

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

**DÉMONSTRATION DE FAISABILITÉ DE LA NITRIFICATION ET DE LA
DÉNITRIFICATION D'UN LIXIVIAT DE LIEU D'ENFOUISSEMENT
SANITAIRE AVEC DE LA TOURBE GRANULAIRE**

YANN HENRY
DÉPARTEMENT DE GÉNIE CHIMIQUE
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE CHIMIQUE)
AOÛT 1999



National Library
of Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque nationale
du Canada

Acquisitions et
services bibliographiques

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

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

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

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

0-612-48855-1

Canada

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé :

**DÉMONSTRATION DE FAISABILITÉ DE LA NITRIFICATION ET DE LA
DÉNITRIFICATION D'UN LIXIVIAT DE LIEU D'ENFOUISSEMENT
SANITAIRE AVEC DE LA TOURBE GRANULAIRE**

présenté par : **HENRY, Yann**

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

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

M. **PERRIER, Michel**, ing., Ph.D., président

M. **SAMSON, Réjean**, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. **GUIOT Serge**, Ph.D., membre externe (IRB)

À ma sœur Nathalie

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce mémoire n'aurait pu être possible sans le soutien et la générosité de plusieurs personnes. Je tiens tout d'abord à remercier très sincèrement Monsieur Réjean Samson pour la pertinence de ses conseils et la confiance qu'il a investie en moi au cours de ce projet.

Je tiens aussi à exprimer ma gratitude envers Monsieur François Roberge qui, par sa grande disponibilité et son excellent support scientifique, a su m'apporter une aide précieuse.

De plus, j'aimerais remercier Monsieur Luc Lavoie pour sa sympathie et pour la rapidité des résultats d'analyse de mes échantillons.

Je tiens à témoigner mon affection à tous ceux et celles qui m'ont entouré et encouragé au cours de ces deux années.

Je tiens à remercier mes parents pour m'avoir fait découvrir cette inoubliable ville et pour les démarches qu'ils ont faites pour que je puisse continuer une maîtrise à Montréal.

Enfin, je tiens à remercier ma petite sœur pour avoir supporté mon absence pendant trois ans.

RÉSUMÉ

Les lieux d'enfouissement sanitaire (LES) sont reconnus depuis plusieurs années comme étant à l'origine d'une problématique majeure aux yeux du ministère de l'environnement. Ce problème vient du fait que les lixiviats contiennent habituellement de fortes concentrations en composés azotés qui constituent une menace pour l'environnement et incidemment pour l'homme du fait de leur toxicité.

Ce projet vise à évaluer l'intérêt de la biofiltration à base de tourbe granulaire, en vue de réduire, grâce à la nitrification/dénitrification, la quantité de composés azotés (principalement sous forme d'azote ammoniacal) présents dans les lixiviats de LES. Les résultats obtenus détermineront si la biofiltration à base de tourbe peut être une technique de traitement envisageable pour être appliquée à grande échelle. Les eaux de lixiviation auront préalablement été entreposées dans un bassin non aéré et non mélangé où elles auront séjourné environ 12 mois. Les recherches, effectuées au laboratoire, permettront de déterminer quelle est la meilleure voie pour exploiter les avantages de réacteurs à base de tourbe, en fonction des mécanismes métaboliques microbiens prenant place en tête de traitement.

Dans un premier temps, il s'agit de déterminer si la tourbe ou le lixiviat contient une flore indigène capable de dégrader les polluants ciblés, soit l'ammoniaque et les nitrates. Si tel est le cas, des essais de nitrification et de dénitrification seront effectués en colonne afin d'acclimater le milieu filtrant en biomasse et de tracer des courbes de biodégradation en fonction de la hauteur de colonne, en régime stationnaire. Les résultats obtenus pourront servir de base de calcul pour la conception de biofiltres d'une dimension supérieure. Deux expériences de nitrification sont réalisées : une en percolation avec aération naturelle (l'air atmosphérique est une source d'oxygène) et

l'autre en submergé avec aération forcée. La charge hydraulique appliquée dans chacun des cas est de $0,8 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{j}$. L'essai de dénitrification, quant à lui, est effectué dans une colonne saturée avec écoulement ascendant avec la même charge hydraulique, en ajoutant un sucre (dextrose) comme source de carbone. Des tests en conditions stériles, des mesures d'alcalinité et des décomptes microbiens sont réalisés ensuite sur chacune des colonnes, de même que des essais de traçage pour déterminer le patron d'écoulement de fluide qui y règne à l'intérieur.

Enfin, la dernière étape du projet consiste à combiner les deux processus. L'effluent produit par l'unité de biofiltration devra respecter les normes de rejet des eaux de lixiviation. Le milieu filtrant sera celui enrichi lors des deux étapes précédentes et la source de matière organique dans le second biofiltre est non plus le dextrose mais le lixiviat brut, qui provient directement de la masse des déchets.

Les essais microbiologiques révèlent que le lixiviat ou la tourbe contient les micro-organismes requis pour la nitrification et la dénitrification. Aucune source de micro-organisme exogène n'est donc nécessaire.

Les études en continu dans les colonnes révèlent une bonne disparition de l'ammoniaque (63% d'élimination dans 35 cms de tourbe en utilisant la colonne avec aération naturelle et 100% en utilisant celle avec aération forcée). Cette dégradation est essentiellement par voie biologique. La dégradation de l'ammoniaque varie avec la hauteur de tourbe pour les essais avec aération naturelle alors que tout l'ammoniaque est dégradé dans les premiers centimètres de tourbe granulaire, en utilisant la colonne avec aération forcée. La tourbe est donc un bon milieu filtrant pour nitrifier les lixiviats de LES d'autant plus que les résultats en mode submergé montrent qu'elle est capable de réduire simultanément une partie des ions nitrate formés en azote gazeux.

L'essai de traçage montre que la partie aérée du biofiltre se comporte comme un réacteur parfaitement mélangé, sans volumes stagnants ni chemins préférentiels. Le temps de résidence du fluide à l'intérieur de la colonne est de 811 minutes. Au contraire, le lixiviat a un temps de résidence hydraulique de 311 minutes et suit un écoulement de type piston dans la colonne avec aération naturelle, avec peu de dispersion.

Les résultats de l'essai de dénitrification montrent, au débit utilisé, que les nitrates ajoutés sont biodégradés dans les premiers centimètres du milieu filtrant, soit dans les pierres concassées. En partant d'un affluent contenant 420 mg NO_3^-/l , les mêmes résultats sont obtenus à condition d'ajouter dans le réservoir une source de carbone facilement biodégradable (dextrose). Les pierres concassées constituent ainsi un bon milieu filtrant pour effectuer la dénitrification d'un lixiviat de LES. Ces résultats sont confirmés par l'énumération de bactéries dénitrifiantes sur les pierres qui, après les essais, est de l'ordre de $2,8 * 10^5$ bactéries/gramme de calcaire sec.

Le jumelage des deux montages avec les milieux filtrants enrichis lors des étapes précédentes permet d'obtenir un effluent proche du rejet zéro pour les composés tels que l'azote ammoniacal, les nitrites et les nitrates. Les résultats à l'effluent sont optimaux si le rapport du débit du lixiviat nitrifié sur celui du lixiviat brut est compris entre 10 et 20.

Des résultats obtenus, il est alors possible de proposer un nouveau concept pour traiter les lixiviats de LES, à grande échelle. Deux réacteurs pourraient être aménagés sur le site ou à l'extérieur du site. Ce concept serait fort intéressant et "économiserait" de la place et du temps, notamment chez la société BFI où les lixiviats sont entreposés dans trois étangs différents avec des temps de séjour d'environ un an dans chacun d'eux.

ABSTRACT

Sanitary landfills are known since a few years to be originally of a major problem for the Department of the Environment. This problem comes from that leachates usually have high nitrogenous compound concentrations which constitute a threat for the environment and incidentally for the human being because of their toxicity.

The aim of this project is to evaluate the interest of the biofiltration with granular peat, in order to decrease owing to the nitrification then the denitrification the amount of nitrogenous compounds (mainly in ammonia nitrogen form) contained in the sanitary landfill leachates. The results will determine if the peat-based biofiltration is a conceivable technique of treatment which can be applied at large scale. The leachate of our study will have prior be stored in an un-aerated and unmixed pond during around one year. Recherche will determine the best way to exploit the advantages of a peat-based reactor, according to the microbial metabolic mechanisms taking place before the treatment.

First, it is important to know whether the peat or the leachate has intrinsic organisms able to degrade the targeted pollutants, that is to say the ammonia nitrogen and nitrate. If it is the case, nitrification and denitrification tests in columns will be carried out to acclimatize the filtering medium with biomass and will permit to plot biodegradation curves according to the column height, in stationary conditions. The results will be used as calculation base for biofilters with higher sizes. Two nitrification experiments are made at the laboratory : one in percolation with a natural aeration (the atmospheric air is used as an oxygen source) and a submerged biofilter with a forced aeration. Both experiments were carried at a hydraulic load around $0,8 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{j}$. The denitrification test is carried out at the same hydraulic load, in an upflow saturated column in which dextrose is added as carbon source. Sterile condition tests, alkalinity measures and

microbial calculations are then realized and a residence time distribution test determines the fluid flow inside each column.

The last object of the project consists in combining both processes in order to have an effluent which respects the leachate discharge norms. The filtering media will be those which were enriched during the last steps and the organic matter source in the second biofilter is not the dextrose but the crude leachate which comes directly from the solid wastes.

The microbiological tests reveal that the leachate or the peat contains the required microorganisms for the nitrification and the denitrification. Then, no other microorganism source is necessary.

The column tests show an important decrease of the ammonia nitrogen concentration (63% is eliminated in 14 inches of peat with the natural aerated column and 100% with the forced aerated column). This degradation is mainly by biological way. The ammonia nitrogen degradation depends on the peat's height for the natural aerated columns whereas the whole ammonia nitrogen is eliminated in the first centimeters of the granular peat for the forced aerated column. Thus, peat is an efficient filtering medium to nitrify the sanitary landfill leachate all the more because the submerged column results show that it is able to convert simultaneously a part of the produced nitrate into nitrogen gas.

The residence distribution time reveals that the aerobic zone of the biofilter behaves as a perfect mixed reactor, without dead volumes nor by-pass zones. The fluid residence time is about 811 minutes inside this column. On the contrary, the fluid has a low dispersed plug flow in the natural aerated column, with a residence time around 311 minutes.

As for the denitrification test, the results show that nitrate ions are biodegraded in the first centimeters of the filtering medium, that is to say into the crushed calcareous

stones. With an influent containing 420 mg NO_3^-/l , the same results are obtained provided an easily biodegradable carbon source (dextrose) is added in the tank. Thus, crushed stones are an excellent filtering medium to denitrify the sanitary landfill leachate. The most probable number test confirms this result because the denitrifying bacteria number inside the crushed stones is around $2,8 * 10^5$ after the experiments.

The coupling of both reactors with the enriched filtering media permits to get a satisfactory effluent quality concerning compounds like ammonia nitrogen, nitrite and nitrate ions. The optima results are obtained if the ratio of the nitrified leachate flow and the crude leachate flow is between 10 and 20.

From the results, it is possible to suggest a new concept to treat sanitary landfill leachates, at a large scale. Two reactors could be set up *on site* or *off site*. This concept would be very interesting and would « save » space and time, in particular to BFI society where the leachates are stored in three different ponds with residence times around one year in each of them.

TABLE DES MATIÈRES

Dédicace.....	iv
Remerciements.....	v
Résumé.....	vi
Abstract.....	ix
Table des matières.....	xii
Liste des tableaux.....	xvii
Liste des figures.....	xviii
Liste des annexes.....	xx
Liste des abréviations.....	xxi
Liste des symboles.....	xxii
Introduction.....	1
Hypothèses et objectifs de recherche.....	4
CHAPITRE 1 : REVUE DE LITTÉRATURE.....	5
1.1. Les lieux d'enfouissement sanitaire (LES)	5
1.1.1. Définition d'un LES	5
1.1.2. Configuration d'un enfouissement	6
1.1.3. Caractéristiques des lixiviats	8
1.1.3.1. Caractéristiques quantitatives	8
1.1.3.2. Caractéristiques qualitatives	9
1.1.4. Les procédés de traitement des lixiviats	11
1.2. La tourbe.....	18
1.2.1. Origine de la tourbe	18
1.2.2. Classification de la tourbe	18
1.2.3. Composition de la tourbe.....	19

1.2.4. Utilisation comme filtre biologique et mécanismes de dégradation.....	20
1.3. Composés azotés	23
1.3.1. Le cycle de l'azote.....	23
1.3.2. Effets des composés azotés sur l'environnement	24
1.4. Nitrification.....	26
1.4.1. Définitions.....	26
1.4.2. Équations de réaction	26
1.4.3. Bactéries nitrifiantes.....	28
1.4.3.1. Caractéristiques	28
1.4.3.2. Microbiologie	29
1.4.4. Facteurs influençant la nitrification.....	31
1.4.4.1. Effet du pH	31
1.4.4.2. Effet de la température	33
1.4.4.3. Concentration en oxygène dissous.....	34
1.4.4.4. Présence de nitrites.....	34
1.4.4.5. Concentration en ammoniacque, en nitrite et en nitrate	35
1.4.4.6. Concentration des solides en suspension.....	35
1.4.4.7. Présence de métaux	35
1.4.4.8. Présence de méthane.....	36
1.4.4.9. Écoulement.....	36
1.4.4.10. Temps de résidence hydraulique	37
1.4.4.11. Présence de lumière.....	37
1.5. Dénitrification.....	38
1.5.1. Définitions.....	38
1.5.2. Équations de réaction	39
1.5.2.1. La réduction anabolique du nitrate	39
1.5.2.2. La respiration anaérobie	40
1.5.3. Facteurs influençant la dénitrification	41
1.5.3.1. Concentration en oxygène dissous.....	41
1.5.3.2. pH	42
1.5.3.3. Température.....	43
1.5.3.4. Concentration en nitrates	43
1.5.3.5. Nature de la source carbonée - Rapport DBO:DCO	43

1.5.3.6. Rapport $\text{DCO}:\text{NO}_3^-$	44
1.6. Nitrification et dénitrification simultanée	45
 CHAPITRE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODES	48
 2.1. Caractérisation des lixiviats.....	48
2.1.1. Provenance des lixiviats et normes de rejets à atteindre.....	48
2.1.2. Conservation des lixiviats.....	49
2.1.3. Caractérisation des lixiviats.....	50
2.1.3.1. Composition chimique.....	50
2.1.3.2. Composition microbiologique	50
 2.2. Caractérisation de la tourbe granulaire.....	51
2.2.1. Caractérisation physique de la tourbe.....	51
2.2.1.1. Rétention liquide	51
2.2.1.2. Contribution de la tourbe à la charge organique et inorganique	53
2.2.2. Caractérisation microbiologique de la tourbe.....	53
2.2.2.1. Détermination de la présence des bactéries nitrifiantes	54
2.2.2.2. Détermination de la présence des bactéries dénitrifiantes	55
 2.3. Essais de nitrification	57
2.3.1. Colonnes en percolation avec aération naturelle	57
2.3.1.1. Description du montage.....	58
2.3.1.2. Essai en conditions stériles.....	61
2.3.1.3. Quantification de la biomasse nitrifiante.....	61
2.3.2. Colonne en mode submergé avec aération forcée	62
2.3.2.1. Description du montage.....	62
2.3.2.2. Charge hydraulique	63
2.3.3. Mesure de l'alcalinité du lixiviat	64
2.3.4. Comparaison des performances entre les colonnes avec aération naturelle et forcée.....	64
2.3.5. Hydrodynamique des colonnes (aération naturelle et forcée).....	65
2.3.5.1. But de l'expérience.....	65
2.3.5.2. Choix de $^3\text{H}_2\text{O}$ comme traceur.....	65
2.3.5.3. Suivi de l'essai de traçage.....	66

2.3.5.4. Dispersion et temps de séjour.....	66
2.3.5.5. Volumes stagnants et chemins préférentiels.....	68
2.4. Essais de dénitrification	70
2.4.1. Description du montage.....	70
2.4.1.1. Le lixiviat – Débit d'alimentation	71
2.4.1.2. Milieu filtrant	71
2.4.2. Suivi de l'essai	71
2.4.3. Essai en conditions stériles.....	72
2.4.4. Mesure de l'alcalinité et de la DCO	73
2.4.5. Quantification de la biomasse dénitrifiante	73
2.4.6. Hydrodynamique de la colonne.....	74
2.5. Essais de nitrification et de dénitrification combinés.....	75
2.5.1. Les différents concepts.....	75
2.5.2. Estimation du rapport Q_1/Q_2	78
2.6. Méthodes analytiques.....	79
2.6.1. Mesure de l'azote ammoniacal, des nitrites et des nitrates.....	79
2.6.2. Mesure de la DBO_5 totale et de la DCO totale.....	80
2.6.3. Mesure du pH.....	81
2.6.4. Mesure de l'alcalinité	81
2.6.5. Mesure de l'oxygène dissous.....	82
2.6.6. Mesure du potentiel d'oxydo-réduction	82
CHAPITRE 3 : RÉSULTATS ET DISCUSSION	83
3.1. Caractéristiques chimiques des lixiviats.....	83
3.2. Caractéristiques de la tourbe granulaire.....	85
3.2.1. Caractéristiques physiques de la tourbe.....	85
3.2.1.1. Rétention liquide	85
3.2.1.2. Contribution de la tourbe à la charge organique et inorganique	86
3.2.2. Caractéristiques microbiologiques de la tourbe.....	88
3.2.2.1. Présence de bactéries nitrifiantes et stœchiométrie de la réaction	88

3.2.2.2. Présence de bactéries dénitrifiantes	91
3.3. Essais de nitrification	92
3.3.1. Régime transitoire	92
3.3.2. Régime permanent.....	96
3.3.2.1. Colonnes en percolation avec aération naturelle	96
3.3.2.2. Colonne en mode submergé avec aération forcée	98
3.3.2.3. Essai en conditions stériles	99
3.3.2.4. Stœchiométrie de la biodégradation	101
3.3.2.5. Mesure de l'alcalinité du lixiviat	102
3.3.2.6. Quantification de la biomasse nitrifiante	104
3.3.3. Hydrodynamique des colonnes (aération naturelle et forcée)	105
3.3.3.1. Essai de traçage	105
3.3.3.2. Détermination du temps de séjour et de la dispersion	106
3.3.3.3. Détermination de la présence de volumes stagnants et de chemins préférentiels dans la colonne avec aération forcée	108
3.3.4. Comparaison des performances entre les colonnes avec aération naturelle et forcée.....	110
3.4. Essais de dénitrification	112
3.4.1. Suivi de la réaction de dénitrification.....	112
3.4.2. Essai en conditions stériles.....	117
3.4.3. Mesure de l'alcalinité du lixiviat et suivi de la DCO	118
3.4.4. Quantification de la biomasse dénitrifiante	120
3.4.5. Hydrodynamique de la colonne.....	121
3.5. Essais de nitrification et de dénitrification combinés	123
3.5.1. Estimation du rapport Q_1/Q_2	123
3.5.2. Suivi de la nitrification et de la dénitrification combinées	124
Conclusion.....	128
Recommandations.....	130
Références.....	134
Annexes.....	148

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 Composition typique des déchets municipaux (Farquhar, 1989).....	6
Tableau 1.2 Concentration du lixiviat avec l'âge de l'enfouissement (Farquhar, 1989).....	10
Tableau 1.3 Exemple de paramètres mesurés lors de la phase méthanogène et acidogène des lixiviats (Beone et al., 1997).....	11
Tableau 1.4 Les différents traitements possibles des lixiviats de déchets municipaux (Hjelmar et al., 1995).....	12
Tableau 1.5 Performances des différentes techniques de traitement des lixiviats de LES.....	15
Tableau 1.6 Caractéristiques des bactéries nitrifiantes (Sharma et Ahler, 1977).....	28
Tableau 1.7 Gamme de pH pour la culture de bactéries nitrifiantes (Sharma et Ahler, 1977).....	31
Tableau 2.1 Normes de rejet des eaux de lixiviation chez la société BFI (Extrait de la Gazette Officielle du Québec, Décembre 1995, No.51).....	49
Tableau 2.2 Caractéristiques physico-chimiques mesurées.....	79
Tableau 3.1 Caractéristiques des deux types de lixiviat (lixiviat issu de l'étang non aéré et lixiviat brut).....	83
Tableau 3.2 Caractéristiques du lixiviat brut prélevé en août 1997.....	84
Tableau 3.3 Matière organique et composés azotés relargués par la tourbe en solution.....	87
Tableau 3.4 Comparaison entre les nitrates théoriquement formés et ceux formés expérimentalement, lors des essais de nitrification avec aération naturelle.....	101
Tableau 3.5 Comparaison entre l'alcalinité théoriquement consommée et celle réellement consommée, lors des essais de nitrification.....	104
Tableau 3.6 Dénombrement des micro-organismes nitrifiants en fonction de la hauteur de tourbe.....	105
Tableau 3.7 Dénombrement des micro-organismes dénitrifiants à l'aide de la méthode du NPP.....	120
Tableau 3.8 Suivi des différents paramètres en sortie des colonnes de nitrification et de dénitrification ($Q_1=10$ l/j et $Q_2=1$ l/j).....	124
Tableau 3.9 Suivi des différents paramètres en sortie des colonnes de nitrification et de dénitrification ($Q_1=3,3$ l/j et $Q_2=0,33$ l/j).....	125
Tableau 3.10 Suivi des différents paramètres en sortie des colonnes de nitrification et de dénitrification ($Q_1=3,3$ l/j et $Q_2=0,14$ l/j).....	126
Tableau 3.11 Tableau récapitulatif des débits à utiliser.....	127

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 Mécanismes rencontrés à l'intérieur d'un enfouissement (Christensen et al., 1989).....	7
Figure 1.2 Le cycle de l'azote (Klein, 1995) ¹	24
Figure 1.3 Les niveaux d'oxydation de l'azote (Klein, 1995)	25
Figure 1.4 Le flux inversé d'électrons lors du processus de nitrification (Sharma et Ahler, 1977) ²	30
Figure 2.1 Les différentes rétentions de la tourbe	51
Figure 2.2 Les expériences de nitrification en cuvée	54
Figure 2.3 Organigramme permettant de déterminer la présence de bactéries dénitrifiantes à l'aide de l'acide sulfanilique, le N-N-diméthyl-1-naphtylamine et la poudre de zinc	56
Figure 2.4 Principe des essais en percolation avec aération naturelle	58
Figure 2.5 Montage des essais de nitrification avec ajout d'une solution tampon	60
Figure 2.6 Montage expérimental de l'essai de nitrification en mode submergé.....	63
Figure 2.7 Montage expérimental de l'essai de dénitrification	70
Figure 2.8 Montage de la nitrification et de la dénitrification jumelé	76
Figure 2.9 Montage expérimental des essais de nitrification et de dénitrification combinés	77
Figure 3.1 Résultats des différentes rétentions de la tourbe granulaire.....	86
Figure 3.2 Suivi des concentrations en composés azotés en conditions stériles et non stériles, lors des tests en cuvée.....	88
Figure 3.3 Suivi du POR et du pH en fonction du temps, lors des tests en cuvée.....	89
Figure 3.4 Le devenir de l'ammoniaque, lors des tests en cuvée.....	90
Figure 3.5 Suivi de la phase transitoire des essais de nitrification.....	93
Figure 3.6 Effet de la hauteur de tourbe sur les concentrations en composés azotés (ammoniaque, nitrite et nitrate) et sur le pH, en régime stationnaire (colonnes avec aération naturelle).....	97
Figure 3.7 Effet de la hauteur de tourbe sur les concentrations en composés azotés (ammoniaque, nitrite et nitrate) et sur le pH, en régime stationnaire (colonnes avec aération forcée).....	99
Figure 3.8 Suivi des concentrations en NH_4^+ et en NO_3^- en fonction du temps, en conditions stériles.....	100
Figure 3.9 Suivi du pH en sortie de la colonne irradiée, en fonction du temps.....	100
Figure 3.10 Alcalinité mesurée en fonction de la hauteur de tourbe, lors des essais de nitrification.....	103
Figure 3.11 Tracé de $C_t/C_0 = f(t/t_c)$ pour la colonne de nitrification avec aération forcée.....	107

Figure 3.12 Tracé de $C/C_0 = f(t/t_c)$ pour la colonne de nitrification avec aération naturelle.....	108
Figure 3.13 Tracé de $\ln(C/C_0) = f(t/t_c)$ pour la colonne de nitrification avec aération forcée.....	109
Figure 3.14 Capacité d'enlèvement de l'azote ammoniacal pour les deux types de colonne (aération naturelle et forcée).....	111
Figure 3.15 Évolution des paramètres en fonction du temps, dans la colonne de dénitrification (26 mg NO_3^-/l).....	112
Figure 3.16 Évolution des paramètres en fonction de la hauteur de milieu filtrant, dans la colonne de dénitrification, en régime permanent (26 mg NO_3^-/l).....	113
Figure 3.17 Évolution des paramètres en fonction du temps, dans la colonne de dénitrification (70 mg NO_3^-/l).....	114
Figure 3.18 Évolution des paramètres en fonction du temps, dans la colonne de dénitrification (140 mg NO_3^-/l).....	115
Figure 3.19 Évolution des paramètres en fonction de la hauteur de milieu filtrant, dans la colonne de dénitrification, en régime permanent (220 mg NO_3^-/l).....	116
Figure 3.20 Évolution de la concentration en nitrate et en nitrite (mg/l) en fonction de la hauteur de milieu filtrant de la colonne de dénitrification, en régime permanent (420 mg NO_3^-/l en entrée).....	117
Figure 3.21 Évolution de la concentration en nitrate (mg/l) en fonction de la hauteur de colonne de dénitrification, en conditions stériles (420 mg NO_3^-/l).....	118
Figure 3.22 Alcalinité et $\text{DCO}_{\text{filtrée}}$ en fonction de la hauteur de la colonne de dénitrification, en conditions stériles et non stériles.....	119
Figure 3.23 Tracé de $C/C_0=f(t/t_c)$ pour la colonne de dénitrification.....	122
Figure 3.24 Bilan des espèces en amont de la colonne de dénitrification.....	123
Figure (Recommandations) Les différents concepts de la nitrification et de la dénitrification des lixiviats de LES, à grande échelle.....	133

LISTE DES ANNEXES

Annexe A : Échelle d'humidification Von Post (Mayer et al., 1993).....	149
Annexe B : Différentiation du genre dans la famille <i>Nitrobacteracea</i>.....	150
Annexe C : Humidité de la tourbe aux différentes hauteurs de colonne.....	151
Annexe D : Vérification de la présence de micro-organismes dénitrifiants dans la tourbe en Pétri (PE 30A).....	152
Annexe E : Démonstration de la faisabilité de la nitrification d'un lixiviat de LES avec de la tourbe granulaire (PE 30B).....	153
Annexe F : Dénombrement total de micro-organismes nitrifiants par la méthode du nombre le plus probable (PE 30E).....	154
Annexe G : Hydrodynamique des différentes colonnes.....	155
Annexe H : Démonstration de la faisabilité de la dénitrification d'un lixiviat de LES avec de la tourbe granulaire (PE 30C).....	156
Annexe I : Dénombrement total de micro-organismes dénitrifiants par la méthode du nombre le plus probable (PE 30F).....	157
Annexe J : Détermination de l'alcalinité d'un milieu aqueux par titrage potentiométrique (PE 30D).....	158
Annexe K : Détermination de la quantité de micro-organismes à partir du modèle cinétique de biodégradation.....	159

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AGV : Acide Gras Volatil

ATP : Adénosine Tri-Phosphate

BFI : Browning Ferris Industries

CEC : Capacité d'Échange Cationique

COT : Carbone Organique Total

CSTR : Completely Stirred Tank Reactor (réservoir complètement mélangé)

CTA : Consommation Théorique d'Alcalinité (mg CaCO_3/l)

CEA : Consommation Expérimentale d'Alcalinité (mg CaCO_3/l)

DBO_5 : Demande Biologique en Oxygène au bout de 5 jours (mg O_2/l)

DCO : Demande Chimique en Oxygène (mg O_2/l)

DTS : Distribution du Temps de Séjour

HPLC : High Performance Liquid Chromatography (Chromatographie liquide à haute performance)

LES : Lieu d'Enfouissement Sanitaire

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

NPP : Nombre le Plus Probable

NTK : Nitrogen Total Kjeldahl (azote organique Kjeldahl)

POR : Potentiel d'Oxydo-Réduction

SBR : Sequency Batch Reactor (réacteur séquentiel opérant en cuvée)

SSV : Solides en Suspension

TRH : Temps de Résidence Hydraulique

USEPA : Agence de Protection Environnementale Américaine

LISTE DES SYMBOLES

ΔG : variation d'enthalpie libre (cal/mole)

k_I : taux d'enlèvement du nitrate en absence d'oxygène (kg/s)

β_{NO_3} : fraction des nitrates diffusant dans le biofilm sans l'influence de l'oxygène

β_{O_2} : fraction d'oxygène pénétrant

R_{NO_3, O_2} : taux d'enlèvement du nitrate dans un biofilm en présence d'oxygène (kg/s)

ϵ_t : porosité totale

ϵ_{Ls} : rétention liquide statique

ϵ_{Ld} : rétention liquide dynamique

ϵ_s : rétention solide

k : perméabilité ou conductivité hydraulique (cm/s)

R_{rec} : radioactivité récupérée en sortie de colonne (dpm)

$D/\mu L$: nombre de dispersion

σ : variance (min)

C_i : concentration de traceur dans l'effluent au temps t_i (dpm/ml)

C_o : concentration initiale du traceur dans le réacteur (dpm/ml)

t_i : temps de lecture de la concentration C_i de traceur (min)

Δt_i : intervalle de temps entre les données (min)

t_c : temps de contact ou de résidence moyen (min)

t_a : temps de résidence hydraulique moyen dans la partie mélangée du réacteur (min)

V : volume liquide du réacteur (volume disponible) (ml)

V_m : volume de la partie parfaitement mélangée du réacteur (ml)

INTRODUCTION

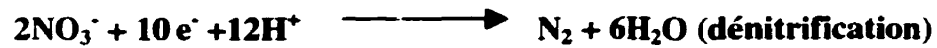
L'enfouissement sanitaire est la méthode de disposition la plus communément employée dans le monde depuis plus de vingt ans (Tchobanoglous et al., 1993; Knox et al., 1995). Les déchets solides sont reçus, étalés en couches fines, compactés et couverts avec du sol. C'est une méthode simple et économique qui diffère d'un site de dépôt dans le sens que les déchets sont recouverts chaque jour, et que le site possède une variété de structures de protection environnementale incluant des couvertures imperméables évitant l'infiltration des eaux, des collecteurs de lixiviats, des systèmes de contrôle et de récupération du méthane gazeux, etc.

En 1992, $7,2 \cdot 10^6$ tonnes métriques de déchets ont été générés au Québec, dont 62% ont été acheminés dans les lieux d'enfouissement sanitaire. Le volume de matières putrescibles représentait 26% de tous les déchets domestiques produits (Petitpas et Lafortune, 1993). L'effluent ou lixiviat est généré par la percolation et le ruissellement sur les LES de l'eau des précipitations, et par l'eau provenant des résidus des LES. Les lixiviats peuvent aussi être générés par le mouvement des eaux souterraines passant à travers les enfouissements (Manoharan et al., 1989). Par leur contact avec la matière première en décomposition, ces eaux se chargent de composés organiques et inorganiques solubles, de micro-organismes et de particules solides (Tchobanoglous et al., 1993). Le lixiviat qui en résulte peut avoir un impact sur la qualité des eaux souterraines et de surface.

Le lixiviat est généralement chargé en produits azotés, métaux lourds, solvants, alcools, pesticides, hydroxy-aromatiques organiques, acides aliphatiques, phénols, bactéries, etc. (Ross et al., 1989; Clément, 1995; Lallai et al., 1995). La composition chimique des lixiviats provenant des enfouissements sanitaires dépend du type de déchets déposés

(résidentiels, industriels, agraires) mais aussi de leur état de décomposition, du mode d'opération, des conditions climatiques et géologiques, ainsi que de l'âge de l'enfouissement (Hjelmar et al., 1995). À l'intérieur des jeunes sites, les bactéries acidifiantes sont généralement prépondérantes dans la microflore et 80-90% du contenu organique des lixiviats consistent en des produits relativement facilement biodégradables sous forme d'acides gras volatils (AGV) qui sont convertis en biogaz par les micro-organismes méthanogènes (Welander et al. 1997). De plus, les lixiviats dans la phase méthanogène contiennent souvent des concentrations élevées en ammonium, ce qui constitue un problème environnemental à cause des effets toxiques de cet ion sur l'environnement (Forgie, 1988).

Afin de respecter les normes des eaux de lixiviation de LES imposées par le Règlement sur les déchets solides, Q-2, R.3.2, section VII (Ministère de l'Environnement du Québec 1991), lequel prescrit une norme sur la concentration des contaminants présents dans les eaux rejetées au réseau hydrographique de surface, plusieurs méthodes d'enlèvement de l'azote ont été étudiées. Actuellement, les trois principales sont le traitement biologique, l'enlèvement par volatilisation alcaline (ou air stripping) et l'adsorption sur résines échangeuses d'ions. Le traitement par voie biologique est la méthode la plus commune pour réduire les quantités d'azote ammoniacal. En effet, le processus de nitrification/dénitrification, découvert dans les années 1940, est efficace, stable et fiable. De plus, il s'agit d'un procédé facile à contrôler et économique. Il a déjà fait ses preuves dans de nombreuses villes, notamment à Hong Kong (1992) où les efficacités d'enlèvement de l'azote ammoniacal et de la DBO étaient respectivement de 99,9% et 79% (au bout de 40 jours) alors que le lixiviat était en phase méthanogène (Robinson, 1995). Hippen et al. (1997) ont également montré une bonne efficacité d'enlèvement de l'azote ammoniacal et des nitrates (99% et 90% respectivement) en utilisant un traitement par boues activées. La réaction de nitrification de l'ammoniaque et sa dénitrification subséquente sont présentées ci-dessous:



Les méthodes utilisées jusqu'à maintenant pour traiter les lixiviats sont surtout les réacteurs conventionnels à boues activées, les lagons aérés, et les réacteurs à lits fixes (Welanders et al., 1997). Actuellement, on se dirige de plus en plus vers l'utilisation des biofiltres, particulièrement employés en aquaculture pour éliminer l'ammoniac des eaux (Forteath, 1991).

L'intérêt de l'utilisation de la tourbe, comme milieu filtrant en biofiltration, réside dans son faible coût d'utilisation. Comparativement à certains autres adsorbants, notamment le charbon actif et les résines échangeuses d'ions, elle est très peu onéreuse (Couillard 1994). Les mécanismes de traitement dans la tourbe sont de nature chimique, physique et microbiologique. Elle a également une grande surface spécifique et une porosité de l'ordre de 90 à 95% (Mustin, 1987; Couillard, 1994). Elle constitue ainsi, à priori, un bon support pour la biomasse.

Hypothèses générales

Les hypothèses générales qui sous-tendent ce projet de recherche se formulent comme suit :

- La tourbe granulaire est capable de réduire par biofiltration, grâce à la nitrification suivie de la dénitrification, la quantité de composés azotés (ammoniaque, nitrite et nitrate) présents dans les lixiviats de LES
- La tourbe est capable de réaliser successivement la réaction de nitrification et de dénitrification des lixiviats de LES

Objectifs

L'objectif principal de ce projet de maîtrise consiste à déterminer si la tourbe granulaire est un bon milieu filtrant pour réaliser la nitrification d'un lixiviat de LES et sa dénitrification subséquente.

Pour ce faire, plusieurs sous-objectifs doivent être atteints :

- montrer que la tourbe est capable d'effectuer de manière biologique la transformation de l'azote ammoniacal en nitrate; si tel est le cas, il s'agit de voir quelle est la meilleure voie pour exploiter les avantages d'un lit de tourbe (aération naturelle ou forcée)
- déterminer si la tourbe est capable de dénitrifier les nitrates produits lors de la première étape en azote gazeux
- jumeler les deux activités de manière à obtenir un effluent qui satisfasse les normes de rejet des eaux de lixiviation

CHAPITRE 1

REVUE DE LITTÉRATURE

1.1. Les lieux d'enfouissement sanitaire (LES)

1.1.1. Définition d'un LES

L'enfouissement sanitaire est le principal moyen de disposition des déchets solides municipaux au Canada. Sur les 16 millions de tonnes de déchets produits annuellement, environ 90% sont disposés dans des LES (Vivecic et al., 1989).

Selon l'USEPA (Agence de Protection Environnementale Américaine), les déchets solides municipaux incluent les déchets résidentiels, commerciaux et les déchets industriels non dangereux. Les cendres de combustion, les déchets dangereux et industriels n'en font pas partie (Barlaz, 1997). Le tableau 1.1 fournit des informations sur la composition typique des déchets municipaux que l'on retrouve en Amérique du nord (Farquhar, 1989).

- La catégorie A consiste en des composés organiques facilement biodégradables qui produisent des fortes concentrations en DBO, en carbone organique total (COT) et en azote Kjeldhal total (NTK) dans les lixiviats. Ceci se produit habituellement dans les premiers mois de lixiviation.
- La catégorie B est analogue à la précédente sauf que les composés sont moins facilement biodégradables.
- La catégorie C inclut les déchets métalliques (fer, aluminium, zinc). Ils apparaissent progressivement dans les lixiviats du fait de leur faible taux de relargage.
- La catégorie D comprend les constituants inorganiques non-métalliques. Leur apparition dans les lixiviats s'étend sur plusieurs années et dépend de leur solubilité.

Tableau 1.1 Composition typique des déchets municipaux (Farquhar, 1989)

Composition (% poids humide)	
A - Nourriture	5-20
Résidus de jardin	15-25
B - Papier	40-50
Plastique	1-5
Bois	2-5
Autres organiques	2-10
C - Fer	5-10
Autres métaux	0-1
D - Verre	5-10
Autres inorganiques	2-5
Contenu en humidité	20-30

1.1.2. Configuration d'un enfouissement

La stabilisation biologique des déchets comprend une série de réactions chimiques, physiques et dans lesquelles différents types de micro-organismes coexistent (Onay et al., 1998). Une représentation générale des différents mécanismes à l'intérieur d'un enfouissement est illustrée à la figure 1.1 (Christensen et al., 1989). La concentration en nutriments, la présence d'inhibiteurs favoriseront la croissance d'un type de micro-organisme plutôt qu'un autre. Enfin, on ne sait pas encore bien si la communauté microbienne qui se développe à l'intérieur de l'enfouissement est identique (ou même en équilibre) à celle rencontrée dans les lixiviats (Blakey et al., 1995).

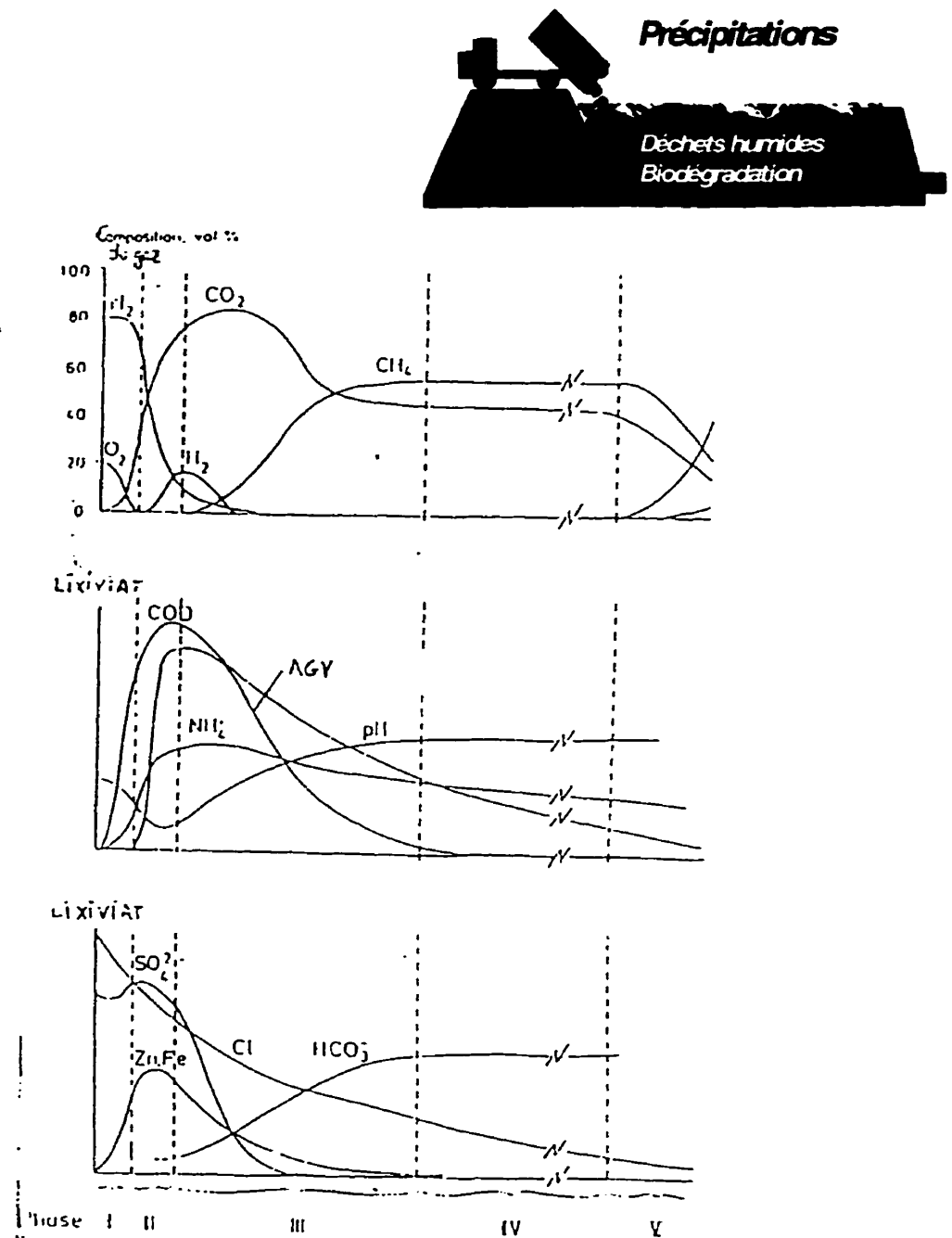


Figure 1.1 Mécanismes rencontrés à l'intérieur d'un enfouissement (Christensen et al., 1989)

Phase I : C'est une brève phase aérobie, qui a lieu immédiatement après avoir disposé les déchets. La matière organique facilement biodégradable est décomposée et du CO_2 est généré.

Phase II : Une première phase anaérobie se développe suite à la phase aérobie. L'activité des bactéries fermentaires et acétogènes génère des acides gras volatils (AGV), du CO_2 et de l' H_2 . Le lixiviat acidifié peut alors contenir des fortes concentrations en calcium, fer, métaux lourds et en ammoniac.

Phase III : Une seconde phase anaérobie débute avec une faible croissance des bactéries méthanogènes. La conversion des AGV est causée par une augmentation du pH et de l'alcalinité. Le pH plus basique a tendance à diminuer également la solubilité du calcium, du fer et des métaux lourds. L'ammoniac continue d'être relargué sans toutefois être converti.

Phase IV : Cette phase, qui débute après des mois voire des années, est caractérisée par une forte production de méthane qui maintient des faibles concentrations en AGV et en H_2 .

Phase V : Alors qu'il reste uniquement les composés organiques réfractaires, la production de méthane devient si faible que l'oxygène et l'azote gazeux de l'atmosphère diffusent vers les déchets. On considère alors que les déchets sont stabilisés.

1.1.3. Caractéristiques des lixiviats

1.1.3.1. Caractéristiques quantitatives

La production de lixiviat est généralement liée aux conditions climatiques (fréquence des précipitations, température et humidité moyennes, direction et forces des vents prédominants, phénomènes d'évapotranspiration), aux caractéristiques planimétriques du site et des aires avoisinantes et à l'infiltration et à l'humidité du sol et des déchets

sanitaires. Elle dépend également des conditions d'opération du LES (recirculation du lixiviat sur la masse de déchets solides, niveau de compaction des déchets) (Liberti et al., 1997).

Bien souvent, on l'estime simplement à partir de l'équation (Farquhar, 1989) :

$$Q = P - RO - ET - \Delta S$$

où P représente les précipitations, RO le ruissellement, ET l'évaporation et la transpiration et ΔS la différence entre la capacité au champ et l'humidité existante dans l'enfouissement.

1.1.3.2. Caractéristiques qualitatives

Les lixiviats de la plupart des enfouissements contiennent des concentrations en contaminants qui dépassent le critère de qualité pour les eaux de surface et les eaux potables et qui présentent ainsi un risque environnemental élevé (Hjelmar et al., 1995). La qualité des lixiviats dépend de plusieurs facteurs comme le type de déchet solide, sa compaction, sa composition, sa profondeur, sa densité, sa porosité (Karnik et al., 1997) et son prétraitement. La température et l'âge de l'enfouissement sont également des facteurs à considérer, du fait du changement chimique de l'environnement (potentiel d'oxydo-réduction, pH, force ionique, etc) (Hjelmar et al., 1995).

Le tableau 1.2 donne une prédiction des différentes concentrations (azotées et organiques) habituellement retrouvées dans les lixiviats de LES, en fonction de l'âge de l'enfouissement.

Tableau 1.2 Concentrations du lixiviat avec l'âge de l'enfouissement (Farquhar, 1989)

	Âge de l'enfouissement (ans)			
	0-5	5-10	10-20	>20
DBO (mg/l)	10000-25000	1000-4000	50-1000	<50
DCO (mg/l)	15000-40000	10000-20000	1000-5000	<1000
Azote Kjeldahl	1000-3000	400-600	75-300	<50
total (mg/l)				
Azote	500-1500	300-500	50-200	<30
ammoniacal				
(mg/l)				
Alcalinité (mg	10000-15000	1000-6000	500-2000	<500
CaCO ₃ /l)				
pH	5-6	6-7	7-7,5	7,5

Enfin, la qualité des lixiviats dépend de leur temps de résidence dans le bassin où ils sont entreposés ultérieurement. Des jeunes lixiviats (encore dans leur phase acidogène) sont caractérisés par des hautes concentrations en substances organiques (DCO, DBO₅ et acides gras volatils), des concentrations en azote et en phosphore peu excessives et un pH faiblement basique. Les lixiviats à un stade avancé de dégradation sont particulièrement stables et sont caractérisés par des pH et des niveaux d'alcalinité plus importants (pH compris entre 6,5-8,3). Ils sont souvent plus riches en ammoniac du fait de l'hydrolyse des composés azotés et de la fermentation des substrats azotés biodégradables (Onay et al.,). La DCO est par contre plus faible de même que la DBO₅ indiquant un niveau de dégradation des substances organiques plus important. Un faible rapport DBO₅/DCO (inférieur à 0,4, Clément, 1995) est caractéristique d'un vieux lixiviat (Lavagnolo et al., 1995; Welander et al., 1997; Beone et al., 1997). Le tableau 1.3 (Beone et al., 1997)

présente un exemple de concentrations que l'on peut retrouver aux deux stades de dégradation d'un lixiviat de LES.

Tableau 1.3. Exemple de paramètres mesurés lors de la phase méthanogène et acidogène des lixiviats (Beone et al., 1997)

Paramètre	Unités	Lixiviats en phase méthanogène	Lixiviats en phase acidogène
pH	mg/l	7,1	5,5
DBO ₅	mg/l	980	38500
DCO	mg/l	2200	43300
COT	mg/l	1300	17000
AGV	mg/l	1,1	28
Tot-N	mg/l	580	1060
NH ₄ ⁺ -N	mg/l	335	610
Tot-P	mg/l	19	43
DBO ₅ /DCO	adim	0,4	0,9

1.1.4. Les procédés de traitement des lixiviats

La digestion anaérobie, l'oxydation aérobie, les traitements physico-chimiques, les technologies émergentes comme l'irradiation par faisceau d'électrons ou l'osmose inverse ont été testés sur de nombreux lixiviats. Comme l'indique le tableau 1.4 (Hjelmar et al., 1995), les traitements biologiques sont les plus utilisés pour l'enlèvement de l'azote

et de la DBO des lixiviats de LES (Vivecic et al., 1989), les voies physico-chimiques éliminant préférentiellement les solides en suspension (SS) et le phosphore (Chen et Chen., 1997). Les procédés physico-chimiques ont également l'inconvénient d'être parfois beaucoup plus chers et moins appropriés pour traiter des lixiviats dont l'enfouissement est dans une phase de maturation (Ross et al., 1989).

Tableau 1.4. Les différents traitements possibles des lixiviats de déchets municipaux (Hjelmar et al., 1995)

	disposition à l'égout	disposition aux eaux	disposition aux eaux
		douces	salées
lixiviats de déchets	a) ou b)	b)	a) ou b)
solides municipaux	ou	+	ou
	a) + c)	c) et/ou d)	a) + c)

a) Traitement biologique ou volatilisation (enlèvement de la matière organique dégradable, $\text{NH}_3\text{-N}$, NO_3^- -N)

b) a) + traitement sur charbon activé (enlèvement de la matière organique non biodégradable)

c) ajustement du pH/précipitation/filtration ou traitement sur charbon activé (enlèvement des métaux dissous, solides en suspension, matière organique non biodégradable)

d) osmose inverse ou évaporation (pré-concentration des solides dissous ou de la matière organique soluble)

Plusieurs procédés de traitement conventionnels ne réussissent pas à épurer les eaux de lixiviation étant donné parfois la très forte contamination. Dans les meilleurs cas, les coûts deviennent très élevés et les gestionnaires de ces lieux hésitent avant d'implanter de tels systèmes (Ross et al., 1989). Bien souvent, le traitement des lixiviats seul ne suffit pas; il requiert donc une combinaison de traitement biologique et physico-chimique (Kapetanios et al., 1995), d'autant plus quand le lixiviat est dans une phase stabilisée,

c'est-à-dire riche en produits organiques et inorganiques non-biodégradables (enfouissement > 20 ans).

Les méthodes utilisées jusqu'à maintenant pour traiter les lixiviats sont surtout les réacteurs conventionnels à boues activées, les réacteurs à lits fixes, les réacteurs séquentiels opérant en cuvée ("sequencing batch reactors", SBR) et les lagons aérés (Welander et al., 1997).

- Le traitement dans des étangs est fréquemment utilisé. On assiste habituellement à des sites contenant plusieurs étangs opérant en série et sous conditions différentes (alternance aération, non-aération). Les étangs permettent une bonne élimination de la DCO, des solides dissous, de l'ammoniaque (Koenig et al., 1997) et agissent comme bassin de préfiltration en éliminant le surplus de matière en suspension. De plus, ils sont capables de convertir, grâce à leurs floes biologiques, des molécules organiques de haut poids moléculaire présentes dans les lixiviats (surtout les jeunes) en biogaz par les micro-organismes méthanogènes. Cette conversion en molécules plus légères et plus facilement assimilables (Kapetanios et al., 1995) aura une grande importance lors de l'étape de dénitrification puisque l'enlèvement des nitrates est accéléré pour des molécules organiques facilement biodégradables.
- Certains auteurs ont calculé que ça prendrait entre 500 et 1700 ans avant que la quantité de matière organique d'un lixiviat d'un enfouissement de déchet municipal traditionnel soit réduite à 20 mg/l et 55 à 80 ans pour que la concentration en $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ chute à 5 mg/l (Hjelmar et al., 1995). L'élimination de l'azote ammoniacal des eaux de lixiviation, en utilisant une unité de nitrification puis la recirculation du lixiviat en tête des déchets, a également déjà été proposée comme stratégie. Il s'agit d'un processus intéressant puisque non seulement le nitrate peut être converti en azote gazeux dans la partie anoxie de l'andain mais en plus la recirculation permet de chasser l'azote ammoniacal contenu dans les déchets. Ce genre de processus a déjà été montré très

efficace à Hong Kong où un traitement aérobie des lixiviats suivi de sa recirculation en tête de l'enfouissement a permis un enlèvement de 99,7% de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (Robinson, 1995). Des recherches récentes ont démontré que des taux de dénitrification compris entre 5 et 30 g $\text{NO}_3^-\text{-N/m}^3/\text{j}$ pouvaient être atteints dans la zone anoxie des jeunes déchets (Blakey et al., 1995). Des déchets très stabilisés ne montrent au contraire aucune capacité à effectuer la dénitrification.

- Le traitement par boues activées est de loin la technique la plus retrouvée pour traiter les lixiviats de LES. Les bioréacteurs à films fixes (lits bactériens, biodisques, biofiltres), quant à eux, ont l'avantage de pouvoir contenir une plus grande quantité de biomasse par unité de volume de réacteur. Ils ne nécessitent pas d'agitation, ni de décanteurs et ont un volume relativement faible. Ils sont très utilisés pour l'élimination de la matière organique (70% des cas au Canada), mais peuvent aussi réaliser conjointement la nitrification et la dénitrification (25% des cas) ou la nitrification seule (5% des cas). Au Québec, à cause de la température froide, les lits bactériens, comme le lit percolant (« trickling filter ») ne sont pas utilisés, alors que les biodisques, eux, ont été utilisés comme unités compactes pour des chantiers par Hydro-Québec. Actuellement, on se dirige de plus en plus vers l'utilisation des biofiltres, particulièrement employés en aquaculture pour éliminer l'ammoniac des eaux (Forteath, 1991). De plus, les biofiltres sont simple d'opération, s'adaptent à la variabilité de la concentration des contaminants du lixiviat. Ils ne requièrent que peu d'entretien, présentent un faible coût d'investissement (Meunier, 1985) et peuvent être adaptés aux besoins de petites exploitations avec des équipements modestes.

Le tableau 1.5 présente un survol des cas de traitement des eaux de lixiviation de LES rencontrés jusqu'à date, avec les performances des différents procédés.

