



**Université de Constantine 3**  
**Faculté de Génie des Procédés**  
**Département de Génie de l'Environnement**

**DENITRIFICATION BIOLOGIQUE**  
**DES EAUX**

THESE

Présentée pour l'Obtention du  
Diplôme de Doctorat Troisième Cycle  
en Génie de L'Environnement

Par

**Meriem BOUTERAA**

**Année Universitaire**  
**2022-2023**





**Université de Constantine 3**  
**Faculté de Génie des Procédés**  
**Département de Génie de l'Environnement**

N° de Série :

N° d'Ordre :

**DENITRIFICATION BIOLOGIQUE**  
**DES EAUX**

**THESE**

Présentée pour l'Obtention du  
Diplôme de Doctorat Troisième Cycle  
en Génie de l'Environnement

Par

**Meriem BOUTERAA**

**Devant le Jury composé de :**

Slimane Merouani	Président	Professeur	Université Salah Boubnider Constantine 03
Zamouche –Zerdazi Rania	Rapporteur	MCA	Université Salah Boubnider Constantine 03
Zazoua Ali	Examineur	Professeur	Université Mohammed Seddik Ben Yahia, Jijel
Derbal Kerroum	Examineur	Professeur	École nationale polytechnique de Constantine
Aouti Mohamed ELkhalil	Examineur	MCA	Ecole Normale Supérieure Assia Djebbar de Constantine
Gherbi Naima	Examineur	MCA	Université Salah Boubnider Constantine 03
Meniai AbdsalemHacène	Invité	Professeur	Université Salah Boubnider Constantine 03

**Année Universitaire**  
**2022-2023**



## **Remerciements**

*Ce travail de thèse a été réalisé au sein du Laboratoire de l'Ingénierie et des Procédés de l'Environnement (LIPE), Faculté Génie des Procédés, Université Salah Bounider Constantine 3 (Algérie) sous la direction du Professeur Mossaab Bencheikh lehocine et Dr Zamouche-Zerdazi Rania.*

*C'est l'aboutissement de plusieurs années de recherche, et je n'aurais pu le réaliser sans l'aide de nombreuses personnes qui m'ont prodigué beaucoup de conseils, de soutien et d'encouragement.*

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde reconnaissance et tous mes remerciements à mon encadreur Professeur **MOSSAAB BENCHEIKH LEHOCINE**, de m'avoir accepté comme chercheur au sein de son équipe, Il m'a permis de bénéficier de sa sagesse, de sa rigueur et de son intégrité scientifique, un grand merci du fond de mon cœur.*

*Et mon Co-encadreur de thèse Dr. **ZAMOUCHE-ZERDAZI RANIA**, pour la confiance qu'elle m'a témoigné en acceptant de participer à la direction scientifique de mes travaux. Je suis très reconnaissante de me permettre de bénéficier tout au long de ce travail de sa grande compétence, de sa rigueur intellectuelle, de son dynamisme, et de son efficacité que je n'oublierai jamais, et je n'oublie pas ses conseils, son soutien et ses encouragements pendant la réalisation de ce travail, surtout quand j'en avais besoin aux moments très difficiles. C'était un très grand plaisir de travailler sous sa direction.*

*J'exprime mes remerciements les plus sincères à l'ensemble des membres du jury en acceptant d'examiner mon travail de thèse.*

*J'ai une pensée pleine de reconnaissance au **Dr BAHITA Mohamed**, enseignant à l'université Constantine 3, Faculté Génie des Procédés, pour son aide qui m'a permis à réussir une partie de ma thèse, je le remercie pour sa valeur scientifique et ses qualités humaines.*

*J'adresse également mes remerciements au Professeur **ANTONIO PANICO** à l'Université de Campanie L. Vanvitelli, Roma. Italie. Département d'ingénierie. Pour son accueil aimable au sein de son laboratoire, je lui remercie pour son aide qui m'a permis pendant les six mois de*

*travaille avec lui, de profiter de sa gentillesse et son appui, ses recommandations et sa coopération.*

*Mes remerciements iront aux équipes des deux stations d'épuration locales **IBN ZIAD**, Constantine et **CHELGHOU M LAID**, Mila, pour leur accueil et leur disponibilité à tous les moments pendant les campagnes d'échantillonnage.*

*A la fin, Je tiens à remercier tous les ingénieurs et les techniciens de la Faculté de Génie des Procédés.*

## ***Dédicaces***

*Je tiens à exprimer mes chaleureux remerciements à mon Dieu qui m'a donné le courage, la patience, la force et la confiance en soi pour compléter ce travail.*

*A titre plus personnel, à celui qui nous a laissé avec son corps, mais son âme flotte toujours dans le ciel de ma vie, à **mon cher père**, que dieu ait pitié de toi.*

*Je remercie chaleureusement **ma mère**, pour sa grande patience, ses encouragements et la confiance en moi. Je tiens à la remercier surtout pour son soutien moral ininterrompu et ses nombreux conseils durant toutes ces années d'étude, je remercie **mes sœurs** Nabila, Linda, Asma et **mon frère** Boubaker pour leurs soutiens qui m'a été bien utile durant la réalisation de ma thèse.*

*Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont encouragé et conseillé durant la réalisation de ma thèse, mes collègues et mes chères amies : Samira, Amel, Wafa, Leila, Fatima, Imen, et Soussou.*

# Tables de Matières

<b>Tables de Matières</b> .....	ix
<b>Liste des figures</b> .....	xiii
<b>Liste des Tableaux</b> .....	xvi
<b>Nomenclature</b> .....	xvii
<b>Résumé</b> .....	xx
<b>Introduction Générale</b> .....	1
<b>Chapitre I Recherche bibliographique sur la dénitrification</b> .....	4
1.1 Introduction .....	4
1.2 Cycle de l'azote .....	4
1.3 Nitrates .....	6
1.3.1 Sources de nitrate .....	6
1.3.2 Mécanismes de pollution de l'eau .....	7
1.3.3 Les effets de la pollution des eaux par les nitrates .....	7
1.4 Procédés d'élimination des nitrates des eaux .....	10
1.4.1 Méthodes physico-chimiques .....	10
1.4.2 Traitements biologiques .....	15
1.4.3 Comparaison entre les différents procédés d'élimination des nitrates des eaux .....	15
1.5 Réduction biologique des nitrates .....	16
1.5.1 Réduction assimilatrice .....	17
1.5.2 Nitrammonification .....	18
1.5.3 Dénitrification (Réduction dissimilatrice en azote moléculaire) .....	18
1.6 Facteurs influençant la dénitrification .....	21
1.6.1 La température .....	21
1.6.2 Le pH .....	21
1.6.3 La dureté et l'alcalinité .....	22
1.6.4 L'oxygène .....	22
1.6.5 La nature de la source de carbone .....	23
1.7 Les procédés biologiques d'élimination des nitrates .....	23
1.7.1 Les lits fixes (biofiltres) .....	24
1.7.2 Réacteurs à lit mobile .....	25
<b>Chapitre II Moving Bed Biofilm Reactor et le traitement des eaux</b> .....	27
2.1 Introduction .....	27
2.2 Types et caractéristiques des bioporteurs .....	28



2.2.1 Bioporteurs actuels en application à grande échelle.....	28
2.2.2 Diminution de la période de démarrage grâce aux modifications de la surface porteuse.....	32
2.3 Développement de biofilms et rôle des substances polymères extracellulaires .....	34
2.3.1 Développement de biofilm .....	34
2.3.2 Les substances polymères extracellulaires (EPS).....	36
2.4 Considération opérationnel du réacteur.....	38
2.4.1 Taux de remplissage ( $V_S/V_R$ ) ou fraction de remplissage (%) .....	38
2.4.2 Hydrodynamique .....	39
2.4.3 Oxygène dissous (OD) .....	40
2.4.4 Conditions d'écoulement et de mélange .....	41
2.4.5 Observation microscopique du biofilm .....	41
2.5 Les domaines d'utilisation des systèmes MBBR .....	42
2.5.1 Élimination de la charge carbonée.....	42
2.5.2 Gestion de l'azote.....	43
2.6 Conclusions .....	47
<b>Chapitre III Montages, Méthodes d'analyse et Etude hydrodynamique.....</b>	<b>48</b>
3.1 Introduction .....	48
<b>Partie I : Montages et Méthodes d'analyse.....</b>	<b>48</b>
3.2 Les différents montages expérimentaux utilisés.....	49
3.3 Le choix des substrats synthétiques.....	51
3.3.1 Le choix des sources de carbone et d'azote.....	51
3.3.2 Le choix de rapport DCO/N-NO <sub>3</sub> .....	53
3.4 Les inoculas .....	54
3.5 Fixation du rapport $S_0/X_0$ .....	56
3.6 La température.....	56
3.7 Le choix des supports .....	57
<b>Partie II : Etude hydrodynamique dans le réacteur MBBR .....</b>	<b>58</b>
3.8 Principe.....	59
3.8.1 Les principes fonctions de distribution, la distribution des temps de séjours .....	60
3.8.2 Test de traceur .....	61
3.8.3 Le choix du traceur.....	61
3.8.4 Distribution des temps de séjour : détermination expérimentale.....	62
3.8.5 Distribution des temps de séjours dans les réacteurs idéaux (fluide incompressible).....	63
3.8.6 Diagnostics de fonctionnement d'un réacteur .....	64

3.9 Matériaux et méthodes expérimentales .....	66
3.9.1 Montage expérimental .....	66
3.9.2 Méthodes analytiques .....	67
3.10 Résultats et discussions .....	68
3.10.1 Effet de la vitesse d'agitation .....	69
3.10.2 Effet de la quantité de support .....	73
3.10.3 Effet du débit d'alimentation .....	75
3.11 Conclusion .....	78
<b>Chapitre VI      Résultats expérimentaux et interprétations .....</b>	<b>79</b>
4.1 Introduction .....	79
<b>Parie I      Etude préliminaire dans un réacteur batch .....</b>	<b>79</b>
4.2 Méthode expérimentale .....	79
4.3 Résultats et discussions .....	79
4.3.1 Effet de la température sur la dénitrification .....	79
4.3.2 Effet du rapport $S_0/X_0$ sur la dénitrification .....	82
4.3.3 Effet de pH sur la dénitrification .....	84
<b>Parie II      Etude de dénitrification dans un réacteur MBBR .....</b>	<b>87</b>
4.4 Le Réacteur MBBR .....	87
4.5 Paramètres de démarrage et fonctionnement du MBBR .....	88
4.6 Résultats et discussions .....	89
4.6.1 Étape de démarrage .....	89
4.6.2 Première étape d'optimisation .....	91
4.6.3 Deuxième étape d'optimisation .....	92
4.6.4 Filtre à charbon actif granulaire .....	94
4.7 Conclusions .....	95
<b>Chapitre V .....</b>	<b>96</b>
<b>Résultats expérimentaux : Estimation des constantes cinétiques et modélisations .....</b>	<b>96</b>
5.1 Introduction .....	96
5.2 Les méthodes respirométriques .....	96
5.2.1 Base de l'analyse respirométrique du comportement des boues activées en condition anoxique .....	97
5.3 Modèle cinétique du biofilm dans un MBBR .....	100
5.4 Estimation expérimentale des constantes cinétiques et stœchiométriques par la méthode respirométrique en condition anoxique .....	102
5.5 Matériels et méthodes expérimentales .....	106

5.5.1 Échelle pilote MBBR .....	106
5.5.2 Evolution de la formation du biofilm dans le MBBR .....	107
5.5.3 Respirométrie technique pulse .....	108
5.6 Résultats et discussions .....	110
5.6.1 Fonctionnement du réacteur MBBR.....	110
5.6.2 Estimation des paramètres.....	112
5.7 Réponses du MBBR aux différentes conditions d'alimentation .....	118
5.7.1 Détermination du temps de rétention hydraulique optimal (HRT).....	120
5.7.2 Effet de DCO/N-NO <sub>3</sub> .....	121
5.7.3 Effet du N-NO <sub>2</sub> dans la dénitrification .....	124
5.7.4 Dégradation de l'influent pour différentes concentrations de nitrate.....	125
5.7.5 Estimation de la contribution de la biomasse attachée à l'élimination des nitrates .....	127
5.8 Validation du modèle .....	128
5.9 Conclusion.....	135
<b>Conclusion générale</b> .....	137
<b>Références</b> .....	140
<b>Annexe A: Les courbes d'étalonnages</b> .....	160
<b>Annexe B : Exemple des calculs établis dans l'étude hydrodynamique</b> .....	162
<b>Annexe C : Résultats de la modélisation</b> .....	163
<b>Annexe D: Calcul de l'Ecart type</b> .....	168
<b>Annexe E : Production scientifique</b> .....	169

## Liste des figures

Figure	Page
1.1 Le cycle de l'azote .....	5
1.2 Effets sanitaires des nitrates .....	9
1.3 Phénomènes d'eutrophisation (a : algues au fond des cours d'eau, b : végétaux supérieurs, c : marée verte et d : asphyxie des poissons) .....	10
1.4 Mécanisme de réaction d'échange d'ions pour une résine spécifique anionique.....	11
1.5 Schémas représentatifs de l'osmose inverse pour l'élimination des sels dissous .....	12
1.6 Schéma représentatif de l'électrodialyse pour la potabilisation de l'eau .....	13
1.7 Schéma représentatif des processus de séparation utilisés dans la potabilisation de l'eau .....	14
1.8 Voies de réduction des nitrates .....	17
2.1 Fonctionnement des variantes du procédé MBBR. (a) Réacteur aérobie, (b) Réacteur anaérobie-anoxique.....	31
2.2 Étapes de la formation et de la dispersion d'un biofilm bactérien.....	35
2.3 Biofilm établi dans différents supports MBBR. (a) Biofilm sur Anox Kaldnes K1. (b) Biofilm sur AnoxKaldnes BiofilmChip P. (c) Biofilm sur Anox Kaldnes K5. (d) Biofilm sur AnoxKaldnes Z-400.....	36
2.4 Illustration simplifiée du mécanisme de transport dans les systèmes de biofilm .....	38
2.5 Quatre applications différentes de la technologie MBBR pour l'élimination du carbone.....	43
2.6 Diagrammes de flux de processus MBBR typiques pour la nitrification uniquement (A et B) et nitrification –dénitrification (C, D, E, F et G).....	47
3.1 Les différents appareillages utilisés. ....	49
3.2 Montage expérimentale utilisé dans les études en batch.....	50
3.3 Montages expérimentaux utilisés dans les études de fonctionnement en mode continue.....	50
3.4 Photos des montages utilisés des MBBR avec différents supports.....	51
3.5 Photos des deux supports utilisés dans les études expérimentales (A : Gravier, B : Kaldnes k1) .....	57
3.6 Evolution de la concentration des nitrates et de l'oxygène dissous dans les tests préliminaires utilisant le gravier comme support.....	58
3.7 Courbes d'entrée et de sortie après injection d'impulsion.....	63
3.8 Courbes d'entrée et de sortie après injection d'échelon.....	63
3.9 Existence d'un volume mort.....	65
3.10 Existence d'un court-circuit.....	66
3.11 Schématisation du réacteur MBBR considéré dans les mesures DTS.....	67
3.12 Configuration expérimentale pour la mesure DTS.....	67
3.13 Évolution temporelle de $c(t)$ , $E(t)$ , $tE(t)$ et $(t - \tau_s)^2 E(t)$ (débit d'alimentation : 0,816 L. h <sup>-1</sup> , quantité de support :165,2g, vitesse d'agitation : 100 rpm).....	69
3.14 Les différentes distributions du temps de séjour pour les différentes vitesses d'agitation (Débit d'alimentation : 0,816 L h <sup>-1</sup> , Quantité de support : 165,2g).....	72

3.15	Évolution de $(t - \tau_s)^2 E(t)$ en fonction du temps pour le calcul de la variance pour les différentes vitesses d'agitation (Débit d'alimentation : 0,816 L. h <sup>-1</sup> , Quantité de support : 165,2g). .....	72
3.16	Les différentes distributions du temps de séjour pour les différentes quantités de support (Débit d'alimentation : 0,816 L. h <sup>-1</sup> , Vitesse d'agitation : 100 rpm).....	74
3.17	Évolution de $(t - \tau_s)^2 E(t)$ en fonction du temps pour le calcul de la variance pour les différentes quantités de support (Débit d'alimentation : 0,816 L. h <sup>-1</sup> , Vitesse d'agitation : 100 rpm) .....	75
3.18	Les différentes distributions du temps de séjour pour les différents débits d'alimentation (Vitesse d'agitation : 100 tr / min, Quantité de support de 165,2 g). .....	77
3.19	Évolution de $(t - \tau_s)^2 E(t)$ en fonction du temps pour le calcul de la variance pour les différents débits d'alimentation (Vitesse d'agitation : 100 tr / min, Quantité de support de 165,2 g). .....	77
3.20	Comparaison entre le Temps de séjour $\tau$ et $\tau_s$ pour les différents débits d'alimentation (Vitesse d'agitation : 100 tr / min, Quantité de support de 165,2 g). .....	78
4.1	Effet des températures sur (a) la réduction des nitrates, (b) la formation des nitrites, (c) la réduction de la DCO, et (d) la croissance microbienne.....	81
4.2	Effet de variation du rapport $S_0/X_0$ sur (a) la réduction des nitrates, (b) la formation des nitrites, (c) la dégradation de la DCO.....	83
4.3	Les pourcentages de dégradation de la charge carbonée et des Nitrates en fonction du rapport $S_0/X_0$ .....	84
4.4	Evolution temporelle de la réduction des nitrates, la formation des nitrites et la dégradation de la charge carbonée (a) à pH : 5, (b) à pH : 7 et (c) à pH : 9.....	85
4.5	Accumulation maximale des nitrites lors de la dénitrification avec contrôle du pH. ....	86
4.6	Evolution temporelle des concentrations et efficacité d'élimination des a) N-NO <sub>3</sub> ; b) DCO et c) pH. (Phase de démarrage) .....	90
4.7	Evolution temporelle des concentrations et efficacité d'élimination des a) N-NO <sub>3</sub> ; b) DCO et c) pH. (1 <sup>ère</sup> étape) .....	92
4.8	Evolution temporelle des concentrations et efficacité d'élimination des a) N-NO <sub>3</sub> ; b) DCO et c) pH. (2 <sup>ème</sup> étape) .....	93
4.9	Concentration de la DCO dans l'influent et l'effluent après filtration sur charbon actif.....	94
5.1	Les mécanismes d'utilisation du substrat anoxique selon la vision du modèle ASM3, b) Les mécanismes proposés pour l'utilisation du substrat anoxique.....	100
5.2	Diagramme schématique des utilisations des nitrates et du substrat organique lors de la dénitrification par une culture fixe .....	101
5.3	Métabolisme hétérotrophe en condition anoxique.....	103
5.4	Kaldnes K1 (A) à son état initial, (B) Après formation du biofilm.....	107
5.5	Organigramme de mesure expérimentale des constantes biocinétiques par la technique respirométrie pulse en condition anoxique.....	109
5.6	Planification du programme expérimental.....	111

5.7	Évolutions temporelles enregistrées après une injection pulse du substrat binaire a) (nitrate et nitrite) et b) (DCO) au 26 <sup>ème</sup> jour. ....	113
5.8	Évolution temporelle de, a) nitrate et nitrite, b) DCO après une injection pulse au 47 <sup>ème</sup> jour. ....	116
5.9	Évolutions temporelles des nitrates et de la DCO obtenues après différentes injections pulses (différentes concentrations initiales de DCO et de nitrate). (Au 48 <sup>ème</sup> jours) .....	117
5.10	Représentation graphique pour l'estimation de la constante de demi-saturation $K_S$ ...	118
5.11	Pourcentage de Réduction des nitrates et Dégradation de la DCO à différents HRT, $DCO / N-NO_3 = 2.98$ et $N-NO_3 = 60 \text{ mg L}^{-1}$ . ....	121
5.12	Pourcentage de Réduction des nitrates et (b) dégradation de la DCO à différents rapport $DCO/N-NO_3$ , $HRT = 8 \text{ h}$ et $N-NO_3 = 60 \text{ mg L}^{-1}$ .....	123
5.13	Pourcentage de réduction des nitrates pour différentes concentrations de $N-NO_x$ dans Influent, $HRT = 8 \text{ h}$ et $N-NO_3 = 60 \text{ mg L}^{-1}$ . ....	124
5.14	Pourcentage d'élimination des nitrates à différentes concentrations initiales de nitrate $HRT = 8\text{h}$ et $DCO/N-NO_3 = 2.98$ . ....	126
5.15	Présentation morphologique des floccs microbiens dans la fraction de suspension du réacteur MBBR (Agrandissement $\times 20$ ). ....	127
5.16	Taux de réduction expérimentales et simulés du $NO_3^-$ , de la DCO et de la production de la biomasse (a, b et c) effet de la concentration initiale de $N-NO_3$ , (d, e et f) effet du HRT et (g, h et i) effet du rapport $DCO/N-NO_3$ . ....	133
5.17	Pourcentage de réduction de l'écart type à différents rapports $DCO/N-NO_3$ pour la concentration de la DCO de l'effluent. ....	135

## Liste des Tableaux

Tableau		Page
1.1	Les principaux avantages et inconvénients des différents procédés de dénitrification.....	16
1.2	Relations stœchiométriques de la dénitrification hétérotrophe avec divers substrats carbonés.....	19
1.3	Relations stœchiométriques de la dénitrification autotrophe avec divers donneurs d'électrons.....	20
1.4	Conditions de fonctionnement des réacteurs de croissance à lit fluidisé, MBBR, à lit fixe et en suspension. ....	26
2.1	Caractéristiques principales des porteurs AnoxKaldnes™ .....	30
2.2	Caractéristiques des supports plastiques commercialisés .....	32
3.1	Méthodes d'analyses et de mesures. ....	48
3.2	Composition du milieu de culture d'une eau usée (EU) .....	53
3.3	Composition du milieu de culture d'une eau brute (EB).....	53
3.4	Caractéristiques des inoculas prélevés au niveau des différentes STEP.....	55
3.5	Caractéristiques du support Kaldnes K1.....	57
3.6	Les avantages et inconvénients des différents traceurs.....	62
3.7	Les réacteurs idéaux.....	64
3.8	Résultats des DTS obtenus pour les différentes vitesses d'agitation.....	71
3.9	Résultats des DTS obtenus pour différentes quantités de support.....	74
3.10	Résultats des DTS obtenus pour différents débits d'alimentation.....	76
4.1	Conditions de fonctionnement du MBBR.....	88
5.1	Les rendements hétérotrophes $Y_{HD}$ et $Y_{NO}$ estimés après chaque injection pulse.....	114
5.2	Réponses du MBBR aux différentes conditions d'alimentation de l'influent.....	119
5.3	Réponses du MBBR aux différentes concentrations de nitrate fonctionnant en conditions optimales.....	125
5.4	Comparaison entre l'efficacité d'enlèvement des substrats par la biomasse fixée et la biomasse en suspension.....	128
5.5	Valeurs des $V_T$ , $V_{mort}$ , $V_{Effectif}$ et $\alpha$ dans les différentes conditions opératoires de dénitrification.....	129
5.6	Méthodes de détermination des paramètres selon la vision ASM1.....	130
5.7	Valeurs des paramètres utilisées pour le modèle de dénitrification par rapport à la littérature (NM=Non Mentionné).....	134

## Nomenclature

**DTS** : Distribution du temps de séjour

$\mu_n$  : Le moment d'ordre n

$\mu_1$  : Le moment d'ordre (1)

$\mu_0$  : Le moment d'ordre (0)

$\bar{\tau}_s$  : Temps de séjours hydraulique moyen (Min)

$\tau$  : Temps de séjours hydraulique dans le réacteur (Min)

$\sigma$  : L'écart-type

$\sigma_t^2$  : Variance de la distribution de temps de séjour

$\mu L/D$ : Nombre de dispersion (adimensionnel)

$\mu$  : Vitesse du fluide (cm/s)

**D** : Coefficient de dispersion axiale (cm<sup>2</sup>/s)

**N** : Nombre de réservoirs agités théoriques (adimensionnel)

**V<sub>m</sub>**: Volume mort (L)

**V<sub>T</sub>**: Volume total (L)

**ASMI**: Activated sludge modelling 1

**NUR**: Nitrate uptake rate (mg N L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>)

**OUR**: Oxygen uptake rate (mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>)

**S<sub>NO</sub>**: Concentration de azote-nitrate (mg N L<sup>-1</sup>)

**S<sub>S</sub>**: Substrat facilement biodégradable (mg DCO L<sup>-1</sup>)

**Y<sub>H</sub>**: Taux de conversion des hétérotrophes en condition aérée (mg DCO (mg DCO)<sup>-1</sup>)

**Y<sub>HD</sub>**: Taux de conversion des hétérotrophes en condition anoxie (mg DCO (mg DCO)<sup>-1</sup>)

**Y<sub>HD,S</sub>** : Coefficient de rendement anoxique pour la croissance sur S<sub>S</sub>

**μ<sub>HD</sub>**: Taux spécifique de croissance de la biomasse hétérotrophe (J<sup>-1</sup>)

$\widehat{\mu}_{HD}$  : Taux maximum de croissance (J<sup>-1</sup>)

**μ<sub>HD,S</sub>**: Taux de croissance maximal sur S<sub>S</sub> (J<sup>-1</sup>)



**TSS** : Matière en suspension totale ( $\text{mg L}^{-1}$ )

**$S_{NO_3(0)}$**  : Concentration initiale des nitrates en suspension ( $\text{mg L}^{-1}$ )

**$S_{NO_3}$**  : Concentration des nitrates à la sortie ( $\text{mg L}^{-1}$ )

**$S_{SN03}$**  : Concentration des nitrates à l'interface du biofilm liquide ( $\text{mg L}^{-1}$ )

**DCO** : Demande chimique en oxygène ( $\text{mg L}^{-1}$ )

**$b_{HD}$**  : Coefficient de dégradation endogène en condition anoxie ( $\text{J}^{-1}$ )

**$K_{N0}$**  : Constante de demi-saturation pour la dénitrification ( $\text{mg N L}^{-1}$ )

**$K_S$**  : Constante de demi-saturation pour la dénitrification de la biomasse hétérotrophe ( $\text{mg COD L}^{-1}$ )

**$k_{STO,D}$**  : Le taux de stockage maximal de la biomasse

**$\eta_{NO_x}$**  : Le facteur de réduction anoxique

**$X_{HD}$**  : Concentration de la biomasse hétérotrophe ( $\text{mg MVS L}^{-1}$ )

**$X_V$**  : Concentration de la biomasse active dans le réacteur ( $\text{mg VSS L}^{-1}$ ).

**$f_{cv}$**  : Facteur de conversion de la concentration de MVS d'une boue en DCO ( $\text{mg COD mg MVS}^{-1}$ ).

**$f_{av}$**  : Fraction de la biomasse MVS active dans le réacteur

**$f_{EX}$**  : Fraction de masse endogène transformée en produits inertes

**$V_{WW}$**  : Volume des eaux usées (L).

**$V_{ml}$**  : Volume de liqueur mélangée (à la concentration  $X_v$  ( $\text{mg MVS L}^{-1}$ ))

**SDNR** : Taux de dénitrification spécifique:  $dS_{NO}/dt/X_{BH}$  ( $\text{mg N-NO}_3/\text{mg MVS/d}$ )

**MVS** : Matière volatile en suspension ( $\text{mg L}^{-1}$ )

**$S_{b(0)}$**  : Concentration initiale de la DCO en suspension ( $\text{mg DCO L}^{-1}$ )

**$S_{b(S)}$**  : Concentration de la DCO en sortie ( $\text{mg DCO L}^{-1}$ )

**$S_S$**  : Concentration de la DCO au liquide et interface biofilm ( $\text{mg COD L}^{-1}$ )

**$k_{fNO_3}$**  : Coefficient de transfert du film liquide de nitrate ( $\text{cm J}^{-1}$ )

**$X_f$**  : Densité de la biomasse dénitrifiante

**$b_s$**  : Coefficient de perte de cisaillement du biofilm de la biomasse dénitrifiante ( $\text{J}^{-1}$ )

**$D_f$**  : Coefficient de diffusion ( $\text{cm}^2 \cdot \text{J}^{-1}$ )

**$\nu$**  : Viscosité cinématique de l'eau ( $\text{cm}^2 \cdot \text{J}^{-1}$ )

**bs:** Le coefficient de perte de cisaillement spécifique ( $J^{-1}$ )

**$X_f$ :** Densité de la biomasse nitrifiante

**$V_{Effec}$ :** Volume effectif(L)

**A:** Surface ( $cm^2$ )

**$\epsilon$ :** Porosité du réacteur (adimensionnelle)

**dp:** Diamètre de support (cm)

**$v_s$ :** Vitesse d'écoulement superficielle (cm/J)

**Re:** le nombre de Reynolds (adimensionnel)

**Sc:** le nombre de Schmidt (adimensionnel)

**$k_{fDCO}$ :** Coefficient de transfert de film liquide de DCO

**$L_f$ :** Epaisseur du biofilm dénitrifiant (L)

## Résumé

Une augmentation de la concentration des nitrates dans les eaux brutes à citer les eaux de surface et les eaux souterraines a des conséquences majeures sur la santé humaine et animale, notamment l'eutrophisation des cours d'eau et le risque de maladie du bébé bleu chez les jeunes nourrissons.

Différentes méthodes ont été utilisées pour éliminer les nitrates, soit par des méthodes physico-chimiques, notamment l'échange d'ions, l'osmose inverse et la nano filtration, ou des méthodes biologiques en utilisant des réacteurs à boues activées et à biofilm pour convertir les nitrates en azote neutre, le plus récemment utilisé des réacteurs à biofilm est le réacteur à biofilm à lit mobile (MBBR).

Pour atteindre les objectifs ciblés par cette recherche , l'étude a été devisé en trois parties, la première partie a été consacrée à l'étude de l'élimination des nitrates dans un réacteur batch, tout en soulignant les paramètres influençant la dénitrification ,en revanche la deuxième partie a été consacré au développement d'une méthodologie expérimentale pour un bon démarrage et une mise en œuvre adéquate d'un MBBR en conditions anoxiques pour la dénitrification des eaux brutes, cette chronologie a permis en même temps le contrôle du fonctionnement du MBBR par le suivi du taux de dégradation des hétérotrophes  $Y_{HD}$  ,la détermination des constantes cinétiques et stœchiométriques en utilisant la technique de respirométrie pulse avec une mise en œuvre spécifique et unique à ce type de conception .En in, la troisième partie a permis la validation des constantes cinétiques déterminées expérimentalement et la détermination d'autres constantes par calage au modèle proposé selon la vision ASM1. Le modèle mathématique proposé a permis de prédire les performances du réacteur à biofilm à lit fixe mobile à l'échelle pilote. Les approches du modèle et les expériences développées dans cette étude pourraient être appliquées à la conception d'un procédé de traitement à lit fixe mobile à grande échelle pour éliminer simultanément l'azote et le carbone dans les usines de traitement de l'eau et des eaux usées de petite ou moyenne taille existantes.

**Mots clés :** Dénitrification, Réacteur Batch, MBBR, Respirométrie pulse, ASM1, Modélisation

## Abstract

An increase in the concentration of nitrates in raw water, including surface water and groundwater, has major consequences for human and animal health, in particular the eutrophication of watercourses and the risk of baby blue disease in young infants.

Different methods have been used to remove nitrates, either by physico-chemical methods including ion exchange, reverse osmosis and nanofiltration, or biological methods using activated sludge and biofilm reactors to convert the nitrates into neutral nitrogen, the most recently used biofilm reactor is the moving bed biofilm reactor (MBBR).

To achieve the objectives targeted by this research, the study was divided into three parts, the first part was devoted to nitrates's elimination study in a batch reactor, while emphasizing the parameters influencing denitrification, in on the other hand, the second part was devoted to the development of an experimental methodology for a good start and an adequate implementation of an MBBR in anoxic conditions for the denitrification of raw water, this chronology allowed at the same time the control of the operation of the MBBR by monitoring the rate of degradation of the  $Y_{HD}$  heterotrophs, the determination of the kinetic and stoichiometric constants using the pulse respirometry technique with a specific implementation unique to this type of design .At the end, the third part allowed the validation of the kinetic constants determined experimentally and the determination of other constants by calibration to the model proposed according to the ASM1 vision. The proposed mathematical model allowed to predict the performance of the moving fixed bed biofilm reactor at the pilot scale. The model approaches and experiments developed in this study could be applied to the design of a large scale moving fixed bed treatment process to simultaneously remove nitrogen and carbon in water and waste treatment plants. existing small or medium-sized wastewater.

**Keywords:** Denitrification, Batch reactor, MBBR, Pulse respirometry, ASM1, Modeling

## ملخص

تؤدي زيادة تركيز النترات في المياه الخام، بما في ذلك المياه السطحية والجوفية، إلى عواقب وخيمة على صحة الإنسان والحيوان، ولاسيما إغناء المجاري المائية بالمغذيات وخطر الإصابة بالأمراض الزرقاء عند الرضع.

تم استخدام طرق مختلفة لإزالة النترات، إما بالطرق الفيزيائية والكيميائية بما في ذلك التبادل الأيوني، والتناضح العكسي والترشيح النانوي، أو الطرق البيولوجية باستخدام الحمأة المنشطة ومفاعلات الأغشية الحيوية لتحويل النترات إلى نيتروجين محاييد، وكان أحدث مفاعل بيوفيلم مستخدم هو الحركة مفاعل بيوفيلم السرير MBBR .

لتحقيق الأهداف التي يستهدفها هذا البحث، قسمت الدراسة إلى ثلاثة أجزاء، خصص الجزء الأول لدراسة التخلص من النترات في المفاعل الدفعي، مع التأكيد على العوامل المؤثرة على نزع النترات، ومن ناحية أخرى، تم تخصيص الجزء الثاني لتطوير منهجية تجريبية لبداية جيدة وتنفيذ مناسب لـ MBBR في ظروف نقص الأكسجين لنزع النترات من المياه الخام. سمح هذا التسلسل الزمني في نفس الوقت بالتحكم في تشغيل MBBR من خلال مراقبة معدل تدهور  $Y_{HD}$  غير المتجانسة، وتحديد الثوابت الحركية والقياسية المتكافئة باستخدام تقنية قياس التنفس النبضي مع تنفيذ محدد فريد لهذا النوع من التصميم. في النهاية، سمح الجزء الثالث بالتحقق من الثوابت الحركية المحددة تجريبياً وتحديد الثوابت الأخرى بمعايرة النموذج المقترح وفقاً لرؤية ASM1. سمح النموذج الرياضي المقترح بالتنبؤ بأداء مفاعل الأغشية الحيوية ذو الطبقة الثابتة المتحرك على نطاق تجريبي. يمكن تطبيق الأساليب والتجارب النموذجية التي تم تطويرها في هذه الدراسة على تصميم عملية معالجة سرير ثابت متحرك على نطاق واسع لإزالة النترات والكربون في نفس الوقت في محطات معالجة المياه و مياه الصرف الصحي الموجودة صغيرة أو متوسطة الحجم.

**الكلمات الرئيسية:** نزع النترات ، مفاعل الدُفعات ، MBBR ، قياس التنفس النبضي ، ASM1 ، النمذجة



## **Introduction Générale**

L'eau est un besoin essentiel et l'accès à une eau d'excellente qualité nécessite notre engagement à la conserver. La contamination de l'eau est causée par diverses activités humaines. La multiplicité des pollutions nécessite une solution pour les secteurs industriels et agricoles, ainsi que les activités humaines quotidiennes, pour faire face à ces différents types de polluants, qui peuvent avoir des implications sanitaires, environnementales, industrielles ou agricoles.

L'utilisation excessive d'engrais azotés et l'irrigation à long terme, qui ont toutes deux eu lieu au siècle dernier, contribuent à un transfert considérable des nitrates vers les eaux souterraines. Les niveaux élevés de nitrates dans les eaux souterraines posent un problème sanitaire et environnemental. En effet, La consommation d'eau chargée de nitrates peut entraîner une méthémoglobinémie chez les jeunes enfants (syndrome du bébé bleu) et augmenter le risque de certains cancers. Les nitrates dans les eaux brutes peuvent également être transportés vers d'autres parties du cycle hydrologique, y compris les masses d'eau libres. En milieu marin (zones côtières et estuaires), le nitrate est un facteur limitant de l'eutrophisation. L'eutrophisation des masses d'eau entraîne la détérioration des écosystèmes aquatiques avec notamment l'apparition d'efflorescences algales, une augmentation de la turbidité et une diminution de la biodiversité.

Pour se prémunir de la dangerosité des nitrates, la directive cadre sur l'eau (2000) a établi des règles pour mettre fin à la détérioration de l'état des masses d'eau avec comme objectif l'atteinte du bon état des masses d'eau pour 2015. Dans ce contexte, la directive sur la protection des eaux souterraines contre la pollution et la détérioration (2006) impose le seuil à ne pas dépasser pour considérer les masses d'eau souterraines en bon état à  $50 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ . Cette valeur est également la limite de potabilité de l'eau. En outre, la directive nitrate encadre les pratiques agricoles afin de limiter la contamination des eaux par les nitrates. Au niveau mondial, l'organisation mondiale pour la santé (OMS) recommande une teneur en nitrates maximale de  $50 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$  dans l'eau destinée à la consommation (World Health Organization, 2004). Aussi l'Algérie (JORA, 2006), a également opté pour cette limite ( $50 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{L}^{-1}$ ) comme teneur maximale en nitrates dans l'eau destinée à la consommation humaine.

Des recherches sont menées sur l'élimination des nitrates des ressources en eau, tandis que l'approche la plus prometteuse à l'étude est la dénitrification biologique. La dénitrification biologique est considérée comme la stratégie la plus économique parmi les autres techniques conventionnelles telles que la physico-chimie. La dénitrification est le processus respiratoire dans lequel les microorganismes utilisent des nitrates ou des nitrites comme accepteurs d'électrons terminaux, tandis que la réduction des nitrates de l'eau contaminée en azote gazeux peut se produire. Dans la dénitrification hétérotrophe, les composés de carbone organique peuvent être utilisés par les dénitrificateurs comme source de carbone biosynthétique et d'électrons. Les dénitrificateurs autotrophes utilisent des composés inorganiques réduits, tels que le soufre, le fer et l'hydrogène comme sources d'électrons et le carbone inorganique pour la biosynthèse.

L'objectif de ce travail est de réaliser expérimentalement la dénitrification biologique des eaux dans des dispositifs simples émanant de deux montages à l'échelle du laboratoire : le premier est un réacteur batch et le second un réacteur à biofilm à lit mobile (MBBR) emballé avec un support Kaldnes K1.

Pour mener bien cette étude, il était important de modéliser la dénitrification dans le réacteur MBBR en utilisant les modèles de boues activées de la famille de l'ASM (activated sludge models) de l'IWA (association internationale de l'eau) adaptés au type de substrat utilisé et tout en considérant la diffusion moléculaire dans le biofilm microbien développé sur les différents supports utilisés dans ce type de conception.

La modélisation du système sera précédée par une étude hydrodynamique permettant d'identifier le fonctionnement de ce type de réacteur et la détection des zones mortes ou des courts circuits.

Ce manuscrit est réparti en cinq chapitres en plus d'une introduction et une conclusion générale.

**Le premier chapitre :** débute par une contextualisation de la problématique afin de mettre l'accent sur la problématique et les hypothèses de recherche, ainsi que sur les visées et la singularité de cette recherche tout en présentant une revue bibliographique sur la dénitrification.



**Le deuxième chapitre :** a regroupé une analyse bibliographique approfondie autour du réacteur à lit mobile (MBBR) et son application dans le traitement biologique et plus particulièrement dans la dénitrification des eaux.

**Le troisième chapitre :** regroupe dans sa première partie l'investigation expérimentale, en présentant les méthodes d'analyses, l'appareillage utilisé, les différents montages mis en place et dans sa seconde partie, les résultats de l'étude hydrodynamique réalisée pour une meilleure compréhension du fonctionnement du bioréacteur à différentes conditions opératoires à citer la vitesse d'agitation, la quantité de support et les débits d'alimentation.

**Le quatrième chapitre :** est consacré aux résultats de la mise en œuvre expérimentale de deux réacteurs MBBR fonctionnant en mode batch et continu et en utilisant différents supports et différents inocula, permettant principalement de se fixer sur les différents paramètres influençant l'efficacité de la dénitrification hétérotrophe.

**Le cinquième chapitre:** est consacré dans sa première partie à la détermination expérimentale des constantes biocinétiques et stœchiométriques en utilisant la respirométrie pulse avec une application unique et spécifique adaptée à ce mode de conception et dans sa seconde partie à la modélisation et la validation du modèle considéré tout en introduisant les simplifications considérées.

## **Chapitre I Recherche bibliographique sur la dénitrification**

### **1.1 Introduction**

L'eau est d'une importance fondamentale pour la vie car le mécanisme du métabolisme et de la synthèse est en relation étroite avec les caractéristiques spécifiques de l'eau. Le transport de nutriments à l'intérieur des cellules et les interactions avec l'environnement sans eau sont impossibles. D'autre part, les ressources en eau sont limitées et seulement 2.66% des ressources en eau mondiales totales comprenant les eaux souterraines, les lacs et les rivières, la glace polaire et les glaciers sont de l'eau douce. De plus, seule une petite fraction de l'eau douce, environ 0.6%, est utilisable comme eau potable. Pour cette raison, les ressources en eau doivent être nécessairement traitées correctement et le traitement des eaux usées doit être fait de manière efficace [1]. Le mouvement rapide des humains vers l'urbanisation, l'industrialisation et les activités agricoles a introduit divers contaminants dans l'environnement.

Les composés azotés sont des exemples de contaminants qui peuvent créer de graves problèmes lorsqu'ils sont rejetés dans l'environnement, comme l'eutrophisation des rivières [2], la détérioration de la qualité de l'eau et les risques pour la santé humaine ou animale. Le nitrate est l'un de ces composés, bien qu'il ne constitue pas une menace pour la santé humaine ou animale en soi. Il est potentiellement converti en nitrite dans le tractus gastro-intestinal ou en azote nitreux par réduction [2]. Jusqu'à présent, des recherches sont menées sur l'élimination des nitrates des ressources en eau, des bassins d'aquaculture ou des aquariums et des eaux usées industrielles.

Ce premier chapitre récapitulera les principales caractéristiques physico-chimiques et biologiques ainsi que l'origine des anions nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) et leurs effets sur la santé de l'homme, et la présence dans l'environnement, tout en citant les différentes méthodes de réduction des nitrates.

### **1.2 Cycle de l'azote**

L'azote est présent à 78% sous sa forme moléculaire diatomique  $\text{N}_2$  qui est un gaz très peu réactif et presque inerte, c'est un élément chimique abondant dans l'atmosphère terrestre, le cycle de l'azote (**Figure 1.1**) fait intervenir des réactions de fixation, d'assimilation, d'ammonification, de nitrification et de dénitrification[3].

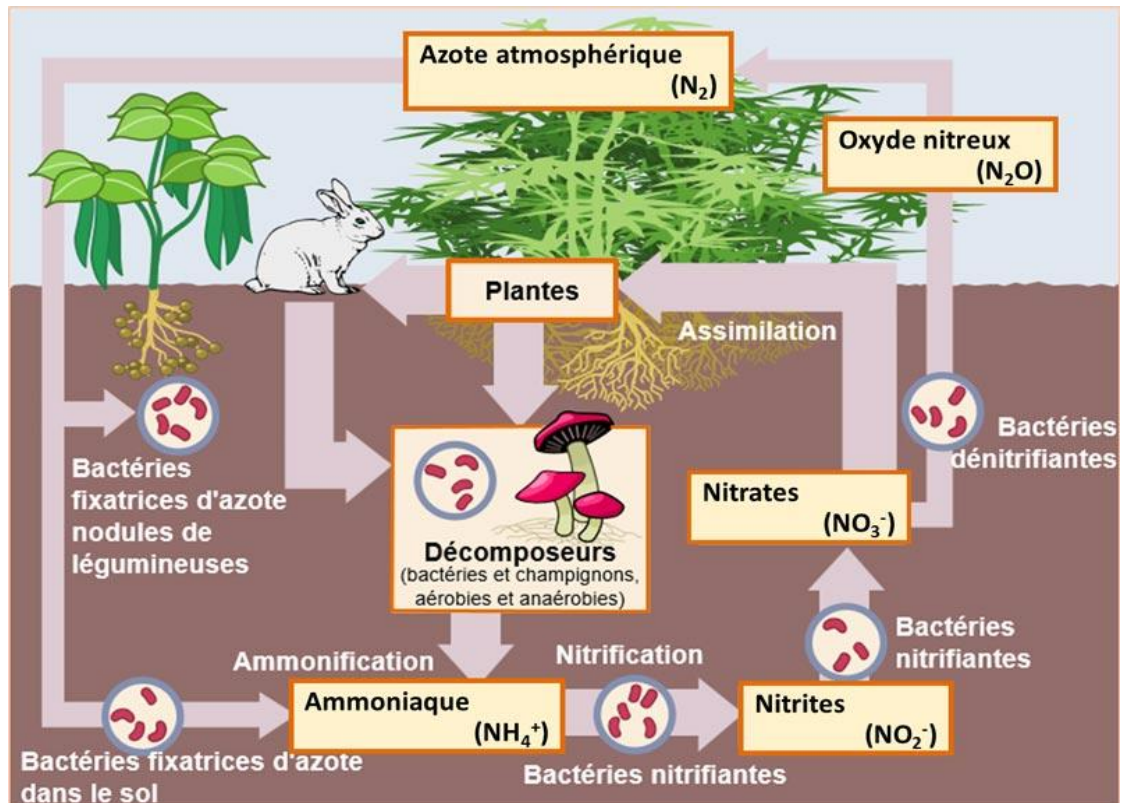
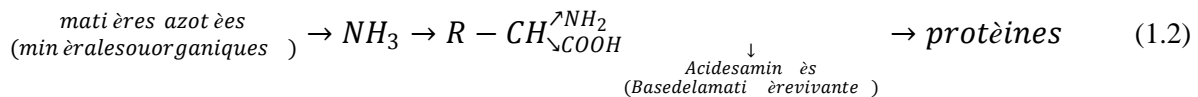


Figure 1. 1. Le cycle de l'azote [3].

a. **La fixation** : les bactéries du sol ou de l'eau fixent l'azote de l'atmosphère  $N_2$  en le transformant sous sa forme assimilable qui est l'ammoniac.



b. **L'assimilation** : est la transformation de la forme assimilable de l'azote ammoniacal ( $NH_3$ ) ou organique inerte en matière vivante. Elle est simultanée à celle du carbone et conduit à la synthèse des protéines et des acides nucléiques.

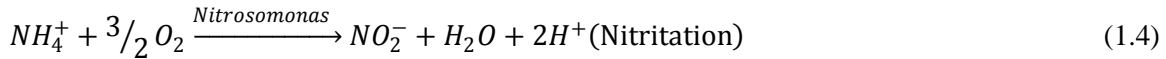


c. **L'ammonification** : grâce à des réactions enzymatiques, l'ammoniac est libéré des matières organiques.



d. **La nitrification** : est définie comme étant la conversion des composés azotés réduits (organiques ou inorganiques) en éléments dont l'azote est dans un état plus oxydé. La nitrification est généralement réalisée par des microorganismes autotrophes qui utilisent l'azote ammoniacal ou le nitrite comme source d'énergie (donneurs d'électrons) et comme

source d'azote, le dioxyde de carbone comme source de carbone et l'oxygène comme accepteur final d'électrons. Elle s'opère en deux étapes : la nitrification qui est l'oxydation de l'ammoniac en nitrite, et la nitrification correspondant à l'oxydation du nitrite en nitrate [4].



**e. La réduction assimilatrice :** (Ou dissimilatrice) qui est la réduction des composés oxydés ( $NO_2$ ,  $NO_3$ ) en azote ammoniacal ( $NH_4^+$ ).

**f. La dénitrification :** permet à l'azote de retourner à l'atmosphère sous sa forme peu réactive : l'azote moléculaire  $N_2$ . Il s'agit d'une réaction de réduction des nitrates grâce à l'action de bactéries dénitrifiantes qui peuvent transformer la matière organique [5].



### 1.3 Nitrates

Les nitrates sont des sels de l'acide nitrique. Ce sont des composés azotés naturels de formule chimique  $NO_3^-$  (ion nitrate).

Ils constituent la forme azotée la plus abondante dans les eaux naturelles, et constitue le composé principal de l'azote inorganique ( $N_{\text{-Inorganique}}$ ) ou minéral ( $N_{\text{-Minéral}}$ ), lui-même inclus majoritairement dans l'azote global (NGL) ou azote total (NT) avec un autre composé, l'azote organique ( $N_{\text{-Organique}}$ ) [6].

#### 1.3.1 Sources de nitrate

Les nitrates sont présents dans le sol à l'état naturel, c'est un résidu de la vie, animale et humaine. Cependant une pollution aux nitrates est tout de même à déplorer. Les origines des nitrates sont diverses [7]:

- Les activités agricoles

La croissance progressive des activités agricoles actuelle fait de l'utilisation d'engrais la principale source d'azote polluée par des fortes concentrations des nitrates [8]. Ou environ 22% des eaux souterraines des terres agricoles d'Europe contiennent des concentrations de nitrates supérieures au niveau maximal autorisé qui est de 26 % , en Algérie [9]. Les rejets des fosses septiques et des égouts qui fuient, les dépôts atmosphériques et l'épandage de boues d'épuration et de fumier sur la terre peuvent également y contribuer [10].

- Les activités domestiques

Par ailleurs, 35% concernent les activités domestiques avec pour principal acteur les déjections humines et les fosses septiques.

➤ Les déchets d'animaux

Les chats, les chiens et, plus rarement, les chevaux et les animaux sauvages urbains habitent de nombreuses villes. Les excréta, les excréments et l'urine produits par ces animaux constituent une source potentielle de contaminants tels que les nitrates, le potassium et les bactéries. Ils peuvent pénétrer soit directement dans les eaux souterraines ou par des canaux d'eaux pluviales, une rivière et un bassin d'alimentation [7].

➤ L'industrie

L'industrie actuelle est une autre source potentielle d'azote dans les eaux souterraines. Les composés azotés sont largement utilisés dans les processus industriels. Parmi les exemples d'utilisations industrielles, citons les traitements du plastique et des métaux, les matières premières pour l'industrie textile, et le contreplaqué, le nettoyage domestique et l'industrie pharmaceutique. Les composés azotés prédominants utilisés dans l'industrie sont l'ammoniac, l'acide nitrique, l'urée et le nitrate d'ammonium. La contamination par les nitrates peut résulter d'une manipulation, d'une élimination ou d'une utilisation inadéquate de ces composés. Ces composés azotés (par exemple l'acide nitrique) peuvent avoir un impact significatif sur la qualité des eaux souterraines dans les zones industrielles [10].

➤ L'atmosphère

L'émission d'azote dans l'atmosphère peut être sous ses formes oxydées ou réduites. Ces émissions peuvent ensuite être transportées dans les eaux pluviales polluant ainsi les eaux souterraines, mais à des concentrations négligeables.

### **1.3.2 Mécanismes de pollution de l'eau**

Toutes les sources des nitrates entreront en contact avec la terre. Soit l'eau de pluie atteignant le sol depuis la surface peut atteindre les cours d'eau directement et ainsi entraîner les nitrates. Soit l'eau peut pénétrer profondément dans le sol, les substrats géologiques et transporter les nitrates.

Dans ce cas, les plantes absorbent un peu d'eau des nitrates, mais pas toutes. Très solubles dans l'eau, ils sont entraînés par les précipitations et infiltrés dans les eaux souterraines ou rester un moment dans l'eau avant d'atteindre les rivières.

### **1.3.3 Les effets de la pollution des eaux par les nitrates**

Il ya deux principaux impacts causés par la présence d'ions nitrates dans les eaux [11] :

- Sanitaire en étant cause potentielle de méthémoglobine et source des nitrosamines.

- Ecologique en contribuant au phénomène d'eutrophisation.

### **1.3.3.1 Les effets sanitaires**

#### **a) Maladie des bébés bleus**

Les nitrates exposent les nourrissons et les femmes enceintes à des dangers en raison de la réduction potentielle des nitrates en nitrites dans l'estomac du fœtus après digestion des nitrates par la mère.

L'hémoglobine assure le transport de l'oxygène dans l'organisme grâce à la présence de fer dans la molécule, à condition que celui-ci soit à l'état bivalent (fer ferreux). Dans ce cas, l'hémoglobine au contact de l'oxygène donne à l'oxyhémoglobine qui assure, en quelque sorte la livraison d'oxygène aux divers tissus de l'organisme. Les nitrites résultant de la réduction des nitrates oxydent le fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) présent dans l'hémoglobine en fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ). Le nitrite est alors absorbé dans le sang et l'hémoglobine est convertie en méthémoglobine (MetHb) qui ne peut pas transporter l'oxygène [1,12].

Donc l'hémoglobine se transforme en méthémoglobine qui bloque le transport de l'oxygène. Il existe une enzyme méthémoglobine reductase qui régénère l'hémoglobine et empêche l'accumulation de méthémoglobine inactive, chez les nourrissons moins de six mois cette enzyme est inactive, les tissus et les muqueuses se colorent alors en bleu, ce qui donne son nom à la « maladie bleue ».

#### **b) Cancer des intestins et de l'estomac**

Le nitrate est identifié comme l'un des contaminants dangereux dans de l'eau potable pouvant réduire en nitrosamines dans l'estomac suspecté de causer un cancer de l'estomac.

La toxicité des nitrates est due à leur réduction en nitrites, car des concentrations élevées de nitrates liés aux problèmes gastriques (faible acidité le pH de l'estomac) peuvent causer la prolifération des bactéries réduisant le nitrate en nitrite.

Dans l'estomac, les nitrites s'associent aux amines présentes dans la viande et le poisson pour donner des nitrosamines. Ces substances peuvent, à long terme, provoquer le cancer de l'estomac ou des intestins [13,14].

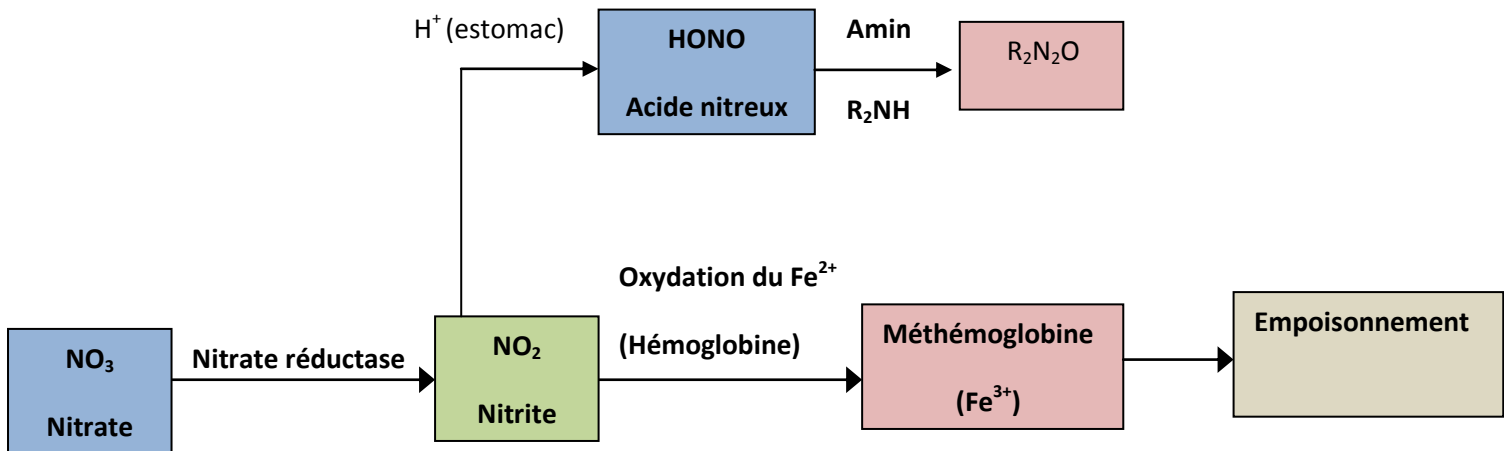


Figure 1. 2 Effets sanitaires des nitrates [3].

### 1.3.3.2 Les effets sur l'environnement

L'augmentation des teneurs en nitrates dans les eaux a également un impact sur l'environnement par sa contribution à l'apparition du phénomène d'eutrophisation de certains milieux aquatiques.

#### a) Eutrophisation

L'eutrophisation est un processus naturel qui est très lent, elle est décrite comme la dégradation particulière de la qualité des eaux calmes telles que les lacs.

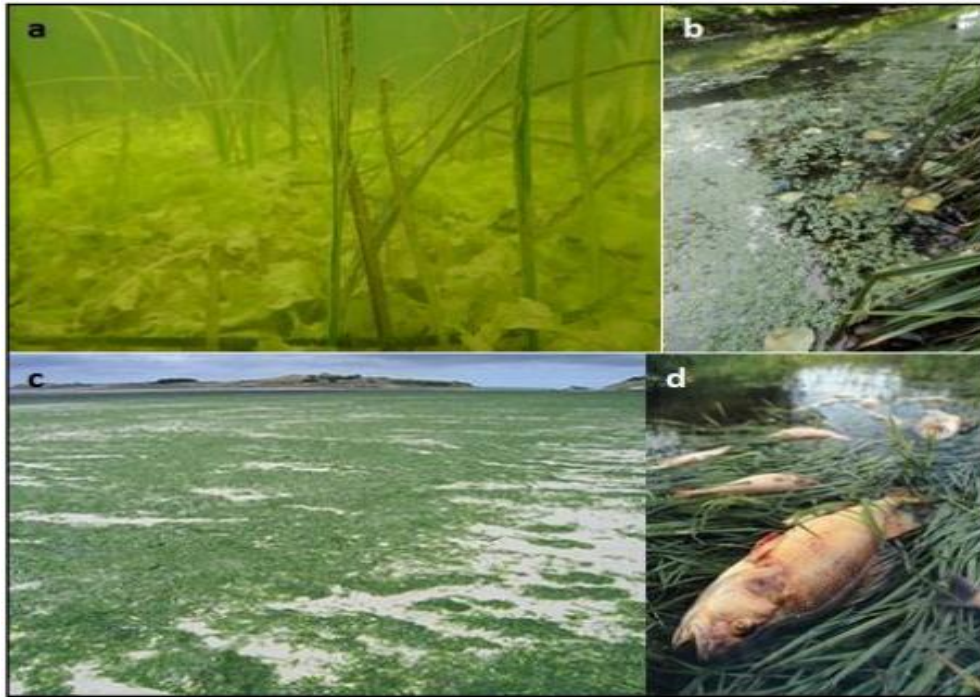
L'excès des nitrates avec les phosphates cause l'eutrophisation des milieux aquatiques [15].

L'eutrophisation d'un milieu aquatique se caractérise par une prolifération de plantes et d'algues, qui réduisent la teneur en oxygène, parfois jusqu'à une teneur létale et par conséquent une mortalité des espèces aquatiques animales.

L'eutrophisation peut être fortement accélérée par l'apport d'effluents domestiques, industriels et/ou agricoles et conduire à la mort de l'écosystème aquatique en quelques décennies et même en quelques années, on parle alors d'hyper eutrophisation ou encore de dystrophisation.

#### b) Marées vertes

C'est un type particulier d'eutrophisation marine côtière provoqué par un enrichissement excessif des eaux en nutriments. Il s'agit de la prolifération massive d'algues vertes, généralement du genre *Ulva*, au printemps et en été. Ces algues s'accumulent ainsi sur l'estran en quantité très importante.



**Figure 1.3** Phénomènes d'eutrophisation (a : algues au fond des cours d'eau, b : végétaux supérieurs, c : marée verte et d : asphyxie des poissons) [16].

#### 1.4 Procédés d'élimination des nitrates des eaux

Les processus classiques de traitement de l'eau, notamment la coagulation, la filtration et la désinfection, appliqués pour la potabilité de l'eau, ne sont pas efficaces pour éliminer les ions nitrates de l'eau. Par conséquent, pour éliminer les ions nitrates, une méthode supplémentaire est nécessaire. L'élimination des nitrates de l'eau ou des eaux usées peut être obtenue en utilisant deux groupes principaux de processus de traitement ; méthodes de traitement physico-chimiques et biologiques. Les procédés de traitement conventionnels les plus couramment utilisés pour éliminer les nitrates sont l'osmose inverse, l'échange d'ions, l'électrolyse et l'adsorption sur charbon actif en association avec l'ajustement du pH.

##### 1.4.1 Méthodes physico-chimiques

###### 1.4.1.1 Traitements par échange d'ions

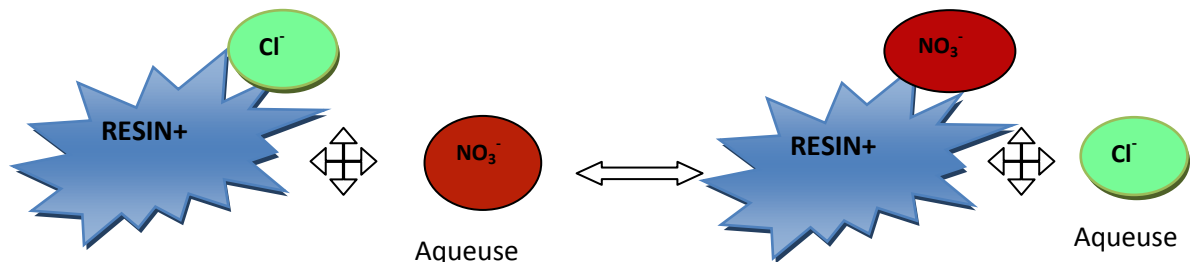
Le procédé d'échange d'ions semble être le plus approprié pour les petits fournisseurs d'eau contaminés par les nitrates en raison de sa simplicité, de son efficacité, de sa sélectivité, de sa récupération et de son coût relativement faible [17,18].

Généralement les résines échangeuses d'ions sont des produits synthétiques possédant des fonctions chimiques actives capables. On distingue les résines cationiques, échangeurs d'ions électropositifs (cations), et les résines anioniques, échangeurs d'ions électronégatifs (anions).

Le processus d'échange d'ions implique le passage de l'eau chargée en nitrates à travers un lit de résine contenant des résines échangeuses d'anions fortement basiques sur lesquelles les

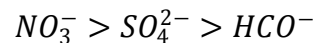


ions nitrates sont échangés contre des chlorures jusqu'à épuisement de la capacité d'échange de la résine. Comme illustré dans la **Figure (1.4)**.

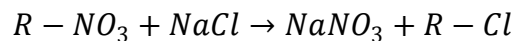


**Figure 1. 4** Mécanisme de réaction d'échange d'ions pour une résine spécifique anionique.

La résine attire également des anions similaires, notamment le carbonate et le sulfate. Il a été prouvé que la résine spécifique aux nitrates avait une affinité par ordre décroissant pour les ions suivants :



Après saturation, les résines doivent être régénérées. Cette régénération a pour réaction :



Par cette méthode, les nitrates sont donc déplacés mais pas éliminés et forment des saumures qui nécessitent par la suite un traitement, pour l'instant, ces saumures sont soit :

- Rejetées dans une station d'épuration d'eaux usées.
- Délivrées à une industrie de fabrication d'engrais azotés.
- Mélangées à une eau brute avec un certain débit permettant d'obtenir une eau à une charge inférieure à  $25 \text{ mg.L}^{-1}$  en nitrates.

