	3,1848	3,1512	3,2185
supports vides (g)	2,1699	2,2488	2,1933	2,1934
filtre propre (g)	0,1124	0,1126	0,1124	0,115
filtre+ biomasse 105°C (g)	0,1126	0,113	0,1177	0,1169
biomasse totale (g)	0,7533	0,7262	0,7459	0,7383
g MES/support	0,07533	0,07262	0,07459	0,07383
nacelle alu 550°C (g)	1,0035	1,0025	1,0011	1,0027
nacelle+ bio. détachée (g)	1,7425	1,7116	1,7244	1,7226
n+ bio 550°C (g)	1,5485	1,5222	1,5318	1,5192
g MVES/g MES	0,263	0,267	0,266	0,283
g MVES/support	0,020	0,019	0,020	0,021
% récupération biomasse	98,1	97,6	97,0	97,5

ANNEXE B : RESULTATS D'ESSAIS (SUITE)**SECTION 3 : TEST DE TRANSFERT D'OXYGENE**

RESULTATS D'ESSAIS	
Auteur : Marianne Dupla	Date des essais : 20 au 26-01-04
Titre des essais: Test de Kla	

Salinité de l'eau = 28 g/L
 Mode de fluidisation descendante
 Circuit fermé

Tableau B3-1. Suivi de l'oxygène sans couvercle et avec embout de recirculation fin (Ø = 4.8 mm)

t (min)	C _L (mgO ₂ /L)	Temp. (°C)	Ln C _S	C _S (μmolO ₂ /L)	C _S (mgO ₂ /L)	C _S -C _L	Ln (C _S -C _O)/ (C _S -C _L)
0	0,25	15	5,56	260,0	8,32	8,07	0,02
5	0,55	15,3	5,55	258,5	8,27	7,72	0,06
10	0,8	15,5	5,55	257,4	8,24	7,44	0,10
15	1	15,7	5,55	256,4	8,21	7,21	0,12
20	1,2	15,9	5,54	255,4	8,17	6,97	0,15
25	1,38	16,1	5,54	254,4	8,14	6,76	0,18
30	1,55	16,3	5,54	253,4	8,11	6,56	0,21
35	1,7	16,5	5,53	252,4	8,08	6,38	0,23
40	1,87	16,6	5,53	251,9	8,06	6,19	0,26
45	2	16,7	5,53	251,5	8,05	6,05	0,28
50	2,12	16,9	5,52	250,5	8,02	5,90	0,30
55	2,25	17,1	5,52	249,5	7,98	5,73	0,32
70	2,55	17,5	5,51	247,6	7,92	5,37	0,38
85	2,97	17,9	5,50	245,7	7,86	4,89	0,47
95	3,2	18,2	5,50	244,3	7,82	4,62	0,52
105	3,4	18,5	5,49	243,0	7,77	4,37	0,57
120	3,65	18,8	5,49	241,6	7,73	4,08	0,63
140	4,05	19,3	5,48	239,4	7,66	3,61	0,75
160	4,3	19,8	5,47	237,1	7,59	3,29	0,83
180	4,53	20,3	5,46	235,0	7,52	2,99	0,92
205	4,75	20,8	5,45	232,9	7,45	2,70	1,01
220	4,88	21	5,45	232,0	7,42	2,54	1,06
240	5,05	21,4	5,44	230,3	7,37	2,32	1,15
270	5,25	21,9	5,43	228,3	7,31	2,06	1,26
300	5,33	22,5	5,42	225,9	7,23	1,90	1,33

Résultats de Kla : 0.0044 min⁻¹ soit 0.264 h⁻¹

Tableau B3-2. Suivi de l'oxygène avec couvercle non étanchéisé et embout de recirculation fin ($\varnothing = 4.8$ mm)

t (min)	C _L (mgO ₂ /L)	Temp. (°C)	Ln C _S	C _S (μmolO ₂ /L)	C _S (mgO ₂ /L)	C _S -C _L	Ln (C _S -C _O)/ (C _S -C _L)
0	0,25	14,4	5,57	263,2	8,42	8,17	0,02
5	0,4	14,6	5,57	262,1	8,39	7,99	0,04
10	0,6	14,8	5,56	261,1	8,35	7,75	0,07
15	0,73	15	5,56	260,0	8,32	7,59	0,09
20	0,92	15,2	5,56	259,0	8,29	7,37	0,11
25	1,05	15,4	5,55	258,0	8,25	7,20	0,13
30	1,2	15,6	5,55	256,9	8,22	7,02	0,15
35	1,33	15,8	5,54	255,9	8,19	6,86	0,17
40	1,45	16	5,54	254,9	8,16	6,71	0,19
50	1,7	16,3	5,54	253,4	8,11	6,41	0,23
65	2,05	16,8	5,53	251,0	8,03	5,98	0,29
80	2,4	17,3	5,52	248,6	7,95	5,55	0,35
92	2,62	17,7	5,51	246,7	7,89	5,27	0,40
110	2,9	18,2	5,50	244,3	7,82	4,92	0,46
130	3,25	18,8	5,49	241,6	7,73	4,48	0,54
160	3,7	19,6	5,47	238,0	7,62	3,92	0,66
180	3,97	20,1	5,46	235,8	7,55	3,58	0,74
216	4,36	21	5,45	232,0	7,42	3,06	0,88
225	4,41	21,1	5,44	231,6	7,41	3,00	0,90