Tableau 1.5. Performances des différentes techniques de traitement des lixiviats de LES

Lieu de l'enfouissement	Traitement	Performances	Références
Site de Dragonja (Slovénie), sur la côte Adriatique	2 lits filtrants à base de tourbe, sol, sable et gravier, interconnectés par le bas	L'efficacité de la nitrification a graduellement augmenté de 72 à 95% au bout de 3 ans	Bulc et al., 1997
Hyllstofta (Suède)	Réacteur de type "air lift" (une zone aérée et une zone non aérée). Volume effectif de 220 ml. Milieu filtrant composé 10% v/v de cubes de cellulose macroporeuse	Taux de nitrification de 40 g $\text{NH}_4^+\text{-N}/\text{m}^3_{\text{réacteur}}/\text{h}$, soit 99,6% d'enlèvement de l'azote ammoniacal	Welander et al., 1997
Vieil enfouissement à Vancouver, Colombie-Britannique (Canada)	Système de boues activées	100% de nitrification avec un taux d'élimination d'ammoniac de 0,10-0,19 g/gSSV/j. 100% de dénitrification du moment que le rapport DCO/NO_x est suffisant (5,9/1 pour l'acétate, 6,2/1 pour le méthanol, 9,0/1 pour le glucose)	Carley et al., 1991
Delta, Colombie Britannique (Canada). Lixiviats déjà stabilisés	Système de boues Activées	100% de nitrification. 10 à 100% de dénitrification quand le glucose est utilisé comme source de carbone. 100% avec le méthanol	Manoharan et al., 1989

Tableau 1.5. suite (1)

Tatun (Taiwan)	Colonne à biomasse fixée (milieu filtrant : charbon activé granulaire)	98% d'enlèvement des nitrates en utilisant des concentrations en méthanol en conditions stœchiométriques dans le réacteur anoxie	Chen, et Chen., 1997
Mechernich, Cologne (Allemagne)	Combinaison réacteurs à boues activées – osmose inverse	Performances de nitrification et de dénitrification atteignant 99% et 90%, respectivement	Hippen et al., 1997
	Principe des boues activées sauf que le réacteur de nitrification est un lit percolant ("trickling filter") contenant du charbon activé sous forme granulaire	100% de nitrification et élimination de 98% des nitrates	Martienssen et al., 1997
	Combinaison de traitements : Filtre anaérobie – 2 réacteurs aérobies à boues activées – Traitement Fenton (mélange de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ et H_2O_2) – réacteur aéré	100% de nitrification. Élimination de 94% des nitrates	Bae et al., 1997
Phase méthanogène	Traitement dans des SBR (11 heures d'aération puis dénitrification avec ajout d'une source de carbone)		Dockhorn et al., 1997
BFI, Lachenaie (Canada)	Étang non aéré – étang aéré – étang non aéré	98% de nitrification et 91% de dénitrification	

Tableau 1.5. suite (2)

NENT, Hong Kong (Chine)	Étangs aérés en mode cuvée	99% d'enlèvement de $\text{NH}_3\text{-N}$	Chen et Esnault., 1997
Borde-Martin, Saint-Etienne (France)	Entreposage dans des étangs aérés – traitement chimique (coagulation-floculation) – traitement biologique	95% d'enlèvement de l'azote ammoniacal, avec un taux de $0.195 \text{ kg NH}_4^+\text{-N/kg SSV/j}$ 80% d'enlèvement des nitrates, avec un taux de $0,38 \text{ kg NO}_3^-\text{-N/kg}$ SSV/j	Primi et al., 1997

1.2. La tourbe

1.2.1. Origine de la tourbe

Généralement, la tourbe se retrouve dans des tourbières qui sont constituées de zones humides où la nappe phréatique est située près de la surface, à égalité ou au-dessus du sol.

La tourbe est composée essentiellement de résidus organiques qui ont été partiellement fossilisés sous des conditions de surfaces humides présentant un manque d'oxygénation (April, 1989). Le dépôt de tourbe s'effectue à cause d'une production de la matière végétale supérieure à sa décomposition (Caron, 1980; Coupal, 1985; Bélanger et al., 1987). En somme, l'environnement humide d'une tourbière et l'accumulation des débris végétaux provoquent une fermentation anaérobie des couches inférieures de la végétation (Coupal, 1985). Cette décomposition de végétaux, au fur et à mesure des années, constitue ce que l'on appelle la tourbe. Aujourd'hui, les réserves mondiales de tourbe sont estimées à environ 1500 milliards de tonnes métriques sèches. Le Canada est le troisième producteur avec une superficie de tourbière qui totalise 138 milliards de m² et une production de tourbe qui s'élève à 0,13% (production de 2176 millions de tonnes métriques de tourbe sèche rien qu'au Québec) (Gagné, 1992).

1.2.2. Classification de la tourbe

La tourbe peut être classifiée sur des bases variées comme sa chimie, son degré de décomposition, son âge, sa composition botanique, sa structure, sa granulométrie ou d'autres paramètres physiques. L'adoption d'un système de classification international fait l'objet de nombreuses discussions (Caron, 1980). L'échelle " Von Post " est communément utilisée pour catégoriser la tourbe selon son niveau d'humidification (Bélanger et al., 1987). Elle comprend dix échelons. Le degré 1 dénote les tissus de

plantes non décomposés et le degré 10, ceux totalement décomposés. La distinction entre les dix échelons est plutôt difficile à faire par examen visuel uniquement. Tel qu'indiqué à l'Annexe A, le classement (H_1 à H_{10}) est déterminé à partir d'une évaluation subjective du degré de décomposition de la tourbe. La conductivité hydraulique d'une tourbe légèrement décomposée peut atteindre 140 cm/h tandis que celle d'une tourbe très décomposée est aussi faible que 0,025 cm/h (Nichols et Boelter, 1982).

1.2.3.Composition de la tourbe

La tourbe est une matière complexe constituée de produits organiques, de produits inorganiques et de certains métaux (Coupal, 1985). Les produits organiques sont prépondérants et l'on retrouve parmi eux les cires, les sucres, les résines, les cendres, les bitumes, les holocelluloses (cellulose et hemicellulose), les matériaux humiques (acides humiques et fulviques) et les lignines. La composition dépend des plantes originales et du degré de décomposition (Caron, 1980; Dubuc, 1982; Ross et al., 1989).

Dans la partie vivante d'une tourbière, on retrouve également diverses formes de végétaux et différentes formes d'activité biologiques adaptées au milieu humide. Les tourbières constituent en effet un écosystème riche tant par la quantité que par la diversité de sa microflore (Bélanger et al., 1987 ; Escot, 1994). À titre d'exemple, Gagné (1992) a montré qu'elle contenait une flore intrinsèque capable de dégrader entièrement l'acide acétique et le glucose contenu dans son effluent de marinaderie ; d'autres auteurs ont montré qu'elle pouvait biodégrader certains hydrocarbures, des pesticides, des solvants organiques, le phosphore (Buelna et al., 1989). Des observations au microscope électronique, lors de l'opération d'un biofiltre à base de tourbe, ont même révélé la présence de rotifères et de levures (Escot, 1994).

En 1974, un chercheur a montré qu'il existait différents profils de bactéries (et de moisissures) en fonction de la hauteur de tourbe et du site d'origine : une zone majeure de

bactéries aérobies et de moisissures sont situées entre la surface et 1,5 mètre de profondeur ($2,3 \times 10^4$ bactéries par gramme de poids humide). Cette zone est suivie d'une zone de moindre importance (1×10^3 bactéries par gramme de poids humide) qui s'étend jusqu'à environ 2 mètres de profondeur (Bélanger et al., 1987). Le site d'origine (hydrologie et salinité des tourbières) influence également considérablement la nature de la communauté microbienne.

1.2.4. Utilisation comme filtre biologique et mécanismes de dégradation

L'horticulture demeure le secteur d'utilisation de tourbe le plus important. Toutefois, les caractéristiques physico-chimiques de la tourbe, sa nature biodégradable et la diversité de sa microflore élargissent son champ d'application à plusieurs autres domaines, dont celui de l'assainissement (Caron, 1980; Caron, 1994). Ainsi, utilisée comme constituant de biofiltres, seule ou en combinaison avec d'autres matériaux, la tourbe fait dorénavant partie, depuis les années 70, des technologies d'épuration utilisables pour le traitement des eaux dont les lixiviats de LES. Certains systèmes de biofiltration sont d'ailleurs déjà en opération au Québec. La tourbe est simple d'opération, accepte une grande variation de la composition de l'effluent (Coupal et Lalancette, 1976; Coupal, 1985; McLellan, 1986; Buelna et al., 1989) et est peu dispendieuse (\$88 par tonne métrique comparativement à \$1100 pour le charbon activé). Par ailleurs, elle assure une hygiénisation bactériologique (pas de coliformes fécaux; Ross et al., 1989) et un effluent à très faible odeur ammoniacal (Coupal, 1985; McLellan, 1986).

La capacité de traitement de la tourbe est due à plusieurs de ses propriétés: sa structure cellulaire, sa grande surface spécifique ($>200 \text{ m}^2/\text{g}$; McLellan, 1986), sa porosité (~95%; McLellan, 1986) et sa capacité d'échange d'ions (Mustin, 1987; Ross et al., 1989; Couillard, 1994). Outre les phénomènes microbiologiques qui règnent à l'intérieur de la

tourbe, quatre mécanismes d'enlèvement principaux sont reconnus: l'échange cationique, la complexation des métaux, l'adsorption et la filtration des matériaux particuliers.

- La *capacité d'échange ionique* est favorisée par la présence de molécules organiques de charge négative telles les acides humiques, uroniques et fulviques riches en éléments carboxyles (-COOH) et hydroxyles (-OH). Cette charge négative est renforcée par la cellulose puisque, mise en contact avec l'eau, sa surface devient chargée négativement (Dubuc, 1982). Les contaminants à charge positive (cations) sont attirés par ces fonctions qui ont un hydrogène échangeable (l'échange des anions est par contre faible du fait de leur répulsion avec les unités chargées négativement). Lorsque la tourbe est mise en contact avec une solution acide, ce sont les groupements carboxyles qui vont capter les cations. Si le pH est basique, ce sont les groupements hydroxyles qui deviennent responsables de l'échange cationique.

- La *complexation* des métaux ou la chélation implique la formation d'un complexe entre le métal et une fonction anionique où il y a partage d'électrons.

Un troisième mécanisme de rétention est l'*adsorption* où les molécules sont fixées à la surface de la tourbe par l'intermédiaire des liaisons de type Van der Waals. L'adsorption se fait principalement avec la cellulose et la lignine, laquelle possède des groupes fonctionnels polaires. La molécule d'ammoniac, bien qu'étant neutre, affiche une configuration pyramidale ainsi qu'une polarité prononcée. Cette molécule a une facilité à être adsorbée, déplaçant pour ce faire des cations échangeables. Par contre, l'ion ammonium, bien que facilement adsorbé, est aisément remplacé par d'autres cations (Tilton et Kadlec, 1979; Dubuc, 1982; Nichols et Boelter, 1982).

- Le dernier mécanisme d'enlèvement de contaminants est par *filtration* des particules en suspension et des métaux précipités.

Un paramètre très important à surveiller lors d'un traitement à base de tourbe est le pH. Ce dernier influe la structure et les propriétés de la tourbe. Pour des pH supérieurs à 8.5, la structure fibreuse de la tourbe se détruit, formant une pâte en solution, processus assez identique à la solubilisation de la cellulose dans l'industrie des pâtes et papiers. Pour des

pH inférieurs à 3,5, la tourbe conserve son intégrité mais sa capacité d'échange diminue considérablement (Coupal et Lalancette, 1976; Coupal, 1985; Grisel, 1980; Dubuc, 1982; Couillard, 1992).

1.3. Composés azotés

1.3.1. Le cycle de l'azote

Dans la nature, l'azote peut se trouver sous forme organique (ex.: protéines) et inorganique (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- , N_2 , etc). En milieu liquide, les composés azotés inorganiques sont prépondérants du fait de leur meilleure solubilité dans l'eau.

Le cycle de l'azote, présenté à la figure 1.2 (Klein, 1995), présente un survol des formes de ce composé dans la nature et de ses voies de transformation. L'ammonification libère de l'ammoniaque (NH_4^+) ou de l'ammoniac (NH_3) et résulte de l'excrétion de composés azotés par les organismes vivants directement sous forme de NH_4^+ (ex. poissons), ou d'urée (ex. humains) ou d'acide urique (oiseaux) et de leur hydrolyse.

Dans un procédé biologique de traitement des eaux usées, l'azote organique est également hydrolysé en ammoniaque. L'ammoniaque peut alors être assimilée par la biomasse, transformé en nitrate par nitrification ou même en azote gazeux par dénitrification. La fixation de l'azote moléculaire produit est réalisée par des algues bleues-vertes (cyanophycées), des bactéries aérobies (ex. *Azotobacter*: celles associées aux racines des légumineuses) et des bactéries anaérobies (ex. *Clostridium*) au niveau des sédiments pour finalement produire de l'azote organique.

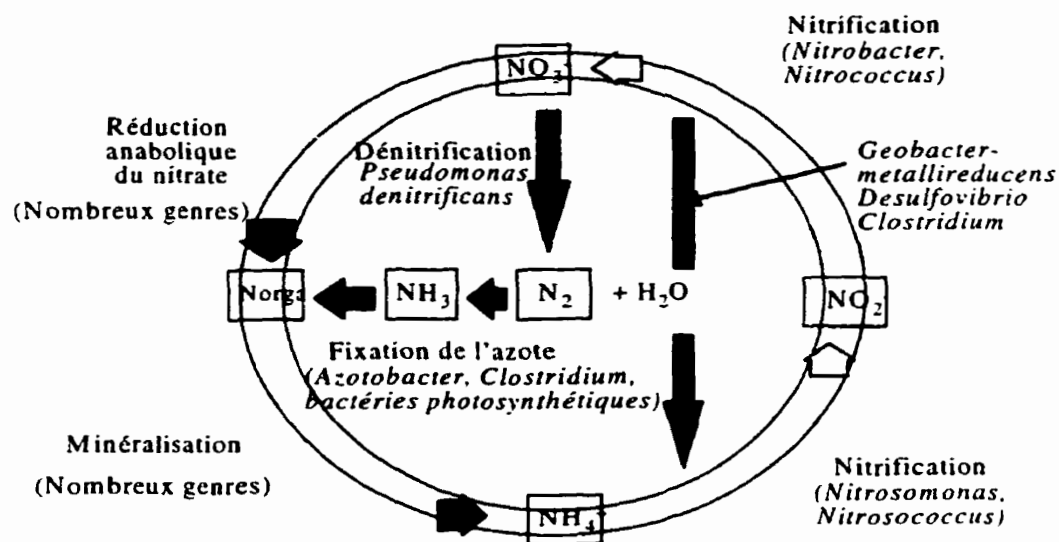


Figure 1.2 Le cycle de l'azote (Klein, 1995) ¹

1.3.2. Effets des composés azotés sur l'environnement

L'azote est probablement l'un des éléments les plus importants dans la nature. Cet intérêt vient du fait que l'azote peut se retrouver au total sous 7 états de valences différents (Sutton et al., 1974). Les différents niveaux d'oxydation de l'azote sont présentés à la figure 1.3.

¹ Les flux se produisant principalement dans des conditions aérobies correspondent aux flèches jaunes. Les processus anaérobies cataboliques correspondent aux flèches pleines. Les processus se déroulant dans des conditions aérobies et anaérobies sont représentés par des flèches rouges. Ces genres importants participant au cycle de l'azote constituent des exemples.

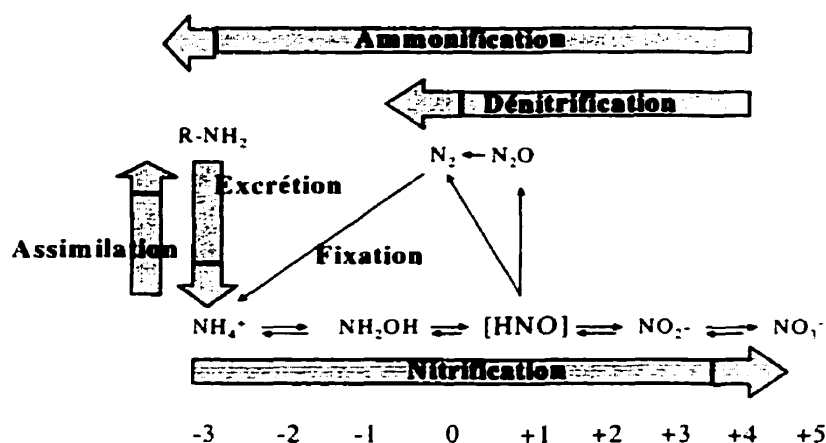


Figure 1.3 Les niveaux d'oxydation de l'azote (Klein, 1995)

Le contrôle des composés azotés est devenu très strict dans le domaine des eaux usées, et particulièrement dans celui des lixiviats de LES qui constituent, à cause de leur toxicité, une menace pour l'aquifère (Ross et al., 1989; Kabbe et al., 1995; Bulc et al., 1997; Burton et al., 1997). Des règlements sur le rejet des composés azotés ont donc été mis en place dans de nombreux pays. Des analyses de lixiviats montrent que 75% de l'azote total consiste en de l'*ammoniaque* (Bae et al., 1997). Bien qu'il est un nutriment essentiel pour la synthèse cellulaire des micro-organismes, il exerce une forte demande en oxygène, et est toxique pour les poissons à des concentrations au-dessus de 0,5 mg/l. Une nitrification incontrôlée conduit à la production de *nitrites* qui sont extrêmement toxiques à des concentrations aussi faibles que 0,1 mg/l d'azote (Forteath, 1991). Les nitrites sont également indésirables dans l'eau potable car ils peuvent réagir avec les amines pour former des nitrosamines, substances potentiellement cancérigènes (Klein, 1995). Enfin, des concentrations en *nitrates* trop élevées sont responsables de l'eutrophisation des lacs. Elles peuvent être toxiques pour de nombreuses espèces aquatiques et incidemment pour l'homme puisque les nitrates peuvent provoquer de l'hypertension et même des cas de cancer à l'estomac (Beg et al., 1997).

1.4. Nitrification

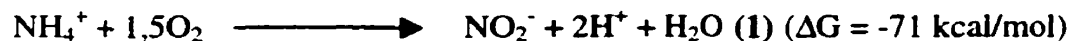
1.4.1. Définitions

La nitrification peut être soit autotrophique, soit hétérotrophique. La nitrification autotrophe est le processus aérobie d'oxydation de l'ion ammonium (NH_4^+) en nitrite (NO_2^-) et l'oxydation subséquente du nitrite en nitrate (NO_3^-). Les bactéries des genres *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosovibrio* et *Nitrosolobus* (Ward, 1996) interviennent dans la première étape; *Nitrobacter* et les organismes chimiolithoautotrophes apparentés (*Nitrococcus*, *Nitrospina*) participent à la seconde étape. Ces bactéries sont aérobies strictes, chimiolithotrophes obligatoires et utilisent le carbone inorganique comme principale source de carbone.

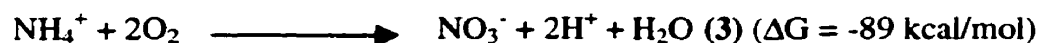
La nitrification hétérotrophique est réalisée par des bactéries qui utilisent la matière organique en carence d'oxygène. Les bactéries et les mycètes contribuent beaucoup à ce processus, principalement dans des milieux plus acides où les micro-organismes nitrifiants chimiolithoautotrophes se développent moins (Klein, 1995). Les souches hétérotrophes sont relativement nombreuses et variées dans les sols et sédiments mais se développent moins vite que les souches autotrophes.

1.4.2. Équations de réaction

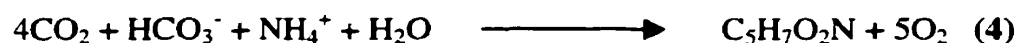
Les réactions de nitrification par *Nitrosomonas* puis par *Nitrobacter* sont thermodynamiquement favorables. L'oxydation de l'ammonium en nitrites (N^{3-} à N^{3+}) comprend une série d'intermédiaires qui sont NH_2 , NH_2OH , NHOH , NOH , NO tandis que l'oxydation des nitrites en nitrates (N^{3+} à N^{5+}) est réalisée en une seule étape (Benefield, 1980; Comeau, 1996). Les équations d'oxydation sont:



soit



Une partie des ions ammonium et de l'énergie libérée lors du catabolisme (5 à 14% pour *Nitrosomonas* et 5 à 10% pour *Nitrobacter*, Benefield, 1980) est assimilée au matériel cellulaire. La réaction de synthèse cellulaire peut être exprimée selon:



où $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$ représente une formule empirique pour les cellules bactériennes synthétisées.

La réaction globale d'oxydation et de synthèse s'écrit alors:



L'équation 5 indique que 1 mg de $\text{NH}_4^+\text{-N}$ requiert 4,3 mg d' O_2 , produit 0,17 mg de bactéries nitrifiantes et consomme 7,14 mg de CaCO_3 d'alcalinité. La nitrification autotrophe est donc caractérisée par une consommation d'oxygène important, une production limitée de biomasse, une acidification du milieu et des taux de croissance bactérienne faibles.

1.4.3. Bactéries nitrifiantes

1.4.3.1. Caractéristiques

Les bactéries nitrifiantes ont une grande importance écologique. Généralement, neuf genres de bactéries nitrifiantes sont inclus dans la famille des *Nitrobacteraceae*. Bien qu'il s'agisse tous d'organismes aérobies Gram-négatifs jusqu'à 2 µm de longueur, sans endospores et capables d'oxyder soit l'ammoniaque soit les nitrites, elles diffèrent considérablement pour d'autres propriétés (tableau en Annexe B). L'identification se base sur des propriétés comme leur forme générale, la nature des membranes cytoplasmiques, etc (Klein, 1995). Les principales caractéristiques des souches *Nitrosomonas* et *Nitrobacter* sont regroupées dans le tableau 1.6.

Tableau 1.6. Caractéristiques des bactéries nitrifiantes (Sharma et Ahler, 1977)

	<i>Nitrosomonas sp.</i>	<i>Nitrobacter sp.</i>
Morphologie		
forme de la cellule	ovale en forme de bâtonnet	ovale en forme de bâtonnet
taille de la cellule	1 * 1,5 µm	0,5 * 1,0 µm
mobilité	peut être mobile	peut être mobile
test Gram	négatif	négatif
poids de la cellule	0,12-0,5 * 10 ⁻¹² g	
Temps de dédoublement	8-36 heures	12-59 heures
Autotrophe	obligé	facultative
Rendement	0,29	0,084
(grammes de SSV produits / gramme de substrat-N oxydé)		
Reproduction	seule, rarement en chaînes	seule, ou petits agrégats de plus de 100 cellules

1.4.3.2. Microbiologie

L'énergie libérée lors de l'oxydation de l'ammoniaque et des nitrites est utilisée pour fabriquer de l'ATP par phosphorylation oxydative. Cependant, les micro-organismes ont besoin d'une source d'ATP pour réduire le CO_2 et les autres molécules. Comme les molécules telles que l'ammoniaque et les nitrites ont des potentiels de réduction plus positifs que le NAD^+ , elles ne peuvent donner directement leurs électrons pour former NADH et le NADPH requis pour l'anabolisme. En effet, les électrons ne se déplacent spontanément que de donneurs à potentiel de réduction plus négatif vers des accepteurs à potentiel de réduction plus positif. Ce type de chimiolithotrophes résout ce problème en utilisant de l'ATP, pour renverser le flux des électrons dans les chaînes de transport et réduire le NAD^+ avec les électrons des donneurs azotés. Comme de l'énergie est utilisée pour générer du NADH aussi bien que de l'ATP, le rendement final en ATP est assez faible. Les chimiolithotrophes peuvent se le permettre car ils n'ont pas de concurrents sérieux pour leurs sources uniques d'énergie. Une représentation des mécanismes enzymatiques de l'oxydation des nitrites en nitrates est illustrée à la figure 1.4; le mécanisme permet le passage normalement pas thermodynamiquement faisable [réduction de la diphosphopyridine nucléotide (potentiel de réduction de $-0,32\text{V}$) par les nitrites ($0,42\text{V}$)].

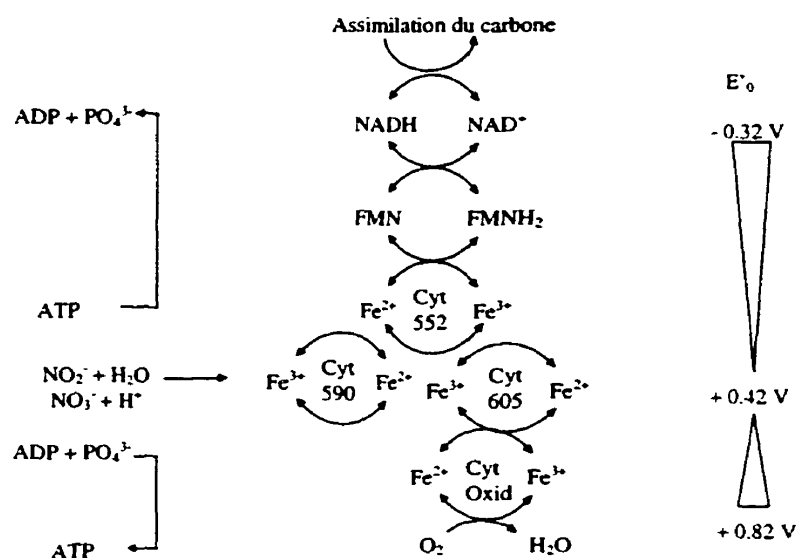


Figure 1.4 Le flux inversé d'électrons lors du processus de nitrification (Sharma et Ahler, 1977)²

² La figure démontre une principale caractéristique du mécanisme: le rendement énergétique par l'oxydation des nitrites peut être utilisé pour deux buts, tout dépendant du besoin. Si la production d'ATP est requise, c'est réalisable en impliquant le cytochrome 605, le cytochrome oxydase et l'oxygène. Si l'assimilation du carbone est requis, la partie supérieure du mécanisme de la figure entre en jeu, résultant en la réduction du NAD en NADH . L'ATP, dans ce cas, est nécessaire pour aider à rendre fonctionnel la chaîne de transport des électrons.

1.4.4. Facteurs influençant la nitrification

1.4.4.1. Effet du pH

Pour les *Nitrosomonas*, le pH optimal est compris entre 7,9 et 8,2 (Villaverde et al., 1997), alors qu'il est entre 7,2 et 7,6 pour le genre *Nitrobacter*. De manière générale, le pH optimal pour la nitrification varie entre 7,2 et 8,5. En dessous de 7,0 et au dessus de 9,8, le taux de nitrification est moins de 50% de celui dans la gamme de pH optimale (Sarampali et Banerji, 1998). La nitrification a également été observée dans les sols à des pH inférieurs à 4 mais à des taux relativement faibles (Princic et al., 1998). Un résumé de l'effet du pH en cultures pures est présenté au tableau 1.7.

Tableau 1.7. Gamme de pH pour la culture de bactéries nitrifiantes (Sharma et Ahler, 1977)

pH	Degré d'inhibition	Circonstances culture pure de :
8,5 – 8,8	optimal	<i>Nitrosomonas</i>
7,9	50%	
9,3	50%	
8,0 – 8,5	optimal	<i>Nitrosomonas</i>
8,3 – 8,6	optimal	<i>Nitrosomonas</i>
7,2 – 8,2	optimal	<i>Nitrobacter</i>
7,2 – 9,2	optimal	<i>Nitrosomonas</i>
6,2	50%	
9,6	50%	
7,3 – 8,4	optimal	<i>Nitrobacter</i>

Trois effets expliquent l'influence du pH sur les bactéries nitrifiantes (Villaverde et al., 1997): l'activation-désactivation des bactéries nitrifiantes, l'effet nutritionnel et l'inhibition causée par l'ammoniac (NH_3) et l'acide nitreux (HNO_2).

- L'activation-désactivation est due aux liaisons entre les ions H^+ et OH^- avec les groupes basiques-acides de l'enzyme qui bloquent ainsi les sites actifs.

- L'effet nutritionnel est lié à la disponibilité du carbone minéral. Cette disponibilité est contrôlée par l'équilibre (CO_3^{2-} - HCO_3^- - CO_2) qui dépend fortement du pH. À faibles pH, CO_2 est l'espèce prédominante et se volatilise, ce qui provoque un manque d'alcalinité et à hauts pH, le carbone minéral est transformé en carbonate qui est peu soluble donc difficilement assimilable.

- L'ammoniac et les nitrites sont connus pour inhiber l'activité microbienne sous leur forme non ionisée (Hasselgren, 1989): NH_3 libre et HNO_2 libre. Les concentrations en NH_3 libre augmentent avec le pH tandis que celles en HNO_2 libre augmentent à faible pH. Bien que ces trois effets se produisent simultanément, l'inhibition causée par NH_3 et HNO_2 est la plus importante. Des études ont, en effet, montré (Dockhorn, 1997):

Concentrations	Conséquences
0,1-1,0 mg/l de NH_3	Inhibition non-compétitive de la 2 ^{ème} étape par NH_3
10-150 mg/l de NH_3	Inhibition non-compétitive de la 1 ^{ère} et de la 2 ^{ème} étape par NH_3
0,2-2,8 mg/l de HNO_2	Inhibition compétitive de la 1 ^{ère} étape par HNO_2

Le mécanisme d'action de l'ammoniac libre (NH_3 libre) et de l'acide nitreux libre (HNO_2 libre) est le suivant (Sharma et Ahler, 1977): lorsque le pH intracellulaire d'un organisme nitrifiant est inférieur au pH extracellulaire, l'ammoniac libre pénètre la membrane

cellulaire entraînant une arrivée de protons pour maintenir un équilibre entre la concentration en NH_4^+ à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule. La conséquence de cette arrivée de protons est un relargage de cations (Ca^{2+} , Mg^{2+} , etc) pour équilibrer les charges de chaque côté de la membrane de la cellule. La cellule perd ainsi une partie de ses éléments fondamentaux pour sa croissance si bien que son activité est inhibée. Similairement, quand le pH intracellulaire est supérieur à celui à l'extérieur, l'acide nitreux libre diffuse dans la cellule entraînant un gradient de protons entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule, et qui a encore pour effet un relargage de cations.

1.4.4.2. Effet de la température

La nitrification, qui suit habituellement la loi de Van't Hoff Arrhenius jusqu'à 30°C, est très sensible aux variations de température d'opération. La plage optimale se situe entre 28 et 36°C (Sharma et Ahler, 1977; Forteach, 1991) pouvant aller jusqu'à 42°C pour *Nitrobacter*. Des études ont révélé qu'une augmentation de température de 4°C, à partir de 21,3°C, causait une augmentation du taux de nitrification de 50% tandis qu'une diminution de 1°C causait une diminution du taux de 30% (Sharma et Ahler, 1977). Parfois, la température semble avoir peu d'influence sur le taux de nitrification. En effet, à plus basses températures, la vitesse de réaction est masquée par une diffusion plus profonde de l'oxygène dans le biofilm (la solubilité de l'oxygène augmente lorsque la température diminue), pouvant augmenter ainsi le nombre de bactéries nitrifiantes (Liu et al., 1996).

1.4.4.3. Concentration en oxygène dissous

L'oxygène est un réactif qui affecte beaucoup l'enlèvement de l'ammoniaque. En effet, en dessous d'une concentration seuil (1 mg/l, Gagné 1992, voire 2 mg/l, Forteath 1991), la quantité d'oxygène n'est plus suffisante pour transformer les nitrites en nitrates si bien qu'une accumulation de nitrites, d'oxyde nitreux ou d'oxyde nitrique est envisageable (Ceçen et al., 1994; Princic et al., 1998). Les expériences menées par Chen et Chen (1997) montrent effectivement que la quantité de NO_3^- formée dans le milieu décroît linéairement quand la concentration en oxygène dissous diminue. De toute évidence, l'injection d'air améliore les performances épuratoires. L'introduction de peroxyde d'hydrogène est parfois préférable à l'oxygène de l'air puisqu'en plus de fournir l'oxygène désiré, il peut casser les chaînes des molécules qui sont difficiles à dégrader.

1.4.4.4. Présence de nitrites

L'accumulation de nitrites toxiques est fréquemment observée lors du traitement des lixiviats. Elle est habituellement attribuée aux conditions défavorables au cours du processus de nitrification. Une réduction de la température, une limitation en O_2 , en CO_2 ou en phosphore, des pH élevés, la présence d'ammoniac libre contribuent à la formation de hautes concentrations en nitrites (Çeçen et Gönenç, 1995). De même, des fluctuations de la charge organique ont des effets directs sur le processus de nitrification dans un réacteur à film fixe (Beg et al., 1997). Il a été montré qu'une augmentation soudaine de la charge conduisait à une diminution du taux de nitrification et à la formation de nitrites.

1.4.4.5. Concentration en ammoniacque, en nitrite et en nitrate

À la fois *Nitrosomonas* sp. et *Nitrobacter* sp. sont sensibles à leur propre substrat et le degré d'inhibition dépend de l'équilibre ammoniac-ammonium et nitrite-acide nitreux (Sharma et Ahler, 1977). Les concentrations en azote ammoniacal et en nitrites retrouvées dans les eaux usées domestiques ne sont habituellement pas suffisantes pour inhiber la nitrification. Toutefois, les inhibitions par le substrat et par le produit sont importantes dans le traitement des eaux industrielles et agricoles (Sharma et Ahler, 1977).

1.4.4.6. Concentration des solides en suspension

Les eaux à hautes concentrations en matières en suspension peuvent susciter le colmatage des filtres si bien qu'une unité de pré-filtration est parfois placée en amont du biofiltre pour augmenter la longévité du lit de tourbe (Bonhomme, 1980; Buelna et al., 1989). Même à faibles concentrations, les solides en suspension ont un effet prononcé sur les performances de la nitrification (Parker et al., 1995) puisque les particules s'adsorbent facilement à la surface du biofilm, réduisant de ce fait l'activité microbienne (Boller et al., 1994).

1.4.4.7. Présence de métaux

La présence de métaux peut nuire à la nitrification. Si les concentrations métalliques dépassent 1,0 mg/kg, une précipitation antérieure des métaux est souhaitable. Dans le cas contraire, la précipitation n'est pas indispensable, et un simple ajustement du pH entre 6,0 et 8,0, permet une nitrification très efficace (Grisel, 1980; Forgie, 1988).

1.4.4.8.Présence de méthane

Il existe d'autres micro-organismes impliqués dans l'oxydation du NH_4^+ . La transformation de NH_4^+ en NO_2^- par les enzymes méthanes monooxygénase des bactéries méthanotrophes est possible, de même que CH_4 peut être oxydé en CH_3OH par l'ammonium monooxygénase des bactéries oxydant NH_4^+ (Roy et al., 1994). Des études cinétiques sur les *Nitrosomonas europaea* ont effectivement montré que CH_4 se lie sur le même site actif (ammonium monooxygénase) que NH_4^+ . Le méthane agit donc comme un inhibiteur compétitif pour l'oxydation de NH_4^+ . Ce résultat reste toutefois à éclaircir puisque, récemment, un article a montré l'effet inhibiteur de NH_4^+ sur l'oxydation du CH_4 mais aucun effet de CH_4 sur l'oxydation de NH_4^+ .

1.4.4.9.Écoulement

Des vitesses d'eau élevées accélèrent la nitrification (Sharma et Ahler, 1977; Tschui et al., 1994; Boller et al., 1994). Cette turbulence réduit également les chemins préférentiels, menant à une meilleure utilisation de la biomasse attachée. Toutefois, des écoulements trop rapides augmentent les pertes de charge (Tschui et al., 1994; Boller et al., 1994), spécialement dans les milieux poreux, et détériorent le biofiltre en modifiant sa porosité, donc sa durée de fonctionnement (Vayenas et al., 1997). Une diminution soudaine de l'activité des organismes nitrifiants peut également être observée due à l'apparition d'un grand nombre d'organismes supérieurs comme les larves volantes (Psychodidae) ou les nématodes qui se nourrissent du biofilm. Pour contrôler le nombre de prédateurs, une faible charge hydraulique est suggérée (Andersson et al., 1994).

1.4.4.10. Temps de résidence hydraulique

Le taux de croissance des bactéries nitrifiantes est inférieur à celui des hétérotrophes: à 20°C et sous conditions favorables, le temps de dédoublement chez les hétérotrophes varie entre 20 minutes et 2 heures alors qu'il est compris entre 16 et 24 heures chez les autotrophes (Carrand et al., 1990). En mode cuvée, la nitrification est ainsi d'autant plus tardive que le rapport DBO_5/NTK de l'affluent est élevé. Dans ce cas, les temps de résidence hydraulique (TRH) doivent alors être suffisamment importants pour permettre le développement des bactéries nitrifiantes. Habituellement, un temps de 6 à 10 jours est souvent requis pour observer, en mode cuvée, le début de la nitrification (Comeau, 1996). Chez Premier Tech, la transformation de l'ammoniaque contenu dans les lixiviats de LES en nitrate, dans des biofiltres à base de tourbe, a souvent lieu après un mois d'alimentation de percolation.

1.4.4.11. Présence de lumière

Il semblerait que la lumière inhibe l'activité des bactéries nitrifiantes. Il a été constaté que la consommation d'oxygène dans le noir à 25°C était 1,22 fois plus élevée pour *Nitrosomonas* et 1,5 fois pour *Nitrobacter* que sous la lumière (4000 lux) (Sharma et Ahler, 1977). La croissance moins rapide des bactéries nitrifiantes, en présence de lumière (particulièrement chez *Nitrobacter*), vient entre autre de la compétition des bactéries nitrifiantes avec les algues, malgré le taux de croissance relativement faible de ces dernières.

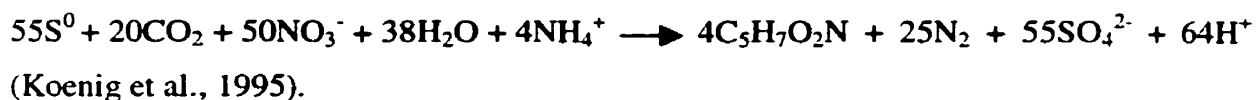
1.5.Dénitrification

1.5.1. Définitions

Le processus de dénitrification requiert un ensemble différent de conditions environnementales. Il s'agit d'un mode de respiration anaérobie qui permet aux bactéries anaérobies facultatives de minéraliser le carbone inorganique en absence d'oxygène moléculaire et dans lequel le nitrate est utilisé comme accepteur d'électrons. Le mot " facultative " signifie que les bactéries utilisent préférentiellement l'oxygène comme accepteur d'électrons, mais possèdent la capacité également d'utiliser les nitrates en cas d'absence d'oxygène moléculaire. Ce processus catabolique implique des bactéries hétérotrophes très nombreuses comme *Pseudomonas denitrificans*, *Micrococcus*, *Archromobacter*, *Spirillum* et *Bacillus* (Monteith et al., 1979).

La dénitrification hétérotrophique est très efficace pour l'enlèvement des nitrates tant qu'il y a suffisamment de matière carbonée dans le système. Cependant, dans plusieurs situations comme dans les lacs, une insuffisance de matière organique peut limiter la dénitrification hétérotrophique à moins qu'une substance organique externe soit ajoutée. La dénitrification autotrophique fait appel à des micro-organismes autotrophes qui réduisent les nitrates en azote gazeux sans avoir recours à l'addition d'une source organique externe. Leur source d'énergie provient de réactions d'oxydo-réduction avec des éléments comme l'hydrogène ou de nombreux composés sulfurés (H_2S , S^0 , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$, SO_3^{2-}) (Bode et al., 1987; Green, 1998) qui agissent comme donneurs d'électrons. Un exemple de ces organismes est *Thiobacillus denitrificans* et *Thiomicrospira denitrificans* qui utilisent le soufre et ses dérivés, et *Paracoccus sp.* qui utilise l'hydrogène. Ces micro-organismes, dont le taux de croissance est beaucoup plus faible que celui des hétérotrophes, ont la particularité de consommer de l'alcalinité et de générer

des fortes concentrations en sulfate. La réduction des nitrates en utilisant le soufre élémentaire est représentée par:



1.5.2. Équations de réaction

La conversion du nitrate peut se produire de façon assimilatrice ou dissimilatrice. Chez les algues, champignons et végétaux supérieurs, la dénitrification est surtout assimilative (intégration au matériel cellulaire). Chez les bactéries, la dénitrification peut être soit assimilative après réduction préalable en ammoniac par une variété de bactéries dont *Geobacter metallireducens*, *Delsufovibrio sp* et *Clostridium*, soit dissimilative par réduction des nitrates en nitrites (dénitrification partielle) voire jusqu'en azote gazeux (dénitrification complète) (Klein, 1995).

1.5.2.1. La réduction anabolique du nitrate

L'azote dans le nitrate (NO_3^-) est beaucoup plus oxydé que dans l'ammoniaque. Le nitrate doit ainsi d'abord être réduit en ammoniaque avant que l'azote ne puisse être converti en une forme organique. Cette réduction du nitrate est appelée la réduction anabolique. Le nitrate est incorporé à la matière organique et ne participe pas à la production d'énergie. La première étape dans l'assimilation du nitrate est sa réduction en nitrite par la nitrate réductase avec NADPH comme donneur d'électrons.



Le nitrite est ensuite réduit en ammoniac par l'addition successive de deux électrons. Cette réaction est catalysée par la nitrite réductase et probablement par d'autres enzymes. L'hydroxylamine peut être un intermédiaire.



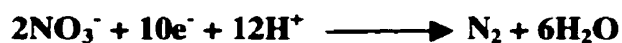
L'ammoniac est alors assimilé comme nutriment pour la croissance microbienne (Murphy et al., 1982). Comme les taux de croissance microbiens en zone anoxie sont considérablement inférieurs à ceux rencontrés en conditions aérobies, l'écosystème anaérobie assimilera moins d'azote qu'en zone aérobie. Carley et al. (1991) estime qu'environ 8 à 10% d'ammoniac est assimilé en zone anoxie.

1.5.2.2. La respiration anaérobie

En absence d'oxygène, la plupart des micro-organismes aérobies sont capables, après une courte période d'adaptation, d'utiliser l'oxygène du nitrate ou du nitrite comme accepteur d'électrons, en fin de chaîne de transport des électrons, pour leur " respiration " (Mange et al., 1990).



Cependant, la réduction des nitrates en nitrites n'est pas un moyen particulièrement efficace pour synthétiser de l'ATP, car une grande quantité de nitrate est nécessaire à la croissance (une molécule de nitrate accepte seulement deux électrons). Le nitrite formé est également assez toxique. C'est pourquoi le nitrate est souvent réduit plus encore en azote gazeux. Chaque nitrate acceptera alors cinq électrons et le produit ne sera pas toxique.



Cette réaction n'est pas directe et fait appel à des produits intermédiaires, respectivement les nitrites (NO_2^-), l'oxyde nitrique (NO) et l'oxyde nitreux (N_2O) qui sont synthétisés grâce à la nitrate réductase, la nitrite réductase et l'oxyde nitrique réductase.

La dénitrification hétérotrophique est caractérisée par des taux de croissance faibles des micro-organismes (Çeçen et Gönenç, 1995), une production très faible de biomasse (Forgie, 1988) et une augmentation de la basicité du milieu. Des considérations stœchiométriques indiquent qu'environ 3,78 grammes d'alcalinité sont produits au cours de la dénitrification d'un gramme de nitrate (Liu et al., 1996).

1.5.3. Facteurs influençant la dénitrification

Bien que la réduction des nitrates en nitrites est l'étape limitante de la dénitrification (Çeçen et Gönenç, 1995), l'accumulation des nitrites est possible: les réductases de nitrites sont inhibées par des fortes concentrations en oxygène dissous ou en nitrate, par des fluctuations de conditions environnementales (température, pH, etc), par une déficience en matière organique, etc.

1.5.3.1. Concentration en oxygène dissous

La présence d'oxygène dissous nuit grandement à la dénitrification puisque encourage son utilisation au lieu des nitrates (Klein, 1995). La concentration maximale en oxygène pour que la réaction puisse avoir lieu est difficile à évaluer; des études en culture

montrent que la production des enzymes dénitrifiantes n'est arrêtée que si la concentration d'oxygène est supérieure à 5 mg/l (Comeau, 1996), d'autres études montrent que la dénitrification est complètement inhibée à 1 mg/l. Cette inhibition vient du fait que les cytochromes de la cellule n'assurent plus leur rôle à une telle concentration en oxygène (Sutton et al., 1974). Bref, la dénitrification pourra toujours débiter même en présence de 1 à 3 mg/l d'oxygène dissous puisqu'il faut discerner entre la concentration d'oxygène dans le macro- et le micro-environnement des organismes hétérotrophes: lorsque 1 à 3 mg O₂/l sont mesurés dans le liquide interstitiel, il est possible que des conditions anoxiques règnent en dessous de la couche externe du biofilm (Mange et al., 1990; Hagedorn-Olsen et al., 1994). En 1994, Hagedorn-Olsen et al. ont développé un modèle évaluant le taux d'enlèvement du nitrate dans un biofilm en présence d'oxygène :

$$R_{NO_3, O_2} = k_1 * [(\beta_{NO_3}^2 + \beta_{O_2}^2)^{1/2} - \beta_{O_2}]$$

où k_1 représente le taux d'enlèvement du nitrate en absence d'oxygène, β_{NO_3} la fraction des nitrates diffusant dans le biofilm sans l'influence de l'oxygène et β_{O_2} la fraction d'oxygène pénétrant.

1.5.3.2.pH

Le pH optimal pour la dénitrification est compris entre 7,5 et 8,0 (Mahne et al., 1996), voire 6,5-8,0 (Surampali et Banerji, 1998). Sous conditions acides, la dénitrification est beaucoup plus lente qu'avec un pH neutre ou alcalin. En effet, à faibles pH (pH<5), la deuxième étape de dénitrification (conversion du nitrite en azote gazeux) est fortement inhibée. Seules les réactions chimiques peuvent réaliser ce passage d'autant plus que les nitrites sont instables et réagissent avec les acides aminés, l'ammoniac et l'urée pour

former de l'azote gazeux. À de tels pH, le passage en azote gazeux est donc possible avec une première étape (conversion de NO_3^- en NO_2^-) par voie biologique et une deuxième étape (conversion de NO_2^- en N_2) par voie chimique (Nichols, 1983).

1.5.3.3. Température

La température a également un effet important sur le taux de dénitrification. La réaction se produit préférentiellement entre 10 et 30°C (Surampali et Banerji, 1998) et le taux de dénitrification double pour chaque augmentation de température de 10°C entre 11°C et 35°C (Nichols, 1983).

1.5.3.4. Concentration en nitrates

La concentration en substrat sur le taux de dénitrification est assez controversée; des auteurs ont montré que la présence de nitrate diminuait l'efficacité d'enlèvement des nitrites (Çeçen et Gönenç, 1995). Au contraire, les travaux de Nichols (1983) ont montré que le taux de dénitrification était indépendant de la concentration en nitrate pour une large gamme de concentration en ion nitrate.

1.5.3.5. Nature de la source carbonée - Rapport DBO:DCO

Le taux de dénitrification est fortement influencé par la nature de la source de carbone. Il est d'autant plus important que la source organique est facilement biodégradable, les

composés faiblement dégradables provoquant préférentiellement l'ammonification des nitrates plutôt que leur dénitrification (Bode et al., 1987).

Les composés organiques contenus dans les lixiviats de LES à un stade de dégradation avancé (faible rapport $\text{DBO}_5:\text{DCO}$) sont souvent réfractaires et par conséquent difficilement assimilables par les micro-organismes. Des sources de carbone comme le méthanol ou l'acide acétique sont alors souvent ajoutées comme donneurs d'électrons (Dockhorn et al., 1997; Chen et Chen, 1997).

1.5.3.6. Rapport $\text{DCO}:\text{NO}_3^-$

La source organique peut être soit un agent extérieur ajouté soit la source organique même contenue dans le lixiviat. Depuis peu, la technologie se dirige vers l'utilisation du carbone des eaux pour des raisons économiques, pour une moins grande production de boues et pour la dégradation d'un maximum de matière organique de l'effluent (Isaacs et al., 1995). Pour une dénitrification qui emploie le carbone du lixiviat, suffisamment de carbone doit être disponible pour dénitrifier les nitrates formés lors de la nitrification et assurer la maintenance et le développement des cellules. Des études ont révélé que des rapports $\text{DCO}:\text{NO}_3^-$ trop faibles ralentissaient considérablement les réactions puisque le pouvoir réductif n'est pas suffisant pour convertir les nitrates en azote gazeux (Martienssen et al., 1997). Le ratio $\text{DCO}_{\text{dissous}}:\text{NO}_x$ utilisé lors de la dénitrification est assez controversé. Manoharan et al. (1989) prévoit une activité bactérienne maximale pour des rapports $\text{DCO}_{\text{dissous}}:\text{NO}_x$ compris entre 4:1 et 6:1 en utilisant le glucose ou le méthanol comme source de carbone. Bratina (1985) envisage un ratio $\text{DCO}:\text{NO}_x$ d'au moins 3:1. Enfin, Carley (1991) montre qu'elle est optimale pour des rapports compris entre 3:1 et 6,6:1.

1.6. Nitrification et dénitrification simultanée

Habituellement, les processus de nitrification et de dénitrification sont séparés l'un de l'autre dans le temps et dans l'espace puisqu'ils opèrent sous des conditions d'oxydo-réduction différentes et avec des micro-organismes différents (Hippen et al., 1997). Cependant, depuis une dizaine d'années, des comportements inhabituels de micro-organismes nitrifiants et dénitrifiants ont été observés :

- De nombreuses bactéries nitrifiantes contenues dans les sols, comme les espèces *Bacillus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Escherchia* et *Erwina* peuvent réduire les nitrates et les nitrites en N_2O . Elles représentent toutefois moins d'un tiers des bactéries capables de dénitrifier jusqu'en azote gazeux (Tiedje, 1982).

D'autres bactéries comme certaines fixatrices de N_2 (*Rhizobium* et *Azospirillum*) ou des dénitrifiantes phototrophes (*Rhodopseudomonas sphaeroides*) sont également capables de réduire les nitrates (Tiedje, 1982).

- Sous conditions limitées en oxygène, voire sous conditions anoxies, certains micro-organismes nitrifiants autotrophes peuvent réduire les nitrates et les nitrites en oxyde nitrique ou nitreux puis en azote gazeux (Chen et Esnault, 1997). C'est ce que remarqua Kuehnlen en 1992 qui montra que *Alcaligenes faecalis* en fait partie (Chen et Esnault, 1997). Il a même été montré que *Nitrobacter* et les oxydants de l'ammoniaque (exemple du type *Nitrosomonas*) pouvaient réduire respectivement les nitrates et les nitrites en conditions anoxies :



Des voies métaboliques de dénitrification en conditions aérobies sont également possibles et ont déjà été constatées dans plusieurs systèmes (biofiltres submergés, disques biologiques, lits fixes, Hippen et al., 1997). Une souche de bactéries, SGLY2, isolée d'un biofiltre anoxie, a même été capable de dénitrifier à des concentrations d'oxygène avoisinants 33 mg/l (Patureau et al., 1997). La bactérie de ce type la plus connue est *Thiosphaera pantotropha*. Son taux de dénitrification en présence de 5,6 mg/l d'oxygène dissous peut atteindre jusqu'à 50% de celui calculé sous conditions anoxies (Patureau et al., 1997). Cette bactérie peut en effet, pendant un certain temps, continuer à produire des enzymes qui utilisent NO_x comme accepteur final d'électrons, même en présence d'oxygène. La nitrification a lieu dans la partie externe (aérobie) du biofilm tandis que la dénitrification se produit simultanément dans la partie interne anaérobie (Kotlar et al., 1996 ; Shanableh et al., 1997). La relation entre l'oxygène dissous et le taux de dénitrification est très complexe. D'une manière générale, il existe une concentration en oxygène dissous où la nitrification et la dénitrification aérobie ont lieu simultanément. Au dessus de cette valeur, la production d'enzymes dégradant les NO_x diminuent graduellement alors qu'une concentration trop faible en oxygène dissous ralentit la nitrification.

Les avantages d'un tel processus combiné sont évidents : les nitrites et nitrates sont connus pour inhiber le taux de nitrification. Leur enlèvement, immédiatement après leur formation permet de rétablir le taux de nitrification; le profil du pH est plus modéré dans un tel système étant donné que la dénitrification compense l'acidité produite par les bactéries nitrifiantes; les coûts d'équipement ou du moins la taille de l'équipement sont réduits (besoin d'un seul réacteur), de même que le temps nécessaire pour une complète nitrification et dénitrification (Münch et al., 1996).

- Il fut aussi montré que les bactéries dénitrifiantes étaient capables de nitrifier le lixiviat. Cependant, les taux de nitrification de ces bactéries hétérotrophes sont

généralement environ 100 fois plus faibles que ceux observés avec des bactéries autotrophes (Çeçen et Gönenç, 1995; Martienssen et al., 1997).

CHAPITRE 2

MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Caractérisation des lixiviats

2.1.1. Provenance des lixiviats et normes de rejets à atteindre

Le lixiviat étudié provient d'un site de LES (BFI) situé à Lachenaie. Le site, qui est en plein air, reçoit annuellement 800000 tonnes de résidus provenant d'environ 10 municipalités de la communauté urbaine du Montréal. Il est divisé en vingt cellules de 40 pi³ chacune et recouvertes de 10 pieds d'argile pour minimiser l'infiltration des eaux de pluies. Les eaux de lixiviation produites sont dans un premier temps récupérées, via un réseau de collecte, et acheminées par gravité dans un étang non mélangé et non aéré de 24000 m³. Elles sont ensuite pompées vers un étang aéré avant d'être dirigées vers un second étang non aéré et non mélangé. Le volume total des étangs est approximativement de 66000 m³. Les eaux sont alors desservies directement aux égouts de la municipalité si elles satisfont les normes de rejet requises.

La détermination des procédés de traitement requis est fonction des caractéristiques des eaux à traiter et des objectifs à atteindre. Ces objectifs sont établis selon le point de rejet final de l'effluent : station d'épuration, eaux de surface ou eaux souterraines. Les critères sont normalement évalués en fonction de la capacité du milieu récepteur à recevoir les types de contaminants prévus et dans quelles proportions. On a donc des objectifs de rejet qui sont spécifiques à chaque site. Cependant, plusieurs pays ont établi des normes de référence de base. Le tableau 2.1 présente les normes de rejet à atteindre au Québec en amont d'une station d'épuration.