#### 1.4.1.2 Procédés membranaires de dénitrification

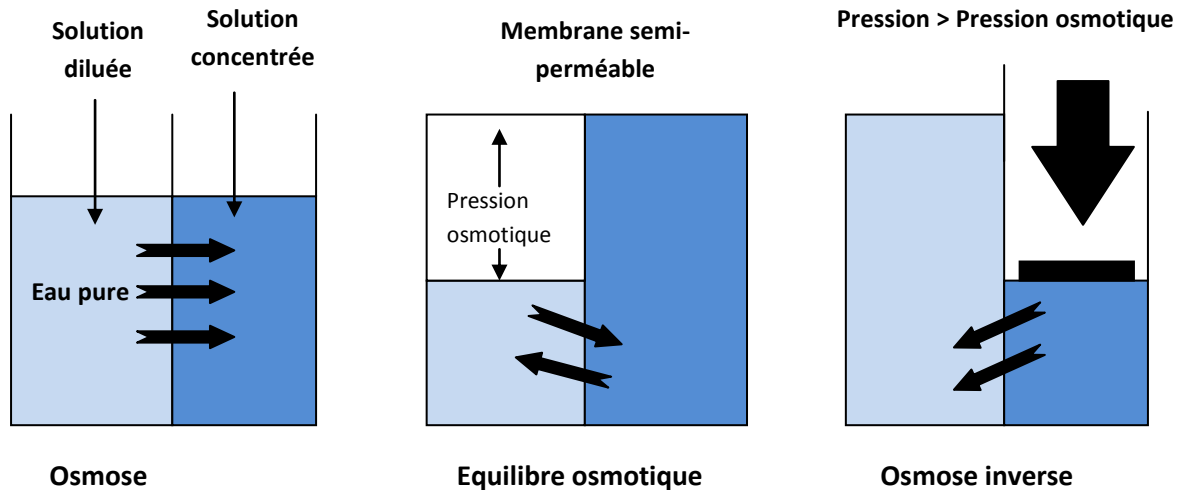
Les procédés membranaires sont des procédés utilisant des membranes poreuses qui arrêtent le passage de toute molécule dont la taille est supérieure à la taille de ses pores. La membrane utilisée doit avoir des pores suffisamment petits, ce qu'on appelle nano filtration. L'osmose inverse est aussi connue pour le fait de pouvoir séparer les ions des sels dissous du solvant.

##### ➤ Osmose inverse

L'osmose est un phénomène naturel et l'un des processus les plus importants de la nature. C'est un processus dans lequel une solution saline plus faible aura tendance à migrer vers une solution saline forte.

L'osmose inverse utilisant un film semi-perméable de faible épaisseur. Le principe de cette technique consiste à appliquer une pression supérieure à la pression osmotique de la

membrane. Sous l'action d'une certaine pression, la membrane laisse passer l'eau et s'oppose au passage des solutés, conduisant ainsi à la formation d'une eau pure (perméat). Le concentrât contient une saumure qui est progressivement évacuée[18].



**Figure 1.5** Schémas représentatifs de l'osmose inverse pour l'élimination des sels dissous [19]

L'osmose inverse est très utilisée pour le dessalement d'eau de mer ou d'eau saumâtre, et pour la production d'eau ultra-pure (industrie électronique, médicale, nucléaire). Elle est également appliquée par l'industrie alimentaire pour concentrer des produits alimentaires ou désalcooliser des boissons.

#### ➤ **Électrodialyse**

L'électrodialyse est un procédé électrochimique qui permet d'extraire les ions d'une solution en les déplaçant.

L'électrodialyse consiste à faire passer de l'eau salée à travers différents compartiments séparés alternativement par des membranes anioniques et cationiques. Le tout est traversé par un courant électrique, ce qui fait migrer les ions. Les anions se déplacent vers la borne positive tandis que les cations vont vers la borne négative. Mais les membranes cationiques ne se laissent franchir que par des cations alors que les membranes anioniques ne sont traversées que par des anions. Ces membranes doivent être résistantes mécaniquement, imperméables à l'eau, chimiquement inattaquables, ne présentent qu'une faible résistance ohmique et possèdent une haute sélectivité.

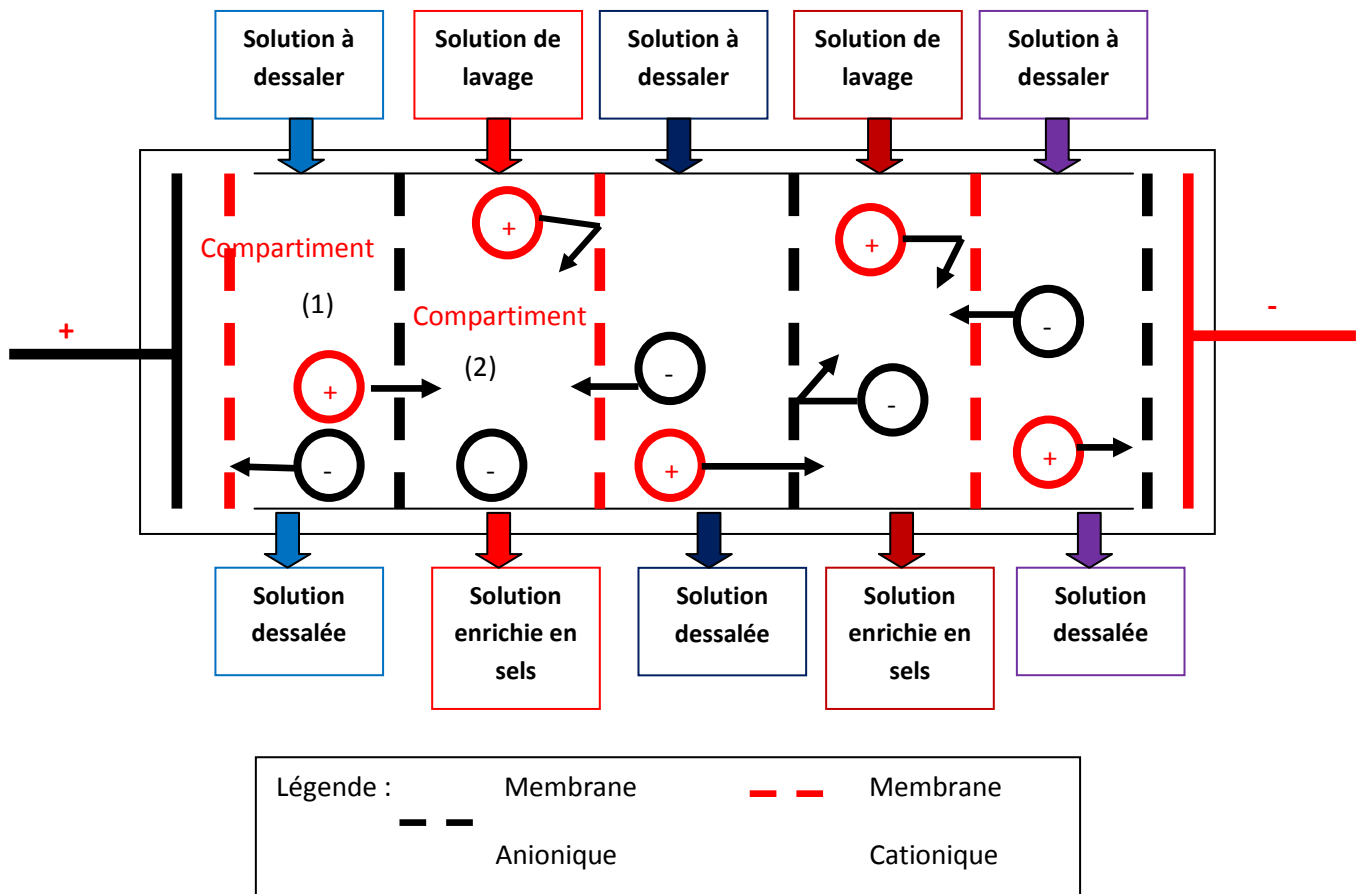


Figure 1. 6 Schéma représentatif de l'électrodialyse pour la potabilisation de l'eau [19].

Dans le premier compartiment, la concentration en sel dissout diminue, c'est donc un compartiment de dilution. Le deuxième compartiment va augmenter la concentration en sels dissout. C'est alors un compartiment de concentration. Une électrode à chaque extrémité de l'appareil assure le passage du courant [18].

La principale application de l'électrodialyse est le dessalement des eaux saumâtres (taux de salinité au environ de 5000 ppm). Au-dessus de ce taux, on utilise plutôt l'osmose inverse. Elle est également utilisée pour la production de saumure à partir d'eau de mer et la déminéralisation du lactosérum.

### ➤ Nanofiltration

La nanofiltration est un processus membranaire commandé par la pression située entre l'ultrafiltration et l'osmose inverse en termes de capacité à rejeter les espèces moléculaires ou ioniques. Les membranes de nanofiltration sont des membranes organiques ou des membranes en céramique peuvent être soit denses soit poreuses. Les membranes de nanofiltration peuvent avoir un espace libre plus grand, de petits pores ou des nanovides [20] disponibles pour le transport.

La taille de ces nanovides forme une transition entre membranes microporeuses et membranes denses pouvant aller de 0.5 à 1 nm [20]. Habituellement, on considère que les membranes de nanofiltration peuvent présenter une coupure nominale entre 200 et 1000 (Daltons)Da. En général, on dit que la taille des pores se situe entre 1 et 10 nm dans le processus de nanofiltration. En comparaison avec l'ultrafiltration et l'osmose inverse, la nanofiltration a toujours été un processus difficile à définir et à décrire [20].

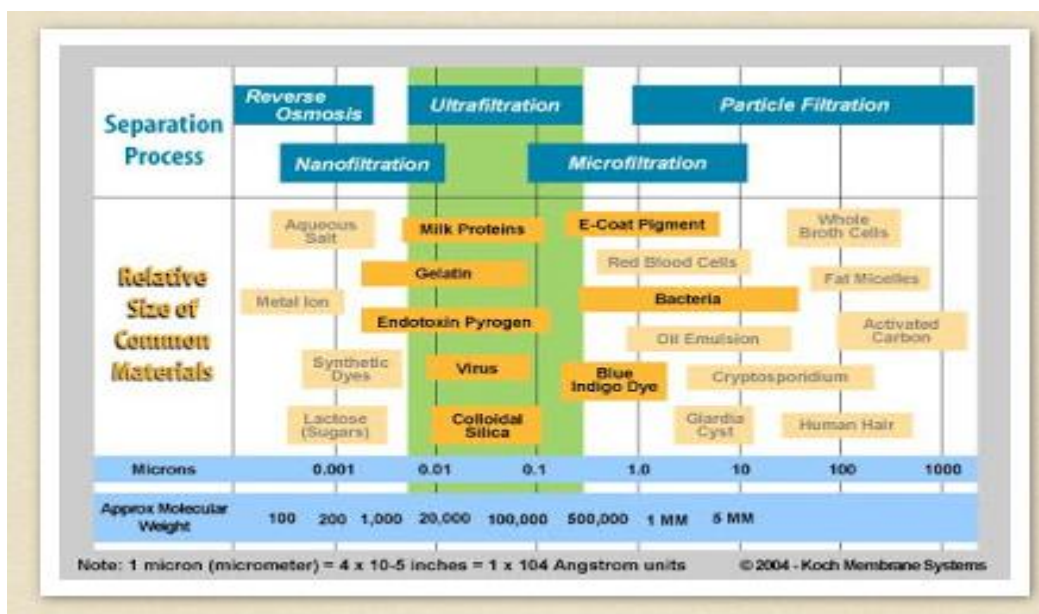


Figure 1.7 Schéma représentatif des processus de séparation utilisés dans la potabilisation de l'eau [19].

Au stade des recherches, la nanofiltration a été étudiée pour éliminer les nitrates dans les eaux potables [21].

Un effet d'écran est à l'origine de la diminution de la rétention des nitrates quand la concentration en sel augmente. En fait, la charge totale de la membrane (initialement chargée négativement) diminue suite à l'interaction avec les cations de la solution.

En raison des membranes utilisées et les conditions opératoires appliquées, la présence d'autres ions que les nitrates dans l'eau influent fortement sur leur rétention, donc les taux de rétention des nitrates vont de 10 à 90%. Garaciaa et al. [22] ont étudié l'influence de divers ions dans la solution des nitrates, et ont montré que la présence des ions sulfates divalents provoque une diminution de la rétention des nitrates. Cet effet est dû à la forte rétention des sulfates à cause de leur taille et des répulsions électrostatiques (la membrane étant chargée

négativement), les nitrates traversent alors la membrane pour assurer l'électro-neutralité du perméat.

Il existe certains inconvénients avec ces procédés classiques qui limitent leur utilité, en raison de leur opération coûteuse et du problème d'élimination subséquent de la saumure ou des sous-produits de nitrate générés.

#### **1.4.2 Traitements biologiques**

Contrairement aux méthodes abiotiques, qui ne permettaient pas de traiter les nitrates et étaient simplement capables de les séparer ou de les retirer du cours d'eau et donnaient lieu à certains sous-produits, les méthodes biologiques offraient une chance prometteuse pour le traitement réel des nitrates et de nouvelles techniques en conséquence.

Les traitements biologiques occupent une place importante parmi les procédés mis en place pour éliminer les nitrates [23].

L'avantage des processus biologiques qu'ils ne dégagent aucun déchet secondaire nuisible, contrairement aux méthodes physico-chimiques. Les extraits du procédé sont du gaz carbonique ( $\text{CO}_2$ ), des vapeurs d'eau ( $\text{H}_2\text{O}$ ) ainsi qu'une fraction résiduelle des contaminants. La dénitrification biologique repose sur l'utilisation de bactéries, essentiellement de la famille des *Pseudomonas*, qui utilisent les nitrates à la place de l'oxygène de l'air, et qui les transforment en azote gazeux. Les bactéries hétérotrophes consomment les produits organiques pour en tirer l'énergie tandis que les bactéries autotrophes tirent cette énergie des matières inorganiques et du soufre parfois.

La dénitrification est un processus anoxie au cours duquel les bactéries hétérotrophes vont modifier leur métabolisme pour utiliser les nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) comme accepteurs d'électron au lieu de l'oxygène moléculaire. La réduction biologique du nitrate au cours de la dénitrification mènera à la production finale de l'azote moléculaire  $\text{N}_2$  (produit gazeux inerte).

#### **1.4.3 Comparaison entre les différents procédés d'élimination des nitrates des eaux**

Le **Tableau 1.1** résume les principaux avantages et inconvénients des différentes méthodes utilisées pour l'élimination des nitrates dans l'eau.

**Tableau 1.1** Les principaux avantages et inconvénients des différents procédés de dénitrification

<b>Procédés utilisés</b>	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
Procédés Biologiques	Élimination totale des nitrates	Risques bactériologiques Mise en œuvre délicate
Procédés Physico-chimiques	Facilité de la mise en Œuvre	Formation des saumures
Procédés Membranaires	Facilité de la mise en Œuvre	Formation des saumures Traitement non spécifique Coût élevé

### **1.5 Réduction biologique des nitrates**

Il est intéressant de rappeler dans un premier temps, que la réduction du nitrate ou du nitrite ne conduit pas toujours à la production d'azote moléculaire. En effet, deux autres réactions peuvent se produire et surtout interférer avec la dénitrification : les réactions de réduction assimilatrice et de réduction dissimilatrice en azote ammoniacal.

Les trois voies de réduction du nitrate sont présentées en **Figure 1.8**.

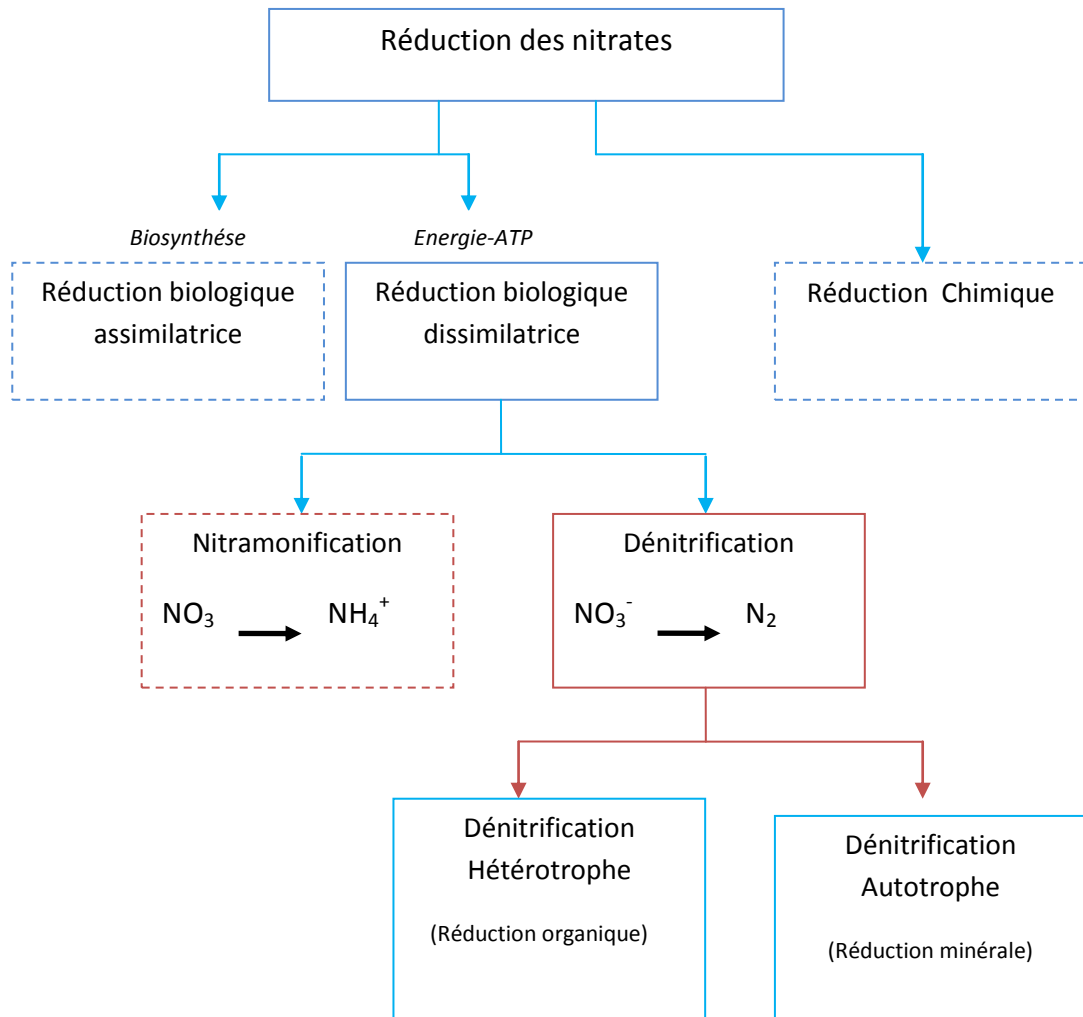


Figure 1. 8 Voies de réduction biologique des nitrates [24]

### 1.5.1 Réduction assimilatrice

Cette réaction est une réaction biologique permettant la production d'azote organique (azote inclus dans les protéines, les acides aminés, les acides nucléiques...) pour la croissance des organismes (plantes, bactéries, champignons). Ce processus est aussi appelé immobilisation. Dans le cadre de cette réaction, l'ion nitrate est tout d'abord réduit en nitrites puis en ammonium avant d'être convertis en matière organique (i.e. biomasse). La quantité de biomasse produite par quantité de nitrates réduits définit le rendement cellulaire. Cette réaction ne permet pas une réelle perte d'azote dans le système car l'azote est ré-oxydable à la mort de l'organisme. Cependant ce processus permet de limiter le lessivage de nitrates vers les nappes[24].

### 1.5.2 Nitrammonification

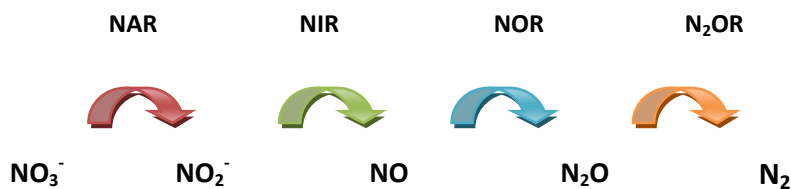
En conditions strictes d'anaérobiose et lorsque la quantité de matière organique fermentescible est importante, Fazzolari et al.[25] notent que la production d'ammonium prend le pas sur la production de formes azotées gazeuses. Cette réduction appelée nitrammonification, la réduction biologique dissimilatrice n'est pas considérée comme étant une réelle dénitrification [26] car l'ammonium produit reste potentiellement ré-oxydable.

### 1.5.3 Dénitrification (Réduction dissimilatrice en azote moléculaire)

Cette réaction biologique désigne les processus qui entraînent une réduction de l'ion nitrate  $\text{NO}_3^-$  sous forme gazeuse  $\text{N}_2$ , non susceptible d'être reprise localement dans le cycle biogéochimique de l'azote [27].

Il s'agit d'un processus respiratoire, cette réaction prend place en conditions anaérobies lorsque la concentration en oxygène dissous n'est plus suffisante pour maintenir une respiration aérobie énergétiquement plus favorable. L'ATP est fournie (Adénosine-Tri-Phosphate) pour leur activité cellulaire et la synthèse de nouvelles cellules. Mariotti [27] relève cependant que la dénitrification peut débiter alors que les teneurs en oxygène dissous ne sont pas nulles car l'énergie libre libérée par la dénitrification est très proche de celle de la respiration aérobie.

La dénitrification est définie comme étant la réduction du nitrate en azote gazeux avec pour intermédiaires le nitrite, l'oxyde nitrique et l'oxyde nitreux (ou protoxyde d'azote).



Cette réduction séquentielle est catalysée par différents enzymes. Selon les auteurs, ces enzymes sont constitutives (enzymes synthétisées en permanence même en l'absence du substrat inducteur [28]), ou non constitutives (enzymes synthétisées uniquement en présence d'une concentration minimum de l'espèce à réduire [29,30]). Considéré comme un intermédiaire peu stable, l'oxyde nitrique  $\text{NO}$  est souvent négligé lors du suivi des produits de dénitrification [31,32].

Parmi les composés intermédiaires de réaction seuls les nitrites sont présents en phase liquide, les autres étant présents sous forme gazeuse. Les ratios de production entre ces différents éléments sont fonction du type de microorganismes et du type de donneur d'électrons.



La dénitrification est un procédé anaérobie, qui utilise l'oxygène des nitrates, pour oxyder, soit la matière organique (dénitrification organotrophe), soit des substances minérales (dénitrification lithotrophe). La dénitrification organotrophe est également hétérotrophe, les bactéries intervenantes utilisent également du carbone organique pour leur synthèse cellulaire. Par contre, les bactéries de la dénitrification lithotrophe sont autotrophes, car elles consomment, pour la synthèse cellulaire, le CO<sub>2</sub> dissous dans l'eau, ou lié sous forme de bicarbonates.

### 1.5.3.1 Dénitrification hétérotrophe

La dénitrification hétérotrophe est le fait des bactéries utilisant le carbone organique comme source d'énergie et de carbone cellulaire. Cette réaction peut être effectuée par de nombreux genres bactériens tels que *Pseudomonas* sp, *Alcaligenes* sp [33]. Ces bactéries sont capables d'utiliser une large palette de source carbonée (alcool, sucres, acides organiques etc.). L'équation complète d'oxydo-réduction est donnée à titre d'exemple pour une réaction avec différentes sources de carbone et est indiquée dans le **Tableau 1.2**.

**Tableau 1.2** Réactions stœchiométriques de la dénitrification hétérotrophe avec divers substrats carbonés

Substrat	Réaction stœchiométrique
Éthanol	$5C_2H_5OH + 12 NO_3^- \rightarrow 10 HCO_3^- + 2 OH^- + 9 H_2O + 6 N_2$ (1.8)
Acide acétique	$0.613 C_2H_6OH + NO_3^- \rightarrow 0.102 C_5H_7NO_2 + 0.714 CO_2 + 0.286 OH^- + 0.980 H_2O + 0.449 N_2$ (1.9)
Cellulose	$5(C_6H_{10}O_5)_n + 24n NO_3^- \rightarrow 6n CO_2 + 13n H_2O + 12n N_2 + 24n HCO_3^-$ (1.10)
matière organique	$C_5H_9NO + 3.36 NO_3^- + 3.92 H^+ \rightarrow 1.68 N_2 + 0.36 C_6H_7NO_2 + 3.2 CO_2 + 3.92 H_2O + 0.64 NH_4^+$ (1.11)
Méthane	$5CH_4 + 8NO_3^- + 8H^+ \rightarrow 4N_2 + 5CO_2 + 14H_2O$ (1.12)
Glucose	$C_6H_{12}O_6 + 2.8 NO_3^- + 0.5 NH_4^+ + 2.3 H^+ \rightarrow 0.5 C_5H_7NO_2 + 1.4 N_2 + 3.5 CO_2 + 6.4 H_2O$ (1.13)

### 1.5.3.2 Dénitrification autotrophe

La dénitrification autotrophe est le fait de bactéries utilisant une source de carbone minéral (dioxyde de carbone, bicarbonates, carbonates) pour la synthèse bactérienne et tirant leur énergie de l'oxydation d'un substrat inorganique tel que le **soufre**, l'**hydrogène** ou encore le **fer ferreux**. L'équation complète d'oxydo-réduction pour une réaction avec la pyrite FeS<sub>2</sub>, minéral présent dans les formations calcaires, peut alors s'écrire selon la réaction décrite dans le **Tableau 1.3**.

Pour la dénitrification sur soufre, **Thiobacillus denitrificans** représente l'espèce la plus étudiée et dont l'existence dans les aquifères est démontrée [34]. Cette souche est capable d'oxyder différents substrats tels que les ions thiosulfates, le soufre élémentaire ou comme vu ci-dessus la pyrite FeS<sub>2</sub>[35]. Les bactéries catalysant la réaction d'oxydation du fer ferreux sont à ce jour mal connues. Certaines ne seraient pas chimiolitho autotrophes strictes au sens qu'elles peuvent oxyder le fer et réduire les nitrates pour la production d'énergie tout en utilisant une source de carbone organique pour se développer [36,37]. Les espèces les plus communément rencontrées pour une réaction avec l'hydrogène sont *Paracoccus Denitrificans* et *Alcaligenes Eutrophus*.

### 1.5.3.3 Réduction chimique

Différents études menées en batch sur des sols ou des sédiments ont montré qu'une réduction des nitrates pouvait avoir lieu via une réaction purement chimique avec des formes réduites du fer [38], du manganèse [39]. Cependant, en plus de conditions de pH, de température et de stœchiométrie qui limitent grandement leur influence, ces réactions sont considérées comme très lentes et sont en général négligées au regard des réactions catalysées par la biologie.

**Tableau 1. 3** Réactions stœchiométriques de la dénitrification autotrophe avec divers donneurs d'électrons

Donneurs électrons	Réaction stœchiométrique
Hydrogène	$2NO_3^- + 5H_2 \rightarrow N_2 + 4H_2O + 2OH^-$ (1.14)
Sulfure	$14NO_3^- + 5FeS_2 + 4H^+ \xrightarrow{(Th.denitrificans)} 7N_2 + 10SO_4^{2-} + 5Fe^{2+} + 2H_2O$ (1.15)
Sulfure de fer	$5Fe^{2+} + NO_3^- + 7H_2O \xrightarrow{(Fe.Ferroxydans)} 5FeOOH + \frac{1}{2}N_2 + 9H^+$ (1.16)

Soufre élémentaire	$10\text{NO}_3^- + 11\text{S}^0 + 4.1\text{HCO}_3^- + 0.5\text{CO}_2 + 1.71\text{NH}_4^+ + 2.54\text{H}_2\text{O} \rightarrow 0.92\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2 + 11\text{SO}_4^{2-} + 5.4\text{N}_2 + 9.62\text{H}^+ \quad (1.17)$
-----------------------	---

## 1.6 Facteurs influençant la dénitrification

### 1.6.1 La température

La température optimale pour la dénitrification est comprise entre 25 et 35 °C. En raison de la capacité de la bactérie à survivre dans des conditions environnementales extrêmes, des processus de dénitrification peuvent se dérouler dans une plage allant de 2 à 50 °C. La plupart des valeurs de température appliquées dans les études sur la dénitrification varient entre 10 et 30 °C. Les températures les plus basses ont été choisies en fonction de la température moyenne des eaux souterraines [40], tandis que des températures plus élevées ont été utilisées pour permettre la croissance et la bonne performance des cultures hydrogénotrophes [41].

Des preuves expérimentales suggèrent que la température affecte le processus de dénitrification en modifiant le comportement des bactéries. Kurt et al.[42] ont démontré que les vitesses de réaction dans un réacteur à lit fluidisé étaient doublées pour chaque augmentation de température de 10 °C (selon la loi de vitesse d'Arrhenius). Un taux maximum de dénitrification a été trouvé à 42 °C, bien que la dénitrification a été observée à des températures inférieures à 10 °C.

Enfin, Zhou et al.[43] ont suggéré que la plage de température convenable était de 30 à 35 °C, car l'élévation de la température de 25 à 35 °C a également entraîné une augmentation de l'élimination du nitrate, tandis qu'à 25 °C, une accumulation de nitrite élevée a été observée. Une nouvelle augmentation au-dessus de 35°C a entraîné une réduction des taux d'élimination du nitrate.

### 1.6.2 Le pH

Le processus de dénitrification est positivement corrélé au pH, la valeur optimale se situant entre 7.6 et 8.6 [40, 44]. Cependant, en raison des différentes cultures utilisées et de la variabilité des conditions de fonctionnement, de nombreux chercheurs Zhou et al [43] indiquent que le pH optimal est d'environ 7.5 à 7.6, alors que la dénitrification est inhibée ou que l'on observe une accumulation de nitrite supérieure à cette valeur.

Une stœchiométrie simplifiée pour la partie de la réaction de dénitrification produisant de l'énergie, utilisant l'acétate comme donneur d'électrons, montre l'effet sur l'acidité :



Ici, chaque mole de  $\text{NO}_3^-$  réduit en gaz  $\text{N}_2$  consomme un équivalent acide ( $\text{H}^+$ ), qui convertit en une génération d'alcalinité de 3.57 g de  $\text{CaCO}_3$  par g de  $\text{NO}_3^-$  -N réduit. La libération d'alcalinité se produit lorsque le nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) est réduit à l'oxyde nitrique ( $\text{NO}$ ). L'augmentation de l'alcalinité peut augmenter le pH du système, ce qui pourrait affecter le métabolisme bactérien ou provoquer la précipitation de gisements minéraux. Il est donc nécessaire de réguler le pH par un acide au cours de tout procédé de dénitrification biologique.

Un pH en dehors de la plage optimale peut provoquer une accumulation d'intermédiaires. Par exemple, les nitrites ont tendance à s'accumuler à un pH alcalin [45].

Un pH bas est considéré comme un stress important conduisant à une accumulation de  $\text{N}_2\text{O}$  lors de la dénitrification. Pan et al.[46] ont observé que l'accumulation de  $\text{N}_2\text{O}$  à un pH de 6-5 était significativement plus élevée qu'à un pH de 7.5 ; en revanche, une plus petite différence a été observée entre pH 7.5 et 8.5.

### **1.6.3 La dureté et l'alcalinité**

La dureté et l'alcalinité sont connues pour avoir un impact négatif sur le processus de dénitrification. Arvin et Kristensen [47] ont étudié l'effet de la dureté sur le processus de dénitrification. Ils ont utilisé des réacteurs à lit fixe pour traiter différents types d'eau polluée : eau « dure » avec 317.5 à 375 mg de  $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$  et eau « douce » avec 145 à 165 mg de  $\text{CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ . Il a été observé qu'après quelques semaines, le traitement de l'eau « dure » avait été arrêté en raison de la précipitation de  $\text{CaCO}_3$ , ce qui posait un problème de fonctionnement tel que le colmatage des pores. En conclusion, le taux de dénitrification était inhibé par une concentration élevée de  $\text{CaCO}_3$ , puisqu'il n'y avait aucun problème avec le traitement de l'eau douce.

### **1.6.4 L'oxygène**

Les rendements de dénitrification sont affectés par la présence d'oxygène. En effet les bactéries dénitrifiantes n'utilisent le nitrate qu'en absence d'oxygène. Les étapes de la dénitrification sont graduellement inhibées lorsque la concentration en oxygène dissous augmente et c'est d'abord la réduction de l'oxyde nitreux ou protoxyde d'azote ( $\text{N}_2\text{O}$ ) qui est affectée puis celle du nitrite et enfin celle du nitrate. Cependant, il existe quelques micro-organismes qui sont capables de dénitrifier en aérobiose.

### **1.6.5 La nature de la source de carbone**

La disponibilité en carbone organique est essentielle à l'activité des bactéries dénitrifiantes hétérotrophes car le substrat carboné fournit l'énergie nécessaire à leur métabolisme et constitue l'élément de base de leurs synthèses cellulaires. Les faibles performances de dénitrification biologique, résultant en général d'une limitation des eaux usées en carbone bioassimilable, imposent l'apport d'une source de carbone exogène afin d'améliorer les performances de traitement. Le méthanol et l'acétate de sodium sont les principaux substrats carbonés synthétiques ayant été utilisés dans le domaine de la dénitrification des eaux résiduaires [48,49].

La nature du substrat utilisé peut influencer la cinétique de dénitrification. Ainsi, Moser-Engeleret al.[50] soulignent que les vitesses de dénitrification en présence d'acétate, de propionate ou de butyrate sont quatre fois plus importantes que celles observées avec le méthanol ou l'éthanol.

### **1.6.6 Le rapport C/N**

L'estimation de la concentration en carbone à fournir par rapport à la concentration en nitrate à éliminer (rapport C/N) quelle que soit la source de carbone utilisée est une étape préliminaire obligatoire à toute optimisation de traitement biologique par dénitrification.

Le besoin global en DCO (demande chimique en oxygène) pour le traitement de l'azote dans les eaux, à partir du nitrate est de 2.86 mg DCO/mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> soit 1.15 mg DCO/mg N pour la réduction du nitrate en nitrite et 1.71 mg DCO/mg N pour la réduction du nitrite en azote moléculaire, sans prendre en compte les besoins en matière organique pour la croissance cellulaire. Le rapport DCO/N doit être compris entre 3 et 6 pour avoir de bonnes performances de dénitrification biologique, de nombreux auteurs soulignent que quel que soit la source de carbone utilisée [51-53], Il convient de noter qu'un rapport C/N élevé peut entraîner une accumulation de nitrites ou une production supplémentaire de nitreux autre que l'azote [54]. En revanche, un faible rapport C/N conduit à une dénitrification incomplète [55,56].

## **1.7 Les procédés biologiques d'élimination des nitrates**

En raison du faible rendement en biomasse des dénitrifiants, la plupart des recherches réalisées sur la dénitrification ont été menées avec des systèmes de croissance attachée. Ces systèmes de croissance nécessitent moins d'espace et surtout moins de coûts d'investissement et d'exploitation que les réacteurs à biomasse en suspension. Les chercheurs ont utilisé cette technologie comme des réacteurs à **lit fixe** et à **lit fluidisé**, des **membranes et des réacteurs à électrodes à biofilm** fournissant une surface de support pour la croissance de biofilm

(concentration élevée de biomasse), permettant ainsi de maintenir les bactéries à des charges hydrauliques et de nitrates élevées.

### **1.7.1 Les lits fixes (biofiltres)**

Le support est considéré comme le paramètre principal pour la conception d'un réacteur à lit compacté. Les caractéristiques des supports tels que la forme, la taille ou le type de matériau ont une grande influence sur les performances du système. La taille et la forme déterminent la porosité et la surface spécifique, respectivement. La surface spécifique concerne la surface disponible pour la croissance des bactéries et la porosité détermine l'épaisseur du biofilm et le colmatage des pores. En conséquence, les performances et l'efficacité du réacteur sont principalement déterminées par le support.

Aesoy et al. [57] ont étudié l'efficacité des boues hydrolysées et des déchets organiques solides en tant que source de carbone pour la dénitrification dans un réacteur à **lit garni** par rapport à l'éthanol et à l'acide acétique, ils ont trouvé un taux maximum de dénitrification d'environ 2.5 Kg NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.j, il a été atteint avec de l'éthanol, alors que l'acide acétique donnait un taux plus bas et plus variable inférieur à 2 Kg NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.j. Lee et al. [58] ont étudiés les réacteurs à colonnes garnies avec de surface spécifique de 127 m<sup>2</sup> / m<sup>3</sup> pour traiter les eaux usées contenant des nitrates. Cette étude a démontré qu'un lit à garnissage à un étage pouvait atteindre des rendements d'élimination de la demande totale en azote (TN) et en demande chimique en oxygène (DCO) supérieurs à 83 et 75%, respectivement. Les taux d'élimination des TN et de la DCO maximales étaient respectivement de 47.2 g N/m<sup>2</sup>.j et 158.0 g de DCO/m<sup>2</sup>.j.

Pekdemir [59] ont utilisé des charbons actifs comme support pour traiter différentes concentrations initiales comprises entre 200 et 250 ppm dans la teneur en nitrates de la solution d'alimentation (Feed solution nitrate content FNC), il a été constaté que jusqu'à 200 ppm de FNC, le système actuel est capable de produire une eau de boisson dont la teneur en nitrates est inférieure à 20 ppm. D'autre part, jusqu'à FFR (Feed solution flow rate) = 273 mL.h<sup>-1</sup>, le système actuel était également en mesure de produire une eau de boisson dont la teneur en nitrates était inférieure à 20 ppm. Benyoucef et al [60] en utilisant les supports du brasseur en tant que support des processus de dénitrification dans le traitement des eaux souterraines. Un réacteur à l'échelle du laboratoire a été inoculé avec des boues anaérobies provenant d'une installation de traitement des eaux usées.

Une comparaison entre les réacteurs de croissance à lit fixe et les réacteurs de croissance en suspension montre clairement que les systèmes de croissance connectés atteignent des taux de dénitrification plus élevés (**Tableau 1.4**).

### **1.7.2 Réacteurs à lit mobile**

L'utilisation d'un réacteur à lit mobile peut résoudre les problèmes des réacteurs à garnissage, tels que le **colmatage** et la **canalisation**, qui peuvent menacer son fonctionnement stable du réacteur. Cependant, bien que plusieurs études sur la dénitrification ont été rapportées dans la littérature, peu d'entre elles ont été réalisées avec des réacteurs à lit mobile. Différents matériaux, tels que des billes sphériques ou du sable, de différentes tailles, ont été utilisés pour étudier la dénitrification dans ce type de réacteur (**Tableau 1.4**).

Le réacteur à lit mobile peut être utilisé pour des processus aérobies, anoxiques ou anaérobies. En processus aérobie, le mouvement du support de biofilm est dû à l'agitation créée par l'air (**lit fluide**), tandis que dans les processus anoxiques et anaérobies, un mélangeur (arbre horizontal ou vertical) maintient le support en suspension (**MBBR**).

Lazarova et al [61] ont utilisé deux biofilms générés avec différents organismes prédominants dans un bioréacteur à lit fluidisé à l'échelle laboratoire. Ils ont observé que la performance du biofilm dépendait principalement des caractéristiques physiologiques de l'organisme prépondérant. La réduction complète des nitrates a été atteinte dans les deux biofilms avec une très faible épaisseur de biofilm. Kurt et al[42] ont étudié la dénitrification autotrophe dans un réacteur à lit de sable fluidisé conique utilisant une culture mixte,  $H_2$  a été transféré dans le réacteur en utilisant un réservoir d'absorption de bulles dans la ligne de recyclage. Les expériences dans cette étude ont montré une accumulation de nitrite, mais des expériences continues ont abouti à l'élimination complète de l'azote. Pour une dénitrification complète de l'eau contenant 25 mg de  $NO_3-N.L^{-1}$ , un temps de séjour de 4.5 Heures était nécessaire, tandis qu'un taux d'élimination des nitrates de 0.13 kg de  $NO_3-N/m^3.j$  était atteint.

Rusten et al.[62] ont utilisé un réacteur à biofilm à lit mobile (MBBR), avec des supports de biofilm de type Kaldnes K1, ils l'ont utilisé pour l'élimination de l'azote à la station de traitement des eaux usées FREVAR.

**Tableau 1. 4** Conditions de fonctionnement des réacteurs de croissance à lit fluidisé, MBBR, à lit fixe et en suspension.

Système/ Fonctionnement du réacteur	Volume de Réacteur(m <sup>3</sup> )	Source de carbone	HRT (heures)	T°C	Support	Concentration de l'influent (mg N-NO <sub>3</sub> /L)	Taux de dénitrification N-NO <sub>3</sub> (Kg / m <sup>3</sup> j)	Référence
Croissance suspension/Batch	2.5×10 <sup>-3</sup>	CO <sub>2</sub> et NaHCO <sub>3</sub>	3 – 11	25±5	–	20 -50	0.16 - 0.11	[63]
Lit fixe/continue	7×10 <sup>-3</sup>	HCO <sub>3</sub>	97.6	20	Rocheaquarium (d : 0.3-1.0 cm)	16.4	0.004	[64]
Lit fixe/continue	2.5×10 <sup>-3</sup>	NaHCO <sub>3</sub>	2	23±1	Éponge en polyuréthane (côté : 1.2 cm)	22	2.419	[65]
Lit fluidisé/batch et continue	0.8×10 <sup>-3</sup>	NaHCO <sub>3</sub>	0.88	30	Copolymère polyacrylamide-alginate Billes sphériques (d : 3-5 mm)	22-25	0.6-0.7	[66]
Filtre à sable à lit mobile	-	Methanol	3.4 - 11.0	-	Filtre à sable (d : 1.7 mm)	-	-	[67]



## Chapitre II Moving Bed Biofilm Reactor et le traitement des eaux

### 2.1 Introduction

Les réacteurs à biofilm sont principalement utilisés pour la dégradation des différents types de pollutions organiques dans une eau, avant le développement des réacteurs à biofilm à lit mobile, ils étaient des filtres à ruissellement biologique, des réacteurs à biofilm immergé, à film fixe immergé, des réacteurs à lit fluidisé et des rotatifs biologiques contacteurs [68].

Chaque processus a ses propres avantages et inconvénients, le filtre ruisselant n'est pas efficace en volume, il est difficile d'obtenir une répartition uniforme de la charge sur toute la surface du support dans les biofiltres immergés à milieu fixe. Les biofiltres à média granulaire doivent être exploités de manière discontinue en raison du besoin de lavage à contre-courant en plus de nombreux réacteurs à lit fluidisé présentent une instabilité hydraulique. Pour ces raisons, le procédé de réacteur à biofilm à lit mobile (MBBR) (brevet européen N° 0,575,314, brevet américain N° 5,458,779) a été développé en Norvège à la fin des années 1980 et au début des années 1990 [69,70].

Le procédé MBBR a été développé en Norvège dans les années 80 par la société norvégienne Kaldnes Miljøteknologi AS (maintenant Anox Kaldnes AS) en coopération avec un groupe de recherche sur le traitement de l'eau à NTNU / SINTEF (NTNU - Université norvégienne des sciences et technologies, SINTEF - The Foundation for Recherche scientifique et industrielle). La première installation MBBR est devenue opérationnelle en 1990 à Laerdal, Norvège. En 2002, le Kaldnes Miljøteknologi a commencé à fusionner avec la société suédoise Anox AB, ce qui a conduit à la fondation d'AnoxKaldnes en 2004. En 2006, un travail mené par Rusten et al [71] sur la conception et l'exploitation des réacteurs à biofilm à lit mobile de Kaldnes ont rapporté que la technologie MBBR était «commerciallement réussie» avec plus de 400 installations de traitement des eaux usées à grande échelle dans 22 pays différents à travers le monde. En 2007, Veolia avait acheté les Anox Kaldnes et conservé les mêmes noms pour les bioporteurs développés (**Tableau 2.1**). De nombreuses sociétés avaient commercialisé d'autres types de bioporteurs de tailles, de formes et de matériaux différents de la série Anox Kaldnes (quelques exemples dans le **Tableau 2.2**). En 2014, plus de 1200 usines de traitement des eaux usées dans au moins 50 pays ont utilisé la technologie MBBR [72].

Le procédé MBBR est l'un des processus avancés de traitement aérobie des eaux usées ayant des avantages à la fois des systèmes de croissance fixés et suspendus. Il est basé sur les supports en plastique sur lesquels la biomasse se fixe et se développe [73]. Il s'agit d'un réacteur à biofilm non obturable, fonctionnant en continu, sans lavage à contre-courant, faible perte de charge et grande surface spécifique de biofilm [74].

Les MBBR fonctionnent de manière similaire au processus de boues activées. Le biofilm se fixe sur des petits éléments porteurs suspendus en mouvement constant dans tout le volume du réacteur [75]. Un écran est prévu à l'extrémité de sortie du réacteur pour empêcher les médias de sortir du réacteur. Contrairement au réacteur à boues activées, il ne nécessite aucun recyclage de boues, comme c'est le cas dans d'autres réacteurs à biofilm. Puisqu'il n'y a pas de recirculation des boues, seule la biomasse excédentaire doit être séparée, ce qui est un avantage considérable par rapport au processus de boues activées [70]. De plus, la nitrification et la dénitrification peuvent également être réalisées avec succès dans les processus basés sur le biofilm, car les nitrifiants, qui sont des micro-organismes à croissance lente, sont retenus par le biofilm [76].

Cependant, la technologie MBBR présente certains inconvénients car elle peut avoir des coûts énergétiques élevés en raison de l'aération, principalement nécessaire pour le mélange des bioporteurs à des fins d'oxygène [77]. Il est difficile de garantir les conditions d'un réacteur à cuve agitée continue (CSTR) dans le MBBR, car des propriétés hydrodynamiques mal conçues peuvent entraîner la formation de zones stagnantes à l'intérieur des réacteurs. La question de savoir si les zones stagnantes ont un impact constant sur les performances globales du réacteur n'a pas encore été prouvée et bien comprise [78]. Les coûts d'investissement associés à la construction des réacteurs et des bioporteurs peuvent contrôler la faisabilité de sa mise en œuvre.

## **2.2 Types et caractéristiques des bioporteurs**

### **2.2.1 Bioporteurs actuels en application à grande échelle**

Les infrastructures existantes peuvent être équipées et adaptées pour héberger des configurations MBBR avec de petites modifications, ce qui en fait un outil précieux pour une mise à niveau des usines de boues activées conventionnelles [79]. Puisque c'est une technologie compacte avec de petites empreintes et une facilité de fonctionnement, elle est également une option pour la petite mise en œuvre décentralisée du traitement des eaux usées.

Un aperçu des configurations MBBR établies et potentielles est examiné dans une section distincte ci-dessous[79].






Les réacteurs à biofilm à lit mobile sont appliqués dans des systèmes aérobies et anaérobies / anoxiques (**Figure 2.1.**) en fonction de l'application du procédé. Dans le cas d'un traitement aérobique (par exemple, élimination de la DCO/DBO et nitrification), l'aération est fournie à un niveau supérieur aux besoins en oxygène dissous (OD) pour l'activité microbienne. L'air est principalement alimenté par des systèmes d'aération grossière en raison de l'objectif de mélange et, par conséquent, contribuant à l'augmentation des coûts d'exploitation. Par conséquent, le mélange dans les systèmes aérés se fait par agitation tandis qu'en configuration anaérobie/anoxique, un mélange mécanique et/ou une recirculation peuvent être utilisés [70]. Le mélange dans les systèmes MBBR est difficile, en raison du potentiel de stagnation des bioporteurs et, en particulier, au début du développement du biofilm. En effet, lorsque les bioporteurs ne sont pas colonisés et que le biofilm n'est pas encore établi, ils flottent en raison de leur plus faible densité par rapport à l'eau. À mesure que la population microbienne commence à se fixer et à se développer sur la surface protégée du bioporteur, elle devient plus lourde (une plus grande densité que l'eau) et donc les capacités de mélange sont améliorées. Cependant, des régions stagnantes à l'intérieur du réacteur peuvent encore exister en raison de mauvaises configurations de flux d'air. Par conséquent, les propriétés de mélange pourraient être compromises même après une longue période de fonctionnement depuis le démarrage du réacteur et les systèmes d'aération sont d'une importance cruciale pour améliorer les performances du procédé MBBR [71].




Les premiers bioporteurs utilisés dans les systèmes MBBR étaient les AnoxKaldnes <sup>TM</sup> de la série K (**Tableau 2.1**). Ces bioporteurs sont en polyéthylène d'une densité de 0.95 g cm<sup>-3</sup>[80]. La série K biocarriers diffère par les dimensions (diamètre et hauteur), la surface disponible pour le développement de biofilms, les différentes sections (c'est-à-dire les ouvertures) définies par les jantes. La surface disponible efficace est la partie protégée du bioporteur entier qui n'a aucun contact avec d'autres bioporteurs pendant le mélange. Selon le procédé, qu'il soit aérobique ou anoxique/anaérobie, les bioporteurs utilisés peuvent changer. Par exemple, le bioporteur idéal pour un biofilm hétérotrophe aérobique à croissance rapide aurait des ouvertures plus larges pour éviter la perte de surface efficace causée par le colmatage. En revanche, le biofilm autotrophe à croissance lente (par exemple, dans les processus de nitrification et d'anammox) profite à de plus petites ouvertures et à une plus grande surface,

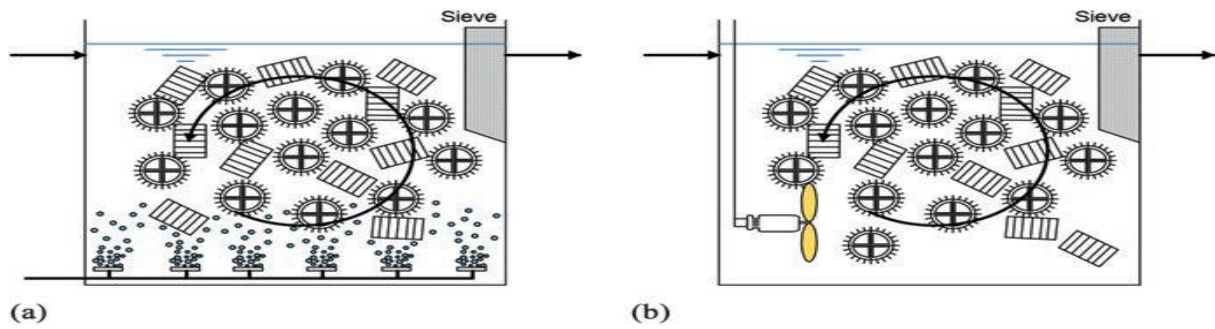
comme dans Biofilm Chips et en particulier les bioporteurs Z récemment développés (**Tableau 2.1**). Par conséquent, les augmentations conduisant à la possibilité de contrôler l'épaisseur du biofilm et, par conséquent, le biofilm principalement actif est conservé, ce qui conduit à un plus grand transfert de masse et des taux d'activité spécifiques [81]. Cependant, dans le Biofilm Chips, la croissance du biofilm et son vieillissement conduisent finalement au colmatage des pores. La conséquence est que la surface revendiquée de  $1200\text{m}^2\text{m}^{-3}$  pourrait être réduite à la surface plate supérieure/inférieure du bioporteur lui-même, réduisant ainsi de manière cohérente sa surface active réelle avec des limitations accrues de transfert de masse conduisant à des incertitudes pour la conception du processus.

L'optimisation des limitations de transfert de masse a été obtenue par l'idée d'avoir au lieu d'ouvertures, une surface plane avec une grille de hauteur définie. Le biofilm se développera donc dans les différents « puits » jusqu'à une certaine épaisseur (par exemple  $200\ \mu\text{m}$  dans le Z-200) contrôlée par la collision entre les bioporteurs par mélange. De cette manière, un biofilm vieilli épais est évité, favorisant le renouvellement du biofilm dans des processus où un biofilm épais n'est pas souhaité. D'autres types de bioporteurs et de fabricants sont présentés dans le **Tableau 2.2**.

**Tableau 2.1** Caractéristiques principales des porteurs AnoxKaldnes <sup>TM</sup> adapté de [82].



Veolia AnoxKaldnes	Superficie ( $\text{m}^2\text{m}^{-3}$ )	Diamètre Normal (mm)	Hauteur normale (mm)	Forme des supports
<b>K1</b>	800	8	9	
<b>K2</b>	350	15	15	
<b>K3</b>	500	25	10	
<b>K5</b>	800	25	3.5	
<b>C2</b>	220	36	30	-
<b>F3</b>	200	46	37	

<b>BiofilmChip M</b>	1.200	48	2.2	
<b>BiofilmChip p</b>	900	45	3	
<b>Z-200</b>	-	30	-	
<b>Z-400</b>	-	30	-	



**Figure 2.1** Fonctionnement des variantes du procédé MBBR (Adapté de Rusten [71]). (a) Réacteur aérobie, (b) Réacteur anaérobie-anoxique.

Tableau 2. 2 Caractéristiques des supports plastiques commercialisés [82].

Nom du fabricant	Superficie (m <sup>2</sup> m <sup>-3</sup> )	Formes	Nom du fabricant	Superficie (m <sup>2</sup> m <sup>-3</sup> )	Formes	Nom du fabricant	Superficie (m <sup>2</sup> m <sup>-3</sup> )	Superficie Protégée(m <sup>2</sup> m <sup>-3</sup> )	Formes
Headworks AC450	402		WardenBiomediaBiofil	135		BNC011	790	520	
Headworks AC515	485		WardenBiomedia Biobale	120		BCP750-0.93	750	635	
Headworks AC920	680		WardenBiomedia Biomarble	310		BCP 750-1.00	750	635	
AqWise	650		WardenBiomedia Biopipe	600		BCP750-1.2	750	635	
Nexom Bioportz	589		WardenBiomedia Biopipe <sup>+</sup>	500		BCP 020	610	400	
BiowaterTechnology BWT15	828		WardenBiomedia Bioflo <sup>+</sup>	800		BCP 040	340	272	
BiowaterTechnology BWTX	650		WardenBiomedia Biotube	1000		BCN 030	320	259	
BiowaterTechnology BWTS	650		Creotech Aqua Curler Advance X-1	800		BCN 060	229	189	
EVOQUA CM-10D <sup>TM</sup>	750		Creotech Aqua Cylinder plus	350-550		BCNP175	175	-	
Bioprocess H2O BioFAS <sup>TM</sup> B-460	420		Creotech Aqua Cylinder X-O	600-900		BCP115	115	-	
Bioprocess H2O BioFAS <sup>TM</sup> B-585	515		Energyequipments Private Ltd	400		BCP100	100	-	
PEWE ASO <sup>TM</sup>	650		Mutag BioChip <sup>TM</sup>	5,500		-	-	-	-
Nisshinbo Chemical Inc APG	-		-	-	-	-	-	-	-

2.2.2 Diminution de la période de démarrage grâce aux modifications de la surface porteuse

L'architecture du biofilm et la composition microbienne semblent également être influencées par le matériau support (par exemple, le polyuréthane, le polyéthylène, le polypropylène, le chlorure de polyvinyle, le polyéthylène haute densité (PEHD), nylon) [83].Le polyéthylène haute densité est le matériau le plus préféré pour produire des bioporteurs en raison de sa plasticité, de sa densité et de sa durabilité. Cependant, une hydrophobie élevée et une faible énergie de surface limiterait la fixation initiale des cellules

microbiennes dans les supports en PEHD [84]. L'augmentation des taux d'attachement bactérien, par conséquent, la réduction du démarrage de la formation de biofilm mature pourrait consister à modifier les supports plastiques de surface grâce à des propriétés physico-chimiques (par exemple, l'hydrophobie et/ou des charges positives, les types ou l'emplacement de groupes superficiellement fonctionnels) et des moyens biologiques. Plusieurs types de processus peuvent modifier les caractéristiques de surface des matériaux des supports à citer, l'oxydation chimique humide ; le greffage ou mélange de polymères et la croissance hétérotrophique. L'oxydation chimique humide sur support PEHD Anox K<sup>TM5</sup> /potassium KMnO<sub>4</sub>, le réactif de Fenton et l'ozone, s'est avérée efficace pour accélérer le processus de désammonification [85]. Le greffage de polymère (par exemple, modification chimique et/ou par radiation ou techniques plasma et enzymatique) est la liaison covalente des monomères sur une chaîne polymère modifiant la structure du matériau d'origine [86]. Lackner et al.[87]ont amélioré l'épaisseur, la densité, l'homogénéité et la résistance au cisaillement du biofilm de la communauté des nitrifiants en introduisant un groupe fonctionnel amino (-NH<sub>2</sub>) sur des supports en plastique polyéthylène (PE) et polypropylène (PP). Une alternative au greffage est le mélange de polymères (par exemple, avec du disocyanate de toluène, du polyéther polyol, un stabilisateur de mousse, etc.) pour augmenter les charges positives et l'hydrophobicité [83]. Les bioporteurs en polyéthylène haute densité sont chargés négativement ainsi que la surface des cellules bactériennes, ce qui pourrait entraîner une répulsion électrostatique. Mao et al., 2017, ont modifié le HDPE en utilisant deux différents polymères chargés positivement en tant que polymère organique cationique (c'est-à-dire le polyquaternium-10 (PQAS-10) et les polyacrylamides cationiques (CPAM)) et comparent les performances à un témoin HDPE. La période de démarrage pour atteindre stabilité de la concentration de biofilm a été trouvée constamment réduite pour le PQAS-10 et la CPAM qui est de 14 jours par rapport au PEHD non modifié qui est de 30 jours. Les méthodes biologiques de pré-revêtement peuvent être plus fiables que la modification chimique/physique du matériau de surface ou du matériau lui-même. La formation préliminaire de biofilms hétérotrophes/autotrophes pour faciliter la prolifération autotrophique dans un démarrage plus rapide a également été utilisée comme approche pour diminuer le développement du biofilm et accélérer l'accomplissement de la performance complète. Klaus et al., 2016 avaient comparé des bioporteurs extraits d'un système intégré à boues activées à film fixe (IFAS) et des porteurs vierges Anox K<sup>TM3</sup> dans le processus de désammonification traitant le centrât. Les bioporteurs retirés du système IFAS ont montré une augmentation rapide des taux d'activité anammox ( $1.1 \text{ g N-NH}_4\text{m}^{-2}\text{j}^{-1}$  et  $1.4 \text{ g N-NO}_2 \text{ m}^{-2}\text{j}^{-1}$ ) par rapport au

contrôle ( $0.2 \text{ g N-NH}_4 \text{ m}^{-2}\text{j}^{-1}$  et  $0.1 \text{ g N-NO}_2 \text{ m}^{-2}\text{j}^{-1}$ ) après seulement un mois de fonctionnement. Une autre étude menée par Kowalski et al [89] a montré que la colonisation préliminaire des biofilms hétérotrophes/autotrophes favorisait l'attachement rapide des bactéries anammox. Une augmentation de l'activité anammox de 400% avec des valeurs de  $0.25 \text{ g N-NH}_4 \text{ g MVS}^{-1}\text{j}^{-1}$  a été observée par rapport aux bioporteurs vierges.

## 2.3 Développement de biofilms et rôle des substances polymères extracellulaires

### 2.3.1 Développement de biofilm

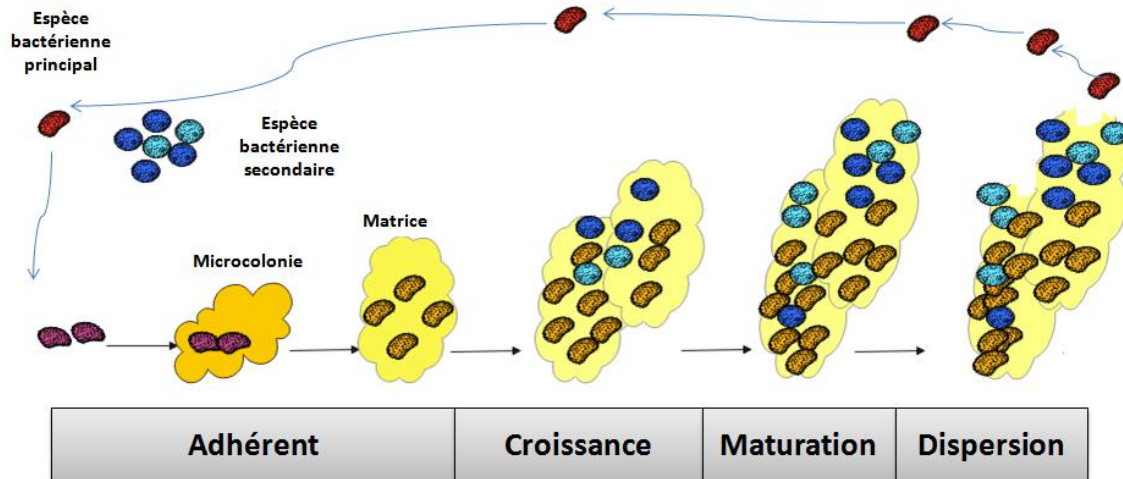
Le biofilm, par définition, est un microécosystème hétérogène complexe d'interactions de communautés microbiennes partageant le même environnement [90]. La formation de biofilm se déroule en plusieurs étapes[91], à commencer par :

- **L'adsorption** des macromolécules et des nutriments à la surface ;
- **Le transport** cellulaire initial ;
- **L'adhésion et l'attachement irréversible.**

Par conséquent, la colonisation et la croissance du biofilm se développent dans la structure mature par la formation de microcolonies et la production de substances polymères extracellulaires (**EPS**). Enfin, le biofilm atteindra un état d'équilibre semi-stable entre sa croissance et son détachement. Un détachement de la biomasse de la structure du biofilm mature se produit parallèlement à la croissance du biofilm par différents moyens[92]:

- **L'abrasion** par collision de porteurs ;
- **L'érosion** par les forces de cisaillement liquide en vrac ;
- **Ecorchage** ou perte de segments de biofilm des supports ;
- **Pâturage** par des protozoaires et des métazoaires en liberté.