Résultats de l'essai: $Kla=0.004 \text{ min}^{-1}$ soit 0.24 h^{-1}

Tableau B3-3. Suivi de l'oxygène avec couvercle étanchéisé et embout de recirculation fin ($\varnothing = 4.8$ mm)

t (min)	C _L (mgO ₂ /L)	Temp. (°C)	Ln C _S	C _S (μmolO ₂ /L)	C _S (mgO ₂ /L)	C _S -C _L	Ln (C _S -C _O)/ (C _S -C _L)
0	0,35	18	5,50	245,3	7,85	7,50	0,04
15	0,65	18,4	5,49	243,4	7,79	7,14	0,08
25	0,8	18,6	5,49	242,5	7,76	6,96	0,10
40	1,05	19,1	5,48	240,2	7,69	6,64	0,14
80	1,65	20	5,47	236,3	7,56	5,91	0,24
95	1,8	20,3	5,46	235,0	7,52	5,72	0,27
110	2,05	20,6	5,45	233,7	7,48	5,43	0,31
120	2,2	20,8	5,45	232,9	7,45	5,25	0,34

Résultats de l'essai: $Kla=0.0025 \text{ min}^{-1}$ soit 0.15 h^{-1}

Tableau B3-4. Suivi de l'oxygène avec embout de recirculation large (8 mm)

t (min)	C _L (mgO ₂ /L)	Temp. (°C)	Ln C _S	C _S (μmolO ₂ /L)	C _S (mgO ₂ /L)	C _S -C _L	Ln (C _S -C ₀)/ (C _S -C _L)
0	0,6	13,8	5,59	267,2	8,55	7,95	0,02
25	1	14,8	5,57	261,9	8,38	7,38	0,08
45	1,32	15,6	5,55	257,7	8,25	6,93	0,12
65	1,6	16,3	5,54	254,2	8,13	6,53	0,17
90	1,92	17,2	5,52	249,8	7,99	6,07	0,22
112	2,2	17,8	5,51	246,9	7,90	5,70	0,27
130	2,4	18,8	5,49	242,3	7,75	5,35	0,32
160	2,72	19,2	5,48	240,5	7,69	4,97	0,38
185	2,92	19,9	5,47	237,4	7,60	4,68	0,43
215	3,2	20,6	5,46	234,3	7,50	4,30	0,50
255	3,52	21,6	5,44	230,1	7,36	3,84	0,59
275	3,6	22	5,43	228,5	7,31	3,71	0,62
305	3,7	22,5	5,42	226,5	7,25	3,55	0,66

Résultats de l'essai: $K_{La}=0.0022 \text{ min}^{-1}$ soit 0.132 h^{-1}

ANNEXE B : RESULTATS D'ESSAIS (SUITE)**SECTION 4 : TEST D'ACTIVITE**

RESULTATS D'ESSAIS	
Auteur : Marianne Dupla	Date des essais : 30-05-04
Titre des essais: Test d'activité de la dénitrification avec les supports TriPack1 (Jaeger, Inc.)	

1. ESTIMATION DE LA QUANTITÉ DE BIOMASSE

Le tableau B4-1 montre les résultats de la mesure de biomasse dans les réacteurs déterminés avec le protocole MD ScA 02.

La moyenne des matières attachées est de 1517 ± 168 mg MES et la moyenne des matières volatiles (biomasse) est de 820 ± 95 mg MVES par réacteur.

Tableau B4-1. Calcul de la quantité de biomasse par support

Réacteur	A	B	C
Date et supports échantillonnés	TriPack1 30/08	TriPack1 30/08	TriPack1 30/08
nombre d'échantillons	5	5	5
nacelle alu (g)	0,578	0,4615	0,6286
nacelle +supports (g)	11,7546	11,2808	11,0875
n+ supports 105°C (g)	6,7197	6,7169	6,8325
supports vides (g)	5,92	5,9785	5,9471
filtre vide (g)	0,1099	0,1109	0,1109
filtre+ biomasse 105°C (g)	0,1106	0,1115	0,1126
biomasse totale (g)	0,2224	0,2775	0,2585
g MES/support	0,0444	0,0555	0,0517
nacelle alu 550°C (g)	1,0221	1,0156	1,0212
nacelle+ biom. détachée (g)	1,2307	1,2576	1,2681
n+ bio 550°C (g)	1,118	1,1254	1,1362
g MVES/g MES	0,540	0,546	0,534
g MVES/support	0,024	0,030	0,028
% récupération biomasse	93,8	87,2	95,5

2. TAUX DE DÉNITRIFICATION EN CUVÉE

Les tableaux B4-2 à B4-4 présentent les résultats des tests de dénitrification en cuvette. Le tableau B4-2 résume les principales caractéristiques de départ des réacteurs en mode cuvette. L'estimation de la biomasse provient du calcul de la biomasse présentée au tableau B4-1.