Tableau 2.1 Normes de rejet des eaux de lixiviation

Composant	Unité	Valeur
azote ammoniacal	exprimé en N (mg/l)	30
DBO5	mg/l	50
DCO totale	mg/l	100
NO ₂ ⁻ + NO ₃ ⁻	mg/l	n.s
pH		6 < < 9,5

n.s: non spécifié. Aucune norme n'est fixée pour le rejet des lixiviats dans l'émissaire des stations d'épuration

2.1.2. Conservation des lixiviats

Approximativement 1000 litres de lixiviat ont été prélevés en juin 1998 dans le premier bassin non aéré, non mélangé ainsi que 100 litres de lixiviat sortant directement de la masse de déchets en mars 1999 (lixiviat brut). Étant donné la variabilité des caractéristiques du lixiviat en fonction du temps, les eaux en provenance des étangs sont entreposées à 4°C dans un réservoir réfrigéré en acier inoxydable de 1000 litres de façon à minimiser l'activité microbienne dans le milieu, donc à maintenir la qualité du lixiviat constante (Lafrance et al., 1996; Vayenas et al., 1997). Le lixiviat n'est pas agité dans le réservoir afin de permettre le dépôt des particules solides. Enfin, la partie inférieure du réservoir est reliée à l'égout. La vanne est fermée tout au long de l'opération et n'est ouverte que lors du lavage du réservoir ou lors d'une vidange.

2.1.3. Caractérisation des lixiviats

2.1.3.1. Composition chimique

À leur arrivée, les lixiviats sont analysés. Les paramètres mesurés comprennent l'azote ammoniacal, les nitrites et les nitrates, la DBO₅, la DCO, le pH, l'alcalinité, l'oxygène dissous et le potentiel d'oxydo-réduction. Les techniques analytiques sont conformes aux méthodes standards (Standards Methods, 1995) et sont celles décrites à la section 2.6.

2.1.3.2. Composition microbiologique

Comme mentionné dans le paragraphe 1.1.2, l'enfouissement sanitaire forme un écosystème bien complexe dans lequel plusieurs mécanismes de dégradation interviennent. On retrouve parmi eux l'étape de dénitrification dans la partie anoxie des déchets. L'objectif de cette partie est de déterminer si le lixiviat de l'étang non aéré contient des micro-organismes dénitrifiants qui auraient pu lixivier de la masse de déchets. La présence de bactéries dénitrifiantes est vérifiée à l'aide d'un test colorimétrique présenté au paragraphe 2.2.2.2. La procédure est identique sauf qu'au lieu d'inoculer les micro-organismes ayant poussé sur boîtes de Pétri, on verse directement 0,1 ml de lixiviat dans 9 ml de bouillon de culture (trypticase soy broth, 0,1% agar noble, 0,1% KNO₃). Les tubes sont incubés à 30°C pendant 36 heures avant d'ajouter les réactifs nécessaires au test.

2.2. Caractérisation de la tourbe granulaire

2.2.1. Caractérisation physique de la tourbe

La tourbe utilisée, fournie par Premier Tech (Rivière-du-Loup, Québec), est une tourbe granulaire brune légèrement décomposée (degré de décomposition Von Post H-4 à H-5) et ayant une faible humidité de $6,8 \pm 0,4 \%$ (voir Annexe C). Il s'agit ainsi d'une tourbe jeune, offrant de bonnes performances au niveau de conductivité hydraulique (0,8 cm/s; Martineau, 1999). Elle a initialement été mélangée avec un agent liant lors de sa fabrication et se présente sous forme de cube de 5 cm de côté.

2.2.1.1. Rétention liquide

La structure d'un biofiltre à base de tourbe comprend deux phases, chacune caractérisée par une rétention " ε " (figure 2.1).

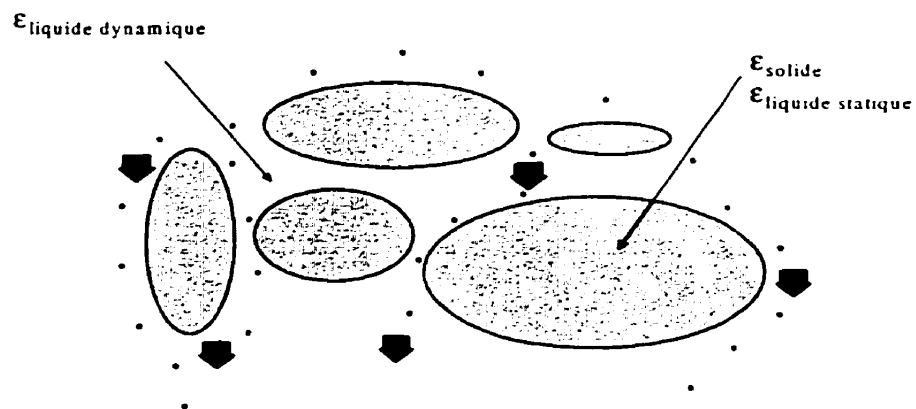


Figure 2.1 Les différentes rétentions de la tourbe

La rétention solide (ϵ_s) représente le rapport du volume de la tourbe (excluant le volume des pores) sur le volume total du lit. La rétention liquide (ϵ_L) se subdivise comme suit :

- la rétention liquide statique (ϵ_{Ls}) représente le liquide interne capturé à l'intérieur des pores de la tourbe et non drainable;
- la rétention liquide dynamique (ϵ_{Ld}) représente le liquide externe s'écoulant entre les particules de tourbe. Il est à noter qu'en mode submergé, la rétention liquide dynamique est en fait égale à la rétention gazeuse du lit filtrant.

Le protocole expérimental permettant de déterminer les différentes rétentions est décrit au PE 19C. En bref, l'expérimentation débute par la submersion du lit de tourbe (V_{lit}) avec un volume d'eau connu (V_{eau}) dans un bécher. Les granules de tourbe sont découpées en cubes de 8 mm de côté et sont plaquées avec un poids pour saturer les pores en liquide et éviter ainsi une remontée des cubes en surface. De l'eau est rajoutée régulièrement afin de maintenir le niveau d'eau égal à V_{lit} . Les essais sont réalisés en triplicata afin d'estimer un écart type sur les valeurs des rétentions. Au bout de trois jours, on note la quantité totale d'eau qui peut s'écouler ($V_{drainé}$). À partir de ces mesures, il est possible de calculer les rétentions solide et liquide selon :

$$\epsilon_{Ls} = (V_{eau} - V_{drainé}) / V_{lit}$$

$$\epsilon_g = \epsilon_{Ld} = V_{drainé} / V_{lit}$$

$$\epsilon_s = 1 - (\epsilon_{Ls} + \epsilon_{Ld}) = 1 - (V_{eau} / V_{lit})$$

2.2.1.2. Contribution de la tourbe à la charge organique et inorganique

Martineau (1999) a montré que la tourbe granulaire contenait 410 mg/kg d'ammoniaque et 35 mg/kg de nitrate. Il est intéressant de savoir si les substances organiques et inorganiques (ammoniaque et nitrate) contenues dans la tourbe, peuvent être lessivés en solution par le processus de lixiviation.

Ainsi, 4,67 grammes de tourbe broyée sont introduits dans un pot Mason contenant préalablement 2000 ml d'eau déionisée (absence d'ions et DCO nulle) et 60 billes de verre. Ce pot, fermé à l'atmosphère, est vivement agité pour améliorer le transfert des constituants de la tourbe vers la phase aqueuse. L'agitation dure 60 jours au bout desquels on mesure la DCO et la quantité de composés inorganiques (NH_4^+ , NO_x) relargués en solution.

2.2.2. Caractérisation microbiologique de la tourbe

Il existe une grande diversité physiologique chez les micro-organismes des tourbières. Les mécanismes de biodégradation, dans la partie vivante d'une tourbière, sont principalement réalisés par des champignons microscopiques, des algues et des bactéries (Malterer et al., 1996). Dans la tourbe, ces organismes sont à l'état de dormance, donc inactifs. Couillard (1992) montre en effet que l'activité microbienne cesse pour des humidités inférieures à 30%.

Avant de procéder aux tests de nitrification et de dénitrification en colonne, il importe de savoir si le milieu filtrant peut dégrader les contaminants ciblés de notre étude. Cette section consiste donc à déterminer si la tourbe granulaire possède une activité intrinsèque capable de dégrader à la fois l'ammoniaque et les nitrate.

2.2.2.1. Détermination de la présence des bactéries nitrifiantes

La détermination de la présence de bactéries nitrifiantes dans la tourbe est rendue possible en réalisant, en triplicata et à température ambiante, des expériences en cuvée dans des pots Mason (figure 2.2).

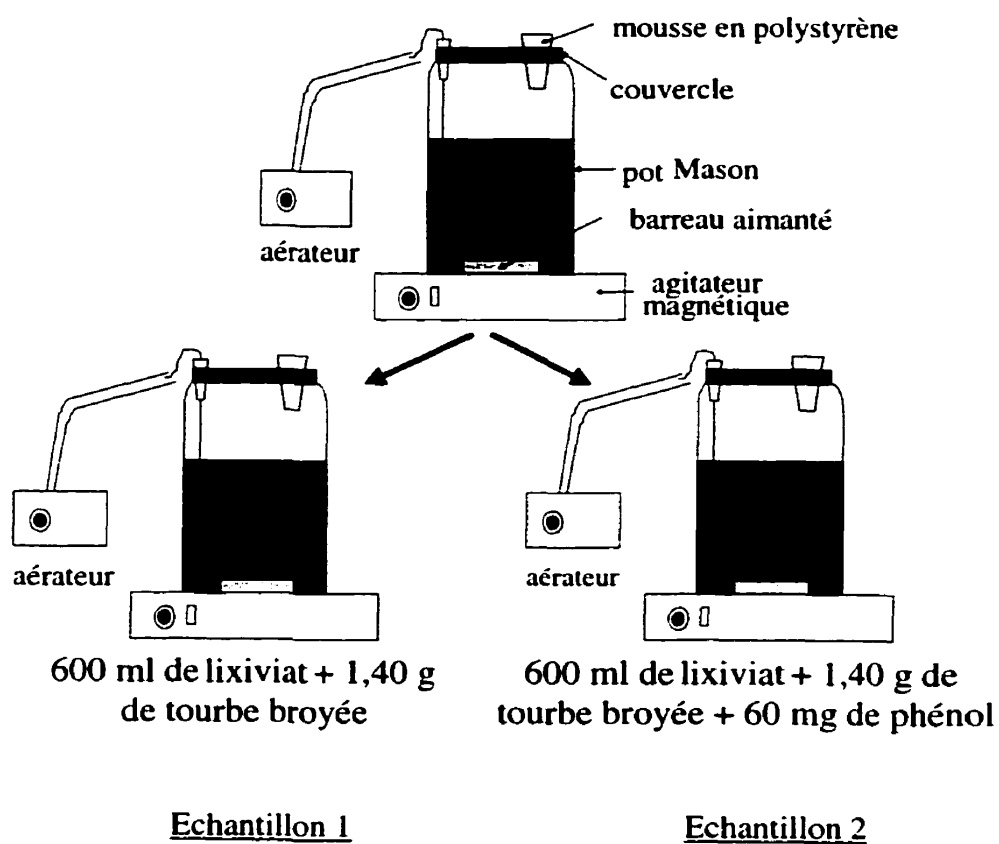


Figure 2.2 Les expériences de nitrification en cuvée

Ainsi, 1,40 g de tourbe préalablement broyée et 600 ml de lixiviat provenant de l'étang non aéré sont introduits dans les pots Mason identiques. L'échantillon 2 est un témoin stérile et permettra d'avoir des informations quant à l'ammoniaque éliminée par voie biologique (incluant celle servant à la synthèse cellulaire). Comme il est préférable d'utiliser un inhibiteur de nitrification plutôt que d'autoclaver la tourbe puisqu'un traitement thermique modifie non seulement la structure de la tourbe mais lui fait perdre son caractère hydrophile (Viraraghavan et al., 1986), 60 mg de phénol (seuil de toxicité de 10 mg/l, Comeau 1996) ont été ajoutés dans les échantillons 2.

Le pH des solutions est régulièrement vérifié. Il doit, dans tous les cas, être équivalent pour être dans les mêmes conditions d'opération et le plus proche possible de 7,6-7,9 (pH optimal pour la nitrification). Cet ajustement du pH est réalisé à l'aide d'un tampon phosphate (KH_2PO_4 , 6g/l) (Villaverde et al., 1997).

Les pots sont soumis continuellement à un bullage d'air (75 ml/min) de façon à fournir l'oxygène nécessaire aux micro-organismes. Ils sont soumis à la même vitesse d'agitation (90 tours/minute) pour permettre un bon transfert d'oxygène.

Enfin, les pots Mason sont recouverts dans leur partie supérieure par un couvercle afin de minimiser l'évaporation de l'eau qui rendrait le bilan de matière sur les composés azotés difficile à effectuer.

2.2.2.2. Détermination de la présence des bactéries dénitrifiantes

La présence de bactéries dénitrifiantes sur la tourbe est difficile à déterminer avec des tests en pots Mason puisqu'il n'est pas possible de quantifier l'azote gazeux produit. Il a donc fallu réaliser un milieu sélectif, sur boîtes de Pétri, constitué d'agar nutritif avec en plus une source de nitrate. Le protocole expérimental en détail est présenté en Annexe D. Comme le développement des bactéries dénitrifiantes n'est possible qu'en absence d'oxygène, les cultures sont conservées en milieu anaérobie dans une jarre Gas Pak. Dans ce procédé, on rend l'environnement anaérobie grâce à l'utilisation d'hydrogène et d'un

catalyseur à base de palladium, qui élimine l'O₂ en formant de l'eau. La jarre est avant tout soumise à un barbotage d'azote gazeux afin d'y chasser l'air.

Les organismes ayant poussé sur Pétri sont inoculés en conditions anaérobies dans un bouillon nutritif contenant 0,1% massique de nitrate de potassium (KNO₃) et 0,1% massique d'agar noble. À la suite de l'inoculation des micro-organismes dans le bouillon (36 heures à 30°C), l'addition de deux réactifs (acide sulfanilique et N-N-diméthyl-1-naphtylamine) puis de la poudre de zinc déterminera si l'organisme possède la capacité de réduire les nitrate en azote gazeux. Ceci peut être résumé à la figure 2.3.

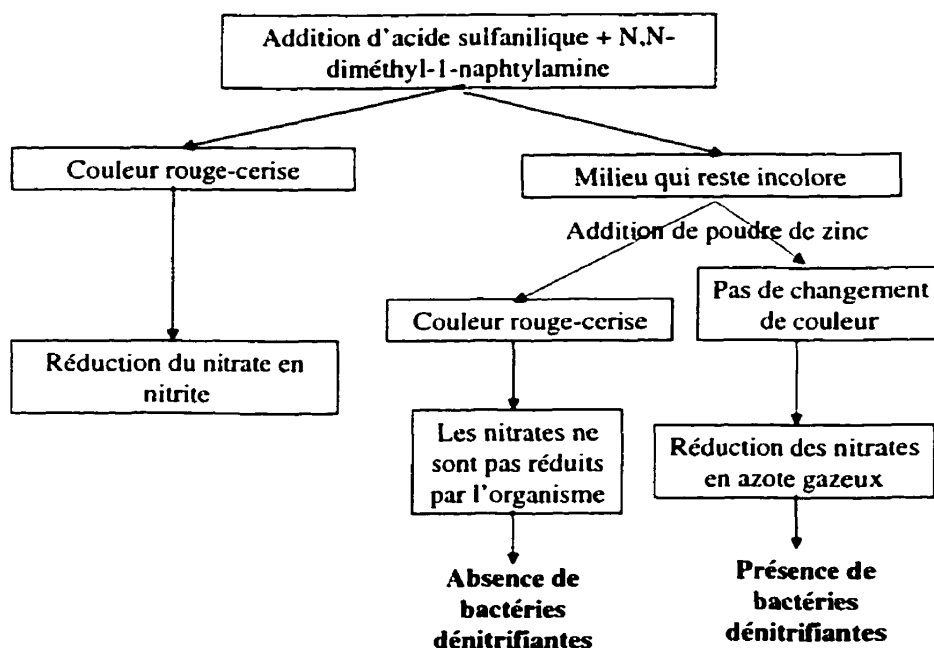


Figure 2.3 Organigramme permettant de déterminer la présence de bactéries dénitrifiantes à l'aide de l'acide sulfanilique, le N-N-diméthyl-1-naphtylamine et la poudre de zinc

2.3. Essais de nitrification

L'objectif des essais de nitrification en colonnes est d'étudier la cinétique de dégradation de l'ammoniaque contenu dans le lixiviat de l'étang non aéré en fonction de la hauteur de colonne. Pour cela, deux tests ont été effectués. Une expérience en percolation avec aération naturelle et une autre en submergé avec aération forcée. Les protocoles expérimentaux de ces essais sont situés en Annexe E.

2.3.1. Colonnes en percolation avec aération naturelle

Afin de connaître le profil de la concentration en ammoniaque en fonction de la hauteur de colonne en régime permanent, différents montages expérimentaux ont été mis en place: la colonne principale en plexiglass (diamètre interne = 3''; hauteur = 14.5''; diamètre externe = 3^{1/2}'') est divisée en trois unités de même diamètre mais de hauteurs différentes (figure 2.4). Les colonnes opèrent à température ambiante et sont recouvertes de papier aluminium empêchant la formation d'algues (Vayenas et al., 1997). Elles sont alimentées en continu (débit de 3,5 litres par jour) et par percolation au moyen d'une pompe péristaltique multitétes à vitesse variable (Masterflex modèle 7520-25). Afin d'éviter l'obstruction des tubulures de la pompe, un morceau de polystyrène accompagne le tube pour ne pomper que les eaux de surface.

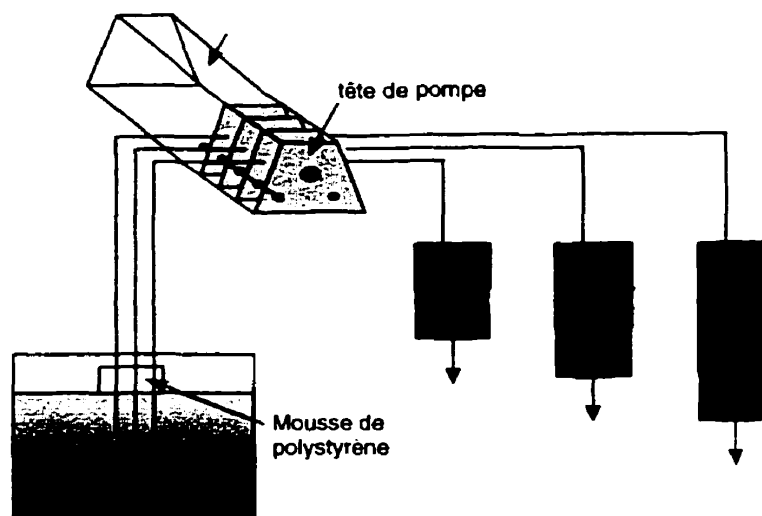


Figure 2.4 Principe des essais en percolation avec aération naturelle

2.3.1.1. Description du montage

2.3.1.1.1. Aération

Lorsque la fraction de vide dans le lit est petite et les besoins en apport d'oxygène sont grands, un courant forcé de gaz doit être appliqué au système. Au contraire, lorsque la fraction de vide du lit est importante et la demande en oxygène est faible (ce qui est notre cas), le transport d'oxygène par convection naturelle peut être suffisant pour ne pas être limitant aux micro-organismes. Il s'agit ainsi de vérifier si la diffusion de l'oxygène de l'air, par convection naturelle, est suffisante pour contrer la consommation biotique et abiotique d'oxygène au passage dans la colonne et rendre ainsi possible la nitrification.

2.3.1.1.2. Choix du type de distribution

Une mauvaise distribution du liquide à la surface du réacteur peut entraîner divers problèmes, comme la création d'écoulements préférentiels. En 1993, des auteurs ont développé un modèle concernant l'influence d'une mauvaise distribution sur l'efficacité d'une colonne garnie. Le modèle démontrait qu'une variation minime de la distribution initiale du liquide pouvait affecter les performances globales du réacteur. En conséquence, il s'agit de déterminer le type de distributeur approprié assurant une distribution radiale du liquide le plus uniforme possible.

Plusieurs manières de distribuer le lixiviat sont imaginatives, comme l'utilisation d'étoiles circulaires ou de plaques poreuses. Le cône rotatif a également déjà été utilisé par Gagné (1992) pour arroser ses cubes de tourbe. Étant donné nos faibles débits, on se penchera préférentiellement vers l'utilisation de billes de verre (diamètre = 3 mm) placées en haut de colonne. L'avantage d'un tel distributeur est que les billes sont inertes et qu'elles peuvent être changées à tout moment si elles subissent un colmatage ou si de la biomasse se développe dessus.

2.3.1.1.3. Tourbe et adjuvants utilisés

Le milieu filtrant est principalement à base de tourbe. Afin d'assurer une bonne distribution radiale du liquide, tout en minimisant les effets de parois, les granules de tourbe sont découpées en cubes de 8 mm de côté de manière à ce que le diamètre de la colonne soit supérieur à 10 fois le côté du cube de tourbe (Lieto, 1995). C'est une exigence qui devra être satisfaite pour la mise à l'échelle des résultats issus des études en laboratoire. Des adjuvants (copeaux d'érables) sont également ajoutés étant donné que l'oxygène dissous dans certains micro-environnements du lit de tourbe peut être limitant, notamment quand ce dernier devient trop compact. En effet, un tassement du milieu filtrant causé par le poids des couches supérieures de tourbe mouillée sur les couches inférieures, est souvent observable lors de l'opération d'un biofiltre à base de tourbe (Bélangier, 1994). Les copeaux de bois permettent également de prolonger significativement la durée de vie du biofiltre. Ce phénomène est attribuable à la structure

même des copeaux qui est caractérisée par des interstices plus grands, en comparaison avec la tourbe, donc qui nécessitent plus de temps à être bouchés par la biomasse.

2.3.1.1.4. pH

Le pH du lixiviat est ajusté au jour le jour à l'aide d'une solution de tampon phosphate (KH_2PO_4 , 6g/l) de manière à ce qu'il reste compris entre 7,5 et 8,5 entre l'entrée et la sortie des colonnes. Dans cette gamme de pH, la volatilisation de l'ammoniac ("stripping") est ainsi peu significative ($\text{pK}_a_{\text{NH}_3/\text{NH}_4^+} = 9,3$ à 25°C). Le montage avec l'ajout de solution tampon est présenté à la figure 2.5.

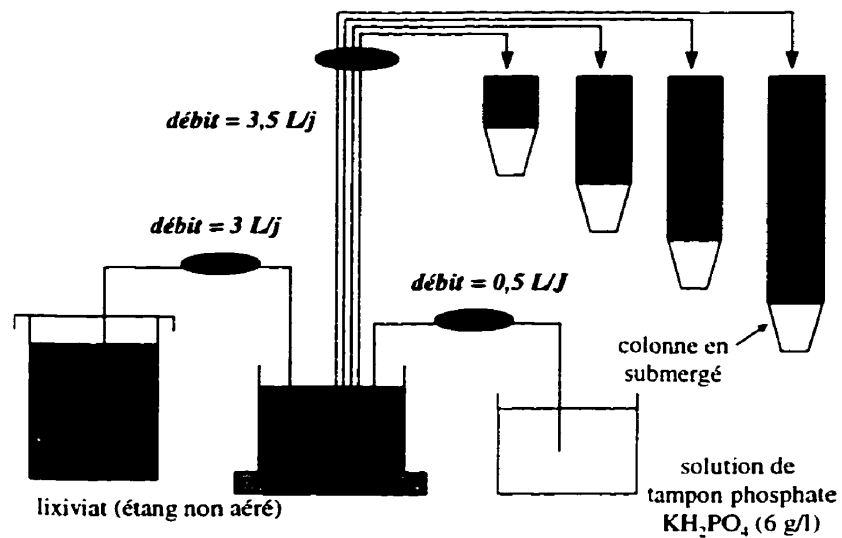


Figure 2.5 Montage des essais de nitrification avec ajout d'une solution tampon

2.3.1.2. Essai en conditions stériles

Pour savoir si la formation de nitrates est due à un phénomène physico-chimique ou biologique, un essai identique mais en milieu stérile est nécessaire. L'irradiation semble être le meilleur moyen pour parvenir aux résultats puisqu'en plus de "tuer" tous les micro-organismes, elle ne change pas la structure du milieu, qu'il soit sous forme liquide ou solide. Cet essai d'irradiation a été effectué par le Centre d'irradiation du Canada (MDS Nordion) sur 20 litres de lixiviat issu de l'étang non aéré et sur les granules de tourbe de la colonne 3. Après l'irradiation, la colonne est alimentée au même débit que précédemment pendant 5 jours.

2.3.1.3. Quantification de la biomasse nitrifiante

Il est intéressant, pour fins de comparaison, de déterminer la quantité de micro-organismes sur la hauteur de tourbe, en régime permanent. Une méthode très utilisée pour quantifier les bactéries nitrifiantes est le test colorimétrique du "bleu indophénol" (Keeney et Nelson, 1982). La méthode du nombre le plus probable (NPP) est également possible (Sharma et Ahler, 1977; Schmidt, 1982). Cette méthode donne une estimation indirecte et statistique du nombre de cellules vivantes impliquées dans la réaction considérée. Deux milieux nutritifs sélectifs sont réalisés pour dénombrer les micro-organismes du genre *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*. La recette de ces milieux de culture, déjà utilisée par Mahne en 1996, et le protocole standard d'opération sont présentés en Annexe F.

2.3.2. Colonne en mode submergé avec aération forcée

Une expérience en mode submergé est également effectuée pour comparer les résultats à ceux obtenus avec aération naturelle. L'avantage d'opérer en mode submergé est que l'on s'affranchit du problème de distribution puisqu'à sa tombée, la goutte est supposée se répartir sur la surface libre du liquide. Le lixiviat et la tourbe sont identiques à ceux des essais précédents, de même que le montage avec ajout de tampon phosphate pour conserver un pH compris entre 7,5 et 8,5 (figure 2.5)

2.3.2.1. Description du montage

La colonne utilisée est en plexiglass (diamètre interne = 3''; hauteur = 20''; diamètre externe = 3^{1/2}''), opère à température ambiante et consiste en un lit de tourbe granulaire complètement immergé. Elle est percée à 6 hauteurs différentes afin de suivre, par des prélèvements à l'aide de seringues, les paramètres souhaités aux divers plateaux, une fois le régime permanent établi (figure 2.6). Le niveau d'eau est maintenu constant grâce à la présence d'un siphon en bas de colonne. Quant à l'apport d'oxygène, celui-ci est réalisé à l'aide d'un diffuseur d'air placé dans la partie inférieure de la colonne (au centre de la partie conique) et dont le débit d'aération est fixé à 150 ml/min.

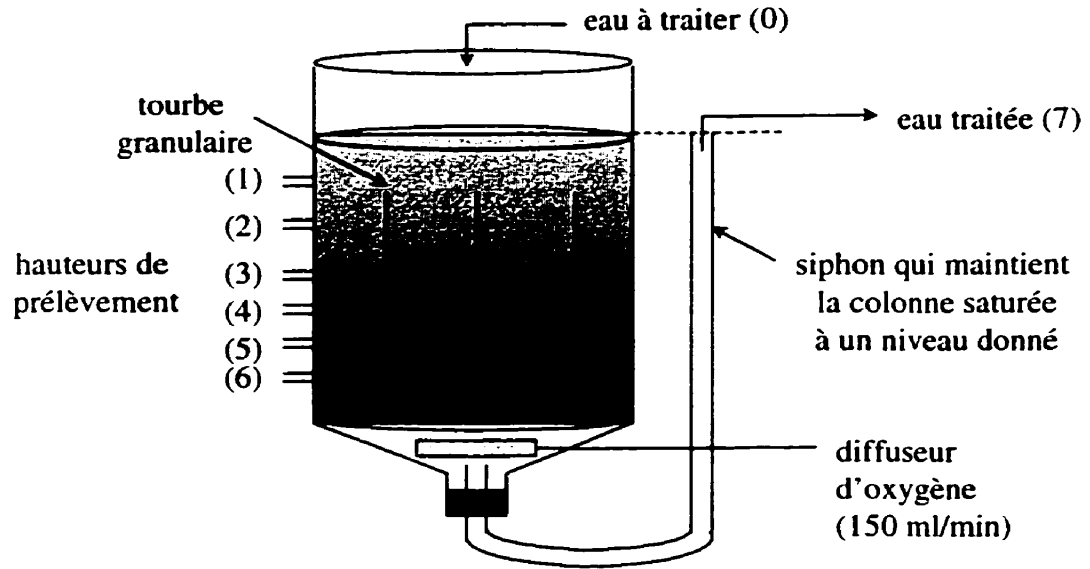


Figure 2.6 Montage expérimental de l'essai de nitrification en mode submergé

2.3.2.2. Charge hydraulique

Un des principaux paramètres opératoires d'un lit filtrant à base de tourbe est la charge hydraulique appliquée (vitesse superficielle du liquide). Cette dernière est limitée par la résistance du lit à l'écoulement du liquide. D'autre part, la charge hydraulique doit être telle à maximiser la durée de vie du biofiltre (retarder le colmatage), à ne pas perturber le comportement hydrodynamique du biofiltre et à éviter le lavage des micro-organismes. La charge hydraulique appliquée pour des systèmes de biofiltration à base de tourbe granulaire varie d'un auteur à l'autre. D'une manière générale, elle doit être comprise entre 0,1 et 3 $\text{m}^3/\text{m}^2/\text{j}$. Lafrance et al. (1996) ont alimenté leurs colonnes avec une charge de 0,11 $\text{m}^3/\text{m}^2/\text{j}$, Gagné (1992) a appliqué une charge hydraulique de 0,5 $\text{m}^3/\text{m}^2/\text{j}$ tandis que Meunier (1985) a utilisé une charge de 0,84 $\text{m}^3/\text{m}^2/\text{j}$. Dans notre cas, elle est égale à 0,7 $\text{m}^3/\text{m}^2/\text{j}$, soit un débit volumique de 3,5 litres par jour.

2.3.3. Mesure de l'alcalinité du lixiviat

L'alcalinité du lixiviat est mesurée à différentes hauteurs de colonne, en régime stationnaire. La technique analytique est conforme aux méthodes standards (Standards Methods, 1995) et est décrite dans la section 2.6.4. Ainsi, 30 ml de lixiviat sont prélevés en haut et en bas de chacune des colonnes puis sont dosés par une solution d'acide sulfurique de concentration connue (la concentration en H_2SO_4 est déterminée en réalisant un titrage de la solution acide avec une solution de soude de concentration connue). Les analyses sont effectuées en triplicata afin d'y estimer un écart type sur les valeurs.

2.3.4. Comparaison des performances entre les colonnes avec aération naturelle et forcée

Afin de comparer les performances épuratoires de la colonne avec aération naturelle et celle avec aération forcée, l'efficacité d'enlèvement (E) est déterminée pour chacune des colonnes et à chaque plateau, en régime permanent. Le résultat pourra ensuite permettre de s'orienter ultérieurement vers le choix d'une des deux colonnes pour les essais de nitrification et dénitrification jumelés, et de manière générale de savoir quel type de colonne choisir à grande échelle.

E est défini comme étant le pourcentage d'ammoniaque éliminé entre l'entrée et la sortie de la colonne, soit :

$$E = (C_0 - C) * 100 / C_0$$

C_0 : concentration en entrée du biofiltre (affluent)

C : concentration en sortie du biofiltre (effluent)

2.3.5. Hydrodynamique des colonnes (aération naturelle et forcée)

2.3.5.1. But de l'expérience

La distribution des temps de séjour (DTS) dans un lit de tourbe, caractérisée par un degré élevé de la rétention du liquide interne et par une faible vitesse du liquide, a été à notre connaissance peu étudiée. D'autre part, aucune étude hydrodynamique d'une colonne opérant en mode submergé avec une aération en bas de colonne n'a été réalisée. D'un point de vue fondamental, il est intéressant de comprendre le comportement de lits filtrants dotés des caractéristiques mentionnées ci-haut. Le but de cette expérience est de déterminer, par des essais de traçage, le type d'écoulement (piston vs CSTR) dans les biofiltres avec aération naturelle et forcée afin de mieux connaître le comportement du liquide à l'intérieur de ces unités (présence de volumes morts, de chemins préférentiels, etc).

2.3.5.2. Choix de $^3\text{H}_2\text{O}$ comme traceur

Les matériaux radioactifs et les colorants sont les traceurs les plus couramment utilisés. Des tests avec du NaCl comme traceur ont déjà été entrepris mais il a été montré que la tourbe relarguait des ions chlorures et rendait par conséquent les essais de traçage erronés. Le KOH dont l'ion potassium est radiomarqué (^{42}K) est également rejeté car il a été montré que le KOH a tendance à s'adsorber ou à réagir avec les ions lessivés de la tourbe granulaire (Martineau, 1999). Le choix du tritium est clair. Puisqu'il s'agit de l'eau radiomarquée, le comportement de ce traceur est en tout point le même que l'eau qui circule dans l'unité de biofiltration (il ne change pas la densité du milieu). De plus, il peut facilement être mesuré, même à très faibles concentrations par un compteur à scintillation.

2.3.5.3. Suivi de l'essai de traçage

Dans notre étude, le traceur (^3H) est injecté sous forme d'une impulsion dans le fluide à l'entrée de la colonne. Sa concentration est suivie dans le temps, dans le courant de sortie. 250 μl d'une solution radioactive 3100 dpm/ μl sont injectés dans chacune des colonnes, soit 775000 dpm au total. Le débit d'alimentation de la colonne est fixé à 3,5 l/j et les tests ont duré jusqu'à ce que la radioactivité récupérée (évaluée en intégrant la radioactivité en sortie en fonction du temps) soit comparable à celle injectée. La radioactivité est évaluée à l'aide d'un compteur à scintillation (Wallac 1409) en mélangeant dans une fiole 2 ml de solution avec 10 ml de liquide à scintillation.

2.3.5.4. Dispersion et temps de séjour

Les données concernant la concentration radiomarquée recueillie en fonction du temps permettront de quantifier la dispersion du fluide à l'intérieur du réacteur ainsi que son temps de séjour réel. Ces données seront capitales pour dimensionner des biofiltres de tailles supérieures. La dispersion du fluide sera évaluée pour les deux types de colonne à l'aide du nombre de dispersion ($D/\mu\text{L}$) qui est l'inverse du nombre de Péclet. Elle se calcule, par itération, à partir de l'équation suivante :

$$\sigma_{\theta}^2 = 2 \cdot D/\mu\text{L} - 2 \cdot (D/\mu\text{L})^2 (1 - e^{-\mu\text{L}/D})$$

dans laquelle

$$\sigma_{\theta}^2 = \sigma^2 / t_c^2$$

et

$$\sigma^2 = \int_0^{\infty} t_i^2 C_i \Delta t_i / \int_0^{\infty} C_i \Delta t_i - (t_c)^2 \quad \text{avec} \quad t_c = \int_0^{\infty} t_i C_i \Delta t_i / \int_0^{\infty} C_i \Delta t_i \quad (\text{Samson, 1991})$$

- où,
- $D/\mu L$ = nombre ou coefficient de dispersion
 - C_i = concentration de traceur dans l'effluent au temps t_i (dpm/ml)
 - t_c = temps de séjour ou de résidence moyen (min)
 - σ = variance (min)
 - t_i = temps de lecture de la concentration C_i de traceur (min)
 - Δt_i = intervalle de temps entre les données (min)

Le nombre de dispersion dépend du fluide, du régime d'écoulement et de la structure géométrique du réacteur. Sa valeur représente le rapport du taux de transport par dispersion sur le taux de transport par convection. Habituellement, sa valeur se situe entre 0 et l'infini et de manière pratique, il a été observé que (Samson, 1998):

$D/\mu L$	Écoulement
0	piston parfait
0,002	piston avec peu de dispersion
0,025	piston avec dispersion intermédiaire
0,20	piston avec grande dispersion
∞	parfaitement mélangé

Les courbes de traçage seront exprimées sous la forme $C_i/C_o = f(t_i/t_c)$ pour la colonne avec aération naturelle et forcée.

2.3.5.5. Volumes stagnants et chemins préférentiels

La présence d'anomalies tels les chemins préférentiels et les volumes stagnants sera également étudiée pour la colonne avec aération forcée. Plusieurs équations peuvent être utilisées pour tenir compte de la déviation par rapport à l'écoulement de type parfaitement mélangé.

- Ainsi, pour quantifier le volume stagnant de la colonne, l'expression suivante sera utilisée :

$$C_i/C_0 = V/V_m * e^{-(V/V_m)t_i/t_c} \quad (\text{Levenspiel, 1972 ; Samson, 1985})$$

dans laquelle,

V = volume liquide du réacteur (volume disponible, ml)

V_m = volume de la partie parfaitement mélangée du réacteur (ml)

t_c = temps de résidence moyen (min)

t_i = temps (min)

C_i = concentration du traceur au temps t (dpm/ml)

C_0 = concentration initiale du traceur dans le réacteur (dpm/ml)

- Pour quantifier la portion du fluide qui passe en chemin préférentiel, l'expression suivante sera utilisée :

$$C_i/C_0 = (v_l/v)^2 * e^{-(v_l/v)t_i/t_c} \quad (\text{Levenspiel, 1972})$$

dans laquelle,

v = le taux d'écoulement mesuré (ml/min)

v_1 = débit de la zone bien mélangée (ml/min)

La combinaison des deux équations nous permet de caractériser la colonne dans laquelle des volumes stagnants et des chemins préférentiels sont présents ensemble :

$$C/C_0 = [(v_1 V/v)/t_c] e^{-t/t_c} + (v_2/v) \delta_{t=0} \quad (\text{Monteith, 1981}) \quad (1)$$

dans laquelle,

v_2 = débit qui passe en chemin préférentiel (ml/min)

$\delta_{t=0}$ = l'opérateur Dirac.

L'équation (1) peut être résolue à partir du tracé $\ln(C_i/C_0) = f(t_i/t_c)$ (Monteith et al., 1981). En effet, la pente de la partie décroissante permet d'estimer, par régression linéaire, le temps de résidence hydraulique moyen (t_a) de la partie complètement mélangée ; l'ordonnée, quant à elle, fournit une estimation du paramètre v_1 .

2.4. Essais de dénitrification

2.4.1. Description du montage

Les expériences de dénitrification sont réalisées dans une colonne en plexiglass d'une hauteur de 20'', d'un diamètre interne de 3'' et d'un diamètre externe de 3^{1/2}'' . L'unité opère à température ambiante et consiste en un lit de tourbe granulaire complètement immergé. L'alimentation est effectuée en continu avec un écoulement ascendant tandis qu'un trop-plein en haut de colonne permet de maintenir le niveau d'eau constant. La colonne demeure par conséquent saturée pendant toute la durée de l'expérience et fonctionne ainsi en absence d'oxygène. La colonne, fermée à l'atmosphère, est percée à 5 hauteurs différentes. Ceci permettra de déterminer la concentration en nitrate aux divers plateaux lorsque le régime permanent sera atteint, donc d'évaluer les rendements épuratoires en fonction de la hauteur de milieu filtrant. Le protocole complet est décrit en Annexe H et le montage expérimental est présenté à la figure 2.7.

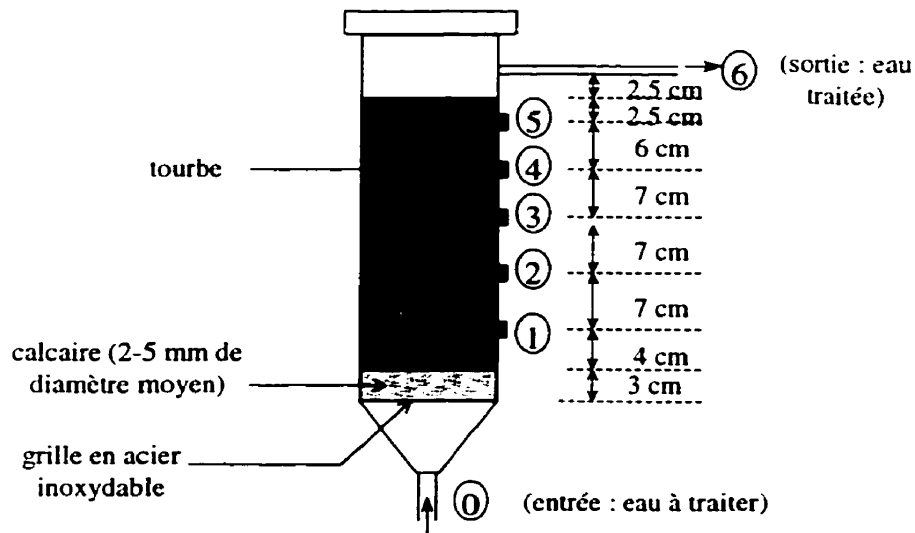


Figure 2.7 Montage expérimental de l'essai de dénitrification

2.4.1.1. Le lixiviat – Débit d'alimentation

L'eau contaminée, stockée à 4°C, est le lixiviat de l'étang non aéré dans lequel on a fait barboter de l'azote gazeux pendant 20 minutes. Le débit d'alimentation est réglé de façon à éviter que les solides en suspension et le milieu filtrant ne soient entraînés par les bulles d'azote (Jimenez et al., 1987; Rogalla et al., 1990). Il est fixé à 3,5 litres par jour.

2.4.1.2. Milieu filtrant

Le milieu filtrant peut être séparé en deux étages différents (Figure 2.7). Le premier étage est constitué d'un lit de 3 cm de gravier (pierres concassées de 2 à 5 mm de diamètre moyen) déposé au fond du bioréacteur qui permet de supporter le lit de tourbe et d'assurer une distribution uniforme de l'affluent (Viraraghavan et Kikkeri, 1988; Buelna et Bélanger ^[1]; Ross et al., 1989; Lafrance et al., 1996). Les pierres concassées (riches en calcaire) ont également le pouvoir d'augmenter la capacité tampon du liquide (Forteath, 1991). Le second étage est constitué de 31,5 cm de tourbe (cubes de 8 mm de côté). Les cubes de tourbe ne sont pas trop compacts pour éviter une mauvaise séparation gaz (N₂) - liquide.

2.4.2. Suivi de l'essai

Comme mentionné précédemment, les essais d'acclimatation de la tourbe en biomasse nitrifiante et dénitrifiante sont effectués dans le but de jumeler les deux montages. Le lixiviat de l'étang non aéré contient environ 110 mg/l d'ions NH₄⁺. L'équation de nitrification, en tenant compte de l'assimilation et de la synthèse cellulaire, montre que 1 mg de NH₄⁺ produit 0,98 mg de NO₃⁻. Si la conversion est totale, le maximum de nitrate

en sortie de colonne est ainsi $0,98 \times 110 \times 62 / 18 \approx 370 \text{ mg NO}_3^-/\text{l}$. La tourbe granulaire doit alors contenir suffisamment de biomasse dénitrifiante pour dégrader ces 370 mg/l de nitrate. Le principe des essais est donc d'augmenter, au fur et à mesure, la quantité de nitrate en entrée de colonne jusqu'à atteindre, à chaque fois, un régime permanent. Cette augmentation doit être progressive pour ne pas inhiber l'activité dénitrifiante. Il sera alors possible de dresser des courbes de dégradation des nitrates en régime stationnaire.

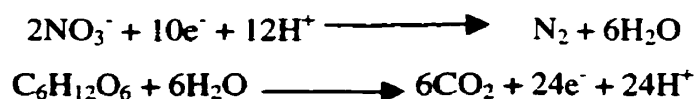
Les essais débutent avec 26 mg/l de nitrate en entrée. Le régime permanent ($26 \text{ mg NO}_3^-/\text{l}$) établi, un deuxième ajout de nitrate de potassium est effectué pour atteindre une concentration d'environ 70 mg/l, puis 140 mg/l et enfin 220 mg/l en ions nitrate. À partir de $220 \text{ mg NO}_3^-/\text{l}$, une source de carbone facilement biodégradable (dextrose) est ajoutée dans le réservoir d'alimentation. La quantité de sucre ajoutée est telle que le rapport $\text{DCO}_{\text{filtrée}}:\text{NO}_3^-$ soit de 5:1. Finalement, un dernier ajout de KNO_3 est effectué afin de parvenir à une concentration de $420 \text{ mg NO}_3^-/\text{l}$ en entrée et le débit d'alimentation est augmenté à 7 l/j.

2.4.3. Essai en conditions stériles

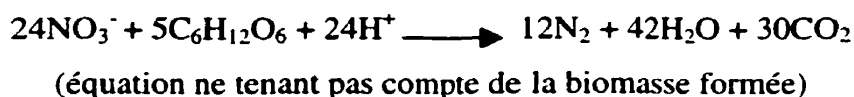
Pour savoir si l'élimination des ions nitrate est due à un phénomène physique (ex. adsorption sur les pierres concassées du fait de leur grande surface spécifique), physico-chimique (précipitation) ou biologique, le lixiviat est mélangé en entrée avec une solution de chlorure de mercure (HgCl_2 , 1,0% massique). La colonne est ensuite alimentée à un débit de 7,0 litres par jour et la concentration en nitrate est suivie le long de la colonne.

2.4.4. Mesure de l'alcalinité et de la DCO

Les deux équations d'oxydo-réduction concernant la réduction des nitrates et l'oxydation du dextrose sont les suivantes :



soit une réaction globale,



1 gramme de nitrate consomme ainsi théoriquement 0,6 gramme de $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, soit environ 0,6 g de DCO. De même, chaque gramme de nitrate consommé se traduit par une augmentation théorique de 3,78 g d'alcalinité (CaCO_3). Afin de voir comment varient l'alcalinité et la demande chimique en oxygène dans le lixiviat de la colonne de dénitrification, ces deux paramètres sont mesurés à différentes hauteurs de colonne, en régime stationnaire. Le lixiviat en entrée contient 420 mg/l d'ions nitrate et alimente la colonne à raison de 3,5 l/j.

2.4.5. Quantification de la biomasse dénitrifiante

Il est plausible de penser qu'il existe une gradation d'organismes variant selon la hauteur de milieu filtrant. La quantification des micro-organismes dénitrifiants aux différents points d'échantillonnage, en régime permanent, est déterminée à l'aide d'un décompte par la méthode du NPP. Le cheminement de la méthode est décrit en Annexe I.

2.4.6. Hydrodynamique de la colonne

Un essai de traçage radioactif avec de l'eau tritiée a également été effectué afin de voir le patron d'écoulement du fluide à l'intérieur de la colonne. Ce test permettra de déterminer le temps de séjour du fluide et sa dispersion. Le principe est identique aux essais précédents avec une injection de 250 μ l d'une solution radiomarkée 3100 dpm/ μ l et un débit d'alimentation de 3,5 litres par jour.

2.5. Essais de nitrification et de dénitrification combinés

Les deux étapes de nitrification et de dénitrification précédentes permettront d'établir, dans des colonnes d'environ 2 litres, des courbes de biodégradation de l'azote ammoniacal et des nitrate. Les résultats pourront alors servir de base de calcul pour la conception de biofiltres d'une dimension supérieure (Roy et al., 1995).

La dernière étape de ce projet consiste à démontrer la possibilité d'utiliser les milieux filtrants enrichis en biomasse nitrifiante et dénitrifiante pour réaliser successivement la nitrification et la dénitrification. La colonne de nitrification est le biofiltre avec aération forcée. Le débit d'aération est fixé à 245 ml/min de manière à minimiser les espaces anaérobies à l'intérieur du réacteur et par conséquent à avoir une concentration maximale en nitrate dans le courant de sortie. Dans le cas d'un manque de matière organique dans le biofiltre anaérobie, il est déconseillé d'ajouter une source de carbone externe puisqu'à grande échelle, les coûts peuvent devenir très importants. On se dirigera donc vers l'utilisation du lixiviat pour combler la carence en matière carbonée.

2.5.1. Les différents concepts

Tous les cas de nitrification/dénitrification de lixiviats de LES montrent que ceux-ci ne possèdent pas assez de matière organique biodégradable pour permettre la transformation de tout l'ammoniaque en azote gazeux puisque, durant la première étape, la minéralisation de la matière biodégradable est importante. Une seule exception est l'utilisation de la dénitrification autotrophique à base de soufre élémentaire (Koenig et al., 1997). Malheureusement, la quantité d'acide sulfurique produit rend cette technologie inapplicable lorsque le lixiviat traité est rejeté en eau douce. Ainsi, dans le cas d'un manque de matière organique biodégradable, une partie du lixiviat de l'étang non aéré

pourrait être ajoutée au lixiviat nitrifié pour subvenir aux besoins des micro-organismes dénitrifiants. Le concept de ce système est présenté à la figure 2.8a (concept 1).

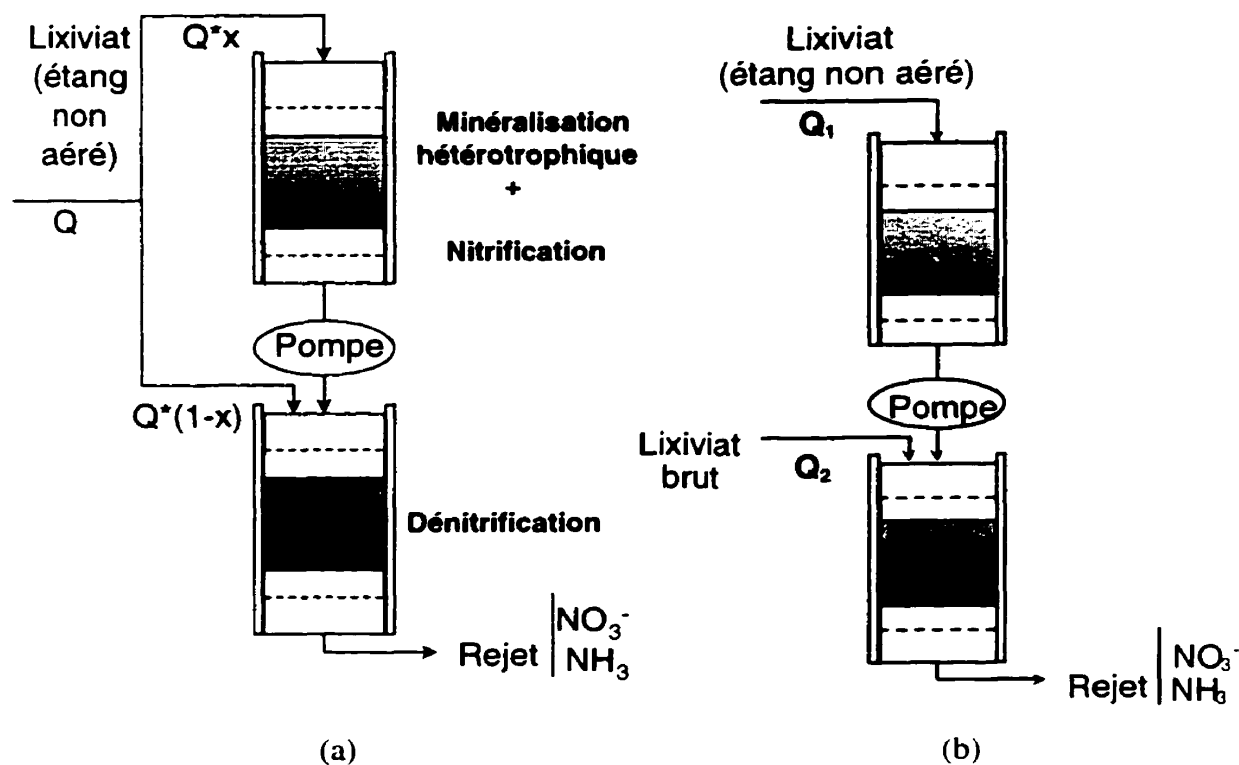


Figure 2.8 Montage de la nitrification et de la dénitrification jumelé

(a) Concept 1

(b) Concept 2

On se rend compte assez vite de l'insuffisance du concept 1 puisqu'il ne sera jamais possible de satisfaire à la fois les normes de rejet en NH_4^+ et en NO_3^- en aval du bassin de dénitrification. En effet, si tout le lixiviat est acheminé en tête de la première colonne, il ressortira un lixiviat riche en nitrate mais appauvri en matière organique, laquelle est nécessaire à la seconde étape. Ceci aurait pour conséquence un effluent qui dépasserait

les normes de rejet en nitrate. Dans le cas inverse, si une grande partie du lixiviat est dirigée vers la colonne de dénitrification pour combler la carence en matière organique, une concentration trop élevée en ammoniacque est prévisible en sortie de ce réacteur puisque n'étant pas biodégradé en conditions anoxies.

Les réactions de dégradation se produisant dans chacune des colonnes nous ont amené à concevoir un autre modèle (figure 2.8b). Ce deuxième concept fait appel à un deuxième lixiviat beaucoup plus riche en matière organique, soit le lixiviat brut provenant directement de la masse des déchets. Le montage expérimental est présenté à la figure 2.9.

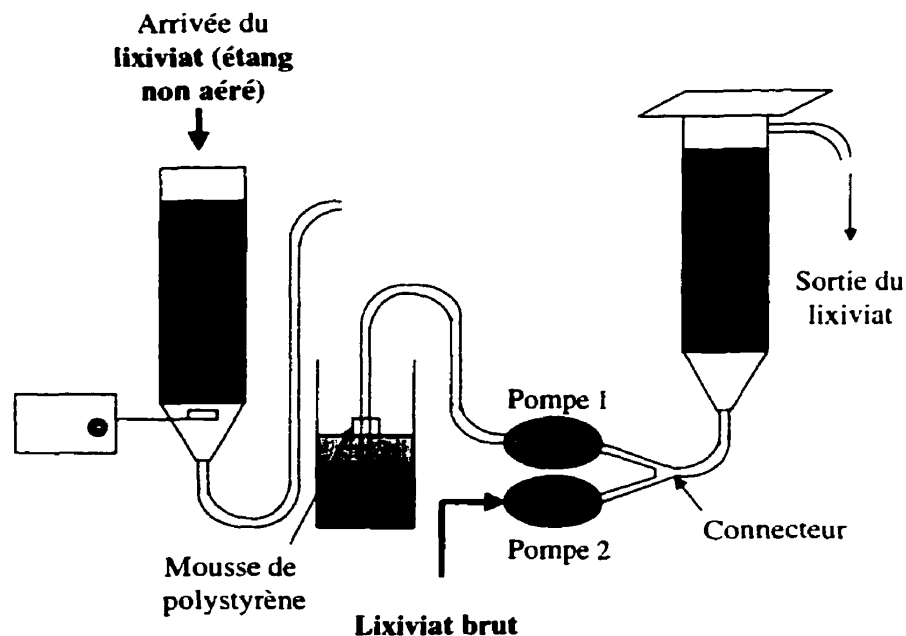


Figure 2.9 Montage expérimental des essais de nitrification et de dénitrification combinés

2.5.2. Estimation du rapport Q_1/Q_2

Le débit d'alimentation du lixiviat brut (Q_2) dans la colonne de dénitrification doit être suffisamment important pour compenser la carence en matière organique du lixiviat nitrifié sans toutefois être trop important puisque lixiviat brut est riche en ammoniacque. Le débit minimum d'opération peut être grossièrement estimé en s'intéressant aux matières organiques et azotées à l'entrée du second réacteur et en supposant que la réaction de nitrification est complète.