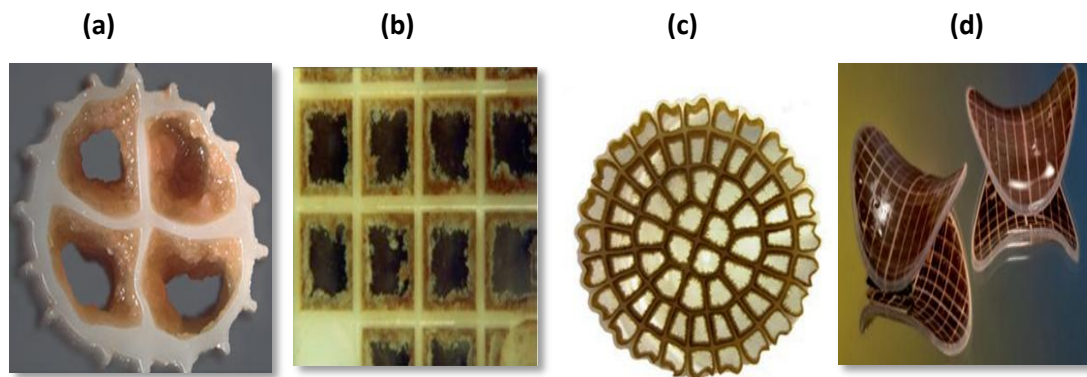




**Figure 2.2** Étapes de la formation et de la dispersion d'un biofilm bactérien.

Dans le cas des réacteurs à biofilm dans lesquels l'élimination simultanée de la matière organique et de la nitrification a lieu, outre la compétition pour l'oxygène, les bactéries hétérotrophes et nitrifiantes rivalisent pour l'espace, générant éventuellement une stratification dans la structure du biofilm. La croissance plus rapide des bactéries hétérotrophes conduit à cette communauté microbienne se situant dans les couches les plus externes du biofilm, où la concentration de substrat et la desquamation de la biomasse sont plus importantes. En revanche, des bactéries nitrifiantes sont présentes dans les couches profondes du biofilm. Ainsi, une couche hétérotrophique peut se former sur une communauté nitrifiante, ce qui est désavantageux pour cette dernière, notamment lorsque la concentration d'oxygène dissous (OD) dans le milieu liquide est faible. Cette limitation de l'OD, qui est le résultat de la consommation et de la résistance au transfert de masse à travers la couche hétérotrophe, affecte négativement les performances de la nitrification et peut entraver l'établissement des nitrifiants. En revanche, si le niveau d'OD est élevé ou suffisant pour surmonter les limitations de diffusion dans le biofilm, la couche hétérotrophique peut avoir un effet positif sur la communauté microbienne nitrifiante, la protégeant de la desquamation [93]. Concernant cette question, une étude intéressante a été réalisée par J. P. Bassin et al [94], qui ont montré que la présence de carbone organique au stade initial de fonctionnement du réacteur réduisait le temps requis pour former des biofilms nitrifiants stables dans les systèmes MBBR. La réduction progressive de la DCO a provoqué un enrichissement du biofilm avec des nitrifiants, comme observé par analyse d'hybridation fluorescente in situ (FISH).

La **Figure 2.3** montre le biofilm formé dans différents types de supports AnoxKaldnes® utilisés dans les MBBR. Elle montre en particulier le biofilm cultivé sur des supports Kaldnes K1 à partir d'un réacteur MBBR nitrifiant à l'échelle du laboratoire traitant des eaux usées synthétiques sans apport de DCO. Le biofilm est très compact et dense car il est enrichi avec une croissance lente nitrifiante.



**Figure 2.3** Biofilm établi dans différents supports MBBR. (a) Biofilm sur Anox Kaldnes K1. (b) Biofilm sur Anox Kaldnes BiofilmChip P. (c) Biofilm sur Anox Kaldnes K5. (d) Biofilm sur Anox Kaldnes Z-400.

### 2.3.2 Les substances polymères extracellulaires (EPS)

Les substances polymères extracellulaires (EPS), produites par des micro-organismes, jouent un rôle important dans les processus de traitement biologique des eaux usées. Dans le processus de boues activées, les **exopolymères** sont responsables de la stabilité mécanique des floes. Dans les réacteurs à biofilm, l'EPS (en particulier les polysaccharides) est crucial pour l'adhésion des bactéries aux supports [95]. Dans les processus de croissance attachés, les exopolymères fonctionnent comme des agents de cimentation (colle), facilitant la fixation des micro-organismes sur le support et les uns aux autres.

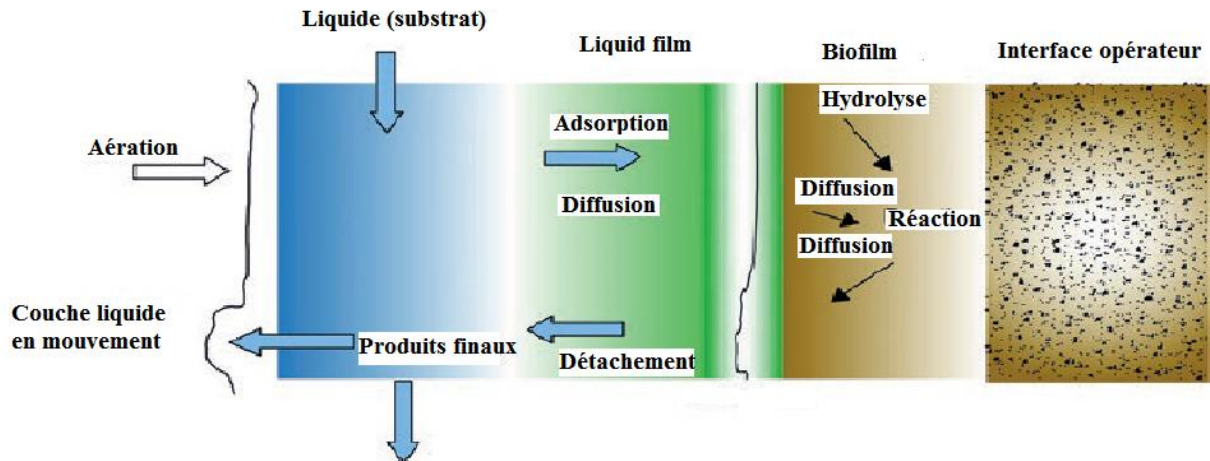
Cependant, il existe des situations où la concentration d'EPS est si élevée qu'elle peut entraîner des problèmes de fonctionnement. Les substances exopolymères affectent la DCO totale dans le système et augmentent la turbidité de l'effluent traité. Ainsi, la qualité de l'effluent final est affectée négativement. Gonçalves [96], exploite un MBBR soumis à des charges organiques élevées (4.4-8.6 kg DCO/m<sup>3</sup> jour), et a observé une production importante de polysaccharides. Dans de nombreux cas, afin d'éliminer l'excès d'exopolymère sécrété par les microorganismes, il est nécessaire d'ajouter un traitement physico-chimique, comme la coagulation/floculation, au processus biologique. Cependant, les entreprises préfèrent clairement éviter cette solution car elle contribue à augmenter le coût global du traitement.

Plusieurs études ont démontré que les EPS sont composées de nombreux composés organiques. Il s'agit notamment des polysaccharides, des protéines, des lipides et des acides nucléiques [97]. La complexité de la matrice exopolymère entrave sa caractérisation et nécessite non seulement quelques étapes préliminaires, impliquant l'extraction et la collecte de ces exopolymères, mais également des procédures analytiques bien définies.

La complexité des caractéristiques du biofilm est liée à divers facteurs, notamment la nature des substrats, la diversité des espèces microbiennes et les caractéristiques du matériau de support [98]. Il est important de noter que, bien que plusieurs études ont été réalisées, une compréhension complète des processus de biofilm n'a pas encore été établie. Il existe un grand nombre de variables à étudier, cherchant à élargir nos connaissances concernant ces agrégats bactériens. Il en va de même pour la composition de substances exopolymères qui, en raison de leur complexité, sont devenues le centre d'étude de plusieurs chercheurs[98].L'étude de la production de ces exopolymères et de leur caractérisation est essentielle pour une meilleure compréhension des processus qui se produisent dans le biofilm.

La caractérisation des substances polymères extracellulaires associées aux systèmes biologiques de traitement des eaux usées a montré une variation considérable dans la composition et la quantité de ces substances. Cette variation peut être attribuée aux différentes réponses obtenues dans les méthodes utilisées pour l'extraction des composants EPS des flocons microbiens et des biofilms et aux différentes méthodes analytiques utilisées pour quantifier les différentes fractions[97].

L'influence des méthodes d'extraction sur la composition des exopolymères est particulièrement notable, comme en témoignent plusieurs résultats rapportés dans la littérature. Ainsi, lors de la comparaison de la composition d'EPS dans différents bioréacteurs, il est important de se rappeler que les méthodes distinctes peuvent conduire à des résultats très différents. Il est important de souligner que les méthodes analytiques utilisées dans ces déterminations peuvent conduire à des résultats différents concernant la récupération des substances polymères extracellulaires. Un exemple de cela peut être observé dans les travaux menés par[97]. Ces auteurs ont évalué différentes méthodes de quantification des protéines. Lorsque la méthode décrite par Lowry[99] ont été utilisés, ils ont obtenu une concentration cinq fois supérieure à celle déterminée par la méthode de Bradford [100]. En général, la méthode Bradford plutôt que la méthode Lowry est recommandée, car elle a une plus grande sensibilité et est moins sujette aux interférences d'autres composants [101].



**Figure 2. 4** Illustration simplifiée du mécanisme de transport dans les systèmes de biofilm (adapté de Dezotti et al[82] et Ødegaard, [77]).

## 2.4 Considération opérationnel du réacteur

### 2.4.1 Taux de remplissage ( $V_S/V_R$ ) ou fraction de remplissage (%)

La quantité de supports ajoutée au réacteur est communément appelée rapport de remplissage du milieu (rapport du volume occupé par les supports (lit fixe) au volume total du réacteur,  $V_S/V_R$ ) ou simplement la fraction de remplissage (%).

Un avantage du système MBBR est que cette fraction de remplissage peut être modifiée comme souhaité, bien que des valeurs inférieures à 70% soient recommandées afin de fournir un mélange adéquat et permettre un bon mouvement des supports, en évitant les problèmes hydrodynamiques (par exemple, présence de zones stagnantes) [71,79]. Selon Sokół [102], le rapport  $V_S/V_R$  recommandé est de 0.55, bien que certains chercheurs aient montré que les MBBR peuvent fonctionner à des taux de remplissage plus élevés (0.6-0.7). Cependant, comme indiqué ci-dessus, des fractions de remplissage élevées peuvent nuire à l'hydrodynamique du réacteur, ce qui, à son tour, a un effet significatif sur l'épaisseur du biofilm et, par conséquent, sur les performances du procédé.

Par conséquent, la limitation du transfert de masse. Une fois défini le type de bioporteur en termes de surface protégée (c'est-à-dire  $m^2/m^2$ ) et de fraction de remplissage, dans les systèmes aérobies, le volume du réservoir peut être dimensionné. Une fraction de remplissage peut être augmentée pour réduire le volume du réacteur, mais en gardant à l'esprit la question du mélange et la mise à niveau potentielle vers une capacité plus élevée.

### **2.4.2 Hydrodynamique**

Comme dans le cas de tout processus de biofilm, la diffusion des composés dans et hors le biofilm joue un rôle important dans les systèmes MBBR. En fait, le transfert de masse impliqué dans de tels réacteurs est directement lié aux effets de diffusion [71].

Par conséquent, la plupart des caractéristiques attribuées à la croissance microbienne dans les biofilms peuvent être expliquées par des phénomènes de transfert [103]. Dans les systèmes à biomasse en suspension, le transport des solutés du milieu liquide à la cellule est un processus relativement rapide et n'est généralement pas l'étape limitante du bioprocédé qui se produit dans la cellule. D'un autre côté, les agrégats microbiens présents dans les biofilms sont des environnements densément emballés où l'écoulement de liquide est limité [103]. Dans les agrégats microbiens relativement épais, les distances de diffusion sont suffisamment grandes pour que le transport du soluté vers l'intérieur des cellules microbiennes devienne lent par rapport à la cinétique de biodégradation. Dans cette situation, des gradients de concentration de soluté peuvent être établis dans le biofilm et doivent être pris en compte [104].

Ainsi, l'épaisseur effective du biofilm, qui correspond à la profondeur à laquelle le biofilm est pénétré par le substrat, est d'une grande importance. Étant donné que cette profondeur doit être inférieure à 100  $\mu\text{m}$  pour la pénétration complète du substrat, le biofilm idéal doit être mince et uniformément réparti sur la surface du support. Pour obtenir ces caractéristiques, la turbulence dans le réacteur, ainsi que l'action des forces de cisaillement qui en découlent, est d'une importance cruciale à la fois pour le transport des substrats vers le biofilm et pour le maintien d'un biofilm mince [71].

Le mouvement chaotique des porteurs dans le bioréacteur provoqué par les turbulences provenant du flux d'air permet la desquamation naturelle du biofilm, ce qui conduit à la rénovation de la biomasse. Par conséquent, les bactéries mortes peuvent être éliminées, laissant un espace pour que le porteur soit colonisé par de nouvelles bactéries. Ce scénario met en évidence l'importance d'assurer de bonnes conditions hydrodynamiques, ce qui implique non seulement le modèle du mélange en phase liquide (mélange parfait ou non) mais est également lié à la ségrégation des porteurs et à l'apparition de zones stagnantes.

En ce qui concerne le modèle de mélange en phase liquide, des tests hydrodynamiques préliminaires sont généralement effectués pour déterminer si le bioréacteur a ou non un comportement de mélange parfait. Ces tests sont normalement effectués à l'aide de traceurs

(par exemple, NaCl) et sont de type stimulus réponse, c'est-à-dire qu'une quantité connue de traceur est ajoutée à l'influent du bioréacteur au début du test. L'addition du traceur peut être effectuée instantanément (ajout d'un petit volume de solution de traceur en très peu de temps) ou en continu (alimentation du réacteur pendant une durée équivalente à au moins trois fois le temps de rétention hydraulique). La concentration de traceur dans l'effluent est ensuite mesurée en continu en fonction du temps écoulé ou à des intervalles de temps prédéterminés. La masse totale de traceur ajoutée et sa concentration initiale étant connues, la concentration théorique de traceur dans l'effluent en fonction du temps écoulé depuis le début de l'essai peut également être calculée. Enfin, les courbes de distribution des temps de séjour obtenues lors des essais hydrodynamiques à l'aide d'un traceur salin ou autre et celles liées au modèle de mélange parfait peuvent ensuite être comparées. Dans le cas du MBBR en particulier, ces essais préliminaires peuvent être démarrés avec le réacteur contenant une certaine fraction de remplissage de milieu qui peut être progressivement augmentée afin d'observer l'influence du taux de remplissage sur le régime hydraulique du réacteur (**partie plus développée dans le chapitre III**).

L'un des facteurs qui affectent fortement l'hydrodynamique d'un bioréacteur est l'augmentation d'échelle. Bien que, en général, la phase liquide présente un comportement de mélange parfait, dans la plupart des cas, en raison des débits d'air relativement élevés qui sont utilisés, la turbulence et la possibilité subséquente de collisions entre les particules peuvent présenter des intensités différentes à des échelles distinctes. Néanmoins, quelle que soit l'échelle à laquelle le réacteur est exploité (laboratoire, pilote ou pleine échelle), plus la turbulence appliquée au système est intense, plus la formation de biofilm sera importante, ce qui entraînera une augmentation de la concentration de suspension solides en phase liquide [105].

### **2.4.3 Oxygène dissous (OD)**

La teneur en oxygène dissous est une variable limitante dans les processus de traitement biologique. Une concentration de  $O_2$   $mg.L^{-1}$  est généralement adoptée comme concentration minimale requise pour le fonctionnement des réacteurs biologiques aérobies visant à éliminer les matières organiques [106]. Cependant, les systèmes à biomasse immobilisée peuvent nécessiter une plus grande concentration d'OD en raison de la limitation de diffusion inhérente à ces processus de biofilm.

Dans le cas des réacteurs à biofilm à lit mobile, l'apport d'oxygène par bullage d'air est chargé non seulement de fournir de l'air aux microorganismes mais également de maintenir les supports en suspension. À cet égard, le débit d'air utilisé dans les systèmes MBBR pour maintenir les supports en suspension est beaucoup plus élevé que celui nécessaire dans les réacteurs à biomasse en suspension.

Compte tenu de la double fonction de l'aération dans les systèmes MBBR, la conception des aérateurs doit être réalisée de manière à ce que les bulles d'air générées présentent une taille adéquate. Les bulles ne doivent pas être très grandes, car cela entraînerait une baisse substantielle du coefficient de transfert d'oxygène ( $K_{La}$ ). Les petites bulles, en revanche, favorisent le transfert d'oxygène vers le milieu liquide mais ne favorisent pas un mouvement de support suffisant. À cet égard, les meilleures conditions d'alimentation en air doivent être établies pour permettre un transfert d'oxygène correct vers le milieu liquide et un mouvement adéquat du support, empêchant un écoulement excessif du biofilm des supports.

#### **2.4.4 Conditions d'écoulement et de mélange**

Une turbulence adéquate est idéale pour des performances efficaces du système. La nature du support utilisé nécessite le développement d'un biofilm très fin, uniformément réparti et lisse pour permettre le transport du substrat et de l'oxygène à la surface du biofilm. À cet égard, des biofilms épais et duveteux ne sont pas souhaités pour ce système. Une turbulence adéquate élimine l'excès de biomasse et maintient une épaisseur adéquate de biofilm. Une épaisseur de biofilm inférieure à 100  $\mu\text{m}$  pour une pénétration complète du substrat est généralement préférée. Une turbulence adéquate maintient également la vitesse d'écoulement nécessaire pour des performances efficaces du système. Une turbulence extrêmement élevée détache la biomasse du support et n'est donc pas recommandée. De plus, la collision et l'attrition des milieux dans le réacteur provoquent le détachement du biofilm de la surface extérieure des milieux. Pour cette raison, le support MBBR est pourvu d'ailettes à l'extérieur pour protéger la perte de biofilm et favoriser la croissance du biofilm [107].

#### **2.4.5 Observation microscopique du biofilm**

Le biofilm formé sur les supports des systèmes MBBR, en plus de contenir des cellules bactériennes responsables de l'élimination des matières organiques et inorganiques, peut présenter une microfaune très diversifiée, caractérisée par la présence d'un grand nombre de micrométazoaires et de protozoaires.

Dans de nombreux cas, en raison de leur sensibilité aux variations des conditions du procédé (par exemple, les concentrations de substrat et d'oxygène dissous et la présence de substances toxiques), les protozoaires et les micrométazoaires sont utilisés comme indicateurs de la performance du traitement du procédé. Comme ils se nourrissent de bactéries vivantes, la turbidité et, par conséquent, la teneur en particules organiques des effluents traités peut être réduite. De plus, les bactéries pathogènes peuvent être éliminées par ces organismes.

## 2.5 Les domaines d'utilisation des systèmes MBBR

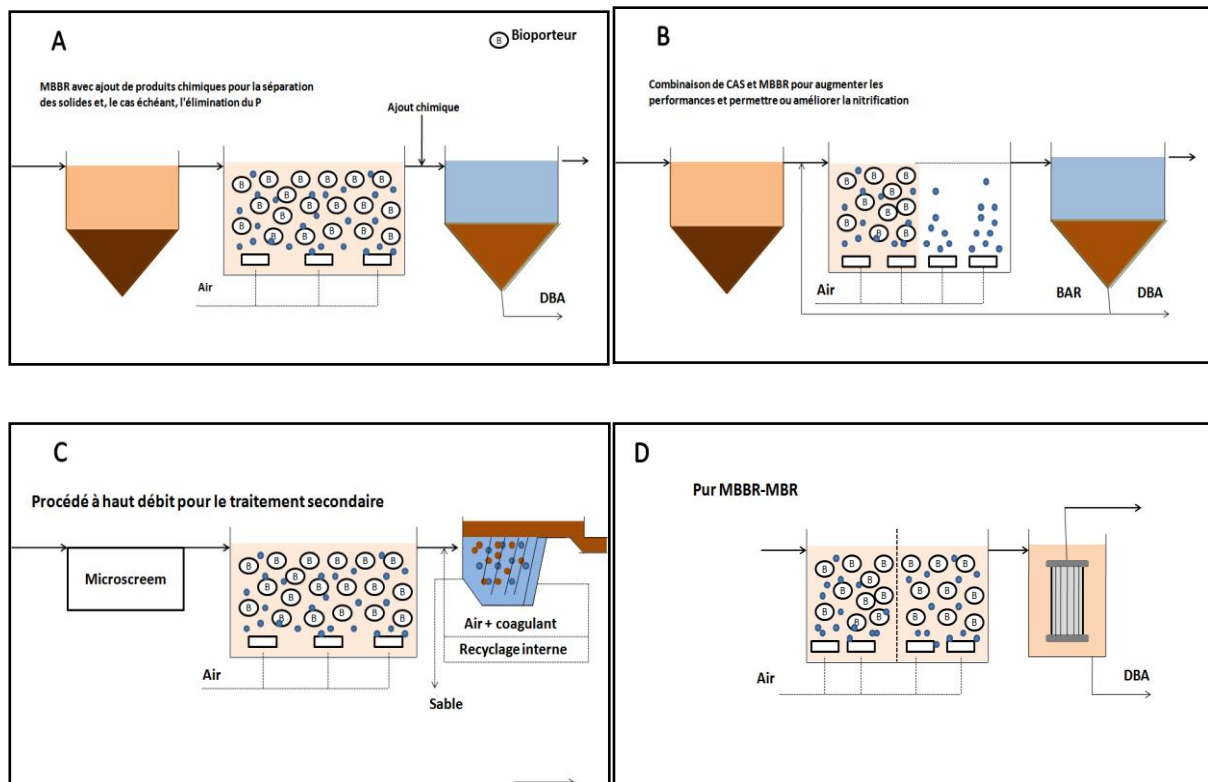
### 2.5.1 Élimination de la charge carbonée

L'élimination des matières organiques carbonées (évaluées par la DCO ou la DBO) avec la technologie MBBR peut être largement utilisée pour améliorer les performances et les capacités des réacteurs biologiques à boues activées conventionnelles existantes. La **Figure 2.5** présente quatre configurations différentes dans lesquelles l'élimination du carbone est traitée par l'utilisation de bioporteurs. Sur la **Figure 2.5A**, une configuration avec deux systèmes de clarification et un MBBR pour l'élimination du carbone est représentée. La conception du MBBR (c.-à-d. la taille et le nombre de réservoirs) dépend des caractéristiques des eaux usées et des exigences de limitation des effluents. Par exemple, en augmentant le nombre de réservoirs ou le temps de rétention hydraulique (HRT), la nitrification peut être facilement réalisée ainsi qu'une étape physico-chimique (Coagulation/Floculation) pour l'élimination du phosphore peut être adoptée. Les bioporteurs pourraient également être utilisés dans une première zone aérobie avant les boues activées conventionnelles pour augmenter la capacité de performance, en particulier, augmenter les taux de charge organique comme une mise à niveau pour la station de traitement des eaux usées existante (**Figure.2.5B**). Un concept de traitement à haut débit pour le traitement secondaire (**Figure.2.5C**) a été développé sur l'hypothèse qu'une fraction importante de la matière organique comprise entre 65 et 85% et 35-55% du phosphore dans les eaux usées est présente sous forme de matières colloïdales et en suspension [108]. Par précipitation chimique, il est possible d'obtenir une élimination de la matière organique d'environ 70% [109].

La séparation solide pour la technologie MBBR pourrait être traitée avec les systèmes flottation à air dissous (FAD) et à membrane. Les bioréacteurs à membrane conventionnels (MBR) sont basés sur des boues activées avec séparation de la biomasse par des membranes d'ultrafiltration avec une taille de pores typique de 40  $\mu\text{m}$  pour les solides en suspension dans une liqueur mixte (MES) allant de 7 à 10  $\text{g MES m}^{-3}$ [110]. La mise en œuvre de la



technologie des membranes, cependant, augmente la consommation d'énergie (par exemple, les coûts opérationnels) pour le lavage à contre-courant des membranes afin d'éviter un encrassement et un colmatage accélérés, ce qui ajoute aux coûts élevés des besoins en air pour un bon mélange de bioporteurs. Les membranes peuvent être placées dans le dernier système MBBR ou le suivre comme dans un système MBBR-MBR (**Figure 2.5D**). Une membrane d'ultrafiltration immergée dans du MBBR a montré un problème lié à l'encrassement de la membrane dû aux concentrations de solides [111].



**Figure 2.5** Quatre applications différentes de la technologie MBBR pour l'élimination du carbone.

## 2.5.2 Gestion de l'azote

### 2.5.2.1 Dégradation de l'ammonium

Les bactéries autotrophes aérobies nitrifient l'azote ammoniacal ou deux genres sont historiquement reconnus comme les principaux acteurs. L'ammoniac est oxydé en nitrite par les *Nitrosomonas* tandis que l'oxydation en nitrate par les *Nitrobacter*. Au cours des deux dernières décennies, un certain nombre d'autres genres autotrophes ont été identifiés remplissant ces fonctions [112]. En général, ces micro-organismes sont appelés bactéries oxydantes de l'ammoniac (BOA) et bactéries oxydantes des nitrites (BON). Des découvertes récentes sur *Comammox Nitrospiras*., Une archée oxydante à l'ammoniac, ont révélé leur

présence constante dans les communautés microbiennes attachées en surface [113]. Dans le processus de nitrification, l'oxydation autotrophique de l'ammoniac aérobie en nitrite nécessite 75% de la demande globale en oxygène sur la base des réactions stœchiométriques. Les 25% d'oxygène restants sont nécessaires pour oxyder le nitrite en nitrate. Dans l'ensemble, les exigences d'alcalinité pour l'oxydation de l'ammoniac jusqu'à la synthèse des nitrates et de la biomasse ont été rapportées  $7.14 \text{ g CaCO}_3 \cdot (\text{gN } -\text{NH}_4^+)^{-1}$ . En général, deux configurations possibles capables de réaliser une nitrification complète pourraient être un MBBR pur pour l'oxydation du carbone et de l'ammoniac (**Figure.2. 6A**) ou un système conventionnel de boues activées (CBA) suivi de MBBR de nitrification (**Figure.2.6B**). Sur la **Figure.2.6A**, la différence par rapport à la seule élimination du carbone à haut débit (**Figure.2.6A**) est l'ajout d'un ou de plusieurs réacteurs aux réservoirs globaux éliminant la matière organique. Par rapport aux boues activées conventionnelles, l'élimination du carbone a lieu dans le premier MBBR tandis que la nitrification se produit dans le second MBBR permettant d'optimiser chacun des deux processus indépendamment.

Rusten et al.[114]a montré à travers des applications à grande échelle qu'utiliser un traitement primaire chimiquement améliore l'élimination du phosphore et la DCO, réduisant ainsi la taille du bioréacteur MBBR nécessaire pour obtenir la nitrification, dans ce cas, le taux de nitrification sera plus élevés grâce à une charge de biomasse moindre.

Ødegaard[108]a déterminé que le taux de charge organique sur les concentrations d'ammonium et d'OD est le principal facteur à l'origine des taux de nitrification. En effet, plus le taux de charge organique de la surface est faible, plus le taux d'élimination de l'ammoniac est élevé, ce qui minimise les besoins en oxygène dans les systèmes MBBR.[108]rapporte également une démonstration en application à grande échelle à  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  et une fraction de remplissage de 60% qui a atteint une concentration d'effluent d'ammoniac  $<1 \text{ mg L}^{-1}$  avec des taux de charge en ammoniac de surface d'environ  $1.2 \text{ g N-NH}_4 \text{ m}^{-2}\text{J}^{-1}$ .

L'amélioration des performances ou permettre la nitrification dans les usines de traitement des eaux usées existantes pour atteindre une limite d'ammoniac plus stricte est donc possible grâce à la mise en œuvre du MBBR dans la partie finale du réacteur par une modification minimale (par exemple, une séparation appropriée du réacteur et un tamis pour empêcher la percée des bioporteurs) **Figure.2.6B**. L'élimination du phosphore pourrait également être obtenue par coagulation/Floculation chimique et séparation supplémentaire des solides. La combinaison du MBBR et des systèmes conventionnels de boues activées (CBA) pour

permettre la nitrification dans les usines existantes avec un volume de réacteur insuffisant pour nitrifier avec le CBA uniquement pourrait être obtenue avec les systèmes de boues activées à film intégré (BAFI) [115- 119].

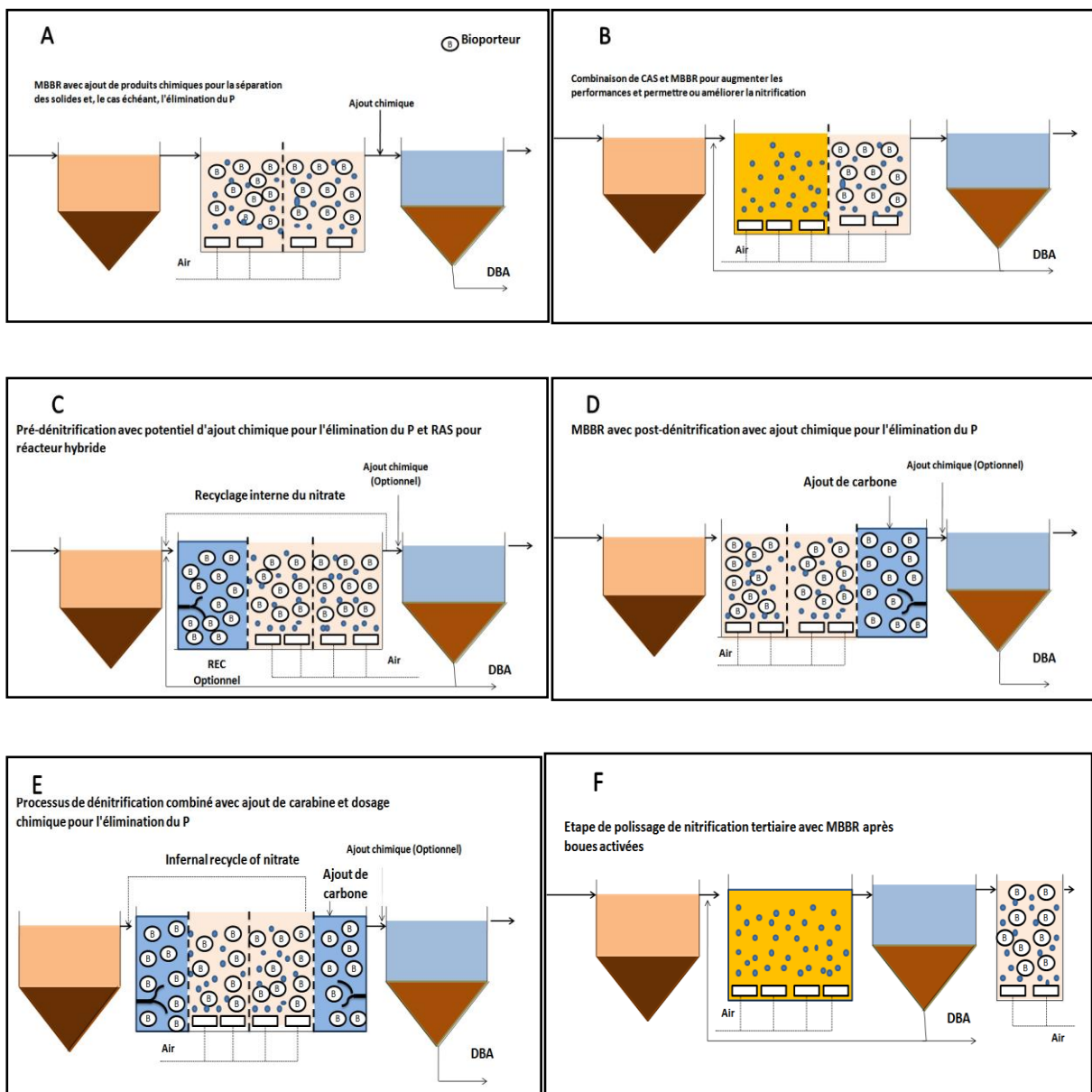
### 2.5.2.2 Dégradation de l'azote

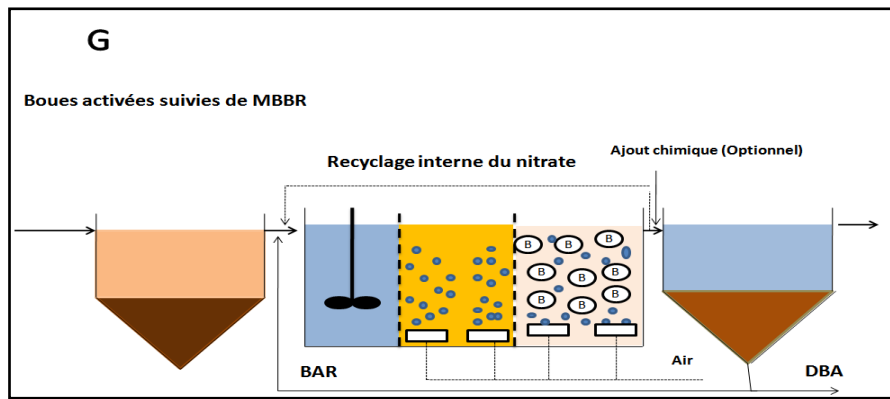
L'élimination conventionnelle de l'azote est effectuée par un procédé de nitrification et de dénitrification. Le processus de dénitrification est défini comme un processus anoxique dans lequel la consommation de carbone facilement biodégradable effectuée en dénitrifiant des hétérotrophes ordinaires conduit à la réduction de la forme oxydée soluble de l'azote (c'est-à-dire le nitrate et le nitrite) en azote gazeux. Les produits intermédiaires tels que l'oxyde nitrique et nitreux (c.-à-d. NO et N<sub>2</sub>O; [120]) sont donc produits à partir de la réduction du nitrate en nitrite par la consommation de 40% de carbone. Par conséquent, l'étape finale dans laquelle le nitrite est réduit en azote gazeux peut avoir lieu en consommant 60% de la source de carbone.

La dégradation Pourrait être obtenue par plusieurs combinaisons de processus, par exemple la prédénitrification (c'est-à-dire l'ajout d'un recyclage interne de nitrate) avec la capacité de précipitation chimique du phosphore et une meilleure séparation des solides, ainsi que par le recyclage de boues activées retournées (BAR) dans des systèmes hybrides (**Figure.2 6C**). Dans la configuration post-dénitrification, une source de carbone facilement biodégradable doit être ajoutée pour augmenter considérablement le taux de dénitrification (**Figure.2.6D**). De plus, dans cette configuration, la précipitation chimique du phosphore peut être améliorée avec une plus grande séparation des solides grâce à une clarification secondaire. Une combinaison de pré et post-dénitrification pourrait être utilisée dans un processus combiné avec addition de carbone et addition chimique pour l'élimination du phosphore (**Figure.2.6E**). La configuration avant et après dénitrification pourrait réduire le nombre total de bioréacteurs de 40 à 50% et réduisent également les besoins en carbone [108]. En effet, plus de la moitié de la dénitrification a lieu dans l'étape de pré-dénitrification.

En cas de taux de charge organique élevé ou de température froide, le processus peut être optimisé en mettant en œuvre une pré-coagulation, donc, en abaissant les composés de carbone particulaire avec la présence principale de matière organique facilement biodégradable conduisant à la dénitrification d'une partie du nitrate recerclé à un débit de recyclage de 0.25 à 0.5. Par conséquent, le nitrate restant pourrait être dénitrifié dans le réservoir de post-dénitrification en minimisant les besoins en source de carbone (par exemple,

le méthanol et l'éthanol). La première anoxique MBBR pourrait être équipée à la fois de mélangeurs et de soufflantes comme dans le cas de la plus ancienne usine MBBR de Lillehammer en Norvège. Par conséquent, lorsqu'un volume de réacteur de nitrification plus important est nécessaire, par exemple en hiver froid (c.-à-d.  $6.3 \pm 0.3$  °C), le réservoir de pré-dénitrification peut passer en mode aérobie et une source de carbone plus facilement biodégradable peut être ajoutée dans la post-dénitrification. MBBR donnant une polyvalence au processus. Dans certains cas, une usine de boues activées conventionnelle peut être équipée d'un processus de post-dénitrification MBBR après clarification secondaire (**Figure.2.6F**) ou comme hybride active le processus de biofilm de boues (**Figure.2.6G**).





**Figure 2.6** Diagrammes de flux de processus MBBR typiques pour la nitrification uniquement (A et B) et nitrification –dénitrification (C, D, E, F et G).

## 2.6 Conclusions

La technologie du biofilm à lit mobile, hybride ou non, a une histoire de près de 40 ans. Plusieurs types de bioporteurs ont été développés au cours des décennies pour améliorer les performances de la technologie MBBR pour soutenir la croissance microbienne grâce aux formes, aux dimensions et aux propriétés physico-chimiques des améliorations des matériaux de support. La diminution du temps de démarrage et l'amélioration des performances des micro-organismes à croissance lente peuvent être obtenues par la mise en œuvre de systèmes hybrides et d'un pré-revêtement biologique ou chimique du matériau bioporteur. L'empreinte compacte et la capacité de haute performance d'élimination du carbone et de l'azote font du MBBR une option précieuse pour les petites installations décentralisées ou les mises à niveau des installations existantes. Les améliorations liées aux propriétés de mélange et aux modèles hydrodynamiques peuvent conduire à l'optimisation des paramètres de conception actuels. Les technologies MBBR en cours de développement ont le potentiel de réduire davantage la pollution et d'optimiser le traitement des eaux usées municipales grâce à des technologies avancées d'élimination de polluant.

## Chapitre III Montages, Méthodes d'analyse et Etude hydrodynamique

### 3.1 Introduction

Le présent chapitre tentera dans sa première partie, de résumer toutes les procédures expérimentales appliquées, les conditions opératoires fixées ainsi qu'un descriptif des montages utilisés dans la présente étude.

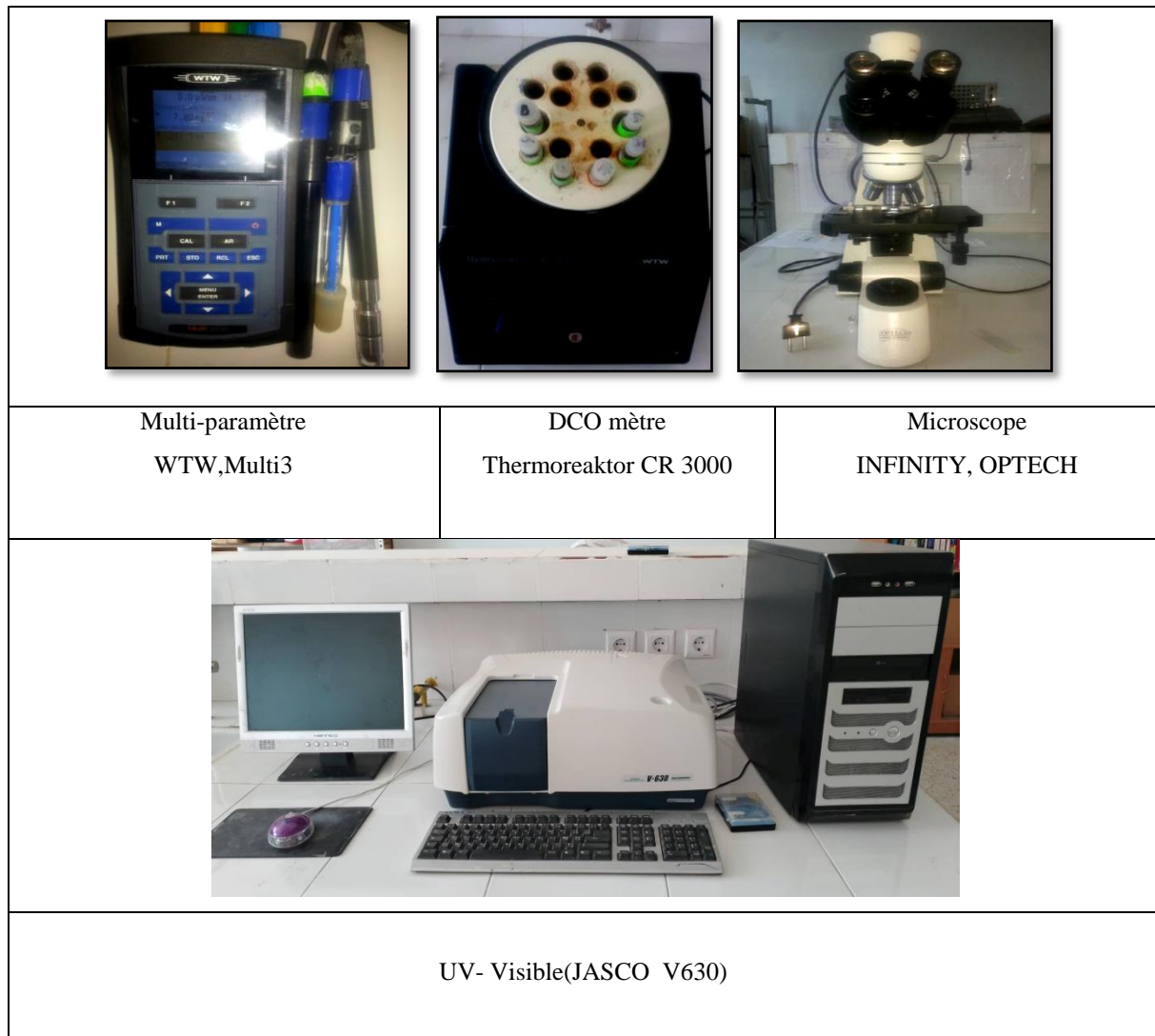
Et dans sa deuxième partie, l'étude hydrodynamique menée, principe, mode opératoire, résultats et discussions seront largement présentées.

### Partie I : Montages et Méthodes d'analyse

Les méthodes d'analyse expérimentales réalisées au cours de cette étude de dénitrification biologique des eaux, sont résumées dans le **Tableau 3.1**, les différents appareillages utilisés sont illustrés dans la **Figure 3. 1**.

**Tableau 3.1** Méthodes d'analyses et de mesures.

Paramètres mesurés	Unité	Méthode d'analyse et de mesure
MES/MM/MVS	mg.L <sup>-1</sup>	NF-T90-105
DCO <sub>s</sub>	mgO <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup>	NF-T90-101
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mgN-NO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup>	Méthode au salicylate de sodium
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	mgN-NO <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup>	Méthode de réactif de Zambelli
Conductivité	μS/cm	Lecture par électrode combinée à sonde de température intégrée Multi-paramètre WTW, Multi 340I
Salinité	%	Lecture par électrode combinée à sonde de température intégrée Multi-paramètre WTW, Multi 340I
pH	-	Lecture par électrode combinée à sonde de température intégrée Multi-paramètre WTW, Multi 340I
Visualisation microscopique		Microscope INFINITY, OPTECH avec logiciel d'analyse des images 'infinity analyse '(Lumenera Corporation).



**Figure 3. 1** Appareillages utilisés.

### 3.2 Les différents montages expérimentaux utilisés

Deux types de réacteurs ont été utilisés dans les différentes études de dénitrification des eaux avec des structures géométriques, des natures (en verre et en plastique) et des capacités différentes de **01L**, **02L** et **2.25 L**, dont le premier est utilisé dans les tests préliminaires en batch, les deux autres dans les études établies en continue (les réacteurs MBBR) (**Figure 3.2, 3.3 et 3.4**).

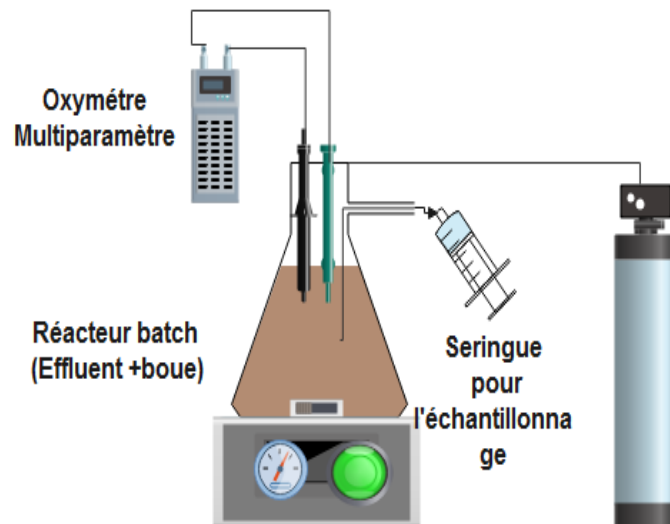


Figure 3. 2 Montage expérimental utilisé dans les études en batch.

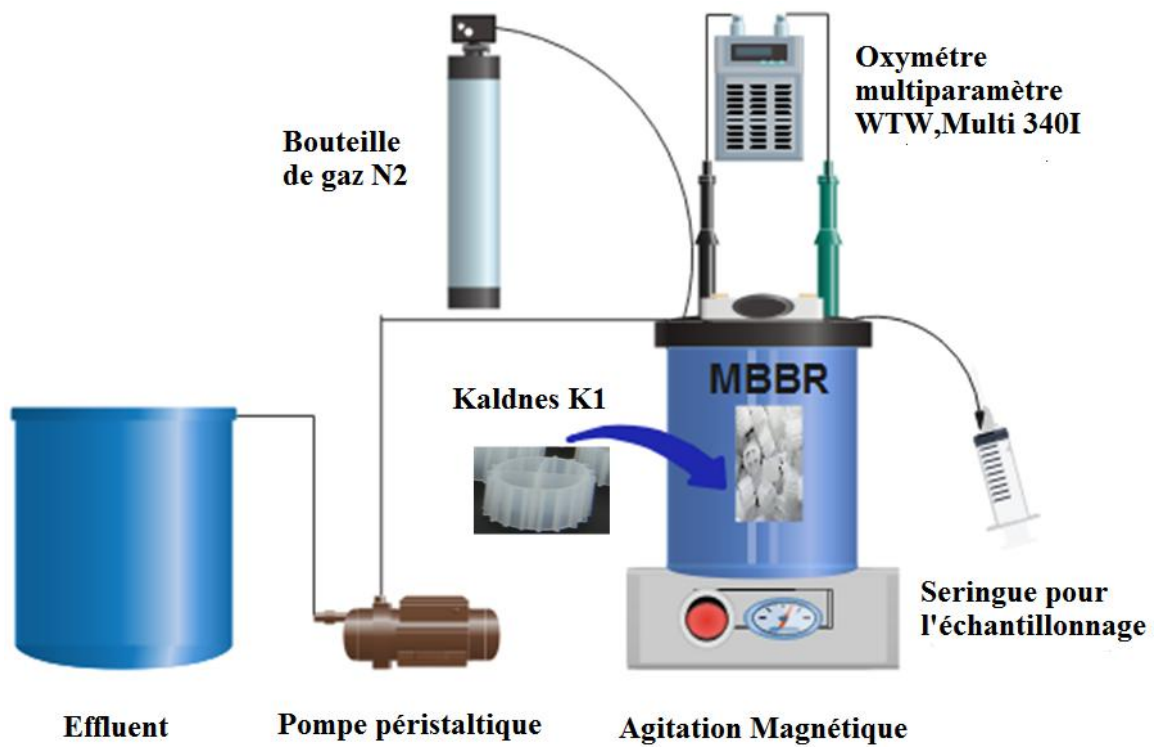
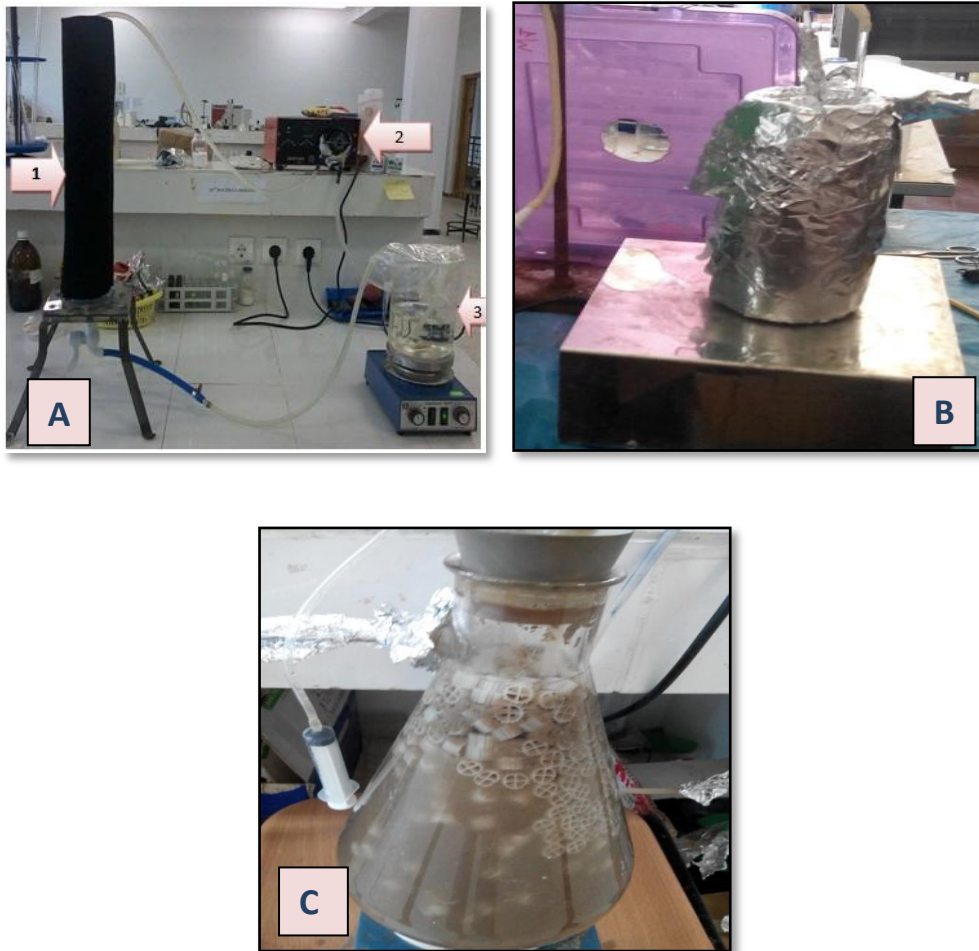


Figure 3. 3 Montages expérimentaux utilisés dans les études de fonctionnement en mode continue.





**Figure 3. 4** Photos des montages utilisés des MBBR avec différents supports

(A :Gravier, B : Kaldnes k1 (Etude 01),C : Kaldnes k1 (Etude 02))

### 3.3Le choix des substrats synthétiques

#### 3.3.1 Le choix des sources de carbone et d'azote

Généralement, la plupart des bactéries dénitrifiantes sont des hétérotrophes et nécessitent donc une source de carbone organique qui a un effet important sur le processus de la dénitrification pour la croissance cellulaire et la réduction des nitrates [121].

Il existe deux types de sources externes de carbone en termes de forme physique : les substances organiques liquides et solides. En général, les substrats organiques liquides en tant que source traditionnelle de carbone ont été appliqués pour l'élimination des nitrates dans la pratique, et ils contenaient principalement des substances organiques de faibles poids moléculaires (principalement l'éthanol, le méthanol et l'acétate) [122], et les saccharides (principalement le fructose et le glucose) [123]. Pendant ce temps, un large spectre de substances organiques solides a été vérifié dans les études en laboratoire, et ces substrats

solides tels que les polymères biodégradables peuvent agir comme sources de carbone et comme support physique pour la formation de biofilm dans le système de dénitrification en phase solide [124].

Certains chercheurs ont constaté que les taux de dénitrification maximaux du glucose atteignent une valeur maximale dans les systèmes de dénitrification par rapport aux autres sources de poly-carbone (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalérate)/poly(lactique) (PHBV/PLA) PHBV / PLA et  $\text{CH}_3\text{COONa}$  [125]. Yun-Yeong indique que l'acétate est plus efficace pour la dénitrification que d'autres sources de carbone, telles que le glucose ou le méthanol, en raison de ses caractéristiques métaboliques.

Pour se fixer sur le substrat carboné le plus proche des effluents réels, R. Zamouche [136] a comparé la biodégradabilité de l'effluent réel prétraité prélevé au niveau de la station locale d'IBN ZIAD avec différentes sources de carbone (acétate de sodium, saccharose et urée), et a démontré par ce test que l'acétate de sodium est le plus proche de substrat réel prétraité par rapport à la vitesse de dégradation, la même source de carbone sera utilisée dans la présente étude.

Le choix du seuil de la charge carbonée exprimée en DCO considérée dans la présente étude a été entre 300 et 500  $\text{mg DCO L}^{-1}$ , proche des charges des influents des stations locales, IBN ZIAD et CHELGHOUM LAID dont les teneurs de la  $\text{DCO}_5$  varient entre 262 et 482  $\text{mg. L}^{-1}$ , et entre 423.35 et 561.35  $\text{mg. L}^{-1}$  respectivement [136].

La dénitrification élimine l'azote des eaux en le convertissant en gaz insolubles qui s'échappent dans l'atmosphère. Il y a cinq composés azotés importants impliqués dans la dénitrification. L'ion nitrate est considéré comme le substrat initial de la dénitrification et l'azote moléculaire est considéré comme le produit de la dénitrification, les ions nitrites, l'oxyde nitrique et l'oxyde nitreux sont considérés comme des intermédiaires.

Différentes sources de nitrate ont été utilisées dans les études de la dénitrification tels que les nitrates de sodium ( $\text{NaNO}_3$ ) [126,127] et les nitrates de potassium ( $\text{KNO}_3$ ) [124,128,129], le  $\text{KNO}_3$  sera utilisé dans la présente étude.

Il est conseillé de respecter le ratio C : N : P de 100 : 5 : 1 afin d'avantager une croissance efficace des bactéries anoxiques dans le bassin et pour stimuler la croissance des micro-organismes dénitrifiants, des traces de minéraux doivent être présents dans les effluents synthétiques.

La composition des effluents synthétiques des eaux usées (EU) et des eaux brutes (EB) utilisés dans cette étude est présentée dans les **Tableaux 3.2** et **3.3**.

**Tableau 3. 2** Composition du milieu de culture d'une eau usée (EU) [19].

Composé	Concentration	Composé	Concentration
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	1.00 g.L <sup>-1</sup>	<b>NaCl</b>	1.00 g.L <sup>-1</sup>
<b>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	1.00 g.L <sup>-1</sup>	<b>MgSO<sub>4</sub></b>	0.20 g.L <sup>-1</sup>
<b>KNO<sub>3</sub></b>	1.00 g.L <sup>-1</sup>	<b>CaCl<sub>2</sub></b>	0.02 g.L <sup>-1</sup>
<b>Solution TE</b>	1.00 mL.L <sup>-1</sup>		
Composition de la solution des élémentstraces TE			
<b>HCl 37%</b>	6.76 mL.L <sup>-1</sup>	<b>ZnCl<sub>2</sub></b>	0.070 g.L <sup>-1</sup>
<b>FeCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O</b>	1.5 g.L <sup>-1</sup>	<b>NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O</b>	0.025 g.L <sup>-1</sup>
<b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	0.06 g.L <sup>-1</sup>	<b>CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O</b>	0.015 g.L <sup>-1</sup>
<b>MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O</b>	0.10 g.L <sup>-1</sup>	<b>NaMoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O</b>	0.025 g.L <sup>-1</sup>
<b>CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O</b>	0.12g.L <sup>-1</sup>	<b>EDTA</b>	5.2g.L <sup>-1</sup>

**Tableau 3. 3** Composition du milieu de culture d'une eau brute (EB) [130].

Composé	Concentration	Composé	Concentration
<b>(i) KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	150mg.L <sup>-1</sup>	<b>(ii) NaHCO<sub>3</sub></b>	325mg.L <sup>-1</sup>
(iii) 1% (v/v) Solution			
<b>FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	0.20 mg .L <sup>-1</sup>	<b>EDTA</b>	0.565 mg.L <sup>-1</sup>
		<b>C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>8</sub> · 2H<sub>2</sub>O</b>	
		(iv) 0.1% (v/v) d'une solution nutritive trace	
<b>ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O</b>	0.1 g.L <sup>-1</sup>	<b>MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O</b>	0.03 g.L <sup>-1</sup>
<b>H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub></b>	0.3 g.L <sup>-1</sup>	<b>CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O</b>	0.2 g.L <sup>-1</sup>
<b>CuCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O</b>	0.01 g.L <sup>-1</sup>	<b>NiCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O</b>	0.02 g.L <sup>-1</sup>
<b>NaMoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O</b>	0.03g.L <sup>-1</sup>		

### 3.3.2 Le choix de rapport DCO/N-NO<sub>3</sub>

La dénitrification, est un mécanisme important d'élimination de l'azote qui peut atténuer les effets de la pollution azotée via la conversion du nitrate en gaz azoté [128]. Des études antérieures ont montré que plusieurs facteurs tels que les espèces de carbone organique et le rapport carbone organique/azote (DCO/N-NO<sub>3</sub>), peuvent affecter l'efficacité de la dénitrification [131].

Wang et al[132] ont utilisé le méthanol comme source de carbone à des rapports DCO/N-NO<sub>3</sub> variant de 1 à 3. Ils ont observé qu'un rapport DCO/N-NO<sub>3</sub> de 1.00 n'était pas suffisant pour que les bactéries se développent, avec une accumulation des nitrites puisque la source de carbone n'était pas suffisante pour achever la conversion.

McAdam et Judd[133] étudie l'effet des différents rapports DCO/N-NO<sub>3</sub> en les variant entre 0.7 jusqu'à 2 et en utilisant l'éthanol comme source de carbone, ils ont constaté également qu'à des faibles rapports une accumulation des nitrites est détectée.

Des rapports de DCO/N-NO<sub>3</sub> de 1, 1.5, 2, 2.5, 2.98 et 3 seront testés dans la présente étude pour se fixer sur le rapport optimal permettant d'atteindre une conversion complète des nitrates en azote moléculaire.

### 3.4 Les inoculas

La qualité et l'origine des souches microbiennes affectent grandement les résultats de la biodégradabilité. Les microorganismes destinés aux inocula peuvent provenir de boues digérées anaérobies, de boues d'épuration, des sols agricoles, des boues de compost, des bactéries isolées ou d'un mélange d'inoculum [134].

La qualité de l'inoculum, peut aussi varier selon le lieu et la saison d'échantillonnage [135]. Ces inocula peuvent être directement incubés ou après un prétraitement principalement, la purgation du substrat exogène résiduel soit par aération ou par un lavage par une eau déminéralisée, eau distillée ou eau de robinet exempte de chlore [136].

Dans cette étude, trois sources de boues activées différentes sont été utilisées comme inoculum pour les différents essais, dont les caractéristiques sont décrites dans le **Tableau 3.4**:

- **INO1** : 1<sup>er</sup> type d'inoculum est une liqueur mixte collectée dans le bassin d'aération de la station d'épuration locale (STEP) située à IBN ZIAD, Constantine, Algérie.
- **INO2** : 2<sup>ème</sup> type d'inoculum est une liqueur mixte prélevée dans la station d'épuration municipale située à Nola, en Italie.
- **INO3** : 3<sup>ème</sup> type d'inoculum est une liqueur mixte prélevée dans la station d'épuration municipale locale située à CHELGHOUM LAID, Mila, Algérie.

**Tableau 3.4** Caractéristiques des inoculas prélevés au niveau des différentes STEPs.

Nom de la STEP	Type d'effluent traité	Type de traitement	Charge polluante traitée	Type de traitement biologique	Les zones constituant la chaîne biologique	Point de prélèvement	pH (20°C)	MES (g L <sup>-1</sup> )	MVS (g L <sup>-1</sup> )	Conductivité (μS cm <sup>-1</sup> ) (20°C)	Salinité (%) (20°C)	Taux minéralisation de la boue (%)
<b>IBN ZIAD</b> <b>INO1</b>	Domestique	Biologique	Carbonée / azotée	Aération prolongée	Zone anoxie /aérée	Bassin aérobie	7.47	3.307	1.508	1508	0.6	54.44
<b>NOLA, Italie</b> <b>INO2</b>						Ligne de retour		13.43 (TS)				
<b>CHELGHOU</b> <b>M LAID</b> <b>INO3</b>	Domestique	Biologique	Carbonée	Faible charge	Zone aérée	Bassin aérobie	7.84	4.935	2.245	1629	0.8	54.50

### 3.5 Fixation du rapport $S_0/X_0$

De nombreux auteurs ont mis en évidence l'importance des conditions initiales dans les essais de biodégradation, plus particulièrement le rapport initial entre le substrat et la concentration en biomasse, noté  $S_0/X_0$ .

En général, pour une culture par batch, la concentration initiale du substrat ( $S_0$ ) représente une source de carbone et d'énergie pour les besoins de biosynthèse et à d'autres fins énergétiques, tandis que la concentration initiale de biomasse ( $X_0$ ) est une source d'utilisation du substrat. La culture par batch peut être initiée à n'importe quel rapport  $S_0/X_0$  souhaitable en modifiant  $S_0$  à une constante  $X_0$ , ou en faisant varier  $X_0$  à une constante  $S_0$ . Il semble certain que le rapport  $S_0/X_0$  reflète le niveau d'énergie initial de la culture en batch. Il a été bien démontré que ce rapport affectera directement les schémas de croissance des micro-organismes [137]. En effet, ce rapport influence à la fois les processus métaboliques mis en jeu lors de la dégradation, l'identification des paramètres cinétiques ainsi que la dissociation des compartiments facilement et lentement biodégradables [136].

Deux rapports importants ont été fixés dans les études de la dénitrification variant entre le faible et le fort rapport. Kujawa et Klapwijk [138] ont utilisé un rapport  $S_0/X_0$  égal à 0.07 g DCO/g MVS dans des tests batch (tests de nitrate uptake reactor, technique qui sera présentée dans les prochains chapitres) pour déterminer les constantes biocinétiques et le fractionnement de la DCO, dans des tests similaires, Ekama et al. [139] ont déterminé les fractions de la DCO dans l'influent et le taux de croissance spécifique maximal des hétérotrophes à faible rapport  $S_0/X_0$  égal à 0.6 mg DCO/mg MVS.

En revanche Doldet al. [140] ont utilisé une méthode d'essai par batch à fort rapport  $S_0/X_0$  égal à 25.75 mg DCO/mg MVS pour estimer le taux de croissance spécifique maximal des hétérotrophes utilisant du méthanol ( $\mu_{METH}$ ) dans les systèmes à boues activées où du méthanol est ajouté pour la dénitrification.

Dans notre étude on a varié les valeurs des rapports  $S_0/X_0$  dans la dénitrification entre fort et faible rapport  $S_0/X_0$  (0.1, 0.5, 2, et 4 mg DCO/mg MVS) dans les études en batch.

### 3.6 La température

La température est généralement considérée comme un facteur de stress environnemental pour la survie des bactéries, la dénitrification se produit plus rapidement avec l'augmentation de la température, et inversement, avec la diminution de la température. La dénitrification est inhibée à une température des eaux usées inférieure à 15°C [48].