Le tableau B4-3 présente les résultats du suivi des nitrates et nitrites durant les test de cuvette.

Le tableau B4-4 Résume les principaux calculs et résultats en terme de taux de dénitrification par unité de biomasse. La performance moyenne des réacteurs est de $0,71 \pm 0,11$ gN /gMVES /j

Tableau B4-2. Détermination de la quantité de biomasse par réacteur

Réacteurs	A	B	C
Volume d'eau	800	800	800
Volume de méthanol 50% ajouté	1.58	1.58	1.58
Estimation de la biomasse dans les réacteurs de 1 L			
Nombre de supports	30	30	30
Biomasse/support (gMVES/support)	0,024	0,030	0,028
Biomasse présente dans les réacteurs	0.72	0.91	0.83

Tableau B4-3. Suivi des concentration en nitrates et nitrites

Échantillon	Temps (min)	Concentration (mgN/L)					
		A		B		C	
		NO _x	NO ₂	NO _x	NO ₂	NO _x	NO ₂
1	0	73,25	0,0018	73,25	0,0018	73,25	0,0018
2	15	57,5	7,47	58,75	7,14	63,25	8,085
3	30	51,85	12,985	55,6	12,19	56,2	13,925
4	45	45	17,525	45,7	16,6	46,35	20,165
5	60	40	19,785	38,4	19,59	35,9	18,705
6	75	30	18,2	31,65	19,385	26,5	18,06
7	90	23,3	12,47	22,6	9,07	18,05	8,39
8	105	17,05	6,59	16,65	5,845	8,75	4,225
9	120	11	2,535	10,35	5,3	4,85	0,915
10	135	5	0,16	4,85	2,055	4,7	0
11	150	3,9	0	3,2	0,18	3,6	0

Tableau B4-4. Calcul de la performance de dénitrification

Réacteur	A	B	C
Volume d'eau (L)	0,8	0,8	0,8
Taux de dénitrification (régression linéaire) (mgN/min)	0,3602	0,378	0,4701
Taux de dénitrification (régression linéaire) (gN/j)	0,5186	0,5443	0,6769
Quantité de biomasse (gMVES)	0,7209	0,9095	0,8285
Taux de dénitrification (gN /g MVES /j)	0,7193	0,5984	0,8169
Performance moyenne			0,7116
Ecart-type			0,1094

ANNEXE B : RESULTATS D'ESSAIS (SUITE)**SECTION 5 : RESULTATS D'ESSAIS EN CONTINU**

RESULTATS D'ESSAIS	
Auteur : Marianne Dupla	Date des essais : Du 25-01-03 au 30-08-04
Titre des essais: Résultats bruts des mesures de NOx, NO2 et biomasse lors des essais de dénitrification en continu.	

Ces essais de dénitrification en continu ont été effectués en conformité avec le protocole MD ScA 06.

Le remplissage de supports dans chaque réacteur était de 30% du volume total.

Le débit de recirculation était fixé à 20 L/min dans chaque expérience.

Les tableaux B5-2, B5-4 et B5-6 donnent les résultats des mesures de nitrates et nitrites, ainsi que les résultats de biomasse attachée aux supports. Le rendement d'élimination est calculé pour l'enlèvement des NOx.

La biomasse totale contenue sur les supports est calculée par la quantité de biomasse/support (protocole MD ScA 02) multiplié par le nombre de supports dans le réacteur.

Le tableau B5-1 résume les conditions opératoires lors de la première expérience, qui avait pour but de tester les supports provenant du réacteur de dénitrification du Biodôme dans le nouveau réacteur. Le suivi des mesures de nitrates, nitrites et de la biomasse attachée est indiqué dans le tableau B5-2.

Tableau B5-1. Conditions opératoires des essais avec les supports Bioflow9

Réacteur	Supports	Étape	Périodes (jours)	Débit L/min	TRH (h)	Éléments trace	Diamètre Injecteur
R1	Bioflow9	1	1-32	0.25	2.2	Non	4.8 mm
R2	Bioflow9	1	1-32	0.25	2.2	Non	8 mm