2.6. Méthodes analytiques

Les paramètres suivis lors des essais de nitrification et de dénitrification sont mentionnés dans le tableau 2.2.

Tableau 2.2 Caractéristiques physico-chimiques mesurées

pH	NH_4^+
alcalinité	NO_2^-
DBO_5 totale	NO_3^-
DCO totale	O_2 dissous
POR	

La plupart des mesures est effectuée en triplicata, immédiatement après les échantillonnages. Si l'analyse ne peut être effectuée directement après le prélèvement, les échantillons sont conservés au congélateur pour stopper définitivement l'activité microbienne. Les techniques analytiques sont conformes aux méthodes standards (Standards Methods, 1995).

2.6.1. Mesure de l'azote ammoniacal, des nitrites et des nitrates

L'azote ammoniacal, les nitrite et les nitrate ont été mesurés à l'aide d'un chromatographe en phase liquide (Dionex). La phase stationnaire de la colonne anionique est AS14 et celle de la colonne cationique est CS12A. Les échantillons sont initialement filtrés à 0,45 μm et les volumes d'injection sont 10 μl et 15 μl pour la colonne cationique

et anionique, respectivement. La concentration et le débit de l'éluant sont constants (conditions isocratiques) et sont:

- anions: mélange carbonate de sodium - bicarbonate de sodium pompé à raison de 0.9 ml/min
- cations: solution d'acide methanesulfonilique (20 mM) pompée à raison de 1.0 ml/min.

Enfin, un suppresseur élimine les ions de la phase mobile et la détection est effectuée par conductimétrie.

L'azote sous forme libre peut être déduite à l'aide de la relation suivante:

$$[\text{NH}_3] = [\text{NH}_4^+] * 10^{(\text{pH}-\text{pKa})} \text{ avec } \text{pKa}_{\text{NH}_3/\text{NH}_4^+} = 9,2 \text{ (20°C) (Benefield, 1980)}$$

La concentration en HNO_2 peut être déterminée à partir de celle en ions nitrite selon:

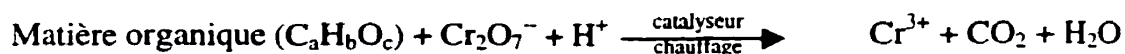
$$\text{HNO}_2\text{-N} = \text{NO}_2^-\text{-N} / (10^{\text{pH}} * e^{-2300(273+T)}) \quad (\text{T en } ^\circ\text{C}) \text{ (Dockhorn et al., 1997)}$$

2.6.2. Mesure de la DBO_5 totale et de la $\text{DCO}_{\text{totale}}$

La demande biologique en oxygène totale (qui comprend la DBO_5 soluble et la DBO_5 particulaire) et la $\text{DCO}_{\text{totale}}$ sont mesurées au département de Génie Civil. La détermination de la DBO_5 totale est effectuée par respirométrie pendant une durée de 5 jours et pendant laquelle on suit la chute de la pression partielle d'oxygène à l'intérieur de l'échantillon.

La demande chimique en oxygène ($\text{DCO}_{\text{totale}}$) est mesurée en oxydant la matière organique avec du dichromate de potassium en milieu fortement acide et à 150°C (reflux fermé). La matière organique, qui est transformée en CO_2 , est évaluée en mesurant le

dichromate de potassium restant par spectrophotométrie. Un catalyseur (sulfate d'argent) est utilisé pour accélérer l'oxydation de certains composés organiques. La réaction principale, utilisant le dichromate de potassium comme agent oxydant, est représentée d'une façon générale selon l'équation (non équilibrée) suivante:



2.6.3. Mesure du pH

Le pH d'une solution réfère à l'activité de ses ions hydrogène. Il est exprimé par l'inverse du logarithme de la concentration de l'ion hydrogène (en moles/litre) à une température donnée. La détermination du pH est effectuée grâce à un pH mètre (Accumet modèle 25). Les mesures de pH doivent être telles que l'efficacité de lecture soit comprise entre 92 et 102%.

2.6.4. Mesure de l'alcalinité

L'alcalinité d'une eau est sa capacité à neutraliser un acide fort à un pH donné. Elle est principalement due aux ions carbonates, bicarbonates et hydroxyles et peut également être influencée par les ions borates, phosphates ou silicates.

La méthode utilisée est celle de " Standard Methods, 1995" et le protocole standard d'opération est présenté en Annexe J. Elle consiste à neutraliser par titrage les ions hydroxyles (OH⁻) avec une solution d'acide sulfurique de normalité connue. L'alcalinité est déterminée en traçant le pH en fonction de la quantité d'acide ajoutée dans l'échantillon. Elle correspond au point d'inflexion de la courbe et se calcule selon:

$$\text{Alcalinité (mg CaCO}_3\text{/l)} = (50000 * V_e * N) / V_{\text{éch}}$$

où

V_e : volume d'acide ajouté au point d'inflexion (ml)

$V_{\text{éch}}$: volume d'échantillon de départ (ml)

N: normalité de la solution acide (N)

2.6.5. Mesure de l'oxygène dissous

La mesure de l'oxygène dissous est effectuée à l'aide d'une sonde à oxygène YSI model 58. Celle-ci est calibrée à chaque mesure en faisant préalablement barboter de l'azote dans de l'eau distillée pendant 20 minutes (réglage du zéro). Comme la concentration en oxygène dissous varie avec la température, il est important de relever cette dernière pour pouvoir comparer les résultats à une même température.

2.6.6. Mesure du potentiel d'oxydo-réduction

Afin d'avoir une idée de l'accepteur d'électrons utilisé par les micro-organismes, le potentiel d'oxydo-réduction (POR) de la solution est évalué. Le protocole standard de sa mesure en solutions aqueuses est décrit au PSO A3. Le POR est déterminé en utilisant une sonde au platine à référence combinée au Ag/AgCl (Fisher Scientific) qui est préalablement calibrée à l'aide de deux solutions constituées de 0,15 g de quinhydrone et 15 ml d'une solution tampon pH 4 et pH 7. Le test est sujet à des changements avec le temps donc les mesures doivent se faire dans les délais appropriés. La précision de la méthode est estimée à ± 10 mV.

CHAPITRE 3

RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1. Caractéristiques chimiques des lixiviats

Les caractéristiques chimiques du lixiviat sortant de l'étang non aéré (prélevé en juin 1998) et du lixiviat brut (prélevé en mars 1999), à température ambiante, sont présentées au tableau 3.1.

Tableau 3.1 Caractéristiques des deux types de lixiviat (lixiviat issu de l'étang non aéré et lixiviat brut)

Paramètre	Unité	Valeur
Lixiviat (étang non aéré)		
DBO ₅ totale	mg/l	118
DCO _{totale}	mg/l	355
DBO ₅ totale / DCO _{totale}	adim	0,33
NH ₄ ⁺	mg/l	111
NO ₃ ⁻	mg/l	0,3
NO ₂ ⁻	mg/l	0
PO ₄ ³⁻	mg/l	1,8
SO ₄ ²⁻	mg/l	7,8
alcalinité	mg CaCO ₃ /l	1450
pH		8,50

Lixiviat brut			
(prélevé en mars)			
	DBO_5 totale	mg/l	4750
	$\text{DCO}_{\text{soluble}}$	mg/l	7400
	NH_4^+	mg/l	324
	NO_3^-	mg/l	0
	NO_2^-	mg/l	0
	pH		7,46

Les faibles concentrations en DBO_5 totale, $\text{DCO}_{\text{totale}}$ et NH_4^+ dans le lixiviat de l'étang non aéré s'expliquent en partie par la dilution naturelle due à la fonte des neiges mais surtout du fait que le lixiviat est dans un stade avancé de dégradation. En effet, son temps de séjour d'un an dans l'étang a eu pour effet de réduire fortement sa concentration en contaminants biodégradables. Conformément à ce que prévoit Barlaz (1997), les concentrations en sulfate et en phosphate sont peu importantes dans le lixiviat. Comme le lixiviat est à un degré de stabilisation assez important, la concentration en métaux ne devrait pas avoir d'impact sur la nitrification (Carley, 1991).

Pour ce qui est du lixiviat brut, la concentration en nitrate est nulle. Ceci est attribué aux conditions anoxies qui règnent à l'intérieur de l'enfouissement et qui permettent une dégradation complète des nitrate en azote gazeux. Les autres concentrations sont inférieures à celles retrouvées en période estivale (tableau 3.2). Cette diminution des concentrations est principalement attribuée à la dilution due à la fonte des neiges.

Tableau 3.2 Caractéristiques du lixiviat brut prélevé en août 1997

Paramètre	Unité	Valeur
DBO ₅ totale	mg/l	10700
DCO totale	mg/l	13400
NH ₃ -N	mg N/l	228
alcalinité	mg CaCO ₃ /l	4780
pH		6,25
DBO ₅ totale/DCO _{totale}		0,8

3.2. Caractéristiques de la tourbe granulaire

3.2.1. Caractéristiques physiques de la tourbe

3.2.1.1. Rétention liquide

Les résultats des essais de caractérisation physique de la tourbe utilisée dans notre étude sont regroupés à la figure 3.1 avec un écart type de 2,5% v/v pour les rétentions liquide statique et solide et nul pour la rétention liquide dynamique.

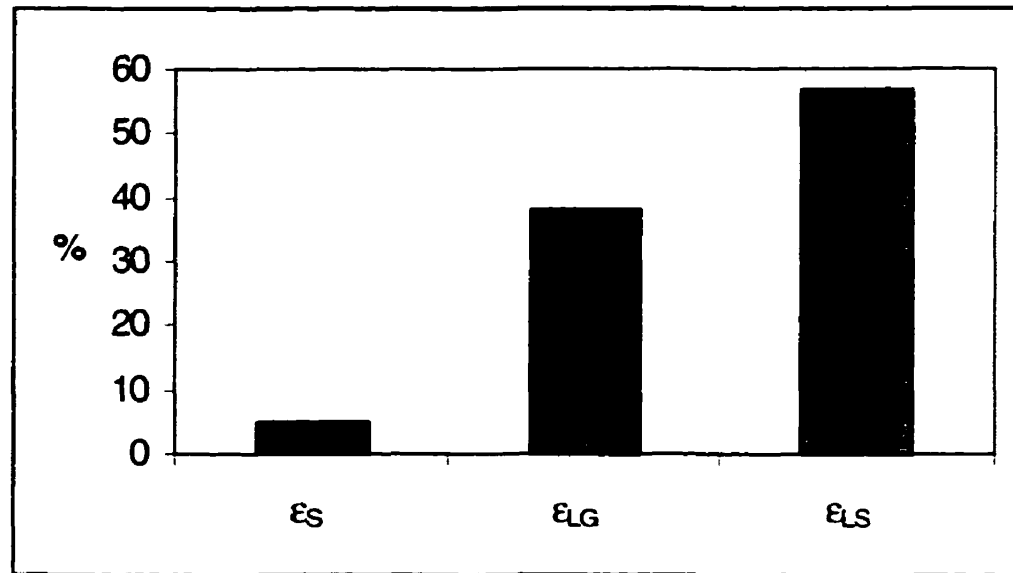


Figure 3.1: Résultats des différentes rétentions de la tourbe granulaire

Ils montrent une forte rétention liquide de la tourbe granulaire, qui peut être attribuée à sa forte porosité et à sa forte teneur en matière organique (Martineau, 1999). Les valeurs sont assez proches à celles obtenues par Martineau (1999) ($\epsilon_{LG}=41\%$; $\epsilon_{LS}=52\%$; $\epsilon_s=7\%$) qui a utilisé les mêmes cubes de tourbe sans les découper préalablement. La légère différence vient des dimensions des granules de tourbe qui peuvent affecter parfois grandement la porosité (Boelter, 1968). En résumé, la rétention liquide statique de 57.5% et la conductivité hydraulique de 0,8 cm/s (Martineau, 1999) font que la tourbe granulaire possède les caractéristiques d'un bon milieu filtrant.

3.2.1.2. Contribution de la tourbe à la charge organique et inorganique

Un récapitulatif des résultats, effectués en triplicata, concernant la contribution de la tourbe sur la charge organique et azotée est présenté au tableau 3.3.

Tableau 3.3 Matière organique et composés azotés relargués par la tourbe en solution

NH_4^+ (mg/l)	NO_2^- (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	$\text{DCO}_{\text{filtrée}}$ (mg/l)
			(*)
$0,22 \pm 0,06$	0	$0,46 \pm 0,02$	136 ± 6

(*) filtré à 0,45 μm

Les essais révèlent un relargage nul en nitrites (NO_2^-) et un très faible relargage d'ions nitrate et d'ions ammonium même après 60 jours d'expérience. Au contraire, la quantité de matière carbonée libérée est importante (136 mg $\text{DCO}_{\text{filtrée}}$ /l). Comme l'a montré Gravelle et al. (1980), la tourbe granulaire constitue ainsi une source non négligeable de matières carbonées qui contribuent à augmenter la demande totale en oxygène. Cette matière carbonée est supposée être associée au lessivage des *substances humiques* et *fulviques* (substances de haut poids moléculaire) responsables de la coloration brune des lixiviats (McLellan, 1986; Ross et al., 1989; Clément, 1995; Roy et al., 1995; Primi et al., 1997).

3.2.2. Caractéristiques microbiologiques de la tourbe

3.2.2.1. Présence de bactéries nitrifiantes et stœchiométrie de la réaction

Les résultats des essais en cuvée, en conditions stériles et non stériles après 60 jours d'expérience, sont présentés aux figures 3.2 et 3.3.

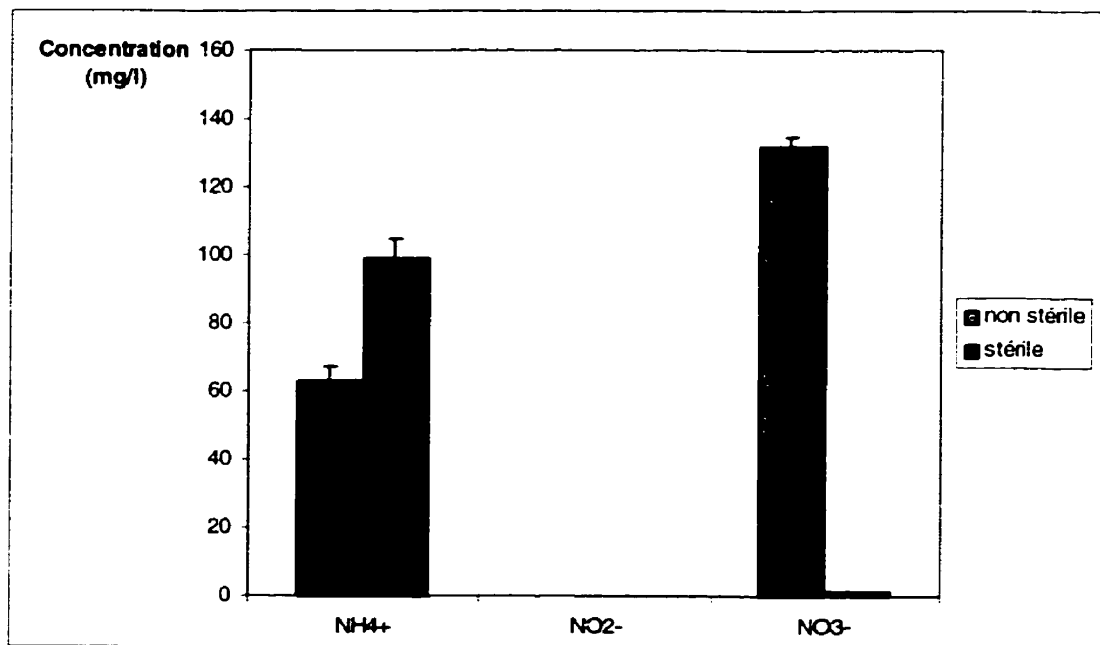


Figure 3.2 Suivi des concentrations en composés azotés en conditions stériles et non stériles, lors des tests en cuvée

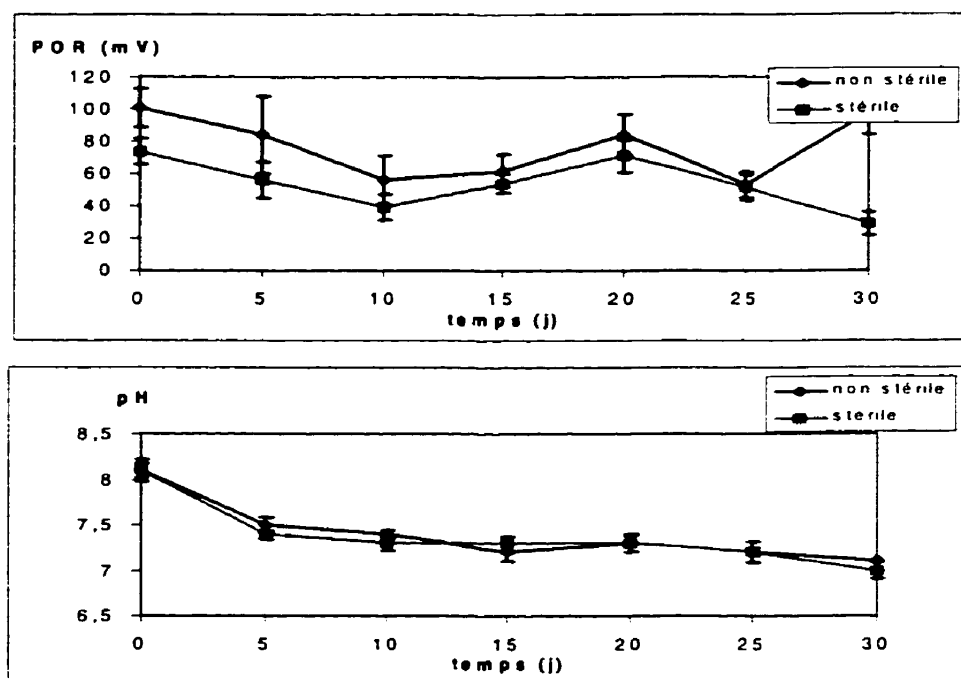


Figure 3.3 Suivi du POR et du pH en fonction du temps, lors des tests en cuvée

Ils montrent une bonne répétabilité des diverses analyses en général avec un potentiel d'oxydo-réduction maintenu entre 30 et 100 mV tout au long des essais. La quantité de nitrates formée avec ajout de phénol est très faible. Par contre, les essais en conditions non stériles révèlent la formation de 132 mg/l de nitrate au bout de 60 jours, signe que la nitrification a eu lieu. Dans les deux cas, la quantité de nitrites (NO_2^-) formée est nulle. L'expérience montre donc que la tourbe granulaire ou le lixiviat possède une activité intrinsèque capable de transformer l'ammoniaque en nitrates par voie biologique. Bélanger et al. (1987) montre en effet qu'on retrouve dans une tourbière un nombre considérable de bactéries nitrifiantes et de bactéries ammonifiantes, principalement entre la surface et 1,5 mètre de profondeur.

En appelant $[\text{NH}_4^+]_1$ et $[\text{NH}_4^+]_2$ les concentrations en ions ammonium après 60 jours dans les échantillons 1 (non stériles) et 2 (stériles) respectivement, un bilan de matière sur cet ion donne :

$$[\text{NH}_4^+]_{\text{biodégradée}} = [\text{NH}_4^+]_2 - [\text{NH}_4^+]_1$$

Dans un litre de lixiviat (qui contient 111 mg de NH_4^+), 36 mg d'ions ammonium ont donc été dégradés par voie biologique et 12 mg ont été adsorbés sur les particules de tourbe (figure 3.4). La quantité de nitrates formés respecte ainsi la stœchiométrie de la réaction globale de nitrification.

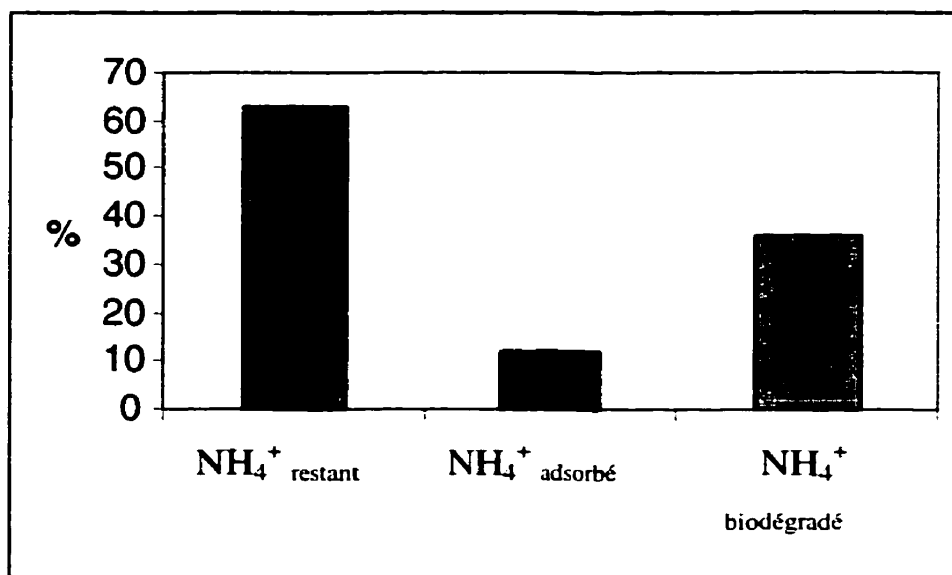


Figure 3.4 Le devenir de l'ammoniaque, lors des tests en cuvette

3.2.2.2. Présence de bactéries dénitrifiantes

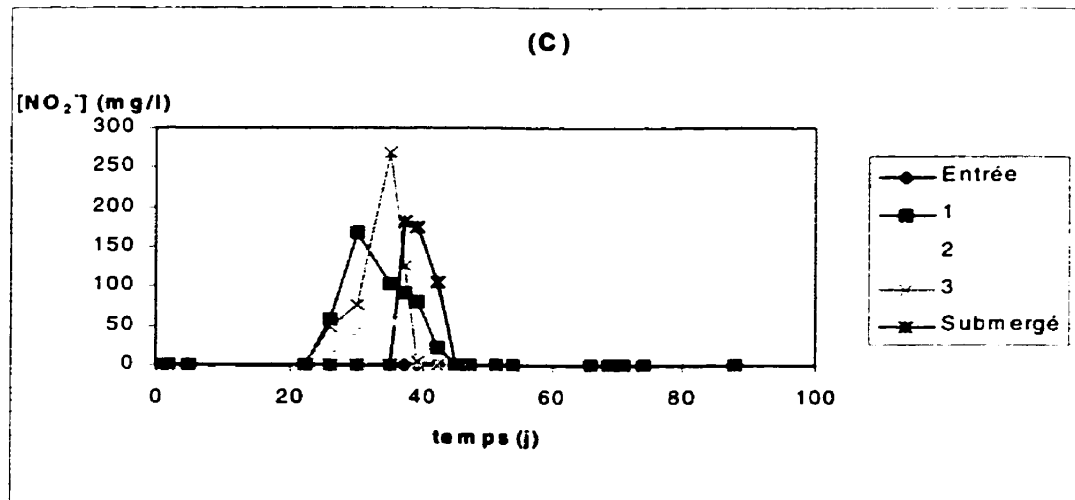
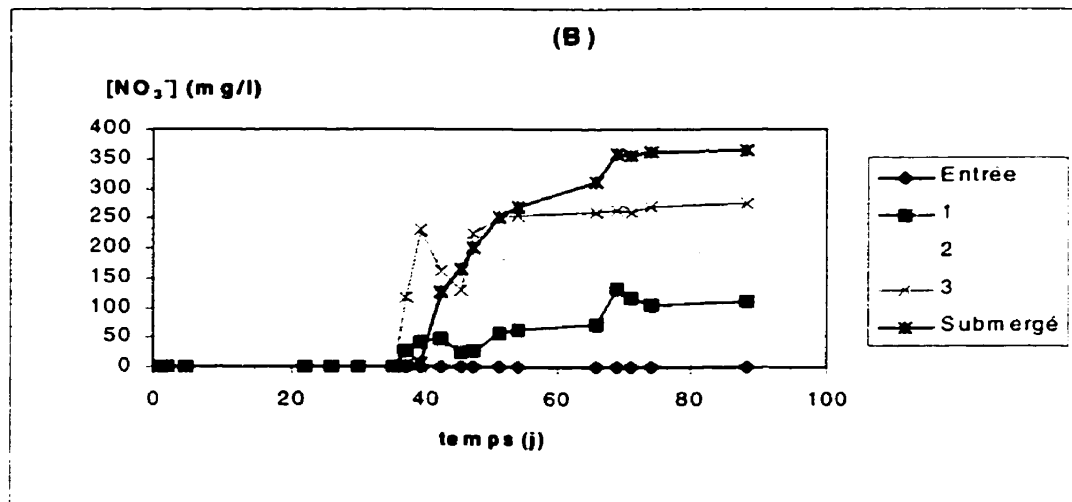
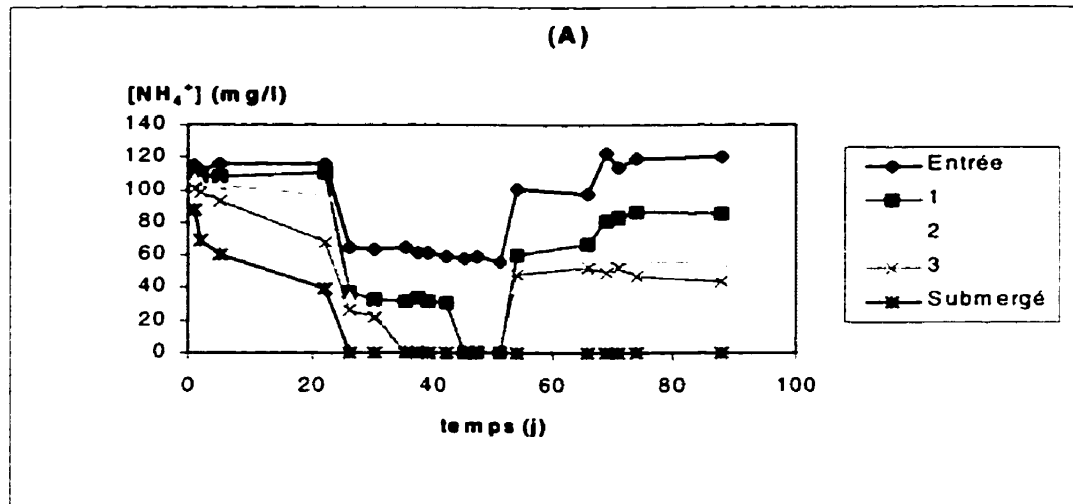
Les tests colorimétriques révèlent la présence de bactéries capables de transformer les nitrates en nitrites mais pas les nitrites en azote gazeux. Ainsi, la tourbe elle-même ne contient pas un pouvoir réducteur suffisant pour réaliser la dénitrification au complet. Toutefois, les mêmes expériences sur le lixiviat ne montrent aucune décoloration de la solution après ajout de l'acide sulfanilique et du N-N-diméthyl-1-naphtylamine, ni même après avoir ajouté la poudre de zinc. Le lixiviat prélevé dans l'étang non aéré contient donc la flore indigène requise pour réaliser la dénitrification jusqu'au stade de l'azote moléculaire.

En résumé, les caractéristiques microbiologiques de la tourbe granulaire et du lixiviat montrent qu'ils possèdent une activité intrinsèque capable de réaliser à la fois la nitrification et la dénitrification. Par conséquent, aucune source de micro-organismes exogènes n'est nécessaire pour effectuer les essais en colonne.

3.3. Essais de nitrification

3.3.1. Régime transitoire

Très vite, on note l'apparition de moisissures au niveau des copeaux de bois. Cette apparition avait déjà été relevée par Escot (1994) lors de l'opération de son biofiltre à base de tourbe et de bois. Le 5^{ème} jour, le pH en sortie des colonnes avec aération naturelle est supérieur à celui d'entrée alors que la tourbe est supposée être acidogène. Il est trop élevé pour que la nitrification puisse avoir lieu si bien que du 22^{ème} jour au 52^{ème} jour d'opération, une solution de tampon phosphate a été ajoutée en continu. Les résultats obtenus pendant 88 jours d'expérience sont présentés à la figure 3.5.



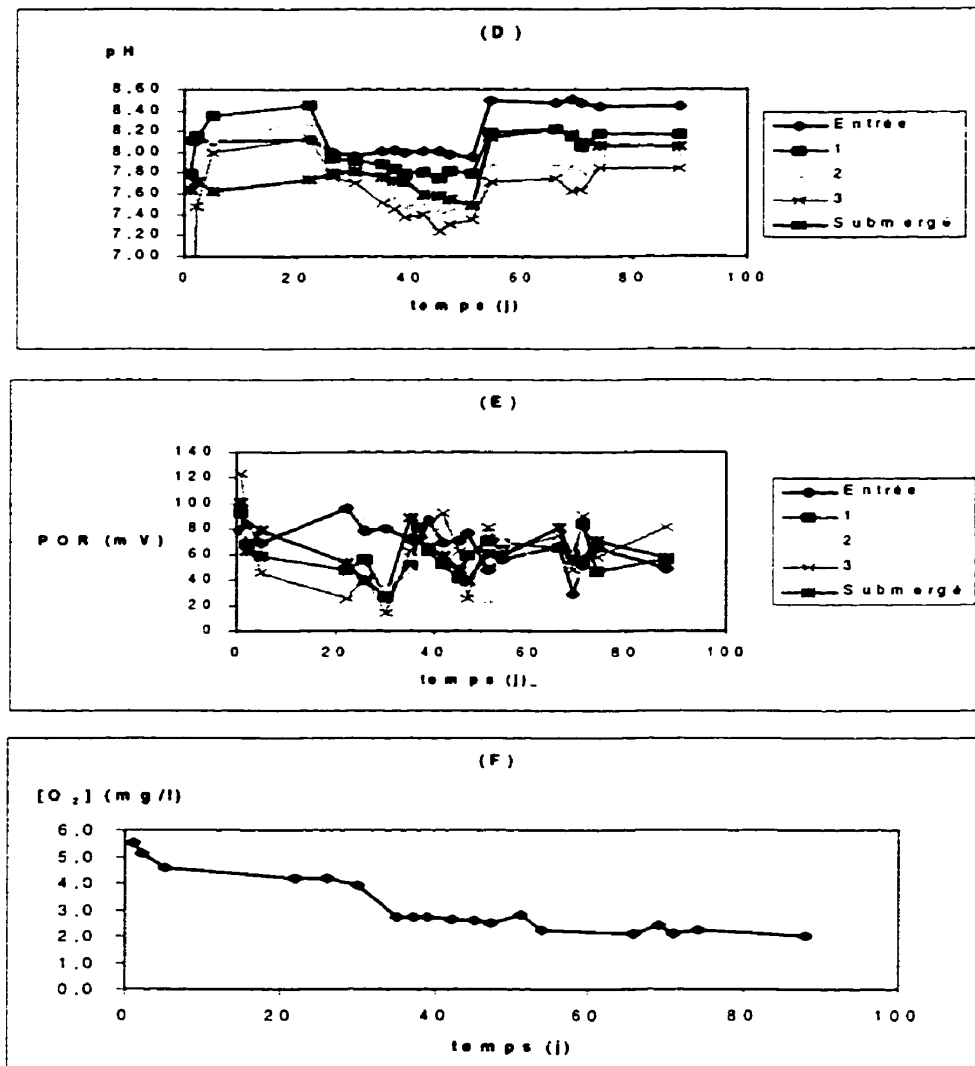


Figure 3.5 Suivi de la phase transitoire des essais de nitrification

A – Concentration en ammoniacque (mg/l) en fonction du temps (j)

B – Concentration en nitrate (mg/l) en fonction du temps (j)

C – Concentration en nitrite (mg/l) en fonction du temps (j)

D – pH en fonction du temps (j)

E – POR (mV) en fonction du temps (j)

F – Concentration en oxygène dissous (mg/l) dans la colonne 3 (colonne avec aération naturelle) en fonction du temps (j)

La production d'ions nitrate est observable à partir du 37^{ème} jour. Elle augmente progressivement dans chacune des colonnes jusqu'à atteindre un régime permanent vers le 80^{ème} jour d'opération. Cette augmentation progressive dans le temps est due à une augmentation de la biomasse immobilisée sur les granules de tourbe.

La formation de nitrites prend place après une vingtaine de jours d'alimentation. Elle a lieu avant la formation des nitrates, puisque l'activité des bactéries du genre *Nitrosomonas* est antérieure à celle du genre *Nitrobacter*. L'activité du premier genre de bactérie devient maximale à partir du 45^{ème} jour et la quantité de nitrites formée est nulle jusqu'à la fin des essais.

La concentration en oxygène dissous, mesurée à la sortie de la colonne 3 (colonne la plus grande avec aération naturelle), débute à 5,5 mg O₂/l et ne descend jamais en dessous de 2 mg O₂/l. L'oxygène n'est ainsi pas limitant dans les colonnes avec aération naturelle.

Le potentiel d'oxydo-réduction reste quasiment constant tout le long des essais dans les quatre colonnes (variation entre 40 et 100 mV).

Malgré la présence de matière organique et d'acides fulviques dans la tourbe, la couleur conférée à l'effluent s'est éclaircie. Il semblerait même que la couleur en sortie des biofiltres s'atténue graduellement avec le temps. Certains auteurs ont, en effet, montré que le relargage de la matière organique et des acides fulviques contenus dans la tourbe cesse environ huit semaines après le démarrage du biofiltre (Buelna et Bélanger, 1989). D'autres ont affirmé que la lixiviation ne prenait place que dans les dix premiers jours d'opération (Escot, 1994). En plus d'éclaircir le lixiviat, l'odeur du lixiviat s'est fortement atténuée après quelques semaines d'opération après son passage dans le lit de tourbe.

3.3.2. Régime permanent

À partir du 80^{ème} jour, on peut admettre qu'un régime permanent s'est établi dans les colonnes avec aération naturelle et aération forcée. En effet, la concentration des différents composés ne varie plus dans le temps pour une même hauteur de colonne.

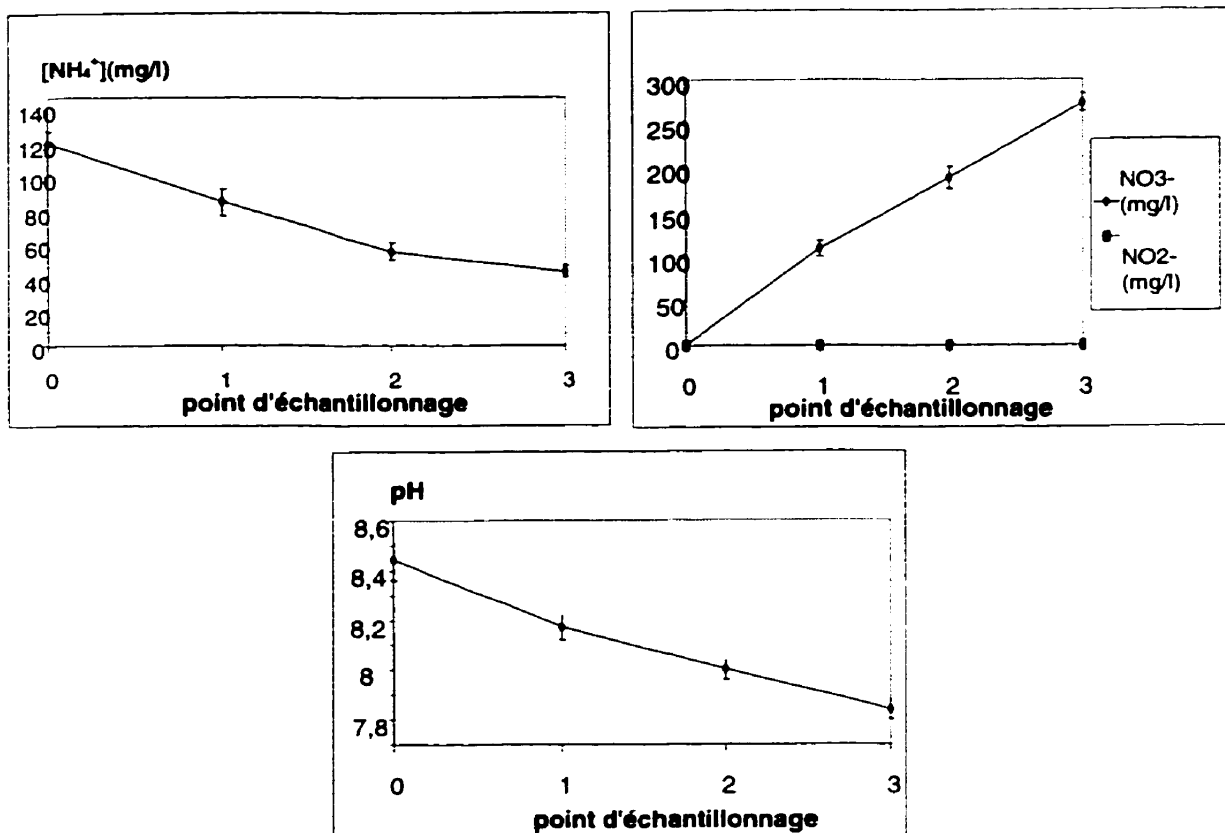
3.3.2.1. Colonnes en percolation avec aération naturelle

Un gradient de concentration en ammoniacque et en nitrate est observable en fonction de la hauteur de tourbe, en régime permanent. La quantité d'ions NH_4^+ décroît avec la hauteur de milieu filtrant tandis que celle en nitrate formés augmente.

La concentration en nitrite est par contre nulle lors du régime permanent.

Le gradient de concentration en nitrate s'accompagne d'une diminution du pH avec la hauteur du milieu filtrant. En effet, la nitrification, le potentiel acidogène de la tourbe et le CO_2 produit lors de la minéralisation hétérotrophique occasionnent des pH plus acides.

Ces gradations en ammoniacque, nitrite, nitrate et pH sont présentées à la figure 3.6. Elles ont déjà été constatées par Gagné (1992) entre l'entrée et la sortie de ses biofiltres à base de tourbe. L'eau contaminée était un affluent synthétique d'une marinaderie, riche en acide acétique.

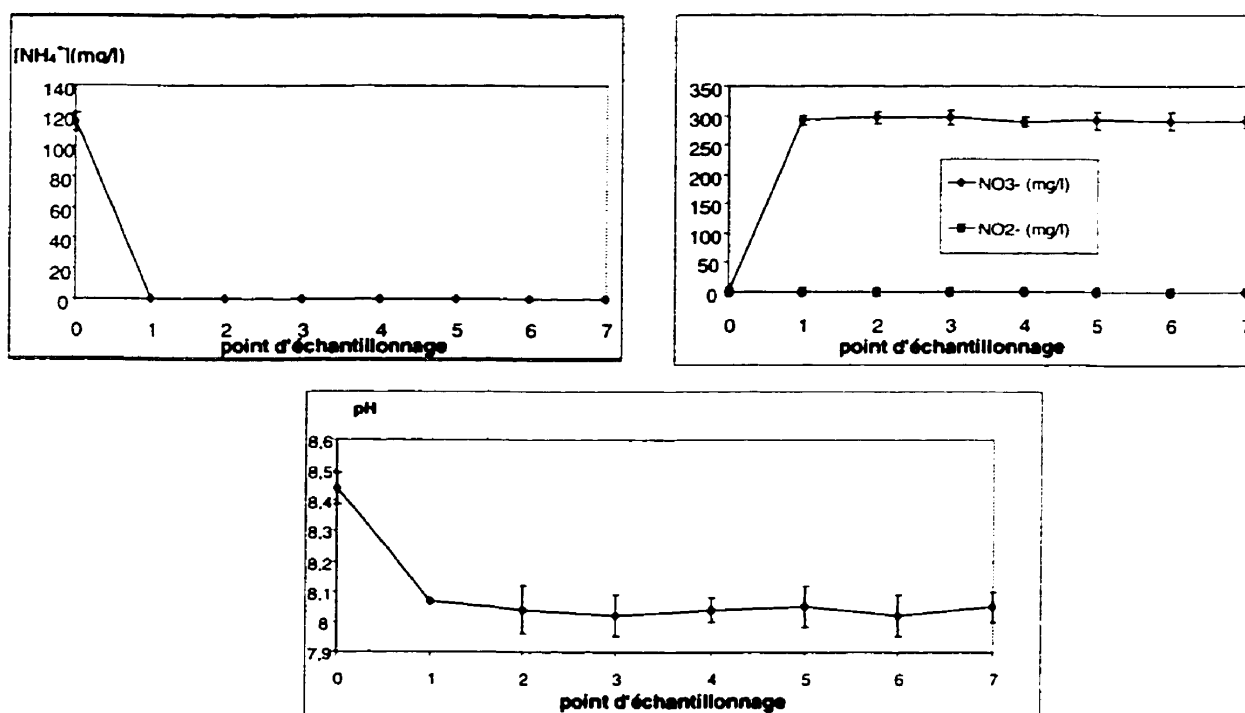


0: entrée de colonne (affluent)
 1: effluent de la colonne 1
 2: effluent de la colonne 2
 3: effluent de la colonne 3

Figure 3.6 Effet de la hauteur de tourbe sur les concentrations en composés azotés (ammoniaque, nitrite et nitrate) et sur le pH, en régime stationnaire (colonnes avec aération naturelle)

3.3.2.2. Colonne en mode submergé avec aération forcée

Les résultats des essais de nitrification en mode submergé, en régime stationnaire, sont présentés à la figure 3.7. Ils montrent que l'ammoniaque est entièrement éliminé dans les premiers centimètres de tourbe (dès le premier point d'échantillonnage). Cette constatation semble converger avec les résultats de Meunier (1985) qui a évalué, à différentes profondeurs dans un biofiltre à base de tourbe, les rendements épuratoires en fonction de l'épaisseur de tourbe. Il concluait qu'une épaisseur de trente centimètres permettait d'obtenir, pour une charge hydraulique inférieure à $2 \text{ m}^3/\text{m}^2/\text{j}$, 80 à 100% du traitement des MES, de la DBO et de la DCO contenues dans ses eaux usées domestiques. Alors que la concentration en nitrites est nulle à chaque étage, la quantité de nitrates produits est optimale dès le premier point d'échantillonnage puis reste constante dans le reste de la colonne (concentration de l'ordre de 290 mg/l). D'une même façon, le pH chute entre l'entrée de la colonne et le premier point d'échantillonnage, après lequel il ne varie quasiment plus.



- 0: entrée de colonne (affluent)
- 1: 1^{er} point d'échantillonnage
- 2: 2^{ème} point d'échantillonnage
- 3: 3^{ème} point d'échantillonnage
- 4: 4^{ème} point d'échantillonnage
- 5: 5^{ème} point d'échantillonnage
- 6: 6^{ème} point d'échantillonnage
- 7: sortie de colonne (effluent)

Figure 3.7 Effet de la hauteur de tourbe sur les concentrations en composés azotés (ammoniaque, nitrite et nitrate) et sur le pH, en régime stationnaire (colonne avec aération forcée)

3.3.2.3. Essai en conditions stériles

Le suivi des concentrations en NH_4^+ et NO_3^- en fonction du temps, en conditions stériles, est présenté à la figure 3.8. Il indique que l'élimination de l'azote ammoniacal par transformation physico-chimique en nitrate est négligeable par rapport à sa biodégradation en nitrate (elle y représente moins de 5% dans la colonne 3, en régime permanent). De plus, l'adsorption de l'azote ammoniacal est très faible. Il est en effet possible qu'au bout d'un certain temps, les sites d'échange cationique de la tourbe deviennent saturés si bien que l'ion ammonium n'est plus retenu sur le milieu filtrant (Nichols et Boelter, 1982). La tourbe granulaire constitue ainsi un bon milieu filtrant pour réaliser la nitrification du lixiviat de LES. Cette réaction par voie biologique est confirmée par le pH du lixiviat supérieur en sortie de la colonne stérile que celui en sortie de la colonne non stérile (figure 3.9).

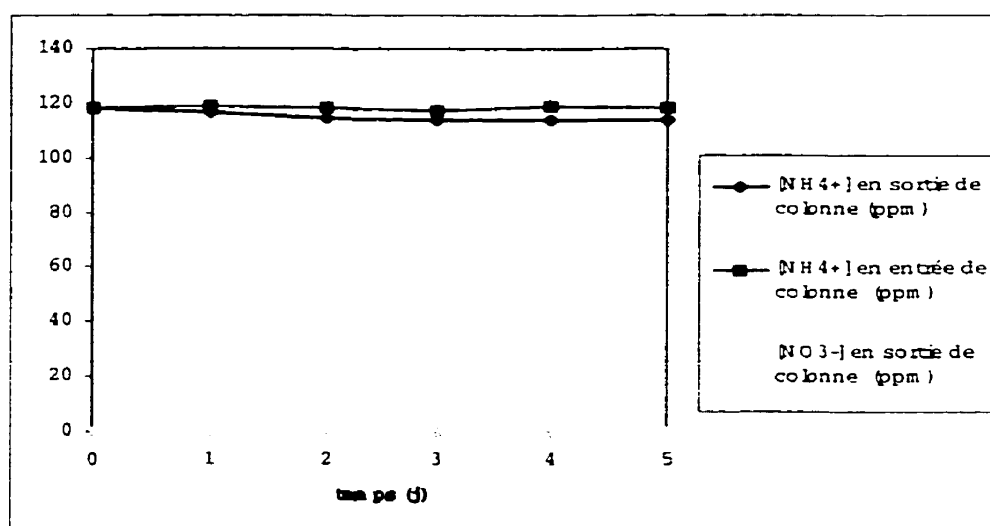


Figure 3.8 Suivi des concentrations en NH_4^+ et en NO_3^- en fonction du temps, en conditions stériles

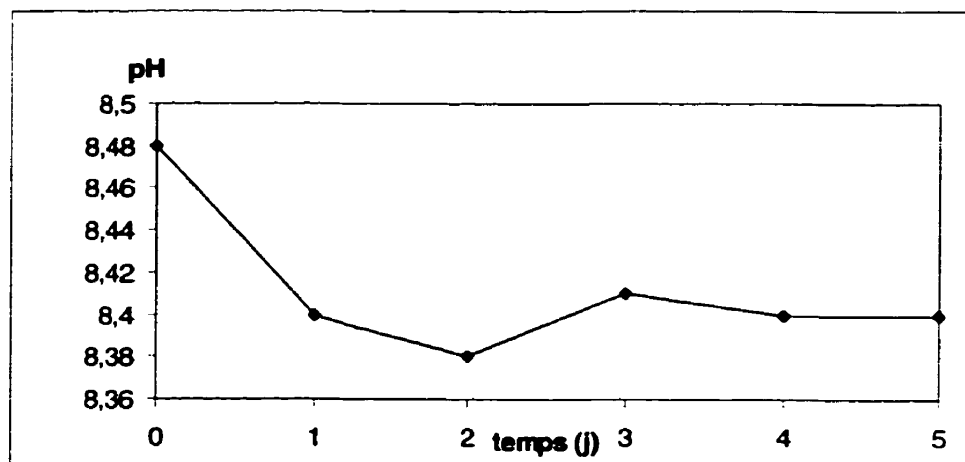


Figure 3.9 Suivi du pH en sortie de la colonne irradiée, en fonction du temps

3.3.2.4. Stœchiométrie de la biodégradation

En considérant que l'élimination de l'ammoniaque par voie physico-chimique est nulle dans chacune des colonnes lors du régime permanent, on peut admettre que l'ammoniaque biodégradé et les nitrates formés varient de manière stœchiométrique pour les colonnes avec aération naturelle (tableau 3.4) :

Tableau 3.4 Comparaison entre les nitrates théoriquement formés et ceux formés expérimentalement, lors des essais de nitrification avec aération naturelle

	NO_3^- formés expérimentalement (mmoles/l)	NH_4^+ consommés par voie biologique (mmoles/l)	NO_3^- théoriquement produits (mmoles/l) (*)	Différence entre les nitrates produits expérimentalement et théoriquement (%)
Entrée des colonnes	0			
Sortie de la colonne 1	6,1	2	6,2	2
Sortie de la colonne 2	10,6	3,4	11,4	8
Sortie de la colonne 3	15,2	4	13,5	12

(*) tenant compte de la quantité d'ammoniaque consommée biologiquement et des coefficients stœchiométriques de la réaction globale de nitrification

Par contre, la stœchiométrie n'est pas respectée pour le cas de la colonne en mode submergé. En effet, la quantité de nitrate produit expérimentalement est de 290 mg/l alors que théoriquement, 380 mg/l auraient dû se former. La principale raison est que, en dépit de la bonne aération fournie par le diffuseur, il peut exister des zones anoxies dans les pores de la tourbe granulaire si bien que la nitrification et la dénitrification peuvent alors lieu simultanément. Cette interaction entre les bactéries nitrifiantes et dénitrifiantes aux interfaces aérobie/anoxie, malgré leurs différences physiologiques considérables, a déjà été constatée par Liu en 1996. Elle a également été relevée par Chen et Esnault (1997) qui ont montré qu'une grande partie des nitrate produits dans les étangs non aérés à Hong-Kong était éliminée dans des zones anoxies, malgré la présence d'aérateurs. Une autre explication possible viendrait que certaines nitrifiantes autotrophes sont capables de réduire les ions nitrates et les ions nitrites en azote gazeux en conditions anoxies (voir revue de littérature). La tourbe granulaire est ainsi capable de réaliser successivement la nitrification et la dénitrification du lixiviat de LES à l'intérieur d'un même réacteur.

3.3.2.5. Mesure de l'alcalinité du lixiviat

Les mesures d'alcalinité pour les deux types de colonne sont présentées à la figure 3.10 :

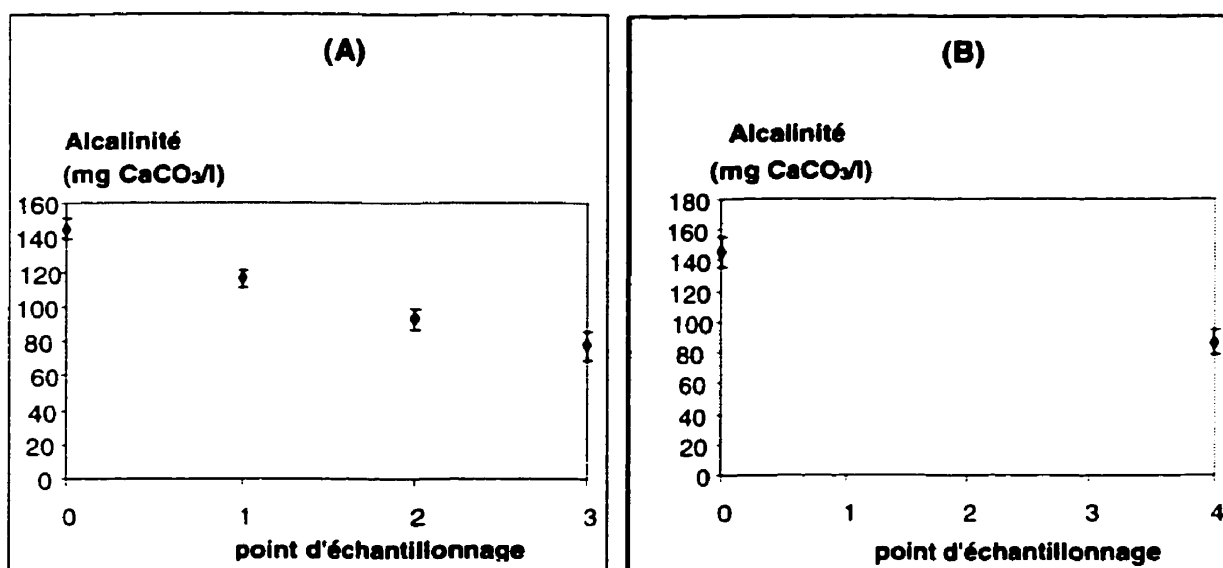


Figure 3.10 Alcalinité mesurée en fonction de la hauteur de tourbe, lors des essais de nitrification

(A) Aération naturelle

(B) Aération forcée

0 : entrée de colonne

1 : sortie de la colonne 1

2 : sortie de la colonne 2

3 : sortie de la colonne 3

0 : entrée de colonne

4 : sortie de la colonne en submergé

La figure montre une diminution de l'alcalinité en fonction de la hauteur de tourbe, qui confirme que la nitrification a bel et bien eu lieu. Toutefois, la consommation d'alcalinité ne respecte pas la stœchiométrie de la réaction de nitrification, notamment le rapport ions carbonate consommés/ions nitrate produits (tableau 3.5). Cette différence entre l'alcalinité théoriquement consommée (C.T.A) et celle réellement consommée (C.E.A) ne vient pas du pouvoir tampon de la tourbe puisque son alcalinité est inférieure à 20 mg/kg. Les résultats restent ainsi difficiles à interpréter.

Tableau 3.5 Comparaison entre l'alcalinité théoriquement consommée et celle réellement consommée, lors des essais de nitrification

	NO ₃ ⁻ produits (mg/l)	NO ₃ ⁻ produits entre 2 étages (mg/l)	C.T.A (mg CaCO ₃ /l) (*)	C.E.A (mg CaCO ₃ /l)	Diff. (%)
Entrée des colonnes	0				
		110	358	270	24
Sortie de la colonne 1	110				
		80	260	254	2
Sortie de la colonne 2	190				
		84	273	154	43
Sortie de la colonne 3	274				
Entrée de la colonne	0				
		290	945	587	38
Sortie de la colonne submergé	290				

(*) voir réaction globale d'oxydation et de synthèse cellulaire

3.3.2.6. Quantification de la biomasse nitrifiante

La quantification de la population bactérienne, déterminée à partir des essais avec aération naturelle, est présentée au tableau 3.6. Elle montre l'existence d'une gradation de micro-organismes nitrifiants variant selon la hauteur de tourbe. L'assimilation de l'ammoniaque et des nitrites a lieu principalement dans la partie supérieure du lit de tourbe. Cette formation rapide du biofilm dans les premiers centimètres peut être attribuée à l'ammoniaque qui est un substrat facilement assimilable favorisant la prolifération microbienne mais également la perte de perméabilité du lit. Des gradations de micro-organismes sur de la tourbe granulaire ont déjà été constatées par Gagné (1992)

qui a alimenté une colonne de tourbe en continu avec un effluent artificiel à base d'acide acétique pour simuler l'effluent d'une marinaderie. Il a montré une croissance prépondérante des micro-organismes dans les premiers centimètres de tourbe.