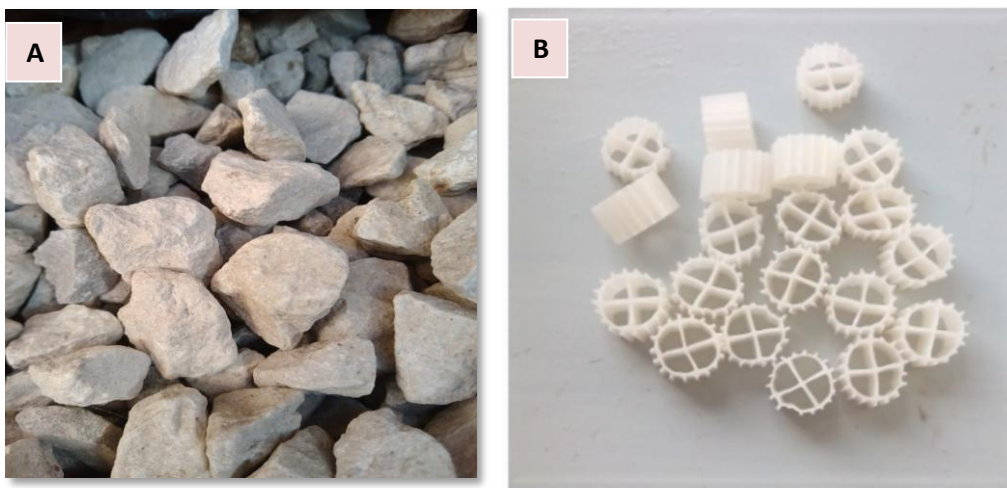
### 3.7 Le choix des supports

Dans les premiers tests établis le gravier à différentes tailles et à une porosité de 0.42 a été utilisé comme support (**Figure 3.5.A**) dans le montage A, il a été constaté qu'une difficulté de la formation du biofilm a eu lieu après 20 jours de suivi, avec une augmentation des concentrations des nitrates qui s'estime à  $607 \text{ mg N-NO}_3\text{.L}^{-1}$  (**Figure 3.6**), causée par les fluctuations de la concentration de l'oxygène dissous dans le milieu réactionnel atteignant une concentration de  $3.7 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ .

Suite à ces constatations et l'efficacité limitée enregistrée, Un deuxième support a été utilisé le Kaldnes K1 (**Figure 3.5.B**), présentant certaines caractéristiques qui encourage son utilisation dans les études de dénitrification, il présente une grande surface spécifique, hydrophile, formation du biofilm rapide, et bonne résistance aux chocs. Les caractéristiques de ce support sont regroupées dans le **Tableau 3.5**.

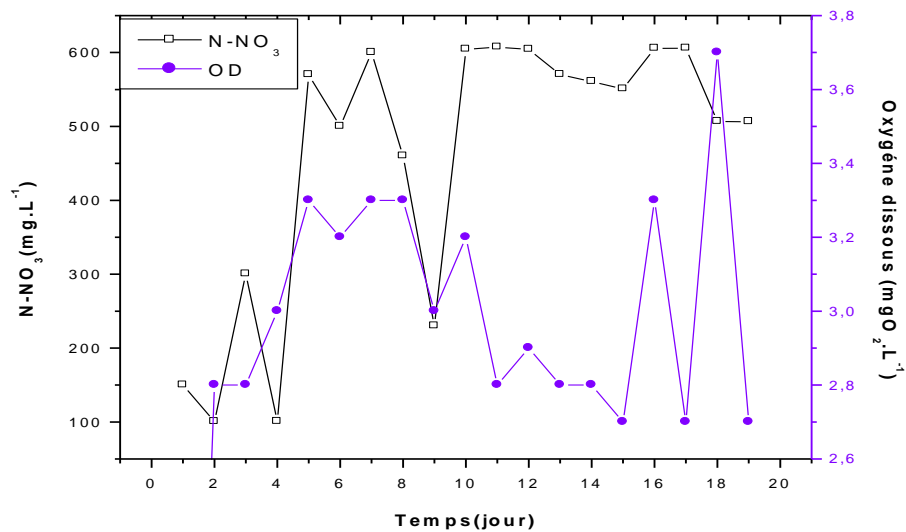
**Tableau 3. 5** Caractéristiques du support Kaldnes K1.

Paramètre	Valeur
Diamètre(mm)	9
Hauteur(mm)	8
Surface spécifique $\text{m}^2/\text{m}^3$	500
Densité	0.95



**Figure 3. 5**Photos des deux supports utilisés dans les études expérimentales

(A : Gravier, B : Kaldnes k1)



**Figure 3. 6** Evolution de la concentration des nitrates et de l'oxygène dissous dans les tests préliminaires utilisant le gravier comme support

### Partie II : Etude hydrodynamique dans le réacteur MBBR

Pendant ces dernières années une attention particulière a été portée aux systèmes de biofilm Lazarova[141] a utilisé cette conception dans le traitement biologique de différents effluents et sous différentes conditions. Les biofilms attachés aux matériaux porteurs ont été appliqués dans les réacteurs à biofilm à lit mobile (MBBR) [142], le grand avantage de cette technologie est le contenu élevé en biomasse conduisant à un traitement plus rentable[143]. Le procédé MBBR nécessite un mélange mécanique ou hydrodynamique accentué, où les supports sont mis en circulation en continu pour faciliter un transport de masse suffisant vers le biofilm se développant sur les supports [144].

Les techniques de distribution du temps de séjour (DTS) sont reconnues depuis longtemps dans l'industrie chimique comme des outils puissants pour caractériser les modèles d'écoulement et diagnostiquer les dysfonctionnements dans les équipements à écoulement complexe tels que les réacteurs catalytiques à lit garni [145]. Le principe de base de la technique est d'injecter un traceur inerte, tel qu'un colorant, une solution conductrice ou un composé radioactif, sous la forme d'une « impulsion » ou d'un « changement d'étape » et de déterminer la concentration de sortie du matériau traceur. La forme du « signal de réponse » peut être utilisée pour déterminer certains paramètres tels que le temps de séjour moyen du fluide dans l'équipement, la présence de volumes morts et / ou de flux de dérivation, ainsi que l'intensité des effets de mélange le long de la radiale et directions axiales[145].



Les caractéristiques hydrauliques des systèmes de croissance attachés mobiles ont un impact significatif sur les performances du système, des supports de tailles et de formes différentes peuvent influencer les voies d'écoulement et les vitesses hydrauliques avec un impact sur le transfert de masse d'oxygène et de substrat [146] et la dynamique du biofilm, y compris la croissance, l'épaisseur et le détachement [144]. Boltz et Daigger [147] ont signalé certaines incertitudes dans l'hydrodynamique à l'échelle du réacteur concernant l'interaction entre le biofilm et la phase en vrac et la conception du réacteur. Ainsi, l'effet de la structure et de la morphologie du biofilm sur les processus de transport de masse dans le MBBR doit être bien déchiffré car la présence et la structure des biofilms influencent le régime d'écoulement local et le transport des substrats dans le biofilm [148].

Peu d'études ont examiné l'impact des supports sur les modèles d'écoulement hydrauliques et les conditions de mélange, la majorité de ces études ont aidé à identifier les limitations hydrauliques, telles que le volume inactif (flux stagnant), les court-circuit hydrauliques et les voies d'écoulement préférentielles [149]. Le volume mort ou les zones stagnantes réduisent le volume réel disponible pour les réactions chimiques et biochimiques, réduisant l'efficacité du traitement par la suite [150].

### **3.8 Principe**

Le réacteur réel a un comportement entre les deux types d'écoulements idéaux qui sont :

- Les réacteurs parfaitement agités (RPA) (temps de séjours sont priori quelconques et où l'on suppose la composition uniforme en tout point).
- Les réacteurs piston (RP) (temps de séjours unique pour toutes les molécules).

Dans un réacteur réel, les molécules séjournent dans le volume réactionnel pendant le temps ( $t_s$ ) qui dépend du profil hydrodynamique de la géométrie du réacteur, et notamment de la nature du réacteur. Ces temps peuvent s'écarter notablement de temps de séjours moyen.

Il existe donc une distribution des temps de séjours, ou de temps de contact, cette dispersion a une influence sur les performances chimiques du réacteur.

Les performances du système et principalement du réacteur seront souvent liées à cette distribution du temps de séjours qui a pour conséquence une influence sur les performances chimiques des réacteurs, pour déterminer ce comportement, le seul moyen serait de connaître le mélange dans le réacteur et la distribution réelles des vitesses des molécules. Ceci ne peut être établi que par une étude expérimentale basée sur l'injection des traceurs inertes. La

distribution de temps de séjours se fera autour du temps de passage (ou temps de séjours hydraulique) désigné par :

$$\tau = \frac{V_T}{Q_L} \quad (3.1)$$

### 3.8.1 Les principes fonctions de distribution, la distribution des temps de séjours

➤ **La fonction de distribution des temps de séjours  $E(t)$**

La concentration  $C(t)$  du traceur mesuré à la sortie peut être normée et exprimée par la fraction  $E(t)$  qui représente la distribution des temps de séjour du fluide.

$$E(t) = \frac{c(t)}{\int_0^{\infty} c(t) dt} \quad (3.2)$$

On a aussi  $E(t)$  est normalisé :

$$\int_0^{\infty} E(t) dt = 1 \quad (3.3)$$

➤ **Le moment  $\mu$**

Parmi toutes les informations contenues dans la DTS, le calcul des moments de la distribution qui permettent d'atteindre à l'exclusion de toute modélisation des grandeurs telle que la valeur moyenne de la distribution, sa dispersion, etc. Le moment d'ordre (n) autour de l'origine est défini par la relation suivante :

$$\mu_n = \int_0^{\infty} t^n E(t) dt \quad (3.4)$$

On a donc

$$\mu_0 = \int_0^{\infty} E(t) dt \quad (3.5)$$

$$\mu_1 = \int_0^{\infty} t^1 E(t) dt \quad (3.6)$$

➤ **Le temps de séjours moyen  $\bar{\tau}_s$**

C'est le paramètre expérimental déterminé à partir de la DTS. C'est le temps réel moyen mis par le substrat dans le réacteur ou autrement dit c'est le temps moyen mis par un élément de fluide pour traverser le réacteur. En conclusion le temps de passage est un temps théorique et  $\bar{\tau}_s$  est le temps pratique.

$$\bar{\tau}_s = \frac{\int_0^{\infty} tE(t)dt}{\int_0^{\infty} E(t)dt} = \frac{\mu_1}{\mu_0} = \frac{\int_0^{\infty} tE(t)dt}{1} = \int_0^{\infty} tE(t)dt \quad (3.7)$$

➤ **La variance  $\sigma^2$**

Le moment centré d'ordre 2, la variance, décrit la dispersion de la distribution des temps de séjour par rapport au temps de séjour moyen :

$$\sigma^2 = \int_0^{\infty} (t - \bar{\tau}_s)^2 E(t)dt = \frac{\mu_2}{\mu_0} - \bar{\tau}_s^2 \quad (3.8)$$

### 3.8.2 Test de traceur

Le principe utilisé pour déterminer le temps de passage est de marquer les particules entrant dans le bioréacteur est de les observer en sortie afin de connaître leur temps de passage et leur concentration, cette technique appelée 'traçage' chimique consiste à ajouter au débit d'entrée un traceur passif, substance inerte n'ayant pas d'interaction chimique ou physique avec le réacteur mais qui possède les mêmes propriétés physico chimiques que le fluide, à l'exception d'une seule, telle que la couleur, la conductivité ou encore la radioactive.

Cette méthode permet :

- La caractérisation des écoulements dans un réacteur continu ;
- La caractérisation de l'état de mélange d'un réacteur ;
- La détermination du temps de séjours moyen ;
- La détection de l'existence des court-circuits ou de zones mortes ;
- La prévision des performances en réaction.

### 3.8.3 Le choix du traceur

Les traceurs les plus utilisés sont le LiCl, le NaCl, les traceurs radioactifs et les colorants. Il n'existe pas d'unanimité sur le choix du traceur (**Tableau 3.6**).

Le choix doit s'effectuer en tenant compte des contraintes de la mesure, ainsi que des moyens analytiques disponibles. Un traceur idéal, s'il existait, aurait les caractéristiques suivantes [151]:

- Utilisable en petites quantités ;
- Mesure et détection faciles ;
- Possibilité de réaliser la mesure en continu sur le terrain ;
- Neutralité vis à vis des réactions dans le système ;
- Absence de toxicité ;
- Absence de rétention par la biomasse ;
- Prix de revient raisonnable.

**Tableau 3. 6** Les avantages et inconvénients des différents traceurs

Type de traceur	Avantage	inconvénient
Le chlorure de Lithium(LiCl)	Réaliser avec des faibles concentrations (microgramme par litre) et détectable pour ces concentration.  N'est pas absorbé sur les particules des boues, ni utilisé comme nutriment par les microorganismes lors d'une étude en présence de biomasse.	incapable de faire une mesure continue sur le terrain sans un spectrophotomètre d'un laboratoire
Le chlorure de sodium(NaCl)	Possibilité d'utiliser un matériel courant pour la détermination des concentrations en sel à l'aide de la conductivité de la solution de sortie. La mise en œuvre est simple et son coût est peu élevé.	Pour des résultats réussis, les influences de la température doivent être prises en compte.
Les traceurs radioactifs	Très efficace et très détectable	La mise en œuvre de ce traceur est lourde et nécessite d'utiliser un appareil de mesure peu courant.
Les colorants	Très efficace dans le cas du traçage en eau claire.	L'utilisation de colorants organiques dans des réacteurs biologiques pourrait poser des problèmes de conservation du traceur en présence de la biomasse

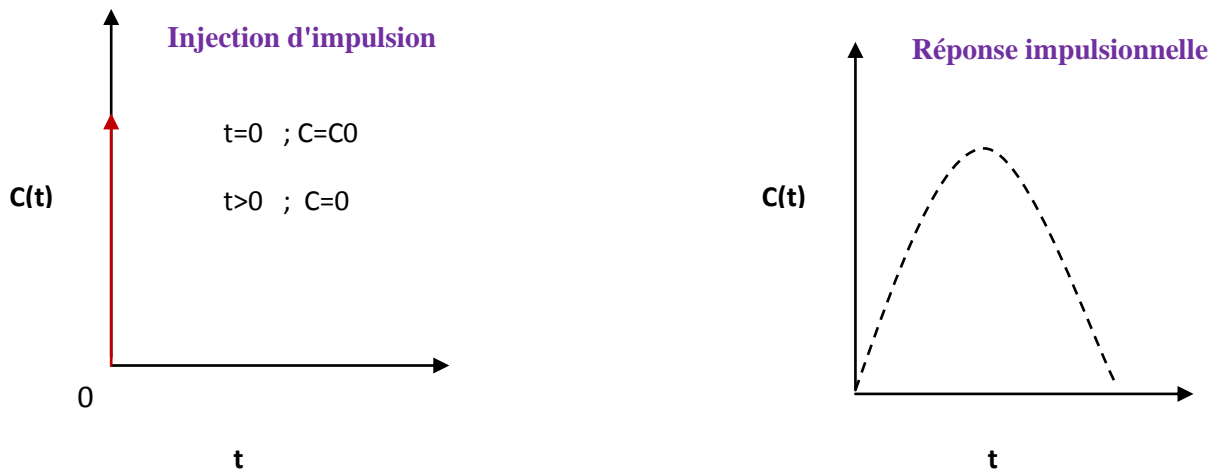
#### 3.8.4 Distribution des temps de séjour : détermination expérimentale

Le DTS est déterminé expérimentalement en injectant un produit chimique inerte, une molécule ,ou atome, appelé un traceur, dans le réacteur à un moment donné  $t= 0$  puis mesurer

la concentration du traceur,  $C$ , dans le flux d'effluents en fonction du temps. Les deux méthodes d'injection les plus utilisées sont :

➤ **Injection impulsion (ou Dirac)**

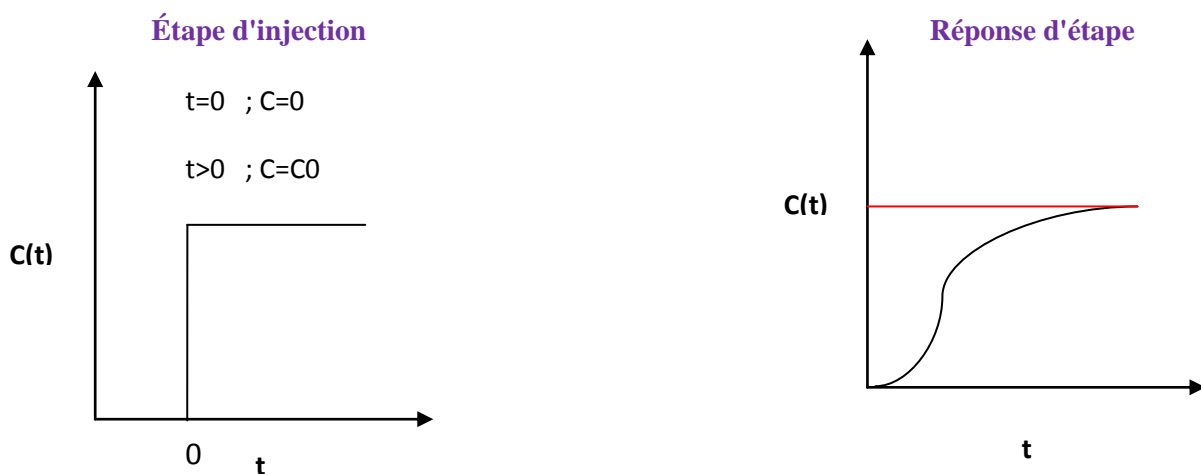
Une quantité de traceur  $n_0$  est soudainement injectée à l'entrant dans le réacteur à un temps très court que le temps de passage dans un réacteur continue, puis la concentration à la sortie est mesurée en fonction du temps. Les courbes à la sortie d'un réacteur arbitraire sont représentées sur la **Figure 3.7**.



**Figure 3.7** Courbes d'entrée et de sortie après injection d'impulsion.

➤ **Injection échelon**

La concentration de traceur à l'entrée passe brusquement de la concentration nulle à la concentration  $C$  dans le  $t=0$ . Et à la sortie de réacteur on mesure la concentration  $C(t)$ .



**Figure 3.8** Courbes d'entrée et de sortie après injection d'échelon.

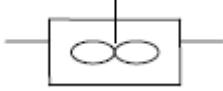

### 3.8.5 Distribution des temps de séjours dans les réacteurs idéaux (fluide incompressible)

➤ **Réacteurs idéaux (écoulements parfaits)**

Il est généralement défini deux réacteurs, qui sont le siège d'écoulement parfait : le réacteur piston, et le réacteur à mélange intégral. Les DTS sont fonction du transfert dans ces réacteurs et qui sont rappelées dans le **Tableau 3.17**, en considérant le paramètre de temps de passage (ou temps de séjour hydraulique).

$$\tau = \frac{V_T}{Q_L} \tag{3.9}$$

**Tableau 3. 7** Les réacteurs idéaux

	Réacteur parfaitement mélangé	Réacteur piston
Type des réacteurs		
Caractérisation	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ L'écoulement avec mélange</li> <li>➤ Composition uniforme dans tous les points</li> <li>➤ Toutes les grandeurs sont homogènes</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ L'écoulement sans mélange</li> <li>➤ Un temps de sejours unique pour toutes les molecules</li> <li>➤ Se comporte comme un retard pur</li> </ul>
E(t)	$\frac{1}{\bar{\tau}_s} \exp \left( -\frac{t}{\bar{\tau}_s} \right)$	$\delta (t-\bar{\tau}_s)$
Moments	$\bar{\tau}_s = \tau$ $\sigma^2 = \bar{\tau}_s^2$	$\bar{\tau}_s = \tau$ $\sigma^2 = 0$

**3.8.6 Diagnostics de fonctionnement d'un réacteur [152]**

La technique de DTS permet l'estimation de beaucoup d'informations sur l'écoulement au sein d'un réacteur. Elle est également un outil de diagnostic donnant l'accès à des paramètres difficiles à mesurer par des méthodes directes.

➤ 1<sup>er</sup> cas

Si  $\bar{\tau}_s = \tau$ , pas de mélange ou le mélange est parfait, le réacteur fonctionne correctement

➤ 2<sup>ème</sup> cas

Si  $\bar{\tau}_s < \tau$ , on dit que le temps de séjour mesuré est inférieur au temps de passage : on est dans le cas d'une mauvaise estimation du volume offert au fluide. Traînée de courbe : diffusion vers les zones stagnantes  $V_a < V_R$ .

Avec

$V_a$  : volume accessible au fluide à l'intérieur du réacteur

$V_R$  : volume du réacteur

Il existe à l'intérieur du réacteur un volume inerte  $V_m$  appelé : **Volume mort**

$$V_R = V_m + V_a \tag{3.10}$$

$$1 = \frac{V_m}{V_R} + \frac{V_a}{V_R} \tag{3.11}$$

La fraction du volume mort est donc :

$$\frac{V_m}{V_R} = 1 - \frac{V_a}{V_R} = 1 - \frac{\bar{\tau}_s}{\tau} \tag{3.12}$$

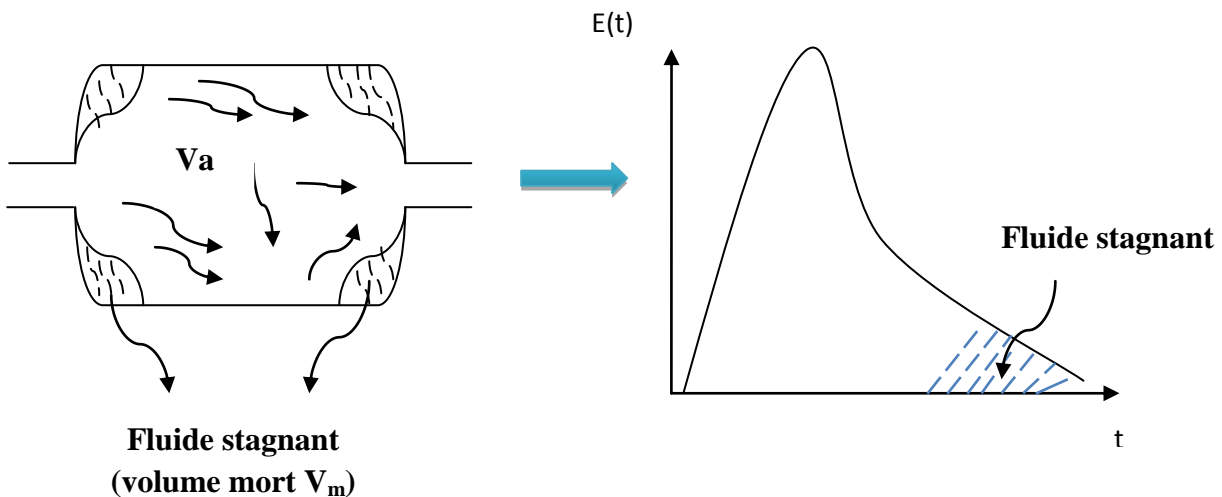
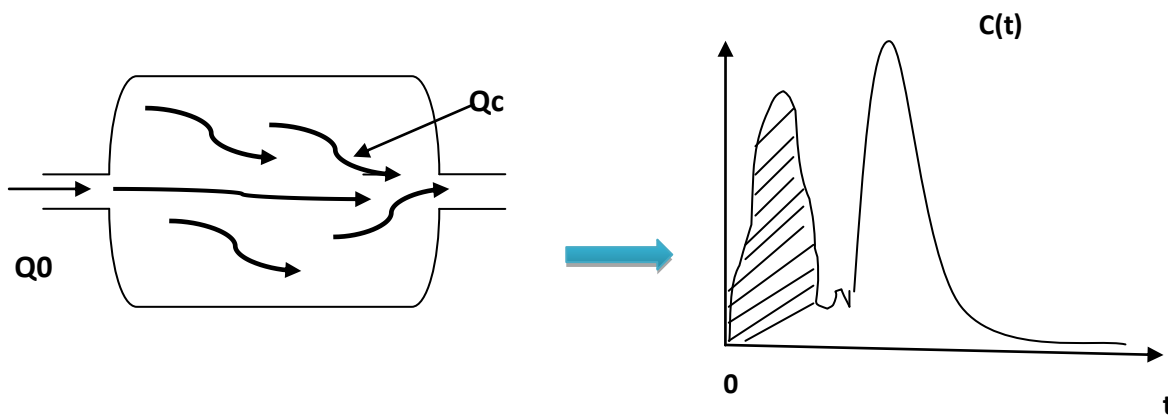


Figure 3. 9 Existence d'un volume mort.

➤ 3<sup>ème</sup> cas :

Si  $\bar{\tau}_s > \tau$ ,  $V_a > V_R$  et  $Q_o = Q + Q_c$  : débit de **court-circuit**

On est dans ce dernier cas en présence de chemins préférentiels du fluide au sein du réacteur. C'est à dire des court - circuits peuvent être rencontrés en cas de mauvais garnissage des parois internes du réacteur.



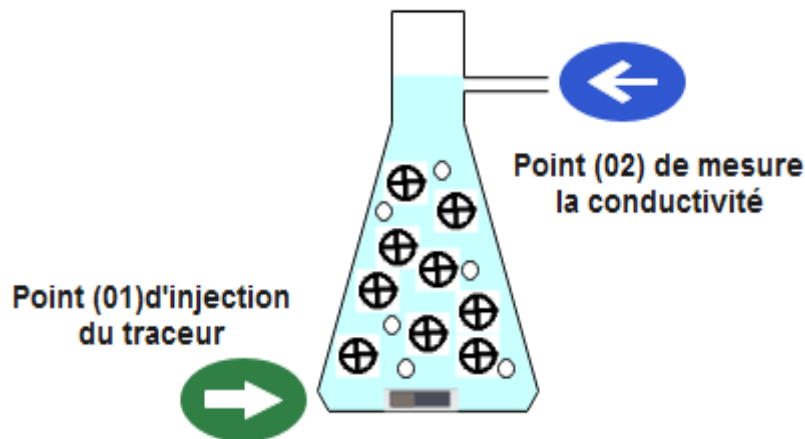
**Figure 3. 10** Existence d'un court-circuit.

### 3.9 Matériaux et méthodes expérimentales

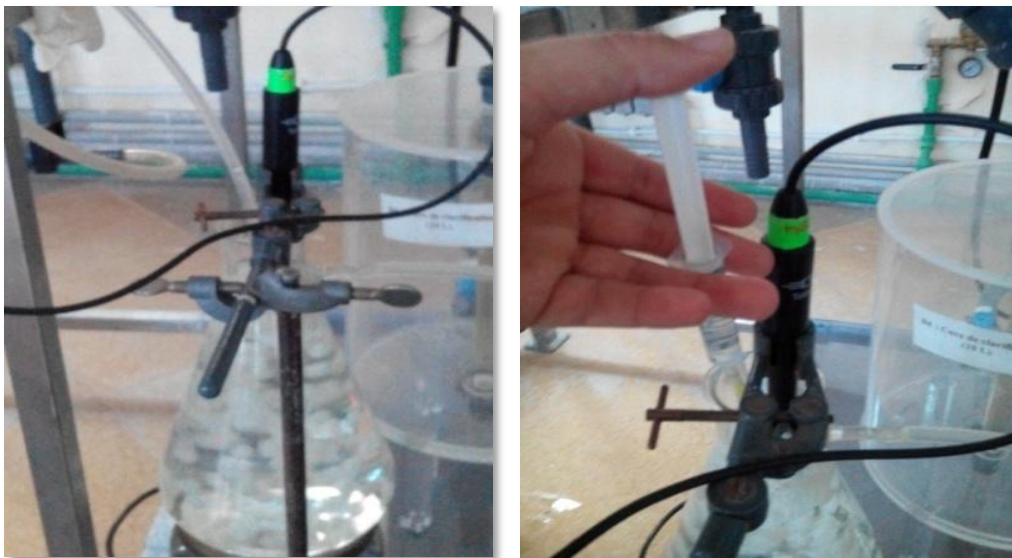
#### 3.9.1 Montage expérimental

L'étude hydrodynamique a été réalisée dans un réacteur MBBR, conçu pour la dénitrification biologique des eaux, il est composé principalement d'un réacteur d'une capacité de 2.25 litres, rempli avec des quantités du milieu porteur KaldnesK1 (**Figure 3.5.B**) variant entre 0 et 165.2g[153] et présentant un pourcentage de remplissage de 0 jusqu'à 52.5% du volume total effectif du réacteur. L'alimentation de l'influent est assurée par une pompe péristaltique, en variant le débit entre 0.1 à 2 L.h<sup>-1</sup>, une agitation magnétique variant entre 100 à 300 tr.min<sup>-1</sup> permettant d'assurer le contact entre le traceur et l'influent, les études hydrodynamiques ont été réalisées en absence et en présence d'une quantité variante de support (**Figure 3.11 et 3.12**).





**Figure 3. 11** Schématisation du réacteur MBBR considéré dans les mesures DTS



**Figure 3. 12** Configuration expérimentale pour la mesure DTS

### 3.9.2 Méthodes analytiques

Les expérimentations menées pour la caractérisation du comportement hydraulique du MBBR utilisé dans les prochaines études de la dénitrification biologique des eaux ont été établies sur la base des courbes DTS. Les caractéristiques hydrodynamiques du réacteur ont été vérifiées en utilisant le chlorure de sodium (NaCl) comme traceur, d'une part puisque c'est un traceur économique et sa mise en œuvre est simple et d'autre part la possibilité d'utiliser un matériel courant de mesure, un conductimètre à enregistrement continu puisque l'injection du sel permet de perturber la conductivité de l'eau.

Les études hydrodynamiques réalisées dans la présente étude ont été menées dans des milieux propres (sans biofilm) avec de l'eau claire, mais il faut noter que dans certaines études, le comportement hydraulique des réacteurs a été réalisé en présence de la biomasse

épuratrice, en considérant que les traceurs utilisés n'étaient pas absorbés par les particules de boue et n'avaient aucun effet inhibiteur sur les bactéries anaérobies et ne seraient pas utilisés comme nutriment par les microorganismes [154].

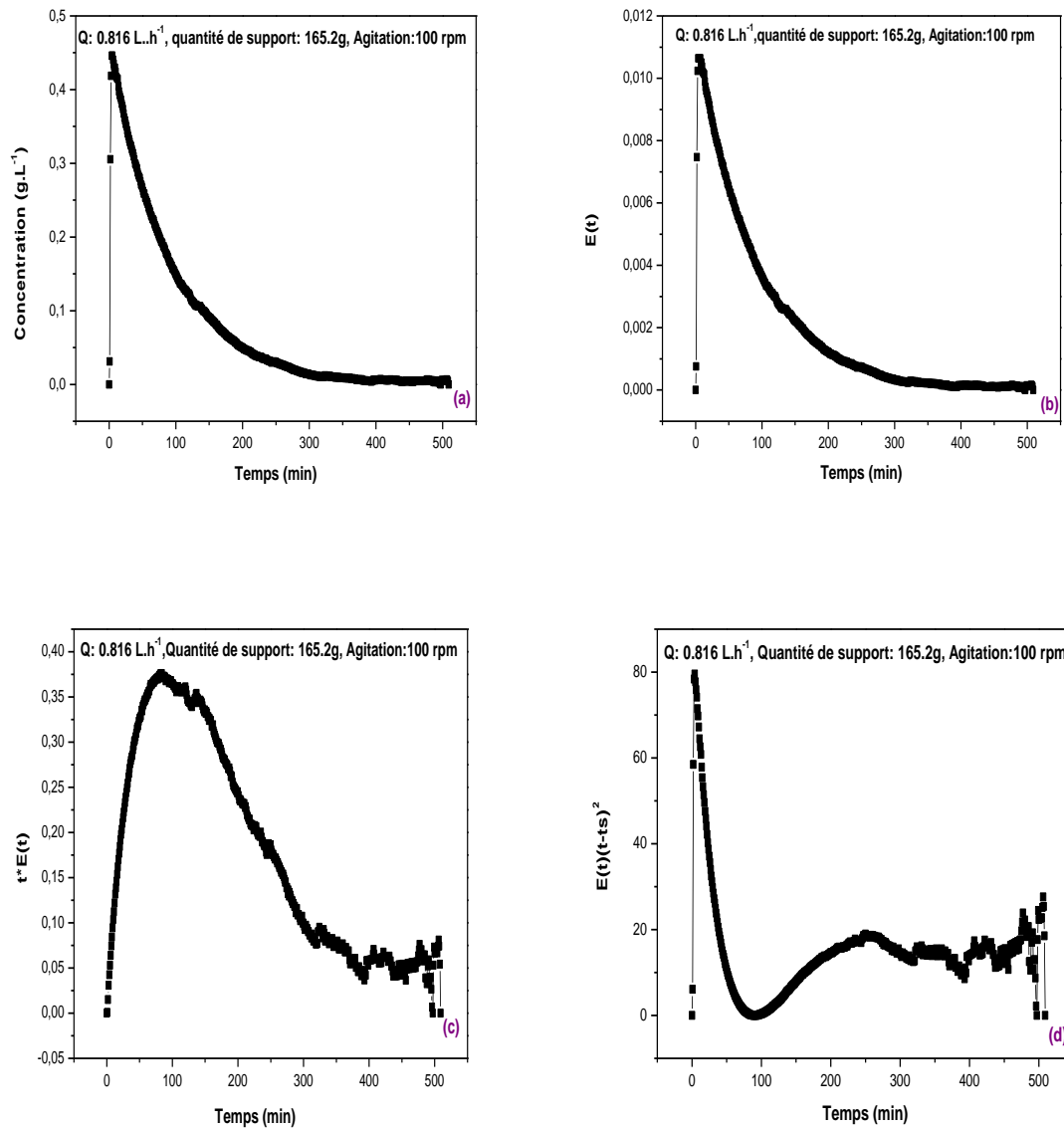
Pour obtenir les courbes DTS, une solution de chlorure de sodium (3 M) environ 5 ml a été injecté instantanément sous la forme d'un **Dirac** à l'entrée du réacteur( **point 01 , Figure 3.11**), La concentration et le volume injecté ont été préalablement optimisés, pour que l'injection se fait sans perturber l'écoulement au sein du réacteur mais il faut que l'impulsion soit détectable par le conductimètre [136]. La détection du signal à la sortie du réacteur (**point02, Figure 3.11**) est réalisée par la mesure de la conductivité et les valeurs sont exprimées en concentration de NaCl ( $c(t)$ ) en utilisant une courbe établie préalablement liant la conductivité aux différentes concentrations de sel (voir **annexe 03**).

Les expériences sont réalisées pour environ 3 fois le temps de rétention hydraulique des réacteurs[155], Le conductimètre utilisé est un conductimètre (Multi-paramètre WTW, Multi 340I). La mesure est associée à une mesure de température intégrée permettant une compensation automatique de la valeur de conductivité en fonction de la température de la solution ( $T = 22 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ).

### 3.10 Résultats et discussions

Un exemple de l'évolution temporelle de  $c(t)$  après injection du traceur, ainsi que l'évolution de  $E(t)$ , des moments d'ordre 1 et 2 pour un débit d'alimentation de  $0.816 \text{ L. h}^{-1}$ , une quantité de support de 165.2g et une vitesse d'agitation de 100 rpm sont présentés respectivement dans la **Figure 3.13**(a), (b), (c) et (d).

Le temps de séjour moyen et la variance de distribution sont estimés par le calcul de la surface sous la courbe (c) et (d).



**Figure 3. 13** Évolution temporelle de  $c(t)$  ,  $E(t)$  ,  $tE(t)$  et  $(t - \bar{\tau}_s)^2E(t)$  (débit d'alimentation :  $0.816 \text{ L. h}^{-1}$  , quantité de support :  $165.2\text{g}$  , vitesse d'agitation :  $100 \text{ rpm}$ ).

Les essais de DTS ont été réalisés pour différentes vitesses d'agitation (**Figure 3.14, 3.15**), différents quantités des supports (**Figure 3.16 et 3.17**) et différents débits d'alimentation (**Figure 3.18 et 3.19**), Les résultats de toutes les expérimentations réalisées sont résumés dans les **Tableaux 3.8, 3.9 et 3.10**.

### 3.10.1 Effet de la vitesse d'agitation

Le rendement hydraulique ( $\bar{\tau}_s / \tau$ ) a été calculé pour chaque condition étudiée, pour un débit d'alimentation d'eau claire de  $0.816 \text{ L h}^{-1}$  et en variant la vitesse d'agitation de  $100$  jusqu'à  $300 \text{ tr/min}$  (**Tableau 3.8**).

La fraction de distribution du temps de séjours ( $E(t)$ ) et le temps de séjours moyen ( $\bar{\tau}_s$ ) ont été déterminés en utilisant les équations (3.1) et (3.7). La **Figure 3.14** montre le temps de distribution du traceur lors d'une injection impulsion dans le réacteur en fonction des différentes vitesses d'agitation testées.

Deux événements clés doivent être minutieusement analysés lors de la lecture du signal de sortie après injection du traceur, le moment où le traceur apparaît pour la première fois dans l'effluent et le point où sa concentration maximale de sortie est enregistrée. Toutes les courbes enregistrées présentent un seul pic de concentration, suivi d'une fonction décroissance exponentielle, ceci est un comportement caractéristique d'un réacteur parfaitement agité, mais de longues traînées sont enregistrées dans les distributions des courbes, ceci pourrait être liée à la présence de zones mortes ou de stagnations, où le traceur va pénétrer dans ces zones par diffusion, puis il sera éliminé très progressivement [156].

Selon les résultats regroupés dans le **Tableau 3.8**, Les différences entre le temps de séjour hydraulique et le temps de séjour moyen indiquent que le réacteur a dévié du comportement d'écoulement idéal et qu'un mauvais fonctionnement est diagnostiqué [78]. Le temps de séjour moyen était toujours plus court que la valeur théorique, les rendements hydrauliques étaient toujours inférieurs à 100%, mais tout en augmentant la vitesse d'agitation, le temps de séjour moyen se rapproche plus du temps de séjour théorique qui est de 147.058 min, l'efficacité hydraulique moyenne s'est améliorée de 61.52 à 68.56 % lorsque la vitesse d'agitation a été augmentée de 100 à 300 tr/min, des résultats similaires ont été obtenus dans des études intérieures qui confirment la présence de zones mortes qui réduisent le volume effectif du réacteur [157].

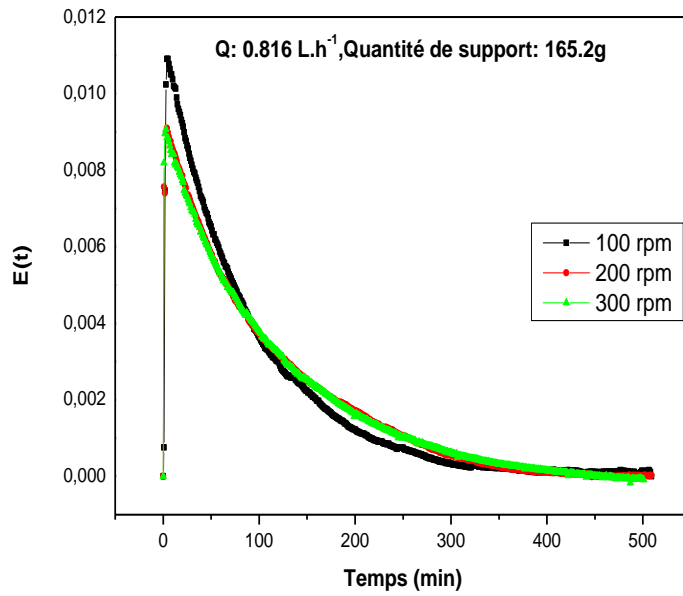
Dans des études antérieures, l'effet positif de l'aération sur l'efficacité hydraulique a également été observé. En effet, le comportement du réacteur avait tendance à être complètement mélangé en raison de l'agitation favorisée par l'injection de l'air [150,158], mais puisque ce réacteur sera utilisé dans des études de dénitrification en milieu anoxique, l'effet de l'injection de l'air n'a pas été étudié.

Les résultats ont indiqué une diminution des zones mortes de 38 à 31%, en augmentant la vitesse d'agitation de 100 à 300 tr/min, un impact peu important dans le cas propre (sans biomasse), mais dans le cas où le réacteur fonctionne en présence de la biomasse, l'agitation a un effet significatif sur la croissance de biofilm. Lau et Liu [159] indique qu'une faible vitesse d'agitation dans un réacteur MBBR favorise la croissance bactérienne et l'accumulation de

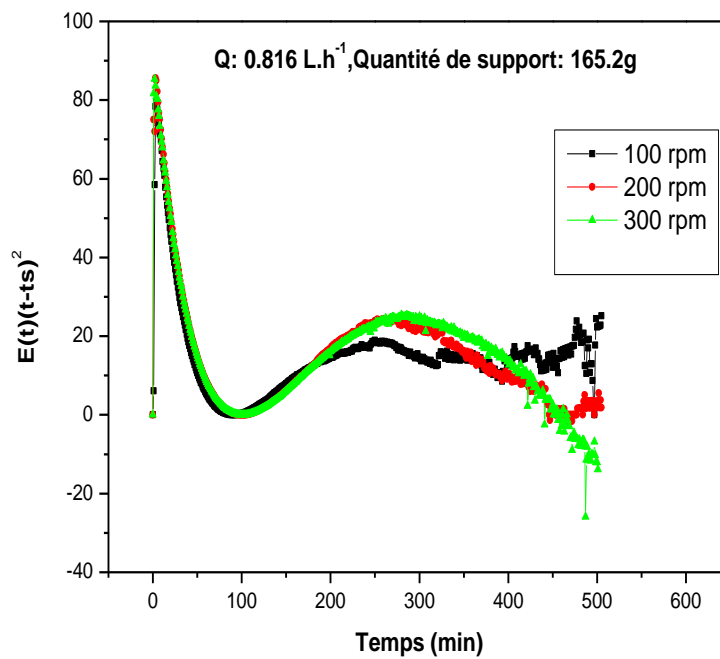
biomasse sur les parois du support, par contre une vitesse d'agitation importante influencera le régime d'écoulement qui devient turbulent, engendrera par la suite, des forces de cisaillement plus élevées, dans de telles conditions, l'accumulation de biomasse sur les parois est réduite et la libération de la biomasse est favorisée. Leiknes et Ødegaard [107] ont aussi reporté qu'une turbulence adéquate est idéale pour maintenir une vitesse d'écoulement nécessaire permettant d'atteindre des performances efficaces du système. Une turbulence extrêmement élevée détache la biomasse du support et n'est donc pas recommandée. De plus, la collision et l'attrition des milieux dans le réacteur provoquent le détachement du biofilm de la surface extérieure des milieux. Pour cette raison, le support MBBR est pourvu d'ailettes à l'extérieur pour protéger la perte de biofilm et favoriser la croissance du biofilm.

**Tableau 3. 8** Résultats des DTS obtenus pour les différentes vitesses d'agitation

Débit d'alimentation (L.h <sup>-1</sup> )	Quantité du support (g)	Vitesse d'agitation (tr.min <sup>-1</sup> )	$\tau$ (min)	$\bar{\tau}_s$ (min)	$\sigma^2$	$\bar{\tau}_s/\tau$ (HE) (%)	$V_m$ (%)	N
<b>Essai 01</b>								
0.816	165.2	<b>100</b>	147.058	90.481	7585.064	61.52	38	1.08
0.816	165.2	<b>200</b>	147.058	100.63	7597.254	68.42	31.55	1.33
0.816	165.2	<b>300</b>	147.058	100.83	7440.72	68.56	31.4	1.36



**Figure 3. 14** Les différentes distributions du temps de séjour pour les différentes vitesses d'agitation (Débit d'alimentation : 0.816 L h<sup>-1</sup>, Quantité de support : 165.2g).



**Figure 3. 15** Évolution de  $(t - \bar{t}_s)^2 E(t)$  en fonction du temps pour le calcul de la variance pour les différentes vitesses d'agitation (Débit d'alimentation : 0.816 L. h<sup>-1</sup>, Quantité de support : 165.2g).

Comme les deux conditions précédentes présentent des inconvénients et des avantages, trouver, par conséquent, une vitesse adéquate suffisamment grande pour réduire le pourcentage des zones mortes dans le MBBR, mais suffisamment petite, également, pour éviter le détachement de la biomasse lors des études de dénitrification serait l'idéal.

Pour analyser le nombre de dispersion ( $D / \mu\text{L}$ ). Tomlinson[160] ont défini un faible degré de mélange lorsque  $D / \mu\text{L} \leq 0.02$  et un grand degré de mélange lorsque  $D / \mu\text{L} \geq 0.2$ . Pour un réacteur à écoulement piston idéal, le coefficient de dispersion  $D/\mu\text{L} = 0$ , alors que  $D / \mu\text{L} = \infty$ , est attendu dans un réacteur parfaitement agité.

### 3.10.2 Effet de la quantité de support

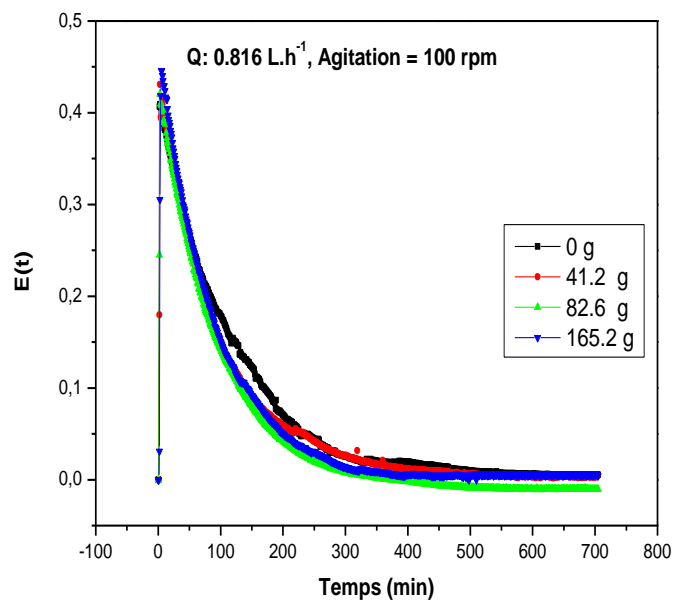
La fraction de remplissage est le rapport entre le volume de bio-porteurs et le volume total du réacteur. Le principal avantage de la technologie MBBR est la possibilité de concevoir la taille du réacteur pour une certaine fraction de remplissage et, par conséquent, davantage de volume des bio-porteurs pourrait être ajouté. Cela permet d'avoir soit de meilleures performances soit d'augmenter la capacité volumétrique du réacteur lui-même. Cependant, le mélange et l'hydrodynamique du réacteur peuvent être compromis, par exemple, par le développement de zones stagnantes ou mortes.

Dans cette partie, l'effet du taux de remplissage sur le comportement hydrodynamique du réacteur a été étudié toujours en condition propre, des études de traçage ont été menées en injectant des quantités variantes de support 41, 82 et 165.2g, des temps de séjours moyens de 131, 197, 112.25, 95.03 et 90.48 min ont été obtenues pour un débit d'alimentation de  $0.816\text{L.h}^{-1}$ , une vitesse d'agitation de 100 rpm et les différentes quantités des supports, respectivement. Les résultats obtenus et tous les calculs correspondants sont regroupés dans le **Tableau 3.9** et les signaux de sorties sont schématisés dans les **Figures 3.16 et 3.17**.

L'efficacité hydraulique diminue tout en augmentant la quantité de support injectée dans le MBBR, elle a atteint 89.21%, 76.33%, 64.62% et 61.52% pour des quantités de supports de 41, 82 et 165.2 g, respectivement. Le temps de séjour moyen est toujours inférieur à la valeur théorique qui est de 147.058 min, présentant un pourcentage de volume mort variant entre 10.5% à 38%. Comme il a été mentionné précédemment, l'utilisation des supports contribue à l'amélioration des performances des réacteurs mais participe également à la création des zones mortes.

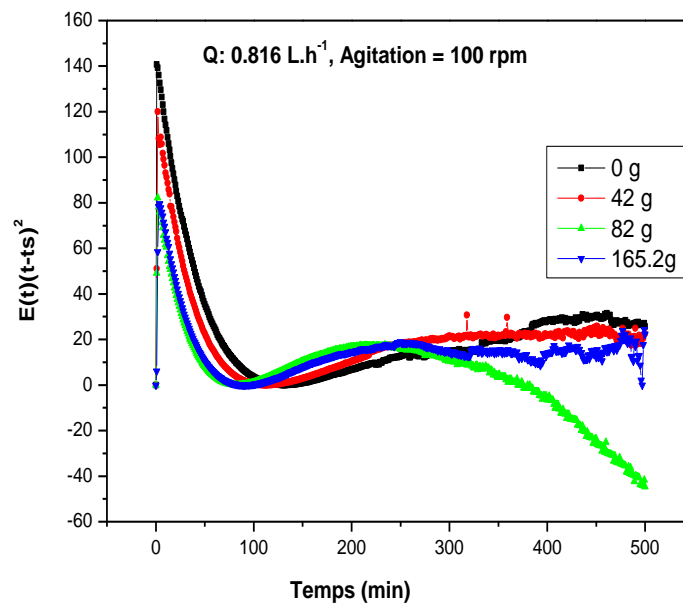
**Tableau 3. 9** Résultats des DTS obtenus pour différentes quantités de support.

Débit d'alimentation (L.h <sup>-1</sup> )	Quantité du support (g) et %	Vitesse d'agitation (tr.min <sup>-1</sup> )	$\tau$ (min)	$\bar{\tau}_s$ (min)	$\sigma^2$	$\bar{\tau}_s/\tau$ (HE) (%)	$V_m$ (%)	N
<b>Essai 02</b>								
0.816	<b>0</b>	100	147.05 8	131.1 9	20674. 20	89.21	10.5	0.83
0.816	<b>41 (14%)</b>	100	147.05 8	112.2 5	11750. 65	76.33	23.5	1.072
0.816	<b>82 (28%)</b>	100	147.05 8	95.03	8593.2 8	64.62	35	1.05
0.816	<b>165.2 (56%)</b>	100	147.05 8	90.48	7585.0 6	61.52	38	1.086



**Figure 3. 16** Les différentes distributions du temps de séjour pour les différentes quantités de support (Débit d'alimentation : 0.816 L. h<sup>-1</sup>, Vitesse d'agitation :100 rpm).





**Figure 3. 17** Évolution de  $(t - \bar{\tau}_s)^2 E(t)$  en fonction du temps pour le calcul de la variance pour les différentes quantités de support (Débit d'alimentation : 0.816 L. h<sup>-1</sup>, Vitesse d'agitation : 100 rpm).

A partir de ces résultats, on conclut que la quantité de garnissage a amplement influencé le comportement hydrodynamique dans le réacteur MBBR. Certains auteurs recommandent que la fraction de remplissage (pourcentage du volume du réacteur occupé avec des supports dans un réservoir vide) doit varier entre 60 et 70% [79] et elle ne doit pas dépasser 70% pour obtenir des propriétés adéquates de mélange des bio-porteurs dans les systèmes aérobies[161]. Dans cette étude le taux de remplissage maximale testé est de 56 % causant 38 % de volume mort, ceci est due probablement à la forme géométrique du réacteur utilisé, dépasser ce taux aura certainement accentué ce pourcentage de zones stagnantes et réduira les performances de traitement souhaitées.

### 3.10.3 Effet du débit d'alimentation

Dans cette partie, l'effet du débit d'alimentation sur le comportement hydrodynamique du MBBR a été considéré. Les études de traçage ont été menées en variant le débit d'alimentation de l'eau claire entre 0.10 et 2 L.h<sup>-1</sup>, une vitesse d'agitation de 100 rpm et une quantité de support 165.2g. Les résultats obtenus et tous les calculs correspondants sont regroupés dans le **Tableau 3.10** et les signaux de sorties sont schématisés dans les **Figures 3.18 et 3.19**.

Dans les différentes expérimentations réalisées (**Tableau 3.10**), les temps de séjours moyens obtenus pour les différents débits testés sont inférieurs aux temps de séjours hydrauliques estimés (**Figure 3.18**), ceci révèle aussi le même diagnostic de mauvais fonctionnement (la présence des zones mortes). L'effet n'est pas régulier ceci est due à la perturbation dans les lectures du conductimètre dans certaines situations causées par le fort débit d'alimentation, mais en générale l'augmentation du débit d'alimentation a contribué à la réduction des zones mortes, le pourcentage de  $V_m$  a passé de 38 % pour un débit d'alimentation de  $0.10 \text{ L.h}^{-1}$  à 5.47 % pour un débit d'alimentation de  $2 \text{ L.h}^{-1}$ , l'augmentation du débit crée une turbulence réduisant les zones stagnantes causé principalement par la quantité de support injectée dans le MBBR.

**Tableau 3. 10** Résultats des DTS obtenus pour différents débits d'alimentation

Débit d'alimentation ( $\text{L.h}^{-1}$ )	Quantité du support (g)	Vitesse d'agitation ( $\text{tr.min}^{-1}$ )	$\tau$ (min)	$\bar{\tau}_s$ (min)	$\sigma^2$	$\bar{\tau}_s/\tau$ (HE) (%)	$V_m(\%)$	N
<b>Essai 3</b>								
<b>0.10</b>	165.2	100	1200	743.68 3	3096 96.84	61.97	38	1.78
<b>0.15</b>	165.2	100	800	648.04 8	2518 26.80	81	19	1.78
<b>0.25</b>	165.2	100	480	370.70 3	9519 3.706	77.22	22.5	1.43
<b>0.5</b>	165.2	100	240	213.74	2850 2.91	89.05	10.95	1.61
<b>0.816</b>	165.2	100	147.05 8	90.481 5	7585. 064	61.52	38.48	1,08
<b>2</b>	165.2	100	60	56.72	2287. 21	94.53	5.47	1.40

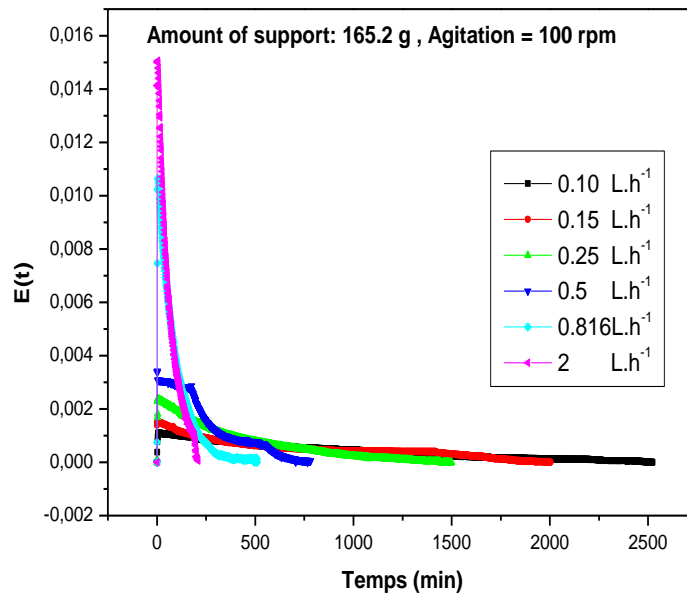


Figure 3. 18 Les différentes distributions du temps de séjour pour les différents débits d'alimentation (Vitesse d'agitation : 100 tr / min, Quantité de support de 165.2 g).

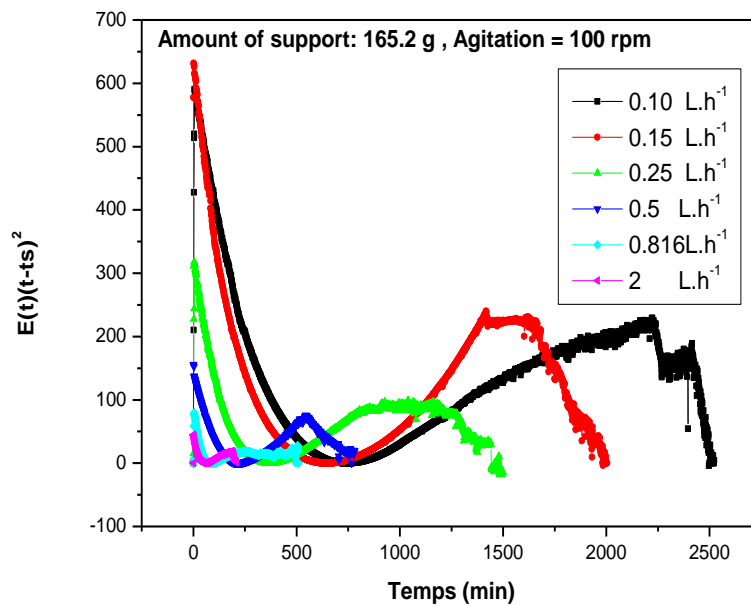
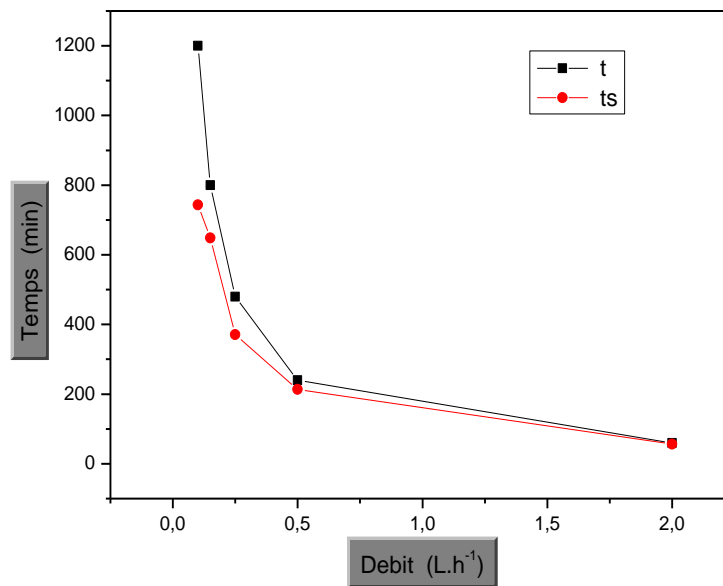


Figure 3. 19 Évolution de  $(t - \bar{t}_s)^2 E(t)$  en fonction du temps pour le calcul de la variance pour les différents débits d'alimentation (Vitesse d'agitation : 100 tr / min, Quantité de support de 165.2 g).



**Figure 3. 20** Comparaison entre le Temps de séjour  $\tau$  et  $\bar{\tau}_s$  pour les différents débits d'alimentation (Vitesse d'agitation : 100 tr / min, Quantité de support de 165.2 g).

### 3.11 Conclusion

Tous les montages, matériels et méthodes d'analyse appliquées dans les prochaines études de la dénitrification ont été résumé dans ce chapitre.

Avant d'entamer les études de dénitrification biologique dans le réacteur à biofilm et à lit mobile emballé avec Kaldnes K1, une attention très particulière a été consacré au comportement hydrodynamique de ce réacteur dans les différentes conditions de fonctionnement et en variant la vitesse d'agitation, la quantité de garnissage et le débit d'alimentation de l'influent à cause de son importance avant tout démarrage des études expérimentales utilisant ce type de conception.

Le but principal de ce type d'étude est de réunir suffisamment de données afin de pouvoir caractériser le réacteur, fixer les conditions de fonctionnement les plus appropriées.

D'abord on peut conclure que le comportement du MBBR conçu, est un réacteur parfaitement agité, les paramètres optimaux déterminés pour la vitesse d'agitation, pourcentage de remplissage et le débit sont respectivement 100rpm, 165.2g et 0.25 L.h<sup>-1</sup>, pour un démarrage de recteur MBBR avec un volume mort qui s'estime de 22.5%.

## Chapitre VI Résultats expérimentaux et interprétations

### 4.1 Introduction

Le présent chapitre sera présenté en deux parties, les études menées en batch élaborées initialement pour comprendre les mécanismes biologiques d'élimination des nitrates et étudier l'effet des facteurs qui contrôlent la dénitrification principalement, la concentration des nitrates, le pH, la température et le rapport  $S_0/X_0$ .

La dénitrification a été menée dans un MBBR, les étapes de mises en œuvres, les conditions opératoires à contrôler, le schéma de traitement et l'efficacité de ce mode de traitement seront amplement discutés dans la deuxième partie.

### Partie I Etude préliminaire dans un réacteur batch

Les premiers tests effectués en batch ont été élaborés pour la détermination des conditions opératoires initiales à fixer dans l'ensemble des expérimentations à réaliser tout en utilisant un substrat synthétique chargé (EU), en revanche après détermination de ces conditions, les études en continue ont été établis en considérant un substrat moins chargé (EB).

### 4.2 Méthode expérimentale

Les cultures sont réalisées en réacteur batch (**Figure 3.2**) contenant le milieu synthétique EU (**Tableau 3.2**) chargé avec l'acétate de sodium comme source de carbone et inoculées par les boues activées **INO1**. Les conditions d'anaérobiose ont été maintenues par barbotage d'azote jusqu'à désoxygénation totale de la solution, le brassage dans le réacteur est assuré par une agitation magnétique (**Figure 3.2**).

### 4.3 Résultats et discussions

#### 4.3.1 Effet de la température sur la dénitrification

La température est un paramètre qui influe simultanément, la diffusion des gaz et la solubilité des substrats ainsi que l'activité microbienne.

La température du milieu au sein des installations de traitement est essentiellement régie par la température de l'air ambiant. Toutefois, à conditions climatiques identiques, des différences thermiques sont souvent constatées entre installations, elles s'expliquent par des déperditions énergétiques lors du transit de l'effluent brut dans le réseau de collecte et au sein même de l'installation. Tout changement de température a un impact immédiat sur l'activité.

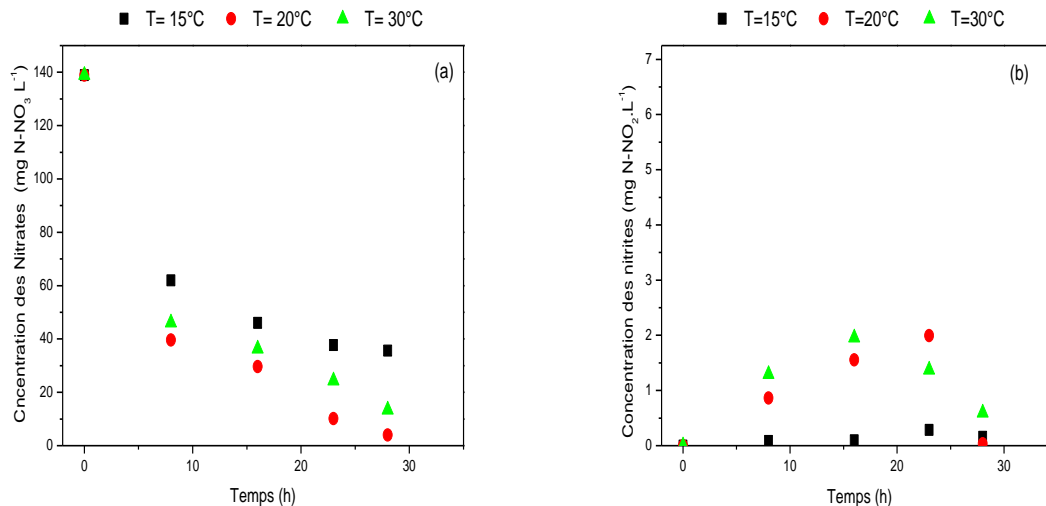
La température est un paramètre environnemental qui contrôle le processus de dénitrification en influençant le métabolisme et la disponibilité des sources de nitrate et de carbone[162,163].