Tableau B5-2. Suivi des nitrates, nitrites et de biomasse attachée aux supports Bioflow9

jour	Désoxygénateur		Réacteur 1				Réacteur 2			
	NO ₂ (ppm)	NO _x (ppm)	NO ₂ (ppm)	NO _x (ppm)	Rend. global (%)	Biomasse réacteur (g MVES)	NO ₂ (ppm)	NO _x (ppm)	Rend. global (%)	Biomasse réacteur (g MVES)
0	0,28	49,4	1,8	43,6	12	174	3	45,2	9	165
3	0,28	52,6	0,22	52	1		5,12	48,5	8	
4	0,08	53,4	1,8	48,7	9	167	3,8	46,6	13	170
6	0,28	55	1,47	48,1	13		4	44,9	18	
7	0,3	54	1,73	46	15		5,1	42	22	
10	0,27	55,0	2,48	40,2	27		4,75	43,4	21	
11	0,31	55,4	2,88	43	22	164	4,11	42	24	160
12	0,25	50	3,45	42	16		4	42,1	16	
13	0,32	50,1	3,9	42,2	16		4,36	40,7	19	
17	0,4	50,7	5,3	40,8	20	165	4,68	43,2	15	163
18	0,46	54,2	5,64	38,6	29		5,5	39,2	28	
19	0,48	53,2	5,88	38,9	27		6,47	41	23	
20	0,46	56	5,8	41,4	26	162	8,2	42	25	181
21	0,42	54,1	5,92	42	22		7,5	42,4	22	
24	0,6	53,7	6,82	39,7	26		7,24	41,6	23	
25	0,58	48,2	6,2	41,2	15		4,16	44,2	8	
26	0,58	58	6,77	37,8	35		5,73	44	24	
27	0,53	51	6,83	38,2	25	161	5,05	44	14	168
28	0,49	52,6	7,1	36	32		4,9	43,4	17	
31	0,44	53,5	8,175	37,6	30		4,375	44	18	
32	0,38	52,8	5,475	40	24		4,225	44	17	

Le tableau B5-3 résume les conditions opératoires lors de la seconde expérience, dans laquelle des supports utilisés en tour de garnissage et en procédé de lit fixé sont évalués du point de vue de leur potentiel de dénitrification en procédé à lit mobile. Le suivi des mesures de nitrates, nitrites et de la biomasse attachée est indiqué dans le tableau B5-4.

Tableau B5-3. Conditions opératoires des essais avec les supports TriPack1

R1	R2	Étapes	Périodes (jours)	Débit L/min	TRH (h)	Éléments trace	Diamètre Injecteur
TriPack1	TriPack 1	1	1-6	0.15	2.75	Non	8 mm
		2	7-12	0.25	2.2	-	-
		3	12-26	0.3	2.2	Oui	-
		4	26-34	0.3	1.6	-	-
		5	35-70	0.3	1.6	-	4.8 mm

Tableau B5-4. Suivi des nitrates, nitrites et de biomasse attachée aux supports TriPack1

jour	Désoxygénateur		Réacteur 1				Réacteur 2			
	NO ₂ (ppm)	NO _x (ppm)	NO ₂ (ppm)	NO _x (ppm)	Rend. global (%)	Biomasse réacteur (g MVES)	NO ₂ (ppm)	NO _x (ppm)	Rend. global (%)	Biomasse réacteur (g MVES)
1	0,4	50,5	7,25	11	78	72	9,25	15,8	69	
5	0,38	49,5	7,25	11,5	77	60	8,5	15,8	68	72
6	0,42	51	7,25	13,8	73		9,5	17,3	66	
7	0,46	53	8,25	20,3	62		10,25	24,8	53	
8	0,4	52,8	8	18	66		9,75	23,5	56	
10	0,49	52,5	7,5	19,3	63	76	9,25	22,9	56	71
12	0,56	55,2	7,5	20,5	63		9	26,8	52	
13	0,46	54,2	9	14	74		10,5	17,5	68	
14	0,53	54,5	5,5	9,5	83	79	6,5	11,3	79	72
16	0,63	54,4	4,2	7,8	86		6,5	13,8	75	
19	0,68	53,3	3,8	5	91	92	5,25	7,8	85	81
20	0,68	42	2,9	3,8	91		3,25	5	88	
22	0,72	44,3	3,8	3,8	92		3,75	4,5	90	
23	0,7	45,3	3,5	3,8	92	82	4,325	5,8	87	70
26	0,58	55,7	16,5	26,5	52		19	26,8	52	
27	0,58	55,6	6,5	12	78		10	16,3	71	
28	0,48	55,7	4,1	7,8	86	90	6,625	13	77	71
29	0,65	50	4,7	7,5	85		7,5	12,8	75	
30	0,64	48,7	4,5	9,3	81		6,25	12,5	74	
33	0,65	52,7	5,15	10,5	80	96	6,95	14,8	72	72
34	0,58	47,5	5,1	8,3	83		6,65	11,3	76	
36	0,21	48,7	5,45	13	73	58	6,5	18	63	39
37	0,3	48,7	5,1	9,5	81		5,75	13,5	72	
40	0,036	61	8,5	20	67	55	7,875	19,5	68	63
41	0,23	55,8	7,25	18	68		6,75	15,3	73	
42	0,197	56,2	7,9	17,5	69		7	16	72	
43	0,09	58,1	7,8	17,5	70		6,5	15,4	74	
44	0,11	59,2	4,3	17,5	70	63	3,9	16,8	72	45
48	0,24	57,2	23,5	55,3	3		20,5	48,3	16	
50	0,22	57	19,3	28,8	50	36	24	36,5	36	35
51	0,12	56,1	11,5	20	64		14,5	23,3	59	