Tableau 3.6 Dénombrement des micro-organismes nitrifiants en fonction de la hauteur de tourbe

	Humidité (g tourbe sèche / g tourbe mouillée) (*)	Nombre de bactéries oxydant l'ammoniaque en nitrites / g de tourbe sèche	Nombre de bactéries oxydant les nitrites en nitrates / g de tourbe sèche
tourbe fraîche	0,9387	270	150
H ₁ = 12 cm	0,2607	$1,21 * 10^4$	$6,21 * 10^3$
H ₂ = 24 cm	0,2180	$4,23 * 10^5$	$2,74 * 10^5$
H ₃ = 35 cm	0,2163	$1,04 * 10^6$	$7,83 * 10^5$

(*) Les valeurs permettant de déterminer l'humidité de la tourbe à chaque étage sont regroupées en Annexe C.

3.3.3. Hydrodynamique des colonnes (aération naturelle et forcée)

3.3.3.1. Essai de traçage

Les mesures de l'essai de traçage dans les colonnes de nitrification en mode saturé et non saturé sont regroupés en Annexe G. Pour la colonne avec aération forcée, ils montrent que la radioactivité en sortie est maximale 28 minutes après l'injection de l'impulsion en

entrée, avant quoi elle est nulle. La radioactivité diminue ensuite progressivement et devient négligeable à partir du 3^{ème} jour. Comme le débit d'opération est de 3,5 litres par jour, le volume d'eau récupéré jusqu'à la 28^{ème} minute est ainsi égal à 68 ml. Par ailleurs, le volume de la partie non aérée du réacteur (c'est-à-dire le cône et le siphon) est de 70 ml. La colonne avec aération forcée agit ainsi comme un réacteur parfaitement mélangé. Le traceur subit ensuite un écoulement piston dans le cône et le siphon, zones qui ne connaissent aucune aération.

Il a été vu que la biodégradation de l'ammoniaque s'effectuait dans les premiers centimètres du lit de tourbe pour la colonne en mode saturé. Comme cette colonne se comporte comme un réacteur parfaitement mélangé, les concentrations sur toute la hauteur du lit sont identiques, ce qui donne l'« impression » que l'ammoniaque est entièrement dégradé en tête du milieu filtrant.

La colonne avec aération naturelle se comporte d'une manière totalement différente puisque le fluide suit un écoulement de type piston.

3.3.3.2. Détermination du temps de séjour et de la dispersion

Les résultats des essais de traçage pour les deux colonnes sont présentés ci-dessous:

Colonne avec aération naturelle	Colonne avec aération forcée
$t_c = 310 \text{ min}$	$t_c = 811 \text{ min}$
$\sigma_\theta = 0,28$	$\sigma_\theta = 0,931$
$D/\mu L = 0,04$	$D/\mu L = 2,3$

Le fluide connaît une grande dispersion dans la colonne avec aération forcée. En effet, le tracé $C_i/C_o=f(t_i/t_c)$ montre que la radioactivité n'est toujours pas nulle, même après 5 fois le temps de résidence expérimental moyen (t_c) (figure 3.11). Cette dispersion, ou cette traînée (queue), est attribuée à la diffusion du traceur dans le liquide emprisonné à l'intérieur des pores de la tourbe ou du biofilm et est observable lorsque le temps de diffusion est comparable au temps de séjour du liquide (Bélanger, 1994). Le traceur est ensuite relâché progressivement. Cet effet de diffusion entraîne des concentrations initiales de traceur plus faible en sortie et des concentrations en fin de courbe plus élevées que prévu et ainsi des temps de résidence observés très différents de ceux prédits par la théorie ($TRH_{exp}=811$ min et $TRH_{théorique}=363$ min) (Bélanger, 1994).

Au contraire, la dispersion n'est que très légère dans la colonne opérant en percolation (mouvement du fluide essentiellement par convection) (figure 3.12) et la traînée est beaucoup moins importante.

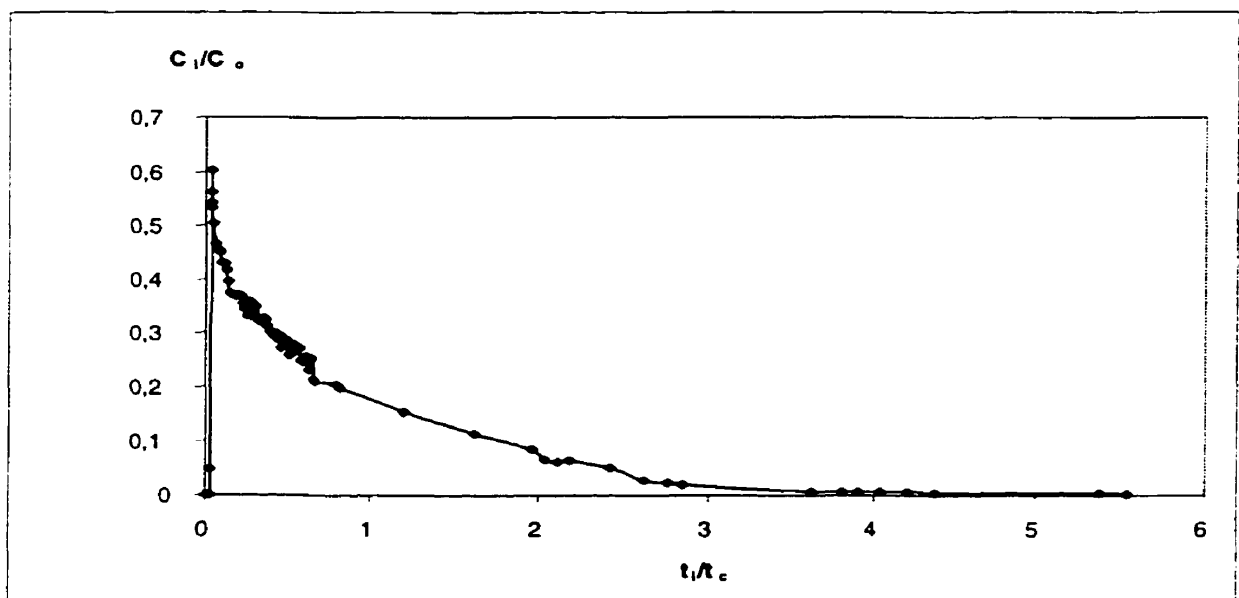


Figure 3.11 Tracé de $C_i/C_o=f(t_i/t_c)$ pour la colonne de nitrification avec aération forcée

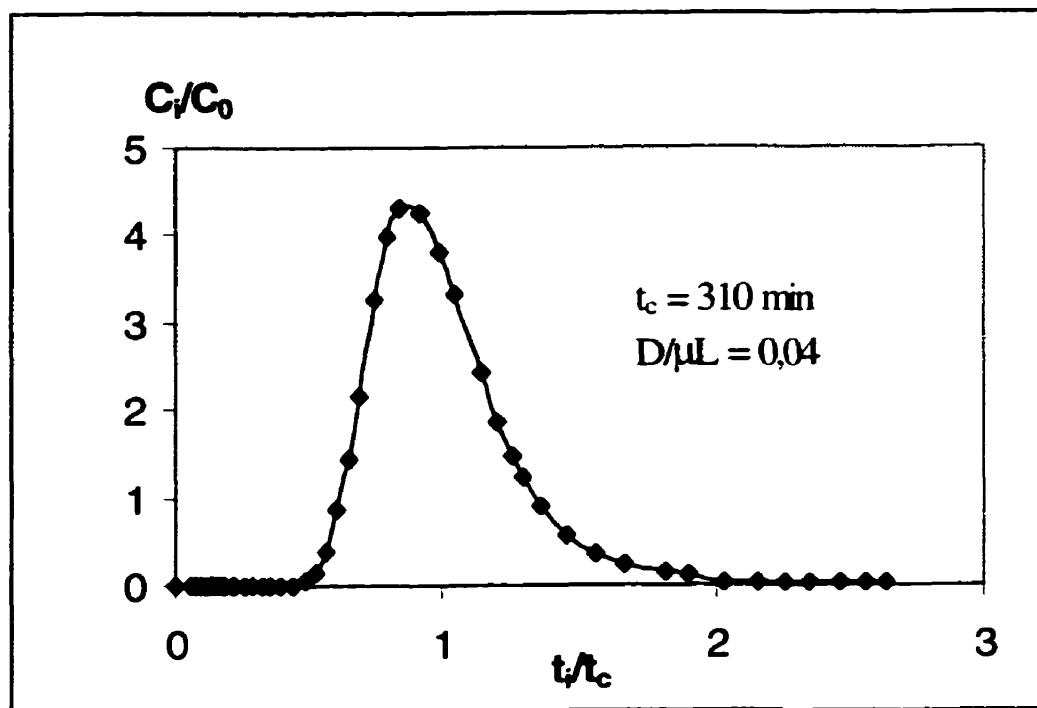


Figure 3.12 Tracé de $C_i = f(t_i)$ pour la colonne de nitrification avec aération naturelle

3.3.3.3. Détermination de la présence de volumes stagnants et de chemins préférentiels dans la colonne avec aération forcée

Le volume d'eau libre dans la colonne avec aération forcée se répartit de la façon suivante :

- le volume d'eau libre dans la partie aérée ($V_{\text{aérée}}=884 \text{ ml}$)
- le volume d'eau libre dans la partie non aérée ($V_{\text{non aérée}}=70 \text{ ml}$).

La concentration en eau tritiée théoriquement attendue au temps zéro (l'origine des temps étant celle où la radioactivité commence à être détectée, soit $t=28 \text{ minutes}$) est donc :

$$C_0 = (775000 \text{ dpm})/(884 \text{ ml}) = 877 \text{ dpm/ml}$$

Le tracé $\ln(C_i/C_0)=f(t_i/t_c)$ est présenté à la figure 3.13.

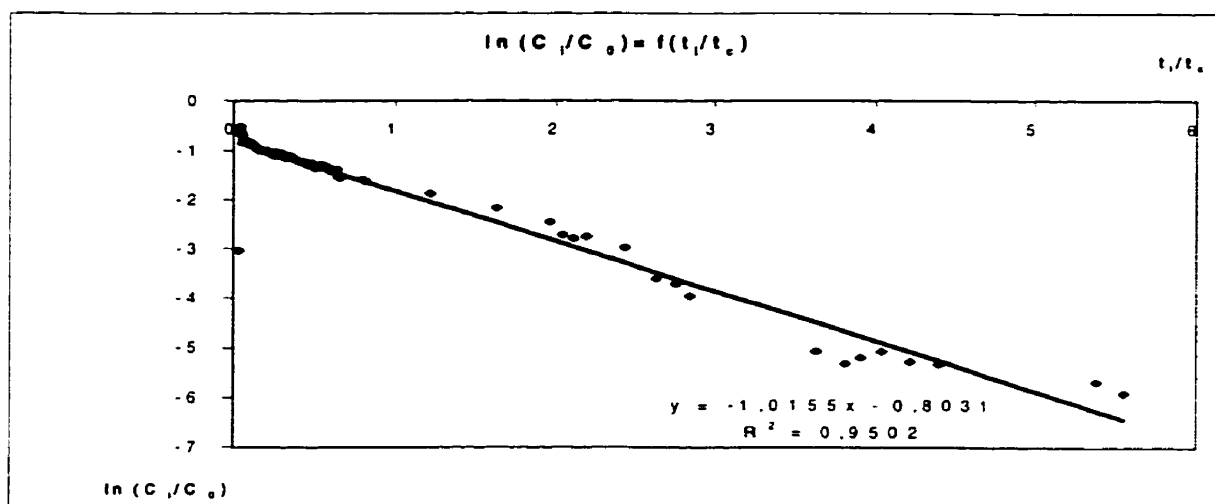


Figure 3.13 Tracé de $\ln(C_i/C_0) = f(t_i/t_c)$ pour la colonne de nitrification avec aération forcée

La régression linéaire sur la partie décroissante de la courbe montre que :

$$t_a = 811/1,0155 = 798 \text{ min}$$

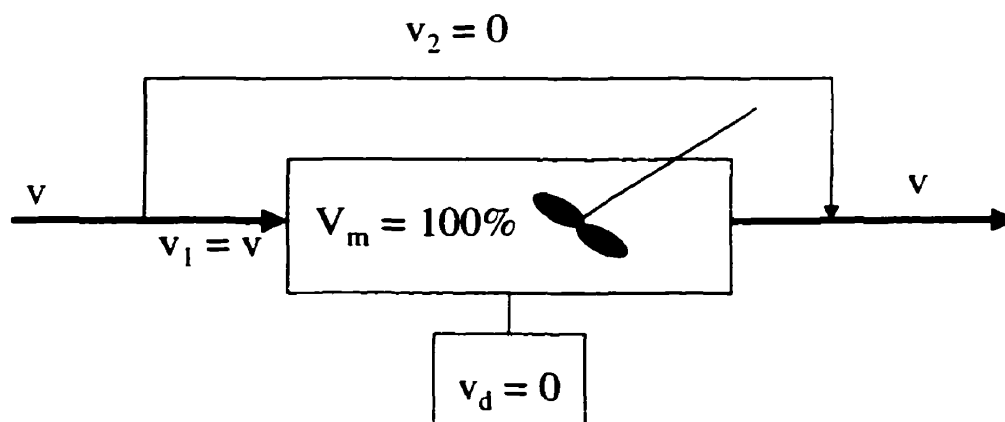
$$\ln[(v_1 \cdot V/v^2)/t_a] = -0.8031 \quad \text{soit} \quad v_1/v = 798 \text{ min} \cdot 2,43 \text{ ml/min} \cdot e^{-0.8031} / 884 \text{ ml} \\ = 1,00$$

Ainsi, $v_2/v = 0$

La forme finale de l'équation dans la partie aérée peut ainsi être écrite selon :

$$C/C_0 = 0,476 \exp (-0,0013t)$$

Ces résultats indiquent donc que tout le liquide qui entre est complètement mélangé dans la partie aérée de la colonne avec aération forcée et que les chemins préférentiels dans cette zone sont absents. Ces résultats s'appliquent uniquement pour notre colonne dont le débit d'aération était 0,17 vvm. Il n'est en aucun cas dit que les mêmes résultats seront obtenus pour des dimensions de colonne supérieures.



3.3.4. Comparaison des performances entre les colonnes avec aération naturelle et forcée

Les capacités d'enlèvement, calculées à chaque plateau et pour les deux types de colonnes, sont présentées à la figure 3.14. La méthode en mode submergé paraît être la

efficace pour dégrader l'ammoniaque puisque dès le premier point d'échantillonnage, l'enlèvement est de 100%. Cette technique nécessite par conséquent moins de tourbe granulaire mais requiert cependant une aération forcée continue dont les coûts peuvent être très importants, notamment à grande échelle. De plus, le temps de séjour du fluide dans la colonne est de 811 minutes alors qu'il n'est que de 310 minutes pour celle en mode non saturé. Ces résultats montrent donc qu'il n'est pas forcément plus intéressant d'utiliser la colonne opérant en mode submergé. En effet, à l'échelle industrielle, il serait préférable d'augmenter la hauteur de tourbe pour accroître l'efficacité d'enlèvement plutôt que d'avoir des temps de séjour de liquide dans la colonne trop important.

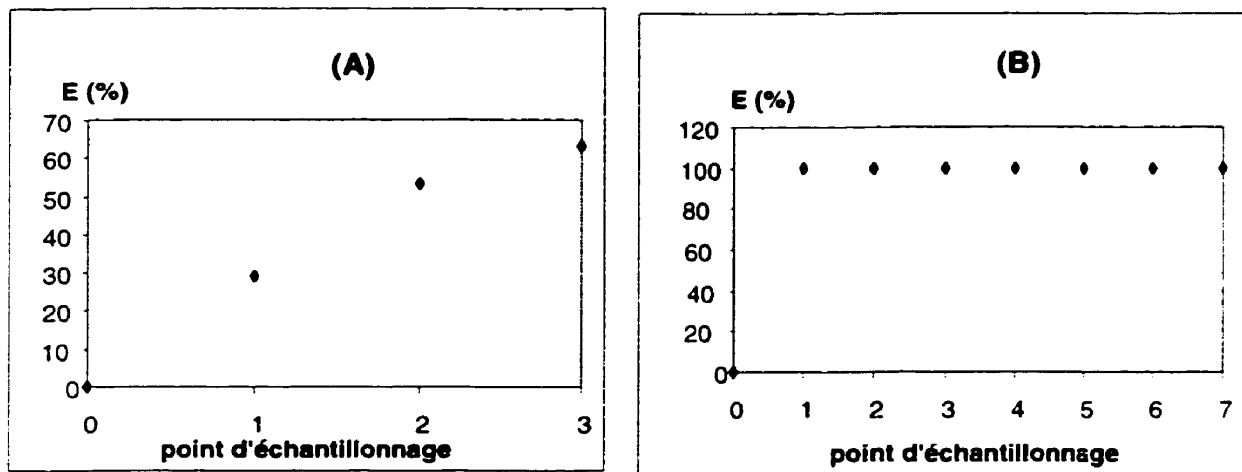


Figure 3.14 Capacité d'enlèvement de l'azote ammoniacal pour les deux types de colonne (aération naturelle et forcée)

(A) Aération naturelle

(B) Aération forcée

3.4. Essais de dénitrification

3.4.1. Suivi de la réaction de dénitrification

Les résultats obtenus, avec le lixiviat enrichi avec $26 \text{ mg NO}_3^-/\text{l}$, sont présentés aux figures ci-dessous. La figure 3.15 s'intéresse à la phase transitoire tandis que la figure 3.16 montre l'évolution des différents paramètres avec la hauteur de milieu filtrant, en régime permanent.

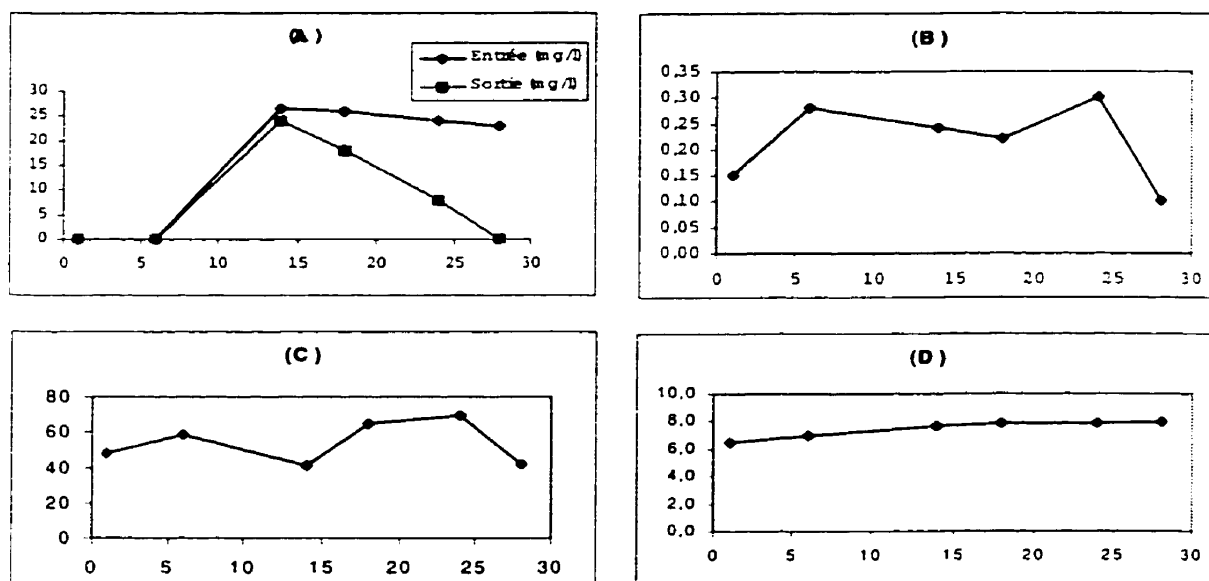


Figure 3.15 Évolution des paramètres en fonction du temps, dans la colonne de dénitrification ($26 \text{ mg NO}_3^-/\text{l}$)

A - Concentration en nitrate (mg/l)

B - Concentration en oxygène dissous (mg/l)

C - POR (mV)

D - pH

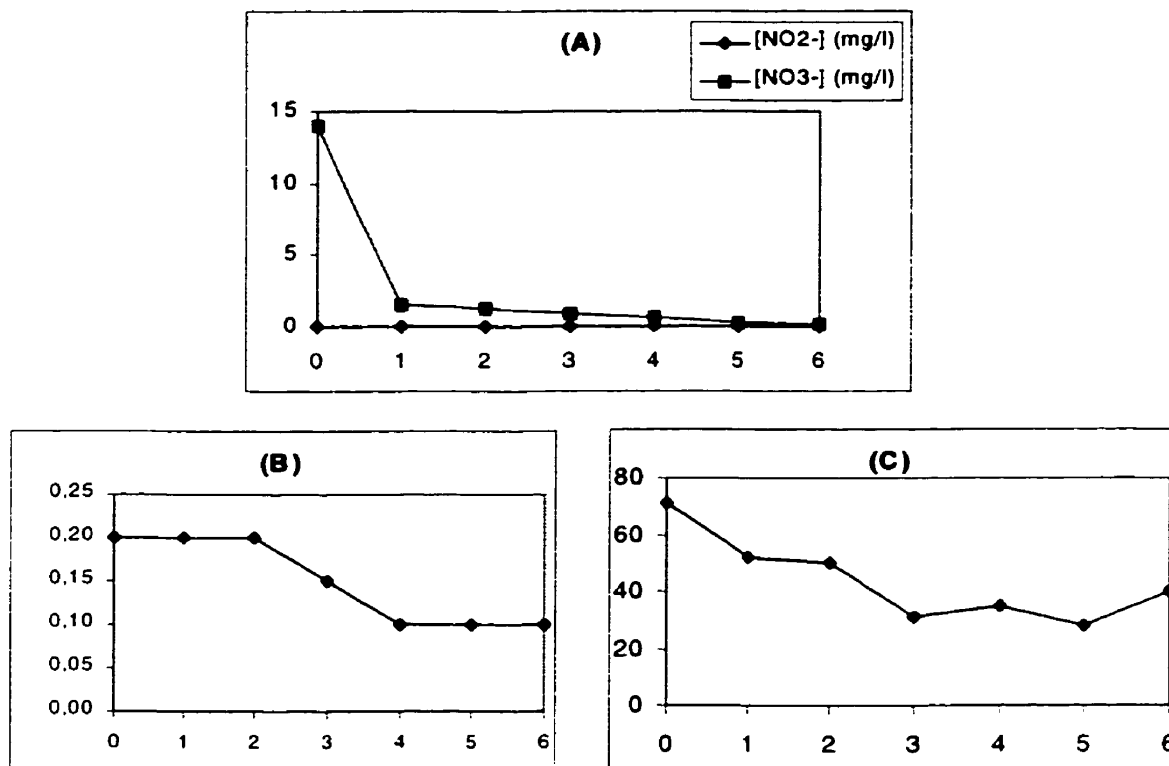


Figure 3.16 Évolution des paramètres en fonction de la hauteur de milieu filtrant dans la colonne de dénitrification, en régime permanent (26 mg NO₃⁻/l)

A - Concentration en nitrate (mg/l)

B - Concentration en oxygène dissous (mg/l)

C - POR (mV)

La concentration en NO₃⁻ est passée de 15 à 0 mg/l en sortie de colonne en l'espace de 13 jours (à partir du moment où l'on a introduit du KNO₃). Les courbes obtenues en régime permanent montrent que le nitrate est éliminé dans les premiers centimètres de la colonne.

Le suivi des différents paramètres lors de la phase transitoire, avec une concentration de $70 \text{ mg NO}_3^-/\text{l}$ et $140 \text{ mg NO}_3^-/\text{l}$ en entrée, est présenté à la figure 3.17 et 3.18, respectivement.

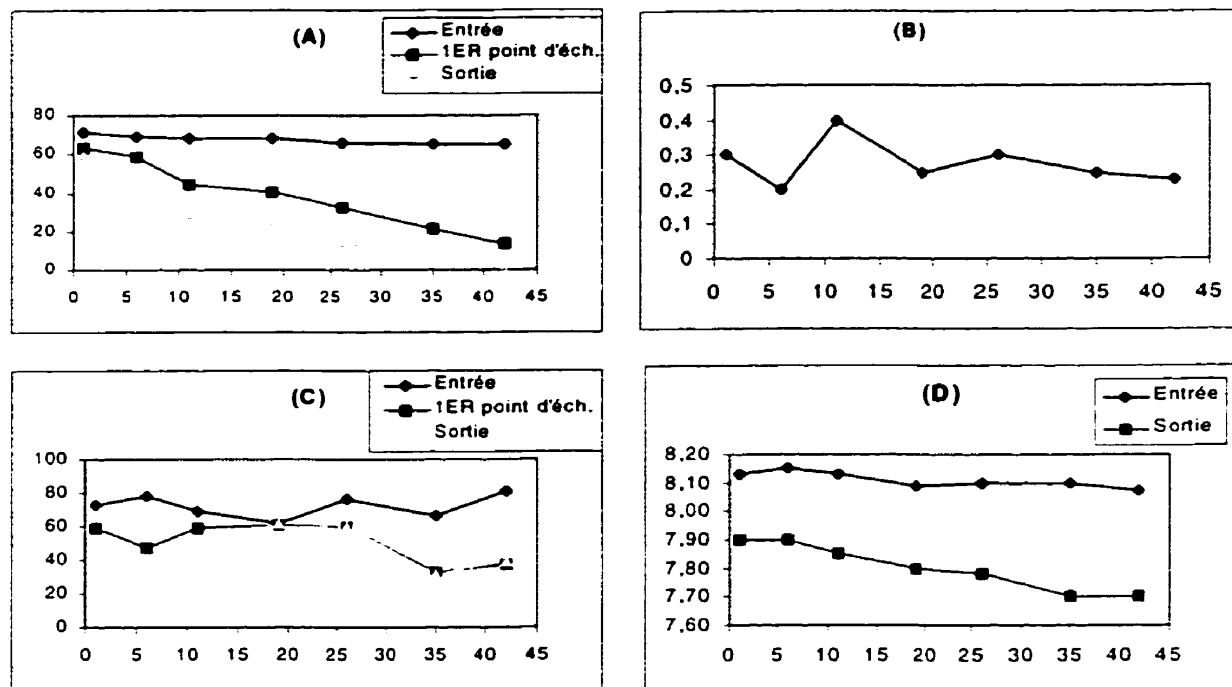


Figure 3.17 Évolution des paramètres en fonction du temps, dans la colonne de dénitrification ($70 \text{ mg NO}_3^-/\text{l}$)

A - Concentration en nitrate (mg/l)

B - Concentration en oxygène dissous (mg/l)

C - POR (mV)

D - pH

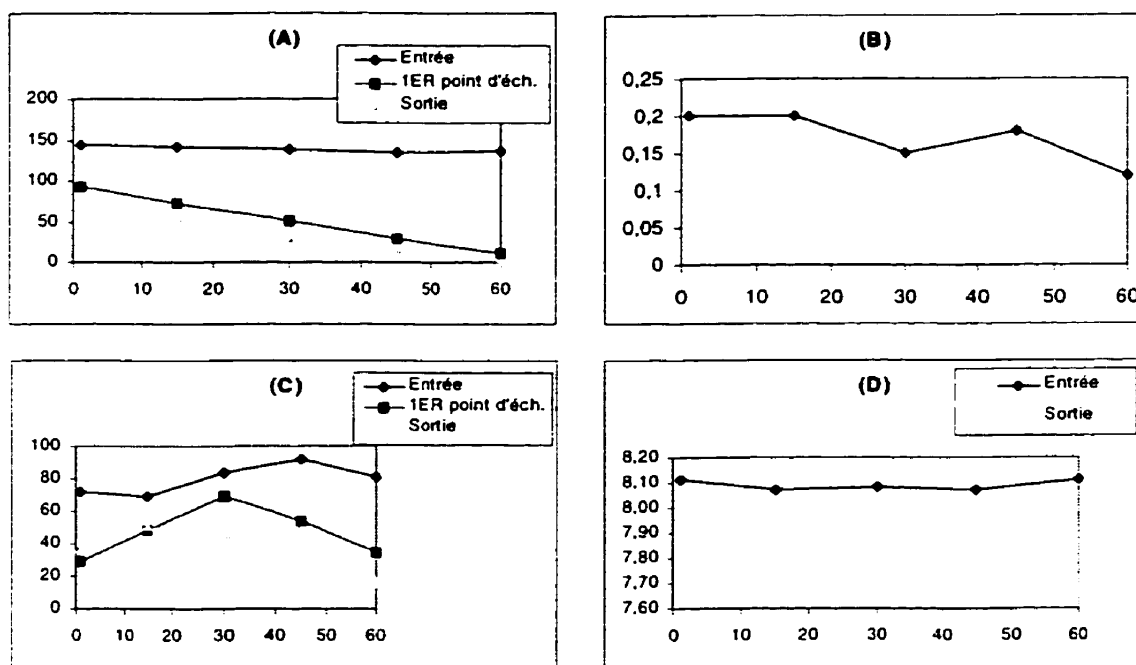


Figure 3.18 Évolution des paramètres en fonction du temps, dans la colonne de dénitrification ($140 \text{ mg NO}_3^-/\text{l}$)

A - Concentration en nitrate (mg/l)

B - Concentration en oxygène dissous (mg/l)

C - POR (mV)

D - pH

À $220 \text{ mg NO}_3^-/\text{l}$, la concentration en nitrate en sortie de colonne devient subitement la même que celle à l'entrée. La $\text{DCO}_{\text{filtrée}}$ au premier point d'échantillonnage montre en effet que l'on se retrouve en carence de matière organique à l'intérieur du biofiltre et que celle-ci est insuffisante pour permettre aux bactéries dénitrifiantes de dégrader la quantité de nitrate souhaitée. Les courbes obtenues, en régime stationnaire, en présence de dextrose ($220 \text{ mg NO}_3^-/\text{l}$) sont présentées à la figure 3.19. Elles montrent l'importance d'ajouter une source de matière organique dans le lixiviat. Là encore, la majeure partie de

la dégradation a lieu dans les premiers centimètres de la colonne, soit à l'intérieur des pierres concassées. Il est effectivement possible de discerner un biofilm dans les espaces interparticulaires des pierres. De plus, un dégagement de bulles continu est vraisemblablement signe de la formation d'azote gazeux par voie biologique. La dégradation dans le lit de tourbe, quant à elle, est moins importante puisque seulement 20 mg NO_3^-/l sont éliminés dans ce milieu filtrant.

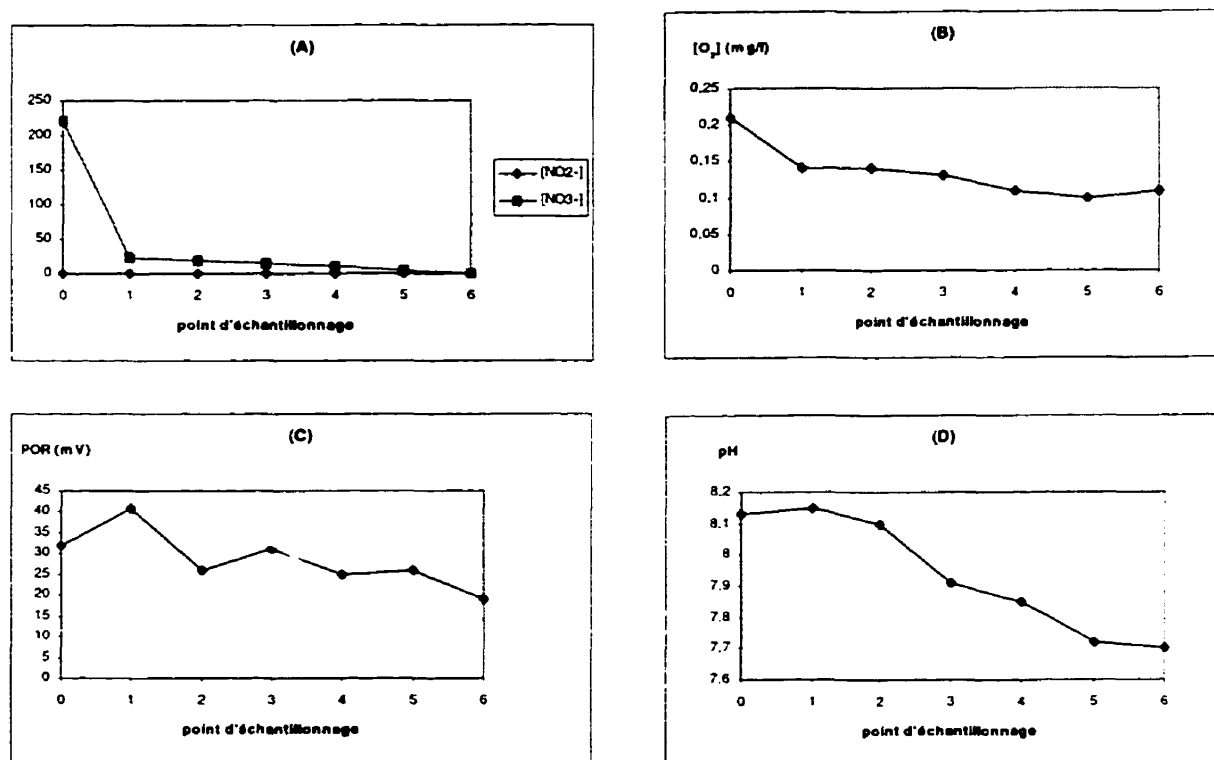


Figure 3.19 Évolution des paramètres en fonction de la hauteur de milieu filtrant dans la colonne de dénitrification, en régime permanent (220 mg NO_3^-/l)

- A - Concentration en nitrate (mg/l)
- B - Concentration en oxygène dissous (mg/l)
- C - POR (mV)
- D - pH

Les résultats, en régime permanent, avec un affluent contenant $420 \text{ mg NO}_3^-/\text{l}$, sont présentés à la figure 3.20. Ils montrent que 87% des nitrates sont éliminés entre l'entrée et le premier point d'échantillonnage et 13% dans les 14 cm de tourbe.

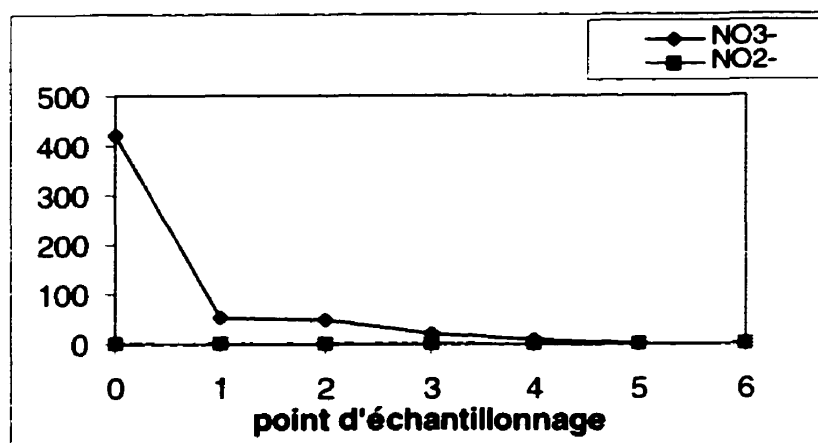


Figure 3.20 Évolution de la concentration en nitrate et en nitrite (mg/l) en fonction de la hauteur de la colonne de dénitrification, en régime permanent ($420 \text{ mg NO}_3^-/\text{l}$; débit=3,5 l/j)

3.4.2. Essai en conditions stériles

Les résultats des essais en conditions stériles et en présence de dextrose sont regroupés à la figure 3.21. Ils montrent que l'élimination des ions nitrate en régime permanent est majoritairement due à un phénomène microbiologique, la dégradation par voie physico-chimique représentant à peine 10%. Ainsi, les pierres concassées utilisées constituent un bon milieu filtrant pour effectuer la dénitrification du lixiviat de LES.

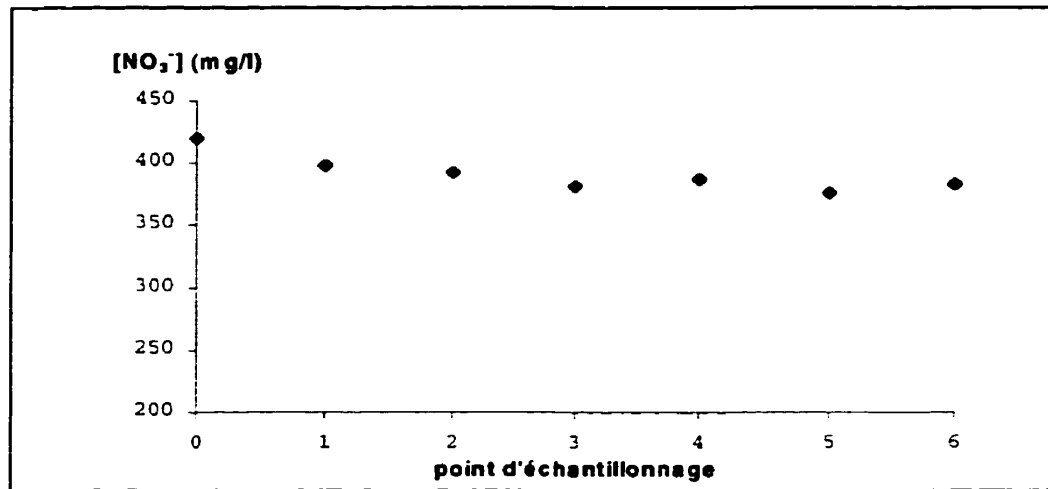


Figure 3.21 Évolution de la concentration en nitrate (mg/l) en fonction de la hauteur de colonne de dénitrification, en conditions stériles (420 mg/l en entrée)

3.4.3. Mesure de l'alcalinité du lixiviat et suivi de la DCO

Le suivi de l'alcalinité et de la demande chimique en oxygène, aux différentes hauteurs de milieu filtrant (conditions stériles et non stériles) et avec un effluent contenant 420 mg/l de nitrate, sont présentés à la figure 3.22.

Les valeurs montrent une augmentation de l'alcalinité en fonction de la hauteur de colonne, et confirment que la réaction dénitrification a bel et bien eu lieu. Toutefois, la production d'alcalinité et la quantité d'ions nitrate éliminés ne varient pas de manière stœchiométrique. La demande chimique en oxygène, quant à elle, diminue fortement en conditions biotiques alors qu'elle reste quasiment constante en conditions stériles. Cette différence de concentration (surtout entre l'entrée et le premier point d'échantillonnage)

est signe d'une consommation de matière organique par les bactéries hétérotrophes que sont les dénitrifiantes.

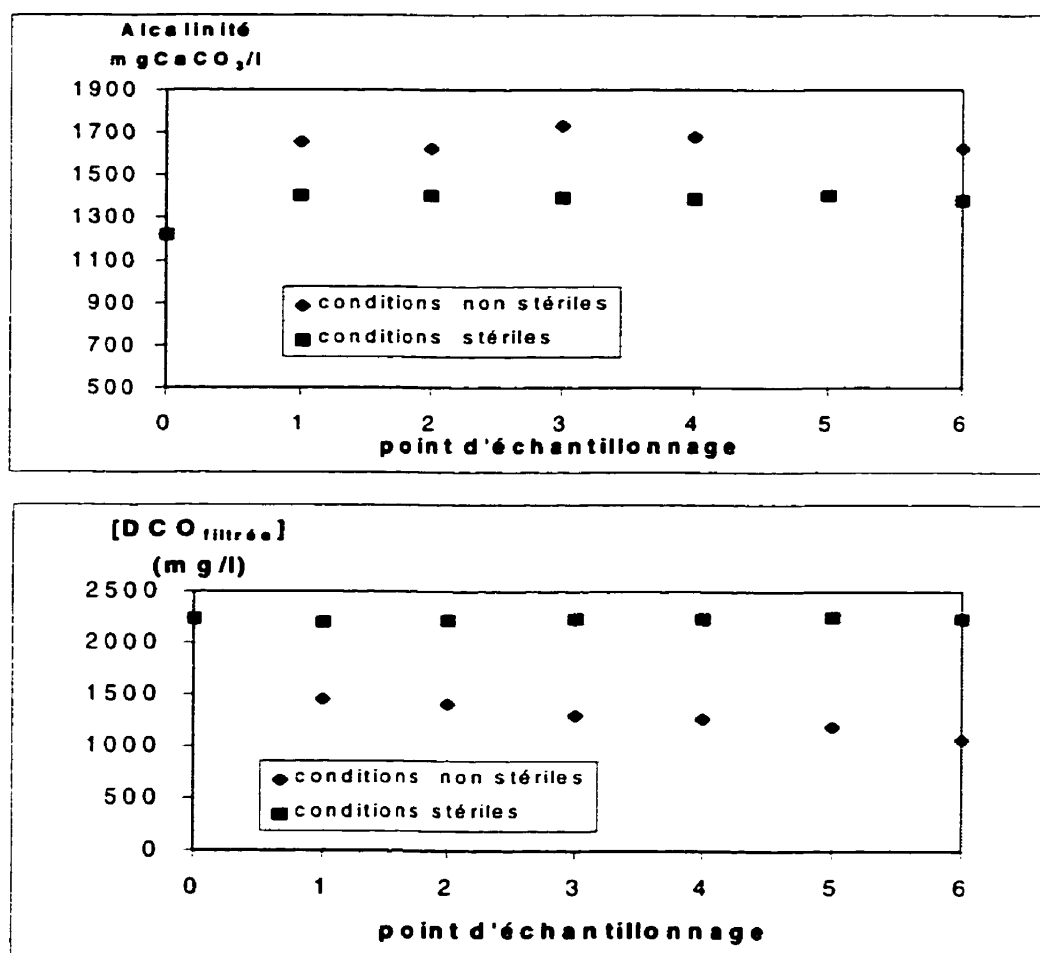


Figure 3.22 Alkalinité et DCO_{filtrée} en fonction de la hauteur de la colonne de dénitrification, en conditions stériles et non stériles

3.4.4. Quantification de la biomasse dénitrifiante

Les résultats concernant l'énumération des micro-organismes montrent que ces derniers varient avec la hauteur de milieu filtrant (tableau 3.7). On retrouve, en effet, une diminution de la biomasse dénitrifiante au fur et à mesure que le le lixiviat parcourt la colonne. Cette formation du biofilm dans les premiers centimètres est attribuée à la concentration importante de nitrate en entrée, favorisant la prolifération microbienne.

Tableau 3.7 Dénombrement des micro-organismes dénitrifiants à l'aide de la méthode du NPP

	Humidité (g tourbe-calcaire sec / g de tourbe-calcaire mouillé) (*)	Nombre de bactéries dénitrifiantes / g de tourbe- calcaire sec
tourbe fraîche	0,9332	$6,9 * 10^1$
calcaire brut	0,9994	5
calcaire (sous le 1 ^{er} point d'échantillonnage)	0,9317	$2,8 * 10^5$
1 ^{er} point d'échantillonnage	0,1835	$7,1 * 10^3$
2 ^{ème} point d'échantillonnage	0,1883	$8,2 * 10^3$
3 ^{ème} point d'échantillonnage	0,1941	$1,1 * 10^4$
4 ^{ème} point d'échantillonnage	0,2000	$9,9 * 10^3$
5 ^{ème} point d'échantillonnage	0,2121	$1,5 * 10^4$

(*) Les valeurs permettant de déterminer l'humidité de la tourbe et du calcaire à chaque étage sont regroupées en Annexe C.

3.4.5. Hydrodynamique de la colonne

Les mesures de l'essai de traçage sont présentées en Annexe G. En résumé:

$t_c = 765$ minutes	$D/\mu L = 0,7$
---------------------	-----------------

Le fluide suit un écoulement piston dans la colonne, avec une grande dispersion. Toutefois, la dispersion est égale à 0,7 alors qu'elle est de 2,3 pour la colonne opérant en submergé avec aération forcée. Certaines études ont effectivement démontré que la dispersion dans le liquide d'un lit filtrant triphasique était 3 à 6 fois plus élevée que dans un réacteurs à deux phases liquide-solide (Bélanger, 1994).

Le tracé $C_i/C_o=f(t_i/t_c)$ montre, de même que l'essai en mode submergé avec aération forcée, la présence d'une traînée à la fin de la courbe de réponse (figure 3.23). Ce phénomène est attribué à la diffusion du traceur dans le liquide emprisonné à l'intérieur des pores de la tourbe ou du biofilm. Le traceur est ensuite relâché progressivement. Cet effet de diffusion entraîne ainsi un temps de résidence observé supérieur à celui prédits par la théorie ($TRH_{exp}=765$ min et $TRH_{théorique}= \text{min}$).

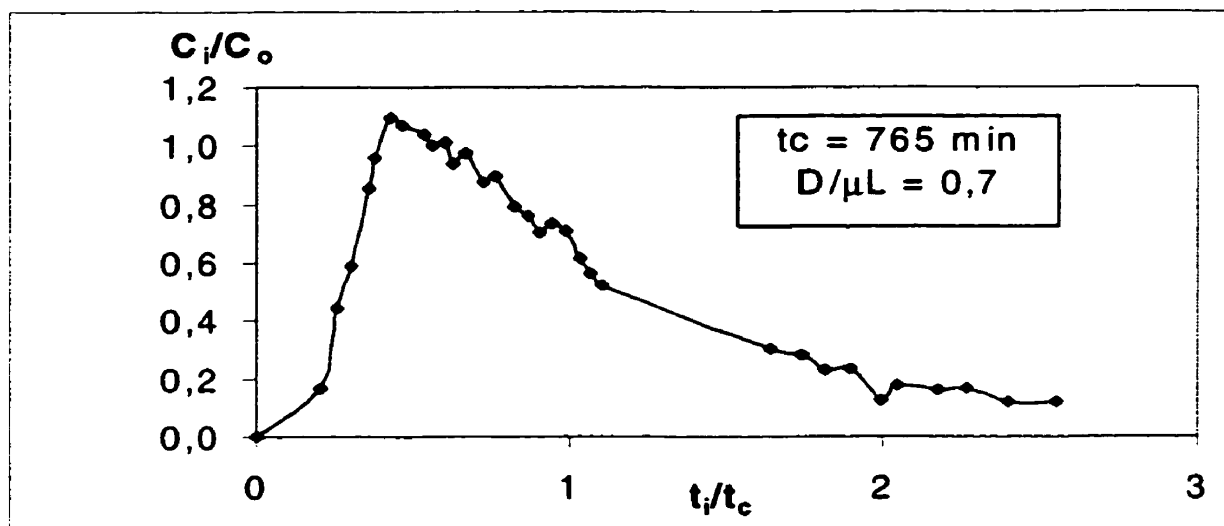
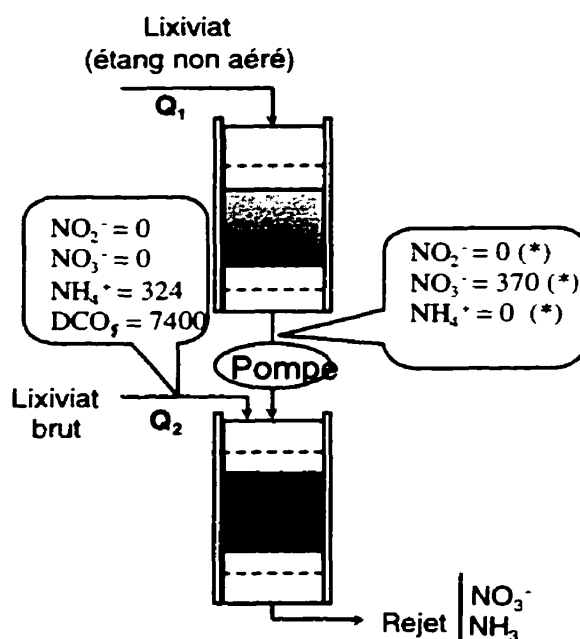


Figure 3.23 Tracé de $C_i/C_o = f(t_i/t_c)$ pour la colonne de dénitrification

3.5. Essais de nitrification et de dénitrification combinés

3.5.1. Estimation du rapport Q_1/Q_2

Le ratio « débit lixiviat (étang non aéré)/débit lixiviat brut » est estimé en s'intéressant aux matières organiques et azotées à l'entrée de la colonne de dénitrification (figure 3.24).



(*) Concentrations (exprimées en mg/L) en supposant que la réaction de nitrification est complète

Figure 3.24 Bilan des espèces en amont de la colonne de dénitrification

Afin de satisfaire un rapport massique $[\text{DCO}_{\text{filtrée}}]/[\text{NO}_3^-]$ compris entre 2 et 3 en entrée de la deuxième colonne, le débit d'alimentation du lixiviat brut est choisi égal à 10 % de celui du lixiviat de l'étang non aéré, soit $Q_1/Q_2 = 10$.

3.5.2. Suivi de la nitrification et de la dénitrification combinées

Avec un débit $Q_1 = 7 \text{ ml/min}$ (10 l/j) et $Q_2 = 0,7 \text{ ml/min}$ (1 l/j), les concentrations obtenues en sortie des colonnes de nitrification et de dénitrification sont résumées dans le tableau 3.8 :

Tableau 3.8 Suivi des différents paramètres en sortie des colonnes de nitrification et de dénitrification ($Q_1=10 \text{ l/j}$ et $Q_2=1 \text{ l/j}$)

Position	Paramètre	mg/l
Sortie de la colonne de nitrification	NH_4^+	36
	NO_2^-	0
	NO_3^-	152
	pH	8,30
Sortie de la colonne de dénitrification	NH_4^+	53
	NO_2^-	0
	NO_3^-	0
	pH	8,47

On s'aperçoit qu'une quantité non négligeable d'ions ammoniacque se retrouve en sortie de la première colonne. Avec des débits Q_1 et Q_2 de 3,3 L/j et 0,33 L/j respectivement, on obtient des nouveaux résultats qui sont résumés dans le tableau 3.9 :

Tableau 3.9 Suivi des différents paramètres en sortie des colonnes de nitrification et de dénitrification ($Q_1=3,3$ l/j et $Q_2=0,33$ l/j)

Position	Paramètre	mg/l
Sortie de la colonne de nitrification	NH_4^+	0
	NO_2^-	0
	NO_3^-	292
	$\text{DCO}_{\text{filtrée}}$	218
	pH	8,28
Sortie de la colonne de dénitrification	NH_4^+	16
	NO_2^-	0
	NO_3^-	0
	$\text{DCO}_{\text{filtrée}}$	92
	pH	8,50

L'effluent de la colonne de dénitrification révèle une concentration nulle en nitrite et en nitrate et une forte diminution de la matière organique. La concentration en ammoniacque, quant à elle, est de 16 mg/l. L'augmentation du temps de séjour dans les réacteurs permet ainsi d'obtenir un effluent qui respecte les normes de rejet souhaitées. Avec un débit du lixiviat brut égal à 0,10 ml/min (140 ml/j), le débit Q_1 étant toujours maintenu à 3,3 l/j, les nouveaux résultats obtenus sont (tableau 3.10) :

Tableau 3.10 Suivi des différents paramètres en sortie des colonnes de nitrification et de dénitrification ($Q_1=3,3$ l/j et $Q_2=0,14$ l/j)

Position	Paramètre	mg/l
Sortie de la colonne de nitrification	NH_4^+	0
	NO_2^-	0
	NO_3^-	295
	$\text{DCO}_{\text{filtrée}}$	211
	pH	8,30
Sortie de la colonne de dénitrification	NH_4^+	8
	NO_2^-	0
	NO_3^-	58
	$\text{DCO}_{\text{filtrée}}$	30
	pH	8,48

Ils révèlent une diminution nette de l'ammoniaque, ce qui était l'objectif visé. Toutefois, il semblerait qu'un tel ratio Q_1/Q_2 (de l'ordre de 20) ne permet pas une élimination totale des nitrate puisqu'en effet, la concentration de ces ions dans l'effluent n'est plus nulle (environ 60 mg/l). Cette conversion incomplète en azote gazeux est attribuée au manque de matière organique en tête du second réacteur. Ces deux dernières expériences montrent donc la difficulté d'obtenir, à la fois, l'enlèvement de l'ammoniaque et des nitrate. La gamme des débits à utiliser peut être résumée dans le tableau 3.11 :

Tableau 3.11 Tableau récapitulatif des débits à utiliser

Valeur de Q_1/Q_2	Conséquences
< 10	Concentration trop importante en matière organique à l'entrée de la colonne de dénitrification <i>Concentration importante en matière organique en sortie de colonne</i> <i>Concentration importante en azote ammoniacal</i> <i>Concentration nulle en nitrate</i>
> 20	Concentration trop faible en matière organique à l'entrée de la colonne de dénitrification <i>Faible concentration en matière organique en sortie de colonne</i> <i>Très faible concentration en azote ammoniacal</i> <i>Forte concentration en nitrate</i>

En conclusion, les milieux filtrants à base de tourbe granulaire et de calcaire sont des excellents supports pour effectuer la nitrification puis la dénitrification. Il faudra, pour respecter au mieux les normes de rejet des eaux de lixiviation, opérer avec un ratio Q_1/Q_2 compris entre 10 et 20.

CONCLUSION

À la lumière des résultats obtenus, les performances du procédé de biofiltration à base de tourbe ne font pas de doute quant à l'élimination de la matière azotée présente dans les lixiviats de LES.

Tout d'abord, les expériences en cuvée et les tests colorimétriques ont permis de montrer que le lixiviat ou la tourbe granulaire contenait toute la flore indigène nitrifiante et dénitrifiante nécessaire à la biodégradation des composés ciblés, à savoir l'ammoniaque et les nitrates; par conséquent aucune source de micro-organismes exogène ne fut nécessaire.

Les études en continu dans les colonnes ont ensuite révélé une bonne disparition de l'ammoniaque (63% d'élimination dans 35 cms de tourbe en utilisant la colonne avec aération naturelle et 100% en utilisant celle avec aération forcée). La dégradation, faite essentiellement par voie biologique, fut confirmée par les tests en conditions stériles, les mesures d'alcalinité du lixiviat et les décomptes microbiens sur les granules de tourbe. Concernant le profil de concentration en régime permanent, l'ammoniaque dégradé variait avec la hauteur de tourbe pour les essais avec aération naturelle tandis que 100% de l'ammoniaque était dégradé dans les premiers centimètres de tourbe granulaire, pour la colonne avec aération forcée. La nitrification en mode saturé semble ainsi plus efficace puisqu'elle nécessite moins de tourbe. Toutefois, cette technique est encore peu développée puisqu'elle requiert un diffuseur d'air qui augmente considérablement les coûts d'opération, notamment à grande échelle. De plus, elle exige des temps de séjour de liquide beaucoup plus longs à l'intérieur de la colonne.