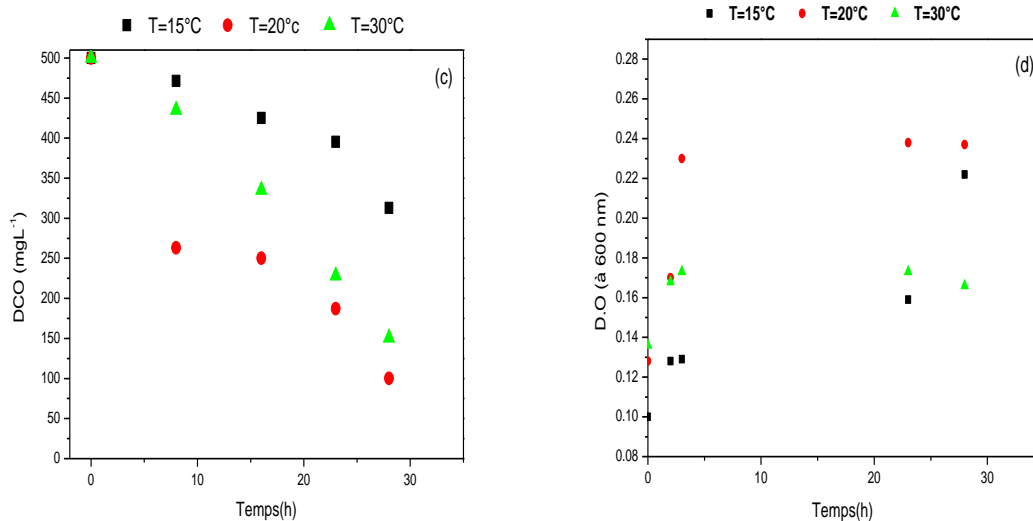
La température affecte généralement l'activité enzymatique, ou les basses températures ralentissent l'activité des enzymes influençant par la suite les différentes activités métaboliques [164].

Dans cette partie d'étude, l'effet de la température sur la dénitrification a été exploré en la variant entre 15 à 30°C et tout en fixant le rapport  $S_0/X_0$  à 2 mg DCO/mg MVS et le pH à 7.

L'effet de la variation de température sur la dénitrification a été exploré par le suivi de la réduction des nitrates et celle de la charge carbonée estimée par la DCO et aussi par le suivi de la croissance microbienne évaluée par la mesure de la densité optique (DO) du milieu réactionnel à **600 nm**, ce mode de suivi a été préféré à la quantification de la biomasse produite par l'estimation des MVS pour ne pas trop réduire le volume du milieu réactionnel et aussi tout en limitant le nombre de prélèvements effectués pour les différentes mesures sans négliger le suivi de la production du composé intermédiaire qui est le nitrite.

Les différentes mesures effectuées sont illustrées dans les **Figures 4.1 (a, b, c et d)**.





**Figure 4.1** Effet de la température sur (a) la réduction des nitrates, (b) la formation des nitrites, (c) la réduction de la DCO, et (d) la croissance microbienne.

La **Figure 4.1** indique l'effet de la température sur les performances de la dénitrification. Dans l'ensemble, la tendance de l'efficacité de la transformation était similaire à 20 et 30°C, en revanche à 15 °C (**Figure (4.1 (a))**), l'efficacité de réduction des N-NO<sub>3</sub> a présenté une cinétique plus lente. Les efficacités d'élimination des nitrates étaient 74.36, 97.16 et 90.64% et ceux de la matière organique étaient 37.44, 80 et 70% à 15, 20 et 30°C respectivement, il a été également constaté qu'aucune accumulation des nitrites n'a eu lieu à 15°C inversement à 20 et 30°C, ce sous-produit du processus de dénitrification (N-NO<sub>2</sub>) a été détecté et a atteint une concentration de 2.014 mg N-NO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> à 20°C et 1.96 mg N-NO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> à 30°C. Ces résultats indiquent qu'une température trop élevée peut entraîner une forte accumulation des nitrites. Des résultats similaires ont été rapportés dans des travaux antérieurs indiquant que les nitrites et d'autres composés azotés comme le N<sub>2</sub>O pouvaient s'accumuler à des températures élevées [129].

Malgré que le suivi de la croissance a été limité à quelques prélèvements seulement suite aux contraintes d'expérimentation, il a été bien souligné qu'à des températures de 20 et 30°C, les quatre phases de la croissance microbienne ont été bien délimitées : La phase de latence, de croissance exponentielle, stationnaire et de déclin (**Figure 4.1. (d)**), cependant à 15°C deux phases seulement ont été visualisées : La phase de latence et de croissance exponentielle. Une croissance plus importante a été constatée à 20 °C qu'à celle de 30°C.

La température idéale pour une dénitrification plus efficace se situe entre 20 et 30°C et elle est optimale à 20°C [48].

### 4.3.2 Effet du rapport $S_0/X_0$ sur la dénitrification

De nombreux auteurs ont mis en évidence l'importance des conditions initiales dans les essais de biodégradation, plus particulièrement le rapport initial entre le substrat et la concentration en biomasse, noté  $S_0/X_0$ .

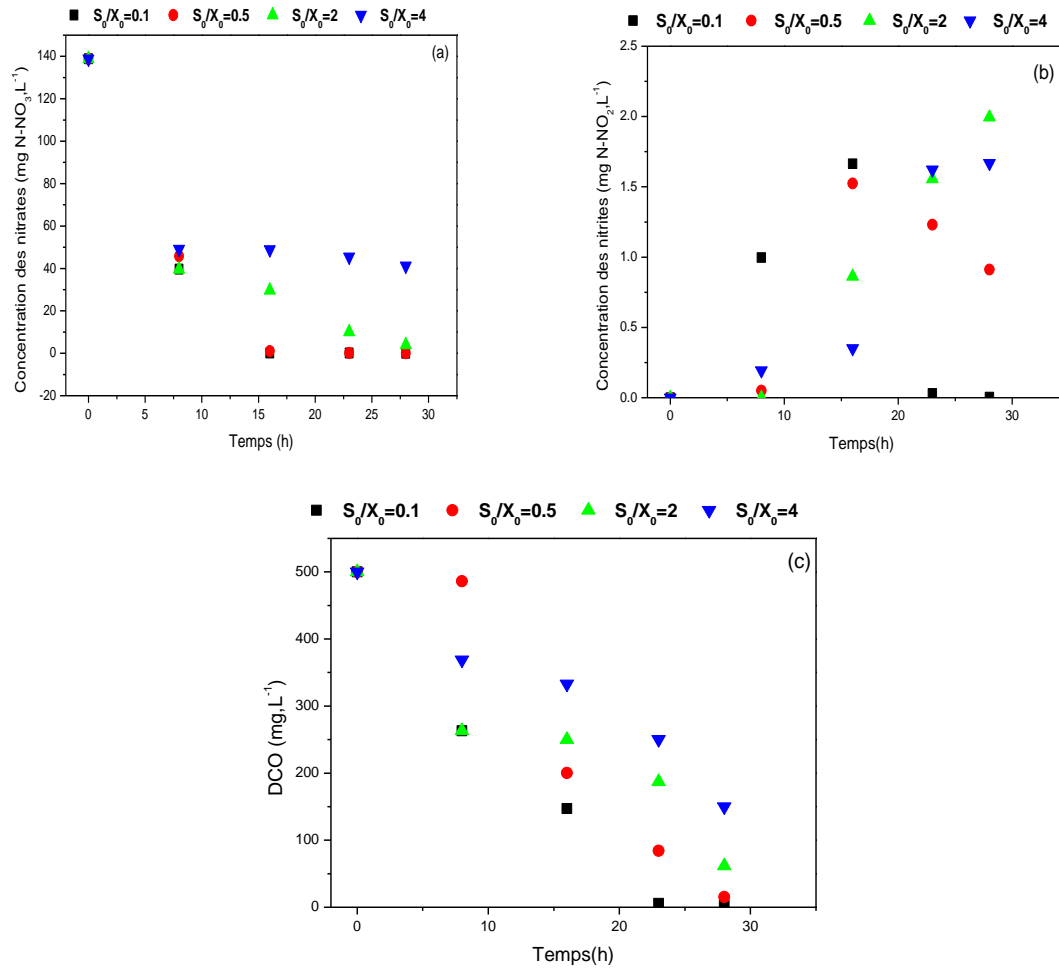
En général, pour une culture en batch, la concentration initiale du substrat ( $S_0$ ) représente une source de carbone et d'énergie pour les besoins de biosynthèse et à d'autres fins énergétiques, tandis que la concentration initiale de biomasse ( $X_0$ ) est une source d'utilisation du substrat. La culture en batch peut être initiée à n'importe quel rapport  $S_0/X_0$  souhaitable en modifiant  $S_0$  à une constante  $X_0$ , ou en faisant varier  $X_0$  à une constante  $S_0$ . Il semble certain que le rapport  $S_0/X_0$  reflète le niveau d'énergie initial de la culture. Il existe des preuves solides que ce rapport affectera directement les schémas de croissance des micro-organismes [165]. En effet, ce rapport influence à la fois les processus métaboliques mis en jeu lors de la dégradation, l'identification des paramètres cinétiques ainsi que la dissociation des compartiments facilement et lentement biodégradables [136].

Quatre rapports ont été imposés dans les différentes expérimentations réalisées pour l'optimisation du rapport  $S_0/X_0$ , les rapports  $S_0/X_0$  fixés varient entre des faibles et forts rapports, une classification délimitée par Chudoba et al., 1992, dans la présente étude les rapports imposés seront **0.1, 0.5, 2, et 4 mg DCO/mg MVS**.

Selon les résultats présentés dans les **Figure (4.2. a et c)** et la **Figure 4.3**, la réduction des nitrates et de la charge carbonée sont presque complètes pour les rapports  $S_0/X_0$  égale à 0.1 et 0.5 mg DCO/mg MVS et un temps de séjour de 27.93h elle est moins pour les rapports, 2 et 4 mg DCO /mg MVS avec des pourcentages d'abattement de 99.99, 99.05, 97.16 et 70.29 % pour les nitrates et 99.38, 96.96, 80 et 70% pour la réduction de la charge carbonée. Une accumulation des nitrites est enregistrée après un temps de séjour de 16h pour les différents rapports  $S_0/X_0$  testés 0.1, 0.5, 2 et 4 mg DCO / mg MVS, ou une augmentation de 40, 96, 100 et 87 % a été enregistrée respectivement.

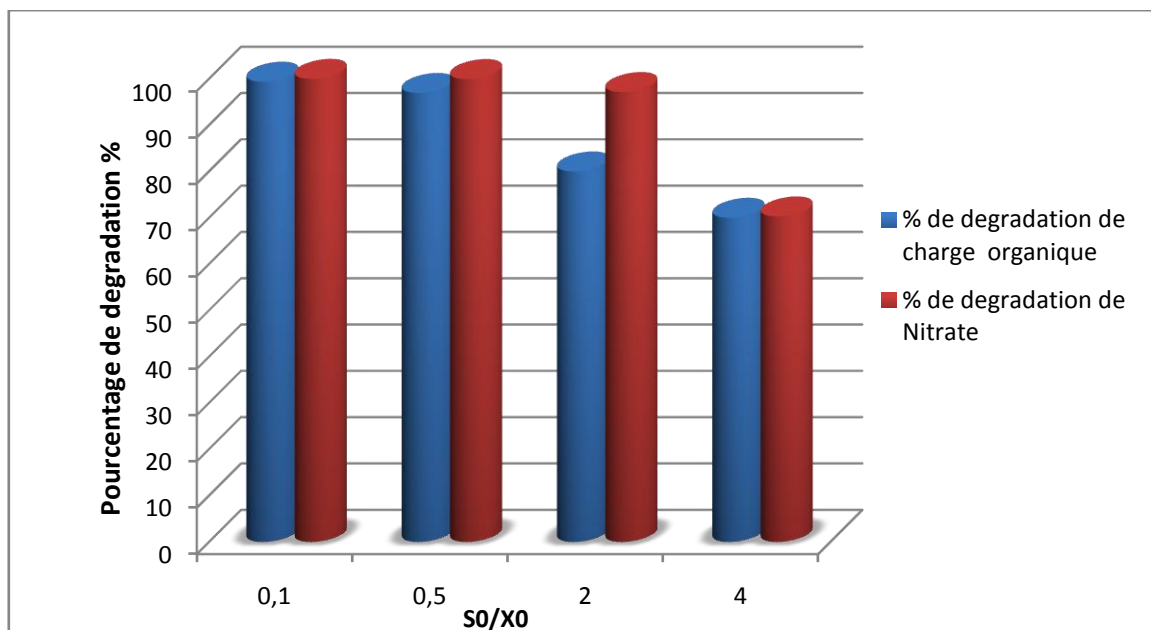
Chudoba et al. [166] indique que dans les essais réalisés avec un rapport  $S_0/X_0$  initial élevé, des phases de retard d'environ 1 jour ont été remarqués. C'est le temps nécessaire pour une multiplication microbienne intense, en revanche avec un rapport  $S_0/X_0$  faible, les substrats étaient dégradés de manière assez rapide indiquant l'absence de multiplication cellulaire.





**Figure 4.2** Effet de variation du rapport  $S_0/X_0$  sur (a) la réduction des nitrates, (b) la formation des nitrites, (c) la dégradation de la DCO.

L'excès de substrat favorise le développement microbien avec un taux de croissance le plus élevé [167] et induit des processus métaboliques spécifiques qui permettent d'identifier précisément les paramètres caractérisant la croissance [168], une croissance qui nécessite plus d'énergie et donc perturbant certains métabolismes. Cependant, au faible ratio une estimation de constantes cinétiques représentatives de la biomasse initiale est possible [166,168].



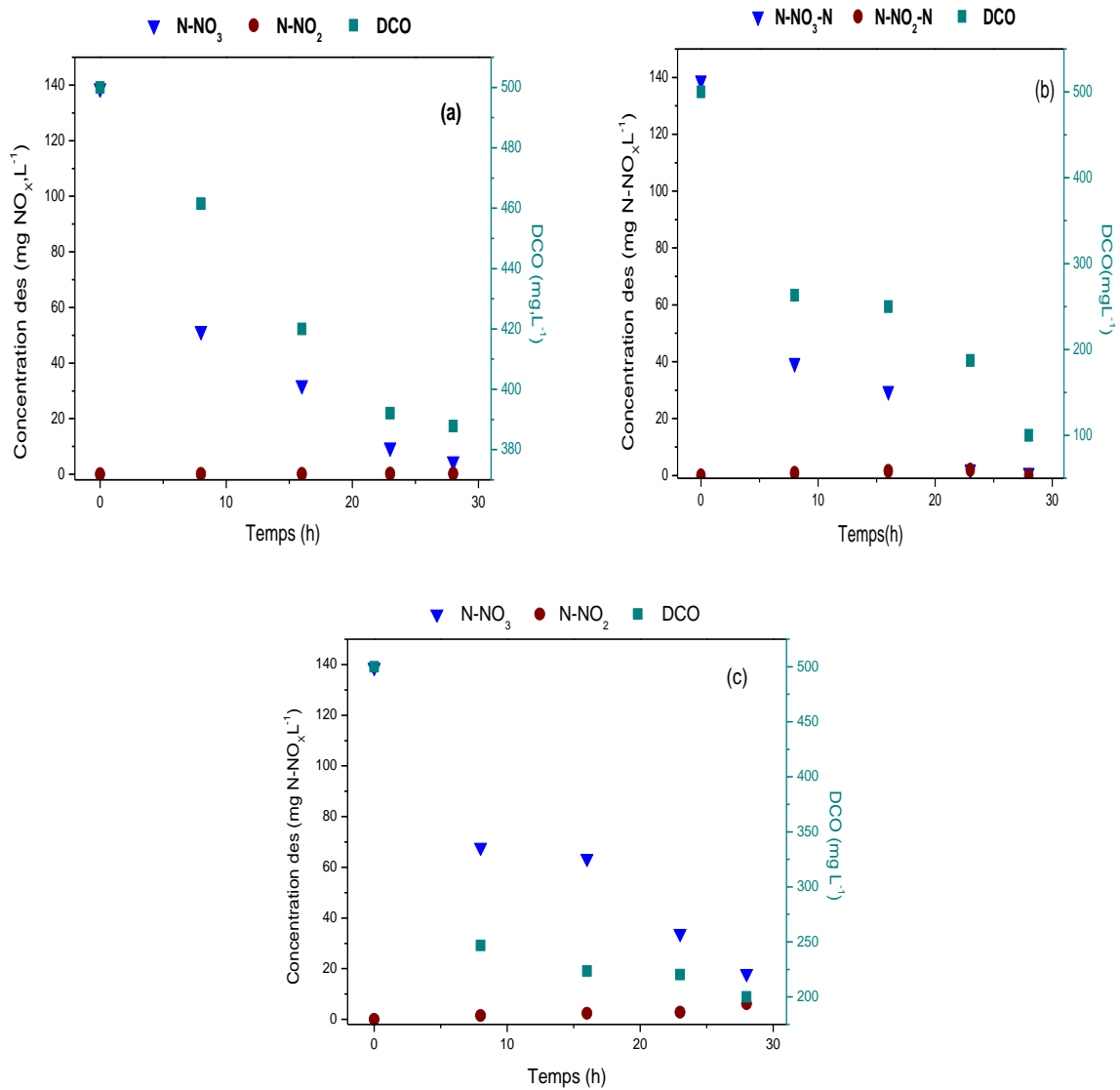
**Figure 4.3** Les pourcentage de dégradation de la charge carbonée et des Nitrates en fonction du rapport  $S_0/X_0$

#### 4.3.3 Effet de pH sur la dénitrification

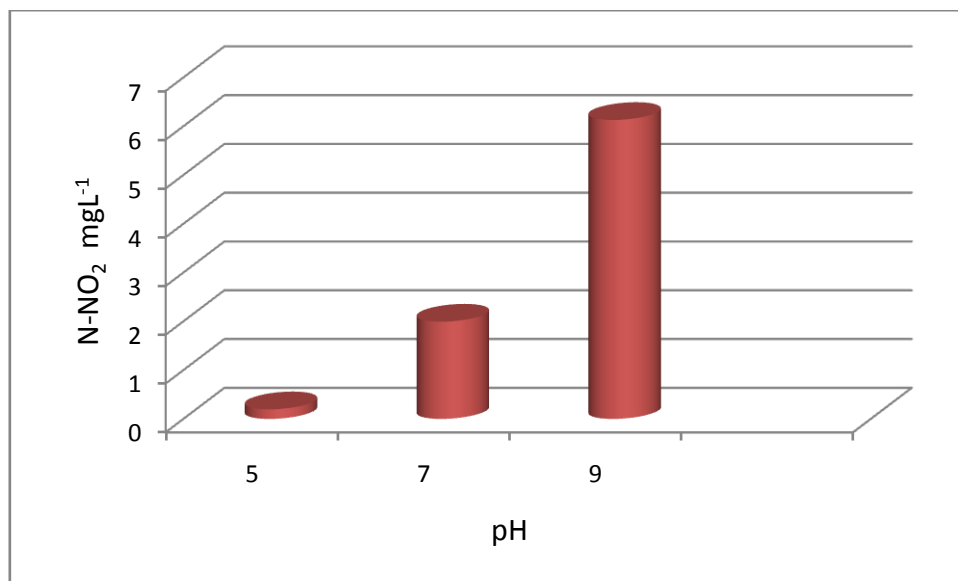
Comme il a déjà été mentionné, le pH est un facteur important qui limite la dénitrification, cette dernière a été suivie dans trois milieux de culture ayant des pH initiaux différents (5, 7 et 9), le pH a été régulé par l'ajout du HCl (1M) pour assurer l'acidité et NaOH (1M) pour la basicité. Les résultats de ces expériences sont illustrés dans la **Figure 4.4**.

Dans les expériences où la boue activée et la solution synthétique ont été acclimatées aux pH 5, 7 et 9, la dénitrification n'a pas été inhibée et l'élimination totale de l'azote s'est produite après 23 h presque. Les résultats de ces expérimentations sont présentés dans les **Figures 4.4 (a, b et c)**.

Ces trois profils représentent deux changements significatifs avec l'augmentation du pH, l'augmentation de la concentration du pic de nitrite et l'augmentation du taux de réduction des nitrates et de la DCO. De plus, sur les **Figures 4.4 (a et b)**, il y a une certaine réduction de nitrite avant que tout le nitrate ne soit réduit, tandis que sur la **Figure 4.4.C**, aucune réduction de nitrite ne s'est produite jusqu'à ce que tout le nitrate soit réduit. Les **Figures 4.4 (a, b)** montrent clairement que la dénitrification de  $138.88 \text{ mg.L}^{-1}$  de  $\text{N-NO}_3$  est possible à des valeurs de pH de solution de 5 et 7, alors que la dénitrification totale de cette concentration n'était pas possible à pH 9.



**Figure 4.4** Evolution temporelle de la réduction des nitrates, la formation des nitrites et la dégradation de la charge carbonée (a) à pH : 5,(b) à pH : 7 et (c) à pH : 9.

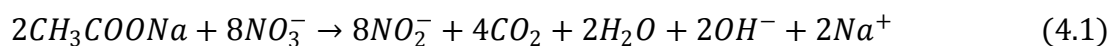


**Figure 4.5** Accumulation maximale des nitrites lors de la dénitrification avec contrôle du pH.

Sur la **Figure 4.5**, la concentration maximale de nitrite en fonction du pH a été représentée graphiquement. On a observé que la concentration maximale de nitrite dans les réacteurs batch augmentait de 0.196 mg N-NO<sub>2</sub>L<sup>-1</sup> à pH 5, 1.99 mgN-NO<sub>2</sub>L<sup>-1</sup> à pH 7 et 6.13 mgN-NO<sub>2</sub>L<sup>-1</sup> à pH 9.

Le fonctionnement du réacteur de dénitrification sous différents pH a démontré qu'à un pH élevé, le nitrite peut s'accumuler.

Une stœchiométrie simplifiée pour la partie productrice d'énergie de la réaction de dénitrification, utilisant l'acétate de sodium comme donneur d'électrons est exprimé dans la réaction 4.1.



La production d'ions hydroxyde (OH) est responsable de l'augmentation du pH. Le pH neutre à alcalin (7-8) est considéré comme le plus optimal pour la dénitrification [169,170]. La variation du pH à partir de cette plage diminue l'efficacité de dénitrification des microorganismes. Guo et coll. (2018) ont rapporté qu'à des niveaux de pH supérieurs à 8.75 ou inférieurs à 6.25 avaient un impact négatif sur l'efficacité d'élimination du NT (azote total) par la souche *E. cloacae*. Des conditions alcalines ou acides fortes se sont également avérées nocives pour la croissance de l'espèce *d'A. Junii* [171]. [162] ont rapporté que le pH 5 a un effet négatif sur la capacité de dénitrification de la souche *Ps. Mandelli*. Cependant, il a été

observé que peu d'espèces effectuent également une dénitrification à un pH plus élevé. Par exemple, les espèces *Halomonas campestris* et *Aeromonas* effectuent une nitrification hétérotrophe - dénitrification aérobie à pH 9 et pH 11 respectivement.

## Partie II Etude de dénitrification dans un réacteur MBBR

Les eaux souterraines et les eaux de surfaces sont largement utilisées comme eau potable dans la plupart des pays du monde. Dans certains pays, en particulier ceux situés dans des zones de sécheresse, les eaux souterraines sont presque la seule ressource en eau. Mais la concentration de nitrate dans les aquifères souterrains n'a cessé d'augmenter au fil des ans, principalement en raison de l'utilisation intensive d'engrais chimiques dans l'agriculture intensive ainsi que du rejet de déchets domestiques et animaux. Cette partie présente en fait les résultats préliminaires et encourageants du démarrage et de l'exploitation d'un réacteur à biofilm à lit mobile de capacité 02 L (MBBR) pour éliminer biologiquement le nitrate, en utilisant kaldnes K1 comme support de biofilm et alimenté avec de l'eau synthétique (EB) simulant une eau brute typique. Différentes conditions opérationnelles ont été testées: i) Concentration de nitrate dans l'influent (30-40-50 et 60 mg L<sup>-1</sup>); (ii) Temps de rétention hydraulique (24-18-12 et 8h); et (iii) les rapports massiques DCO/N-NO<sub>3</sub>(3 et 2.98) .

### 4.4 Le Réacteur MBBR

Le système expérimental MBBR à l'échelle du laboratoire utilisé dans la présente étude a été schématisé sur la **Figure 3.4**. Un récipient cylindrique en verre de 02 L a été utilisé comme réacteur biologique. La tête du réacteur était fermée et équipée d'une vanne unidirectionnelle pour assurer des conditions anoxiques dans le système et éviter la surpression de gaz N<sub>2</sub>. Le volume de travail a été fixé à 1.8 L. Le réacteur a été rempli de **Kaldnes K1** comme supports jusqu'à un pourcentage de remplissage de 50%. Les supports sont composés de polyéthylène haute densité (PEHD), leurs caractéristiques sont été présentées dans le **Tableau 3.2**.

Une pompe péristaltique (**Watson Marlow 520 U, UK**) a été utilisée pour alimenter en continu le MBBR avec de l'eau brute (EB) stockée dans un réservoir de 10 L, un agitateur magnétique a été placé sur le fond du MBBR pour mélanger constamment la masse liquide, évitant ainsi le tassement des porteurs et favorisant le contact entre la biomasse et le substrat.

#### 4.5 Paramètres de démarrage et fonctionnement du MBBR

Le réacteur a été inoculé pour atteindre un volume final de 1.8 L (Figure 3.4) avec les boues activées L'INO<sub>2</sub>. Le MBBR a été alimenté selon le plan expérimental indiqué dans le Tableau 4.1.

Le plan expérimental a été divisé en trois étapes :

1. **Étape de démarrage** visant à former et à favoriser la croissance du biofilm sur les supports. Dans cette phase, le rapport massique DCO/N-NO<sub>3</sub> et le temps de rétention hydraulique (HRT) ont été maintenus constants et respectivement égaux à 3.0 et 24 h. Cependant, la concentration de N-NO<sub>3</sub> a été progressivement augmentée de 30 à 60 mg L<sup>-1</sup> jusqu'à ce que le système atteigne l'état d'équilibre, ce seuil de concentration est couramment détectée dans les eaux brutes fortement contaminées par les nitrates [172].
2. **La première étape** d'optimisation visant à réduire le HRT, en maintenant constant le rapport massique DCO /N-NO<sub>3</sub> et la concentration la plus élevée de N-NO<sub>3</sub> testée (60 mg L<sup>-1</sup>).
3. **La deuxième étape** d'optimisation visant à réduire la charge carbonée dans le substrat en maintenant constants le HRT testé le plus bas (8 h) et la concentration testée N-NO<sub>3</sub> la plus élevée (60 mg L<sup>-1</sup>), alors que le rapport massique DCO/N-NO<sub>3</sub> a été diminué à 2.98.

**Tableau 4.1.** Conditions de fonctionnement du MBBR

Étape	Phase	Jours ouvrables	Débit (mL min <sup>-1</sup> )	N-NO <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	HRT (h)	DCO/N-NO <sub>3</sub>
Étape de Démarrage	I	0-40	1.25	30	24	3.0
	II	41-52	1.25	40	24	3.0
	III	53-67	1.25	50	24	3.0
	IV	68-77	1.25	60	24	3.0
Première étape	V	0-10	1.25	60	24	3.0
	VI	11-19	1.67	60	18	3.0
	VII	20-28	2.50	60	12	3.0
	VIII	29-36	3.75	60	8	3.0
Deuxième étape	IX	0-7	3.75	60	8	3.0
	X	8-18	3.75	60	8	2.98

## 4.6 Résultats et discussions

### 4.6.1 Étape de démarrage

La croissance sur des supports d'une quantité appropriée de biofilm capable de dégrader 30 mg de  $\text{N-NO}_3\text{L}^{-1}$  a nécessité 40 jours (**Figures 4.6 a et b**). Selon Dupla et al. [173] et Zafarzadeh et al. [174] les porteurs peuvent prendre des temps allant de 4 semaines à 68 jours pour être recouverts par une couche importante de biofilm. Au cours des 40 premiers jours de fonctionnement, le MBBR a été alimenté en **EB** en mode continu afin de favoriser la croissance du biofilm par l'ajout constant de substrat frais et le lavage de la biomasse en suspension qui était en concurrence avec le biofilm pour les substrats.

Dès qu'un état d'équilibre a été atteint, la concentration de  $\text{N-NO}_3$  dans l'influent a été augmentée de  $10 \text{ mg L}^{-1}$  et maintenue constante tant qu'une nouvelle condition d'état d'équilibre a été atteinte. Au cours de cette phase, le MBBR a montré une résilience élevée lorsque la charge de  $\text{N-NO}_3$  était augmentée car il n'a connu que pendant une courte période une légère réduction de l'efficacité d'élimination qui a rapidement atteint à nouveau une valeur voisine de 100% (**Figures 4.6. a et b**).

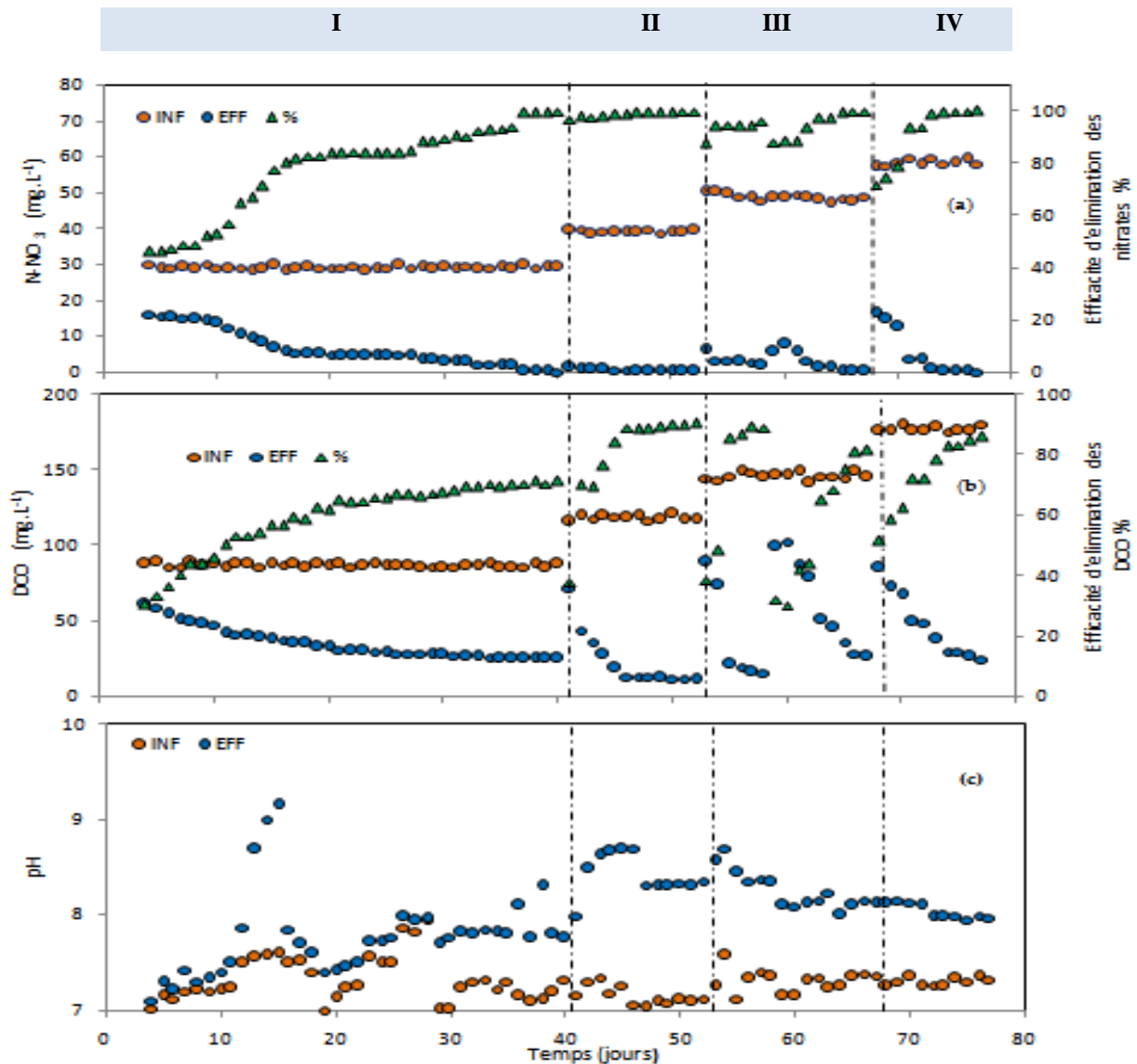
Une perte d'efficacité appréciable a été observée vers les jours 59-60 (**Figures 4.6.a et b**) causée par une présence accidentelle d'oxygène dans la masse liquide, compromettant les conditions anoxiques, causant une baisse des performances du processus de dénitrification en inhibant les bactéries dénitrifiantes.

Il est intéressant de souligner que le MBBR était capable de se récupérer dès que le flux d'oxygène dans le réacteur était interrompu (jour 61 et suivants). Les performances du processus de dénitrification dans le MBBR enregistrées dans cette étude sont en accord avec les résultats de la littérature internationale [172].

La consommation de la DCO (**Figure 4.6. b**) dans le MBBR suit la tendance de l'élimination du  $\text{N-NO}_3$  (**Figures 4.6 a**), prouvant ainsi en outre l'occurrence d'un processus de dénitrification réussi, une augmentation de DCO dans l'effluent a été observée vers les jours 59- 60, exactement en correspondance avec la perte de performance subie par le processus de dénitrification due à la présence d'oxygène libre dans la masse liquide.

Si l'efficacité d'élimination du  $\text{N-NO}_3$  à la fin de chaque phase d'exploitation était d'environ 100%, ce résultat extrêmement prometteur n'a pas été atteint avec la consommation de DCO qui a montré une efficacité d'élimination maximale de 90%. Cette valeur était responsable de

l'accumulation de la DCO dans le système, prouvant que le rapport massique DCO/N-NO<sub>3</sub> choisi égal à 3.0 n'était pas la valeur optimale. La concentration résiduelle de la DCO dans l'effluent a fait en sorte que le MBBR ne fonctionnait pas dans des conditions de limitation du carbone et a en même temps persuadé de réviser ce rapport vers une valeur inférieure.



**Figure 4.6** Evolution temporelle des concentrations et efficacité d'élimination des a) N-NO<sub>3</sub>; b) DCO et c) pH. (Phase de démarrage)

Enfin, dans les conditions normales de fonctionnement du MBBR, le pH de l'effluent a montré des valeurs oscillant entre 8.0 et 8.7 (**Figure 4.6.c**) à tout moment plus élevées que dans l'influent puisque la réaction de dénitrification libère les OH<sup>-</sup> [175].



Une fois que le MBBR a été capable d'éliminer efficacement la quantité cible de  $60 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{N-NO}_3$ , les conditions opératoires ont été modifiées, faisant varier le HRT dans une première étape d'optimisation et le rapport massique  $\text{DCO/N-NO}_3$  dans une deuxième étape.

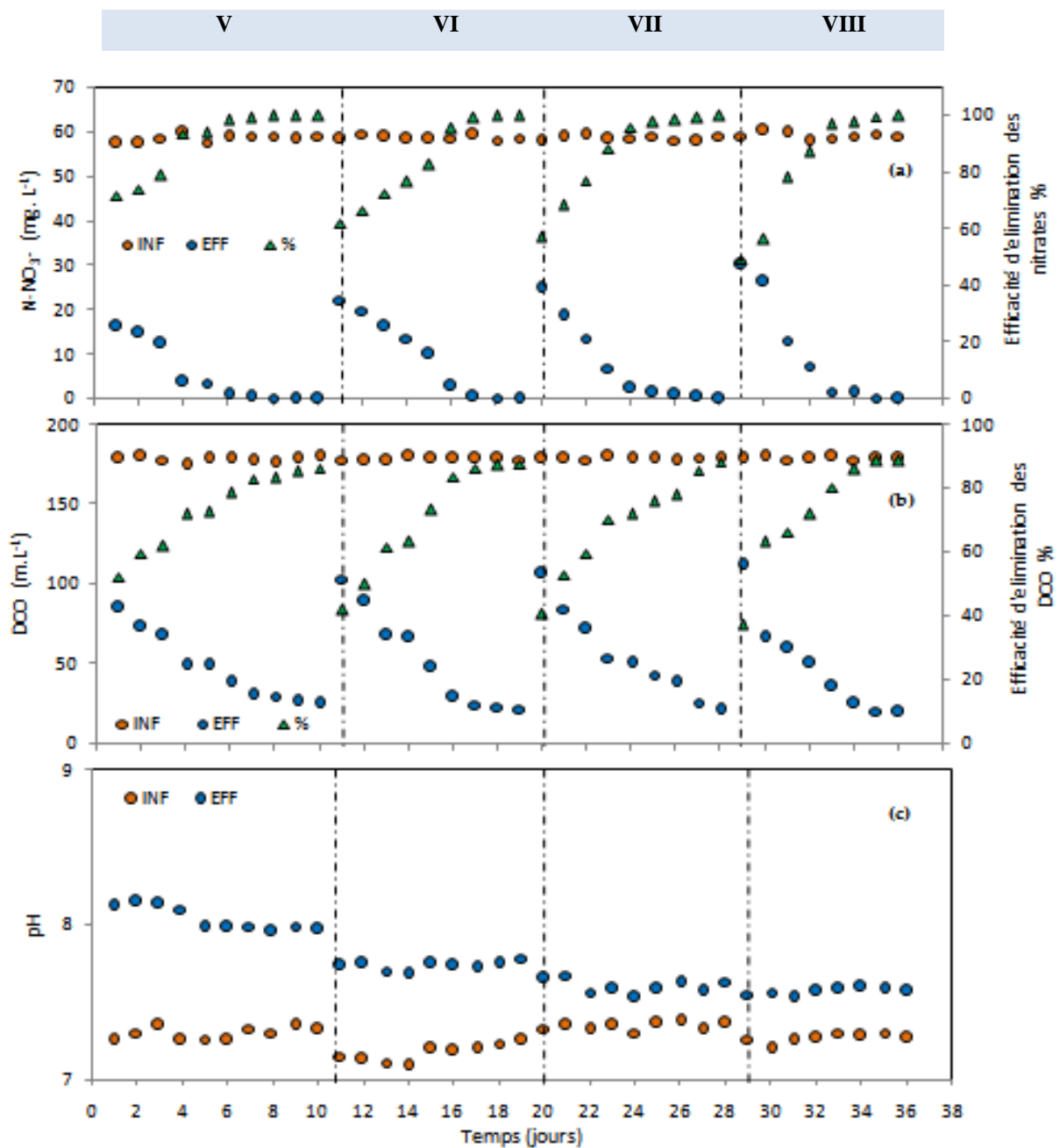
#### 4.6.2 Première étape d'optimisation

Démarrant de 24 h, le HRT a été progressivement diminué pour atteindre une durée de 8 h, ceci dans le but de réduire le volume de travail nécessaire à la dénitrification sans abaisser l'efficacité d'élimination du  $\text{N-NO}_3$  et en même temps, gagner le bénéfice d'un capital ainsi que la réduction des coûts opérationnels [176]. Comme courant pour tous les processus biologiques, la performance de la dénitrification dépend également du HRT [177-178] faisant ainsi passer le HRT de la valeur élevée (c.-à-d. 24h) à la plus faible et qui pourra avoir des effets négatifs sur les performances du processus. Ce résultat préjudiciable ne s'est pas produit car le MBBR dans cette étude n'a connu que temporairement une réduction de l'efficacité d'élimination du  $\text{N-NO}_3$  et était capable en quelques jours de se récupérer et d'atteindre à nouveau des valeurs proches de 100% (**Figure 4.7a et b**).

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux trouvés par Jin et al. qui utilisait du coton comme substrat et atteignait l'efficacité maximale d'élimination de l'azote avec un ensemble HRT égal à 8.6 h. D'autres auteurs [179,180] ont également trouvé une efficacité d'élimination du  $\text{N-NO}_3$  proche de 99% lorsque 8 h était choisi comme HRT.

De même que ce qui a déjà été montré dans la sous-section précédente, les tendances de la concentration et de la consommation de DCO (**Figure 4.7.a et b**) sont en accord avec celles obtenues pour l'élimination du  $\text{N-NO}_3$ .

Enfin, le pH dans l'effluent a fluctué entre 7.5 et 8.2, à tout moment plus élevé que dans l'influent (**Figure 4.7.c**), prouvant ainsi en outre l'occurrence d'un processus de dénitrification. À la fin de cette première étape d'optimisation, la concentration résiduelle de DCO était plus élevée que nécessaire pour exclure la formation de sous-produits de désinfection cancérigènes dangereux (SPD) dans l'eau potable, donc dans l'étape d'optimisation suivante, le rapport massique  $\text{DCO/N-NO}_3$  était fixé à 2.98, plus petit que la valeur précédente de 3.0.



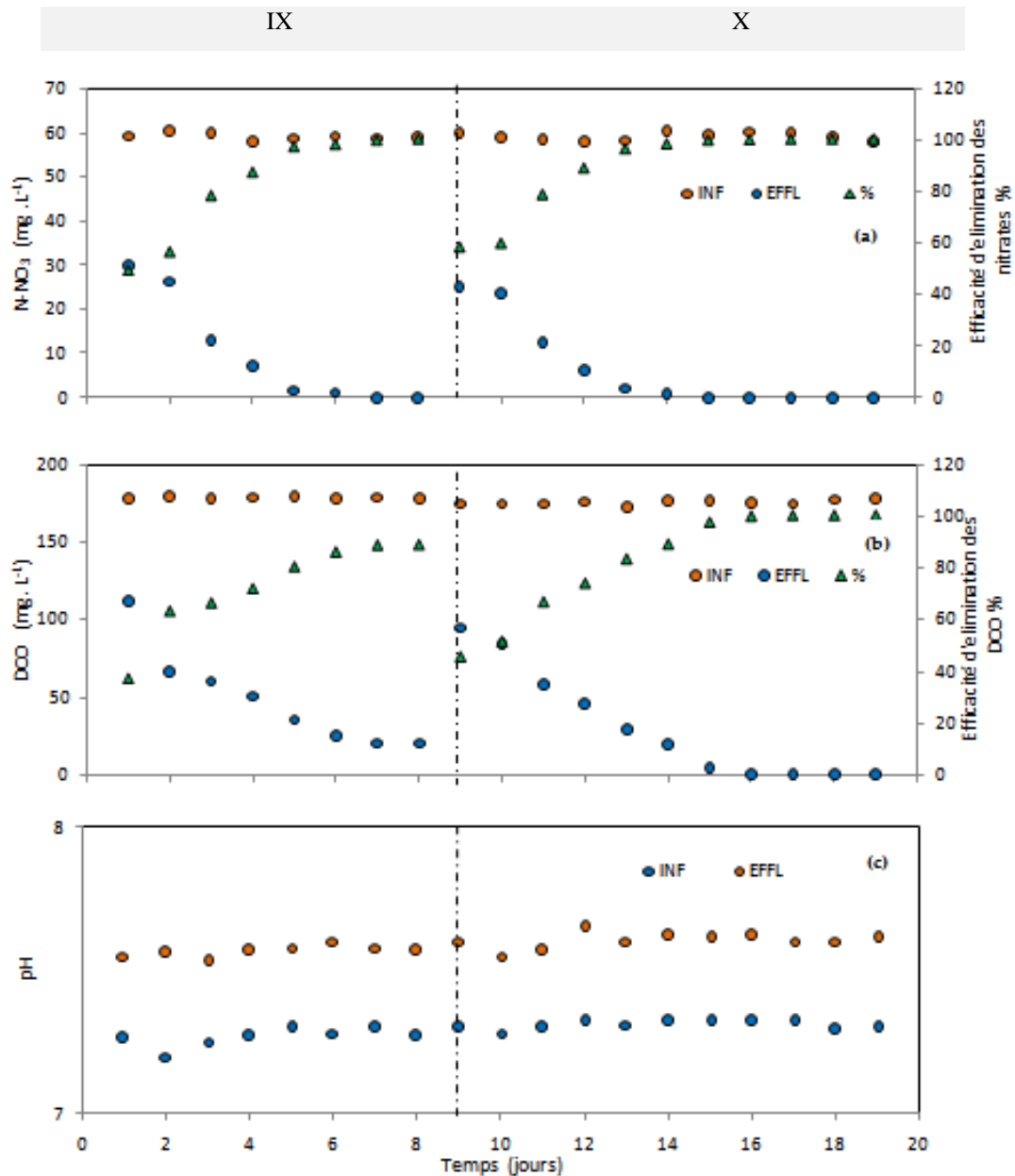
**Figure 4.7** Evolution temporelle des concentrations et efficacité d'élimination des a)  $N-NO_3^-$ ; b) DCO et c) pH. (1<sup>ère</sup> étape)

En aval du MBBR a été ajouté pour compléter le cycle de traitement, un charbon actif granulaire dans le but d'absorber la concentration résiduelle de DCO soluble et de retenir les solides en suspension produits par le détachement du biofilm des supports.

#### 4.6.3 Deuxième étape d'optimisation

Le rapport massique DCO/ $N-NO_3^-$  est un aspect critique dans la gestion d'une dénitrification biologique: une valeur inférieure à celle requise entraîne une non dénitrification complète et une accumulation simultanée de produits intermédiaires indésirables, tels que  $NO_2^-$  et  $N_2O$ ,

alors qu'une valeur supérieure que nécessaire, entraîne un excès de DCO dans l'effluent avec un risque concret de formation de SPD et de réduction de nitrate en ammoniac, en plus des coûts de gestion élevés pour l'approvisionnement en acétate de sodium [181,182].



**Figure 4.8** Evolution temporelle des concentrations et efficacité d'élimination des a)  $N-NO_3$ ; b) DCO et c) pH. (2<sup>ème</sup> étape)

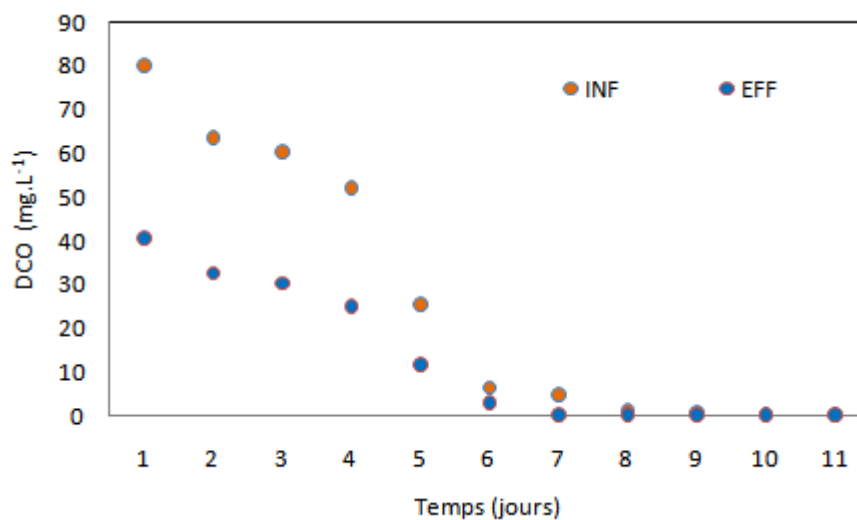
La valeur du rapport massique DCO/ $N-NO_3$  a été réduite à 2.98 maintenue constante pour tous les autres paramètres opérationnels (c'est-à-dire la concentration de HRT et de  $N-NO_3$ ). Avec une telle valeur, après quelques jours d'adaptation, les concentrations de  $N-NO_3$  et de DCO

dans l'effluent étaient à la fois de  $0.0 \text{ mg L}^{-1}$ , montrant une élimination complète du nitrate (**Figure 4.8 a et b**) et aucune DCO résiduelle dans l'effluent. Le résultat obtenu étant vraiment satisfaisant, le rapport massique DCO/N-NO<sub>3</sub>n'a plus été diminué.

Comme contrôle supplémentaire de l'efficacité du procédé, le pH a été surveillé dans l'effluent et a montré des valeurs régulières autour de 7.60 (**Figure 4.8.c**).

#### 4.6.4 Filtre à charbon actif granulaire

Les charbons actifs sont bien connus pour être vraiment efficaces pour éliminer la DCO soluble [183], Bansode et al.[184] et utilisés en configuration comme filtre, ils peuvent également être utiles pour retenir les solides en suspension [183] sous forme de particules de biofilm détachées des supports. Pour cette raison, l'effluent de MBBR qui aurait pu contenir du DCO résiduel a été traité avec un filtre à charbon actif granulaire [185]. Les résultats sont représentés sur la **figure 4.9** et ont montré la grande efficacité du processus de filtration : la concentration de DCO dans l'effluent était constamment égale à zéro. Le filtre à charbon actif constituait une barrière supplémentaire pour éviter la DCO résiduelle dans l'eau potable avant la désinfection. Par conséquent, la qualité de l'eau après filtration s'est avérée appropriée pour être désinfectée au chlore sans générer de SPD.



**Figure 4.9** Concentration de la DCO dans l'influent et l'effluent après filtration sur charbon actif

**4.7 Conclusions**

Les résultats de cette étude prouvent l'efficacité de la dénitrification biologique dans un système MBBR: une grande quantité de N-NO<sub>3</sub> dans l'eau a été successivement et totalement éliminée avec un apport modéré d'acétate de sodium.

L'étape de démarrage a été réalisée pour rendre le système efficace pour éliminer la concentration la plus élevée de N-NO<sub>3</sub> et a nécessité 77 jours pour être achevée. La première étape a été réalisée pour minimiser le HRT du processus de dénitrification et a nécessité 36 jours pour atteindre des conditions stables avec un HRT de 8 h. La deuxième étape a été réalisée pour minimiser la demande d'acétate de sodium sans abaisser les performances et par conséquent la concentration résiduelle de DCO. Cette étape a nécessité 19 jours.

De plus, le MBBR a montré une récupération rapide à chaque fois que les conditions opérationnelles étaient définies plus sévères (c'est-à-dire l'augmentation de la charge N-NO<sub>3</sub>, la réduction du HRT, la diminution du rapport de masse DCO/N-NO<sub>3</sub>) et aucune condition testée n'a conduit le MBBR à l'échec, prouvant ainsi que les conditions de fonctionnement peuvent varier dans une plus large gamme. L'inconvénient du procédé représenté par la DCO soluble résiduelle ainsi que la DCO en suspension a été confronté avec succès en couplant le MBBR avec un filtre activé granulaire qui fonctionnait avec une concentration très faible de DCO a une longue durée de vie avant d'être remplacé, ce qui réduit les coûts d'exploitation.

## **Chapitre V**

### **Résultats expérimentaux : Estimation des constantes cinétiques et modélisations**

#### **5.1 Introduction**

La modélisation des boues activées est largement appliquée dans le domaine de traitement biologique des eaux usées dans le but de l'apprentissage, la conception et l'optimisation du processus, la famille de modèles de boues activées développée par l'International Water Association (**IWA**) est la plus répandue[186].

Ces modèles sont principalement basés sur les voies métaboliques dans les boues activées (**ASM**), ils sont proposés pour décrire les différents processus à citer l'hydrolyse, la croissance, le stockage, la lyse la prédation ..., conditionnés principalement par la nature du substrat et son degré de biodégradabilité. Les modèles nécessitent l'introduction d'une multitude de constantes bio-cinétiques et stœchiométriques dans le but de simuler la réponse dans différentes conditions, la détermination de ces constantes peuvent être effectuée par plusieurs techniques à citer les techniques respirométriques, connaissant une grande évolution et une large application dans ces dernières années[136, 187, 188], les techniques respirométriques peuvent être utilisées principalement dans deux conditions à citer en aérobie et en anoxie. En condition anoxique la mesure du profil de l'évolution des nitrates en fonction du temps par les micro-organismes hétérotrophes permet l'estimation du **NUR** 'Nitrate Uptake Rate'.

L'objectif de ce chapitre est de déterminer expérimentalement certaines constantes bio-cinétiques et stœchiométriques en utilisant la méthode de pulse respirométrie dans le réacteur MBBR et d'autres par calage après une modélisation du procédé, pour ceci, la mise en œuvre du MBBR a été reprise telle qu'effectuée dans l'étude de performance du process par rapport à la dénitrification (chapitre VI), mais d'autres conditions d'alimentation ont été testées pour valider le modèle considéré.

#### **5.2 Les méthodes respirométriques**

Les méthodes respirométriques reposent sur la mesure du taux d'utilisation des accepteurs d'électrons, elles ont été utilisées comme l'une des principales méthodes de caractérisation de la composition des eaux usées et de la biocinétique des boues activées [189,190]. Le comportement cinétique des hétérotrophes en condition anoxique est déterminé au moyen de la cinétique de dénitrification, qui peut être évaluée à l'aide du taux d'utilisation des nitrates (**NUR**) dans ces conditions, ainsi, ce taux sera conditionné par les voies métaboliques mis en jeu lors de la dénitrification hétérotrophique à citer la croissance, le stockage, l'hydrolyse, la lyse ... (vision du

modèle ASM1 ou ASM3) et de la nature des substrats utilisés (facilement ou lentement biodégradable).

### **5.2.1 Base de l'analyse respirométrique du comportement des boues activées en condition anoxique**

#### **5.2.1.1 Selon la vision du modèle ASM1**

Dans la phase de croissance en condition anoxique, la biomasse hétérotrophe consomme le nitrate pour dégrader le substrat organique facilement biodégradable ( $S_S$ ), en conséquence, le nitrate ( $S_{NO}$ ) diminue jusqu'à la consommation ou la dispersion totale de substrat facilement biodégradable, une étape d'hydrolyse du substrat organique s'impose si le substrat organique est plus complexe.

Le taux d'utilisation du nitrate, NUR dans le processus de dénitrification selon la vision du modèle ASM1 est bien affectée par les processus de croissance et de désintégration. Dans ce cas, la variation de nitrate peut être écrite comme suit [191]:

$$NUR = \frac{dS_{NO}}{dt} = -\frac{1-Y_{HD}}{2.86Y_{HD}} \hat{\mu}_{HD} \frac{S_S}{K_S+S_S} \frac{S_{NO}}{K_{NO}+S_{NO}} X_{BH} - \frac{1-f_{EX}}{2.86} b_{HD} X_{BH} \quad (5.1)$$

Dans ce contexte, le taux de croissance spécifique des hétérotrophes en conditions anoxiques peut être approché par le même type de fonction de Monod.

$$\mu_{HD} = \hat{\mu}_{HD} \frac{S_S}{K_S+S_S} \frac{S_{NO}}{K_{NO}+S_{NO}} \quad (5.2)$$

De plus, la concentration du nitrate est généralement réduite que par la croissance des dénitrifiants. Par conséquent, sa variation peut être écrite en équation Eq 5.3 [192].

$$\frac{dS_{NO}}{dt} = -\frac{1-Y_{HD}}{2.86Y_{HD}} \hat{\mu}_{HD} \frac{S_S}{K_S+S_S} \frac{S_{NO}}{K_{NO}+S_{NO}} X_{BH} \quad (5.3)$$

Une expression similaire peut être dérivée pour un substrat facilement biodégradable qui est utilisé par la biomasse hétérotrophe :

$$\frac{dS_S}{dt} = -\frac{1}{Y_{HD}} \hat{\mu}_{HD} \frac{S_S}{K_S+S_S} \frac{S_{NO}}{K_{NO}+S_{NO}} X_{BH} \quad (5.4)$$

On peut également décrire la croissance de micro-organismes hétérotrophes par l'équation suivante :

$$\frac{dX_{BH}}{dt} = \hat{\mu}_{HD} \frac{S_S}{K_S + S_S} \frac{S_{NO}}{K_{NO} + S_{NO}} X_{BH} \quad (5.5)$$

L'observation expérimentale indiquent également que la désintégration endogène se déroule à un taux réduit dans ces conditions, est généralement utilisée pour la respiration anoxique endogène des hétérotrophes[192]:

$$\frac{dX_{BH}}{dt} = -\frac{1-f_{EX}}{2.86} b_{HD} X_{BH} \quad (5.6)$$

### 5.2.1.2 Selon la vision du modèle ASM3

Le profil du NUR est différent selon le modèle de **ASM3**, il se base sur le stockage, la croissance et la dégradation des produits de stockage [193].

En effet, dans le processus de stockage dans **ASM3**, on suppose que tous les substrats organiques facilement biodégradables sont d'abord absorbés par les hétérotrophes et convertis en matériaux stockés, qui sont ensuite assimilés par la biomasse (**Figure 5.1 a**). Cependant, le modèle **ASM3** est modifié en supposant l'utilisation d'un substrat pour une croissance et un stockage simultané dans des conditions anoxiques. On considère que le substrat est utilisé pour la production des polymères de stockage et de biomasse, et que le processus d'hydrolyse est présent pour le substrat lentement biodégradable. Après l'épuisement du substrat, les micro-organismes utilisent les polymères de stockage accumulés pour une croissance anoxique (**Figure5.1b**).

La cinétique d'utilisation des nitrates associée à la consommation de substrat primaire est décrite par l'équation(5.7), tandis que la cinétique d'utilisation des nitrates associée au stockage du substrat anoxique ( $X_{STO}$ ) est exprimée par l'équation (5.8).

$$NUR_{grows} = \mu_{HD,s} \eta_{NOx} \frac{1-Y_{HD,s}}{2.86 Y_{HD,s}} \frac{S_S}{K_S + S_S} \frac{S_{NOx}}{K_{NOx} + S_{NOx}} X_{HD} \quad (5.7)$$

$$NUR_{STO} = k_{STO,D} \eta_{NOx} \frac{1-Y_{HD,D}}{2.86 Y_{HD,D}} \frac{S_S}{K_S + S_S} \frac{S_{NOx}}{K_{NOx} + S_{NOx}} X_{HD} \quad (5.8)$$

Après la consommation du substrat primaire facilement biodégradable, la croissance anoxique secondaire se produit sur le  $X_{STO}$  stocké en phase de **famine**(**Figure5.1b**).

L'utilisation du nitrate associée à la consommation du deuxième substrat anoxique ( $X_{STO}$ ) est définie ci-dessous:



$$NUR_{grows,STO} = \mu_{HD,STO} \eta_{NOx} \frac{1 - Y_{HD,STO}}{2.86 Y_{HD,STO}} \frac{K_S}{K_S + S_S} \frac{X_{STO} / X_{HD}}{K_{STO} + (X_{STO} / X_{HD})} \frac{S_{NOx}}{K_{NOx} + S_{NOx}} X_{HD} \quad (5.9)$$

La maintenance est généralement définie en fonction du substrat influent (substrat primaire), si les substrats secondaires comme les polymères de stockage sont pris en compte, la maintenance peut alors également être liée à ces matériaux[194], le maintien anoxique des dénitrificateurs est considéré séparément, et n'est pas inclus dans le coefficient de respiration endogène, pour aborder les situations réelles. Les dénitrificateurs ont également besoin d'énergie pour l'entretien et d'autres activités, en plus de l'anabolisme.

Lorsque le substrat externe (S<sub>s</sub>) est présent à la phase de **fête**, les dénitrificateurs (X<sub>HD</sub>) consomment des S<sub>s</sub> pour leur maintien anoxique à un taux donné et lorsque S<sub>s</sub> est épuisé pendant la phase de famine, les dénitrificateurs consomment du X<sub>STO</sub> pour leur entretien anoxique à un autre taux.

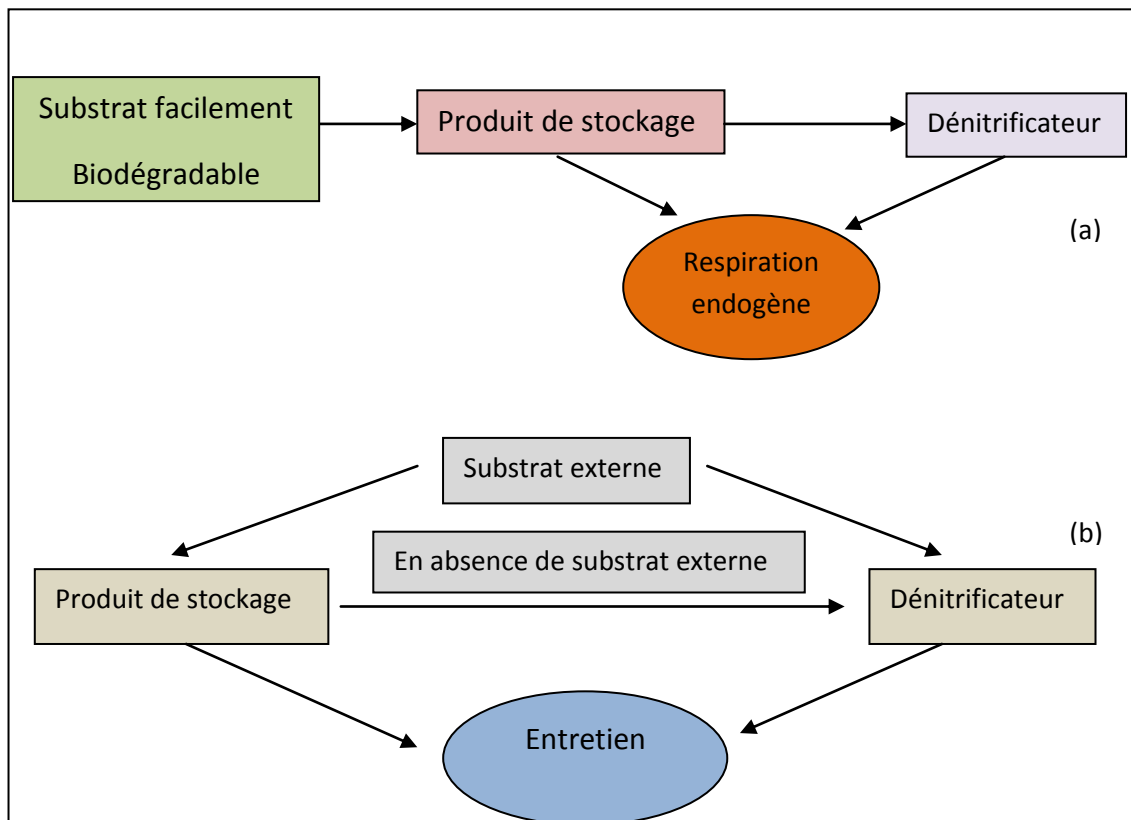
L'utilisation du nitrate associée à un maintien anoxique sur la consommation de substrat externe est définie par l'équation (5.10), tandis que l'utilisation du nitrate associée à un maintien anoxique sur le substrat du stockage (X<sub>STO</sub>) est décrite par l'équation (5.11).

$$NUR_{anoxic-main,S} = \frac{1}{2.86} m_{HD,S} \frac{S_S}{K_S + S_S} \frac{S_{NOx}}{K_{NOx} + S_{NOx}} X_{HD} \quad (5.10)$$

$$NUR_{anoxic-main,STO} = \frac{1}{2.86} m_{HD,STO} \eta_{NOx} \frac{K_S}{K_S + S_S} \frac{X_{STO} / X_{HD}}{K_{STO} + (X_{STO} / X_{HD})} \frac{S_{NOx}}{K_{NOx} + S_{NOx}} X_{HD} \quad (5.11)$$

En fin la décomposition de la biomasse, c'est la désintégration endogène de la biomasse causée par la prédation et la lyse cellulaire entraîne une perte significative de la masse de la biomasse et de son activité. L'équation (5.12) décrit l'accumulation de la fraction du substrat inerte particulaire (X<sub>I</sub>) à la suite de la désintégration de la biomasse active.

$$\frac{dX_I}{dt} = f_I b_{HD,NOx} \frac{K_S}{K_S + S_S} \frac{K_{STO}}{K_{STO} + (X_{STO} / X_{HD})} X_{HD} \quad (5.12)$$



**Figure 5.1.** a) Les mécanismes d'utilisation du substrat anoxique selon la vision du modèle ASM3, b) Les mécanismes proposés pour l'utilisation du substrat anoxique.