	Désoxygénéateur		Réacteur 1				Réacteur 2			
jour	NO ₂ (ppm)	NO _x (ppm)	NO ₂ (ppm)	NO _x (ppm)	Rend. global (%)	Biomasse réacteur (g MVES)	NO ₂ (ppm)	NO _x (ppm)	Rend. global (%)	Biomasse réacteur (g MVES)
55	0,43	57,7	7,6	15	74	33	9	17	71	37
56	0,1	58,7	7,3	15,8	73		9,65	20,3	66	
57	0,16	57,8	9	17,6	70		7,425	14,3	75	
58	0,13	57,7	7,3	14	76	46	9,875	19,3	67	44
61	0,063	56,5	5,6	11,3	80		7,65	17	70	
62	0,1	58	5,2	16	72	42	6,425	18,3	69	44
64	0,19	59	5,6	14,7	75		5,95	15,8	73	
65	0,32	57,7	6	15	74	45	8	17,5	70	45
68	0,18	57	6,5	15	74	42	9,5	18,8	67	38

Le tableau B5-5 résume les conditions opératoires lors de la troisième et dernière expérience, dans laquelle deux supports utilisés en tour de garnissage et en procédé de lit fixé sont comparés dans le procédé de dénitrification afin de choisir le meilleur support pour remplacer les supports présents dans le bioréacteur du Biodôme de Montréal. Le suivi des mesures de nitrates, nitrites et de la biomasse attachée est indiqué dans le tableau B5-6.

Tableau B5-5. Conditions opératoires des essais avec les supports Cascade1A et TriPack 1

R1	R2	étapes	Périodes (jours)	Débit L/min	TRH (h)	Éléments trace	Diamètre Injecteur
Cascade 1A	TriPack 1	1	1-8	0.15	3	Oui	8 mm
		2	9-27	0.25	2.6	-	-
		3	28-37	0.3	1.8	-	-
		4	38-64	0.3	1.8	-	-
		5	65-85	0.3	1.8	-	4.8 mm

Tableau B5-6. Suivi des nitrates, nitrites et de biomasse attachée aux supports TriPack1 et Cascade 1A

	Désoxygénéateur		Réacteur 1				Réacteur 2			
jour	NO ₂ (ppm)	NOx (ppm)	NO ₂ (ppm)	NOx (ppm)	Rend. global (%)	Biomasse réacteur (g MVES)	NO ₂ (ppm)	NOx (ppm)	Rend. global (%)	Biomasse réacteur (g MVES)
2	0,2	50,1	6,9	9,3	82		4,6	5,8	89	
3	0,3	51,8	5,5	7,5	86		5,3	6,7	87	
6	0,0	52,9	3,9	3,9	93	5	4,6	6	89	8.7
7	0,0	53,4	3,5	4,5	92		3,2	4,6	91	
8	0,2	51,9	7,7	16,3	69		5,8	11,3	78	
9	0,3	50,3	7,9	16,0	68	5.6	6,5	12,5	75	10.6
11	0,2	49,9	6,5	14,0	72		5,3	10	80	
13	0,2	50,1	7,1	14,5	71	8	6,6	13,3	74	11.3
14	0,2	51,1	6,9	13,2	74		7	12,4	76	
15	0,3	58,7	6,5	12,9	78		7,5	13,3	77	
16	0,3	59,7	3,0	4,9	92		6,9	10,0	83	
17	0,3	58,3	7,3	13,3	77	10.2	7,7	14,8	75	12.6
20	0,5	57,8	6,2	8,8	85		6,5	9,0	84	
22	0,7	57,8	5,2	7,3	87	11.4	6,1	9,3	84	13.2
23	0,7	58,3	6,3	10,8	82		6,3	10,8	82	
24	0,8	57,0	6,9	10,5	82		5,7	9,8	83	
27	0,9	43,0	6,8	13,3	69	11.4	8	14,8	66	14
28	0,7	50,9	7,9	19,2	62		9,2	19,1	63	
29	0,7	48,5	9,1	18,9	61		8,7	21,0	57	
31	0,7	47,8	9,3	20,7	57	15	8,3	21,1	56	17.3
34	1,4	20,2	0,0	2,1	89		2	4,4	78	
35	1,0	48,4	6,1	15,3	68	16.1	7,9	17,8	63	19.4
36	0,7	46,0	6,1	15,1	67		8,7	17,6	62	
38	1,0	64,6	10,6	23,6	64		10,9	25,4	61	
41	0,2	63,3	9,1	20,4	68		10	19,9	69	
43	1,0	59,5	14,5	30,8	48		14	34,9	41	
44	0,7	62,8	10,0	21,7	65		13,3	32,0	49	
45	0,8	62,1	10,1	22,2	64		14,5	24,8	60	
48	0,8	62,5	9,4	22,5	64	21.5	9,2	21,9	65	19.1
49	0,5	64,7	10,1	23,6	64		8,8	23,0	64	
50	0,3	65,2	6,4	25,0	62	22.7	6,6	22,2	66	23.1
51	0,6	64,3	10,5	25,0	61		12,1	21,1	67	
52	0,7	62,0	10,3	23,0	63	16.4	4	6,3	90	26.6
55	0,7	64,6	0,7	57,8	4		1,2	57,6	4	
55,5	1,2	59,9	9,5	38,0	37		8	47,0	22	
56	0,6	62,2	9,3	22,6	64	15.8	11,8	28,0	55	20.7
57	0,7	65,9	9,1	21,8	67		11,8	22,9	65	
58	0,7	64,0	9,8	25,4	60		10,7	26,0	59	
59	0,7	64,4	10,9	19,4	70	25.1	9,8	25,9	60	25.8
62	0,7	69,5	5,4	58,0	17		6,7	59,5	14	
63	0,9	66,0	4,2	56,5	14		6,5	52,3	21	
64	0,9	63,2	1,0	59,3	6	18	9,2	18,2	71	23
65	1,0	64,6	7,2	18,2	72	18.6	8,4	16,6	74	25