En résumé, les résultats des deux essais ont montré que la tourbe granulaire était un bon milieu filtrant pour nitrifier le lixiviat de LES de notre étang. Les résultats en mode

submergé ont de plus montré que la tourbe était capable de réduire simultanément une partie des ions nitrates formés lors de la nitrification en azote gazeux.

Le test hydrodynamique de la colonne avec aération forcée a révélé que le diffuseur assurait une telle aération que la partie aérée se comportait comme un réacteur parfaitement mélangé, sans volumes stagnants ni chemins préférentiels. Au contraire, l'écoulement du fluide est de type piston avec une faible dispersion pour la colonne avec aération naturelle.

Les résultats de l'essai de dénitrification sont également fort intéressants puisqu'ils ont montré que 100% des ions nitrates ajoutés dans le lixiviat sont biodégradés dans les premiers centimètres du milieu filtrant constitués de pierres concassées. L'élimination de 420 mg NO_3^-/l pouvait être atteinte en rajoutant dans le réservoir du dextrose comme source de carbone. Les tests en conditions stériles et le dénombrement des bactéries dénitrifiantes ont confirmé que la dégradation était biologique. Les pierres concassées constituent ainsi un bon milieu filtrant pour effectuer la dénitrification du lixiviat de LES et ouvrent de bonnes perspectives, notamment à grande échelle.

Le jumelage des deux montages avec les milieux filtrants enrichis en biomasse nitrifiante et dénitrifiante permet d'obtenir, en utilisant le lixiviat brut comme source de matière organique dans le second réacteur, un effluent proche du rejet zéro pour les composés tels l'azote ammoniacal, les nitrites et les nitrates. Les résultats à l'effluent de ce nouveau concept sont optimaux à condition que le rapport du débit du lixiviat nitrifié sur celui du lixiviat brut soit compris entre 10 et 20.

Les faibles coûts des milieux filtrants, la simplicité du montage et les performances obtenues qui défient tous les résultats rencontrés jusqu'à date, qualifient ainsi cette alternance tourbe-calcaire comme un excellent moyen pour éliminer l'azote ammoniacal des lixiviats de LES.

RECOMMANDATIONS

Ce projet a permis de vérifier la faisabilité de la nitrification, de la dénitrification et de jumeler les deux activités dans le but de respecter les normes de rejet des eaux de lixiviation. À partir des résultats obtenus dans ce projet de maîtrise, plusieurs recommandations sont à envisager.

- **Nitrification**

Nous avons vu, lors des essais de nitrification avec *aération naturelle*, que la tourbe granulaire était capable de nitrifier les lixiviats de LES et que la quantité d'ammoniaque transformée en nitrate était fonction de la hauteur de tourbe. Avec trois colonnes, il est difficile d'établir un modèle biocinétique de dégradation. Il serait ainsi intéressant et judicieux d'alimenter en parallèle trois ou quatre autres colonnes de même diamètre et ayant une hauteur de milieu filtrant différente. Ceci n'était pas possible au cours du projet puisque la capacité du réservoir réfrigéré (1000 litres) n'était pas suffisante pour alimenter, aux débits utilisés, plus de trois colonnes.

Pour la colonne opérant en mode submergé avec *aération forcée*, il serait souhaitable également de déterminer une cinétique de biodégradation de l'ammoniaque en fonction de la hauteur de tourbe. Comme les résultats au laboratoire ont révélé que toute la biodégradation avait lieu dans les premiers centimètres de tourbe, il faudrait avoir des points d'échantillonnage beaucoup plus rapprochés les uns des autres en tête de colonne.

La détermination de ces cinétiques de dégradation avec la hauteur de tourbe, au laboratoire, permettrait

- d'estimer la quantité de biomasse produite à chaque étage et de la comparer aux résultats obtenus lors des décomptes microbiens à l'aide de la méthode du NPP (Annexe K);
- mais surtout d'établir un modèle hydrodynamique de biodégradation. Le modèle retenu permettrait de dimensionner des biofiltres industriels (échelle pilote et grande échelle) afin de respecter les normes de rejet des eaux de lixiviation.

Nous avons vu que la colonne avec aération forcée permettait un enlèvement total de l'ammoniaque présent dans le lixiviat. Toutefois, les coûts de l'aération et le long temps de séjour du lixiviat à l'intérieur poussent à nous orienter vers le choix de la colonne avec aération naturelle. Certes l'efficacité d'enlèvement de l'ammoniaque est plus faible (65% dans la plus grande colonne) mais le temps de séjour est beaucoup moins long. Il serait intéressant d'évaluer ce temps de séjour et également de voir, à partir de quelle longueur de colonne, l'efficacité d'enlèvement pourrait se rapprocher de 100%.

Enfin, il a été montré que la partie aérée de la colonne avec aération forcée était complètement mélangée et que la dégradation avait seulement lieu dans la partie supérieure du milieu filtrant. Pour s'en assurer, il serait souhaitable d'effectuer des tests de dénombrement microbien sur la hauteur du lit de tourbe.

• **Dénitrification**

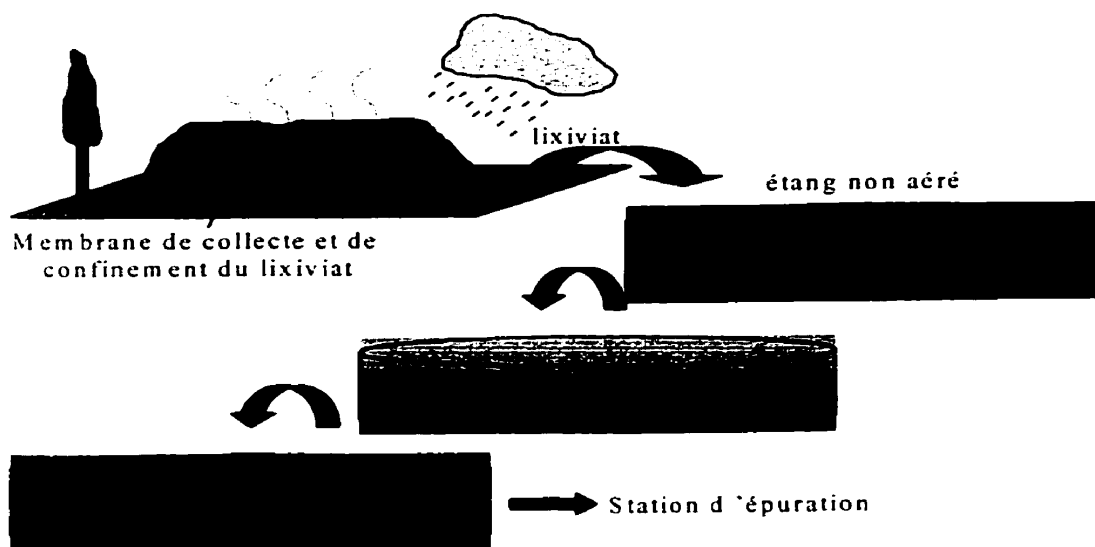
Les essais de dénitrification ont montré que la biodégradation des ions nitrate en azote gazeux était effectuée dans les premiers centimètres de la colonne, donc majoritairement à l'intérieur des pierres concassées. Ceci est certes intéressant puisque le calcaire est très peu dispendieux. Toutefois, il serait intéressant de réaliser la même expérience sans

ajouter de pierres en entrée, afin de voir si la tourbe granulaire est capable de dénitrifier les nitrates formés au cours de la première étape. Il semblerait que c'est le cas puisque l'essai de nitrification en mode submergé a montré qu'une partie des ions nitrate formés était biodégradée en azote gazeux dans les micro-environnements anoxiques de la tourbe. Ce résultat est très prometteur puisqu'en diminuant l'aération jusqu'à un débit critique, il serait alors possible de réaliser simultanément la nitrification et la dénitrification d'un lixiviat de LES dans un seul réacteur.

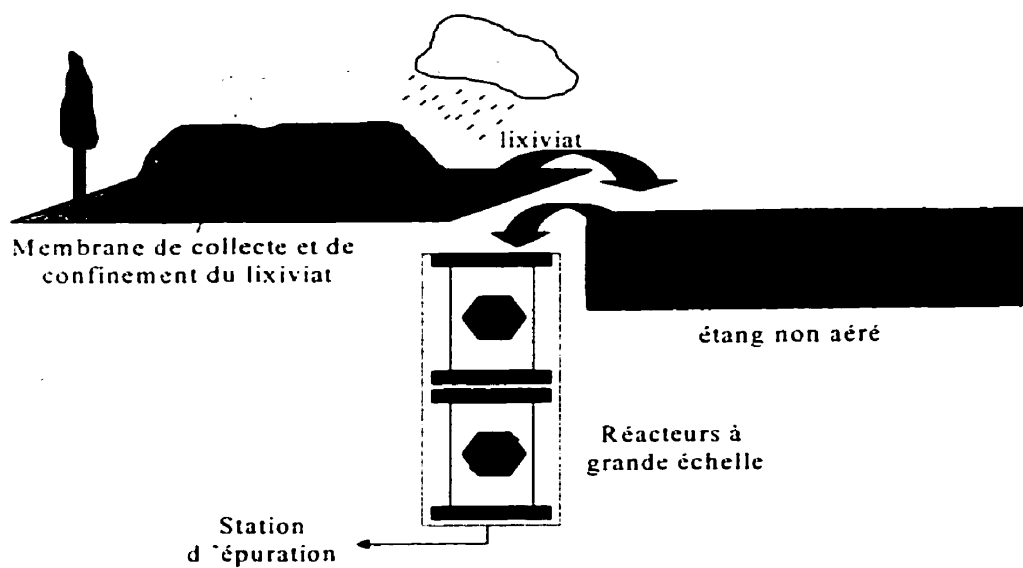
- **Nitrification et dénitrification jumelées**

Enfin il serait intéressant, après avoir enrichi les milieux filtrants en biomasse nitrifiante et dénitrifiante, de jumeler les deux montages en utilisant non pas le réacteur avec aération forcée mais le réacteur avec aération naturelle. Faire appel à un système d'aération augmente en effet considérablement les coûts d'opération, notamment à grande échelle.

Des résultats obtenus, il est possible de proposer un nouveau concept pour traiter les lixiviats de LES à grande échelle. Ce concept serait très intéressant, notamment chez la société BFI, puisqu'en plus d'un gain de place considérable (besoin de deux étangs en moins), le traitement serait beaucoup plus rapide. De plus, les coûts d'opération seraient très largement diminués (milieu filtrant peu dispendieux, élimination des aérateurs de l'étang aéré). Il serait ainsi intéressant de remplacer le traitement actuel des lixiviats de LES par ce nouveau modèle (figure ci-dessous).



(A)



(B)

Figure Les différents concepts de la nitrification et de la dénitrification des lixiviats de LES, à grande échelle

A – Schéma actuel chez la société BFI

B – Schéma proposé

RÉFÉRENCES

ANDERSSON, B., ASPEGREN, H (1994). High Rate Nitrifying Trickling Filters. Water Science and Technology **29**, No.10-11: 47-52.

APRIL, D. (1989). Les dessus de la tourbe. Sciences Activités: 3-6.

BAE, J. H., KIM, S.K. (1997). Treatment of Landfill Leachates: Ammonia Removal via Nitrification and Denitrification and further COD Reduction via Fenton's Treatment Followed by Activated Sludge. Water Science and Technology **36** No.12: 341-348.

BARLAZ, M. A. (1997). Microbial Studies of Landfills and Anaerobic Refuse Decomposition. Landfills and Anaerobic Refuse Decomposition. Manual of Environmental Microbiology. ed : C. J. Hurst. Washington : ASM PRESS, © 1997 : 541-557.

BEG, S.A., HASSAN, M.M. (1997). Effects of Fasting Condition on Multi-Substrate Carbon Oxidation and Nitrification System in an Upflow Packed-Bed Biofilm Reactor. Chemical Engineering Technology **20**: 162-170.

BÉLANGER, A., POTVIN, D. (1987). La tourbe, une ressource d'avenir. Centre québécois de valorisation de la biomasse, Québec.

BÉLANGER, M. C. (1994). Hydrodynamique d'un biofiltre à tourbe opéré en mode de percolation avec aération forcée. Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de maîtrise ès sciences appliquées (M.Sc.A). Génie Chimique. École Polytechnique de Montréal, Canada.

BENEFIELD, L. D. (1980). Inorganic Materials. Wastewater Characteristics and Flows. Biological Process Design for Wastewater Treatment : 86-99.

BEONE, G., BORTONE, G. (1997). A Transportable Full Scale Plant for a Landfill Leachate Treatment by Reverse Osmosis and Vacuum Evaporation. Sixth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

BLAKEY, N., ARCHER, D (1995). Bioreactor Landfil: A Microbiological Review. Fifth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

BODE, H., SEYFRIED, C.F. (1987). High-Rate Denitrification of Concentrated Nitrate Wastewater. Water Science and Technology **19**, No. ¹/₂, Rio: 163-174.

BOELTER, D. H. (1968). Important Physical Properties of Peat Materials. Proceedings of the 3rd International Peat Congress, Quebec, Canada.

BOLLER, M., GUJER, W. (1994). Parameters Affecting Nitrifying Biofilm Reactors. Water Science and Technology **29**, No.10-11: 1-11.

BONHOMME, C. (1980). Épuration expérimentale des eaux de rejet d'un abattoir de volailles sur lit de tourbe. Eau et l'Industrie **44**: 34-37.

BRATINA, J. E., MASSEY, M.J. (1985). Nite/Denite - An Innovative, Cost Effective Process for the Treatment of High Strength Nitrogenous Industrial Wastewaters. Comptes rendus, 8^{ème} Symposium sur le Traitement des Eaux Usées au Canada, Montréal.

BUELNA, G, BÉLANGER, G. ^[1] (1989). Peat-Based Biofilters for Municipal

Wastewater Treatment: A Choice of Peat. A Symposium International Scope on 8 Themes of Future Application of Peat **44**: 34-37.

BUELNA, G., BÉLANGER, G. (1989). Performance épuratoire d'un biofiltre à base de tourbe utilisé pour le traitement des eaux usées de petites minicipalités. Comptes Rendus. 12^{ème} Symposium sur le Traitement des Eaux Usées et 1^{er} Atelier sur l'Eau Potable.

BULC, T., VRHOVSEK, D. (1997). The Use of Constructed Wetland for Landfill Leachate Treatment. Water Science and Technology **35**, No.5: 301-306.

BURTON, S. A. Q., WATSON-CRAIK, I.A. (1997). Ammonia Production and Turnover in Landfills Reuse. Sixth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

CARLEY, B. N., MAVINIC, D.S. (1991). The Effects of External Carbon Loading on Nitrification and Denitrification of a High-Ammonia Landfill Leachate. Research Journal of the Water Pollution Control Federation **63**, No.1: 51-59.

CARON, H. (1980). La tourbe - Techniques modernes d'exploitation et utilisations à travers le monde.

CARON, M. (1994). Vers une diversification des utilisations de la tourbe au Québec - les micro-organismes. Centre Québécois de Valorisation de la Biomasse, 10 pages.

CARRAND, G., CAPON, B. (1990). Elimination of Carbonaceous and Nitrogenous Pollutants by a Twin-Stage Fixed Growth Process. Water Science and Technology **22**, No.1/2: 261-272.

ÇEÇEN, F., GÖNENÇ, I.E. (1994). Nitrogen Removal Characteristics of Nitrification

and Denitrification. Water Science and Technology **29**, No.10-11: 409-416.

ÇEÇEN, F., GÖNENÇ, I.E. (1995). Criteria for Nitrification and Denitrification of a High-Strength Wastes in two Upflow Submerged Filters. Water Environment Research **67**(2): 132-140.

CHEN, T., ESNAULT, D. (1997). First Year Operation of the NENT Landfill Leachate Treatment Works in Hong-Kong. Sixth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

CHEN, P. H., CHEN, C.Y. (1997). Nitrogen Control in Landfill Leachate Treatment. Sixth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

CHRISTENSEN, T. H., COSSU, R. (1989). Sanitary Landfilling: Process Technology and Environment Impact. Academic Press: 29-49.

CLÉMENT, B. (1995). Physico-Chemical Characterization of 25 French Landfill Leachate. Fifth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

COMEAU, Y. (1996, session d'hiver). Notes de cours de Épuration biologique des eaux usées. École Polytechnique de Montréal.

COUILLARD, D. (1991-92). Appropriate Wastewater Management Technologies Using Peat. Journal of Environment System **21** (1): 1-20.

COUILLARD, D. (1994). The Use of Peat in Wastewater Treatment. Water Research **28**: 1261-1274.

COUPAL, B., LALANCETTE, J-M. (1976). The Treatment of Wastewaters with Peat

Moss.» Water Research **10**: 1071-1076.

COUPAL, B. (1985). La tourbe: un agent dépolluant. GEOS **14**(4): 10-13.

DOCKHORN, T., CHANG, L. (1997). Removal of Nitrogen from Landfill Leachate by Using SBR-Technology. Sixth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

DUBUC, Y. (1982). Épuration d'eau usée domestique par la tourbe. Génie Civil. École Polytechnique de Montréal, Canada.

ESCOT, A. (1994). Performances épuratoires et comportement microbiologique d'un biofiltre de tourbe alimenté par des effluents agro-alimentaires. Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de maîtrise ès sciences appliquées (M.Sc.A). Génie Chimique. École Polytechnique de Montréal, Canada.

FARQUHAR, G. J. (1989). Leachate: Production and Characterization. Canadian Journal of Civil Engineering **16**: 317-325.

FORGIE, D. J. L. (1988). Development of a Leachate Treatment Selection Model. Environmental Engineering National Conference Papers.

FORTEATH, N. (1991). Biofilters-Structure and Function. Austasia Aquaculture **5**: 33-34.

GAGNÉ, B. (1992). Modélisation d'un biofiltre a base de tourbe alimenté avec un effluent riche en acide acétique. Génie Chimique. École Polytechnique de Montréal, Canada.

GRAVELLE, D. V., LANDREVILLE, A. (1980). Caractérisation de la tourbe pour le

traitement des eaux usées d'abattoirs. The Canadian Journal of Chemical Engineering **58**: 235-240.

GREEN, M. Groundwater Treatment, Nitrate Contamination. Environmental Analysis and Remediation. Wiley Encyclopedia Series in Environmental Science **3**, Meyers, R.A. (1998) : 2018-2033.

GRISEL, H. (1980). Physicochimie de la tourbe et des métaux lourds. Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de maîtrise ès sciences appliquées (M.Sc.A). Génie Civil. École Polytechnique de Montréal, Canada.

HAGEDORN-OLSEN, C., MOLLER, I.H. (1994). Oxygen Reduces Denitrification in Biofilm Reactors. Water Science and Technology **29, No.10-11**: 83-91.

HASSELGREN, K. (1989). Landfill Leachate Treatment and Reuse in Soil-Plant Systems. Second International Landfill Symposium. Sardinia, Italy.

HIPPEN, A., ROSENWINKEL, K.H. (1997). Aerobic Deammonification: A Most Promising Process in the Treatment of Landfill Leachate. Sixth International Landfill Symposium. Sardinia, Italy.

HJELMAR, O., JOHANNESSEN, L.M. (1995). Composition and Management of Leachate from Landfills within the E.U. Fifth International Landfill Symposium. Sardinia, Italy.

ISAACS, S.H., HENZE, M. (1995). Controlled Carbon Source Addition to an Alternating Nitrification-Denitrification Wastewater Treatment Process Including Biological P Removal. Water Research **29, No.1**: 77-89.

JIMENEZ, B., CAPDEVIELLE, B. (1987). Design Considerations for a Nitrification-Denitrification Process Using Two Fixed-Bed Reactors in Series. Water Science and Technology **19**, Rio ($1/2$): 139-150.

KABBE, G., ROOS, H.J. (1995). Long-Term Emission Behaviour of Sanitary Landfills. Fifth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

KAPETANIOS, E., PAPADOPOULOS, A. (1995). Physical-Chemical-Biological Treatment of Leachates from Stabilised Landfills. Fifth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

KARNIK, M., PARRY, C. (1997). Cost Implications of Operating Landfills as Flushing Bioreactors. Sixth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

KEENEY, D.R., NELSON, D.W. (1982). Nitrogen-Inorganic Forms. Methods of Soil Analysis, **part 2, No.9**. Chemical and Microbiological Properties, 2nd edition (USA). A.L. Page.: 643-693.

KLEIN, P. H. (1995). Microbiologie. Belgium.

KNOX, K., GRONOW, J.R. (1995). Pilot Scale Study of Denitrification and Contaminant Flushing during Prolonged Leachate Recirculation. Fifth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

KOENIG, A., LIU, L.H. (1997). Autotrophic Denitrification of Nitrified Landfill Leachate Sulphur Packed Bed Reactors. Sixth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

KOTLAR, E., TARTAKOVSKY, B. (1996). The Nature of Interaction Between Immobilized Nitrification and Denitrification Bacteria. Journal of Biotechnology **51**: 251-258.

LAFRANCE, C., LESSARD, P. (1996). Évaluation de la filtration sur tourbe et compost pour le traitement de l'effluent d'une usine de compostage de résidus verts. Canadian Journal of Civil Engineering **23**: 1041-1050.

LALLAI, A., LOI, G. (1995). Anaerobic Treatment of Landfill Leachate Using a Fixed Film Reactor. Fifth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

LAVAGNOLO, M.C., MUNTONI, A. (1995). Biological Treatment and Determination of Kinetics Constants for Different Leachates Through a Series of Lagoons. Sixth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

LEVENSPIEL, O. (1972). Chemical Reaction Engineering, John Wiley & Sons, New York.

LIBERTI, L., NOTARNICOLA, M. (1997). Field Evaluation of Leachate Characteristics. Sixth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

LIETO, J. (1995). Chimie Physique Électronique de Lyon, Lyon, France. Génie chimique.

LIU, J., WANG, B. (1996). Removal of Nitrogen from Coal Gasification and Coke Plant Wastewaters in A*/O Submerged Biofilm-Activated sludge (SBF-AS) Hybrid System. Water Science and Technology **34**, No.11: 253-260.

MAHNE, I., PRINCIC, A., MEGUSAR, F. (1996). Nitrification/Denitrification in

Nitrogen High-Strength Liquid Wastes. *Water Research* **30**, No.9: 2107-2111.

MALTERER, T., McCARTHY, B. , ADAMS, R. (1996). Use of Peat in Waste Treatment. *Mining Engineering*: 53-56.

MANGE, P., GROS, H. (1990). Traitement biologique d'eaux usées communales par biofiltration sur matériau granuleux et nitrification sur support immergé. *Water Science and Technology* **22**, No. 1/2: 293-303.

MANOHARAN, R., LIPTAK, S. (1989). Denitrification of a High Ammonia Leachate Using an External Carbon Source. *Environmental Technology Letters* **10**: 707-716.

MARTIENSSEN, M., SCHOPS, R. (1997). Biological Treatment of Leachate from Solid Waste Landfill Sites-Alterations in the Bacterial Community during the Denitrification Process. *Water Research* **31**, No.5: 1164-1170.

MARTINEAU, G. (1999). Développement et caractérisation d'un biofiltre pilote pour le traitement des eaux souterraines contaminées par les BTEX. Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de maîtrise ès sciences appliquées (M.Sc.A). Génie Chimique. École Polytechnique de Montréal, Canada.

McLELLAN, J. K., ROCK, C.A. (1986). The Application of Peat in Environmental Pollution Control: A Review. *International Peat Journal* **1**: 1-14.

MEUNIER, F. (1985). Utilisation de la tourbe pour le traitement des eaux usées. Comptes Rendus, 8^{ème} Symposium sur le Traitement des Eaux Usées au Canada. Montréal, Québec.

MONTEITH, H. D., BRIDLE, T.R. (1979). Évaluation des rejets industriels de carbone pour la dénitrification biologique. Direction Générale de la Lutte contre la Pollution des Eaux . Développement des techniques.

MONTEITH, H.D., STEPHENSON, J.P. (1981). Mixing Efficiencies in Full-Scale Anaerobic Digesters by Tracer Methods. Journal of Water Pollution and Control **3**, No.1.

MÜNCH, E. V., LANT, P. (1996). Simultaneous Nitrification and Denitrification in Bench-Scale Sequencing Batch Reactors. Water Research **30**, No.2: 277-284.

MURPHY, K.L., SUTTON, P.M. (1982). Évaluation de la nitrification-dénitrification biologique à Penticton. Colombie Britannique, La Collecte des Eaux Usées.

MUSTIN, M. (1987). Le compost, gestion de la matière organique. Paris.

NICHOLS, D.S., BOELTER, D.H. (1982). Treatment of Secondary Sewage Effluent with a Peat-Sand Filter Bed. Journal of Environmental Quality **11**, No.1: 86-92

NICHOLS, D.S. (1983). Capacity of Natural Wetlands to Remove Nutrients from Wastewater. Journal WPCF **55**, No.5: 495-505.

ONAY, T. T., POHLAND, F.G. (1998). *In situ* Nitrogen in Controlled Bioreactor Landfills. Water Research **32**, No.5 : 1383-1382.

PARKER, D., LUTZ, M. (1995). Effects of Operating Variables on Nitrification Rates in Tricking Filters. Water Environment Research **67** (7): 1111-1117.

PATUREAU, D., BERNET, N. (1997). Combined Nitrification and Denitrification in a Single Aerated Reactor Using the Aerobic Denitrifier *Comamonas sp.* Strain SGLY2. Water Research **31**, No.6: 1363-1370.

PETITPAS, A., LAFORTUNE, F. (1993). Le recyclage: est-ce la seule solution? Chimiste **8**: 5-7.

PRIMI, C., COURANT, P. (1997). Leachate Treatment by Coupling Biological Nitrification-Denitrification and Oxidation by Ozone. Sixth International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

PRINCIC, A., MAHNE, I., MEGUSAR, F., PAUL, E.A., TIEDJE, J.M. (1998). Effects of pH and Oxygen and Ammonium Concentrations on the Community Structure of Nitrifying Bacteria from Wastewater. Applied and Environmental Microbiology **64**, No.10: 3584-3590.

ROBINSON, H. (1995). The UK: Leading the Way in Leachate Treatment. Industrial Waste Management (IWM) Conference Proceedings.

ROGALLA, F., BOURBIGOT, M.M. (1990). New Developments in Complete Nitrogen Removal with Biological Aerated Filters. Water Science and Technology **22**, No.1-2: 273-280.

ROSS, A., SHOIRY, J. (1989). Traitement des eaux de lixiviation des lieux d'enfouissement sanitaire et des eaux minières; développement d'un système de traitement par filtration passive. Comptes Rendus, 12^{ème} Symposium sur le Traitement des Eaux Usées et 1^{er} Atelier sur l'Eau Potable.

ROY, R., KNOWLES, R. (1994). Effects of Methane Metabolism on Nitrification and Nitrous Oxide Production in Polluted Freshwater Sediment. Applied and Environmental Microbiology **60**, No.9: 3307-3314.

ROY, C., DUBÉ, J.P. (1995). Mise au point d'un bioréacteur à base de tourbe et géotextiles à haut taux de charge hydraulique. 18th Symposium on Wastewater Treatment and Workshop on Drinking Water.

SAMSON, R. (1985). Mixing Characteristics and Startup of Anaerobic Downflow Stationary Fixed Film (DSFF) Reactors. Biotechnology and Bioengineering, XXVII : 10-19.

SAMSON, R. (1991). Importance de l'hydrodynamique dans la conception et l'opération des digesteurs anaérobies. Sciences et Technologies de l'Eau: 35-43.

SAMSON, R. (1998). Notes de cours de "Traitement avancé de la pollution". École Polytechnique de Montréal. Canada.

SHMIDT, E.L., BELSER, L.W. (1982). Nitrifying Bacteria. Methods of Soil Analysis, part 2, No.9. Chemical and Microbiological Properties, 2nd edition (USA). Editor: A.L. Page: 1027-1037.

SHANABLEH, A., ABEYSINGHE, A. (1997). Effects of Cycle Duration on Phosphorous and Nitrogen Transformations in Biofilters. Water Research **31**, No.1: 149-153.

SHARMA, B., AHLER, R.C. (1977). Nitrification and Nitrogen Removal. Water Research **11**: 897-925.

SURAMPALI, R.Y., BANERJI, S.K. Nitrogen Removal from Municipal Wastewater. Environmental Analysis and Remediation. Wiley Encyclopedia Series in Environmental Science **3**. Meyers, R.A. (1998) : 3007-3020.

SUTTON, P. M., MURPHY, K.L. (1974). Continuous Biological Denitrification of Wastewater. Technology Development. Water Pollution Control Directorate.

TCHOBANOGLIOUS, G., THEISEN, H. (1993). Integrated Solid Waste Management Engineering Principles and Management Issues. New-York.

TIEDJE, J.M. (1982). Denitrification. Methods of Soil Analysis, **part 2, No.9**. Chemical and Microbiological Properties, 2nd edition (USA). A.L. Page: 1011-1026.

TILTON, D.L., KADLEC, R.H. (1979). The Utilization of a Fresh-Water Wetland for Nutrient Removal from Secondarily Treated Waste Water Effluent. Journal of Environmental Quality **8, No.3**: 328-334.

TSCHUI, M., BOLLER, M. (1994). Tertiary Nitrification in Aerated Pilot Biofilters. Water Science and Technology **29, No.10-11**: 53-60.

VAYENAS, D.V., PAVLOU, S. (1997). Development of a Dynamic Model Describing Nitritification and Nitrification in Trickling Filters. Water Research **31, No.5**: 1135-1147.

VILLAVERDE, S., GARCIA-ENCINA, P.A. (1997). Influence of pH over Nitrifying Biofilm Activity in Submerged Biofilters. Water Research **31, No.5**: 1180-1186.

VIRARAGHAVAN, T., AYYASWAMI (1986). Use of Peat in Water Pollution Control: a Review. Canadian Journal of Civil Engineering **14**: 230-233.

VIVÉCIC, G.P., TOP, P.J. (1989). Treatment of Landfill Leachate by Aerobic and Anaerobic Fixed-Film Biological Reactor. Second International Landfill Symposium, Sardinia, Italy.

WARD, B. B. (1996). Nitrification and Denitrification: Probing the Nitrogen Cycle in Aquatic Environments. Microbiology Ecology **32**: 247-261.

WELANDER, U., HENRYSSON, T. (1997). Nitrification of Landfill Leachate Using Suspended-Carrier Biofilm Technology. Water Research **31**, No.9: 2351-2355.

ANNEXES

ANNEXE A

Échelle d'humidification Von Post

H1	Tourbe complètement non-décomposée qui, lorsque pressée, laissera ressortir de l'eau presque claire. Les plantes demeurent facilement identifiables. Ne contient aucun matériel amorphe.
H2	Tourbe presque complètement non-décomposée qui, lorsque pressée, laissera ressortir de l'eau presque claire ou jaunâtre. Les plantes demeurent encore facilement identifiables et aucun matériel amorphe n'est présent.
H3	Tourbe légèrement décomposée qui, lorsque pressée, laissera ressortir de l'eau brunâtre, mais où ne passera aucun débris de tourbe entre les doigts. Les plantes demeurent encore identifiables et aucun matériel amorphe n'est présent.
H4	Tourbe peu décomposée qui, lorsque pressée, laissera ressortir de l'eau d'un brun foncé. Aucun débris de tourbe entre les doigts mais les plantes ont perdu de leur caractère identifiable.
H5	Tourbe modérément décomposée qui, lorsque pressée, laissera ressortir de l'eau contenant du matériel organique et quelques particules de tourbe amorphe glisseront entre les doigts. La structure des plantes est presque non-identifiable malgré que certaines caractéristiques peuvent être reconnues. Le résidu est fortement boueux.
H6	Tourbe assez décomposée ne laissant reconnaître aucune structure de plantes. Lorsque pressée, approximativement le tiers de la tourbe coulera entre les doigts. Le résidu est fortement boueux et laisse apparaître la structure des plantes plus ouvertement qu'avant le pressage.
H7	Tourbe fortement décomposée. Son contenu est composé de matériel amorphe à structure non-identifiable. Lorsque pressée, la moitié de la tourbe coulera entre les doigts. L'eau, s'il en ressort, sera très foncée et boueuse.
H8	Tourbe très fortement décomposée avec une forte quantité de matériel amorphe et une structure plantulaire sèche et indistincte. Lorsque pressée, les deux tiers de la tourbe couleront entre les doigts. Une faible quantité d'eau boueuse pourrait en ressortir. Le matériel demeurant dans les mains est constitué de résidus racinaires et de fibres résistant à la décomposition.
H9	Tourbe presque totalement décomposée où l'on retrouve une structure difficilement identifiable. Lorsque pressée, la presque totalité de la tourbe coulera entre les doigts sous forme de boue.
H10	Tourbe complètement décomposée où l'on retrouve aucune structure identifiable. Lorsque pressée, la totalité de la tourbe coulera entre les doigts.

ANNEXE B

Différentiation du genre dans la famille
Nitrobacteracea

Caractéristiques	1. <i>Nitrobacter</i>	2. <i>Nitrospina</i>	3. <i>Nitrococcus</i>	4. <i>Nitrospira</i>	5. <i>Nitrosomonas</i>	6. <i>Nitrosococcus</i>	7. <i>Nitrospira</i>	8. <i>Nitrosolobus</i>	9. <i>Nitrosovibrio</i>
Oxydation de									
$\text{NH}_3 \dots \text{NO}_2^-$	-	-	-	-	+	+	+	+	+
$\text{NO}_2^- \dots \text{NO}_3^-$	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Forme de la cellule									
bâtonnet droit	+	+	-	-	+	-	-	-	-
cercle	-	-	+	-	-	+	-	-	-
hélice	-	-	-	+	-	-	+	-	-
bâtonnet courbé	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Reproduction									
fission binaire seulement	-	+	+	+	+	+	+	+	+
bourgeonnement	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Mobilité		-	+	-		+		+	+
Présence de cytomembranes	+	-	+	-	+	+	-	+	-
Nature des cytomembranes									
périphérique	+	-	-	-	+		-	-	-
centrale	-	-	-	-	-		-	-	-
tubulaire	-	-	+	-	-	-	-	-	-
lamellaire	+	-	-	-	+		-	-	-
Mol% G+C de l'ADN	60-62	58	51	50	5-5	8-5	3-5	3-5	54

- : 90% ou plus de souches sont négatives; +: 90% de souches ou plus sont positives

ANNEXE C

**Humidité de la tourbe aux différentes hauteurs de
colonne**

ESSAIS DE NITRIFICATION

Échantillon de tourbe	coupelle en aluminium (mg)	coupelle + tourbe (mg)	coupelle + tourbe (*) (mg)	tourbe sèche (mg)	g de tourbe sèche / g de tourbe humide	teneur en eau (g d'eau / g de tourbe sèche)
tourbe brute	1514,7	1770,7	1754,6	239,9	0,9371	0,0671
	1482,3	1756,2	1739,6	257,3	0,9394	0,0645
	1527,9	1749,1	1735,9	208	0,9403	0,0635
tourbe en sortie de la colonne 1	1489,4	3927	2128,6	639,2	0,2622	2,8135
	1507	2753,4	1813,3	306,3	0,2457	3,0692
	1425,7	3373,3	1959,8	534,1	0,2742	2,6465
tourbe en sortie de la colonne 2	1504,7	3050,3	1842,2	337,5	0,2184	3,5796
	1499,5	2796	1789,8	290,3	0,2239	3,4661
	1502,9	4025,5	2038,3	535,4	0,2122	3,7116
tourbe en sortie de la colonne 3	1488,4	3792,3	1981,5	493,1	0,2140	3,6723
	1518	4229,4	2108,2	590,2	0,2177	3,5940
	1517,7	3936,7	2042,5	524,8	0,2169	3,6094

(*) après 24 heures à 105°C et 1 journée au dessicateur

La masse de tourbe sèche par rapport à celle de tourbe humide est donc:

tourbe brute	,9387 +/- 0,001 g sec / g humide
urbe en sortie de colonne	,2607 +/- 0,014 g sec / g humide
urbe en sortie de colonne	,2180 +/- 0,006 g sec / g humide
urbe en sortie de colonne	,2163 +/- 0,002 g sec / g humide

ESSAIS DE DÉNITRIFICATION

Échantillon	coupelle en aluminium (mg)	coupelle + tourbe/calcaire (mg)	coupelle + tourbe/calcaire (*) (mg)	tourbe/calcaire sec (mg)	g de tourbe/calcaire sec / g de tourbe/calcaire humide	teneur en eau (g d'eau / g de tourbe sèche)
tourbe brute	0,9914	1,5765	1,5368	0,5454	0,9321	0,0728
	0,9902	1,5747	1,536	0,5458	0,9338	0,0709
	0,9902	1,4914	1,4581	0,4679	0,9338	0,0712
tourbe (1 ^{er} point d'échantillonnage)	0,9875	2,3507	1,2575	0,27	0,1981	4,0489
	0,9872	2,2184	1,2055	0,2183	0,1773	4,6399
	0,9853	3,4609	1,4187	0,4334	0,1751	4,7120
tourbe (2 ^{ème} point d'échantillonnage)	0,9882	3,6953	1,4976	0,5094	0,1882	4,3143
	0,995	1,8554	1,1502	0,1552	0,1804	4,5438
	0,9926	1,6364	1,119	0,1264	0,1963	4,0934
tourbe (3 ^{ème} point d'échantillonnage)	0,9917	2,3366	1,2523	0,2606	0,1938	4,1608
	0,9947	2,6183	1,3085	0,3138	0,1933	4,1740
	0,9938	2,0131	1,1929	0,1991	0,1953	4,1195
tourbe (4 ^{ème} point d'échantillonnage)	1,0025	2,1827	1,2419	0,2394	0,2028	3,9298
	1,0036	2,3903	1,2733	0,2697	0,1945	4,1416
	0,9948	2,11	1,2209	0,2261	0,2027	3,9323
tourbe (5 ^{ème} point d'échantillonnage)	0,9873	2,6488	1,3353	0,348	0,2084	3,7744
	0,9888	2,464	1,3053	0,3165	0,2145	3,6610
	1,0049	2,5883	1,3366	0,3317	0,2124	3,7073
calcaire brut	1,0042	8,40123	8,3971	7,3929	0,9994	0,0006
	1,0016	8,9272	8,9222	7,9206	0,9994	0,0006
	0,9918	9,2368	9,2324	8,2406	0,9995	0,0005
calcaire (sous le 1 ^{er} point d'échantillonnage)	0,9935	2,2784	2,2086	1,2151	0,9457	0,0574
	0,9897	2,0057	1,9381	0,9484	0,9335	0,0713
	0,9887	2,0793	1,9875	0,9988	0,9158	0,0919

(*) après 24 heures à 105°C et 1 journée au dessiccateur

La masse de tourbe/calcaire sec par rapport à celle de tourbe/calcaire humide est donc:

tourbe brute	0,9332 +/- 0,0009	g sec / g humide
tourbe (1 ^{er} point d'ech)	0,1835 +/- 0,0127	g sec / g humide
tourbe (2 ^{ème} point d'ech)	0,1883 +/- 0,0080	g sec / g humide
tourbe (3 ^{ème} point d'ech)	0,1941 +/- 0,0011	g sec / g humide
tourbe (4 ^{ème} point d'ech)	0,2000 +/- 0,0048	g sec / g humide
tourbe (5 ^{ème} point d'ech)	0,2121 +/- 0,0026	g sec / g humide
calcaire brut	0,9994 +/- 0,0001	g sec / g humide
calcaire sous le 1 ^{er} point d'ech	0,9317 +/- 0,0150	g sec / g humide

ANNEXE D

**Vérification de la présence de micro-organismes
dénitrifiants dans la tourbe en Pétri
(PE 30A)**



PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	
Protocole #: PE 30A	Pages: 9
Version: 1/1	Date: 18/06/1998
Auteurs: Yann Henry Approuvé par:	Signatures: Date: ____ / ____ / ____

Titre:
Vérification de la présence de micro-organismes dénitrifiants dans la tourbe en Pétri
Mots clés:
nitrate, nitrite, dénitrification, Pétri

1. Objectif

Mettre en évidence la réduction du nitrate (NO_3^-) en nitrite (NO_2^-) et même réductions additionnelles en ammoniac ou en azote moléculaire par certains micro-organismes.

2. Principe

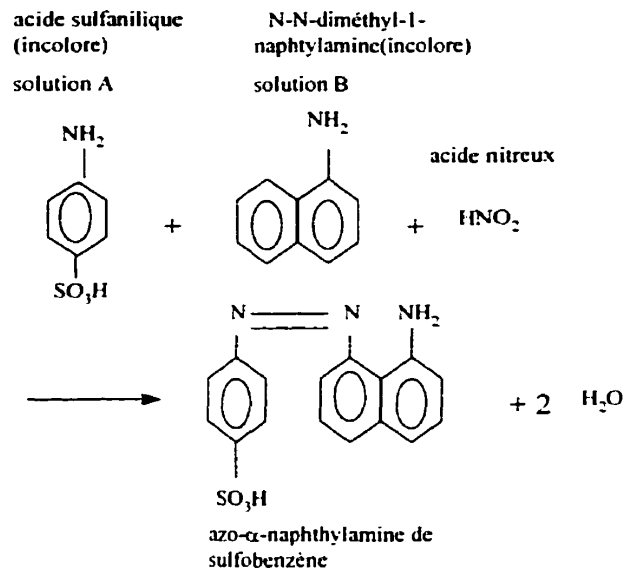
La réduction des nitrates par certains micro-organismes aérobies ou anaérobies facultatifs est un procédé anaérobie proprement dit qui se passe en l'absence d'oxygène

moléculaire. Chez ces organismes, la respiration anaérobie est un procédé par lequel les cellules utilisent les composés inorganiques tels les nitrates (NO_3^-) ou les sulfates (SO_4^{2-}) pour fournir l'oxygène qui sera ultérieurement utilisé comme accepteur final d'hydrogène lors de la formation d'énergie. La transformation biochimique s'exprime de la façon suivante :



La réduction du nitrate est mise en évidence par l'inoculation des organismes dans un bouillon nutritif à base de nitrate (Ramsay, 1998). C'est essentiellement un bouillon nutritif contenant 0,1% massique de nitrate de potassium (KNO_3) comme source de nitrate. De plus, l'addition de 0,1% massique d'agar noble le rend semi-solide. L'état semi-solide de l'agar gêne la diffusion de l'oxygène dans le milieu, favorisant ainsi la condition anaérobie nécessaire pour la réduction du nitrate.

À la suite de l'inoculation des cultures (3 semaines à 30°C), l'addition de deux réactifs (A et B) déterminera si l'organisme possède ou non la capacité de réduire les nitrates : le réactif A est l'acide sulfanilique, le réactif B est le N-N-diméthyl-1-naphthylamine (Ramsay, 1998). Par suite de la réduction du nitrate, l'addition des solutions A et B produira une coloration rouge-cerise instantanément.

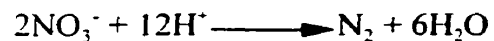


Nitrate à ammoniac ou azote moléculaire

Certains organismes possèdent le bagage enzymatique nécessaire pour poursuivre la réduction des nitrites en ammoniac (NH_3) ou en azote moléculaire (N_2) tel qu'illustré dans les réactions suivantes:



ou



Les cultures qui ne révèlent pas de changement de couleur suggèrent l'une des deux possibilités:

- les nitrates n'ont pas été réduits par l'organisme;
- l'organisme possède une nitrate réductase si puissante que les nitrates ont été réduits au-delà des nitrites en ammoniacque ou même en azote moléculaire.

Pour déterminer si les nitrates ont été réduits au-delà du stage des nitrites, une petite quantité de poudre de zinc est ajoutée aux cultures pratiquement incolores contenant déjà les solutions A et B. Le zinc réduit les nitrates en nitrites. Le développement de la couleur rouge signifie donc que les nitrates n'ont pas été réduits en nitrites par l'organisme, puisque la poudre de zinc produit la réaction. Si l'addition du zinc ne produit pas de changement de couleur, cela signifie que les nitrates du milieu de culture ont été réduits au-delà des nitrites en ammoniac et en azote gazeux.

3. Matériel

1. Agar nutritif
2. KNO_3 en poudre
3. Eau distillée
4. Boîtes de Pétri
5. 1.80 grammes de tourbe granulaire broyée
6. Mortier
7. NaCl en poudre
8. Pipette graduée (200 μl)
9. Bâton de Hockey
10. Jarre Gas Pak
11. Enveloppe contenant du paladium catalyseur
12. Bonbonne d'azote gazeux
13. Bouillon de trypticase

14. Agar noble
15. Plaque chauffante avec agitation magnétique
16. Barreau aimanté
17. Tubes à essais
18. Bec bunsen
19. Aiguille d'inoculation
20. Réactif A (acide sulfanilique)
21. Réactif B (N–N–diméthyl-1-naphthylamine)
22. Acide acétique glacial
23. Poudre de zinc pour l'essai de réduction du nitrate
24. 4 Erlenmeyer (1000 ml)

4. Procédure

Préparation des boîtes de Pétri de culture

- 1.- Préparer 1000 ml de bouillon nutritif composé de 23g d'agar nutritif, 1 g de KNO_3 et complété avec de l'eau distillée
- 2.- Chauffer le mélange pour une bonne dissolution en l'agitant avec un barreau aimanté
- 3.- Autoclaver la solution à 121-124°C pendant 15 minutes
- 4.- Verser la solution sur les Pétris puis laisser refroidir environ 24 heures pour qu'elle devienne solide
- 5.- Réaliser un mélange tourbe-NaCl constitué de 1.80 g de tourbe broyée avec 8,5 g de NaCl dans un erlen que l'on complète avec 1000 ml d'eau distillée. Agiter vivement
- 6.- Prélever 200 μl de ce mélange que l'on verse sur les Pétris et répartir uniformément ce volume à l'aide d'un bâton de hockey

7.- Placer les boîtes de Pétri dans la jarre Gas Pak, elle même placée sous un sac à gants. La jarre contiendra préalablement un indicateur de conditions anaérobies et une enveloppe contenant du palladium catalyseur. Le système anaérobie Gas Pak est présenté à la figure 1.

8.- Connecter la bonbonne à azote gazeux avec le sac à gants et ouvrir la bonbonne de sorte à chasser l'oxygène du milieu (Figure 2)

9. Prélever 10 ml d'eau distillée (ou déionisée) à l'aide d'une pipette puis verser ces 10 ml dans l'enveloppe

10.- Bien fermer le couvercle de la jarre puis placer cette dernière à l'incubateur à 30°C. Le passage de la coloration bleue de l'indicateur à l'incolore se fait au bout d'environ 3 heures. Cette décoloration est signe d'un milieu en absence d'oxygène

Préparation des tubes indicateurs de micro-organismes dénitrifiants

11.- Préparer le bouillon de trypticase à base de nitrate. Pour cela, ajouter dans un erlen de 1000 ml:

25 g de trypticase soy broth

1 g d'agar noble

1 g de KNO_3

Compléter les 1000 ml avec de l'eau distillée

12.- Chauffer jusqu'à ébullition afin de dissoudre totalement la solution

13.- Verser 9-10 ml dans chacun des tubes à essais

14.- Placer un bouchon sur chaque tube sans toutefois le visser entièrement

15.- Stériliser les tubes remplis de liquide à l'autoclave pendant 20 minutes

16.- Laisser refroidir

17.- Une fois la température ambiante atteinte, visser les bouchons entièrement

18.- Stériliser à blanc l'aiguille d'inoculation sur toute sa longueur à l'aide du Bec bunsen

19.- Prendre une portion d'inoculum sur les Pétris à l'aide de l'aiguille d'inoculation

20.- Enlever le bouchon du tube à essai avec la main droite et passer l'ouverture du tube à la flamme (essayer de ne pas mettre le bouchon du tube à essai sur la table de travail; si vous devez le faire, mettez l'ouverture vers le haut)

21.- Piquer l'aiguille jusqu'à $\frac{1}{4}$ '' du fond des tubes. Retirer l'aiguille

22.- Passer l'ouverture du tube à essai à la flamme, remettre le couvercle puis stériliser l'aiguille d'inoculation avant de passer aux autres échantillons

23.- Placer les tubes à l'incubateur (30°C) pendant 24 heures

24.- Préparation des solutions d'acide sulfanilique et de N-N-diméthyl-1-naphtylamine

- Acide sulfanilique

Introduire dans un erlen 1 g d'acide sulfanilique avec 125 ml d'acide acétique 5N (composition: 1 part d'acide acétique glacial avec 2.5 parts d'eau distillée)

- N-N-diméthyl-1-naphtylamine

Introduire dans un erlen 1 g de N-N-diméthyl-1-naphtylamine dans 200 ml d'acide acétique 5N

Agitez et chauffez légèrement ces 2 solutions pour une meilleure dissolution

Figure 1: Le système anaérobie Gas Pak (Klein, 1995)

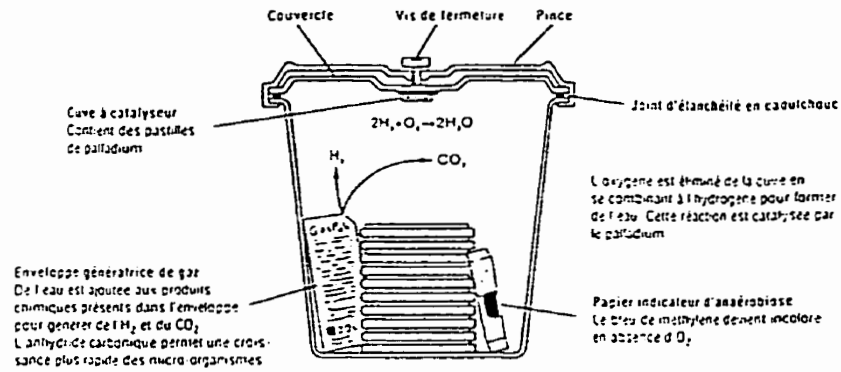
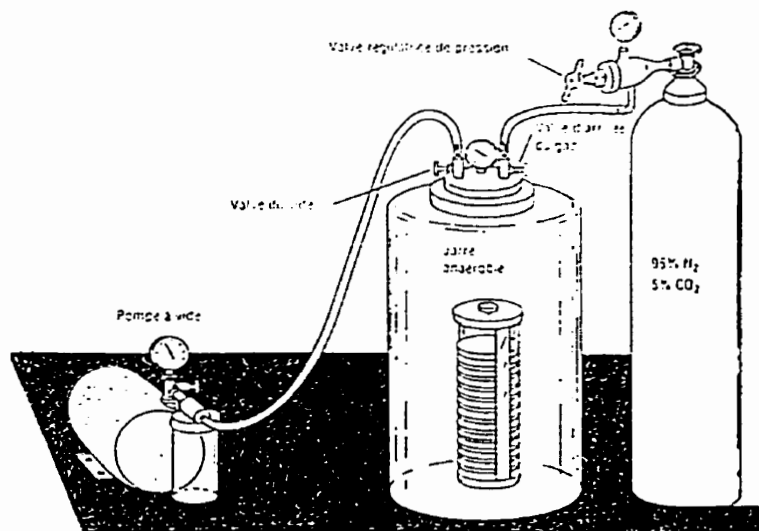


Figure 2: La culture anaérobie par la méthode du déplacement de gaz (Klein, 1995)



5. Interprétation des résultats

A. Après 24 heures d'incubation à 30°C, ajoutez 5 gouttes de réactif A et 5 gouttes du réactif B à toutes les cultures de nitrate en bouillon.

Une coloration rouge indique que le nitrate est réduit en nitrite.

Aucun changement de couleur, continuez à l'étape (B).

B. Ajoutez une infime quantité de poudre de zinc aux cultures.

Une coloration rouge indique aucune réduction de nitrate par la culture, mais bien par la poudre de zinc.

C. Aucun changement de couleur aux étapes (A) et (B) indique que le nitrate est réduit en nitrite puis en ammoniac ou en azote moléculaire.

6. Résultats

Les résultats montrent que la tourbe granulaire contient des micro-organismes capables de transformer les nitrate en nitrite mais pas suffisamment pour transformer les nitrite en azote gazeux. Le pouvoir réducteur n'est donc pas suffisant pour réaliser le passage des ions nitrate en azote gazeux.

7. Références

Klein, P.H. (1995). Microbiologie, Belgium

Ramsay, B. (1998). Notes de cours du laboratoire de Microbiologie pour ingénieurs

ANNEXE E

**Démonstration de la faisabilité de la nitrification d'un
lixiviat de LES avec de la tourbe granulaire
(PE 30B)**



PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	
Protocole #: PE 30B	Pages: 12
Version: 1/1	Date: 15/06/1998
Auteurs: Yann Henry Approuvé par:	Signatures: Date: ____ / ____ / ____

Titre:

Démonstration de la faisabilité de la nitrification d'un lixiviat de LES avec de la tourbe granulaire

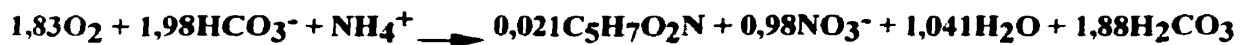
Mots clés:

tourbe, nitrification, lixiviat, biofiltration, LES(*)

(*) Lieu d'Enfouissement Sanitaire

1. Objectif

La réaction globale d'oxydation de l'ammoniaque en nitrates (nitrification), tenant compte de la synthèse de la biomasse peut être représentée selon:



(Comeau, 1996)

où $C_5H_7O_2N$ représente une formule empirique pour les cellules bactériennes synthétisées.

Cette équation montre que la nitrification est caractérisée par une acidification du milieu. De plus, il est connu que la tourbe libère en solution des ions hydrogène (H^+) pouvant ainsi ralentir, voire inhiber la réaction de nitrification. Cette dernière, qui est effectuée tout d'abord par les bactéries *Nitrosomonas* puis par *Nitrobacter*, est effectivement réalisable à des pH grosso modo compris entre 5,0 et 8,0.

Ce protocole expérimental vise à déterminer s'il y a compatibilité entre la tourbe granulaire et le processus de nitrification. La question est de savoir si la tourbe granulaire est un bon support microbien pour effectuer la nitrification d'un lixiviat de LES.

ESSAIS EN PERCOLATION AVEC AÉRATION NATURELLE

2. Matériels

Les expériences sont réalisées au laboratoire dans 3 colonnes en plexiglass (hauteurs : 14,5'' – 10,7'' – 5,3''; diamètre interne : 3''; diamètre externe : 3^{1/2}''). La tourbe utilisée, fournie par Premier Tech, est une tourbe brune québécoise légèrement décomposée (degré de décomposition Von Post de H-4 à H-5) et ayant une faible humidité (<10%). Il s'agit ainsi d'une tourbe jeune, offrant de bonnes performances au niveau de la perméabilité et de la capacité de rétention. En raison de sa nature hydrophobe (une tourbe ayant une humidité inférieure à 30% est principalement hydrophobe; Malterer et al., 1996), la tourbe sèche est trempée 24 heures dans l'eau distillée avant son utilisation (Gravelle et al., 1980).