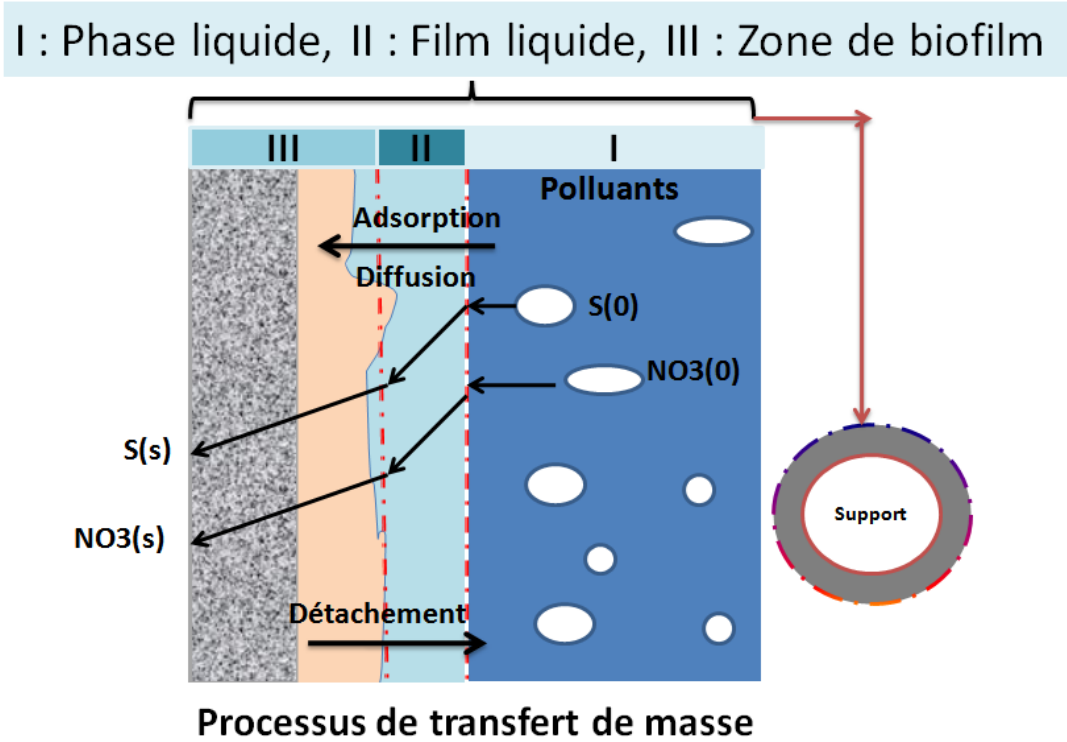
### 5.3 Modèle cinétique du biofilm dans un MBBR

Pour ces procédés, la difficulté à obtenir un échantillon représentatif du système ainsi qu'à décrocher la biomasse présente un problème majeur, il ya plusieurs modèles pour estimer les constantes cinétiques dans un réacteur à culture fixe.

Les premiers modèles de biofilm continu par Williamson et Mccarty[195] ont été développés dans les années 1970 afin d'évaluer la cinétique d'utilisation des substrats dans les biofilms. Ces travaux pionniers reposaient sur le concept selon lequel l'élimination des substrats d'une phase aqueuse nécessite la diffusion de réactifs dans le biofilm, le métabolisme par des micro-organismes et la diffusion de produits métaboliques à travers le biofilm et dans la phase aqueuse. Ces modèles peuvent être considérés comme le premier exemple de modèles continus puisqu'ils ont pu reproduire l'essentiel du développement de biofilm, idéalisant les processus d'utilisation du substrat, de diffusion moléculaire et de transport de masse comme des équations différentielles simultanées pour une couche homogène de biomasse.

En effet, le taux d'utilisation du substrat dans le biofilm a été modélisé par une cinétique bactérienne de type Monod et le flux de diffusion à travers la couche de diffusion et le biofilm par la loi de diffusion de Fick[196]. (**Figure 5.2**).

Sur la base de la diffusion (**loi de Fick**) et de la réaction biologique (cinétique de Monod), les bilans des substrats pour l'utilisation des nitrates et la source de carbone dans le biofilm peuvent être exprimés en **Eqs. (5.13) - (5.15)**.



**Figure 5.2** Diagramme schématisé des utilisations des nitrates et du substrat organique lors de la dénitrification par une culture fixe[196].

Utilisation des nitrates par la biomasse dénitrifiante dans le réacteur :

$$\frac{dS_{NO_3}}{dt} = \left(\frac{Q_0}{\alpha V \varepsilon}\right)(S_{NO_3(0)} - S_{NO_3}) - k_{fNO_3}(S_{bNO_3} - S_{SNO_3}) \frac{A}{\alpha V \varepsilon} - \frac{1 - Y_{HD}}{2.86 Y_{HD}} \hat{\mu}_{HD} \frac{S_{NO_3} S_S}{(K_{NO} + S_{NO})(K_S + S_S)} X_{BH} \quad (5.13)$$

Utilisation du substrat organique par la biomasse dénitrifiante dans le réacteur :

$$\frac{dS_S}{dt} = \left(\frac{Q_0}{\alpha V \varepsilon}\right)(S_0 - S_S) - k_{fDCO}(S_{b(S)} - S_S) \frac{A}{\alpha V \varepsilon} - \frac{\mu_{HD} S_{NO_3} S_S}{Y_{HD}(K_{NO} + S_{NO})(K_S + S_S)} X_{BH} \quad (5.14)$$

Taux de croissance de la biomasse dénitrifiante :

$$\frac{dX_{BH}}{dt} = \left(\frac{\mu_{HD} S_{NO_3} S_S}{(K_{NO} + S_{NO})(K_S + S_S)} - b_{HD}\right) X_{BH} + \frac{A}{\alpha V \varepsilon} b_s L_f X_f \quad (5.15)$$

## Chapitre V Résultats expérimentaux : Estimation des constantes cinétiques et modélisations

Le coefficient de transfert de film ( $k_f$ ) a été calculé à partir de la formule empirique pour le réacteur à lit fixe [197]. Lorsque le coefficient de transfert du film liquide ( $k_f$ ) devient élevé, cela signifie que le liquide est d'importance mineure, et l'inverse est vrai pour un faible coefficient [197].

$$k_f = 1.17 v_s (Re)^{-0.42} (Sc)^{-0.67} \quad (5.16)$$

Où  $v_s$  est la vitesse d'écoulement superficielle (cm/d) à travers le réacteur,  $Re = d_p v_s / \nu$  est le nombre de Reynolds (sans dimension),  $Sc = \nu / D_w$  est le nombre de Schmidt (sans dimension),  $d_p$  est le diamètre des supports (cm), et  $\nu$  est la viscosité cinématique de l'eau (cm<sup>2</sup>d<sup>-1</sup>).

Le coefficient de perte de cisaillement spécifique ( $b_s$ ) du biofilm sur le support peut être évalué via la formule empirique suivante [197].

$$b_s = 2.29 \times 10^{-6} \left[ \frac{\nu v_s (1-\varepsilon)^3}{d_p \varepsilon^3 a} \right] \quad (5.17)$$

Où  $\nu$  est la viscosité cinématique de l'eau (cm<sup>2</sup>d<sup>-1</sup>), et ( $a$ ) est la surface spécifique du lit de la colonne (cm<sup>-1</sup>).

### 5.4 Estimation expérimentale des constantes cinétiques et stœchiométriques par la méthode respirométrique en condition anoxique

#### a. Mesure du rendement anoxique $Y_{HD}$

Pour leur croissance, la biomasse hétérotrophe ( $X_{HD}$ ) utilise la matière organique ( $S_S$ ) comme substrat. Une partie de cette matière organique est assimilée pour former de la biomasse (fraction  $Y_{HD}$ ) et l'autre partie ( $1 - Y_{HD}$ ) notée  $Y_{NO}$  est utilisée comme source d'énergie (**Figure 5.3**).

Le coefficient de rendement ( $Y_{HD}$ ), lié à la synthèse de la biomasse, est un paramètre stœchiométrique nécessaire pour le calcul des bilans massiques des réactions biologiques. Pour les microorganismes hétérotrophes dénitrifiants, le rendement anoxique ( $Y_{HD}$ ) est nécessaire pour déterminer la masse de carbone organique nécessaire pour éliminer les nitrates et la production de boues. [138, 192, 198, 199].

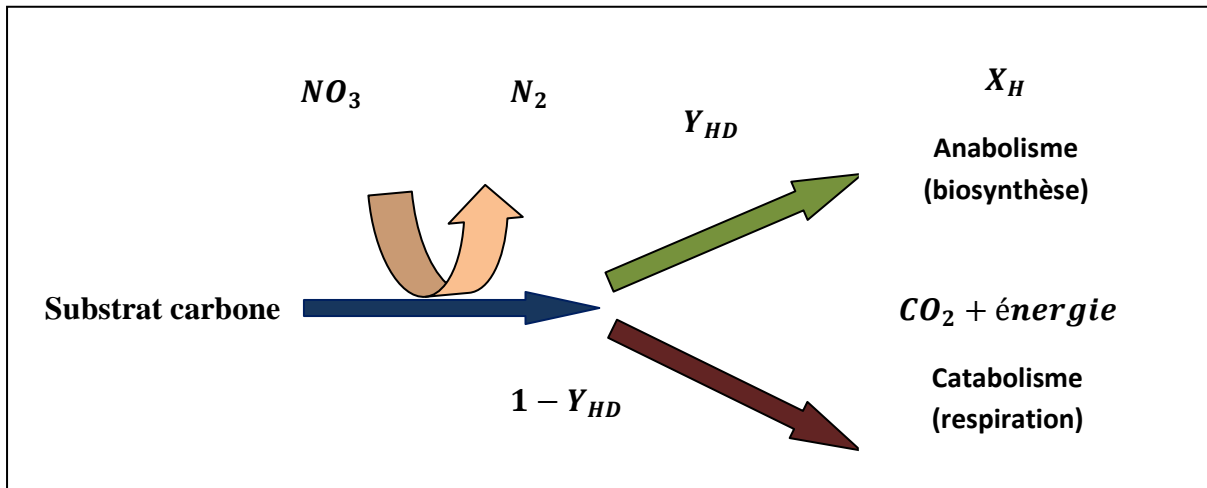


Figure 5.3. Métabolisme hétérotrophique en condition anoxique

Le rendement ( $Y_{HD}$ ) et le rendement énergétique ( $1 - Y_{HD}$ ) peut être exprimé comme suit[200] :

$$Y_{HD} = \frac{\text{g de biomasse produite (DCO)}}{\text{g de substrat consommé ou utilisé (DCO)}} \quad (5.18)$$

$$1 - Y_{HD} = \frac{\text{g de substrat oxydée (DCO)}}{\text{g de substrat consommé ou utilisé (DCO)}} \quad (5.19)$$

En divisant la première équation ( $Y_{HD}$ ) par la deuxième équation ( $1 - Y_{HD}$ ), on obtient l'équation suivante:

$$\frac{Y_{HD}}{1 - Y_{HD}} = \frac{\frac{\text{g biomasse produite(DCO)}}{\text{g substrat consommé ou utilisé (DCO)}}}{\frac{\text{g substrat oxydée(DCO)}}{\text{g substrat consommé ou utilisé(DCO)}}} = \frac{\text{g biomasse produite (DCO)}}{\text{g substrat oxydée(DCO)}} \quad (5.20)$$

Dans cette étude, la dénitrification est considérée comme un processus en deux étapes  $NO_3^- \xrightarrow{1} NO_2^- \xrightarrow{2} N_2$  pour mesurer la performance afin de simplifier le calcul. L'équation (5.20) peut être représentée par l'équation générale suivante pour la mesure du rendement :

$$\frac{\text{g biomasse produite (DCO)}}{\text{g substrat oxydée(DCO)}} = \frac{\frac{\text{g biomasse produite(DCO)}}{\text{g substrat consommé ou utilisé (DCO)}}}{1 - Y_{HD}} \quad (5.21)$$

$$\text{g substrat consommé ou utilisé (DCO)} = \frac{\text{g substrat oxydée(DCO)}}{1 - Y_{HD}} \quad (5.22)$$

L'exigence du substrat biodégradable total pour la réduction du nitrate et du nitrite associée à la désoxygénation peut être calculée comme suit [192]:

$$[\Delta DCOS] = \left[ \frac{2.86}{1-Y_{HD}} \cdot \Delta[NO_3^-] \right] + \left[ \frac{1.71}{1-Y_{HD}} \cdot \Delta[NO_2^-] \right] \quad (5.23)$$

$$Y_{HD} = 1 - 2.86 \left[ \frac{(\Delta[NO_3^-] + 0.6\Delta[NO_2^-])}{\Delta DCOS} \right] \quad (5.24)$$

En supposant que l'effet du nitrite peut être négligé, l'expression (5.24) peut être simplifiée comme suit:

$$Y_{HD} = 1 - 2.86 \left[ \frac{\Delta[NO_3^-]}{\Delta DCOS} \right] \quad (5.25)$$

### **b. Estimation du taux de croissance spécifique maximal**

Le taux de croissance dans des conditions anoxiques peut être évalué en utilisant une approche respirométrique similaire aux conditions aérobies avec toutefois un suivi de la variation de la concentration en nitrate au lieu de l'oxygène [201, 202]. Ces techniques diffèrent principalement dans le rapport  $S_0/X_0$  initialement considéré dans les tests respirométriques.

Le test suggéré par Dold [201], permet l'estimation de ce paramètre avec un rapport  $S_0/X_0$  (F/M) élevé.

$$\mu_{HD} = \hat{\mu}_{HD} \frac{S_S}{K_S + S_S} \frac{S_{NO}}{K_{NO} + S_{NO}} \quad (5.26)$$

Les concentrations de carbone et de nitrate dans l'essai en batch étaient suffisamment élevées (par rapport aux coefficients de demi-saturation,  $K_S$  et  $K_{NO}$ ), pour s'assurer que le taux de croissance est à son maximum, c'est-à-dire  $\mu_{HD} \approx \hat{\mu}_{HD}$  et l'équation (5.3) devient :

$$\frac{ds_{NO}}{dt} = - \frac{1-Y_{HD}}{2.86} \cdot \frac{\hat{\mu}_{HD}}{Y_{HD}} X_{BH} \quad (5.27)$$

La variation de la concentration de la biomasse,  $X_{BH}$ , est le résultat de la croissance et de la désintégration, l'équation (5.5) devient :

$$\frac{dX_{BH}}{dt} = \hat{\mu}_{HD} \cdot X_{BH} - b_{HD} \cdot X_{BH} \quad (5.28)$$

$$\frac{dX_{BH}}{dt} = (\hat{\mu}_{HD} - b_{HD}) X_{BH} \quad (5.29)$$

La réorganisation de l'équation (5.29) et l'intégration de zéro à l'instant t sera :

$$\frac{dX_{BH}}{X_{BH}} = (\hat{\mu}_{HD} - b_{HD}) \cdot dt \quad (5.30)$$

$$\int_0^t \frac{dX_{BH}}{X_{BH}} = \int_0^t (\hat{\mu}_{HD} - b_{HD}) \cdot dt \quad (5.31)$$

$$X_{BH,t} = X_{BH,0} e^{(\hat{\mu}_{HD} - b_{HD}) \cdot t} \quad (5.32)$$

Les unités de concentration de biomasse sont des milligrammes de DCO par litre. Ceux-ci peuvent être convertis en unités MVS équivalentes, en appliquant un facteur de conversion **1.42 mg DCO/mg MVS**[201].

En remplaçant l'équation (5.32) dans l'équation (5.27) et en intégrant à nouveau de  $t = 0$  à l'instant  $t=t$ :

$$\frac{dS_{NO}}{dt} = -\frac{1-Y_{HD}}{2.86} \cdot \frac{\hat{\mu}_{HD}}{Y_{HD}} X_{BH,0} e^{(\hat{\mu}_{HD} - b_{HD}) \cdot t} \quad (5.33)$$

$$\int_0^t dS_{NO} = -\int_0^t \frac{1-Y_{HD}}{2.86} \cdot \frac{\hat{\mu}_{HD}}{Y_{HD}} X_{BH,0} e^{(\hat{\mu}_{HD} - b_{HD}) \cdot t} dt \quad (5.34)$$

$$S_{NO,t} = S_{NO,0} - \frac{1-Y_{HD}}{2.86} \cdot \frac{\hat{\mu}_{HD} \cdot X_{BH,0}}{Y_{HD} \cdot (\hat{\mu}_{HD} - b_{HD})} e^{(\hat{\mu}_{HD} - b_{HD}) \cdot t} + \frac{1-Y_{HD}}{2.86} \cdot \frac{\hat{\mu}_{HD} \cdot X_{BH,0}}{Y_{HD} \cdot (\hat{\mu}_{HD} - b_{HD})} \quad (5.35)$$

$$S_{NO,t} = S_{NO,0} - \frac{1-Y_{HD}}{2.86} \cdot \frac{\hat{\mu}_{HD} \cdot X_{BH,0}}{Y_{HD} \cdot (\hat{\mu}_{HD} - b_{HD})} (e^{(\hat{\mu}_{HD} - b_{HD}) \cdot t} - 1) \quad (5.36)$$

On peut tracer l'évolution de  $S_{NO,t}$  en fonction de temps on peut estimer par simulation tous les paramètres  $\hat{\mu}_{HD}$  et  $X_{BH,0}$ , la valeur de  $b_{HD}$  peut-être soit expérimentalement déterminée ou dans certains cas présentée **5%** de taux de croissance maximale[136].

Un test similaire établi par Ekama et al [202] a permis d'évaluer le taux de croissance spécifique maximal de la biomasse hétérotrophique dans des conditions anoxiques en utilisant un **faible rapport  $S_0/X_0$  (F/M)** avec une eau résiduaire municipale contenant une DCO facilement biodégradable. Dans ces conditions, la respiration endogène a été négligée et  $\hat{\mu}_{HD}$  a été déterminé selon l'équation suivante:

$$\hat{\mu}_{HD} = \left[ \frac{\Delta_2 NO_3 (V_{WW} + V_{ml})}{\Delta t f_{av} V_{ml} X_V} \right] \cdot \left[ \frac{2.86}{(1 - f_{cv} Y_{HD})} \right] \cdot Y_{HD} \quad (5.37)$$

### c. La détermination de taux de décroissance $b_{HD}$

La respiration endogène joue un rôle crucial dans l'évaluation de la demande des accepteurs d'électrons dans les réacteurs aérobies et anoxiques séquentiellement utilisés dans les systèmes de boues activées d'élimination de l'azote. Dans le schéma de flux post-dénitrification, la respiration

endogène anoxique est considérée comme la seule source de carbone organique interne libérée par la biomasse microbienne. La détermination de taux de décroissance de la biomasse dénitrifiante (hétérotrophes) peut être assurée par la méthode respirométrique [203].

La procédure développée par Avcioglu [203] permet l'estimation de la concentration de  $b_{HD}$  indépendamment de  $X_{BH}$ . La procédure est basée sur le batch NUR expériences conduites avec de la biomasse endogène échantillonnée à partir d'un réacteur anoxie à différents intervalles de temps. Une approche bien établie qui, dans le réacteur discontinu alimenté avec une quantité suffisante de substrat pour une condition de croissance maximale, est initialement donnée par l'équation ci-dessous :

$$NUR_{(t)} = \left[ \frac{1-Y_{HD}}{2.86} \cdot \frac{\hat{\mu}_{HD}}{Y_{HD}} + \frac{(1-f_E)}{2.86} b_{HD} \right] \cdot X_{BH} \quad (5.38)$$

Le logarithme de  $NUR(t)$  peut être utilisé pour déterminer le coefficient de désintégration endogène,  $b_{HD}$ , à partir de la pente des valeurs de  $NUR(t)$  en fonction du temps, tel que dicté par l'équation ci-dessous :

$$\ln NUR_{(t)} = \ln \left[ \frac{1-Y_{HD}}{2.86} \cdot \frac{\hat{\mu}_{HD}}{Y_{HD}} + \frac{(1-f_E)}{2.86} b_{HD} \right] \cdot X_{BH,0} - b_{HD} t \quad (5.39)$$

Ainsi, le paramètre de décroissance endogène ( $b_{HD}$ ) peut être estimé sur la base de la diminution des niveaux initiaux de  $NUR$  avec le temps (plusieurs jours).

La méthode proposée par Avcioglu [203] fournit une estimation plus précise du coefficient de désintégration endogène car elle reflète également la perte d'activité de la biomasse hétérotrophique.

### d. Estimation de constante de demi-saturation $K_S$

Un paramètre important qui est nécessaire pour spécifier dans n'importe quel modèle biologique est la constante de demi-saturation pour la source de carbone ( $K_S$ ). L'estimation de cette constante peut être déterminée par la méthode respirométrique basée sur la cinétique des différentes concentrations initiales des nitrates (estimation des SDNR relatives) en fonction des variations des concentrations du substrat carboné [204].

## 5.5 Matériels et méthodes expérimentales

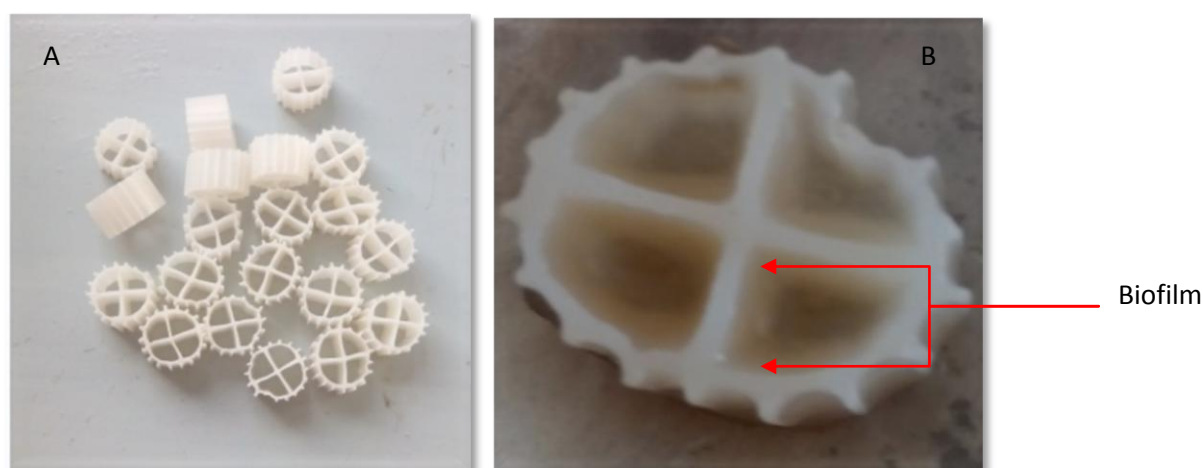
### 5.5.1 Échelle pilote MBBR

Les granules ont été de nouveau cultivés dans des conditions d'anoxie dans un moving bed biofilm reactor (MBBR) à l'échelle de laboratoire (**Figure 3.3**). La même mise en œuvre a été assurée dans le



montage du réacteur MBBR (**Figure 3.5. C**) utilisé dans cette étape d'étude pour la détermination des constantes biocinétiques et la modélisation du système, le réacteur a été alimenté avec le même substrat **EB** en mode continu par une pompe péristaltique (**Vario System ISMATEC SA**) à un débit de  $0.25 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$  et le temps de séjour 8h, mais il a été inoculé avec des boues activées provenant d'une station d'épuration locale **IN03**, le contact biomasse/substrat est assuré par une agitation douce correspondant à un volume mort qui s'estime de 22.5 %.

Le réacteur a démarré avec un rapport substrat /biomasse  $S_0/X_0$  de 0.238 ( $\text{mg COD} (\text{mg MVS}^{-1} \cdot \text{j}^{-1})$ ). Le MBBR a été alimentée avec une eau synthétique composée de nitrate de potassium ( $\text{KNO}_3$ ) comme accepteur d'électrons et d'acétate de sodium ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) comme donneur d'électrons avec un rapport optimal ( $\text{DCO} / \text{N-NO}_3$ ) de 2.98 tel que déterminé dans les essais antérieurs (chapitre VI).



**Figure 5.4.** Kaldnes K1 (A) à son état initial, (B) Après formation du biofilm

### 5.5.2 Evolution de la formation du biofilm dans le MBBR

Avant toute détermination des constantes bio cinétiques et stœchiométriques, il a été nécessaire d'attendre le développement du biofilm sur la surface du support, l'adhésion initiale des micro-organismes est l'étape critique dans la formation du biofilm, qui est influencé par diverses conditions, notamment les propriétés physico-chimiques des bio-porteurs, les conditions environnementales et les caractéristiques de la surface des boues.

Parmi ces paramètres, la température qui a un effet important sur l'activité des microorganismes (chapitre VI) mais aussi sur l'adhésion du biofilm à la surface du support, la densité du biofilm croît avec la diminution de la température [205]; Peric[206] ont également mentionné que la densité de la biomasse diminuait à fur et à mesure que la température augmentait. De plus, Hosseiny et al. ont

souligné que les fréquentes collisions entre les éléments en plastique provoquaient une érosion de la biomasse à partir de leur surface, ce qui entraînait une croissance limitée du biofilm. Cependant, il a été constaté que la biomasse attachée est plus active que celle en suspension même si sa contribution de masse est plus faible. La même constatation a été soulignée dans les expériences menées dans la présente étude, la formation du biofilm sur le support est très limitée (**Figure 5.4B**), influencée par la faible charge de EB et la température du milieu réactionnel qui a varié entre 24 et 27 ° C au fil des jours d'expérimentation.

En raison de la masse limitée de la biomasse attachée et les difficultés dans l'évaluation du transfert de masse dans le biofilm, on a supposé que la diffusion dans la biomasse attachée n'est pas importante et le réacteur est supposé comme un réacteur complètement mélangé représentant la biomasse en suspension et celle attachée, l'activité de la biomasse attachée sera évaluée après achèvement des différents essais programmés.

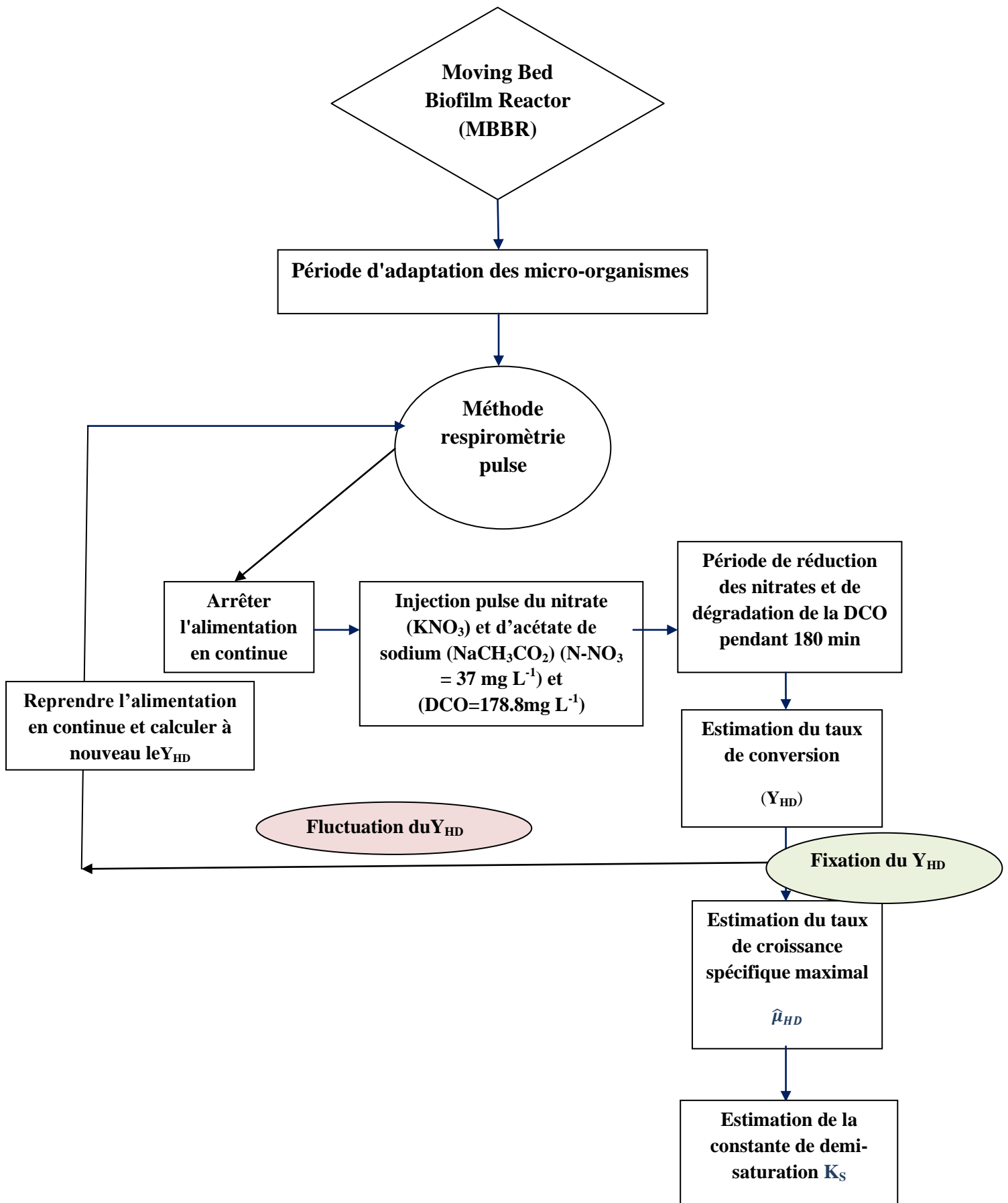
### 5.5.3 Respirométrie technique pulse

Un attachement de la biomasse sur le MBBR a été remarqué après 15 jours d'inoculation, une petite couche de biofilm s'est développée à la surface des kaldnes et stabilisée physiologiquement (**Figure 5.4B**).

La technique de respirométrie pulse a été utilisée pour estimer le NUR. Le réacteur doit fonctionner en mode continu jusqu'à ce qu'une croissance significative du biofilm soit observée (**Figure 5.4B**) et pour confirmer que le système a atteint la phase stationnaire, le  $Y_{HD}$  sera estimé en appliquant la respirométrie pulse effectuée après injection dans le MBBR en mode discontinu. Cette technique a été appliquée en suivant les démarches schématisées dans la **Figure 5.5**.

Après la fixation de  $Y_{HD}$ , le réacteur a atteint la phase stationnaire, permettant l'estimation expérimentale par la technique respirométrique des autres constantes cinétiques à citer  $\hat{\mu}_{HD}$  et  $K_S$ .

L'organigramme (**Figure.5.5**) schématise les différentes étapes appliquées pour estimer les constantes cinétiques et stœchiométriques par la respirométrie pulse dans un MBBR.



**Figure 5.5** Organigramme de mesure expérimentale des constantes biocinétiques par la technique respirométrie pulse en condition anoxique.

### 5.6 Résultats et discussions

#### 5.6.1 Fonctionnement du réacteur MBBR

Le réacteur à lit mobile a fonctionné par intermittence entre fonctionnement continu et discontinu pendant 48 jours. La **Figure (5.6)** montre le graphique opérationnel, il convient de souligner que la durée de fonctionnement du batch est d'environ 180 minutes alors que la durée continue est en terme de jours.

Pour démarrer la respirométrie pulse dans des conditions discontinues, les concentrations de nitrates et de substrat carboné exprimé en DCO doivent être respectivement d'environ 4 et 25 mg. L<sup>-1</sup> dans les conditions continues. Le comportement du réacteur dénitrifiant., au début, le réacteur fonctionnait avec une concentration de nitrate d'influent de 60 mg de N-NO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, comme on le voit dans les essais préliminaires.

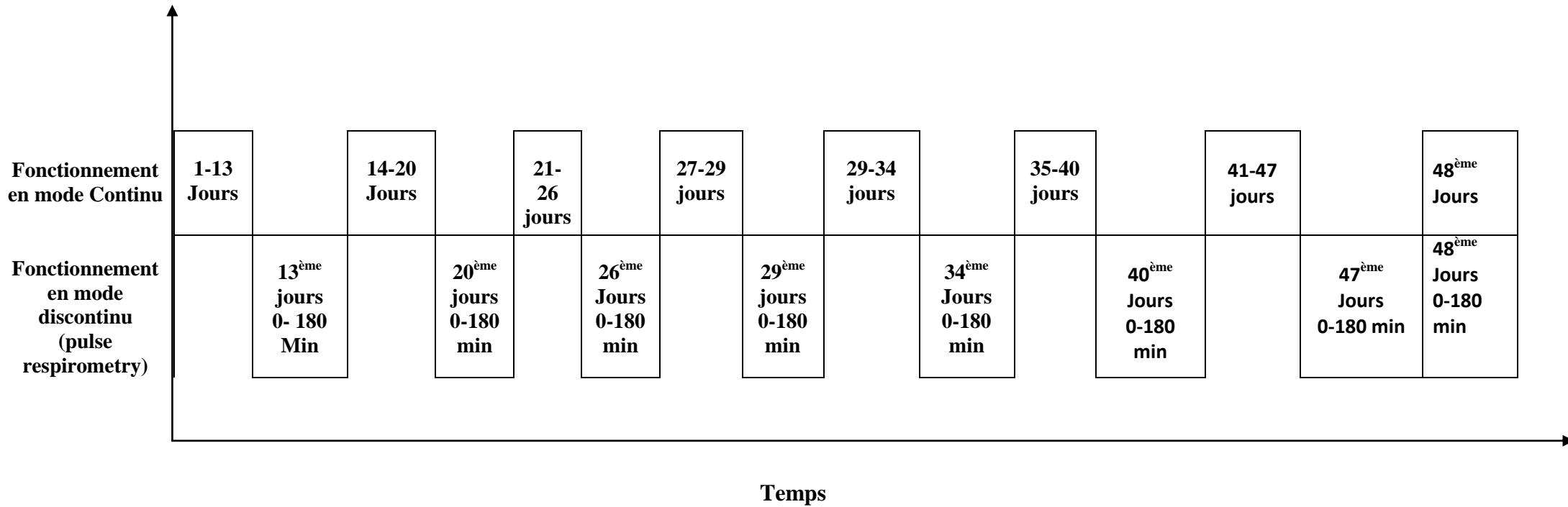


Figure 5.6 Planification du programme expérimental

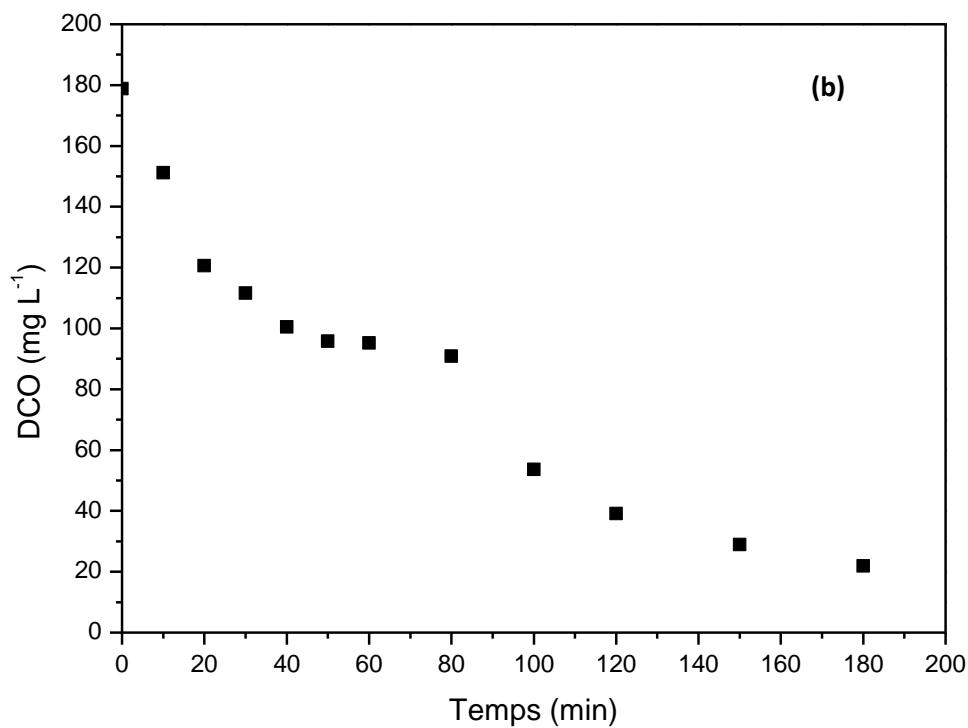
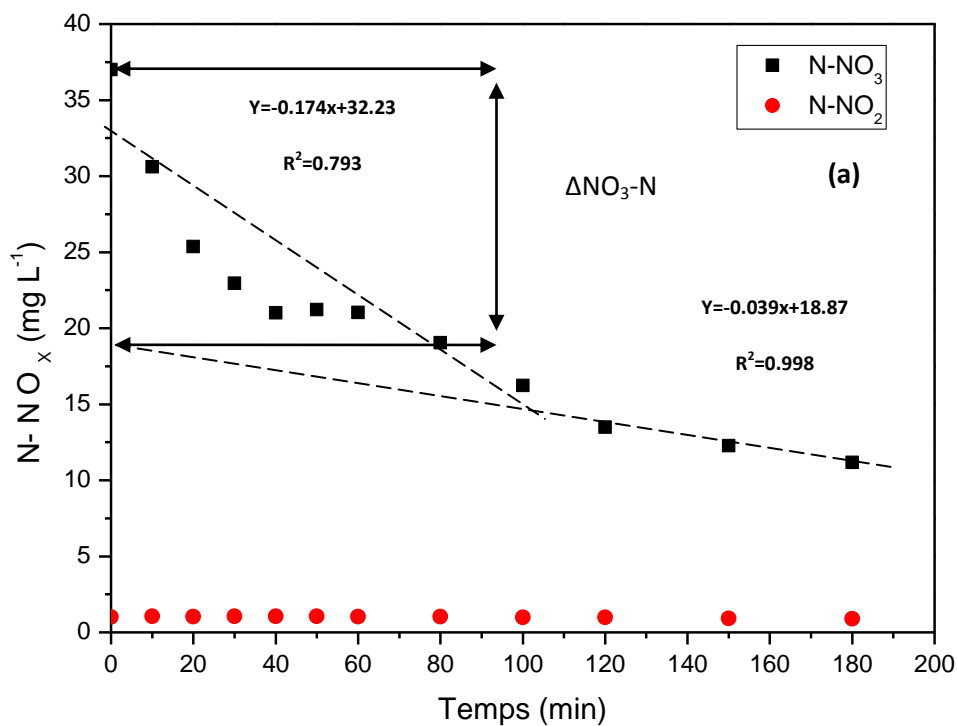
### 5.6.2 Estimation des paramètres

#### a) Estimation de $Y_{NO}$ et $Y_{HD}$

Le rendement hétérotrophe ( $Y_{HD}$ ) en conditions anoxiques a été déterminé expérimentalement en utilisant la respirométrie pulse après injection en mode discontinu du nitrate de potassium et de l'acétate de sodium avec des concentrations respectives de  $37 \text{ mg N-NO}_3\text{L}^{-1}$  et  $178,8 \text{ mg de DCO L}^{-1}$ . La **Figure 5.7** montre les variations des nitrates, des nitrites et de la DCO soluble après l'injection pulse dans le MBBR fonctionnant en conditions anoxiques.

Comme on peut le voir sur les deux **Figures (5.7)**, une diminution rapide au début de l'expérience peut être remarquée suivie d'une diminution lente. Ekama et al.[202] attribuaient ce comportement à l'épuisement du substrat facilement biodégradable. Cependant dans cette étude les deux substrats étaient de nature soluble et ils sont facilement biodégradables.

Le **Tableau (5.1)** montre les variations de  $Y_{HD}$  et de  $Y_{NO}$  observées au cours des expériences. Ordaz et al[188] attribuaient les variations de  $Y_H$  à la division instable entre la biomasse fixe et la biomasse suspendue quand  $Y_H$  devient constant, cela signifie qu'une division stable est atteinte[188]. On peut voir à partir du **Tableau 5.1**, qu'une phase stationnaire a été atteinte après 20 jours d'incubation et maintenue telle quelle jusqu'au 26<sup>ème</sup> jour. Cependant, au 29<sup>ème</sup> jour, une perturbation affectant  $Y_{HD}$  a été constatée, causée probablement par la vitesse d'agitation, elle a été réduite de 200 à 100 tours / minute afin d'éviter le détachement de la biomasse et réduire la perte de biomasse à travers l'effluent. (Barwal&Chaudhary, 2014) ont constaté que lorsque le nombre de tours par minute est élevé, le détachement de la biomasse était plus important. Par conséquent, l'augmentation soudaine de  $Y_{HD}$  au 29<sup>ème</sup> jour d'incubation pourrait être due à un détachement de la biomasse. Les résultats montrent qu'après le 29<sup>ème</sup> jour, le  $Y_{HD}$  s'est stabilisé autour de  $0,4 - 0,42 \text{ mg DCO/mg DCO}$  pendant les 19 jours consécutifs de traitement, rappelant aussi qu'on réduisant la vitesse d'agitation de 200 à 100 tr/min le volume mort dans le MBBR se réduit respectivement de 38 à 31,55% (pour un débit d'alimentation de  $0,816 \text{ L h}^{-1}$  et une quantité de support :  $165,2\text{g}$ ), améliorant incontestablement l'efficacité du MBBR (Section **3. 10.1** Chapitre III).



**Figure 5.7** Evolutions temporelles enregistrées après une injection pulse du substrat binaire a) (nitrate et nitrite) et b) (DCO) au 26<sup>ème</sup> jour.

**Tableau 5.1** Les rendements hétérotrophes  $Y_{HD}$  et  $Y_{NO}$  estimés après chaque injection pulse.

Temps (jours)	Période d'incubation						
	13 <sup>ème</sup>	20 <sup>ème</sup>	26 <sup>ème</sup>	29 <sup>ème</sup>	34 <sup>ème</sup>	40 <sup>ème</sup>	47 <sup>ème</sup>
$Y_{HD}$ ( mgDCO/mg DCO )	0.577	0.4	0.42	0.57	0.42	0.409	0.4
$Y_{NO}$ ( mgDCO/mg DCO )	0.422	0.6	0.58	0.43	0.58	0.590	0.6

**b) Estimation du taux de croissance spécifique maximal  $\hat{\mu}_{HD}$**

Le taux de croissance dans des conditions anoxiques peut être évalué en utilisant une approche respirométrique similaire aux conditions aérobies avec, cependant, un suivi de la variation de la concentration en nitrate au lieu de l'oxygène [201,202]. le taux de croissance spécifique maximum de la biomasse hétérotrophique en conditions anoxiques sera évalué en utilisant un faible rapport  $S_0/X_0$  (F/M)[202].

La concentration en nitrate initialement présente diminuera à un taux rapide constant correspondant à un taux d'utilisation de la DCO facilement biodégradable car sa concentration est relativement élevée que le taux de croissance des hétérotrophes est à son maximum selon la cinétique de Monod. Une fois que la DCO facilement biodégradable de l'influent est épuisée, le taux de dénitrification diminue parce que le substrat est d'une forme particulière [202]. Cependant, dans la présente étude, la diminution du taux de croissance spécifique pourrait être attribuée à la réduction de la concentration en DCO, étant donné que l'acétate de sodium peut être considéré comme un substrat facilement biodégradable.

Le taux de croissance spécifique maximal a été estimé en utilisant les données expérimentales de la cinétique rapide et selon l'équation (5.37) [202].

Rappelant que le taux de croissance spécifique maximal ( $\hat{\mu}_{HD}$ ) a été estimé, après atteinte des conditions stationnaires (plusieurs jours de fonctionnement) (**Figure 5.6**), correspondant à un rendement constant de  $Y_{HD}$ , les concentrations des nitrates, nitrites et DCO ont été évaluées à

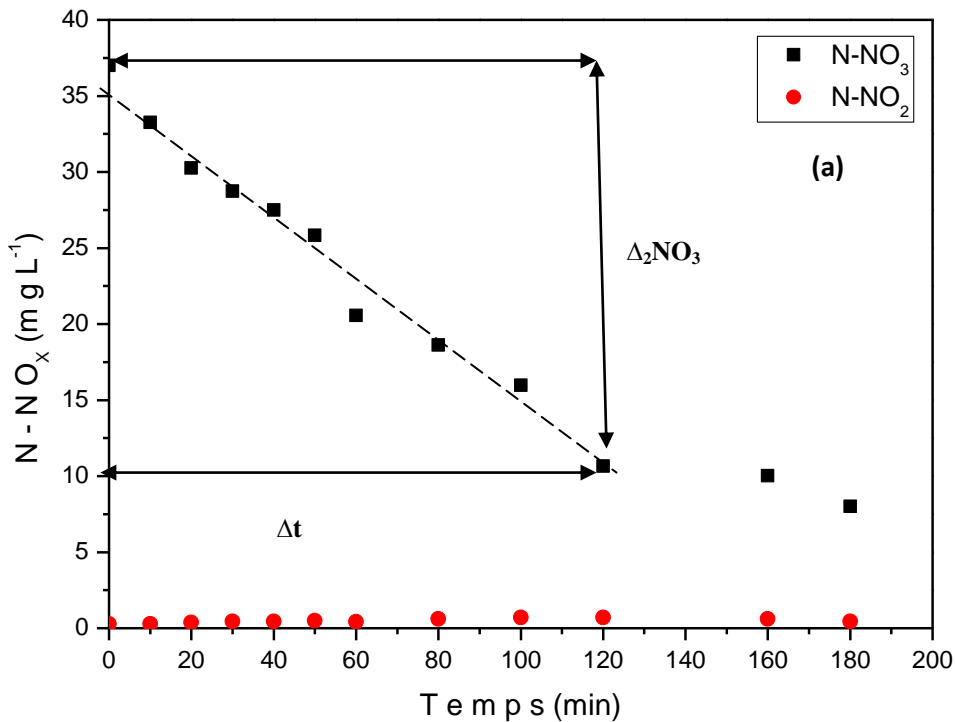


## Chapitre V Résultats expérimentaux : Estimation des constantes cinétiques et modélisations

différents intervalles de temps , après injection de  $37 \text{ mgL}^{-1}$  de  $\text{N-NO}_3$  et  $178.8 \text{ mgL}^{-1}$  de DCO sous forme d'acétate de sodium correspondant à un rapport  $S_0/X_0$  égal à  $0.1547 \text{ mg COD/mg MVS}$ .

Les résultats de la **Figure (5.8)** ont été utilisés pour estimer les différents paramètres de l'équation (5.37), ( $\Delta_2\text{NO}_3 = 37-10.66 = 26.34 \text{ mg/L}$ ), ( $\Delta t = 0.083 \text{ J}$ ), biomasse active ( $f_{av} \cdot X_v = 993.85 \text{ mg MVS/L}$ ) et ( $f_{cv} = 1.42 \text{ mgCOD/mgMVS}$ ). Le taux de dénitrification ( $r_D$ ) obtenu dans cette étude était de  $0.63 \text{ mg N-NO}_3/\text{mg MVS/ J}$  et la valeur de ( $\hat{\mu}_{HD}$ ) était de  $0.864 \text{ J}^{-1}$ .

Lee et al [207] ont utilisé différentes sources de carbone telles que le méthanol, l'amidon hydrolysé et l'acide acétique, ils ont trouvé des valeurs de  $r_D$  de  $0.696$ ,  $0.648$  et  $1.17 \text{ mg N-NO}_3 \text{ mg MVS}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$  et de  $\hat{\mu}_{HD}$  de  $1,1.48$  et  $2.18 \text{ j}^{-1}$ , respectivement. De même Ekama et al [202] ont pu évaluer un  $r_D$  de  $1.03 \text{ mg N-NO}_3 \text{ mg MVS}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$  et un  $\hat{\mu}_{HD}$  de  $4 \text{ j}^{-1}$  avec les eaux usées comme source de carbone.



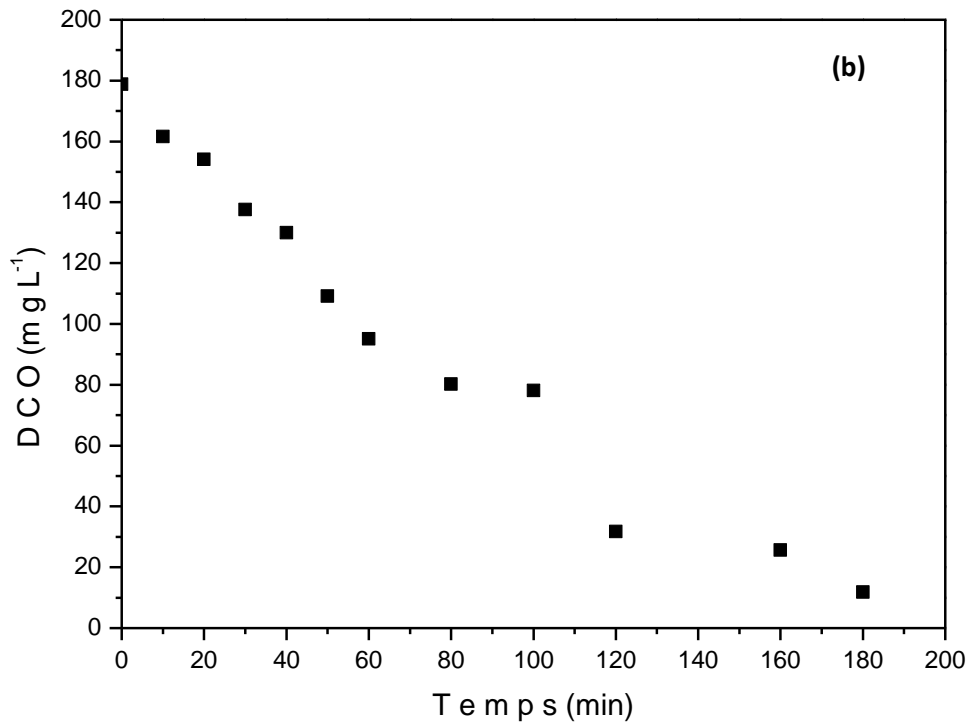


Figure 5.8 Évolution temporelle de, a) nitrate et nitrite, b) DCO après une injection pulse au 47<sup>ème</sup> jour

**c) Estimation des constantes de demi-saturation  $K_S$**

Les constantes de demi-saturation pour la source de carbone ( $K_S$ ) et pour les nitrates ( $K_{NO}$ ) sont parmi les constantes bio-cinétiques les plus importantes.

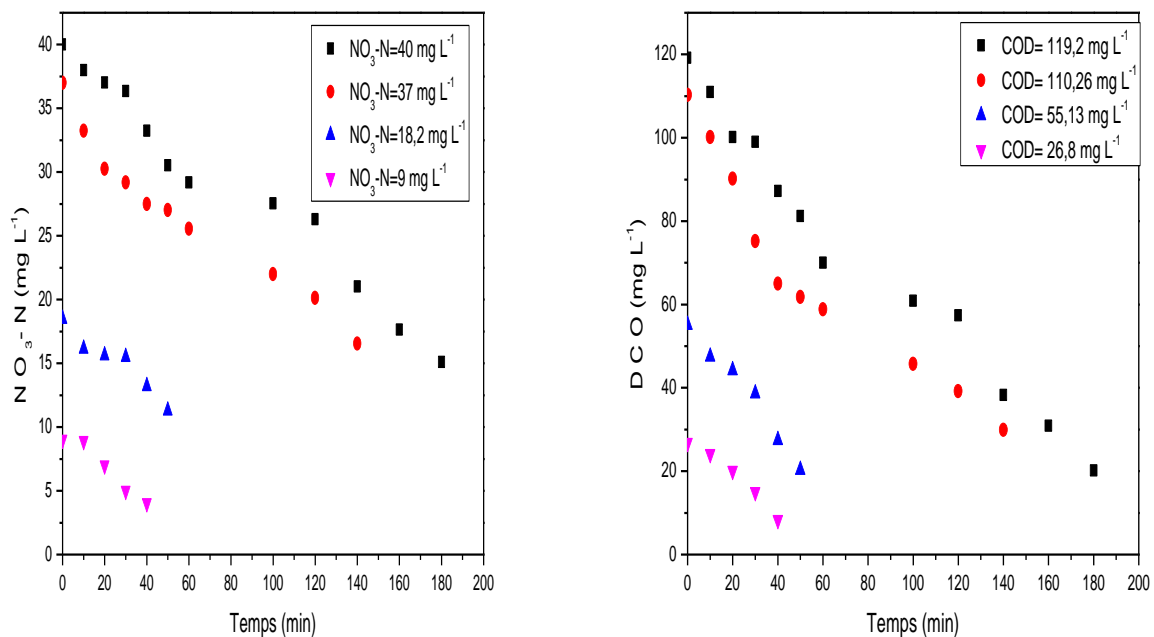
La constante de demi-saturation ( $K_S$ ) peut être calculée à partir de l'équation (5.3), l'azote nitrique est susceptible d'exercer un impact similaire à celui de l'oxygène dissous sur la croissance aérobie puisqu'il est l'accepteur d'électrons en dénitrification. De plus, les valeurs expérimentales rapportées pour  $K_{NO}$  sont de l'ordre de **0.1 - 0.5 mg N-NO<sub>3</sub>L<sup>-1</sup>** [186], impliquant que le terme ( $S_{NO} / (K_{NO} + S_{NO})$ ) peut être égal à 1 puisque  $S_{NO}$  est très élevé par rapport à  $K_{NO}$ , donc l'Eq(5.3) peut être exprimée comme suit:

$$\frac{dS_{NO}}{dt} = -\frac{1-Y_{HD}}{2.86Y_{HD}} \hat{\mu}_{HD} \frac{S_S}{K_S+S_S} X_{BH} \tag{5.40}$$

L'Eq (5.40) montre la dépendance des valeurs SDNR ( $dS_{NO}/ dt / X_{BH}$ ) des concentrations de substrat carboné, donc la constante de demi-saturation de la source de carbone ( $K_S$ ) peut être déterminée en

utilisant la cinétique de dégradation des nitrates à différentes concentrations injectées [204] , les valeurs observées de SDNR (taux de dénitrification spécifique) ont été déterminés pour différentes concentrations de substrat carboné ajoutées au système. De plus, la constante de demi-saturation (Ks) est égale à  $S_S$  lorsque SDNR était égal à  $\left[ \frac{1-Y_{HD}}{2.86Y_{HD}} \frac{\hat{\mu}_{HD}}{2} \right]$  sur la courbe de type SDNR Monod en fonction de  $S_S$ . De plus, la **Figure (5.8)** montre que  $dN-NO_3/dt$  varie lorsque  $N-NO_3$  est égal à  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , ce qui correspond à une valeur de  $S_S$  de  $31 \text{ mg L}^{-1}$ , ce qui implique que  $K_s$  est inférieur à cette valeur. Afin de trouver la valeur de  $K_s$  dans le présent travail, les résultats de plusieurs essais respirométrique en mode discontinue et en conditions anoxiques (au 48<sup>ème</sup> jours d'expérimentation) obtenus avec différentes concentrations initiales de DCO ( $26.82, 55.13, 110.26$  et  $119.2 \text{ mg DCO L}^{-1}$ ) et concentrations initiales de nitrate ( $9, 18.5, 37$  et  $40 \text{ mg de N-NO}_3\text{L}^{-1}$ ).

Les résultats de l'évolution des deux substrats (Nitrates et DCO) pour chaque ensemble de concentrations initiales sont présentés sur la **Figure (5.9)**. Le SDNR initial a été tracé en fonction de la concentration initiale en substrat évalué par la DCO(**Figure 5.10**). Une courbe de type Monod a été obtenue et la valeur de  $K_s$  déterminée est d'environ  $12.48 \text{ mg de DCO L}^{-1}$ .



**Figure 5.9** Évolutions temporelles des nitrates et de la DCO obtenues après différentes injections pulses (différentes concentrations initiales de DCO et de nitrate). (Au 48<sup>ème</sup> jours)

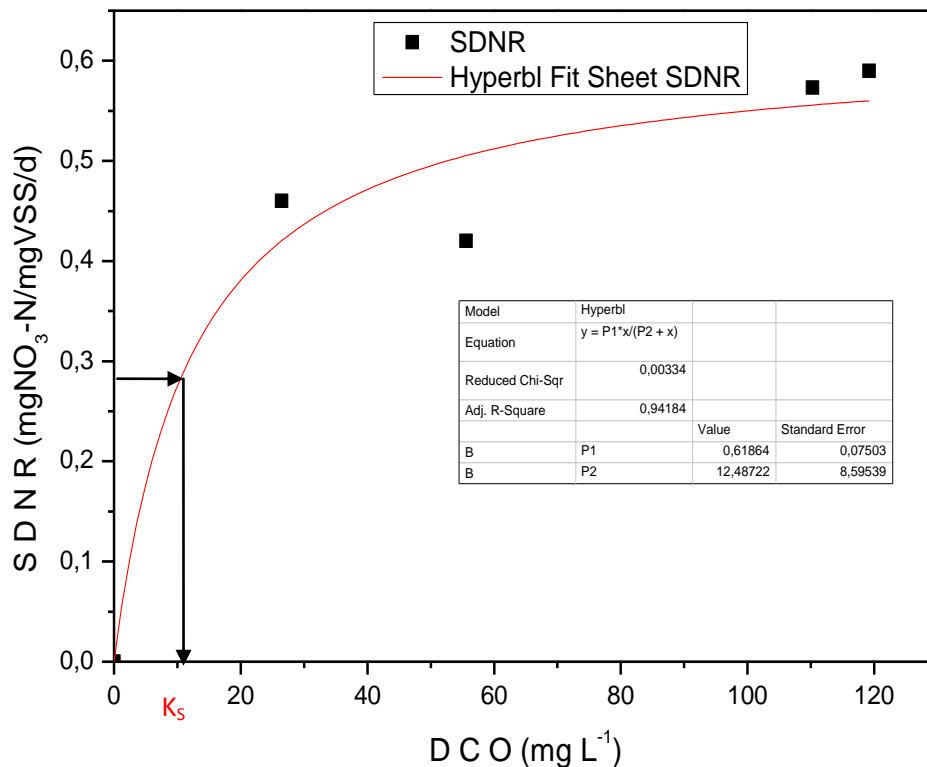


Figure 5.10 Représentation graphique pour l'estimation de la constante de demi-saturation K<sub>s</sub>

### 5.7 Réponses du MBBR aux différentes conditions d'alimentation

Après atteinte de l'état stationnaire et la détermination de certaines constantes stœchiométriques et cinétiques, il a fallu varier les conditions d'alimentation de l'influent du MBBR afin de pouvoir déterminer les autres constantes biocinétiques après modélisation, par calage aux différentes réponses expérimentales obtenues, et tout en zoomant plus l'effet de ces variations sur l'efficacité du réacteur.

Le débit d'alimentation de l'influent a été varié de 0.083 à 0.5 L h<sup>-1</sup>, correspondant à des temps de séjours variant de 24 h à 4 h respectivement, de même le rapport entre DCO/N-NO<sub>3</sub> dans l'influent d'alimentation a été varié de 3 à 1 mg DCO/ mgN-NO<sub>3</sub>, la présence des nitrites dans l'influent à des concentrations importantes considérés comme des formes intermédiaires et leurs effets sur les rendements de dénitrification a été exploré. Les résultats de ces investigations sont regroupés dans le **Tableau 5.2**.

Tableau 5.2 Réponses du MBBR aux différentes conditions d'alimentation de l'influent.

Paramètre d'expérience		Influent			Effluent		
HRT (h)	DCO/N-NO <sub>3</sub>	N-NO <sub>3</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	N-NO <sub>2</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	DCO (mg.L <sup>-1</sup> )	N-NO <sub>3</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	N-NO <sub>2</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	DCO (mg.L <sup>-1</sup> )
<b>Effet de HRT</b>							
<b>4</b>	2.98	60	0.29	178.8	28.12	0.88	80.09
<b>8</b>	2.98	60	0.35	178.8	5.36	0.35	57.98
<b>12</b>	2.98	60	0.26	178.8	9.86	0.71	77.98
<b>16</b>	2.98	60	0.42	178.8	12.88	0.10	87.03
<b>24</b>	2.98	60	0.28	178.8	13	0.49	87.61
<b>Effet de DCO/N-NO<sub>3</sub></b>							
8	<b>3</b>	60	0.29	180	6.43	0.62	70.141
8	<b>2.98</b>	60	0.36	178.8	5.36	0.35	66.59
8	<b>2.5</b>	60	0.396	150	7.77	3.85	47.33
8	<b>2</b>	60	0.41	120	18.87	9.3518	30.00
8	<b>1.5</b>	60	0.35	90	25.083	11.1853	12.44
8	<b>1</b>	60	0.26	60	31.97	20	1.05
<b>Effet de N-NO<sub>2</sub></b>							
HRT (h)	DCO/N-NO <sub>x</sub>	N-NO <sub>3</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	N-NO <sub>2</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	DCO (mg.L <sup>-1</sup> )	N-NO <sub>3</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	N-NO <sub>2</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	DCO (mg.L <sup>-1</sup> )
8	<b>2.96</b>	60	<b>0.36</b>	178.8	5.36	0.35	66.59
8	<b>2.75</b>	60	<b>5</b>	178.8	18.64	0.66	68.39
8	<b>2.55</b>	60	<b>10</b>	178.8	19.30	8.2668	116.22
8	<b>1.98</b>	60	<b>30</b>	178.8	24.33	13.351	124.48
8	<b>1.49</b>	60	<b>60</b>	178.8	55.062	20.280	135.056

### 5.7.1 Détermination du temps de rétention hydraulique optimal (HRT)

Le temps de rétention hydraulique (HRT) est un facteur déterminant dans la performance de tout procédé de dénitrification biologique. Il est très important de déterminer le HRT approprié pour le réacteur, car la performance de dénitrification a été associée à HRT forcé. Ce facteur est étroitement lié aux autres facteurs influençant les performances d'un tel système. En général, l'efficacité d'élimination des nitrates est considérée comme médiocre pour les faibles taux de traitement (HRT long) et à l'inverse, elle est considérée comme totalement satisfaisante pour les taux de traitement élevés (HRT court). De plus, plusieurs HRT ont été étudiés et rapportés dans la littérature [176] considéreront qu'un HRT trop court entraînera de faibles taux de clairance, tandis qu'un HRT trop long ne sera pas économiquement réalisable. Le HRT le plus court possible associé aux taux d'élimination les plus efficaces est également nécessaire pour la dégradation des matières organiques. [177, 208, 178] ont confirmé que les taux de dénitrification dépendent fortement du HRT ou des débits.