	Désoxygénéateur		Réacteur 1				Réacteur 2			
jour	NO ₂ (ppm)	NO _x (ppm)	NO ₂ (ppm)	NO _x (ppm)	Rend. global (%)	Biomasse réacteur (g MVES)	NO ₂ (ppm)	NO _x (ppm)	Rend. global (%)	Biomasse réacteur (g MVES)
66	1,1	65,1	5,6	15,5	76		8,5	43,0	34	
69	0,7	66,2	2,3	6,9	90		7,2	19,1	71	
70	0,1	67,0	2,4	6,2	91	16.1	8,3	19,8	70	21
71	0,7	61,7	5,4	13,4	78		7,7	18,1	71	
72	0,7	60,9	5,6	12,9	79		6,6	15,6	74	
73	0,6	66,6	1,1	17,2	74	22.8	4,8	10,2	85	26.6
76	0,7	58,9	1,6	2,6	96		5,6	12,1	80	
77	0,6	63,0	1,7	4,1	93		6,4	15,3	76	
78	0,6	63,3	1,0	50,9	20	11	3,2	53,6	15	20.5
79	0,6	62,1	4,9	44,4	28		8,3	52,8	15	
80	0,7	62,7	11,9	37,1	41		16,8	43,0	31	
83	0,7	60,7	2,8	13,8	77		2,8	13,3	78	
84	0,8	62,2	5,1	14,6	76	16.2	7,2	14,1	77	23.5
85	0,8	61,6	6,7	9,9	84		7,0	12,4	80	

ANNEXE B : RESULTATS D'ESSAIS (SUITE)**SECTION 6 : CONDITIONS EXTREMES**

RESULTATS D'ESSAIS	
Auteur : Marianne Dupla	Date des essais : 15-06-04
Titre des essais: conditions extrêmes	

1. ESTIMATION DE LA QUANTITÉ DE BIOMASSE

Tableau B6-1. Calcul de la quantité de biofilm sec sur les supports TriPack1

	Matières sèches (g MES/support)			
jours	A	B	C	D
0	0,1129	0,1129	0,1129	0,1129
1	0,1162	0,1111	0,09986	0,11394
2	0,1176	0,0991	0,11066	0,09514
3	0,1541	0,0958	0,09572	0,11204
4	0,1742	0,0958	0,08966	0,10734
5	0,1902	0,0812	0,08724	0,0956
6	0,2231	0,0719	0,08964	0,11498
7	0,2451	0,0627	0,07673	0,08776

Tableau B6-2. Calcul de la quantité de biomasse sur les supports TriPack1

	Biomasse attachée (g MVES/ support)			
jours	A	B	C	D
0	0,071	0,071	0,071	0,071
1	0,068	0,062	0,058	0,065
2	0,067	0,054	0,063	0,055
3	0,086	0,052	0,054	0,067
4	0,094	0,053	0,053	0,059
5	0,103	0,043	0,053	0,055
6	0,112	0,036	0,053	0,062
7	0,122	0,032	0,048	0,048