Le lixiviat est entreposé dans un réservoir réfrigéré à 4°C pour maintenir sa qualité constante. La réfrigération est assurée à l'aide d'un compresseur dans lequel circule de l'argon. Le réservoir est fermé dans sa partie supérieure pour éviter les émanations de mauvaises odeurs. Un morceau de polystyrène est également placé sur les tubes qui baignent dans le lixiviat de façon à ne pomper que les eaux de surface et non les eaux en profondeurs qui contiennent des solides en suspension.

Expériences

- 3 colonnes en plexiglass
- tourbe granulaire (Premier Tech)
- lixiviats : 1000 litres en sortie de l'étang non aéré, non mélangé de la société BFI
- 1 pompe péristaltique (Masterflex 6-600 rpm) + 3 têtes de pompes
- tubes en téflon (diamètre interne 1/4")
- billes de verre inertes (diamètre de 3 mm)
- 3 grilles en Inox (diamètre 6.8 cm. mailles carrées de 2 mm de côté)
- copeaux d'érable
- papier aluminium
- réservoir en acier inoxydable
- pinces et noix

Analyses

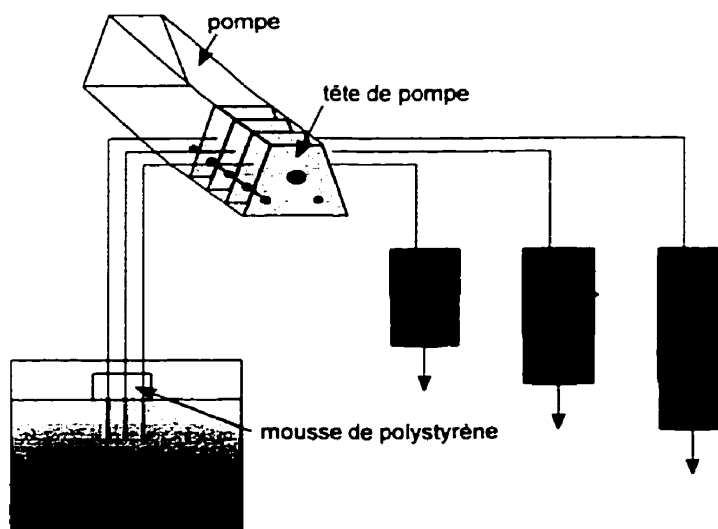
- HPLC anionique et cationique
- respiromètres automatiques
- sonde à oxygène
- électrode de potentiel redox
- pH mètre (Accumet model 25)
- agitateurs magnétiques + barreau aimanté
- vials

- solution d'acide sulfurique 0,02N
- pipettes graduées

3. Méthode

Les essais de nitrification sont réalisés dans des colonnes qui opèrent à température ambiante. Afin de connaître la concentration en ammoniacque en fonction de la hauteur de colonne en régime permanent, la colonne principale est divisée en 3 colonnes de même diamètre mais de hauteur différente. L'alimentation dans les 3 colonnes est continue et en percolation (figure 1).

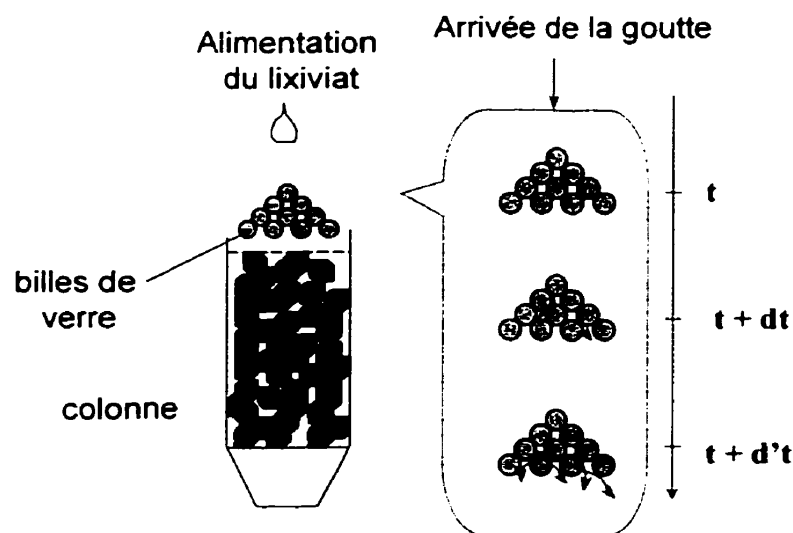
Figure 1: Principe des essais en percolation avec aération naturelle



Afin d'assurer une bonne distribution radiale du liquide sur la surface du réacteur, tout en minimisant les effets de parois, les granules de tourbe sont découpés en cubes de 8 mm de diamètre de manière à ce que $d_{\text{colonne}}/d_{\text{tourbe}} > 10$ (Lieto, 1995).

La distribution est effectuée en utilisant des billes de verre. L'avantage d'un tel distributeur est que les billes sont inertes et qu'elles peuvent être changées à tout moment si elles subissent un colmatage ou si de la biomasse se développe dessus. Les gouttes tombent sur la partie supérieure des billes puis percolent à travers les étages inférieurs pour donner une distribution la plus uniforme possible. Le principe de la distribution à l'aide de billes est représenté à la figure 2.

Figure 2: Mécanisme de distribution du lixiviat à l'aide des billes de verre



Les granules de tourbe reposent sur une grille en Inox. Des billes de verre sont placées en tête des colonnes afin de répartir le plus uniformément possible le lixiviat. L'avantage des billes et qu'elles peuvent être changées à tout moment, notamment quand elles

subissent un colmatage (biomasse, etc). Des adjuvants (copeaux d'érables) sont ajoutés étant donné que les conditions d'oxygène dissous dans certains micro-environnements du lit de tourbe peuvent dans certains cas être limitantes notamment quand le lit de tourbe devient très compact. Le lit de copeaux de bois permet également de prolonger significativement la durée de vie du biofiltre (Mayer et al., 1993).

Les colonnes sont en plexiglass d'une part car l'acrylique n'adsorbe pas les composés inorganiques, et d'autre part pour suivre visuellement ce qu'il se passe à l'intérieur (développement de micro-organismes, chemins préférentiels, etc). Elles sont recouvertes d'un papier opaque empêchant la formation d'algues (Vayenas et al., 1997) et sont placées à l'abri des courants d'air pour éviter toute fluctuation des températures (les réacteurs biologiques à film fixe de petite taille sont en effet très sensibles aux conditions environnementales; Beg et al., 1997). Une portion conique dans la partie inférieure du réacteur facilite l'élimination des solides (Abeyasinghe et al., 1996; Shanableh et al., 1997).

Procédures expérimentales:

1 - Introduire à l'intersection de la partie cylindrique et conique la grille en Inox puis placer dessus celle-ci un mélange composé de

60.0 g de tourbe granulaire et 16,7 g de copeaux dans la colonne 1

120.0 g de tourbe granulaire et 33,4 g de copeaux dans la colonne 2

180.0 g de tourbe granulaire et 50,0 g de copeaux dans la colonne 3

Ne pas trop compacter les granules de tourbe pour permettre une bonne circulation du lixiviat.

2 - Recouvrir les colonnes de papier aluminium ainsi que les tubulures de la pompe.

3 - Mettre la pompe en marche et la régler à un débit de 3,5 litres/jour.

4 - Prélever, au moyen d'une pipette, 10 ml de solution à la sortie de la plus grande colonne.

5 - Analyser l'échantillon pour déterminer les concentrations en NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , DBO_5 , le pH et l'alcalinité.

6 - Répéter les étapes 4 et 5, tous les jours jusqu'à obtenir une stabilisation de la concentration en ammoniacale. Le régime transitoire est alors achevé et commence le régime permanent.

7 - Quand le régime stationnaire est atteint, la concentration des différents composés ne devrait quasiment plus varier dans le temps à une même hauteur de colonne (la quantité de biomasse demeure constante à chaque étage). Prélever alors, à la sortie des 3 colonnes, 10 ml de lixiviat puis analyser les échantillons. Il est alors possible d'évaluer l'influence de la hauteur de tourbe sur la réaction de nitrification.

Remarques:

- Le pH est vérifié continuellement. S'il descend en dessous de 5, une solution de tampon phosphate est ajoutée au jour le jour (Villaverde et al., 1997) jusqu'à ce que le pH atteigne un minimum de 6,0.

- L'oxygène dissous et le potentiel d'oxydo-réduction, à la sortie de la plus grande colonne, sont également vérifiés pour s'assurer que les conditions aérobies soient maintenues à l'intérieur des colonnes.

ESSAI EN MODE SUBMERGÉ AVEC AÉRATION FORCÉE

2'. Matériels

Expérience

- 1 colonne en plexiglass
- tourbe granulaire (Premier Tech)
- lixiviat : 1000 litres en sortie de l'étang non aéré, non mélangé de la société BFI
- 1 pompe péristaltique (Masterflex 6-600 rpm) + 1 tête de pompe
- tubes en téflon (diamètre interne 1/4")
- 1 grille en Inox (diamètre 6.8 cm)
- diffuseur d'air + aérateur
- papier aluminium
- réservoir en acier inoxydable
- pinces et noix
- seringues de prélèvement

Analyses

- identiques aux essais en percolation avec aération naturelle

3'. Méthode

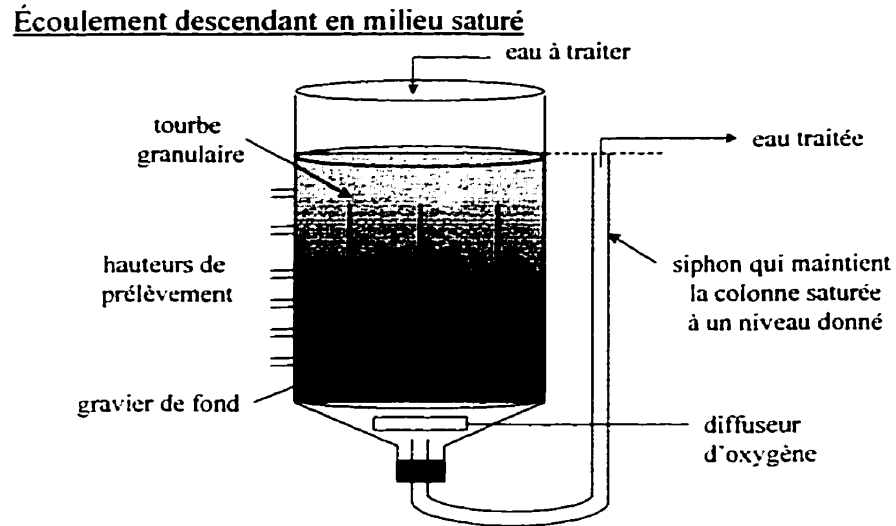
Une expérience en mode submergé est également effectuée en parallèle pour comparer aux résultats en percolation avec aération naturelle. Elle permet de s'affranchir du problème de distribution puisqu'à sa tombée, la goutte est supposée se répartir sur la

surface libre du liquide. La colonne utilisée est en plexiglass (diamètre interne = 3''; hauteur = 20''; diamètre externe = 3^{1/2}''), opère à température ambiante et consiste en un lit de tourbe granulaire complètement immergé. Le niveau d'eau est maintenu constant grâce à la présence d'un siphon en bas de colonne. Quant à l'apport d'oxygène, celui-ci est réalisé à l'aide d'un diffuseur à oxygène placé dans la partie inférieure de la colonne (au centre de la partie conique).

Le lixiviat et la tourbe utilisés sont identiques à ceux pour l'expérience en percolation avec aération naturelle. Le débit d'opération est toujours de 3,5 litres/jour. Par contre, la colonne est percée à 6 hauteurs différentes (figure 3) afin de déterminer, par des prélèvements à l'aide de seringues, la concentration aux divers plateaux une fois le régime permanent atteint. Les connecteurs, vissés dans la colonne, sont en acier inoxydable (filetage NPT=1/8'') et comportent un septum en téflon pour les échantillonnages.

La colonne est recouverte d'un papier opaque empêchant la formation d'algues (Vayenas et al., 1997) et est placée à l'abri des courants d'air pour éviter toute fluctuation des températures. Enfin, le pH est ajusté au jour le jour à l'aide d'une solution de tampon phosphate (Villaverde et al., 1997).

Figure 3: Principe des essais en mode submergé avec aération forcée



Procédures expérimentales:

- 1 – Introduire, à l'intersection de la partie cylindrique et conique, la grille en Inox puis placer dessus 260 g de tourbe granulaire. Ne pas trop compacter les granules de tourbe pour permettre une bonne circulation du lixiviat.
- 2 - Recouvrir les colonnes de papier aluminium ainsi que les tubulures de la pompe.
- 3 - Mettre la pompe en marche et la régler à un débit de 3,5 litres/jour.
- 4 - Mettre en marche l'aération en bas de colonne (bullage réglé à 150 ml/min)
- 5 - Prélever, au moyen d'une pipette, 10 ml de solution à la sortie de la colonne.
- 6 - Analyser l'échantillon pour déterminer les concentrations en NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , DBO_5 totale, oxygène dissous, le pH, l'alcalinité et le POR.

7 - Répéter les étapes 5 et 6, tous les jours jusqu'à ce que la concentration en NH_4^+ se soit stabilisée

8 - Quand le régime stationnaire est établi, prélever aux différentes hauteurs de colonne 10 ml de lixiviat et analyser les paramètres mentionnés en 6. Il est alors possible d'évaluer l'influence de la hauteur de tourbe sur la réaction de nitrification.

4. Références

Abeyasinghe, D.H., Shanableh, A., Rigden, B. (1996) Biofilters for water reuse in aquaculture *Water Science and Technology*, **34**, No.10, 17-24

Beg, S., Hassan, M.M. (1997) Effects of fasting condition on multi-substrate carbon oxidation and nitrification system in an upflow packed-bed biofilm reactor *Chemical engineering technology* **20**: 162-170

Gravelle, D.V., Landreville, A. (1980) Caractérisation de la tourbe pour le traitement des eaux usées d'abattoirs *The Canadian Journal of Chemical Engineering* **58**:235-240

Lieto, J. (1995) Notes de cours de Génie Chimique Chimie Physique Électronique de Lyon

Malterer, T., McCarthy, B. and Adams, R. (1996) Use of peat in waste treatment *Mining engineering*:53-56

Mayer, R., Chavarie, C., Chaouki, J., Karamanev, D., Ramsay, B., Gagné, B., Rousseau, A., Normandin, D., Bélanger, M.C., Escot, A. (1993) Biofiltration sur tourbe d'effluents agro-alimentaires, *rapport final* École Polytechnique de Montréal

Shanableh, A., Abeysinghe, D., Hijazi, A. (1997) Effects of cycle duration on phosphorous and nitrogen transformations in biofilters *Water Research*, **31**, No.1, 149-153

Vayenas, D.V., Pavlou, S., Lyberatos, G. (1997) Development of a dynamic model describing nitrification and nitrification in trickling filters *Water Research*, **31**, No.5, 1135-1147

Villaverde, S., Garcia-Encina, P.A., FDZ-Polanco, F. (1997) Influence of pH over nitrifying biofilm activity in submerged biofilters *Water Research*, **31**, No.5, 1180-1186

ANNEXE F

**Dénombrement total de micro-organismes nitrifiants
par la méthode du nombre le plus probable
(PE 30E)**



PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	
Protocole #: PE 30E	Pages: 11
Version: 1/1	Date: Le 09/10/1998
Auteurs: Yann Henry Approuvé par:	Signatures: Date: ____ / ____ / ____

Titre: Dénombrement des micro-organismes nitrifiants par la méthode du nombre le plus probable (NPP) Mots clés: dénombrement, nombre le plus probable (NPP), bactéries nitrifiantes, <i>Nitrosomonas</i> , <i>Nitrobacter</i>
--

1.00 Domaine d'application

Cette méthode de dénombrement s'applique à toute substance pouvant contenir des micro-organismes nitrifiants (ex. échantillons de sols et d'eaux).

2.00 Principe de la méthode

Il s'agit d'une estimation de la densité moyenne de micro-organismes nitrifiants dans un échantillon donné, par un test statistique. L'échantillon est dilué en série, et des aliquots de chaque dilution sont incubés dans un milieu de croissance dans des tubes. Il y a croissance dans les tubes lorsqu'un organisme ou plus sont présents. Le nombre de micro-organismes nitrifiants dans l'échantillon est déterminé d'après le nombre de tubes où il y a eu croissance pour chaque dilution et en se servant des tables de l'index NPP. Malheureusement, il n'existe pas de recette spécifique au développement des bactéries nitrifiantes uniquement. Il a donc fallu réaliser deux milieux nutritifs pour chacune des principales bactéries autotrophes entrant en jeu, à savoir *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*.

3.00 Matériel

- solution de tampon phosphate (voir composition en 4.03)
- eau distillée (pH 7)
- tubes de verre à bouchon vissé de 15 mL (5 par dilution + 2 pour les contrôles), et bouchons
- pipettes stériles de 10 mL
- vortex
- dispensettes 10 et 25 mL
- micropipette 1000 μ L
- embouts à micropipette stériles
- *Nitrosomonas europea* medium et *Nitrobacter* medium 203
- réactif à nitrate : dissoudre 50 mg de diphénylamine dans 25 ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4). Entreposer dans une bouteille en verre à l'abri de la lumière et renouveler la solution toutes les deux semaines.

Pour un dénombrement sur un échantillon de sol, il faut en plus :

- matériel pour déterminer le taux d'humidité (PSO A7)
- 30 billes de verre de 3 mm de diamètre (glass beads solids, Fisher) par échantillon
- une coupelle en aluminium et deux spatules par échantillon
- agitateur Wrist Action (Burrel, PA, USA)
- balance (Mettler Toledo PB302)
- éthanol 70%

4.00 Mode opératoire

Un schéma opératoire est présenté en Annexe A.

4.01 Choix du nombre de dilutions

Si la densité de micro-organismes dans l'échantillon est inconnue, il faudra effectuer 7 dilutions de la suspension primaire (donc 8 bouteilles à dilutions identifiées 10^0 à 10^{-7} , et 5*8 tubes identifiés de 10^{-1} à 10^{-8} plus 2 tubes de contrôle).

Si la plage de densité microbienne est connue, il est possible de n'effectuer que trois dilutions pour obtenir le NPP. Le tableau 4.1 indique quelles dilutions effectuer dans les tubes suivant la densité prévue. Mais il faudra quand même préparer toutes les dilutions successives dans les bouteilles (3^e colonne du tableau 4.1).

Tableau 4.1 Dilutions à effectuer suivant la plage de densité microbienne lorsqu'elle est connue

densité de micro-organismes prévue/100 mL ou/10 g de sol	dilutions dans les tubes	bouteilles à préparer
20 à 1609	10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3}	10^0 à 10^{-2}
200 à 160 900	10^{-2} - 10^{-3} - 10^{-4}	10^0 à 10^{-3}
2000 à 1 609 000	10^{-3} - 10^{-4} - 10^{-5}	10^0 à 10^{-4}

4.02 Préparation des tubes

- 1 - prendre 5 tubes par dilution souhaitée plus 2 tubes pour les contrôles
- 2 - préparer 2 milieux de culture différents (voir composition en Annexe B)
 - un pour les bactéries du genre *Nitrosomonas europea*
 - un pour les bactéries du genre *Nitrobacter*
- 3 - Ajouter goutte à goutte une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 5% pour ajuster le milieu jusqu'à pH de 7,0-7,4 (pour la souche *Nitrosomonas*) et 7,2-7,5 (pour la souche *Nitrobacter*)
- 4 - placer 4 mL des solutions dans chaque tube à l'aide de la dispensette de 10 mL (Attention: il ne s'agit pas de mélanger les deux solution!).
Calibrer avant la dispensette avec un cylindre de 10 mL.
- 5 - fermer les tubes, les autoclaver 20 minutes (121°C, 103,4 kPa) et les laisser refroidir
- 6 - identifier les tubes (on peut identifier avant autoclavage mais le feutre s'efface)

4.03 Préparation des dilutions en série (pour un échantillon de sol)

- 1 - déterminer le taux d'humidité du sol (voir PSO A7)
- 2 - préparer la bouteille pour la suspension primaire (dilution 10^0) : mettre 9,5 ml de solution tampon dans la bouteille identifiée 10^0 , et ajouter 30 billes de verre

La solution tampon est une solution phosphate 1mM. Celle-ci est réalisée à partir de 4 ml de K_2HPO_4 0,2M et d'1 ml de KH_2PO_4 0,2M dans un litre d'eau distillée (ou déionisée) (pH compris entre 7,1 et 7,4).

3 - mettre 9.0 ml de tampon phosphate dans chaque autre bouteille

4 - fermer et autoclaver toutes les bouteilles 20 minutes (121°C. 103,4 kPa) : les laisser refroidir

5 - identifier les bouteilles (10^0 , 10^{-1} , ...)

travailler dès maintenant en conditions stériles-passer les goulots des tubes et des bouteilles à la flamme après ouverture et avant fermeture

6 - stérilisation du matériel : placer une coupelle en aluminium et deux spatules sous la hotte laminaire, et actionner la lumière UV pendant 10 minutes

7 - mettre en place la balance sous la hotte (lumière normale), ajuster son niveau et la calibrer (voir PSO E1). Nettoyer le plateau de la balance à l'éthanol 70%

8 - peser approximativement 1,0 g de sol (noter le poids exact) dans la coupelle

9 - ajouter tout le contenu de la coupelle dans la bouteille de dilution 10^0 avec l'autre spatule avec un peu de solution de la bouteille

10 - agiter la bouteille au Wrist Action pendant 30 minutes

11 - préparer les dilutions successives :

- ouvrir la bouteille identifiée 10^{-1} et passer le goulot à la flamme

- brasser manuellement la bouteille 10^0 pendant 10 secondes, ouvrir, passer la goulot à la flamme

- rebrasser, pipeter 1,0 ml avec une pipette neuve et les placer dans la bouteille identifiée 10^{-1}

- passer les goulots à la flamme et fermer. La bouteille 10^{-1} est préparée

- répéter le point 11 en utilisant la nouvelle dilution préparée comme inoculum, jusqu'à la dernière dilution voulue

4.04 Inoculation des tubes

Toujours travailler en conditions stériles-passer les goulots à la flamme

1 - brasser la bouteille 10^0 pendant 10 secondes

- pipeter 0,44 ml à la micropipette, en continuant de brasser

- placer dans un tube identifié 10^{-1}

Répéter cette opération dans les quatre autres tubes identifiés 10^{-1} . On obtient les 5 aliquots de la dilution 10^{-1}

Évidemment, si la plage de densité de micro-organismes est connue et qu'on n'a pas besoin des tubes 10^{-1} , on ne les fait pas !

2 - reboucher les tubes, et les agiter 3 secondes au vortex

3 - changer d'embout et répéter les points 1 et 2 avec chaque autre bouteille à dilution : avec la bouteille 10^{-1} on obtient les 5 tubes 10^{-2} , et ainsi de suite

4 - incuber tous les tubes à 25-30°C, y compris les deux contrôles, pendant 21 jours à la noirceur

4.05 Décontamination des tubes après lecture des résultats

Cette étape est obligatoire afin de ne pas infecter le réseau d'égout. Tous les tubes doivent être autoclavés 20 minutes (121°C, 103,4 kPa). Leur contenu refroidi est ensuite jeté à l'évier.

5.00 Calculs

1 (pour les bactéries oxydant l'ammoniaque) - après 3 semaines d'incubation, vérifier visuellement si l'indicateur de pH (bleu de bromothymol) est passé d'une couleur bleu-vert au jaune. Ceci indique une forte production d'acide (c'est-à-dire l'oxydation de NH_4^+ en NO_2^-). Ceci est suffisant pour montrer la croissance de bactéries du genre *Nitrosomonas*. Noter pour chaque dilution le nombre de tubes positifs sur les 5 incubés, sur un tableau récapitulatif (exemple au tableau 5.1).

1' (pour les bactéries oxydant les nitrites) - Incuber les cultures à 25-30°C pendant 10 semaines à la noirceur. Ajouter 3 gouttes du réactif à nitrate. Le diphénylamine, en présence d'acide sulfurique et de nitrate, donne une *couleur bleu-foncé*.

2 - sélectionner la combinaison de positifs: trois dilutions successives sont choisies pour déterminer l'index NPP, de la manière suivante: choisir la plus grande dilution qui donne un résultat positif maximum (5/5 est le maximum, 0/5 est le minimum) et les deux dilutions suivantes. Les nombres de tubes positifs pour chacune de ces trois dilutions constituent la combinaison de positifs (*voir l'exemple a*).

exception 1: il y a un résultat positif à une dilution plus grande que la dernière choisie par la règle précédente: additionner ce résultat à la dernière dilution, ce qui donne la même combinaison que *l'exemple c*.

exception 2: choisir les trois dilutions de manière à retrouver le résultat positif "maximum" au centre des trois dilutions.

Tableau 5.1 Exemple de tableau de résultats

<i>exemples</i>	dilution dans les tubes				Combina ison de positifs	Index NPP	cellules/l 0 g de sol
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}			
<i>a</i>	5/5*	5/5	2/5	0/5	5-2-0	50	$50 \cdot 10^2$
<i>b</i>	5/5	4/5	2/5	0/5	5-4-2	220	$220 \cdot 10^1$
<i>c</i>	5/5	3/5	2/5	0/5	5-3-2	140	$140 \cdot 10^1$
<i>exception</i> <i>1</i>	5/5	3/5	1/5	1/5	5-3-2	140	$140 \cdot 10^1$
<i>exception</i> <i>2</i>	0/5	1/5	0/5	0/5	0-1-0	2	$2 \cdot 10^1$

* (nombre de tubes positifs)/(nombre de tubes ensemencés)

3 - noter l'index NPP correspondant à cette combinaison à l'aide de la table 5.2.

4 - multiplier l'index NPP par 10^x , la plus petite dilution de la combinaison de positifs étant 10^x .

exemple a: les dilutions de la combinaison sont 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} . La plus petite dilution est donc 10^{-2} , il faut alors multiplier l'index NPP par 10^{-2} , soit $50 \cdot 10^2 = 5000$.

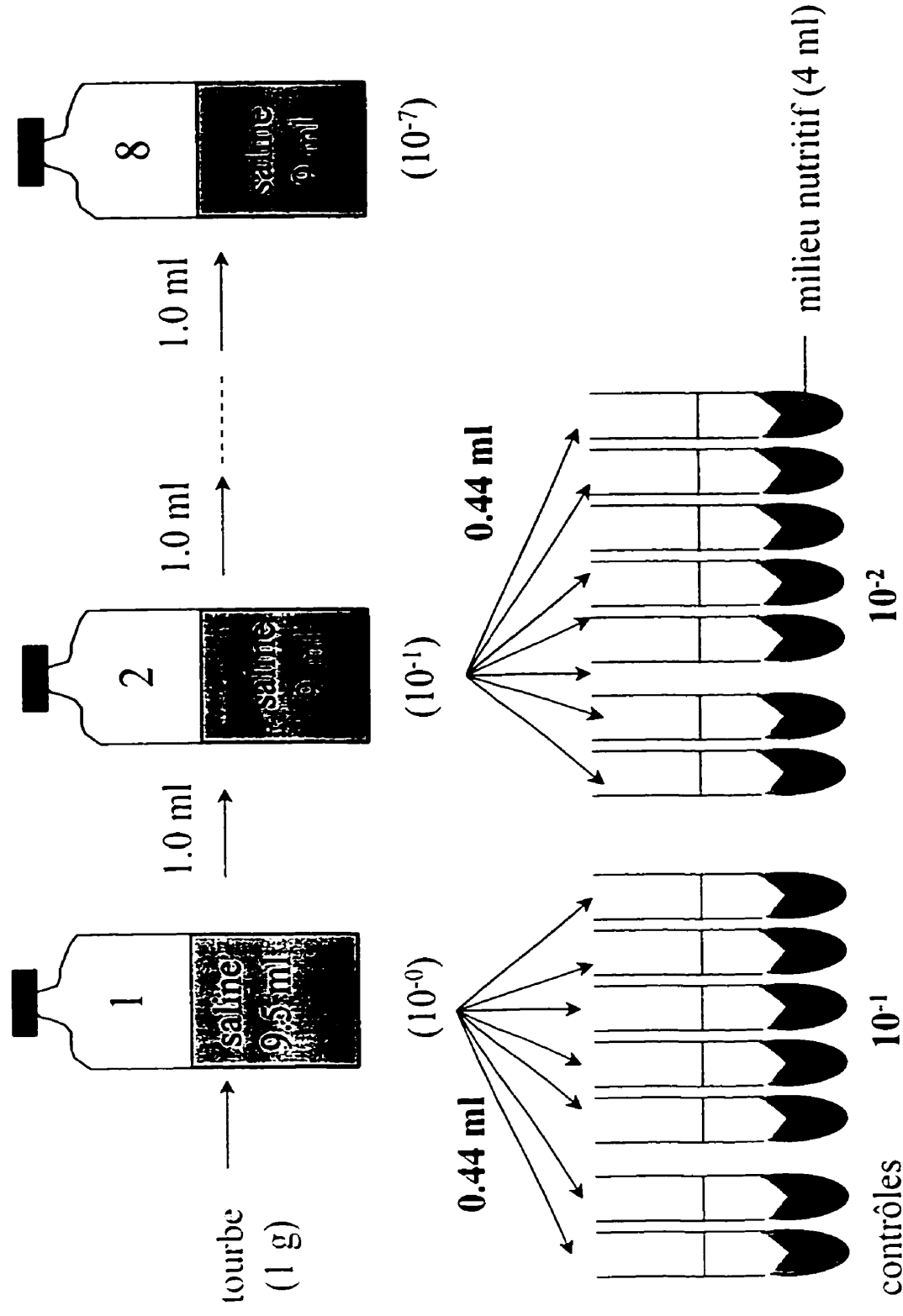
Ce résultat correspond au nombre de micro-organismes nitrifiants (*Nitrosomonas* ou *Nitrobacter*) pour 1,0 g de sol pesé (soit le poids exact pesé).

5 - on exprime les résultats en fait en nombre de micro-organismes par g SEC de sol. connaissant le taux d'humidité du sol déterminé en début d'expérience.

6.00 Références

- APHA, AWWA, WEF, ed.. 1992. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater. 18th edition.
- Buchanan, R.E. et Gibbons, N.E. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th edition, pp.432 et 485
- Schmidt, E.L., Belser, L.W. Nitrifying bacteria, Methods of soils analysis. Part 2. pp.1027-1041, 1982
- Picard, P. (1996) PSO A12 : Dénombrement total de micro-organismes hétérotrophes par la méthode du nombre le plus probable (NPP)

ANNEXE A - Procédure à suivre pour l'énumération des bactéries nitrifiantes présentes dans la tourbe



ANNEXE B

Solution stock pour la préparation des différents milieux de culture

Constituant	Concentration de la solution stock	Solution stock requisse par litre de milieu	
		oxydant de NH_4^+	oxydant de NO_2^-
	g/100 ml	ml	ml
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	5,0	10,0	-
KNO_3	0,85	-	1,0
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,34	1,0	1,0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4,0	1,0	5,0
Bleu de bromothymol	0,04	5,0	-
K_2HPO_4 (0,2M)	3,48	-	4,0
KH_2PO_4 (0,2M)	2,72	7,5	1,0
Fer chélaté		1,0	1,0
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,246		
- <i>EDTA disodium</i>	0,331		
Éléments traces		1,0	1,0
- $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,01		
- MnCl_2	0,02		
- $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,0002		
- $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,01		
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,002		

ANNEXE G

Hydrodynamique des différentes colonnes

TEST DE TRAÇAGE (colonne de nitrification avec aération naturelle)

Quantité injectée: 775000 dpm à l'aide de la seringue de 250 μ m

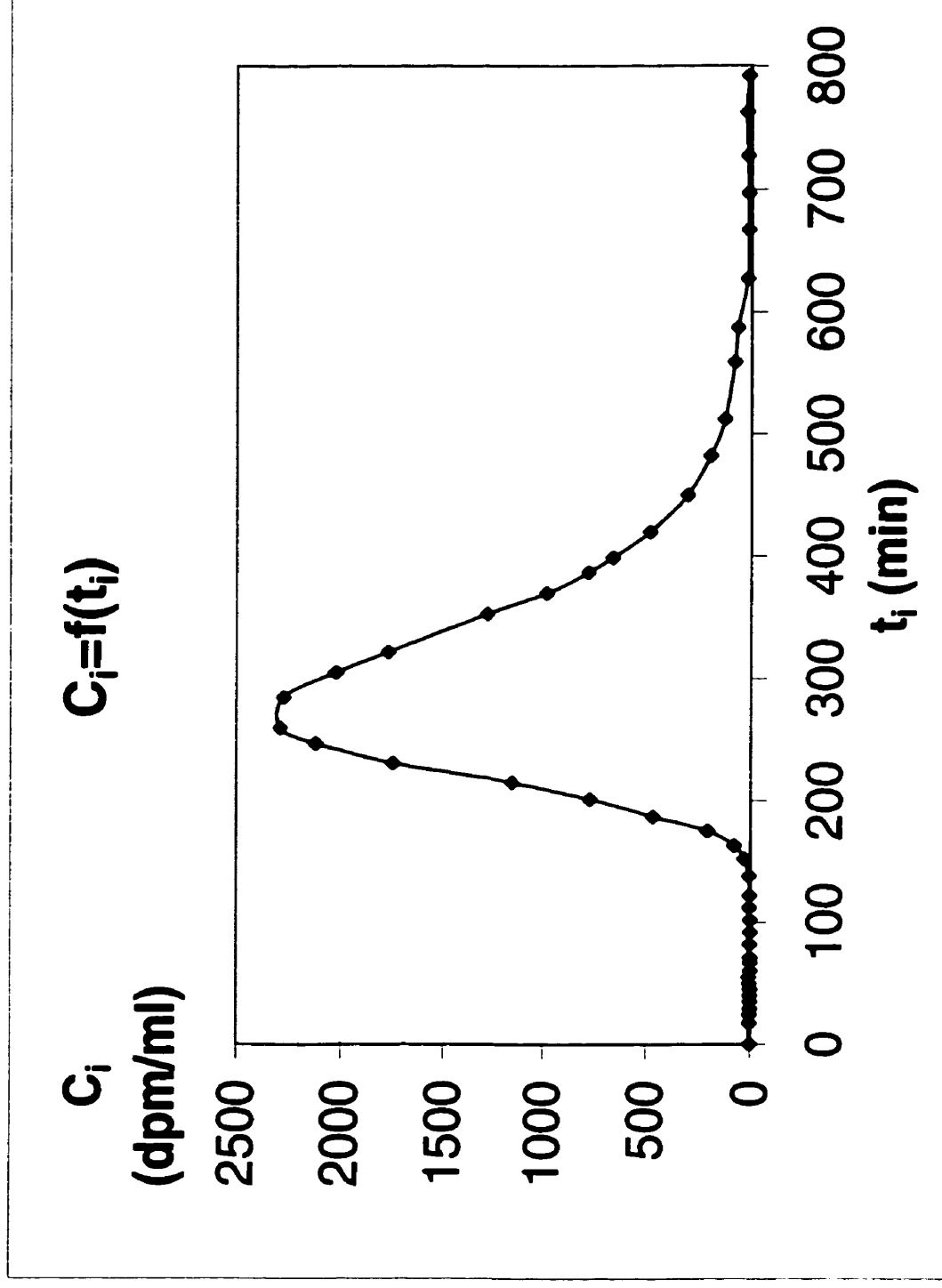
Débit = 3,5 litres/jour

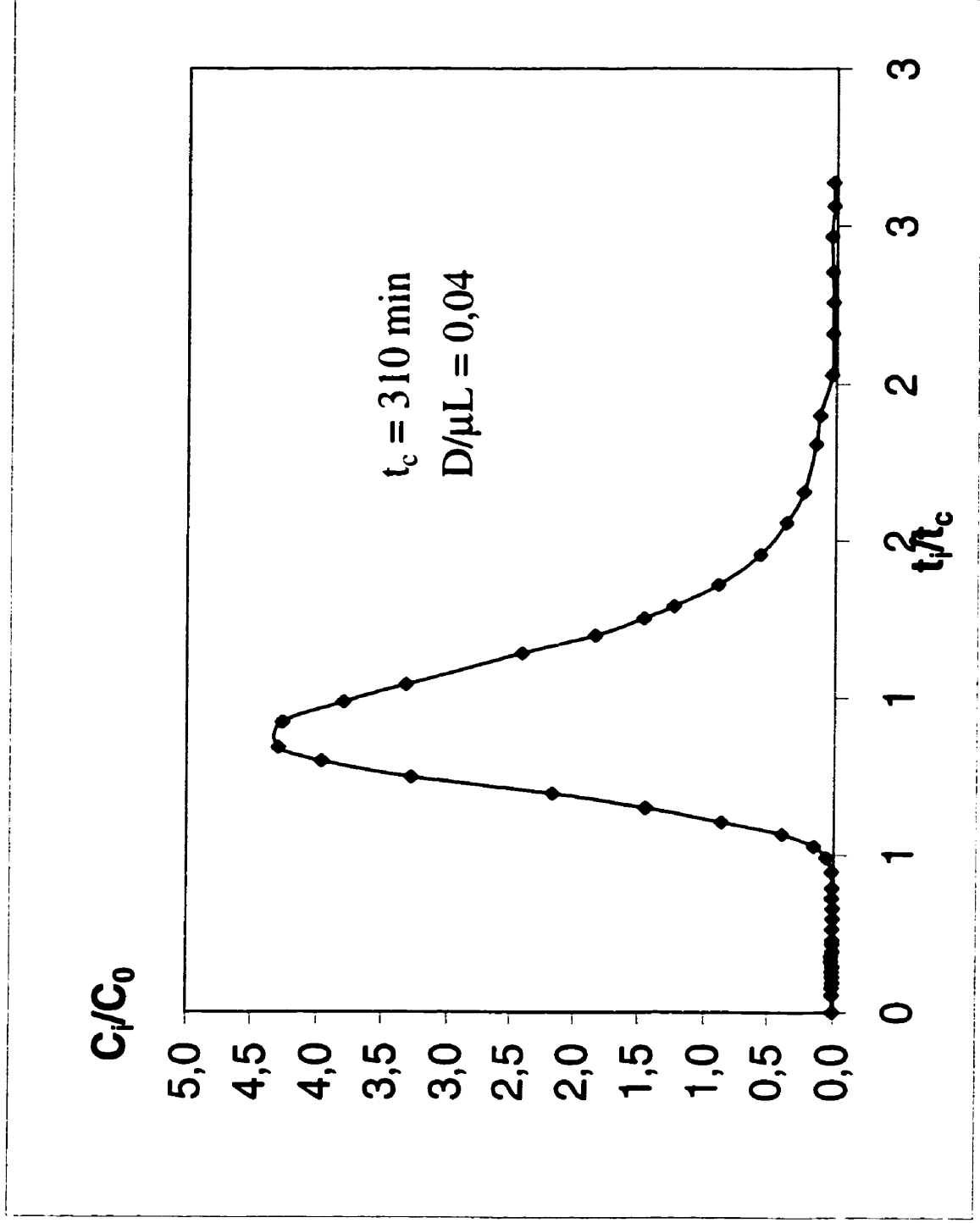
t_i temps (min)	C_i radioactivité (dpm/2ml)	C_i radioactivité (dpm/ml)	δt_i (min)	$C_i \delta t_i$ (dpm.min/ml)	$t_i C_i \delta t_i$ (dpm.min ² /ml)	$t_i^2 C_i \delta t_i$ (dpm.min ³ /ml)	t_i/t_c	C_i/C_o
0	3	1,5	17	25,5	0	0	0,0000	0,0028
17	7,5	3,75	7	26,25	446,25	7586,25	0,0550	0,0070
24	7,6	3,8	5	19	456	10944	0,0777	0,0071
29	2	1	6	6	174	5046	0,0939	0,0019
35	3,9	1,95	5	9,75	341,25	11943,75	0,1133	0,0037
40	7	3,5	5	17,5	700	28000	0,1294	0,0066
45	2	1	5	5	225	10125	0,1456	0,0019
50	11,9	5,95	5	29,75	1487,5	74375	0,1618	0,0112
55	14,9	7,45	5	37,25	2048,75	112681,25	0,1780	0,0140
60	3,5	1,75	7	12,25	735	44100	0,1942	0,0033
67	4	2	4	8	536	35912	0,2168	0,0038
71	4,1	2,05	11	22,55	1601,05	113674,55	0,2298	0,0038
82	6,6	3,3	10	33	2706	221892	0,2654	0,0062
92	4,3	2,15	10	21,5	1978	181976	0,2977	0,0040
102	3,6	1,8	10	18	1836	187272	0,3301	0,0034
112	13	6,5	10	65	7280	815360	0,3625	0,0122
122	9	4,5	16	72	8784	1071648	0,3948	0,0084
138	13,7	6,85	14	95,9	13234,2	1826319,6	0,4466	0,0129
152	59,1	29,55	11	325,05	49407,6	7509955,2	0,4919	0,0555
163	158,4	79,2	12	950,4	154915,2	25251177,6	0,5275	0,1487
175	413,9	206,95	12	2483,4	434595	76054125	0,5663	0,3886
187	928,9	464,45	14	6502,3	1215930,1	227378928,7	0,6052	0,8720
201	1541,9	770,95	14	10793,3	2169453,3	436060113,3	0,6505	1,4475
215	2311	1155,5	16	18488	3974920	854607800	0,6958	2,1695

231	3491,8	1745,9	16	27934,4	6452846,4	1490607518	0,7476	3,2781
247	4231,7	2115,85	13	27506,05	6793994,35	1678116604	0,7994	3,9727
260	4577,4	2288,7	25	57217,5	14876550	3867903000	0,8414	4,2972
285	4544,1	2272,05	20	45441	12950685	3690945225	0,9223	4,2660
305	4048,3	2024,15	17	34410,55	10495217,75	3201041414	0,9871	3,8005
322	3536	1768	31	54808	17648176	5682712672	1,0421	3,3196
353	2569,5	1284,75	17	21840,75	7709784,75	2721554017	1,1424	2,4122
370	1963,7	981,85	17	16691,45	6175836,5	2285059505	1,1974	1,8435
387	1560,6	780,3	12	9363,6	3623713,2	1402377008	1,2524	1,4651
399	1321,9	660,95	21	13879,95	5538100,05	2209701920	1,2913	1,2410
420	960,5	480,25	30	14407,5	6051150	2541483000	1,3592	0,9017
450	608,7	304,35	32	9739,2	4382640	1972188000	1,4563	0,5714
482	390,6	195,3	30	5859	2824038	1361186316	1,5599	0,3667
512	253,4	126,7	47	5954,9	3048908,8	1561041306	1,6570	0,2379
559	156,9	78,45	28	2196,6	1227899,4	686395764,6	1,8091	0,1473
587	129	64,5	40	2580	1514460	888988020	1,8997	0,1211
627	35,1	17,55	40	702	440154	275976558	2,0291	0,0330
667	28,1	14,05	30	421,5	281140,5	187520713,5	2,1586	0,0264
697	25,5	12,75	30	382,5	266602,5	185821942,5	2,2557	0,0239
727	33,1	16,55	35	579,25	421114,75	306150423,3	2,3528	0,0311
762	40,8	20,4	30	612	466344	355354128	2,4660	0,0383
792	23,1	11,55	23	265,65	210394,8	166632681,6	2,5631	0,0217
815	28,8	14,4	30	432	352080	286945200	2,6375	0,0270
845	9,6	4,8						

$\Sigma C_i \delta t_i$	$\Sigma t_i C_i \delta t_i$	$\Sigma t_i^2 C_i \delta t_i$	$t_c \text{ (min)}$	$\sigma \text{ (min)}$	$\sigma_\theta \text{ (min)}$
786584	243591242	8,1275E+10	309,68	86,16	0,28
		D/ μL		σ_θ^2	σ_θ
		0,04		0,08	0,28

Radioactivité récupérée en sortie de la colonne de nitrification (aération naturelle), en fonction du temps





TEST DE TRAÇAGE (colonne de nitrification avec aération forcée)

Quantité injectée: 775000 dpm à l'aide de la seringue de 250 μ m

Débit = 3,5 litres/jour

t_i	C_i	C_i	δt_i	$C_i \delta t_i$	$t_i C_i \delta t_i$	$t_i^2 C_i \delta t_i$	t_i/t_c	C_i/C_o	$\ln(C_i/C_o)$
temps (min)	radioactivité (dpm/2ml)	radioactivité (dpm/ml)	(min)	(dpm.min/ml)	(dpm.min ² /ml)	(dpm.min ³ /ml)			
0	0	0	5	0	0	0	0,000	0,000	#NOMBRE!
5	0	0	5	0	0	0	0,006	0,000	#NOMBRE!
10	0	0	10	0	0	0	0,012	0,000	#NOMBRE!
20	0	0	7	0	0	0	0,025	0,000	#NOMBRE!
27	101,1	40,55	1	40,55	1095	29561	0,033	0,048	-3,040
28	975,3	477,65	1	477,65	13374	374478	0,035	0,563	-0,574
29	1044,1	512,05	2	1024,1	29699	861268	0,036	0,604	-0,504
31	940,2	460,1	4	1840,4	57052	1768624	0,038	0,543	-0,611
35	924,1	452,05	5	2260,25	79109	2768806	0,043	0,533	-0,629
40	875,3	427,65	10	4276,5	171060	6842400	0,049	0,504	-0,685
50	808,7	394,35	10	3943,5	197175	9858750	0,062	0,465	-0,766
60	790	385	10	3850	231000	13860000	0,074	0,454	-0,790
70	783,1	381,55	10	3815,5	267085	18695950	0,086	0,450	-0,799
80	751,7	365,85	10	3658,5	292680	23414400	0,099	0,431	-0,841
90	746,9	363,45	10	3634,5	327105	29439450	0,111	0,429	-0,847
100	728,7	354,35	10	3543,5	354350	35435000	0,123	0,418	-0,873
110	689,4	334,7	10	3347	368170	40498700	0,136	0,395	-0,930
120	654,3	317,15	10	3171,5	380580	45669600	0,148	0,374	-0,984
130	647,1	313,55	10	3135,5	407615	52989950	0,160	0,370	-0,995
140	649,6	314,8	10	3148	440720	61700800	0,173	0,371	-0,991
150	644	312	10	3120	468000	70200000	0,185	0,368	-1,000
160	648,4	314,2	10	3142	502720	80435200	0,197	0,371	-0,993
170	645,8	312,9	10	3129	531930	90428100	0,210	0,369	-0,997
180	620,2	300,1	10	3001	540180	97232400	0,222	0,354	-1,039

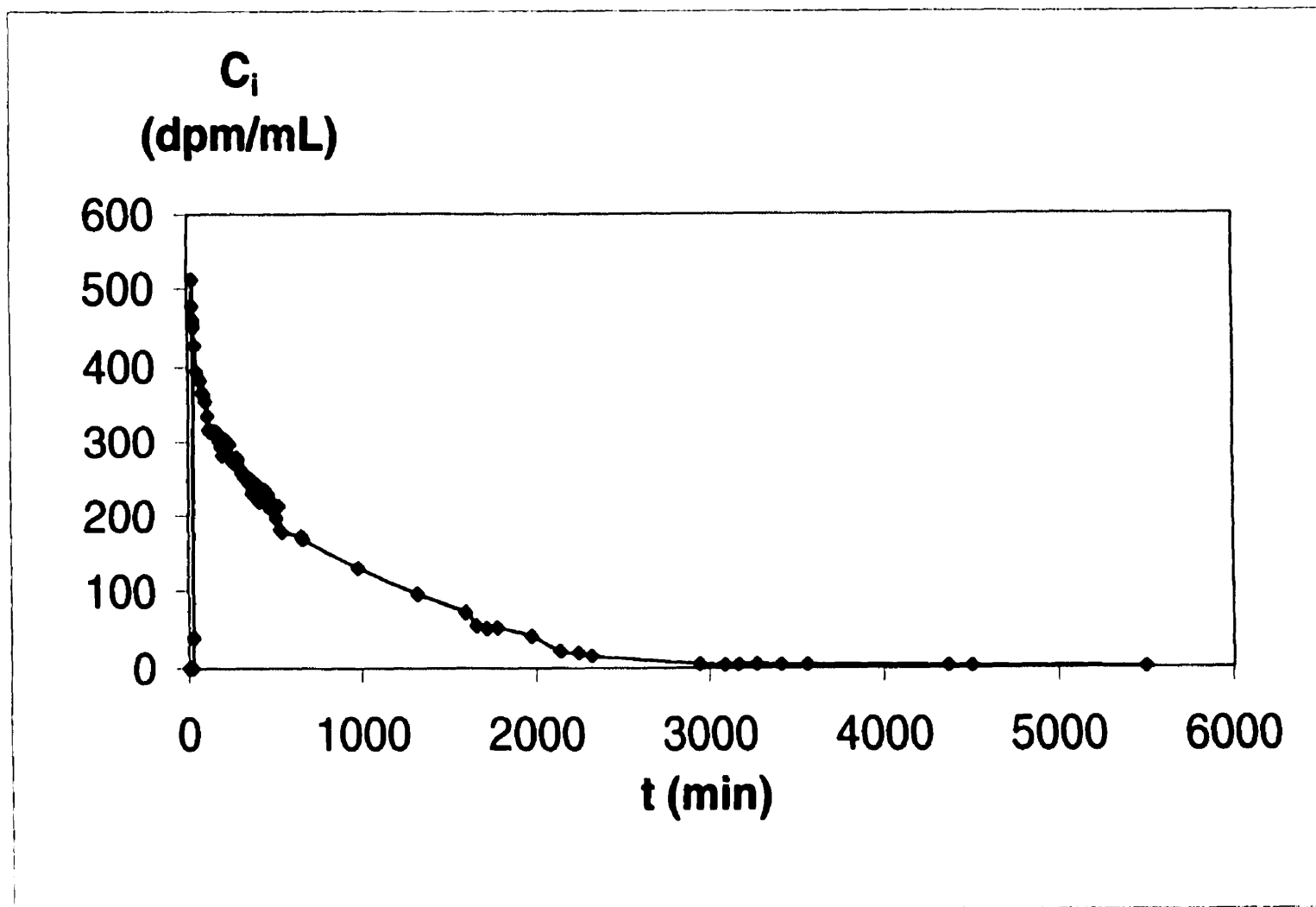
190	606,2	293,1	10	2931	556890	105809100	0,234	0,346	-1,062
200	582,2	281,1	10	2811	562200	112440000	0,247	0,331	-1,104
210	627,3	303,65	10	3036,5	637665	133909650	0,259	0,358	-1,027
220	626,1	303,05	10	3030,5	666710	146676200	0,271	0,357	-1,029
230	581,8	280,9	10	2809	646070	148596100	0,284	0,331	-1,105
240	612,3	296,15	10	2961,5	710760	170582400	0,296	0,349	-1,052
250	574,6	277,3	10	2773	693250	173312500	0,308	0,327	-1,118
260	566,1	273,05	10	2730,5	709930	184581800	0,321	0,322	-1,133
270	562,2	271,1	10	2711	731970	197631900	0,333	0,320	-1,140
280	576,7	278,35	10	2783,5	779380	218226400	0,345	0,328	-1,114
290	570,7	275,35	10	2753,5	798515	231569350	0,358	0,325	-1,125
300	548,3	264,15	10	2641,5	792450	237735000	0,370	0,311	-1,166
310	533,5	256,75	10	2567,5	795925	246736750	0,382	0,303	-1,195
320	530,1	255,05	10	2550,5	816160	261171200	0,395	0,301	-1,201
330	520,1	250,05	10	2500,5	825165	272304450	0,407	0,295	-1,221
340	525,6	252,8	10	2528	859520	292236800	0,419	0,298	-1,210
350	506,9	243,45	10	2434,5	852075	298226250	0,432	0,287	-1,248
360	520	250	10	2500	900000	324000000	0,444	0,295	-1,221
370	479,3	229,65	10	2296,5	849705	314390850	0,456	0,271	-1,306
380	494,1	237,05	10	2370,5	900790	342300200	0,469	0,280	-1,275
390	504,5	242,25	10	2422,5	944775	368462250	0,481	0,286	-1,253
400	502,3	241,15	10	2411,5	964600	385840000	0,493	0,284	-1,257
410	458,7	219,35	10	2193,5	899335	368727350	0,506	0,259	-1,352
420	470,8	225,4	10	2254	946680	397605600	0,518	0,266	-1,325
430	468,6	224,3	10	2243	964490	414730700	0,530	0,265	-1,330
440	489,5	234,75	10	2347,5	1032900	454476000	0,543	0,277	-1,284
450	477,4	228,7	10	2287	1029150	463117500	0,555	0,270	-1,310
460	478,8	229,4	10	2294	1055240	485410400	0,567	0,271	-1,307
470	440,6	210,3	10	2103	988410	464552700	0,580	0,248	-1,394
480	438,8	209,4	10	2094	1005120	482457600	0,592	0,247	-1,399
490	452,5	216,25	10	2162,5	1059625	519216250	0,604	0,255	-1,366
500	441,8	210,9	10	2109	1054500	527250000	0,617	0,249	-1,391
510	412,7	196,35	10	1963,5	1001385	510706350	0,629	0,232	-1,463
520	447,2	213,6	10	2136	1110720	577574400	0,641	0,252	-1,379