Des expériences dans MBBR ont été étudiées pour la détermination du temps de rétention hydraulique optimal (HRT). Le HRT a été définie comme le rapport du volume du réacteur sur le débit d'alimentation.

Dans cette étude, les influents et les effluents ont été traités dans le MBBR. Quatre HRT (4, 8, 12, 16 et 24 h) ont été mis en place ; les débits respectifs étaient d'environ (0.5, 0.25, 0.16, 0.125 et 0.083 L h<sup>-1</sup>), les résultats sont présentés dans le **Tableau 5.2**.

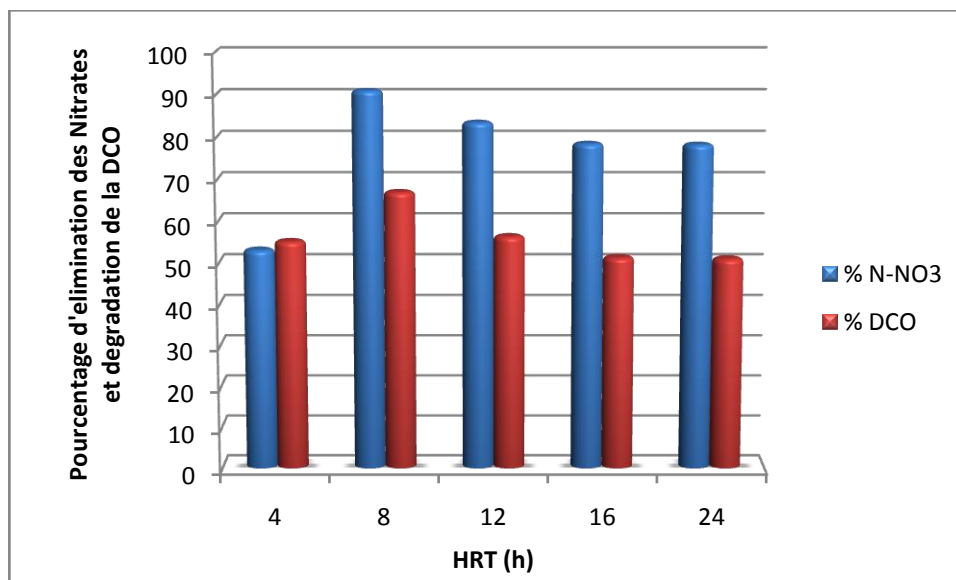
Selon les résultats obtenus et regroupés dans le **Tableau 5.2** et présentés sur la **Figure 5.11**, l'efficacité d'élimination des nitrates était à son maximum pour un HRT égal à 8 h, un pourcentage d'élimination de 91.06% a été enregistré, pour un HRT supérieur ou inférieur à 8 h la concentration en nitrates dans l'effluent a tendance à augmenter, les rendements d'élimination atteignent 78.33% et 53.13% dans les deux zones et pour la consommation de matière organique exprimée en DCO, pour les HRT inférieurs ou supérieurs à 8 h, le pourcentage de dégradation de la charge organique atteint respectivement une valeur de 55 et 51%, et pour HRT égal à 8h un pourcentage de 67% a été enregistré.

Cependant, la concentration de nitrite dans les effluents est approximativement inférieure à 1.0 mg L<sup>-1</sup> et la production de nitrite dans le processus de dénitrification semble être indépendante du HRT. L'accumulation de nitrite est un phénomène indésirable dans le processus de dénitrification biologique, en raison de la toxicité du nitrite, son accumulation pourrait entraver la croissance

bactérienne, inhiber le processus de dénitrification et augmenter la concentration de nitrite dans les effluents (le nitrite dans l'eau potable doit être de  $1.0 \text{ mg N-NO}_2 \text{ L}^{-1}$ ) [130].

De ce résultat, on déduit qu'avec HRT, 8h on peut atteindre un pourcentage de dénitrification de 91%. Ce résultat était tout à fait similaire à Wang et Mirbagheri [132 , 180] qui ont observé que l'efficacité de dénitrification était de 99% pour un temps de rétention hydraulique de 8 h.

Malgré que le temps de séjour optimal était semblable au temps optimisé lors de la mise en marche du MBBR (chapitre VI) sauf que les efficacités enregistrées pour ce temps étaient moins importantes, ceci est due probablement à la composante des inoculas utilisés dans les deux études en fraction autotrophe et hétérotrophe puisqu'ils proviennent de deux stations d'épuration différentes et aussi la forme du réacteur utilisée dans les deux études était dissemblable même si la capacité est presque la même ( 02L) ingérant probablement des fractions différentes de zones mortes.



**Figure 5.11** Pourcentage de réduction des nitrates et dégradation de la DCO à différents HRT, DCO / N-NO<sub>3</sub> = 2.98 et N-NO<sub>3</sub> = 60 mg L<sup>-1</sup>.

### 5.7.2 Effet de DCO/N-NO<sub>3</sub>

Le rapport DCO/N-NO<sub>3</sub> est étroitement lié au potentiel de dénitrification des eaux avec des implications différentes pour les systèmes de pré ou post-dénitrification. Ce rapport joue un rôle décisif dans la performance de nitrification/dénitrification.

Dans la deuxième partie de notre étude pour l'effet de rapport DCO/N-NO<sub>3</sub> dans la dénitrification, la concentration des nitrates est presque constante 60 mgL<sup>-1</sup>.

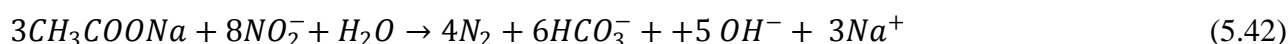
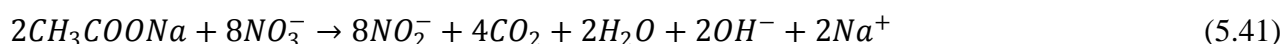
La **Figure 5.12** et le **Tableau 5.2** reprennent les résultats de cette étude, en faisant varier le rapport molaire DCO/N-NO<sub>3</sub> de 3 à 1 (en réduisant la DCO de 180 à 60 mg L<sup>-1</sup>), il a été noté que, l'efficacité de l'élimination des nitrates tend à diminuer de 89.28% à 46.71%, Cependant, la charge de carbone a tendance à augmenter d'un pourcentage de 61.032 à 98.25% avec une accumulation progressive de nitrites dans l'effluent de 0.62 mg L<sup>-1</sup> à 20 mg L<sup>-1</sup>. Des résultats similaires ont été rapportés par [132, 209].

Tout en réduisant le donneur de carbone dans l'influent, estimé en DCO, la dénitrification est limitée à la première étape de l'équation (5.41), l'accumulation de nitrites est enregistrée. Il est important de souligner qu'une concentration moyenne de 0.33 mg L<sup>-1</sup> de nitrite est initialement présente dans le milieu réactionnel. La deuxième étape de réduction de l'équation des nitrites (5.42) en azote gazeux ne peut être atteinte par défaut de la charge carbonée. Cette situation peut être décrite comme des conditions limitantes la dénitrification [209].

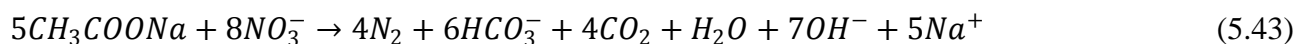
L'accumulation de nitrite dans cette étude pourrait également être liée aux différents microorganismes présents dans l'environnement car on peut noter que les microorganismes *Enterobacter* et *Escherichia* ne peuvent utiliser que des ions nitrates comme accepteur final d'électrons dans la chaîne respiratoire et non le nitrite, donc la réaction de dénitrification ne peut pas être complète [209].

La plupart des études de dénitrification ont utilisé l'acétate de sodium comme source de carbone. Les relations stœchiométriques décrivant ce processus sont écrites comme suit :

- Réactions énergétiques étapes 1 et 2:



- Réaction énergétique globale:



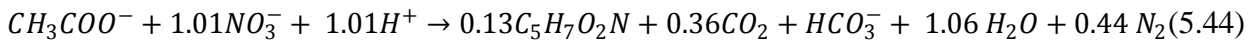
Selon l'équation (5.41) et l'équation (5.42), le rapport théorique DCO/N-NO<sub>3</sub> pour la dénitrification utilisant l'acétate de sodium comme source de carbone est de 0.97 (g DCO/g N-NO<sub>3</sub>) et 1.47 (g DCO/g NO<sub>2</sub>-N), le rapport DCO/N-NO<sub>3</sub> pour l'équation de réaction globale (5.43) est de 2.44 (g DCO/g N-NO<sub>3</sub>), donc pour des rapports DCO/N-NO<sub>3</sub> inférieurs à 2.44, une accumulation de nitrites est enregistrée et l'équation (5.42) sera partiellement ou complètement inhibée faute de substrat carboné, ceci est en accord avec les résultats expérimentaux enregistrés.



## Chapitre V Résultats expérimentaux : Estimation des constantes cinétiques et modélisations

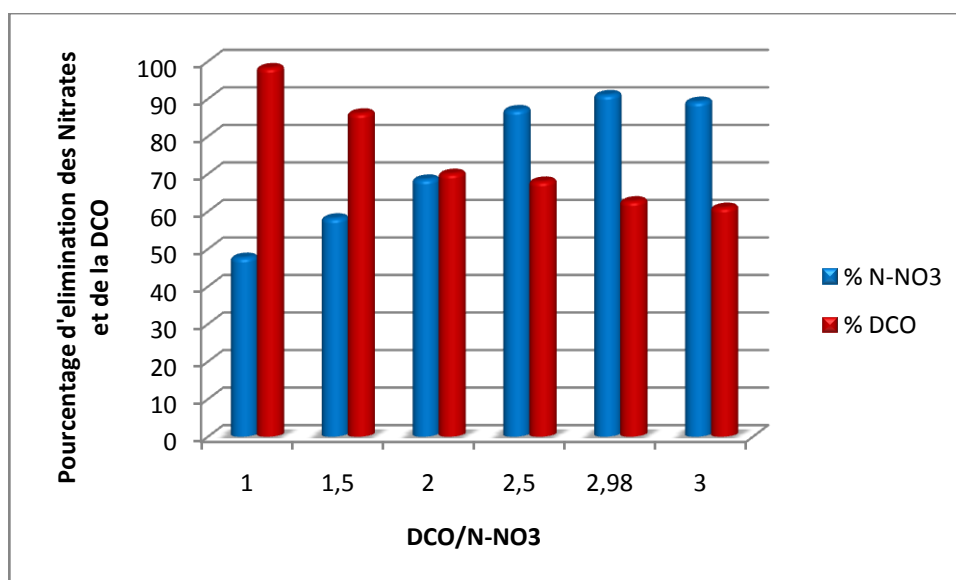
Dans cette étude, noter qu'avec un rapport de 2.98, l'efficacité d'élimination des nitrates était d'environ 91% par rapport aux autres rapports inférieurs à 90% (indiqués dans le **tableau 5.2**) et il n'y a pas d'accumulation de nitrite. On peut conclure que le rapport DCO/N-NO<sub>3</sub> égal à 2.98 était plus que nécessaire pour le processus de dénitrification (processus catabolisme) (5.43).

La réaction stœchiométrique théorique de la dénitrification avec de l'acétate de sodium comme source de carbone [210] est la suivante ( anabolisme ):



Dans la littérature, le rapport optimal (DCO/ N-NO<sub>3</sub>) a été rapporté différemment dans des études antérieures utilisant l'acétate et l'acide acétique comme source de carbone. Shen et al[211] ont considéré DCO/N-NO<sub>3</sub>= 1.34 en utilisant un réacteur (A/O-MBR) (bioréacteur à membrane anoxique / oxiq) et l'acétate de sodium comme source de carbone, tandis que Cortez et Mohseni [212 ,213] tous deux utilisant des réacteurs RBC (contacteur biologique rotatif) ont rapporté que le rapport DCO/N-NO<sub>3</sub> optimal de 1.5 et 1.7, respectivement et Fan et al[214] suppose que DCO/N-NO<sub>3</sub> est égal à 2.2 pour la dénitrification avec du méthanol comme source de carbone.

Dans cette étude, il a été suggéré que le rapport DCO/N-NO<sub>3</sub> optimal était de 2.98 et qu'une consommation de source de carbone plus élevée que la valeur théorique montrait que le processus de dénitrification hétérotrophe n'était pas le seul qui se produisait dans le biofilm. Une partie du nitrate a été éliminée par réduction assimilative, ce qui a provoqué la croissance de la biomasse dans le réacteur biologique [215].



**Figure 5.12** Pourcentage de réduction des nitrates et (b) dégradation de la DCO à différents rapports DCO/N-NO<sub>3</sub>, HRT = 8 h et N-NO<sub>3</sub> = 60 mg L<sup>-1</sup>.

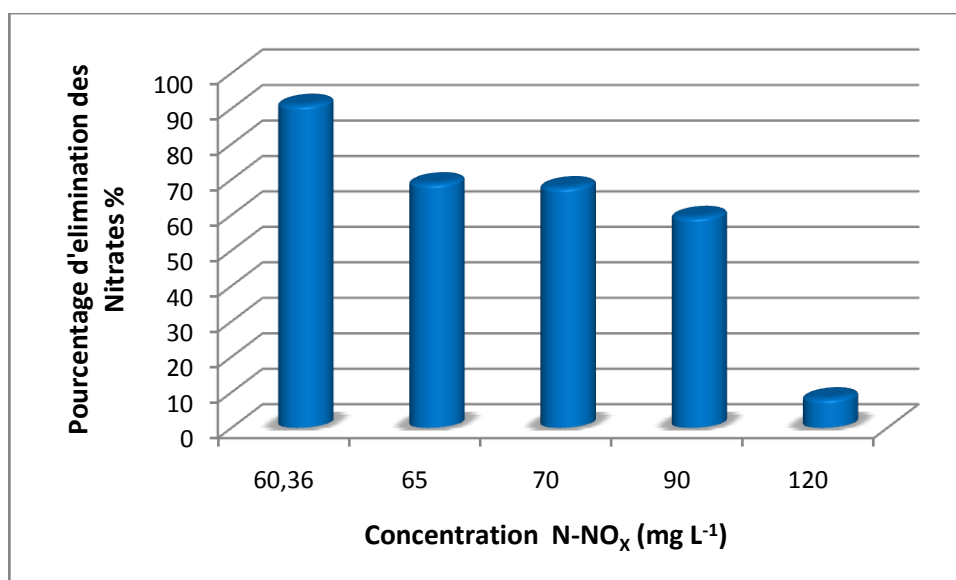
### 5.7.3 Effet du N-NO<sub>2</sub> dans la dénitrification

Nous avons déjà étudié le rapport DCO/N-NO<sub>3</sub>, en fixant la quantité de N et en faisant varier la concentration de DCO, mais dans cette expérience, en fixant sa concentration en nitrate et en ajoutant dans l'influent d'alimentation des concentrations croissantes de nitrite afin d'étudier l'effet du nitrite sur la dénitrification. Les résultats de ces expériences sont présentés dans le **Tableau 5.2**.

Selon les résultats obtenus sur la **Figure 5.13**, l'augmentation du nitrite de 0.36 à 60 mg N-NO<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> dans l'influent a provoqué une diminution de l'élimination efficace des nitrates dans l'effluent ou le rendement d'abattement s'est réduit de 91.06 à 44%, selon le **Tableau 5.2**; on observe également une accumulation des nitrites dans l'effluent.

Pour interpréter ces derniers, on sait que les ions nitrate (NO<sub>3</sub>) et les ions nitrite (NO<sub>2</sub>) sont utilisés comme nutriments azotés. L'azote est à l'état d'oxydation (+5) dans les ions nitrate et à l'état d'oxydation (+3) dans les ions nitrite. Bien que les microorganismes aient besoin de moins de temps et d'énergie pour convertir (+3) azote (ion nitrite) en (-3) azote que pour convertir (+5) azote (ion nitrate) en (-3), l'azote (+3) forme des ions nitrite est très instable [216].

Ainsi, les microorganismes utilisent de l'azote pour la biosynthèse (processus de production de matière cellulaire) sous une forme inorganique et un état d'oxydation de (-3). Notons que l'utilisation de l'ion nitrite dans la dénitrification est très instable. Par conséquent, le nitrite sera instable lors de la dénitrification car il donne une accumulation de nitrite dans le milieu de dénitrification.



**Figure 5.13** Pourcentage de réduction des nitrates pour différentes concentrations de N-NO<sub>x</sub> dans Influent, HRT = 8 h et N-NO<sub>3</sub> = 60 mg L<sup>-1</sup>.

5.7.4 Dégradation de l'influent pour différentes concentrations de nitrate

Comme déjà évoqué l'effet de certains paramètres (HRT, DCO /N-NO<sub>3</sub>, N-NO<sub>2</sub>) sur la dénitrification a été déchiffré, et on a identifié les concentrations optimales pour ces dernières. En revanche les efficacités enregistrées étaient moins importantes que celles obtenues en utilisant la même conception du MBBR mais inoculé par l'INO<sub>2</sub> (chapitre VI), il a été nécessaire de reprendre ces expériences en fixant les conditions optimales et en variant la concentration de l'azote- nitrates dans l'influent de 30 et 100 mg L<sup>-1</sup>

Les résultats de cette partie d'étude sont regroupés dans le **Tableau 5.3**.

**Tableau 5.3** Réponses du MBBR aux différentes concentrations de nitrate fonctionnant en conditions optimales

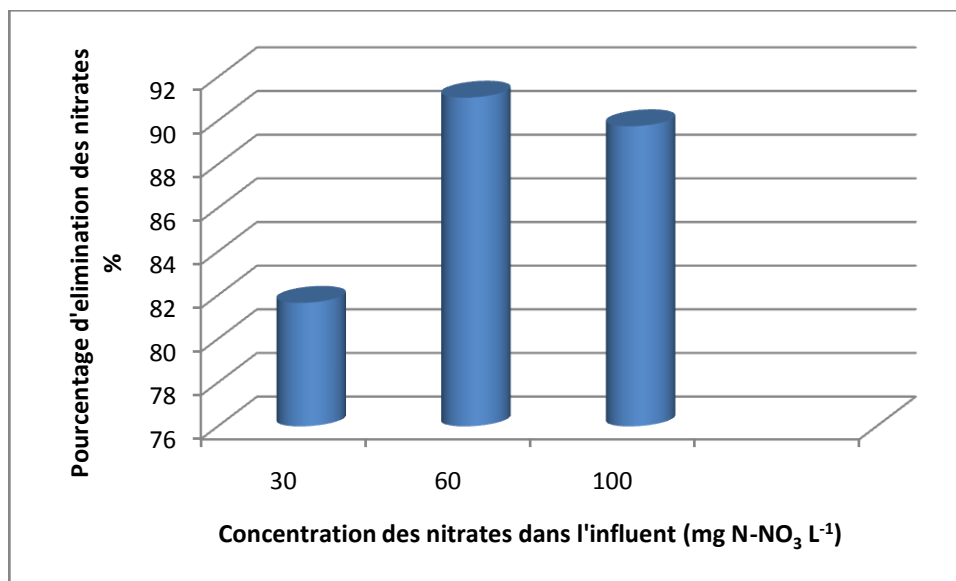
Expérience paramètre		Influent			Effluent		
Effet de N- NO <sub>3</sub>							
HRT (h)	C/N	N-NO <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	N-NO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	DCO (mg L <sup>-1</sup> )	N-NO <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	N-NO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	DCO (mg L <sup>-1</sup> )
8	2.98	<b>30</b>	0.45	89.4	5.50	0.99	61.2
8	2.98	<b>60</b>	0.36	178.8	5.36	0.35	66.59
8	2.98	<b>100</b>	0.26	238.4	10.25	10.89	100.36

Selon le **Tableau 5.3** et la **Figure 5.14**; l'augmentation de la concentration des nitrates de 30, 60 et 100 mg de N-NO<sub>3</sub>L<sup>-1</sup> dans l'influent a une influence sur l'efficacité d'élimination des nitrates dans les effluents qui était respectivement 81.66, 91.06 et 89.75%. En revanche, cette augmentation a causé une accumulation des nitrites dans l'effluent qui a passé de 0.99 à 10.89mg de N-NO<sub>2</sub>L<sup>-1</sup>. Pour une concentration de nitrate de 60 mg L<sup>-1</sup>, la concentration de nitrite reste dans la norme, en revanche pour une concentration de nitrate de 100 mg N-NO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup>, la concentration de nitrite dans l'effluent dépasse considérablement cette limite.

INês et al[208]ont trouvé que l'efficacité d'élimination des nitrates dans un filtre activé utilisant de l'acide acétique était plus de 91.5% avec une concentration de nitrate dans l'influent de 13.5 mg .L<sup>-1</sup>. Ils ont souligné que l'élimination des nitrates dépend de la réduction souhaitée des nitrates contenus. Dahab et al.[217]ont utilisé avec succès l'acide acétique comme source de carbone pour éliminer les nitrates d'un aquifère synthétique simulé à l'aide d'un banc de filtration à échelle anoxique. Ils ont

rapporté qu'une efficacité d'élimination des nitrates de près de 100% était atteinte avec une concentration initiale d'azote-nitrate de  $100 \text{ mg L}^{-1}$  et 9 heures de temps de rétention. Mohseni-Bandpi et al.[218]ont constaté que l'efficacité d'élimination de 95% a été enregistrée pour des concentrations de d' azote-nitrate jusqu'à  $100 \text{ mg L}^{-1}$  et un temps de rétention de 8,8 heures. Fan et al.[214]ont utilisé le méthanol comme source de carbone et ont bien mentionné que la charge de nitrate dans l'influent n'a aucune influence sur son élimination , mais lorsque la concentration de nitrate augmente dans l'influent, la concentration de nitrite dans l'effluent augmente.

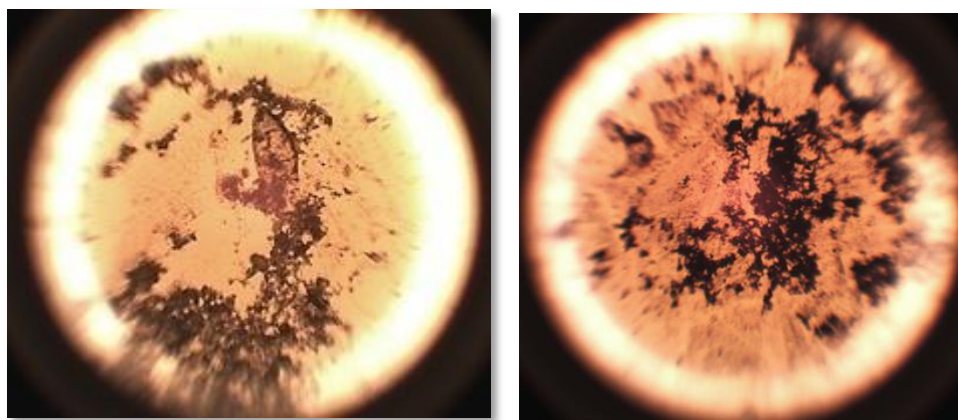
La faible concentration de nitrite indiquait que la plupart des nitrates avaient finalement été réduits en azote gazeux inoffensif. Les nitrites se sont avérés être un facteur clé dans le processus de dénitrification en raison de leur effet toxique sur les humains. Dans cette étude, pour une concentration de nitrate dans l'influent jusqu'à  $60 \text{ mg L}^{-1}$ , le nitrite de l'effluent était de  $0.35 \text{ mg L}^{-1}$ , ce qui est inférieur à la valeur recommandée de  $1 \text{ mg L}^{-1}$ (Journal Officiel Algérien). En conclusion, 91.06% d'élimination des nitrates ont été enregistrés avec une concentration de nitrates dans l'influent de  $60 \text{ mg de N-NO}_3\text{L}^{-1}$  sous les conditions optimales et en utilisant le MBBR à l'échelle pilote.



**Figure 5.14** Pourcentage d'élimination des nitrates à différentes concentrations initiales de nitrate , HRT = 8h et DCO/N-NO<sub>3</sub> = 2.98.

Des observations microscopiques ont été réalisées pour suivre la morphologie des microorganismes développés dans le réacteur MBBR, l'état d'agrégat et la présence de bactéries filamenteuses dans la fraction en suspension. La suspension n'est pas trop agglomérée du fait de la présence du support

dans le réacteur mais l'indice filamenteux (IF) est égal à zéro, cela indique que le fonctionnement du bioréacteur est optimal dans ces conditions de fonctionnement imposées et qu'aucun dysfonctionnement n'existait (**Figure 5.15**).



**Figure 5.15** Présentation morphologique des flocs microbiens dans la fraction de suspension du réacteur MBBR (Agrandissement  $\times 20$ )

### 5.7.5 Estimation de la contribution de la biomasse attachée à l'élimination des nitrates

Dans cette partie de l'étude, nous avons pour objectif de mettre en cohérence la contribution de la biomasse attachée dans la réduction des nitrates, nous avons fait la séparation de la biomasse en suspension et de la biomasse fixée sur le support et chaque fraction a été placée dans un réacteur, nous avons également fixé la totalité des conditions optimales de dénitrification qui ont été déterminées dans les deux études menées dans le MBBR et les deux types d'inocula utilisés (HRT = 8h, DCO/N-NO<sub>3</sub> = 2.98, N-NO<sub>2</sub> moins de 1 mg L<sup>-1</sup> et N-NO<sub>3</sub> = 60 mg L<sup>-1</sup>).

Pour quantifier la biomasse fixée sur le support en poids sec, la méthode de MCadam et al. [209] a été appliquée, le support a été extrait du réacteur, (i) séché à 100 °C à poids constant (48 h); (ii) marqué; (iii) pondéré; et (iv) ensuite placé dans le réacteur, et pour quantifier la biomasse en suspension la méthode standard a été appliquée (**Tableau 3.1**).

Les résultats de cette expérience sont reportés dans le **Tableau 5.4**, il a été noté que l'efficacité d'élimination des nitrates dans le réacteur avec le support est meilleure par rapport à la suspension, 0.944 g de la biomasse fixée ont réduit la concentration en nitrate, nitrite et DCO à 87.28, 91.77% et 92.17% respectivement, en revanche la suspension n'a réduit que 65.38, 29.66 et 37.32 % des concentrations initialement introduites. Les conditions anoxiques sont strictement observées dans le biofilm développé que dans la suspension, Eikelboom et al [221] ont rapporté que dans des conditions aérobies les flocs de rayons inférieurs à 0.4 mm sont aérobies, jusqu'à leurs centres, pour

## Chapitre V Résultats expérimentaux : Estimation des constantes cinétiques et modélisations

des concentrations en oxygène dissous égales à 2 mg. L<sup>-1</sup>, dans les bassins d'aération. Cependant, pour des floccs plus gros, les centres sont privés d'oxygène et par conséquent, une dénitrification peut avoir lieu. Plus le biofilm est épais, meilleure est l'efficacité.

En conclusion qu'avec un faible biofilm (16%) développé sur le support, l'activité était meilleure par rapport à la suspension.

**Tableau 5.4** Comparaison entre l'efficacité d'enlèvement des substrats par la biomasse fixée et la biomasse en suspension

	Réacteur sans support			Réacteur sans suspension		
	Influent	Effluent	% de l'enlèvement	Influent	Effluent	% de l'enlèvement
N-NO <sub>3</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	60	20.77	<b>65.38</b>	60	7.63	<b>87.28</b>
N-NO <sub>2</sub> (mgL <sup>-1</sup> )	0.3	0.211	<b>29.66</b>	0.40	0.0329	<b>91.77</b>
DCO (mgL <sup>-1</sup> )	178.8	112.056	<b>37.32</b>	178.8	14	<b>92.17</b>
T °C	30			30.5		
pH	7.50			7.70		
Salinité (%)	0.6			0.6		
MES (g. L <sup>-1</sup> )	2.95			-		
Quantité de biomasse dans le réacteur (g)	5.9			0.944		

### 5.8 Validation du modèle

Après avoir atteint l'état d'équilibre, une multitude de paramètres ont été étudiés qui influencent les performances de dénitrification dans le réacteur biologique MBBR. Parmi ces paramètres, figurent l'effet de la concentration en nitrate, l'effet de HRT, et enfin l'effet du rapport DCO/N-NO<sub>3</sub>. Les résultats obtenus sont présentés dans la **Figure 5.16**.

La simulation sera effectuée en considérant le volume total et le volume effectif. Pour cela, une valeur de  $\alpha$  sera attribuée dans le modèle considéré (**Equation 5.13 et 5.14**).  $\alpha$  a été évalué sur la base du volume mort qui a été déterminé dans les études hydrodynamiques

## Chapitre V Résultats expérimentaux : Estimation des constantes cinétiques et modélisations

établies (essai DTS) détaillées dans le **chapitre III, partie 02**,  $\alpha$  est calculée selon l'équation (5.45), les valeurs de  $\alpha$  et les volumes morts déterminés sont résumés dans le **Tableau 5.5**.

$$\alpha = \frac{V_{\text{Effec}}}{V_T} \quad (5.45)$$

**Table 5.5** Valeurs des  $V_T$ ,  $V_{\text{mort}}$ ,  $V_{\text{Effectif}}$  et  $\alpha$  dans les différentes conditions opératoires de dénitrification

	Condition	$V_T(\text{L})$	$V_{\text{mort}}(\%)/V_{\text{mort}}(\text{L})$	$V_{\text{Effectif}}(\text{L})$	$\alpha$
Effet de la concentration initiale de $\text{N-NO}_3(\text{mg L}^{-1})$	30	2	22.5 / 0.45	1.55	0.775
	60	2	22.5 / 0.45	1.55	0.775
	100	2	22.5 / 0.45	1.55	0.775
Effet de HRT(h)	4	2	10.95/ 0.219	1.78	0.89
	8	2	22.5 /0.45	1.55	0.775
	12	2	19 / 0.38	1.62	0.81
	16	2	38 / 0.76	1.24	0.62
	24	2	-	-	-
Effet du rapport $\text{COD}/\text{N-NO}_3$	3	2	22.5 /0.45	1.55	0.775
	2.98	2	22.5 /0.45	1.55	0.775
	2.5	2	22.5 /0.45	1.55	0.775
	2	2	22.5 /0.45	1.55	0.775
	1.5	2	22.5 /0.45	1.55	0.775
	1	2	-	-	-

Le modèle de dénitrification considéré comprend en total six paramètres stœchiométriques et biocinétiques, comme résumé dans le **Tableau 5.6**. Trois de ces paramètres ( $\widehat{Y}_{\text{HD}}$ ,  $\widehat{\mu}_{\text{HD}}$ ,  $\mathbf{K}_S$ ). Ont été déterminés expérimentalement par les techniques respirométriques pulse en condition anoxique (section précédentes).

**Table 5.6** Méthodes de détermination des paramètres selon la vision ASM1

## Chapitre V Résultats expérimentaux : Estimation des constantes cinétiques et modélisations

Parameter	Method
$Y_{HD}$	Interprétation directe des respirogrammes
$Y_{NO}$	Interprétation directe des respirogrammes
$\hat{\mu}_{HD}$	Interprétation directe des respirogrammes
$K_S$	Impulsions de concentration croissante
$K_{NO3}$	Calage du modèle
$b_{HD}$	Calage du modèle
$X_{BH}$	Calage du modèle

Puis d'analyser la sensibilité des autres paramètres calibrés et l'adéquation entre les prédictions du modèle et les données expérimentales à la variation de ces valeurs. Les deux paramètres restants, qui sont propres au modèle proposé ( $KNO_3$ ,  $b_{HD}$ ), sont ensuite calibrés.

Pour la résolution du modèle mathématique, nous avons adopté le langage de programmation MATLAB avec un programme correctement écrit (code) basé sur la méthode d'intégration numérique Runge-Kutta ou RK-4<sup>ème</sup> ordre. Les équations du modèle ont été échantillonnées toutes les une heure (taille du pas = 01 H).

Les résultats expérimentaux et de la simulation par saisie du volume total et effectif sont présentés sur la **Figure 5.16**. Nous remarquons qu'en utilisant le volume effectif dans le modèle on a pu se rapprocher un peu mieux des réponses expérimentalement évaluées par rapport aux réponses considérant le volume total, étant donné que le HRT réel est assez différent de celui estimé.

Cette modélisation a permis d'estimer la concentration de la biomasse hétérotrophe ( $X_{BH}$ ) dans les différentes conditions de fonctionnement, une grandeur difficilement accessible par une évaluation expérimentale, en considérant le volume total et effectif, une prolifération de la biomasse hétérotrophe qui varie entre 1120 et 1230 mg MVS.L<sup>-1</sup> en faisant varier la concentration initiale des nitrates de 30 et 100mg N-NO<sub>3</sub>L<sup>-1</sup>, et une augmentation de 1089-1342 mg MVS.L<sup>-1</sup> et en faisant varier le HRT de 4 à 24h, et elle monte de 1071 à 1210 mg MVS.L<sup>-1</sup> en faisant varier le rapport DCO/NO<sub>3</sub>-N de 1 et 3, en considérant le volume effectif.

Les concentrations simulées sont assez proches des expérimentales principalement en faisant varier le rapport DCO/N-NO<sub>3</sub> et principalement pour celles qui sont faibles (1-1.5).



## Chapitre V Résultats expérimentaux : Estimation des constantes cinétiques et modélisations

Il est important de noter que l'écart type entre les valeurs expérimentales et simulées a été réduit dans la majorité des résultats simulés en utilisant le volume effectif au lieu du volume total (**Figure 5.16**) ; cette réduction est plus importante et atteint 48 % et 63 % pour les concentrations en nitrate et en DCO de l'effluent, en introduisant  $100 \text{ mgL}^{-1}$  de concentration initiale en  $\text{N-NO}_3$  et en fixant un HRT de 08h.

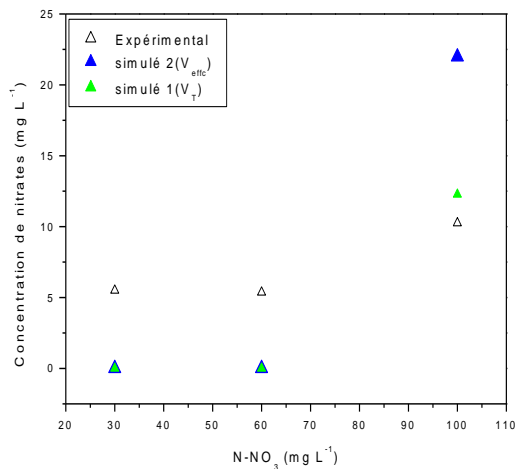
De même, la réduction de l'écart type était plus importante et atteignait jusqu'à 70% pour la concentration en DCO de l'effluent au rapport 2.5 DCO/ $\text{NO}_3\text{-N}$  (**Figure 5.17**), notez que cette réduction n'est pas constante et varie d'une condition à l'autre.

Le calibrage du modèle a permis d'estimer  $\text{KNO}_3$ ,  $b_{\text{HD}}$ , où ils sont estimés à  $0.25 \text{ mg NO}_3\text{-N.L}^{-1}$  et  $0.061 \text{ J}^{-1}$ , respectivement.

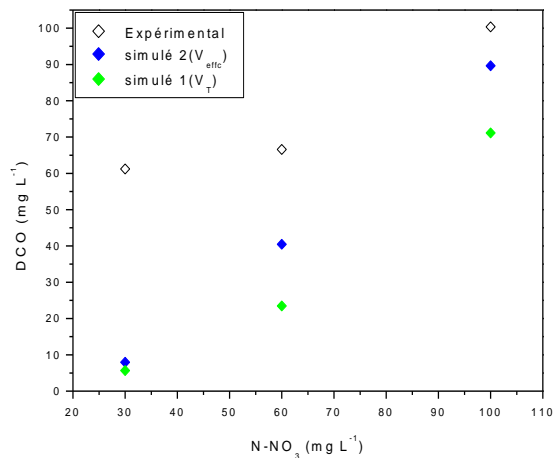
Tous les paramètres stœchiométriques et cinétiques déterminés expérimentalement et par calage du modèle proposé sont regroupés dans le **Tableau 5.7**. Plusieurs études ont montré que les procédés de biofilm ont une forte capacité d'élimination des nitrates ; les études développées ont également permis l'estimation d'une multitude de constantes cinétiques et stœchiométriques pour une variété de déchets synthétiques et de substrats d'eau brute.

Les résultats expérimentaux sont résumés dans le **Tableau 5.7**.

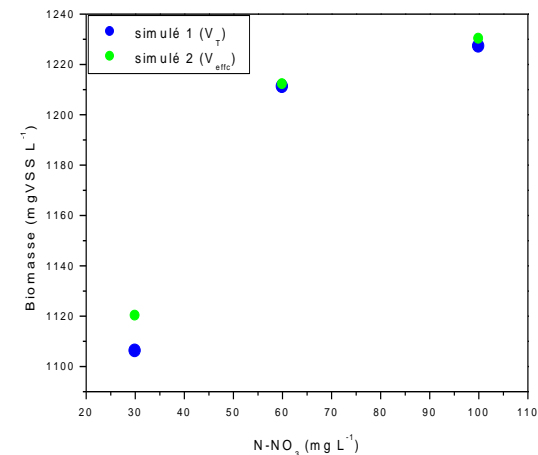
# Chapitre V Résultats expérimentaux : Estimation des constantes cinétiques et modélisations



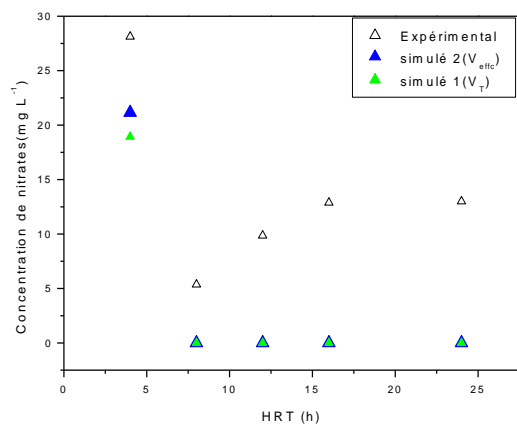
(a)



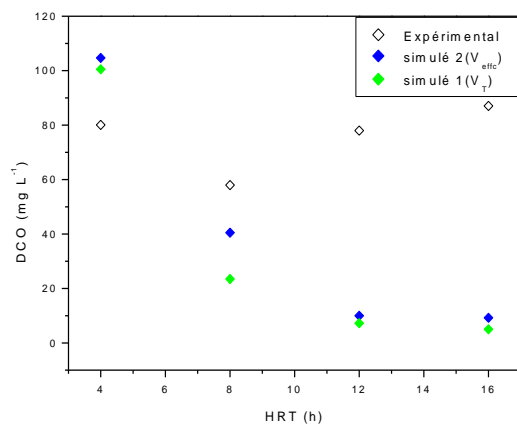
(b)



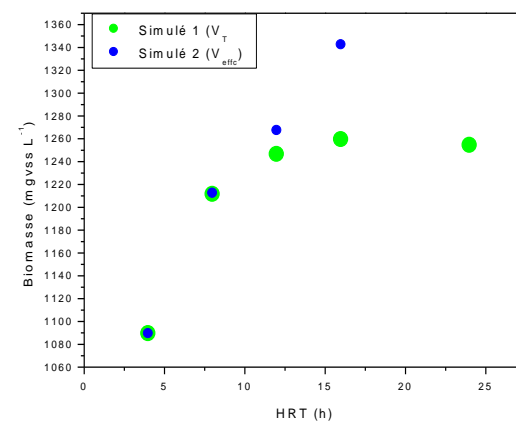
(c)



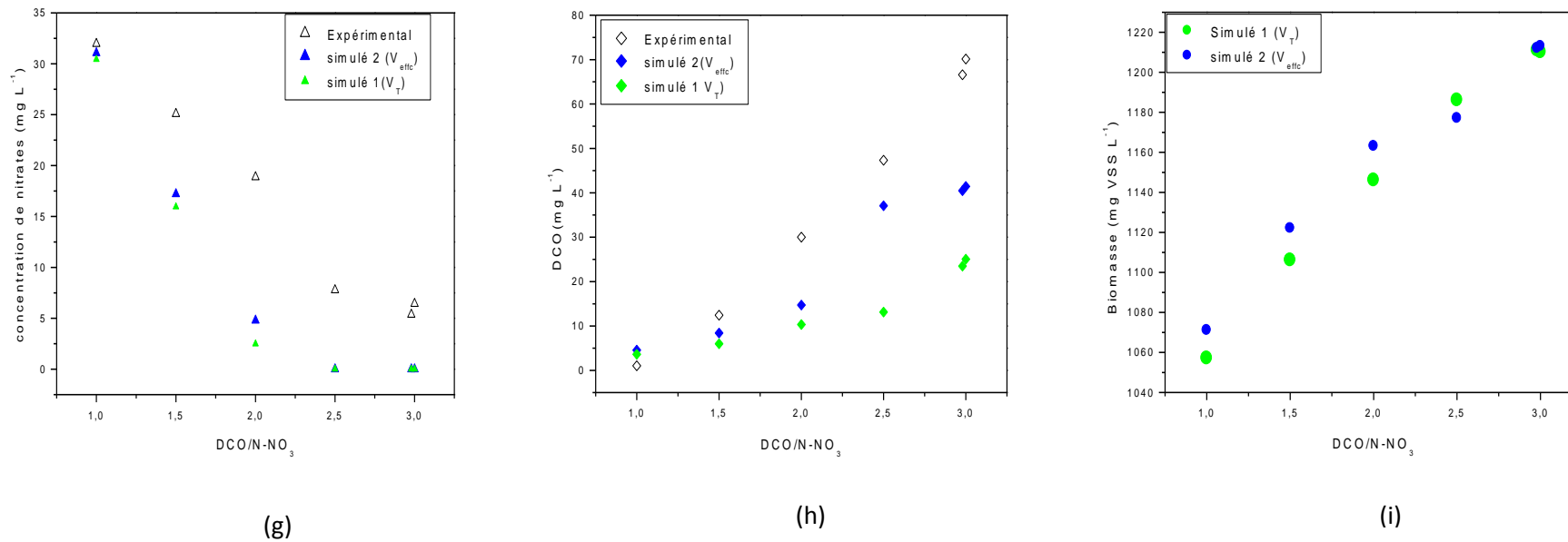
(d)



(e)



(f)

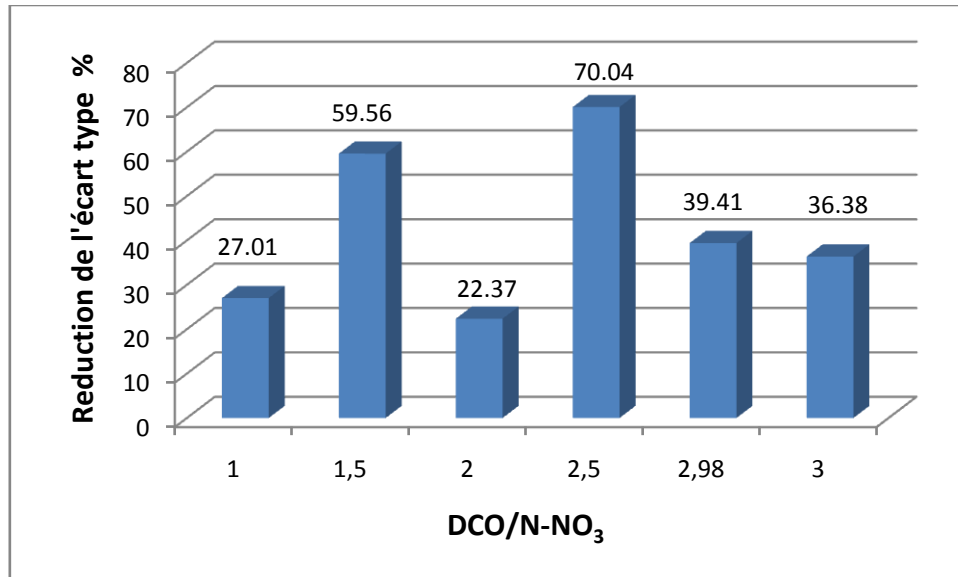


**Figure 5.16.** Taux de réduction expérimentales et simulés du  $\text{NO}_3^-$ , de la DCO et de la production de la biomasse (a, b et c) effet de la concentration initiale de  $\text{N-NO}_3$ , (d, e et f) effet du HRT et (g, h et i) effet du rapport  $\text{DCO/N-NO}_3$ .

## Chapitre V Résultats expérimentaux : Estimation des constantes cinétiques et modélisations

**Table 5.7.** Valeurs des paramètres utilisées pour le modèle de dénitrification par rapport à la littérature (NM=Non Mentionné)

Source de carbone	type de réacteur	DCO <sub>0</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	DCO/N -NO <sub>3</sub>	S <sub>0</sub> /X <sub>0</sub>	Présence de support	Méthode d'estimation des constantes biocinétiques	T° C	Y <sub>HD</sub> (mgCOD /mgCOD)	Y <sub>NO</sub> (mgCO <sub>2</sub> /mgCO <sub>2</sub> )	$\hat{\mu}_{HD}$ (d <sup>-1</sup> )	K <sub>S</sub> (mg COD .L <sup>-1</sup> )	K <sub>NO</sub> (mgNO <sub>3</sub> -N)	b <sub>HD</sub> (d <sup>-1</sup> )	k <sub>f</sub> (nitrate) (cm d <sup>-1</sup> )	b <sub>s</sub> (d <sup>-1</sup> )	Références
eaux usées	Réacteur batch	550	14.86	0.2	-	Batch	NM	0.64	-	4	NM	-	NM	NM	NM	[202]
Eaux usées synthétiques + Méthanol	Réacteur batch	600	4.74	12	-	Batch	20	0.4	-	1.28	-	-	0.04	NM	NM	[219]
Eaux usées synthétiques + Déchets laitiers	Réacteur batch	Nf	4.7	nf	-	Batch	20	NM	-	1.91	NM	-	NM	NM	NM	[197]
Eaux usées synthétiques + acétate de sodium	Réacteur batch	430	nf	0.07	-	Batch	18	0.93	-	NM	NM	-	NM	NM	NM	[138]
	Réacteur batch	600	3.5	NM	-	respirometric pulse	20	0.18 (mg biomass COD/mg NO <sub>3</sub> )	-	3.7	NM	-	NM	NM	NM	[220]
	Réacteur batch et MBBR	590	3.93	NM	+	Batch	30	0.0189 (mg biomass COD/mg NO <sub>3</sub> )	-	0.43 4	-	-	0.0050 3	349.41	2.71 .10 <sup>-2</sup>	[197]
Eau brute synthétique + acétate de sodium	MBBR (alimentation continue et discontinuée du réacteur)	178.8	1-3	0.238	+	respirometric pulse	23	0.4	0.6	0.86 4	12.48	0.25	0.061	3.02	2.83. 10 <sup>-8</sup>	La présente étude



**Figure 5.17.** Pourcentage de réduction de l'écart type à différents rapports DCO/N -NO<sub>3</sub> pour la concentration de la DCO de l'effluent

### 5.9 Conclusion

Afin de traiter l'efficacité d'élimination des nitrates dans les eaux synthétiques dans un réacteur à biofilm à lit mobile, utilisant Kaldnes k1 comme support plastique. Dans les conditions de fonctionnement de HRT = 8 h, DCO/N -NO<sub>3</sub>= 2.98, et la concentration de nitrite inférieure à 01 mg N -NO<sub>2</sub>, l'efficacité d'élimination du N-NO<sub>3</sub> dépassait 90%, presque aucun N-NO<sub>2</sub> ne s'est accumulé et la DCO était presque nulle dans l'eau traitée lorsque la concentration de N- NO<sub>3</sub>était de 60 mg L<sup>-1</sup> dans l'influent en utilisant l'INO3 et l'INO2.

L'élimination totale des nitrates n'a pas été obtenue en raison de la présence de zones mortes dans le réacteur MBBR construit (22.5%) mais la concentration de N -NO<sub>3</sub> dans l'eau traitée était conforme à la norme. Il a été démontré que ce réacteur à biofilm est efficace pour le traitement des eaux brutes polluées par les nitrates.

L'efficacité d'élimination avec et sans support atteignant 87 et 65 %, respectivement. Ceci indique que bien que l'épaisseur du biofilm dans le support soit très fine mais sa capacité d'élimination est élevée.

## **Chapitre V Résultats expérimentales : Estimation des constantes cinétiques et modélisations**

Pour résoudre le système de modèle de biofilm à lit fixe mobile, on a utilisé une méthode de MATLAB. Le modèle mathématique a pu prédire les performances du réacteur à biofilm à lit fixe mobile à l'échelle pilote.

Sur la base des résultats obtenus, nous pouvons conclure que la modélisation et les approches expérimentales développées dans cette étude pourraient être appliquées à la conception d'un procédé de traitement à lit fixe mobile à grande échelle pour éliminer simultanément l'azote et le carbone dans les installations existantes de petite ou moyenne taille et des usines de traitement de l'eau et des eaux usées de grande taille où la disponibilité des terres est limitée.

## Conclusion générale

### Conclusion générale

A l'issue de cette étude qui avait pour but d'étudier la dénitrification des eaux, plusieurs points peuvent être soulignés, principalement, que les réacteurs MBBR emballé avec Kaldnes K1 ont montré leur efficacité pour l'enlèvement des nitrates à des concentrations atteignant jusqu'à 60 mg/L de N-NO<sub>3</sub>, tout en réduisant la charge carbonée à un seuil minimal par la biomasse dénitrifiante hétérotrophe.

Cette efficacité a été principalement conditionnée par les grandeurs opératoires imposées dans le réacteur à citer le temps de séjour hydraulique HRT, le rapport DCO/N-NO<sub>3</sub>, la concentration des nitrates et des nitrites contaminant l'eau, la température et le pH du milieu réactionnel.

L'efficacité de la dénitrification des eaux brutes synthétiques utilisées dans la présente étude a montré une légère dissimilitude dans les deux montages du MBBR emballé avec Kaldnes K1, ceci peut être causé soit par la composition en biomasse hétérotrophe des inocula incubés dans les deux réacteurs provenant de deux stations d'épuration différentes ( **INO2** et **INO3**), rappelant que la qualité et la source de l'inoculum microbien affectent énormément les résultats de la biodégradabilité dans les réacteurs biologiques et peut être prélevé dans différentes niches écologiques, soit causé par la géométrie des réacteurs utilisés légèrement dissemblables.

Avant d'entamer les études de dénitrification biologique dans le réacteur à biofilm et à lit mobile emballé avec Kaldnes K1, le comportement hydrodynamique de ce réacteur dans les différentes conditions de fonctionnement et en variant la vitesse d'agitation, la quantité de garnissage et le débit d'alimentation de l'influent a été étudié à cause de son importance avant tout démarrage des études expérimentales utilisant ce type de conception. Ces études ont révélé un comportement du MBBR conçu semblable à un réacteur parfaitement agité, avec toute fois la détection de zones mortes variant en fonction des conditions opératoires, le volume mort le plus réduit et qui s'estime à **22.5 %** a été enregistré pour une vitesse d'agitation de 100 rpm, un pourcentage de remplissage de 165.2g et un débit d'alimentation de 0.25 L.h<sup>-1</sup>.

## Conclusion générale

Après la fixation de la mise en œuvre du réacteur MBBR emballé avec Kaldnes K1, l'étape de modélisation se voit nécessaire afin de prévoir le comportement de ce type de réacteur dans les différents scénarios de fonctionnement, la modélisation a été appliquée en utilisant les modèles de boues activées de la famille de l'ASM (Activated Sludge Models) de l'IWA (association internationale de l'eau) et en introduisant la diffusion du substrat dans le biofilm développé sur les bioporteurs, la contribution de la biomasse attachée dans la réduction des nitrates, a été également investiguée.

La modélisation a été réalisée en considérant d'une part le volume effectif contribuant dans les réactions biologiques et déterminé grâce aux études hydrodynamiques établies et d'autres part en considérant que le réacteur est supposé comme un réacteur complètement mélangé représentant la biomasse en suspension et celle attachée., en raison de la masse limitée de la biomasse attachée et la finesse du biofilm développé sur le support.

La modélisation a nécessité également l'introduction d'une multitude de constantes biocinétiques et stœchiométriques dans le but de simuler la réponse dans différentes conditions. Ces constantes ont été évaluées expérimentalement par la méthode de respirométrie pulse, nécessitant une attention particulière et un apprentissage poussée à cause de sa finesse et de son application très délicate dans ce type de conception ou une fraction de la biomasse est attaché aux bioporteurs, la respirométrie a permis la détermination expérimentale de quatre constantes à citer  $Y_{HD}$ ,  $Y_{NO}$ ,  $\mu_{HDet}$   $K_S$ , et avec leurs valeurs de  $0.4 \text{ mgCOD (mgCOD)}^{-1}$ ,  $0.6 \text{ mg COD (mgCOD)}^{-1}$ ,  $0.864 \text{ j}^{-1}$  et  $12.48 \text{ mg COD L}^{-1}$ , respectivement.

Les valeurs des autres constantes biocinétiques considérées dans le modèle, telles que  $K_{NO_3}$  et  $b_{HD}$ , qui ont des valeurs de  $0.25 \text{ mg NO}_3\text{-N. L}^{-1}$  et  $0.061 \text{ j}^{-1}$ , respectivement, ont été déterminés après calage avec la réponse du modèle établi.

Le modèle a été utilisé pour simuler diverses conditions de fonctionnement, et les résultats comprenaient des profils de concentration pour  $N\text{-NO}_3$ , DCO et  $X_{BH}$ . Ces profils ont montré un bon accord avec les profils expérimentaux, principalement en raison de l'utilisation du volume effectif déterminé expérimentalement dans les études hydrodynamiques et qui peut atteindre 62 % du volume total dans certaines conditions de fonctionnement.

Malgré que la biomasse développée et attachée sur les bioporteurs a été très limitée mais sa contribution dans l'enlèvement des nitrates des eaux brutes a été bien constatée, encourageant



## Conclusion générale

à utiliser ce mode de conception dans la réduction des charges polluantes causées par la présence des formes oxydées d'azote à citer les nitrites et les nitrates dans les eaux de surfaces et les eaux souterraines pour une meilleure préservation de la santé publique et de l'environnement.

Cependant comme première perspective, appliquer ce mode de traitement et ce type de conception pour les eaux brutes réels contaminées par la présence des nitrates et aussi en investiguant non seulement la dénitrification hétérotrophe mais aussi la dénitrification autotrophe en considérant d'autres conditions opératoires et d'autres types de bioporteurs.

La modélisation de ce process peut aussi être améliorée en considérant le flux de diffusion à travers le biofilm nécessitant des moyens plus performants pour l'évaluation du transfert de masse dans la couche de la biomasse développée et aussi en explorant la modélisation selon la vision du modèle **ASM3**.

## Références

## Références

- [1] M. Shrimali et K. P. Singh, « New methods of nitrate removal from water », *Environmental Pollution*, vol. 112, n° 3, p. 351-359, 2001, doi: 10.1016/S0269-7491(00)00147-0.
- [2] T. Sumino, K. Isaka, H. Ikuta, Y. Saiki, et T. Yokota, « Nitrogen removal from wastewater using simultaneous nitrate reduction and anaerobic ammonium oxidation in single reactor », *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 102, n° 4, p. 346-351, 2006, doi: 10.1263/jbb.102.346.
- [3] J. Ben Khaled, « Couplage de la dénitrification autotrophe sur soufre aux systèmes de traitement biologique des eaux usées domestiques applicables au secteur de l'assainissement décentralisé », Université de Québec institut national de la recherche scientifique centre eau terre environnement, 2016.
- [4] B. Daisy, « Traitement biologique d'effluent azotes avec arrêt de la nitrification au stade nitrite », ENS, Montpellier, 2004.
- [5] H. Shoun, D.-H. Kim, H. Uchiyama, et J. Sugiyama, « Denitrification by fungi », *FEMS Microbiology Letters*, vol. 94, n° 3, p. 277-281, juill. 1992, doi: 10.1111/j.1574-6968.1992.tb05331.x.
- [6] J. Rodier, B. LEGUBE, et N. MERLET, *L'Analyse de l'eau*, 9e édition. Algeria, 2009.
- [7] K. A. Karanasios, I. A. Vasiliadou, S. Pavlou, et D. V. Vayenas, « Hydrogenotrophic denitrification of potable water: A review », *Journal of Hazardous Materials*, vol. 180, n° 1-3, p. 20-37, 2010, doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.04.090.
- [8] Z. Feleke et Y. Sakakibara, « A bio-electrochemical reactor coupled with adsorber for the removal of nitrate and inhibitory pesticide », *Water Research*, vol. 36, n° 12, p. 3092-3102, 2002, doi: 10.1016/S0043-1354(01)00538-3.
- [9] H. Alouane, « Evaluation des teneurs en nitrates dans les sols et dans les eaux captées et émergents en zones à vocation agricole (Impact des nitrates sur la qualité des eaux destinées à la consommation humaine », Mentouri Constantine, Algeria, 2012.
- [10] F. T. Wakida et D. N. Lerner, « Non-agricultural sources of groundwater nitrate: a review and case study », *Water Research*, vol. 39, n° 1, p. 3-16, janv. 2005, doi: 10.1016/j.watres.2004.07.026.

## Références

- [11] M. Casellas, C. Dagot, et M. Baudu, « Stratégies d'élimination de l'azote d'un effluent urbain dans un réacteur discontinu séquentiel (SBR) », *Revue des sciences de l'eau*, vol. 15, n° 4, p. 749, 2002, doi: 10.7202/705479ar.
- [12] S. Ghafari, M. Hasan, et M. K. Aroua, « Bio-electrochemical removal of nitrate from water and wastewater-A review », *Bioresource Technology*, vol. 99, n° 10, p. 3965-3974, 2008, doi: 10.1016/j.biortech.2007.05.026.
- [13] C. Glass et J. Silverstein, « Denitrification of high-nitrate, high-salinity wastewater », *Water Research*, vol. 33, n° 1, p. 223-229, 1999, doi: 10.1016/S0043-1354(98)00177-8.
- [14] J. M. Gálvez, M. A. Gómez, E. Hontoria, et J. González-López, « Influence of hydraulic loading and air flowrate on urban wastewater nitrogen removal with a submerged fixed-film reactor », *Journal of Hazardous Materials*, vol. 101, n° 2, p. 219-229, 2003, doi: 10.1016/S0304-3894(03)00173-0.
- [15] J. Capblancq et H. Decamps, « L'eutrophisation des eaux continentales à questions propos d'un processus complexe », *Editions scientifiques et médicales*, France, 2002.
- [16] A. Menesguen, « Les "mares vertes" en Bretagne, la responsabilité du nitrate », p. 12, 2003.
- [17] B.-U. Bae, Y.-H. Jung, W.-W. Han, et H.-S. Shin, « Improved brine recycling during nitrate removal using ion exchange », *Water Research*, vol. 36, n° 13, p. 3330-3340, 2002, doi: 10.1016/S0043-1354(02)00012-X.
- [18] M. Boumediene et D. Achour, « Denitrification of the underground waters by specific resin exchange of ion », vol. 168, p. 187-194, 2004.
- [19] W. Cheurfi, « Utilisation de bactéries prélevées dans la station d'épuration d'El Menia Constantine pour la dénitrification », 2000.
- [20] V. Der Bruggen, « Nanofiltration », 2019. doi: 10.1016/B978-0-12-813722-2.00015-7.
- [21] C. K. Diawara, « Nanofiltration Process Efficiency in Water Desalination », *Separation & Purification Reviews*, vol. 37, n° 3, p. 302-324, juill. 2008, doi: 10.1080/15422110802228770.
- [22] F. Garciaa, D. Cicerona, A. Sabonia, et S. Alexandrova, « Nitrate ions elimination from drinking water by nanofiltration: Membrane choice France », *Separation Purification Technology*, vol. 52, p. 196-200, 2006, doi: 10.1016/j.seppur.2006.03.023.
- [23] M.-O. Ratel, « Elimination des nitrates des eaux potables », Office international de l'eau SNIDE.

## Références

- [24] M. Chatelier, « Faisabilité d'un pilote de dénitrification in situ dans un aquifère karstifié », Poitiers, France, 2010.
- [25] E. Fazzolari, J. C. Germon, U. C. Bernard, et I. Lyon, « Dissimilatory ammonia production vs . denitrification in vitro and in inoculated agricultural soil samples », n° 1982, p. 786-793, 1990.
- [26] R. Knowles, « Denitrification », *Microbiological*, vol. 46, n° 1, p. 43-70, 1982.
- [27] A. Mariotti, « La dénitrification dans les eaux souterraines ,principes et methodes de son identification:une revue », *Journal of Hydrology*, p. 1-23, 1986.
- [28] J.-L. Garcia, « La biosynthèse des enzymes de la dénitrification chez cinq bactéries dénitrifiantes », *Coh.ORSTOM*, n° 43, p. 3-6, 1981.
- [29] C. C. Delwiche, « Production and utilization of nitrous oxide by pseudomonas denitrification », *J Bacteriol*, vol. 77, n° 1, p. 55-59, janv. 1959, doi: 10.1128/jb.77.1.55-59.1959.
- [30] W. J. Payne, « Reduction of Nitrogenous Oxides by Microorganisms », *Bacteriological Reviews*, vol. 37, n° 4, p. 409-452, 1973.
- [31] M. R. Betlach et J. M. Tiedje, « Kinetic Explanation for Accumulation of Nitrite , Nitric Oxide , and Nitrous Oxide During Bacterial Denitrification », *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 42, n° 6, p. 1074-1084, 1981.
- [32] R. L. Smith, J. K. Bo, S. P. Garabedian, et K. M. Revesz, « Assessing denitrification in groundwater using natural gradient tracer tests with 15 N : In situ measurement of a sequential multistep reaction », vol. 40, p. 1-17, 2004, doi: 10.1029/2003WR002919.
- [33] T. N. Gamble, M. R. Betlach, et J. M. Tiedje, « Numerically Dominant Denitrifying Bacteria from World Soils1 », *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 33, n° 4, p. 926-939, 1977.
- [34] M. Schwientek, F. Einsiedl, W. Stichler, A. Stögbauer, H. Strauss, et P. Maloszewski, « Evidence for denitrification regulated by pyrite oxidation in a heterogeneous porous groundwater system », vol. 255, p. 60-67, 2008, doi: 10.1016/j.chemgeo.2008.06.005.
- [35] K. Baalsrud et K. S. Baalsrud, « Studies on thiobacillus denitrificans », *Archiv for Mikrobiologie*, vol. 20, n° 1, p. 34-62, 1954, doi: 10.1007/BF00412265.
- [36] K. L. Straub *et al.*, « Oxidation of ferrous iron . These include : Anaerobic , Nitrate-Dependent Microbial Oxidation of Ferrous Iron », vol. 62, n° 4, 1996.