Tableau B6-3. Résultats bruts de biofilm et biomasse sur les supports TriPack1

Réacteur	Triplicata jour 0			A	B	C	D
Jour	0	0	0	1	1	1	1
Échantillons	5	5	5	5	5	5	5
nacelle alu (g)	0,5608	0,5119	0,4757	0,565	0,5197	0,4757	0,6149
nacelle +supports (g)	13,2079	14,049	13,633	12,9165	12,5931	12,1076	
n+ supports 105°C (g)	6,6994	6,9478	6,8223	6,7912	6,954	6,7691	7,0987
supports vides (g)	5,5834	5,8126	5,8316	5,6454	5,8789	5,7941	5,9141
biomasse totale (g)	0,5552	0,6233	0,515	0,5808	0,5554	0,4993	0,5697
g MES/support	0,1110	0,1247	0,103	0,11616	0,11108	0,09986	0,1139
nacelle alu 550°C (g)	1,0112	1,0179	1,0048	0,9941	1,0131	1,0051	1,0195
nacelle+ bio détachée (g)	1,4669	1,5116	1,4454	1,4864	1,4756	1,4026	1,4894
n+ bio 550°C (g)	1,2103	1,2308	1,1758	1,1999	1,2177	1,1716	1,2208
g MVES/g MES	0,5631	0,569	0,612	0,582	0,558	0,581	0,572
g MVES/support	0,0625	0,071	0,06302	0,068	0,062	0,058	0,065
% récupération biomasse	82	79	86	85	83,3	79,6	82,5

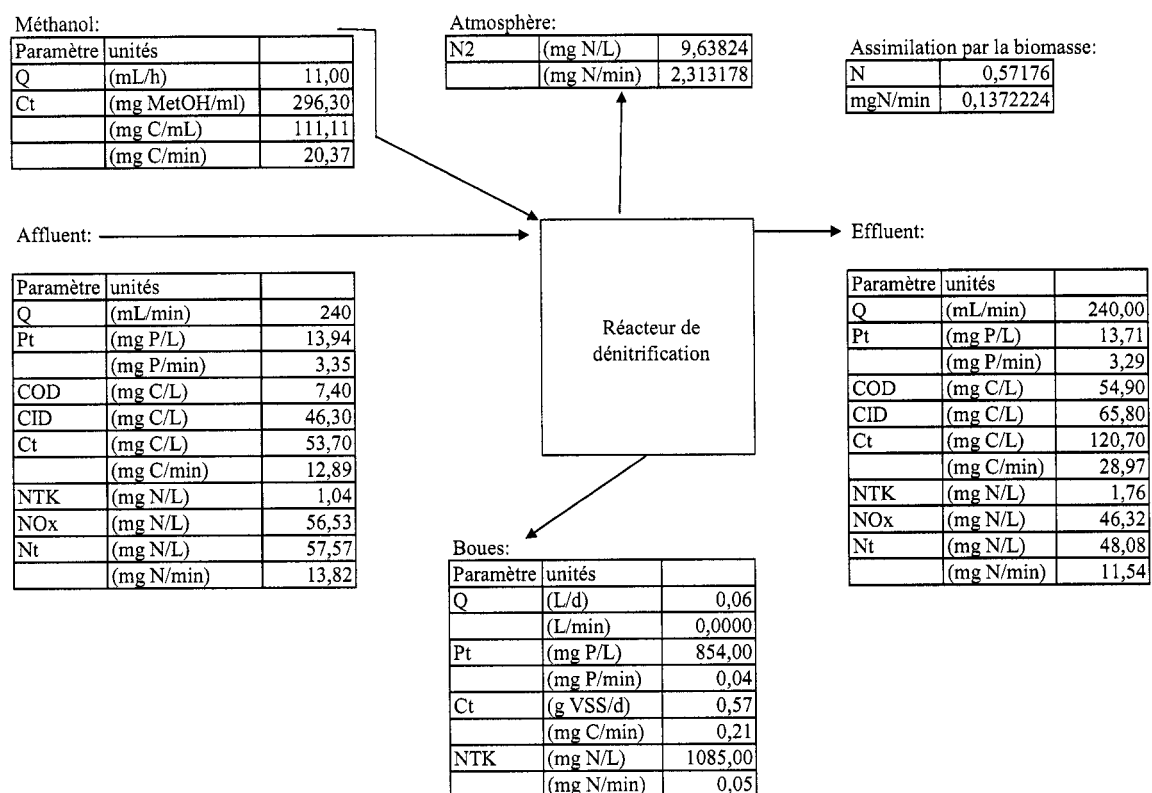
Réacteur	A	B	C	D	A	B	C	D
Jour	2	2	2	2	3	3	3	3
Échantillons	5	5	5	5	5	5	5	5
nacelle alu (g)	0,5675	0,5212	0,4778	0,6126	0,5621	0,526	0,4778	0,6155
nacelle +supports (g)	13,025	12,2509	13,0122	12,28	14,4368	11,686	12,1437	12,9376
n+supports105°C (g)	6,9129	6,7628	7,0446	6,8876	7,2235	6,6503	6,5987	6,963
supports vides (g)	5,7576	5,7459	6,0135	5,7993	5,891	5,6451	5,6423	5,7873
biomasse totale (g)	0,5878	0,4957	0,5533	0,4757	0,7704	0,4792	0,4786	0,5602
g MES/support	0,1176	0,09914	0,11066	0,09514	0,15408	0,09584	0,09572	0,11204
nacelle alu 550°C (g)	0,9948	1,0172	1,0116	1,0144	1,0144	0,9962	1,0172	1,0117
nacelle+ biomasse détachée (g)	1,4656	1,4178	1,4658	1,3646	1,6481	1,388	1,4205	1,4205
n+ bio 550°C (g)	1,1985	1,2009	1,2082	1,1628	1,2934	1,1768	1,1912	1,1777
g MVES/g MES	0,567	0,541	0,567	0,576	0,560	0,539	0,569	0,594
g MVES/support	0,067	0,054	0,063	0,055	0,086	0,052	0,054	0,067
% récupération biomasse	80,1	80,8	82,1	73,6	82,3	81,8	84,3	73,0