530	381,8	180,9	10	1809	958770	508148100	0,654	0,213	-1,545
540	376,8	178,4	110	19624	10596960	5722358400	0,666	0,210	-1,559
650	365,1	172,55	10	1725,5	1121575	729023750	0,801	0,203	-1,592
660	356,6	168,3	320	53856	35544960	23459673600	0,814	0,198	-1,617
980	280,4	130,2	340	44268	43382640	42514987200	1,208	0,154	-1,874
1320	212,4	96,2	275	26455	34920600	46095192000	1,628	0,113	-2,176
1595	165,6	72,8	60	4368	6966960	11112301200	1,967	0,086	-2,455
1655	131,8	55,9	60	3354	5550870	9186689850	2,041	0,066	-2,719
1715	124,9	52,45	60	3147	5397105	9256035075	2,115	0,062	-2,783
1775	127,6	53,8	195	10491	18621525	33053206875	2,189	0,063	-2,758
1970	105,3	42,65	165	7037,25	13863383	27310863525	2,429	0,050	-2,990
2135	65,3	22,65	105	2378,25	5077564	10840598606	2,633	0,027	-3,623
2240	60,9	20,45	75	1533,75	3435600	7695744000	2,762	0,024	-3,725
2315	32,2	16,1	625	10062,5	23294688	53927201563	2,855	0,019	-3,964
2940	30,7	5,35	145	775,75	2280705	6705272700	3,625	0,006	-5,066
3085	28,3	4,15	80	332	1024220	3159718700	3,804	0,005	-5,320
3165	21,4	4,7	105	493,5	1561928	4943500538	3,903	0,006	-5,195
3270	18,6	5,3	140	742	2426340	7934131800	4,032	0,006	-5,075
3410	12,7	4,35	150	652,5	2225025	7587335250	4,205	0,005	-5,273
3560	10,8	4,1	805	3300,5	11749780	41829216800	4,390	0,005	-5,332
4365	21,4	2,9	135	391,5	1708898	7459337588	5,382	0,003	-5,678
4500	18,6	2,3	1000	2300	10350000	46575000000	5,549	0,003	-5,910
5500	14,1	1,5							

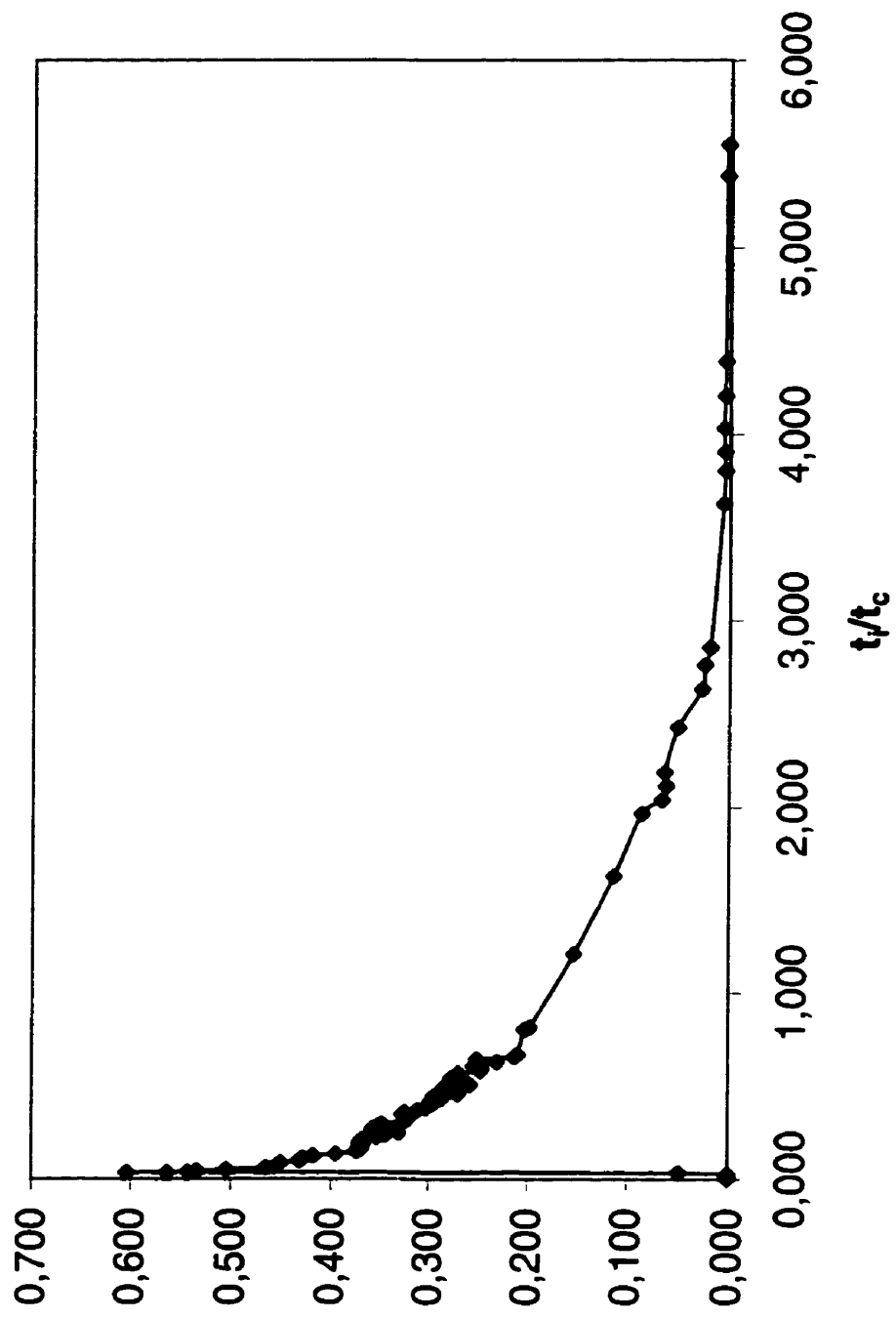
$\Sigma C_i \delta t_i$	$\Sigma t_i C_i \delta t_i$	$\Sigma t_i^2 C_i \delta t_i$	t_c	σ	σ_0
682794,9	553725706	8,38241E+11	810,969	755,0	0,931

D/ μ L	σ_0^2	σ_0
2,3	0,86954905	0,932496138

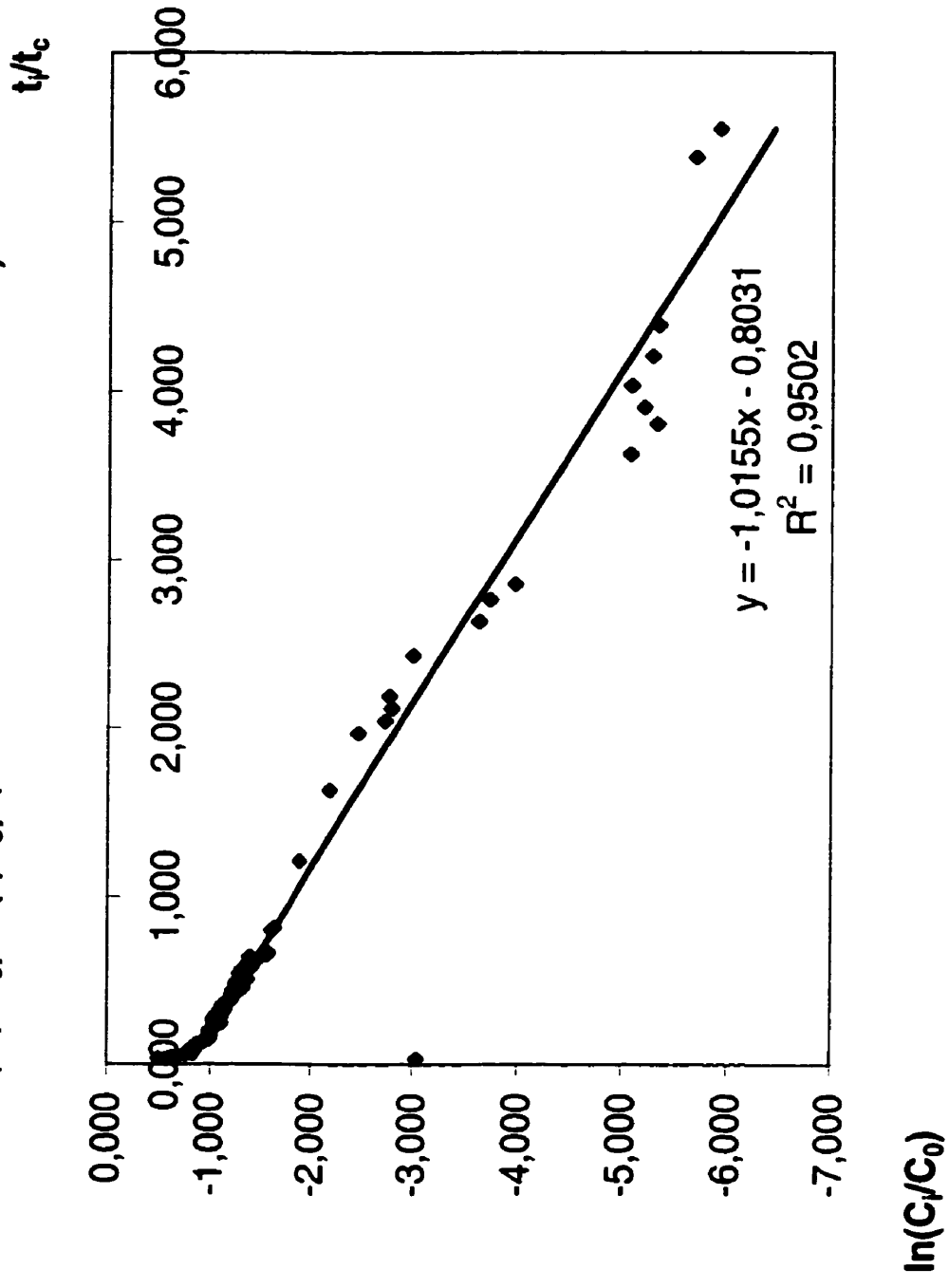
TRACÉ DE LA RADIOACTIVITÉ RÉCUPÉRÉE EN SORTIE EN FONCTION DU TEMPS (COLONNE AVEC AÉRATION FORCÉE)



C_i/C_o $C_i/C_o = f(t_i/t_c)$ (colonne avec aération forcée)



$\ln(C_i/C_0) = f(t_i/t_c)$ (colonne avec aération forcée)



TEST DE TRAÇAGE (colonne de dénitrification avec écoulement ascendant)

Quantité injectée: 775000 dpm à l'aide de la seringue de 250 μ m

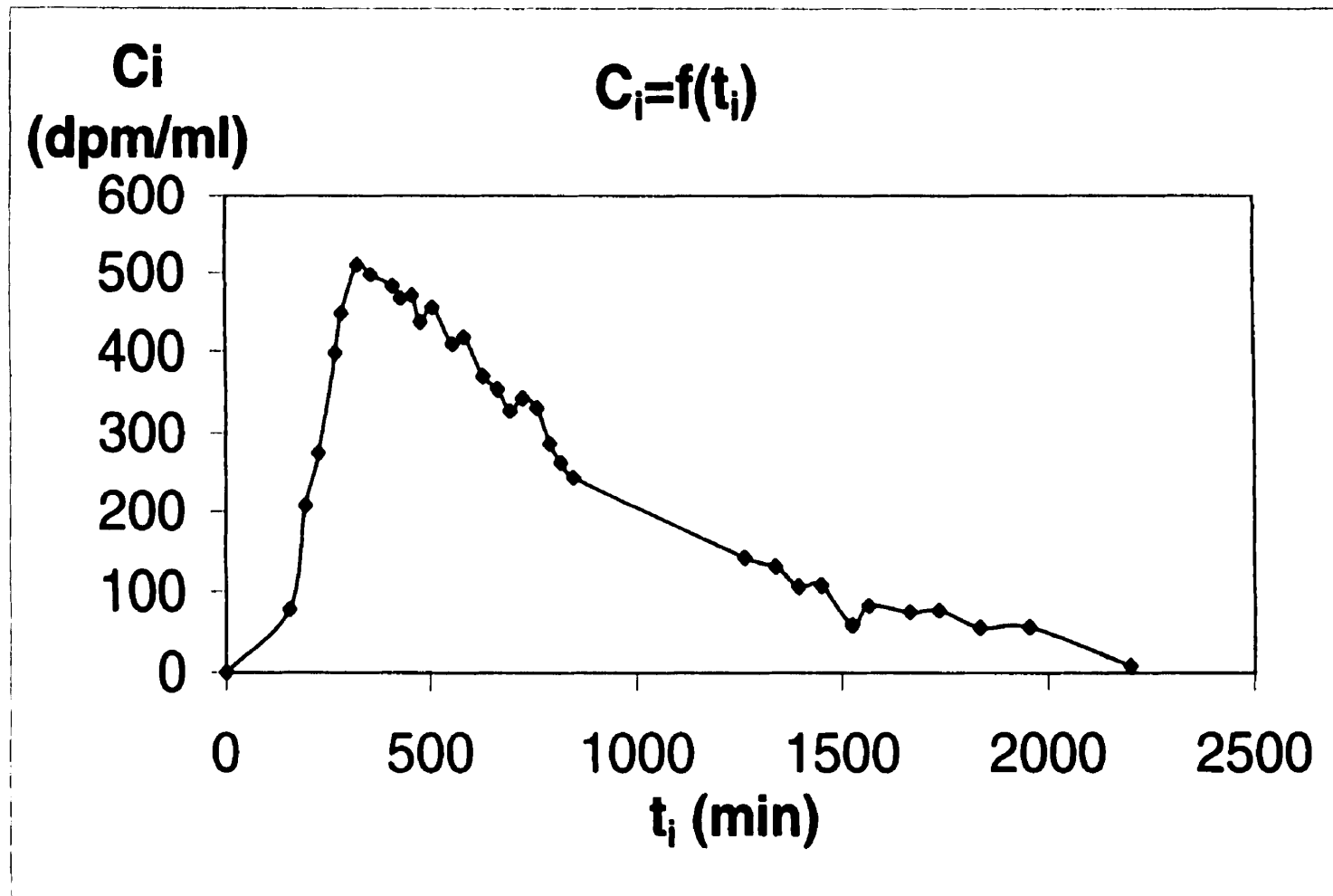
Débit = 3,5 litres/jour

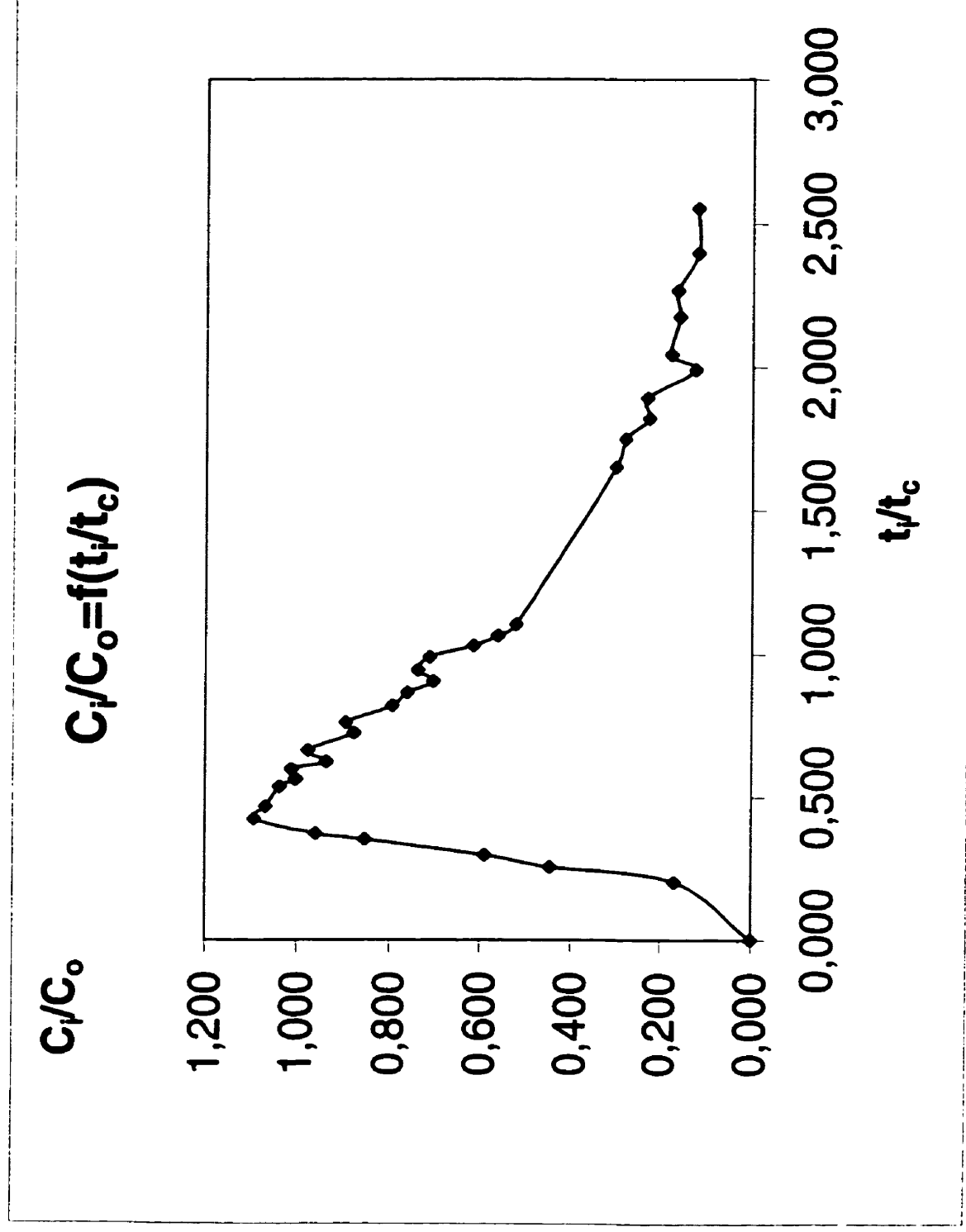
t_i	C_i	C_i	δt_i	$C_i \delta t_i$	$t_i C_i \delta t_i$	$t_i^2 C_i \delta t_i$	t_i/t_c	C_i/C_0
temps	radioactivité	radioactivité						
(min)	(dpm/2ml)	(dpm/ml)	(min)	(dpm.min/ml)	(dpm.min ² /ml)	(dpm.min ³ /ml)		
0	0	0	155	0	0	0	0,000	0,000
155	157,6	78,8	40	3152	488560	75726800	0,203	0,169
195	415,7	207,85	32	6651,2	1296984	252911880	0,255	0,446
227	549,7	274,85	43	11818,55	2682810,85	608998063	0,297	0,590
270	796	398	15	5970	1611900	435213000	0,353	0,854
285	895,4	447,7	40	17908	5103780	1454577300	0,372	0,961
325	1019,6	509,8	33	16823,4	5467605	1776971625	0,425	1,094
358	994,9	497,45	53	26364,85	9438616,3	3379024635	0,468	1,067
411	966,2	483,1	20	9662	3971082	1632114702	0,537	1,037
431	934,7	467,35	27	12618,45	5438551,95	2344015890	0,563	1,003
458	942,8	471,4	20	9428	4318024	1977654992	0,598	1,012
478	873,5	436,75	30	13102,5	6262995	2993711610	0,624	0,937
508	911	455,5	47	21408,5	10875518	5524763144	0,664	0,977
555	818,5	409,25	28	11459	6359745	3529658475	0,725	0,878
583	835,3	417,65	45	18794,25	10957047,75	6387958838	0,762	0,896
628	741,5	370,75	35	12976,25	8149085	5117625380	0,820	0,796
663	709,5	354,75	30	10642,5	7055977,5	4678113083	0,866	0,761
693	656,1	328,05	30	9841,5	6820159,5	4726370534	0,905	0,704
723	687,5	343,75	35	12031,25	8698593,75	6289083281	0,945	0,738
758	663,6	331,8	30	9954	7545132	5719210056	0,990	0,712
788	573,3	286,65	27	7739,55	6098765,4	4805827135	1,029	0,615
815	525,1	262,55	30	7876,5	6419347,5	5231768213	1,065	0,563
845	487,2	243,6	420	102312	86453640	73053325800	1,104	0,523
1265	282,9	141,45	75	10608,75	13420068,75	16976386969	1,653	0,304

1340	262,4	131,2	55	7216	9669440	12957049600	1,751	0,282
1395	212,9	106,45	55	5854,75	8167376,25	11393489869	1,823	0,228
1450	216,7	108,35	75	8126,25	11783062,5	17085440625	1,894	0,233
1525	117,2	58,6	40	2344	3574600	5451265000	1,992	0,126
1565	167,1	83,55	100	8355	13075575	20463274875	2,045	0,179
1665	150,1	75,05	70	5253,5	8747077,5	14563884038	2,175	0,161
1735	154,5	77,25	100	7725	13402875	23253988125	2,267	0,166
1835	111,7	55,85	120	6702	12298170	22567141950	2,397	0,120
1955	112,4	56,2	245	13769	26918395	52625462225	2,554	0,121
2200	17,3	8,65						

$\Sigma C_i \delta t_i$	$\Sigma t_i C_i \delta t_i$	$\Sigma t_i^2 C_i \delta t_i$	$t_c \text{ (min)}$	$\sigma \text{ (min)}$	$\sigma_{\theta} \text{ (min)}$
868977	665141121	6,7866E+11	765,43	441,71	0,58
$D/\mu L$	σ_{θ}^2	σ_{θ}			
0,7	0,34	0,58			

Radioactivité récupérée en sortie de colonne de nitrification (écoulement ascendant en mode submergé)





ANNEXE H

**Démonstration de la faisabilité de la dénitrification
d'un lixiviat de LES avec de la tourbe granulaire
(PE 30C)**



PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	
Protocole #: PE 30C	Pages: 9
Version: 1/1	Date: 15/06/1998
Auteurs: Yann Henry Approuvé par:	Signatures: Date: ____ / ____ / ____

Titre: Démonstration de la faisabilité de la dénitrification d'un lixiviat de LES avec de la tourbe granulaire Mots clés: tourbe, dénitrification, lixiviat, biofiltration, LES(*), anoxie

(*) Lieu d'Enfouissement Sanitaire

1. Objectif

La dénitrification est un processus catabolique dans lequel le nitrate est utilisé comme accepteur d'électrons. Elle implique principalement des hétérotrophes comme *Pseudomonas denitrificans*, *Micrococcus*, *Archromobacter*, *Spirillum* et *Bacillus* (Monteith et al., 1979). C'est un mode de respiration anaérobie qui permet aux bactéries

anaérobiques facultatives de continuer à minéraliser le carbone organique en l'absence d'oxygène moléculaire (Comeau, 1996).

L'oxydation des nitrates en azote gazeux fait appel à des produits intermédiaires, respectivement les nitrites, l'oxyde nitrique et l'oxyde nitreux. L'équation d'oxydo-réduction concernant la transformation des nitrates en azote gazeux est la suivante:



Cette équation indique que la dénitrification est caractérisée par une diminution de l'acidité du milieu. Les ions NO_3^- servent d'accepteurs d'électrons. La réaction se produit préférentiellement entre 10 et 30°C avec un pH compris entre 6,5 et 8,0.

Ce protocole expérimental vise à vérifier si la tourbe granulaire est capable de dénitrifier le lixiviat d'un LES.

2. Matériels

Les expériences de dénitrification sont réalisées au laboratoire dans une colonne en plexiglass (hauteur : 50 cm; diamètre interne: 8 cm; diamètre externe: 8,4 cm). La tourbe utilisée, fournie par Premier Tech, est une tourbe brune québécoise légèrement décomposée (degré de décomposition Von Post de H-4 à H-5) et ayant une faible humidité (<10%). Il s'agit ainsi d'une tourbe jeune, offrant de bonnes performances au niveau de la perméabilité et de la capacité de rétention. En raison de sa nature

hydrophobe (une tourbe ayant une humidité inférieure à 30% est principalement hydrophobe; Malterer et al., 1996), la tourbe sèche est trempée 24 heures dans l'eau distillée avant son utilisation (Gravelle et al., 1980).

Expériences

- 1 colonne en plexiglass
- tourbe granulaire (Premier Tech)
- lixiviat : 1000 litres en sortie de l'étang non aéré, non mélangé de la société BFI
- 1 grille en Inox (diamètre=6,8 cm)
- maillage très fin en acier inoxydable
- 1 pompe péristaltique (Masterflex 1-100 rpm) + 1 tête de pompe
- papier aluminium
- tubes en téflon ($d_{int}=1/8''$)
- 1 plaque en plexiglass (10 cm * 10 cm * 1 cm)
- seringues de prélèvement
- 5 connecteurs en téflon possédant chacun un septum en téflon
- 1 vanne (filetage NPT 3/8'')
- pierres concassées riches en calcaires (2-5 mm)
- réservoir de 200 litres
- pinces et noix
- KNO_3 en poudre

Analyses

- HPLC anionique
- respiromètres automatiques

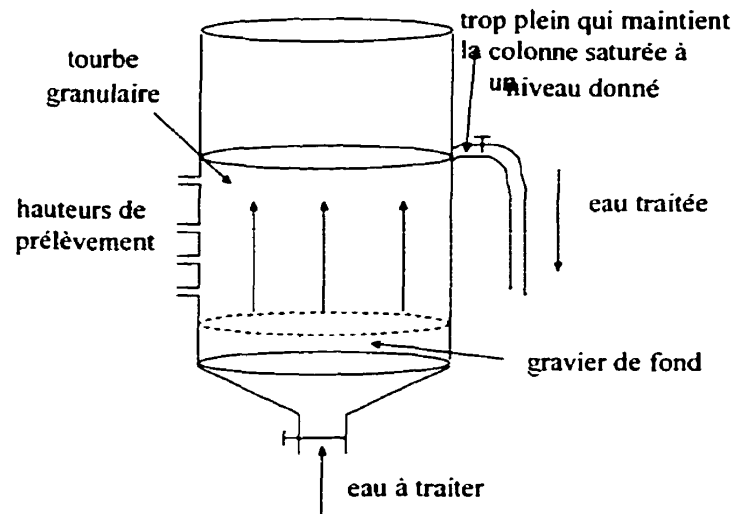
- sonde à oxygène
- pH mètre (Accumet model 25)
- agitateurs magnétiques
- vials
- solution d'acide sulfurique 0.02N
- pipettes graduées
- burette (50 ml)

3. Méthode

L'unité de dénitrification opère à température ambiante. Afin de connaître la concentration en nitrate en fonction de la hauteur de colonne en régime permanent, la colonne est percée à 5 hauteurs différentes. L'alimentation dans la colonne a lieu en continu avec un écoulement ascendant au moyen d'une pompe péristaltique. Dans sa partie supérieure, un système de trop-plein permet de maintenir le niveau d'eau constant et donc de maintenir le lit de tourbe granulaire complètement immergé (figure 1).

Le principe des essais de dénitrification est le suivant: il s'agit d'alimenter en continu la colonne avec le lixiviat ayant une concentration connue en nitrate. Avec le temps, la biomasse dénitrifiante sur le milieu filtrant devrait augmenter. Le régime transitoire est terminé lorsque la concentration en nitrate se stabilise en sortie de colonne. À ce stade (régime permanent), la concentration des différents composés de devrait plus varier dans le temps pour une même hauteur de colonne (quantité de biomasse constante à chaque étage). La même méthodologie est répétée pour des concentrations supérieures de nitrate en entrée. L'augmentation doit cependant être progressive pour ne pas inhiber l'activité des bactéries dénitrifiantes.

Figure 1: Montage expérimental des essais de dénitrification



Le lixiviat est stockée à 4°C pour maintenir ses caractéristiques qualitatives constantes. Il est pompé en profondeur et non en surface pour y minimiser la concentration en oxygène dissous (provenant de la diffusion atmosphérique). Le bout du tube est préalablement enroulé autour d'un maillage très fin pour ne pomper que les matières dissoutes.

Afin de satisfaire un ratio $d_{\text{tourbe}}/d_{\text{colonne}}$ de l'ordre de 10 (Lieto, 1995), les granules de tourbe sont préalablement découpées en granules de 0,8 cm de diamètre. Elles sont alors placées de manière à ce que le milieu filtrant ne soit pas trop compact, évitant ainsi une mauvaise séparation gaz-liquide (Ceçen et al., 1994).

Les granules de tourbe reposent sur une grille en Inox dans la partie inférieure de la colonne. Les lits à base de tourbe sont également supportés par une couche inférieure de pierres concassées (2-5 mm) afin d'empêcher la formation d'une croûte de biomasse à la

base de la tourbe (Lafrance et al., 1996). Les pierres concassées (calcaire) ont également le pouvoir d'augmenter la capacité tampon du liquide.

Le transport de l'eau est effectué de manière à éviter les fortes vitesses d'écoulement et des écoulements discontinus (MacDonald, 1990). Il ne doit pas être trop fort pour éviter que les solides en suspension et le milieu filtrant ne soient entraînés par les bulles d'azote (Jimenez et al., 1984; Rogalla et al., 1990). Un débit d'alimentation de 3,5 litres/j semble être raisonnable.

La colonne est recouverte de papier aluminium empêchant la croissance des algues dans le milieu (Vayenas et al., 1997) et est placée à l'abri des courants d'air pour éviter toute fluctuation de températures. Elle contient, dans sa partie supérieure, une plaque en plexiglass qui maintient les conditions anaérobies du montage tandis que sa partie inférieure en forme de cône facilite l'élimination des solides (Abeyasinghe et al., 1996; Shanableh et al., 1997).

Procédures expérimentales:

- 1 - Introduire à l'intersection de la partie cylindrique et conique la grille en Inox puis placer dessus celle-ci 151 g de calcaire (2-5 mm) et 187,5 g de tourbe granulaire. Ne pas trop compacter les granules de tourbe pour permettre une bonne circulation du lixiviat.
- 2 - Coller la plaque en plexiglass dans la partie supérieure de la colonne afin d'éviter tout contact avec l'atmosphère.
- 3 - Ajouter du KNO_3 dans le lixiviat de manière à avoir une concentration de 26 mg/l en NO_3^- et faire barboter de l'azote gazeux pendant 20 minutes.
- 4 - Régler la pompe à un débit de 3,5 litres par jour puis alimenter, par le bas de la colonne, le milieu filtrant avec le lixiviat.

- 5 – Une fois le régime permanent établi, prélever grâce aux seringues environ 5 ml de lixiviat aux différentes hauteurs de colonne puis analyser les échantillons : NO_2^- , NO_3^- , $\text{DBO}_{5 \text{ totale}}$, $\text{DCO}_{\text{totale}}$, pH et alcalinité.
- 6 - Ajouter de nouveau du nitrate de potassium de façon à obtenir une concentration de 70 mg/l en nitrate en entrée puis faire barboter de l'azote (20 minutes).
- 7 – Répéter les mêmes démarches de l'étape 5, une fois le régime stationnaire atteint.
- 8 – Continuer à ajouter du KNO_3 : 140, 220 et enfin 420 mg NO_3^- /l dès que les régimes permanents sont établis. Grâce aux résultats obtenus, il sera possible d'évaluer l'effet de la hauteur de milieu filtrant sur la réaction de dénitrification.

Remarque:

L'oxygène dissous et le potentiel d'oxydo-réduction (POR) à la sortie de la colonne sont également vérifiés pour s'assurer que les conditions anoxiques soient maintenues à l'intérieur de la colonne.

5. Références

Abeyasinghe, A., Shanableh, A. (1996) Biofilters for water reuse in aquaculture *Water science and technology* **34**, No.10: 17-24

Ceçen, F., Gönenc, I.E. (1994) Nitrogen removal characteristics of nitrification and denitrification *Water Science and Technology*, **29**, No.10-11, 409-416

Comeau, Y. (1996) Épuration biologique des eaux usées

Gravelle, D.V., Landreville, A. (1980) Caractérisation de la tourbe pour le traitement des eaux usées d'abattoirs *The Canadian Journal of Chemical Engineering* **58**:235-240

Jimenez, B., Capdevielle, B., Roques, H., Faup, G.M. (1987) Design considerations for a nitrification-denitrification process using two fixed-bed reactors in series *Water Science and Technology*, **19**, Rio, 139-150

Lafrance, C., Lessard, P., Buelna, G. (1996) Évaluation de la filtration sur tourbe et compost pour le traitement de l'effluent d'une usine de compostage de résidus verts *Canadian Journal of Civil Engineering*, **23**, 1041-1050

Lieto, J. (1995) Notes de cours de Génie Chimique Chimie Physique Électronique de Lyon

MacDonald, D.V. (1990) Denitrification by fluidized biofilm reactor *Water Science and Technology*, **22**, No.1/2, 451-461

Malterer, T., McCarthy, B. and Adams, R. (1996) Use of peat in waste treatment *Mining engineering*:53-56

Monteith, H.D., Bridle, T.R., Sutton, P.M. (1979) Évaluation des rejets industriels de carbone pour la dénitrification biologique, Direction générale de la lutte contre la pollution des eaux, développement des techniques, *Rapport EPS4-WP-79-9F*

Rogalla, F., Bourbigot, M.M. (1990) New developments in complete nitrogen removal with biological aerated filters *Water Science and Technology*, **22**, No.1/2, 273-280

Shanableh, A., Abeysinghe, A. (1997) Effects of cycle duration on phosphorous and nitrogen transformations in biofilters *Water research* **31**, No.1: 149-153

Vayenas, D.V., Pavlou, S., Lyberatos, G. (1997) Development of a dynamic model describing nitrification and denitrification in trickling filters *Water Research*. **31**, No.5, 1135-1147

ANNEXE I

**Dénombrement total de micro-organismes
dénitrifiants par la méthode du nombre le plus
probable
(PE 30F)**



PROTOCOLE STANDARD D'OPÉRATION	
Protocole #: PE 30F	Pages: 9
Version: 1/1	Date: Le 09/10/1998
Auteurs: Yann Henry Approuvé par:	Signatures: Date: ____ / ____ / ____

Titre: Dénombrement des micro-organismes dénitrifiants par la méthode du nombre le plus probable (NPP) Mots clés: dénombrement, nombre le plus probable (NPP), bactéries dénitrifiantes
--

0.00 Domaine d'application

Cette méthode de dénombrement s'applique à toute substance pouvant contenir des micro-organismes nitrifiants (ex. échantillons de sols et d'eaux).

1.00 Introduction

Le sol est l'un des principaux réservoirs de vie microbienne. Les tourbières constituent un écosystème riche tant par la quantité que par la diversité de sa microflore (Bélanger et al., 1987). Les bactéries des tourbières incluent des aérobies et des anaérobies possédant une large gamme de besoins nutritionnels allant des photoautotrophes aux chémohétérotrophes. Lorsque les nutriments et les conditions environnementales (lumière, aération, température, pH) le permettent, les populations microbiennes et leur activité métabolique augmentent rapidement jusqu'à ce que les nutriments soient épuisés ou que les conditions physico-chimiques du milieu changent pour diminuer cette activité. Différents sols peuvent favoriser des populations microbiennes ayant un type de métabolisme particulier.

Le nombre de bactéries présentes dans le sol est habituellement estimé par la méthode de décompte sur vase de Pétri (« plate count method »). Cependant le nombre réel d'organismes est probablement beaucoup plus élevé parce que cette méthode détecte uniquement les microbes pouvant croître dans les conditions fournies par la méthode (entre autres, nutriments et température). La population microbienne dans l'échantillon original peut donc être calculée en terme de nombre d'organismes par gramme de sol.

2.00 Principe de la méthode

Il s'agit d'une estimation de la densité moyenne de micro-organismes dans un échantillon donné, par un test statique. L'échantillon est dilué en série, et des aliquots de chaque dilution sont incubés dans un milieu de croissance dans des tubes. Il y a croissance dans les tubes lorsqu'un organisme ou plus sont présents. Le nombre de

micro-organismes dans l'échantillon est déterminé d'après le nombre de tubes où il y a eu croissance pour chaque dilution et en se servant des tables de l'index NPP.

3.00 Matériel

- solution saline 0.85% dans de l'eau distillée, soit NaCl 8,5 g/L
- eau distillée (pH 7)
- tubes de verre à bouchon vissé de 15 mL (5 par dilution + 2 pour les contrôles), et bouchons
- pipettes stériles de 10 mL
- vortex
- dispensettes 10 et 25 mL
- micropipette 1000 µL
- embouts à micropipette stériles
- milieu de culture pour les bactéries dénitrifiantes
- réactif A (acide sulfanilique)
- réactif B (N-N-diméthyl-1-naphtylamine)
- acide acétique glacial
- poudre de zinc

Pour un dénombrement sur un échantillon de sol, il faut en plus :

- matériel pour déterminer le taux d'humidité (PSO A7)
- 30 billes de verre de 3 mm de diamètre (glass beads solids, Fisher) par échantillon
- une spatule par échantillon
- agitateur Wrist Action (Burrel, PA, USA)
- balance (Mettler Toledo PB302)
- éthanol 70%

4.00 Mode opératoire

4.01 Choix du nombre de dilutions

Si la densité de micro-organismes dans l'échantillon est inconnue, il faudra effectuer 7 dilutions de la suspension primaire (donc 8 bouteilles à dilutions identifiées 10^0 à 10^{-7} , et 5*8 tubes identifiés de 10^{-1} à 10^{-8} plus 2 tubes de contrôle).

Si la plage de densité microbienne est connue, il est possible de n'effectuer que trois dilutions pour obtenir le NPP. Le tableau 4.1 indique quelles dilutions effectuer dans les tubes suivant la densité prévue. Mais il faudra quand même préparer toutes les dilutions successives dans les bouteilles (3^e colonne du tableau 4.1).

Tableau 4.1 Dilutions à effectuer suivant la plage de densité microbienne lorsqu'elle est connue

densité de micro-organismes prévue/100 mL ou/10 g de sol	dilutions dans les tubes	bouteilles à préparer
20 à 1609	10^{-1} - 10^{-2} - 10^{-3}	10^0 à 10^{-2}
200 à 160 900	10^{-2} - 10^{-3} - 10^{-4}	10^0 à 10^{-3}
2000 à 1 609 000	10^{-3} - 10^{-4} - 10^{-5}	10^0 à 10^{-4}

4.02 Préparation des tubes

1 - prendre 5 tubes par dilution souhaitée plus 2 tubes pour les contrôles

2 - préparer le milieu de culture pour les bactéries dénitrifiantes. Ce milieu de culture est un bouillon trypticase à base de nitrate, composé de :

- 25 g de trypticase soy broth
- 1 g d'agar noble
- 1 g de KNO_3
- eau distillée qui complète à 1000 ml

3 - Chauffer la solution à ébullition puis laisser refroidir jusqu'à température ambiante

4- placer 9 mL de cette solution dans chaque tube à l'aide de la dispensette de 10 mL.

Calibrer avant la dispensette avec un cylindre de 10 mL.

5- ajouter 1 mL de solution saline 0,85% dans chacun des 2 tubes de contrôle

6- fermer les tubes, les autoclaver 20 minutes (121°C, 103,4 kPa) et les laisser refroidir

7- identifier les tubes (on peut identifier avant autoclavage mais le feutre s'efface)

4.03 Préparation des dilutions en série (pour un échantillon de sol)

1 - déterminer le taux d'humidité du sol (voir PSO A7)

2 - préparer la bouteille pour la suspension primaire (dilution 10^0) : mettre 9,5 ml de solution saline dans la bouteille identifiée 10^0 , et ajouter 30 billes de verre

3 - mettre 9,0 ml de solution saline dans chaque autre bouteille

4 - fermer et autoclaver toutes les bouteilles 20 minutes (121°C, 103,4 kPa) : les laisser refroidir

5 - identifier les bouteilles (10^0 , 10^{-1} , ...)

travailler dès maintenant en conditions stériles-passer les goulots des tubes et des bouteilles à la flamme après ouverture et avant fermeture

- 6 - stérilisation du matériel : placer deux spatules sous la hotte laminaire, et actionner la lumière UV pendant 10 minutes
- 7 - mettre en place la balance sous la hotte (lumière normale), ajuster son niveau et la calibrer (voir PSO E1). Nettoyer le plateau de la balance à l'éthanol 70%
- 8 - peser approximativement 1.0 g de sol (noter le poids exact) dans la bouteille de dilution 10^0
- 9 - agiter la bouteille au Wrist Action pendant 30 minutes
- 10 - préparer les dilutions successives :
- ouvrir la bouteille identifiée 10^{-1} et passer le goulot à la flamme
 - brasser manuellement la bouteille 10^0 pendant 10 secondes, ouvrir, passer la goulot à la flamme
 - rebrasser, pipeter 1.0 ml avec une pipette neuve et les placer dans la bouteille identifiée 10^{-1}
 - passer les goulots à la flamme et fermer. La bouteille 10^{-1} est préparée
 - répéter le point 10 en utilisant la nouvelle dilution préparée comme inoculum.
- jusqu'à la dernière dilution voulue

4.04 Inoculation des tubes

Toujours travailler en conditions stériles-passer les goulots à la flamme

- 1 - brasser la bouteille 10^0 pendant 10 secondes
- pipeter 1 ml à la micropipette, en continuant de brasser
 - placer dans un tube identifié 10^{-1}
- Répéter cette opération dans les quatre autres tubes identifiés 10^{-1} . On obtient les 5 aliquots de la dilution 10^{-1}

Évidemment, si la plage de densité de micro-organismes est connue et qu'on n'a pas besoin des tubes 10^{-1} , on ne les fait pas !

2 - reboucher les tubes, et les agiter 3 secondes au vortex

3 - changer d'embout et répéter les points 1 et 2 avec chaque autre bouteille à dilution : avec la bouteille 10^{-1} on obtient les 5 tubes 10^{-2} , et ainsi de suite

4 - incuber tous les tubes à 25-30°C, y compris les deux contrôles, pendant 21 jours

4.05 Préparation des réactifs

A - Acidesulfanilique

Introduire dans un erlen 1 g d'acide sulfanilique avec 125 ml d'acide acétique 5N (composition : 1 part d'acide acétique glacial avec 2.5 parts d'eau distillée)

B - N-N-diméthyl-1-naphtylamine

Introduire dans un erlen 1 g de N-N-diméthyl-1-naphtylamine dans 200 ml d'acide acétique 5N

Agitez et chauffez légèrement ces 2 solutions pour une meilleure dissolution

4.06 Décontamination des tubes après lecture des résultats

Cette étape est obligatoire afin de ne pas infecter le réseau d'égout. Tous les tubes doivent être autoclavés 20 minutes (121°C, 103.4 kPa). Leur contenu refroidi est ensuite jeté à l'évier.

5.00 Calculs

1 -

A. après 3 semaines d'incubation, ajoutez 5 gouttes de réactif A et 5 gouttes de réactif B à toutes les cultures de nitrate en bouillon. Une coloration rouge indique que le nitrate est réduit en nitrite. Aucun changement de couleur, continuez à l'étape (B). Noter pour chaque dilution le nombre de tubes positifs sur les 5 incubés, sur un tableau récapitulatif (exemple au tableau 5.1).

B. ajoutez une infime quantité de poudre de zinc aux cultures. Une coloration rouge indique aucune réduction de nitrate par la culture, mais bien par la poudre de zinc.

C. aucun changement de couleur aux étapes (A) et (B) indique que le nitrate est réduit en nitrite puis en ammoniac ou en azote moléculaire.

2 - sélectionner la combinaison de positifs: trois dilution successives sont choisies pour déterminer l'index NPP, de la manière suivante: choisir la plus grande dilution qui donne un résultat positif maximum (5/5 est le maximum, 0/5 est le minimum) et les deux dilutions suivantes. Les nombres de tubes positifs pour chacune de ces trois dilutions constituent la combinaison de positifs (*voir l'exemple a*).

exception 1: il y a un résultat positif à une dilution plus grande que la dernière choisie par la règle précédente: additionner ce résultat à la dernière dilution, ce qui donne la même combinaison que *l'exemple c*.

exception 2: choisir les trois dilutions de manière à retrouver le résultat positif "maximum" au centre des trois dilutions.

Tableau 5.1 Exemple de tableau de résultats

<i>exemples</i>	dilution dans les tubes				Combinaison de positifs	Index NPP	cellules/1.0 g de sol
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}			
<i>a</i>	5/5*	5/5	2/5	0/5	5-2-0	50	$50 \cdot 10^2$
<i>b</i>	5/5	4/5	2/5	0/5	5-4-2	220	$220 \cdot 10^1$
<i>c</i>	5/5	3/5	2/5	0/5	5-3-2	140	$140 \cdot 10^1$
<i>exception 1</i>	5/5	3/5	1/5	1/5	5-3-2	140	$140 \cdot 10^1$
<i>exception 2</i>	0/5	1/5	0/5	0/5	0-1-0	2	$2 \cdot 10^1$

• (nombre de tubes positifs)/(nombre de tubesensemencés)

3 - noter l'index NPP correspondant à cette combinaison à l'aide de la table 5.2.

4 - multiplier l'index NPP par 10^x , la plus petite dilution de la combinaison de positifs étant 10^{-x} .

exemple a: les dilutions de la combinaison sont 10^{-2} , 10^{-3} et 10^{-4} . La plus petite dilution est donc 10^{-2} , il faut alors multiplier l'index NPP par 10^{-2} , soit $50 \cdot 10^2 = 5000$.

Ce résultat correspond au nombre de micro-organismes dénitrifiants pour 1.0 g de sol pesé (soit le poids exact pesé).

5 - on exprime les résultats en fait en nombre de micro-organismes par g SEC de sol, connaissant le taux d'humidité du sol déterminé en début d'expérience.

6.00 Références

- APHA, AWWA, WEF, ed., 1992. Standard Methods for the examination of Water and Wastewater, 18th edition.
- Buchanan, R.E. et Gibbons, N.E. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th edition, pp.432 et 485
- Picard, P. (1996) PSO A12 : Dénombrement total de micro-organismes hétérotrophes par la méthode du nombre le plus probable (NPP)

ANNEXE J

Détermination de l'alcalinité d'un milieu aqueux par
titrage potentiométrique « SM 2320 Alkalinity »
(PE 30D)



PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL	
Protocole #: PE 30D	Pages: 6
Version: 1/1	Date: 15/04/1999
Auteurs: Yann Henry Approuvé par:	Signatures: Date: _

Titre:
Détermination de l'alcalinité d'un milieu aqueux par titrage potentiométrique « SM 2320 Alkalinity »

Mots clés:
alcalinité, titrage, point d'inflexion, titrant

1.00 Domaine d'application

L'alcalinité d'une eau est sa capacité à neutraliser un acide à un pH donné. Elle est principalement due aux ions carbonates, bicarbonates et hydroxydes mais peut également être influencée par les ions borates, phosphates ou silicates. La mesure de l'alcalinité est très courante dans plusieurs domaines comme celui des eaux usées. Dans

le cas d'un effluent industriel, les variations d'alcalinité peuvent indiquer un changement de qualité à la source.

2.00 Principe de la méthode

Les ions hydroxydes présents dans l'échantillon sont le résultat d'une dissociation ou hydrolyse des solutés. La méthode consiste à faire réagir, à un pH donné, ces ions hydroxydes (OH^-) avec une solution d'acide de normalité connue. La construction de la courbe de titrage, en enregistrant le pH des échantillons après ajout de titrant, permet d'identifier le point d'inflexion. Ce point d'inflexion est défini comme étant le pH auquel la courbe passe de la forme convexe à concave. Les échantillons de déchets industriels, de drainages miniers acides, ou les autres solutions qui contiennent des fortes concentrations d'ions métalliques hydrolysables (ex. fer, aluminium, manganèse) sont traités avec du peroxyde d'hydrogène pour oxyder toutes les formes réduites des cations polyvalents et chauffés pour accélérer leur hydrolyse. Le point d'inflexion peut être très différent si cette procédure n'est pas suivie.

3.00 Matériel

- un pH mètre + une électrode à pH
- un agitateur magnétique + un barreau aimanté
- une burette (100 ml)
- un cylindre gradué (50 ml)

- un verre de montre
- ballon (1 litre)
- réactifs : acide sulfurique (H_2SO_4)
 Na_2CO_3

4.00 Mode opératoire

4.01 Volume d'échantillon

La gamme d'alcalinité rencontrée dans les eaux usées est tellement large qu'il ne peut exister des volumes d'échantillons et des normalités d'acide uniques. Il est conseillé d'utiliser un volume suffisamment important de titrant (20 ml ou plus dans une burette de 50 ml) afin d'obtenir de bonnes précisions volumétriques, tout en gardant un volume d'échantillon suffisamment petit pour permettre une bonne précision du point d'équivalence. Pour des échantillons dont l'alcalinité est inférieure à 1000 mg CaCO_3 /l, choisir un volume qui contient moins de 50 mg CaCO_3 /l puis titrer avec une solution d'acide sulfurique 0,02N. Pour des alcalinités supérieures à 1000 mg CaCO_3 /l, choisir un volume d'échantillon dont l'alcalinité est inférieure à 250 mg CaCO_3 et titrer avec une solution H_2SO_4 0,1N.

4.02 Préparation des solutions acides

4.021 Préparation de la solution d'acide sulfurique 0,1N

Utiliser une solution acide dont la normalité est approximativement 0,1N. Ajouter 40,00 ml d'une solution de Na_2CO_3 0,05N avec 60 ml d'eau dans un mélangeur puis titrer

potentiométriquement avec la solution acide jusqu'à un pH d'environ 5. Retirer l'électrode et bien la rincer. Faire ensuite bouillir pendant 3 à 5 minutes la solution couverte d'un verre de montre, sous une hotte. Enfin, refroidir à température ambiante, rincer le verre de montre puis finir la titrage jusqu'au point d'inflexion du pH. La normalité se calcule selon:

$$\text{Normalité (N)} = A \cdot B / (53,00 \cdot C)$$

où

A : masse de Na_2CO_3 pesée dans le ballon de 1 litre (g)

B : volume de la solution de Na_2CO_3 prélevé pour le titrage (ml)

C : volume d'acide ajouté (ml)

Utiliser la normalité mesurée (1 ml de solution 0,1000N = 5,00 mg CaCO_3)

4.022 Préparation de la solution d'acide sulfurique 0,02N

Diluer 200 ml de la solution mère 0,1000N avec de l'eau déionisée. Effectuer un standard en titrant 15 ml de la solution Na_2CO_3 0,05N selon la méthode précédente.

4.03 Dosage

1-Rinser les électrodes et la vaisselle avec de l'eau distillée et égoutter. Choisir la taille des échantillons et la normalité de l'acide titrant selon le critère mentionné ci-dessus. L'échantillon doit être, avant dosage, à température ambiante.

2- Verser l'acide sulfurique dans la burette jusqu'au trait de jauge 0 ml

3- Mesurer le pH de l'échantillon. Ajouter la solution d'acide par volume de 0,5 ml ou moins, de telle manière à ce que la variation de pH ne dépasse pas 0,2 unité. Après chaque ajout, mélanger doucement avec un agitateur magnétique. Éviter les

éclaboussures. Enregistrer le pH quand la lecture est stable. Continuer à ajouter la solution acide et mesurer le pH jusqu'à atteindre un pH de 3.

4- Tracer la courbe du pH lu en fonction du volume d'acide ajouté. Une courbe avec un point d'inflexion ou plus doit être obtenue. Une courbe erronée (sans point d'inflexion) signifie que l'équilibre n'était pas atteint entre deux ajouts d'acide successifs.

5.00 Calculs

La courbe $\text{pH} = f(V_{\text{H}_2\text{SO}_4})$ permet de déterminer le point d'équivalence par la méthode des moments. Il est alors possible de connaître le volume d'acide ajouté pour atteindre ce point d'équivalence (V_{eq}).

L'alcalinité se calcule à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Alcalinité (mg CaCO}_3\text{/l)} = V_{\text{eq}} * N * 50000 / B$$

où N : normalité de l'acide

B : volume de l'échantillon en ml

V_{eq} est exprimé en ml

ou

$$\text{Alcalinité (mg CaCO}_3\text{/l)} = V_{\text{eq}} * t * 1000 / B$$

t : titre de la solution acide (mg CaCO_3 /ml)

6.00 Limites de la méthode

Quand l'alcalinité est comprise entre 10 et 500 mg/l et qu'elle est due entièrement aux carbonates et au bicarbonate, un écart de 1 mg CaCO_3/l peut être attendu. Quarante analystes dans 17 laboratoires ont analysé des échantillons synthétiques contenant l'équivalent de 120 mg CaCO_3/l en alcalinité. L'écart, par titration potentiométrique, était de 5 mg CaCO_3/l .

Quatre laboratoires ont également analysé six échantillons contenant des alcalinités totales de 1000 mg CaCO_3/l et contenant différents rapports carbonate/bicarbonate. La déviation était de 40 mg CaCO_3/l .

7.00 Interférences

Les savons, les matières grasses, les solides en suspension et les précipités peuvent recouvrir l'électrode de verre et causer une réponse erronée. Il doit y avoir un temps d'environ 30 secondes entre les additions de titrant afin de permettre à l'équilibre de s'établir entre l'électrode et le milieu. L'électrode doit être lavée occasionnellement. Quant à l'échantillon, il ne doit pas être filtré, dilué, ni concentré.

8.00 Références

1 - Pohland, F.G. & D.E. Bloodgood, 1963. Laboratory studies on mesophilic and thermophilic anaerobic sludge digestion. *J. Water Pollu. Control Fed.* **35** :11.

2 – S.M. 1995 2320 Alkalinity, Physical & Aggregate properties

ANNEXE K

**Détermination de la quantité de micro-organismes à
partir du modèle cinétique de biodégradation**

En appelant X la densité de cellules nitrifiantes et S la concentration du substrat, il est possible de relier dS/dt avec X . En effet, le taux d'utilisation du substrat (NO_2^- ou NO_3^-) s'écrit :

$$r_{SU} = dS/dt = - \mu_{\max} * X * S / [Y * (K_S + S)] \quad (1)$$

où Y est la quantité de biomasse nitrifiante maximale produite par gramme de substrat consommé, $\mu_{\max}$ le taux de croissance maximal de bactéries nitrifiante (j^{-1}) et K_S la constante de demi-saturation (mol/l).

Le taux maximal d'utilisation du substrat s'écrit :

$$k = \mu_{\max}/Y.$$

Ainsi, l'équation (1) s'écrit :

$$dS/dt = - k * X * S / (K_S + S)$$

soit

$$dS/dz = - k * X * S * (dt/dz) / (K_S + S)$$

dt/dz est l'inverse de la vitesse superficielle du lixiviat et par conséquent peut être déterminé expérimentalement. K_S peut être approximée à l'aide de tables, dS/dz se mesure de même que S . k est le paramètre le plus difficile à déterminer et n'existe dans la littérature que pour des cultures pures. Pour approximer la biomasse nitrifiante à chaque étage de la colonne, nous utiliserons le tableau suivant, valable pour une culture pure (Schmidt et Belser):

Culture	Activité par cellule (*)
Oxydants d'ammonium	
<i>Nitrosomonas europea</i> ATCC	0.011
<i>Nitrosomonas sp</i>	0.023
<i>Nitrospira briensis</i>	0.004
<i>Nitrosolobus multiformis</i>	0.023
Oxydants des nitrites	
<i>Nitrobacter winogradskyi</i>	0.0012
<i>Nitrobacter agilis</i>	0.009

(*) picomoles par cellule et par heure

Ainsi, il est possible de comparer la biomasse nitrifiante avec celle estimée par la méthode du NPP.