Réacteur	A	B	C	D	A	B	C	D
Jour	4	4	4	4	5	5	5	5
Échantillons	5	5	5	5	5	5	5	5
nacelle alu (g)	0,5627	0,5281	0,4761	0,6145	0,5631	0,5269	0,4751	0,6105
nacelle +supports (g)	15,224	11,8959	11,6838	12,3542	15,3281	11,2507	11,495	12,1174
n+supports105°C (g)	7,4563	7,0177	6,6843	6,8115	7,3162	6,7413	6,5559	6,8592
supports vides (g)	6,0226	5,9954	5,7599	5,6603	5,8021	5,8086	5,6446	5,7707
biomasse totale (g)	0,871	0,4942	0,4483	0,5367	0,951	0,4058	0,4362	0,478
g MES/support	0,1742	0,09884	0,08966	0,10734	0,1902	0,08116	0,08724	0,0956
nacelle alu 550°C (g)	1,0051	1,0181	0,9838	0,9974	1,0049	0,9985	0,9851	0,9836
nacelle+ biomasse détachée (g)	1,6963	1,4013	1,3373	1,3661	1,74	1,2903	1,2797	1,3521
n+ bio 550°C (g)	1,3233	1,1972	1,1284	1,165	1,3434	1,1357	1,0997	1,1409
g MVES/g MES	0,540	0,533	0,591	0,545	0,540	0,530	0,611	0,573
g MVES/support	0,094	0,053	0,053	0,059	0,103	0,043	0,053	0,055
% récupération biomasse	79,4	77,5	78,9	68,7	77,3	71,9	67,5	77,1

Réacteur	A	B	C	D	A	B	C	D
Jour	6	6	6	6	7	7	7	7
Échantillons	5	5	5	5	5	5	4	5
nacelle alu (g)	0,5675	0,5274	0,4773	0,6131	0,5667	0,519	0,4687	0,6101
nacelle +supports (g)	15,7984	10,9231	11,5613	12,7655	14,1935	10,1879	8,9729	11,8864
n+supports105°C (g)	7,5006	6,6891	6,5781	7,1826	7,5518	6,3753	5,2687	6,7218
supports vides (g)	5,8176	5,8021	5,6526	5,9946	5,7595	5,5426	4,4931	5,6729
biomasse totale (g)	1,1155	0,3596	0,4482	0,5749	1,2256	0,3137	0,3069	0,4388
g MES/support	0,2231	0,07192	0,08964	0,11498	0,24512	0,06274	0,07672	0,08776
nacelle alu 550°C (g)	0,9858	1,005	1,0081	1,0066	1,0059	1,0084	0,9998	0,9868
nacelle+ biomasse détachée (g)	1,9348	1,2749	1,347	1,4439	1,9907	1,2285	1,2148	1,3109
n+ bio 550°C (g)	1,4589	1,1412	1,1458	1,2097	1,5022	1,1177	1,0805	1,1353
g MVES/g MES	0,501	0,495	0,594	0,536	0,496	0,503	0,625	0,542
g MVES/support	0,112	0,036	0,053	0,062	0,122	0,032	0,048	0,048
% récupération biomasse	85,1	75,1	75,6	76,1	80,4	70,2	70,1	73,9

ANNEXE B : RESULTATS D'ESSAIS (SUITE)**SECTION 7 : BILAN DE MASSE**

Bilan de masse du réacteur R1 de dénitrification



	Bilans	Calculs
P	99.4%	$= (\text{mg Pt}_{\text{boues}}/\text{min} + \text{mg Pt}_{\text{effluent}}/\text{min}) / \text{mg Pt}_{\text{affluent}}/\text{min}$
N	101.6%	$= (\text{mg NTK}_{\text{boues}}/\text{min} + \text{mg Nt}_{\text{effluent}}/\text{min} + \text{mg N2}_{\text{atmosphère}}/\text{min} + \text{mg N}_{\text{assimilé}}) / \text{mg Nt}_{\text{affluent}}/\text{min}$
C	87.7%	$= (\text{mg Ct}_{\text{boues}}/\text{min} + \text{mg Ct}_{\text{effluent}}/\text{min}) / (\text{mg Ct}_{\text{méthanol}}/\text{min} + \text{mg Ct}_{\text{affluent}}/\text{min})$