## Références

- [37] K. A. Weber et F. W. Picardal, « Microbially Catalyzed Nitrate-Dependent Oxidation of Biogenic Solid-Phase Fe ( II ) Compounds », vol. 35, n° 8, p. 1644-1650, 2001.
- [38] Y. H. Huang et T. C. Zhang, « Kinetics of Nitrate Reduction by Iron at Near Neutral pH », n° July, p. 604-611, 2002.
- [39] G. W. Luther, B. Sundby, B. L. Lewis, P. J. Brendel, et N. Silverberg, « Interactions of manganese with the nitrogen cycle: Alternative pathways to dinitrogen », *Geochimica et Cosmochimica Acta*, vol. 61, n° 19, p. 4043-4052, oct. 1997, doi: 10.1016/S0016-7037(97)00239-1.
- [40] B. Rezaia, N. Cicek, et J. A. Oleszkiewicz, « Kinetics of Hydrogen-Dependent Denitrification Under Varying pH and Temperature Conditions », p. 1-7, 2005, doi: 10.1002/bit.20664.
- [41] I. A. Vasiliadou, K. A. Karanasios, S. Pavlou, et D. V. Vayenas, « Experimental and modelling study of drinking water hydrogenotrophic denitrification in packed-bed reactors », *Journal of Hazardous Materials*, vol. 165, n° 1-3, p. 812-824, 2009, doi: 10.1016/j.jhazmat.2008.10.067.
- [42] M. Kurt, I. J. Dunn, et J. R. Bourne, « Biological denitrification of drinking water using autotrophic organisms with H<sub>2</sub> in a fluidized-bed biofilm reactor », *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 29, n° 4, p. 493-501, 1987, doi: 10.1002/bit.260290414.
- [43] M. Zhou, W. Fu, H. Gu, et L. Lei, « Nitrate removal from groundwater by a novel three-dimensional electrode biofilm reactor », vol. 52, p. 6052-6059, 2007, doi: 10.1016/j.electacta.2007.03.064.
- [44] K. . C. Lee et B. E. Rittmann, « Effects of pH and precipitation on autohydrogenotrophic denitrification using the hollow-fiber membrane-biofilm reactor », *Water Research*, vol. 37, n° 7, p. 1551-1556, avr. 2003, doi: 10.1016/S0043-1354(02)00519-5.
- [45] C. Glass et J. Silverstein, « Denitrification kinetics of high nitrate concentration water: pH effect on inhibition and nitrite accumulation », *Water Research*, vol. 32, n° 3, p. 831-839, 1998, doi: 10.1016/S0043-1354(97)00260-1.
- [46] Y. Pan, L. Ye, B. Ni, et Z. Yuan, « Effect of pH on N<sub>2</sub>O reduction and accumulation during denitrification by methanol utilizing denitrifiers », *Water Research*, vol. 46, n° 15, p. 4832-4840, 2012, doi: 10.1016/j.watres.2012.06.003.

## Références

- [47] E. Arvin et G. H. Kristensen, « Effect of Denitrification on the pH in Biofilms », *Water Science and Technology*, vol. 14, n° 8, p. 833-848, août 1982, doi: 10.2166/wst.1982.0026.
- [48] L. Foglar et F. Briški, « Wastewater denitrification process - The influence of methanol and kinetic analysis », *Process Biochemistry*, vol. 39, n° 1, p. 95-103, 2003, doi: 10.1016/S0032-9592(02)00318-7.
- [49] S. H. Isaacs, M. Henze, H. Sørensen, et M. Kümmel, « External carbon source addition as a means to control an activated sludge nutrient removal process », *Water Research*, vol. 28, n° 3, p. 511-520, mars 1994, doi: 10.1016/0043-1354(94)90002-7.
- [50] R. Moser-Engeler, K. M. Udert, D. Wild, et H. Siegrist, « Products from primary sludge fermentation and their suitability for nutrient removal », *Waf. Sci. Tech*, vol. 38, n° 1, p. 265-273, 1998.
- [51] J. R. Skrinde et S. K. Bhagat, « Industrial sources denitrification wastes in biological as carbon », *Water Environment Federation.*, vol. 54, n° 4, p. 370-377, 2015.
- [52] U. Nyberg, H. Aspegren, B. Andersson, et I. S. Villadsen, « Full-scale application of nitrogen removal with methanol as carbon source », vol. 26, n° 5, p. 1077-1086, 2018.
- [53] N. F. Y. Tam, Y. S. Wong, et G. Leung, « Significance of External Carbon Sources on Simultaneous Removal of Nutrients from Wastewater », *Water Science and Technology*, vol. 26, n° 5-6, p. 1047-1055, sept. 1992, doi: 10.2166/wst.1992.0546.
- [54] Y. C. Chiu et M. S. Chung, « Determination of optimal COD/nitrate ratio for biological denitrification », *International Biodeterioration and Biodegradation*, vol. 51, n° 1, p. 43-49, 2003, doi: 10.1016/S0964-8305(02)00074-4.
- [55] Y. Kim, K. Nakano, T. Lee, S. Kanchanatawee, et M. Matsumura, « On-Site Nitrate Removal of Groundwater by an Immobilized Psychrophilic Denitrifier Using Soluble Starch as a Carbon Source », vol. 93, n° 3, p. 303-308, 2002.
- [56] R. R. Nair, P. B. Dhamole, S. S. Lele, et S. F. D. Souza, « Biological denitrification of high strength nitrate waste using preadapted denitrifying sludge », vol. 67, p. 1612-1617, 2007, doi: 10.1016/j.chemosphere.2006.11.043.
- [57] A. Aesoy, H. Odegaard, et K. Bach, « Denitrification in a packed biofilm reactor (biofilm)-experiments with different carbon sources », *Waf. Sci. Tech*, Britain, p. 1463-1470, 1998.

## Références

- [58] L. Y. Lee, S. L. Ong, et W. J. Ng, « All use subject to JSTOR Terms and Conditions Denitrification of Nitrate Wastewater Columns using », vol. 76, n° 5, p. 388-393, 2016.
- [59] T. Pekdemir, « Drinking Water Denitrification in a Fixed Bed Packed Biofilm Reactor », vol. 22, n° 39-45, p. 7, 1989.
- [60] N. Benyoucef, A. Cheikh, N. Drouiche, H. Lounici, N. Mameri, et N. Abdi, « Denitrification of groundwater using Brewer ' s spent grain as biofilter media », *Ecological Engineering*, vol. 52, p. 70-74, 2013, doi: 10.1016/j.ecoleng.2012.12.092.
- [61] V. Z. Lazarova, B. Capdeville, et L. Nikolov, « Biofilm Performance of a Fluidized Bed Biofilm Reactor for Drinking Water Denitrification », *Water Science and Technology*, vol. 26, n° 3-4, p. 555-566, août 1992, doi: 10.2166/wst.1992.0435.
- [62] B. Rusten, O. Sehested, E. Skjelfoss, B. Svendsen, et S. Water, « Pilot testing and preliminary design of moving bed biofilm reactors for nitrogen removal at the FREVAR wastewater treatment plant », *Water Science and Technology*, n° September, p. 13-20, 2018.
- [63] S. Ghafari, M. Hasan, et M. K. Aroua, « Effect of carbon dioxide and bicarbonate as inorganic carbon sources on growth and adaptation of autohydrogenotrophic denitrifying bacteria », vol. 162, p. 1507-1513, 2009, doi: 10.1016/j.jhazmat.2008.06.039.
- [64] K. S. Haugen, M. J. Semmens, et P. J. Novak, « A novel in situ technology for the treatment of nitrate contaminated groundwater », *Water Research*, vol. 36, n° 14, p. 3497-3506, 2002, doi: 10.1016/S0043-1354(02)00043-X.
- [65] J. W. Lee, K. H. Lee, K. Y. Park, et S. K. Maeng, « Bioresource Technology Hydrogenotrophic denitrification in a packed bed reactor : Effects of hydrogen-to-water flow rate ratio », *Bioresource Technology*, vol. 101, n° 11, p. 3940-3946, 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2010.01.022.
- [66] C. C. Chang, S. K. Tseng, et H. K. Huang, « Hydrogenotrophic denitrification with immobilized *Alcaligenes eutrophus* for drinking water treatment », vol. 69, p. 53-58, 1999.
- [67] B. Koopman, C. M. Stevens, C. A. Wonderlick, B. Koopman, M. Stevens, et C. A. Wonderlick, « All use subject to JSTOR Terms and Conditions Denitrification upflow in a moving sand filter », *Water Environment Federation.*, vol. 62, n° 3, p. 239-245, 2014.

## Références

- [68] B. E. Rittmann, « Comparative Performance of Biofilm Reactor Types », *Biotechnology and Bioengineering*, vol. XXIV, p. 1341-1370, 1982.
- [69] H. Ødegaard, B. Rusten, et T. Westrum, « A new moving bed biofilm reactor— applications and results. », *Wat.Sci.Tech*, vol. 29, n° 10-11, p. 157-165, 1994.
- [70] H. Ødegaard, « The Moving Bed Biofilm Reactor », *Water Environmental Engineering and Reuse of Water*, n° 0575314, p. 250-305, 1999.
- [71] B. Rusten, B. Eikebrokk, Y. Ulgenes, et E. Lygren, « Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors », *Aquacultural Engineering*, vol. 34, n° 3, p. 322-331, 2006, doi: 10.1016/j.aquaeng.2005.04.002.
- [72] K. Biswas, M. W. Taylor, et S. J. Turner, « Successional development of biofilms in moving bed biofilm reactor ( MBBR ) systems treating municipal wastewater », 2013, doi: 10.1007/s00253-013-5082-8.
- [73] H. Ødegaard, B. Gisvold, et J. Strickland, « The influence of carrier size and shape in the moving bed biofilm process », *Water Science and Technology*, n° July, p. 383-391, 2000.
- [74] B. Rusten, M. McCoy, R. Proctor, et J. G. Siljudalen, « The innovative moving bed biofilm reactor / solids contact reaeration process for secondary treatment of municipal wastewater », n° August, p. 0-6, 1998.
- [75] Y. Qiqi, H. Qiang, et H. T. Ibrahim, « Review on Moving Bed Biofilm Processes », *Pakistan J. of Nutrition*, vol. 11, n° 9, p. 804-811, août 2012, doi: 10.3923/pjn.2012.804.811.
- [76] X. J. Wang, S. Q. Xia, L. Chen, J. F. Zhao, N. J. Renault, et J. M. Chovelon, « Nutrients removal from municipal wastewater by chemical precipitation in a moving bed biofilm reactor », *Process Biochemistry*, vol. 41, p. 824-828, 2006, doi: 10.1016/j.procbio.2005.10.015.
- [77] H. Ødegaard, « A road-map for energy-neutral wastewater treatment plants of the future based on compact technologies ( including MBBR ) », vol. 10, n° 4, 2016, doi: 10.1007/s11783-016-0835-0.
- [78] J. Dias, M. Bellingham, J. Hassan, M. Barrett, T. Stephenson, et A. Soares, « Impact of carrier media on oxygen transfer and wastewater hydrodynamics on a moving attached growth system », *Chemical Engineering Journal*, 2018, doi: 10.1016/j.cej.2018.06.028.



## Références

- [79] R. Salvetti, A. Arianna, C. Roberto, et B. Luca, « Effects of temperature on tertiary nitrification in moving-bed biofilm reactors », *Wat. Res.*, vol. 40, p. 2981-2993, 2006, doi: 10.1016/j.watres.2006.05.013.
- [80] H. Ødegaard, « Norwegian Experiences with Chemical Treatment of Raw Wastewater », *Water Science and Technology*, vol. 25, n° 12, p. 255-264, juin 1992, doi: 10.2166/wst.1992.0357.
- [81] E. Torresi *et al.*, « AC SC », *Water Research*, 2017, doi: 10.1016/j.watres.2017.06.027.
- [82] M. Dezotti, G. Lippel, et J. P. Bassin, *Advanced Biological Processes for Wastewater Treatment*. Cham: Springer International Publishing, 2018. doi: 10.1007/978-3-319-58835-3.
- [83] L. Chu, J. Wang, F. Quan, X. Xing, L. Tang, et C. Zhang, « Modification of polyurethane foam carriers and application in a moving bed biofilm reactor », *Process Biochemistry*, vol. 49, n° 11, p. 1979-1982, 2014, doi: 10.1016/j.procbio.2014.07.018.
- [84] M. Md. T. Khan, L. K. Ista, G. P. Lopez, et A. J. Schuler, « Experimental and Theoretical Examination of Surface Energy and Adhesion of Nitrifying and Heterotrophic Bacteria Using Self-Assembled Monolayers », *Environ. Sci. Technol.*, vol. 45, n° 3, p. 1055-1060, févr. 2011, doi: 10.1021/es101389u.
- [85] S. Klaus, P. McLee, A. J. Schuler, et C. Bott, « Methods for increasing the rate of anammox attachment in a sidestream deammonification MBBR Stephanie Klaus , Patrick McLee , Andrew J . Schuler and Charles Bott », *Water Science and Technology*, p. 110-117, 2016, doi: 10.2166/wst.2016.183.
- [86] A. Bhattacharya, J. W. Rawlins, et P. Ray, *Polymer Grafting and Crosslinking*, Tenth ed. USA: Hoboken, 2009.
- [87] S. Lackner, M. Holmberg, A. Terada, P. Kingshott, et B. F. Smets, « Enhancing the formation and shear resistance of nitrifying biofilms on membranes by surface modification », *Water Research*, vol. 43, n° 14, p. 3469-3478, 2009, doi: 10.1016/j.watres.2009.05.011.
- [88] Y. Mao *et al.*, « Accelerated startup of moving bed biofilm process with novel electrophilic suspended biofilm carriers », *Chemical Engineering Journal*, 2017, doi: 10.1016/j.cej.2017.01.041.
- [89] M. S. Kowalski, T. R. Devlin, et J. A. Oleszkiewicz, « Attachment of anaerobic ammonium oxidizing bacteria to augmented carrier material », *Environmental Technology*, vol. 0, n° 0, p. 1, 2017, doi: 10.1080/09593330.2017.1397770.

## Références

- [90] H. Flemming, J. Wingender, U. Szewzyk, P. Steinberg, et S. A. Rice, « TH RE Biofilms : an emergent form of bacterial life », *Nature Publishing Group*, vol. 14, n° 9, p. 563-575, 2016, doi: 10.1038/nrmicro.2016.94.
- [91] Y. Zhu *et al.*, « Bioresource Technology Physicochemical characteristics and microbial community evolution of biofilms during the start-up period in a moving bed biofilm reactor », vol. 180, p. 345-351, 2015, doi: 10.1016/j.biortech.2015.01.006.
- [92] R. M. Donlan, « Biofilms : Microbial Life on Surfaces », vol. 8, n° 9, p. 881-890, 2002.
- [93] H. Furumia et B.E. Rittmann, « Evaluation of multiple-species biofilm and floc processes using a simplified aggregate model », *Water Science and Technology*, vol. 29, n° 10-11, p. 439-446, 1994.
- [94] J. P. Bassin, R. Kleerebezem, A. S. Rosado, M. C. M. Van Loosdrecht, et M. Dezotti, « Effect of Different Operational Conditions on Biofilm Development , Nitrification , and Nitrifying Microbial Population in Moving-Bed Biofilm Reactors », 2012.
- [95] M. C. Cammarota, G. L. Sant, et A. Jr, « Metabolic blocking of exopolysaccharides synthesis : effects on microbial adhesion and biofilm accumulation », *Biotechnology Letters*, vol. 20, n° 1, p. 1-4, 1998.
- [96] G. Gonçalves. Reis, « Influence of organic load on the performance of moving-bed biofilm reactors (MBBR) », Master's thesis in Chemical Engineering, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Portuguese, 2007.
- [97] B. Frølund, R. Palmgren, K. Keiding, et P. H. Nielsen, « Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin », *Water Research*, vol. 30, n° 8, p. 1749-1758, août 1996, doi: 10.1016/0043-1354(95)00323-1.
- [98] H. Flemming et J. Wingender, « Relevance of microbial extracellular polymeric substances ( EPSs ) – Part I: Structural and ecological aspects », *Water Science and Technology*, n° August, p. 1-8, 2018.
- [99] O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough, et A. L. Farr, « Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent », *Journal of Biological Chemistry*, p. 265-275, 1951.
- [100] M. M. Bradford, « A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding », *Analytical Biochemistry*, vol. 254, p. 248-254, 1976.
- [101] L. Daniels, R. S. Hanson, et J. A. Phillips, « Chemical Analysis. In: Washington », in *Methods for General and Molecular Bacteriology*, 1994.

## Références

- [102] W. Sokół, « Treatment of refinery wastewater in a three-phase fluidised bed bioreactor with a low density biomass support », vol. 15, p. 1-10, 2003.
- [103] P. S. Stewart, « Diffusion in Biofilms », *journal of bacteriology*, vol. 185, n° 5, 2003, doi: 10.1128/JB.185.5.1485.
- [104] J. B. Xavier, C. Picioreanu, et M. C. M. Van Loosdrecht, « A framework for multidimensional modelling of activity and structure of multispecies biofilms », vol. 7, p. 1085-1103, 2005, doi: 10.1111/j.1462-2920.2005.00787.x.
- [105] C. Tavares, « The effect of air superficial velocity on biofilm accumulation in a three-phase fluidized-bed reactor », *Water Research*, vol. 29, n° 10, p. 2293-2298, oct. 1995, doi: 10.1016/0043-1354(95)00043-K.
- [106] L. Metcalf et H. Eddy, *Wastewater Engineering – Treatment, Disposal and Reuse*, 3rd edition. USA:McGraw-Hill, 1991.
- [107] T. Leiknes et H. Ødegaard, « Moving bed biofilm membrane reactor( MBB-M-R ): characteristics and potentials of a hybrid process », 2001.
- [108] H. Ødegaard, « Innovations in wastewater treatment: the moving bed biofilm process », *Wat.Sci.Tech*, vol. 53, n° 9, p. 17-33, 2006, doi: 10.2166/wst.2006.284.
- [109] H. Ødegaard, « Norwegian experiences with chemical treatment of raw wastewater », *Water Science and Technology*, vol. 25, n° 12, p. 255-264, 1992.
- [110] G. Mannina, *Frontiers in Wastewater Treatment and Modelling*, 2017, 2017.
- [111] P. Taylor, I. Ivanovic, et T. O. Leiknes, « Desalination and Water Treatment The biofilm membrane bioreactor ( BF-MBR )— a review », *Desalination and Water*, vol. 37, p. 288-295., 2012, doi: 10.1080/19443994.2012.661283.
- [112] H. Eddy et L. Metcalf, *Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery*, McGraw-Hill Education, 2 Penn Plaza. New York, 2014.
- [113] H. Koch, M. A. H. J. Van Kessel, et S. Lücker, « Complete nitrification: insights into the ecophysiology of comammox Nitrospira », p. 177-189, 2019.
- [114] B. Rusten et L. J. Hem, « Nitrogen removal from dilute wastewater in cold climate using moving-bed biofilm reactors », p. 65-74, 1995.
- [115] D. Jenkins et J. Wanner, *Activated Sludge - 100 Years and Counting*, IWA. 2014.
- [116] M. Christensson et T. Welander, « Treatment of municipal wastewater in a hybrid process using a new suspended carrier with large surface area », *Waf. Sci. Tech*, p. 207-214., 2004.

## Références

- [117] P. Regmi, W. Thomas, G. Schafran, C. Bott, B. Rutherford, et D. Waltrip, « Nitrogen removal assessment through nitrification rates and media biofilm accumulation in an IFAS process demonstration study », *Water Research*, vol. 45, n° 20, p. 6699-6708, déc. 2011, doi: 10.1016/j.watres.2011.10.009.
- [118] E. Germain, L. Bancroft, A. Dawson, C. Hinrichs, L. Fricker, et P. Pearce, « Evaluation of hybrid processes for nitrification by comparing MBBR/AS and IFAS configurations », *Water Science and Technology*, vol. 55, n° 8-9, p. 43-49, avr. 2007, doi: 10.2166/wst.2007.240.
- [119] D. Di Trapani, M. Christensso, et H. Ødegaard, « Hybrid activated sludge/biofilm process for the treatment of municipal wastewater in a cold climate region: a case study », *Water Science and Technology*, vol. 63, n° 6, p. 1121-1129, mars 2011, doi: 10.2166/wst.2011.350.
- [120] Y. Pan, B.-J. Ni, H. Lu, K. Chandran, D. Richardson, et Z. Yuan, « Evaluating two concepts for the modelling of intermediates accumulation during biological denitrification in wastewater treatment », *Water Research*, vol. 71, p. 21-31, mars 2015, doi: 10.1016/j.watres.2014.12.029.
- [121] K. Lee et B. E. Rittmann, « Effects of pH and precipitation on autohydrogenotrophic denitrification using the hollow-fiber membrane-biofilm reactor », vol. 37, p. 1551-1556, 2003, doi: 10.1016/S0043-1354(02)00519-5.
- [122] P. Elefsiniotis et D. G. Wareham, « Utilization patterns of volatile fatty acids in the denitrification reaction », *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 41, p. 92-97, 2007, doi: 10.1016/j.enzmictec.2006.12.006.
- [123] S. Ge, Y. Peng, S. Wang, C. Lu, X. Cao, et Y. Zhu, « Bioresource Technology Nitrite accumulation under constant temperature in anoxic denitrification process : The effects of carbon sources and COD / NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N », *Bioresource Technology*, vol. 114, p. 137-143, 2012, doi: 10.1016/j.biortech.2012.03.016.
- [124] L. Chu et J. Wang, « Chemosphere Denitrification of groundwater using PHBV blends in packed bed reactors and the microbial diversity », *Chemosphere*, vol. 155, p. 463-470, 2016, doi: 10.1016/j.chemosphere.2016.04.090.
- [125] Z. Xu, X. Dai, et X. Chai, « Effect of different carbon sources on denitrification performance, microbial community structure and denitrification genes », *Science of the Total Environment*, vol. 634, p. 195-204, 2018, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.03.348.

## Références

- [126] M. A. Gómez, E. Hontoria, et J. González-López, « Effect of dissolved oxygen concentration on nitrate removal from groundwater using a denitrifying submerged filter », *Journal of Hazardous Materials*, vol. 90, n° 3, p. 267-278, 2002, doi: 10.1016/S0304-3894(01)00353-3.
- [127] W. J. B. Saliling, P. W. Westerman, et T. M. Losordo, « Wood chips and wheat straw as alternative biofilter media for denitrification reactors treating aquaculture and other wastewaters with high nitrate concentrations », *Aquacultural Engineering*, vol. 37, n° 3, p. 222-233, 2007, doi: 10.1016/j.aquaeng.2007.06.003.
- [128] R. Chen, M. Deng, X. He, J. Hou, et D. E. Marco, « Enhancing Nitrate Removal from Freshwater Pond by Regulating Carbon / Nitrogen Ratio », vol. 8, n° September, p. 1-9, 2017, doi: 10.3389/fmicb.2017.01712.
- [129] Y. Lee, H. Choi, K. Cho, et Y. Lee, « Effects of carbon source , C / N ratio , nitrate , temperature , and pH on N<sub>2</sub>O emission and functional denitrifying genes during heterotrophic denitrification emission and functional denitrifying genes during heterotrophic denitrification », *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, vol. 0, n° 0, p. 1-14, 2018, doi: 10.1080/10934529.2018.1503903.
- [130] S. Aslan et H. Cakici, « Biological denitrification of drinking water in a slow sand filter », *Journal of Hazardous Materials*, vol. 148, n° 1-2, p. 253-258, 2007, doi: 10.1016/j.jhazmat.2007.02.012.
- [131] B. Kraft *et al.*, « The environmental controls that govern the end product of bacterial nitrate respiration », *science*, vol. 345, p. 676-679, 2014, doi: 10.1126/science.1254070.
- [132] Q. Wang, C. Feng, Y. Zhao, et C. Hao, « Denitrification of nitrate contaminated groundwater with a fiber-based biofilm reactor », *Bioresource Technology*, vol. 100, n° 7, p. 2223-2227, 2009, doi: 10.1016/j.biortech.2008.07.057.
- [133] E. J. McAdam et S. J. Judd, « Denitrification from drinking water using a membrane bioreactor: Chemical and biochemical feasibility », *Water Research*, vol. 41, n° 18, p. 4242-4250, 2007, doi: 10.1016/j.watres.2007.05.059.
- [134] V. Mezzanotte, R. Bertani, F. D. Innocenti, et M. Tosin, « Influence of inocula on the results of biodegradation tests », *Polymer Degradation and Stability*, vol. 87, p. 51-56, 2005, doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2004.06.009.
- [135] J. Ferrer, I. Lopez, A. Moreno, et J. Berna, « Anaerobic biodegradation of LAS, effect of inoculum source on biodegradation rate and Of, assessment of individual

## Références

- homologues removal », *Society Annual, environmental toxicology and chemistry (SETAC) 12th Meeting in Europe*, 2002.
- [136] R. Zamouche, « Etude et Modélisation des Dysfonctionnement dans les systèmes d'épuration biologique », Salah Boubnider ,Constantine, 2017.
- [137] Y. Liu, « Bioenergetic interpretation on the so /x0 ratio in substrate-sufficient batch culture », *Wat. Res.*, vol. 30, n° 11, p. 2766-2770, 1996.
- [138] K. Kujawa et B. Klapwijk, « A method to estimate denitrification potential for predenitrification systems using NUR batch test », *Water Research*, vol. 33, n° 10, p. 2291-2300, juill. 1999, doi: 10.1016/S0043-1354(98)00459-X.
- [139] G. A. Ekama, P. Dold, et G. v. R. Marais, « Procedures for Determining Influent COD Fractions and the Maximum Specific Growth Rate of Heterotrophs in Activated ... », *Wat.Sci.Tech*, vol. 18, p. 91-114, 1986.
- [140] P. Dold, S. Murthy, I. Takacs, et C. Bye, « Batch test method for measuring methanol utilizer maximum specific growth rate », *proc water environ fed*, vol. 2005, n° 9, p. 5911-5932, janv. 2005, doi: 10.2175/193864705783814871.
- [141] V. Lazarova, « Biofilm characterization and activity analysis in water and wastewater treatment », *Water Research*, vol. 29, n° 10, p. 2227-2245, 1995, doi: 10.1016/0043-1354(95)00054-O.
- [142] B. Rusten et L. J. Hem, « Nitrification of municipal wastewater in moving-bed biofilm reactors », *Water Environment Research*, vol. 67, 1995.
- [143] J. P. Mcquarrie et J. P. Boltz, « Moving Bed Biofilm Reactor Technology ; Process Applications , Design , and Performance », *Water Environment Federation.*, vol. 83, 2010, doi: 10.2175/106143010X12851009156286.
- [144] B. Rusten, B. Eikebrokk, Y. Ulgenes, et E. Lygren, « Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors », *Aquacultural Engineering*, vol. 34, n° 3, p. 322-331, mai 2006, doi: 10.1016/j.aquaeng.2005.04.002.
- [145] O. Levenspiel, *Chemical reaction engineering*, 3rd ed. New York: Wiley, 1999.
- [146] M. P. Herrling, G. Guthausen, M. Wagner, et S. Lackner, « Determining the Flow Regime in a Biofilm Carrier by Means of Magnetic Resonance Imaging », vol. 112, n° 5, p. 1023-1032, 2015, doi: 10.1002/bit.25510.
- [147] J. P. Boltz et G. T. Daigger, « Uncertainty in bulk-liquid hydrodynamics and biofilm dynamics creates uncertainties in biofilm reactor design », *Wat.Sci.Tech*, vol. 61, n° 2, p. 307-316, 2010, doi: 10.2166/wst.2010.829.

## Références

- [148] D. De Beer, P. Stoodley, et Z. Lewandowski, « Liquid Flow in Heterogeneous Biofilms », vol. 44, p. 636-641, 1994.
- [149] T. G. Holloway et A. Soares, « Influence of internal fluid velocities and media fill ratio on submerged aerated filter hydrodynamics and process performance for municipal wastewater treatment », *Process Safety and Environmental Protection*, 2017, doi: 10.1016/j.psep.2017.12.018.
- [150] M. K. Sharma et A. A. Kazmi, « Effect of physical property of supporting media and variable hydraulic loading on hydraulic characteristics of advanced onsite wastewater treatment system », *Taylor,Francais*, n° February 2015, p. 37-41, 2014, doi: 10.1080/09593330.2014.992480.
- [151] M. D. Arredondo, « Développement d ' une technique expérimentale de détermination de la distribution des temps de séjours des phases solide et gazeuse », 2012.
- [152] H. S. Fogler, « Distributions of residence times for chemical reactors », *Elements of Chemical Reaction Engineering*, p. 867-944, 2006.
- [153] A. Barwal et R. Chaudhary, « Journal of Water Process Engineering Impact of carrier filling ratio on oxygen uptake & transfer rate , volumetric oxygen transfer coefficient and energy saving potential in a lab-scale MBBR », *Journal of Water Process Engineering*, vol. 8, p. 202-208, 2015, doi: 10.1016/j.jwpe.2015.10.008.
- [154] T. G. Holloway et A. Soares, « Influence of internal fluid velocities and media fill ratio on submerged aerated filter hydrodynamics and process performance for municipal wastewater treatment », *Process Safety and Environmental Protection*, vol. 114, p. 179-191, févr. 2018, doi: 10.1016/j.psep.2017.12.018.
- [155] M. T. Ghazani, « Etude des performances et optimisation d'un reacteur cascade a biomasse hybride pour le traitement des eaux usees urbaines », 2007.
- [156] D. C. Méndez-Romero, A. López-López, R. Vallejo-Rodríguez, et E. León-Becerril, « Hydrodynamic and kinetic assessment of an anaerobic fixed-bed reactor for slaughterhouse wastewater treatment », *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, vol. 50, n° 3, p. 273-280, 2011, doi: 10.1016/j.cep.2011.02.002.
- [157] S. Li, J. Nan, et F. Gao, « Hydraulic characteristics and performance modeling of a modified anaerobic baffled reactor (MABR) », *Chemical engineering journal*, 2015, doi: 10.1016/j.cej.2015.08.129.

## Références

- [158] J. M. Morgan-Sagastume et A. Noyola, « Evaluation of an aerobic submerged filter packed with volcanic scoria », *Bioresource Technology*, vol. 99, p. 2528-2536, 2008, doi: 10.1016/j.biortech.2007.04.068.
- [159] Y. L. Lau et D. Liu, « Effect of flow rate on biofilm accumulation in open channels », *Water Research*, vol. 27, n° 3, p. 355-360, mars 1993, doi: 10.1016/0043-1354(93)90034-F.
- [160] B. Tomlinson et E. J. Chambers, « Effect of longitudinal mixing on the settleability of activated sludge. », *Stevenage, England*, 1979.
- [161] A. Barwal et R. Chaudhary, « To study the performance of biocarriers in moving bed biofilm reactor (MBBR) technology and kinetics of biofilm for retrofitting the existing aerobic treatment systems: A review », *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, vol. 13, n° 3, p. 285-299, 2014, doi: 10.1007/s11157-014-9333-7.
- [162] S. Saleh-Lakha *et al.*, « Effect of pH and Temperature on Denitrification Gene Expression and Activity in *Pseudomonas mandelii* », *Appl Environ Microbiol*, vol. 75, n° 12, p. 3903-3911, juin 2009, doi: 10.1128/AEM.00080-09.
- [163] L. Holtan-Hartwiga, P. Doërschb, et L. R. Bakkenb, « Low temperature control of soil denitrifying communities : kinetics of N<sub>2</sub> O production and reduction », *Soil Biology Biochemistry*, vol. 34, p. 1797-1806, 2002.
- [164] T.B.Parkin, A. J. Sexstone, and J. M. Tiedje. «Adaptation of denitrifying population to low soil pH». *Appl. Environ. Microbiol.* 49,1053–1056, 1985.
- [165] Y. Liu, « Bioenergetic interpretation on the S0/X0 batch in substrate sufficient batch culture », *Wat.Res*, vol. 30, n° 11, p. 2766-2770, 1996.
- [166] P. Chudoba, B. Capdeville, et J. Chudoba, « Explanation of biological meaning of the S0/X0 ration in batch cultivation », *Waf. Sci. Tech*, vol. 26, n° 3-4, p. 743-751, 1992.
- [167] L. Novak, L. Larrea, et J. Waner, « Estimation of maximum specific growth rate of heterotrophic and autotrophic biomass:a combined technique of mathematical modelling and batch cultivation », *Waf. Sci. Tech*, p. 171-180, 1994.
- [168] C. P. L. Grady, B. F. Smets, et D. S. Barbeau, « Variability in kinetic parameter estimates: A review of possible causes and a proposed terminology », *Water Research*, vol. 30, n° 3, p. 742-748, mars 1996, doi: 10.1016/0043-1354(95)00199-9.
- [169] X. M. Wang et J. L. Wang, « Nitrate removal from groundwater using solid-phase denitrification process without inoculating with external microorganisms », *Int. J.*



## Références

- Environ. Sci. Technol.*, vol. 10, n° 5, p. 955- 960, sept. 2013, doi: 10.1007/s13762-013-0236-x.
- [170] L. Yang, Y. Ren, et S. Zhao, « Isolation and characterization of three heterotrophic nitrifying-aerobic denitrifying bacteria from a sequencing batch reactor », *Annals of Microbiology*, p. 737-747, 2016, doi: 10.1007/s13213-015-1161-7.
- [171] Y. Ren, L. Yang, et X. Liang, « Bioresource Technology The characteristics of a novel heterotrophic nitrifying and aerobic denitrifying bacterium , *Acinetobacter junii* YB », *BIORESOURCE TECHNOLOGY*, vol. 171, p. 109, 2014, doi: 10.1016/j.biortech.2014.08.058.
- [172] S. P. Burghate et N. W. Ingole, « Biodenitrification by Fluidized Bed Biofilm Reactor », vol. 2, n° 12, p. 42- 51, 2013.
- [173] M. Dupla, Y. Comeau, S. Parent, R. Villemur, et M. Jolicoeur, « Design optimization of a self-cleaning moving-bed bioreactor for seawater denitrification », vol. 40, p. 249-258, 2006, doi: 10.1016/j.watres.2005.10.029.
- [174] A. Zafarzadeh, B. Bina, M. Nikaeen, et H. M. Attar, « Performance of Moving Bed Biofilm Reactors for Biological Nitrogen Compounds Removal From Wastewater By Partial Nitrification-Denitrification », *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, vol. 7, n° 4, p. 353-364, 2010.
- [175] S. Ghafari, M. Hasan, et M. K. Aroua, « Bio-electrochemical removal of nitrate from water and wastewater—A review », *Bioresource Technology*, vol. 99, n° 10, p. 3965-3974, juill. 2008, doi: 10.1016/j.biortech.2007.05.026.
- [176] F. M. Costley, S.C. and Wallis, « Effect of flow rate on heavy metal accumulation by rotating biological contactor (RBC) biofilms. », *J. Ind. Microbiol. Biotechnol*, n°24:, p. 244-250, 2000.
- [177] S. Aslan et A. Turkman, « Nitrate and pesticides removal from contaminated water using biodenitrification reactor », *Process Biochemistry*, vol. 41, p. 882-886, 2006, doi: 10.1016/j.procbio.2005.11.004.
- [178] P. Kesserü, I. Kiss, Z. Bihari, et B. Polyák, « Biological denitrification in a continuous-flow pilot bioreactor containing immobilized *Pseudomonas butanovora* cells », *Bioresource Technology*, vol. 87, n° 1, p. 75- 80, 2003, doi: 10.1016/S0960-8524(02)00209-2.
- [179] Q. Wang, C. Feng, Y. Zhao, et C. Hao, « Denitrification of nitrate contaminated groundwater with a fiber-based biofilm reactor », *Bioresource Technology*, vol. 100, n° 7, p. 2223- 2227, avr. 2009, doi: 10.1016/j.biortech.2008.07.057.

## Références

- [180] S. A. Mirbagheri, S. Ahmadi, et N. Biglarijoo, « Denitrification of nitrate-contaminated groundwater in an anoxic rotating biological contactor: a case study », *Desalination and Water Treatment*, vol. 57, n° 10, p. 4694-4700, 2014, doi: 10.1080/19443994.2014.994106.
- [181] J. van Rijn, Y. Tal, et H. J. Schreier, « Denitrification in recirculating systems: Theory and applications », *Aquacultural Engineering*, vol. 34, n° 3, p. 364- 376, 2006, doi: 10.1016/j.aquaeng.2005.04.004.
- [182] J.J. Her et J. S. Huang, « Influences of carbon source and C/N ration on nitrate /nitrite denitrification and carbon breakthrough », *Bioresource Technology*, vol. 54, p. 45- 51, 1995.
- [183] F. T. Ademiluyi, S. A. Amadi, et N. . J. Amakama, « Adsorption and Treatment of Organic Contaminants using Activated Carbon from Waste Nigerian Bamboo . », *JASEM*, vol. 13, n° 3, p. 39-47, 2009.
- [184] R. R. Bansode, J. N. Losso, W. E. Marshall, R. M. Rao, et R. J. Portier, « Pecan shell-based granular activated carbon for treatment of chemical oxygen demand ( COD ) in municipal wastewater », vol. 94, p. 129-135, 2004, doi: 10.1016/j.biortech.2003.12.009.
- [185] L. Paredes, J. M. Lema, F. Omil, et M. Carballa, « Science of the Total Environment Understanding the fate of organic micropollutants in sand and granular activated carbon bio filtration systems », *Science of the Total Environment, The*, vol. 551-552, p. 640-648, 2016, doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.02.008.
- [186] M. Henze, W. Gujer, T. Mino, et M. C. M. van Loosdrecht, « Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3 », *IWA Publishing*, p. 121, 1987, doi: 10.1007/s13398-014-0173-7.2.
- [187] V. Mahendraker et T. Viraraghavan, « Respirometry in environmental engineering », *Journal of Environmental Science and Health . Part A: Environmental Science and Engineering and Toxicology*, vol. 30, n° 4, p. 713-734, mai 1995, doi: 10.1080/10934529509376229.
- [188] A. Ordaz, C. S. Oliveira, G. Quijano, E. C. Ferreira, M. Alves, et F. Thalasso, « Kinetic and stoichiometric characterization of a fixed biofilm reactor by pulse respirometry », *Journal of Biotechnology*, vol. 157, n° 1, p. 173-179, 2012, doi: 10.1016/j.jbiotec.2011.10.015.

## Références

- [189] E. Avcioglu, Ö. Karahan-Gül, et D. Orhon, « Estimation of stoichiometric and kinetic coefficients of ASM3 under aerobic and anoxic conditions via respirometry », *Water Science and Technology*, vol. 48, p. 185- 194, 2001.
- [190] B. Petersen, K. Gernaey, et P. A. Vanrolleghem, « Anoxic activated sludge monitoring with combined nitrate and titrimetric measurements », *Wat.Sci.Tech*, vol. 45, n° 1980, p. 181- 190, 1998.
- [191] S. Sozen et D. Orhon, « The effect of nitrite correction on the evaluation of the rate of nitrate utilization under anoxic conditions », *Chem Technol Biotechnol*, vol. 800, n° January 1998, p. 790- 800, 1999.
- [192] Derin. Orhon, F. Grmirli. Babuna, et O. Karahan, *Industrial Wasterwater Treatment by Activated Sludge*. 2009.
- [193] W. Gujer, M. Henze, et T. Mino, « Activated sludge model No. 3 », *Waf. Sci. Tech*, vol. 39, p. 183-193., 1999.
- [194] Mark. C. M. Van Loosdrecht et M. Henze, « Maintenance, endogenous respiration, lysis, decay and predation », *Waf. Sci. Tech*, vol. 39, n° 1, p. 107- 117, 1999.
- [195] K. Williamson et P. L. Mccarty, « All use subject to JSTOR Terms and Conditions A model bacterial of substrate films and utilization by », *Water Environment Federation.*, vol. 48, n° 1, p. 9- 24, 2015.
- [196] Y.-H. Lin, « Kinetics of nitrogen and carbon removal in a moving-fixed bed biofilm reactor », *Applied Mathematical Modelling*, vol. 32, n° 11, p. 2360- 2377, nov. 2008, doi: 10.1016/j.apm.2007.09.009.
- [197] Y.-H. Lin et Y.-J. Gu, « Denitrification Kinetics of Nitrate by a Heterotrophic Culture in Batch and Fixed-Biofilm Reactors », *Processes*, vol. 8, n° 5, p. 547, mai 2020, doi: 10.3390/pr8050547.
- [198] A. Rahman, R. Riffat, S. Okogi, I. Takacs, Al-OmariAhmed Al-Omari??., et S. Murthy, « Evaluation of Anoxic Heterotrophic Yield Using Various Analytical Methods », *ResarchGET*, n° October, 2014.
- [199] M. Sage, G. Daufin, et G. Ge, « Denitrification potential and rates of complex carbon source from dairy effluents in activated sludge system », *Water Research*, vol. 40, p. 2747-2755, 2006, doi: 10.1016/j.watres.2006.04.005.
- [200] J. B. Copp et P. L. Dold, « Compaindngsludgeproduction under aerobic and anoxic conditions », *Water Science and Technology*, vol. 38, n° 1, p. 285- 294, 1998, doi: 10.1016/S0273-1223(98)00413-2.

## Références

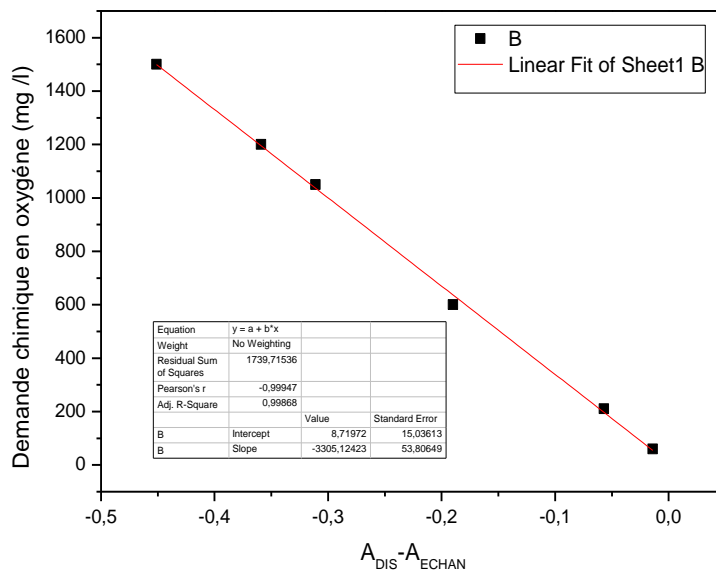
- [201] P. Dold *et al.*, « Denitrification with Carbon Addition — Kinetic Considerations », *Water environment research: a research publication of the Water Environment Federation*, p. 417- 427, 2008, doi: 10.2175/106143007X221085.
- [202] G. A. Ekama, P. L. Dold, et G. v. R. Marais, « Procedures for Determining Influent COD Fractions and the Maximum Specific Growth Rate of Heterotrophs in Activated Sludge Systems », *Water Science and Technology*, vol. 18, n° 6, p. 91-114, juin 1986, doi: 10.2166/wst.1986.0062.
- [203] E. Avcioglu, D. Orhon, et S. Sözen, « A new method for the assessment of heterotrophic endogenous respiration rate under aerobic and anoxic conditions », *Waf. Sci. Tech*, vol. 38, n° 8-9, p. 95-103, 1998.
- [204] A. Onnis-hayden et A. Z. Gu, « Comparisons of Organic Sources for Denitrification : Biodegradability , Denitrification Rates , Kinetic Constants and Practical Implication for Their Application in WWTPs », *Water Environment Federation.*, p. 253- 273, 2008.
- [205] A. Shrestha *et al.*, « Denitrification Stoichiometry and Kinetics of Moving Bed Biofilm Reactor », *proc water environ fed*, vol. 2009, n° 4, p. 153- 165, janv. 2009, doi: 10.2175/193864709793901338.
- [206] M. Peric *et al.*, « Phosphorous Requirements in a Post Denitrification MBBR at a Combined Limit of Technology Nitrogen and Phosphorous Plant », p. 15, 2009.
- [207] N. M. Lee et T. Welander, « The effect of different carbon sources on respiratory denitrification in biological wastewater treatment », *Journal of Fermentation and Bioengineering*, vol. 82, n° 3, p. 277- 285, 1996, doi: 10.1016/0922-338X(96)88820-9.
- [208] M. INês, S. M, et A. Abeliovich, « Wheat straw as substrate for water denitrification », *Water Research*, vol. 32, n° 12, p. 3790-3794, 1998, doi: 10.1016/S0043-1354(98)00136-5.
- [209] E. J. McAdam et S. J. Judd, « Denitrification from drinking water using a membrane bioreactor: Chemical and biochemical feasibility », *Water Research*, vol. 41, n° 18, p. 4242- 4250, oct. 2007, doi: 10.1016/j.watres.2007.05.059.
- [210] S. Fass, « Denitrification des eaux en presence d'acide gras volatils », Nancy1, 1994.
- [211] J. Shen, R. He, W. Han, X. Sun, J. Li, et L. Wang, « Biological denitrification of high-nitrate wastewater in a modified anoxic/oxic-membrane bioreactor (A/O-MBR) », *Journal of Hazardous Materials*, vol. 172, n° 2- 3, p. 595- 600, 2009, doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.07.045.

## Références

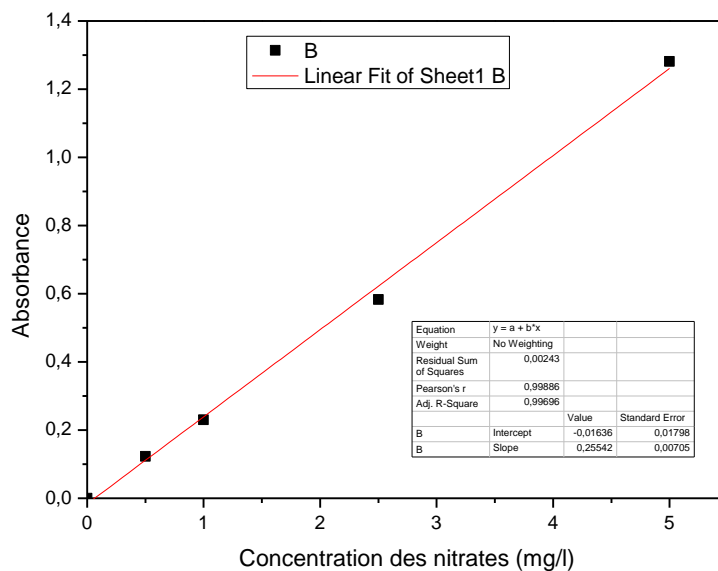
- [212] S. Cortez, P. Teixeira, R. Oliveira, et M. Mota, « Effect of operating parameters on denitrification in an anoxic rotating biological contactor », *Environmental Science and Technology*, n° December 2014, p. 37- 41, 2009, doi: 10.1080/09593330903156490.
- [213] D. J. Mohseni, AElliott, « Groundwater denitrification with alternative carbone source », *Wat.Sci.Tech*, vol. 38, n° 6, p. 237- 243, 1998.
- [214] B. Fan, J. H. Qu, P. J. Lei, et D. P. Li, « Studies on nitrate removal by a combined heterotrophy electrode biofilm reactor. », *Acta scientiae Circumstantiae*, vol. 21, p. 257- 262, 2001.
- [215] H. Constantin et M. Fick, « Influence of C-sources on the denitrification rate of a high-nitrate concentrated industrial wastewater », *Water Research*, vol. 31, n° 3, p. 583- 589, 1997, doi: 10.1016/S0043-1354(96)00268-0.
- [216] M. H.Geradi, *Nitrification and Denitrification in the Activated Sludge Process*. New York, 2002.
- [217] F. Dahab et Y. W. Lee, « Nitrate using removal biological from supplies denitrification water », *Water Environment Federation.*, vol. 60, n° 9, p. 1670- 1674, 2015.
- [218] A. Mohseni-Bandpi, D. J. Elliott, et A. Momeny-Mazdeh, « Denitrification of groundwater using acetic acid as a carbon source », *Water Science and Technology*, vol. 40, n° 2, p. 53-59, 1999, doi: 10.1016/S0273-1223(99)00430-8.
- [219] P. Dold, S. Murthy, I. Takacs, et C. Bye, « Batch test method for measuring methanol utilizer maximum specific growth rate », *proc water environ fed*, vol. 2005, n° 9, p. 5911-5932, janv. 2005, doi: 10.2175/193864705783814871.
- [220] Y. Mokhayeri, A. Nichols, S. Murthy, R. Riffat, P. Dold, et I. Takacs, « Examining the influence of substrates and temperature on maximum specific growth rate of denitrifiers », *Water Science and Technology*, vol. 54, n° 8, p. 155- 162, oct. 2006, doi: 10.2166/wst.2006.854.
- [221] D. H .Eikelboom, " Process control of activated sludge plants by microscopic investigation". *IWA publishing* . (2000).

## Annexe A: Les courbes d'étalonnages

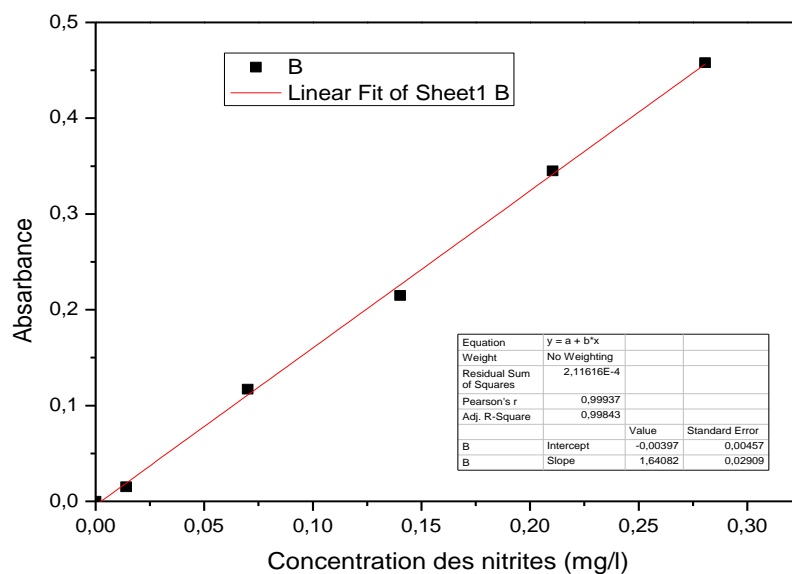
### 1. Courbe d'étalonnage de la demande chimique en oxygène (600 nm)



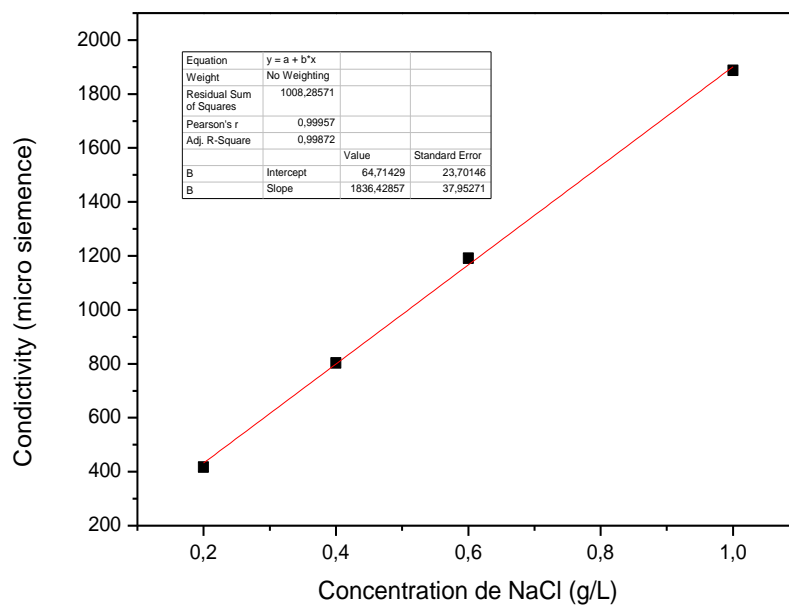
### 2. Courbe d'étalonnage des nitrates (415nm)



### 3. Courbe d'étalonnage des nitrites (435nm)



### 4. Courbe d'étalonnage de NaCl (Etude hydrodynamique)



## Annexe B : Exemple des calculs établis dans l'étude hydrodynamique

Conditions fixées dans l'expérimentation  $Q=0.15$  L/h, Agitation =100 tr/min, Quantité de support =165.2g

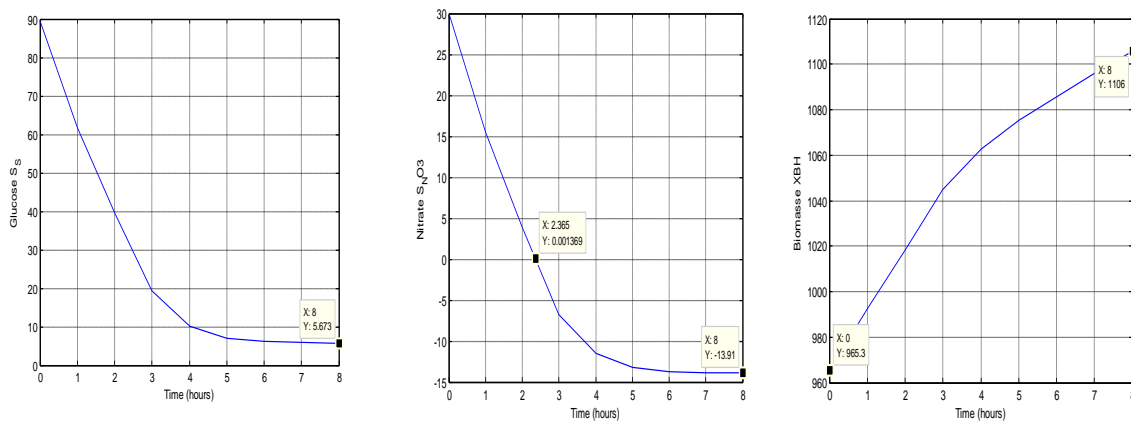
Temps (min)	Conductivity(ms)	Concentration (g/L)	C-C0 (g/L)	E(t)	$t^*E(t)$	( $t-\tau_c$ )
0	1317	0,68191402	4,32578E-11	1,52537E-13	0	-646,048
1	2040	1,075613092	0,393699072	0,001388269	0,001388269	-645,048
2	2110	1,113730568	0,431816548	0,001522679	0,003045358	-644,048
3	2110	1,113730568	0,431816548	0,001522679	0,004568037	-643,048
4	2110	1,113730568	0,431816548	0,001522679	0,006090716	-642,048
5	2110	1,113730568	0,431816548	0,001522679	0,007613395	-641,048
6	2100	1,108285215	0,426371195	0,001503478	0,009020865	-640,048
7	2100	1,108285215	0,426371195	0,001503478	0,010524343	-639,048
8	2100	1,108285215	0,426371195	0,001503478	0,01202782	-638,048
9	2100	1,108285215	0,426371195	0,001503478	0,013531298	-637,048
10	2100	1,108285215	0,426371195	0,001503478	0,015034775	-636,048
11	2100	1,108285215	0,426371195	0,001503478	0,016538253	-635,048
12	2100	1,108285215	0,426371195	0,001503478	0,01804173	-634,048
13	2100	1,108285215	0,426371195	0,001503478	0,019545208	-633,048
14	2090	1,102839861	0,420925841	0,001484276	0,020779864	-632,048
15	2090	1,102839861	0,420925841	0,001484276	0,022264141	-631,048
16	2090	1,102839861	0,420925841	0,001484276	0,023748417	-630,048
17	2090	1,102839861	0,420925841	0,001484276	0,025232693	-629,048
18	2090	1,102839861	0,420925841	0,001484276	0,026716969	-628,048
19	2090	1,102839861	0,420925841	0,001484276	0,028201245	-627,048
20	2090	1,102839861	0,420925841	0,001484276	0,029685521	-626,048
21	2080	1,097394507	0,415480487	0,001465075	0,030766565	-625,048
22	2080	1,097394507	0,415480487	0,001465075	0,03223164	-624,048
23	2080	1,097394507	0,415480487	0,001465075	0,033696714	-623,048
24	2080	1,097394507	0,415480487	0,001465075	0,035161789	-622,048
25	2080	1,097394507	0,415480487	0,001465075	0,036626863	-621,048
26	2080	1,097394507	0,415480487	0,001465075	0,038091938	-620,048
27	2070	1,091949153	0,410035133	0,001445873	0,039038572	-619,048
28	2070	1,091949153	0,410035133	0,001445873	0,040484445	-618,048
29	2070	1,091949153	0,410035133	0,001445873	0,041930318	-617,048
30	2070	1,091949153	0,410035133	0,001445873	0,043376191	-616,048
31	2070	1,091949153	0,410035133	0,001445873	0,044822064	-615,048
32	2070	1,091949153	0,410035133	0,001445873	0,046267937	-614,048
33	2060	1,0865038	0,40458978	0,001426672	0,047080161	-613,048
34	2060	1,0865038	0,40458978	0,001426672	0,048506832	-612,048
35	2060	1,0865038	0,40458978	0,001426672	0,049933504	-611,048



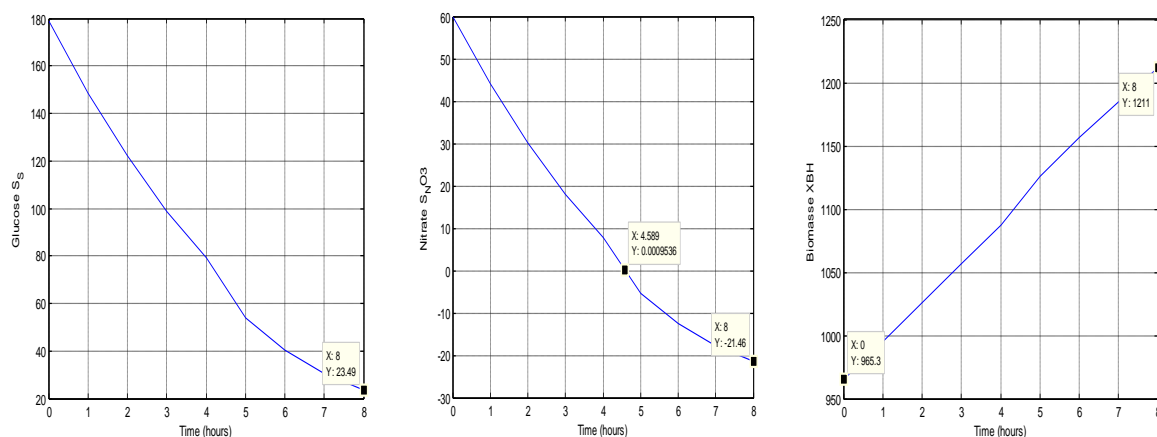
## Annexe C : Résultats de la modélisation

### 1. Effet des concentrations des nitrates

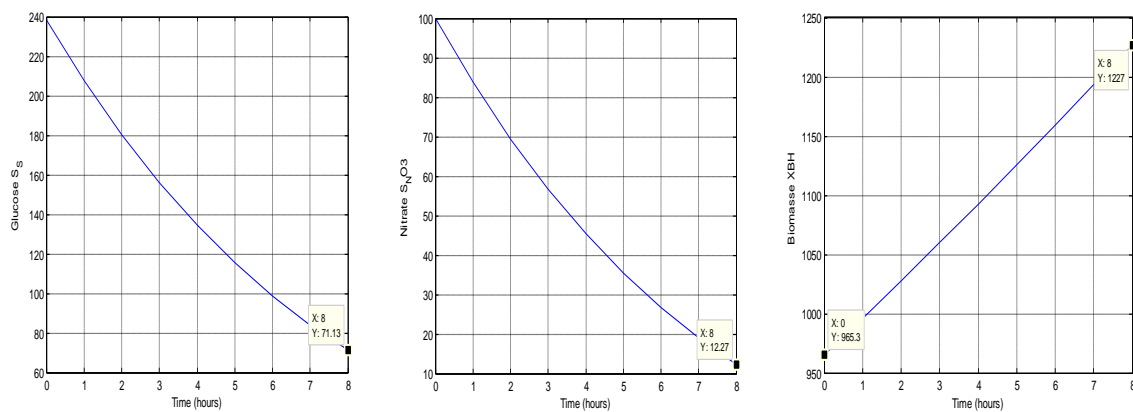
N-NO<sub>3</sub>=30 mg/L



N-NO<sub>3</sub>=60 mg/L

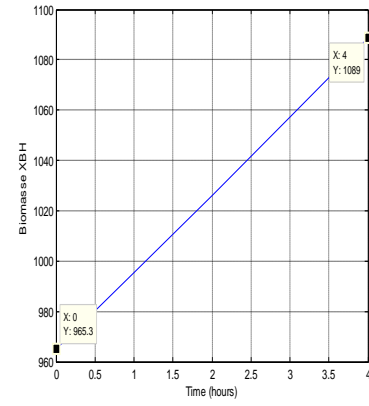
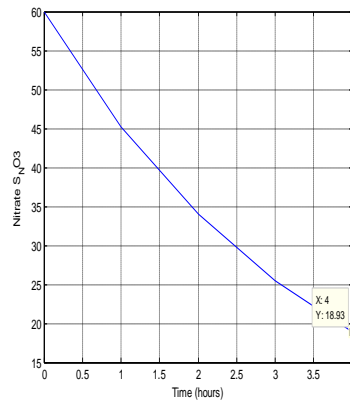
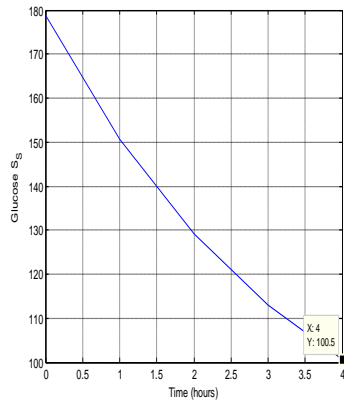


N-NO<sub>3</sub>=100 mg/L

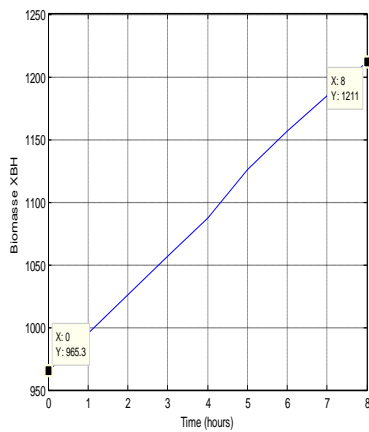
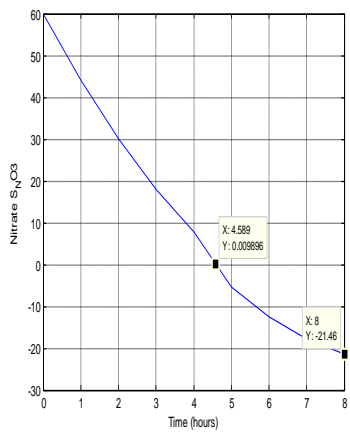
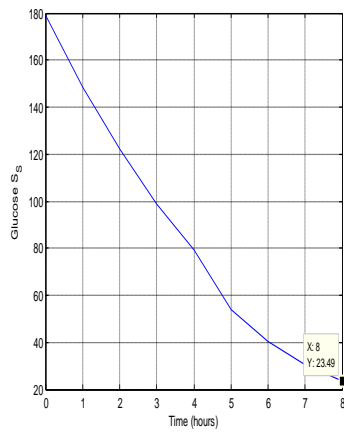


## 2. Effet du HRT

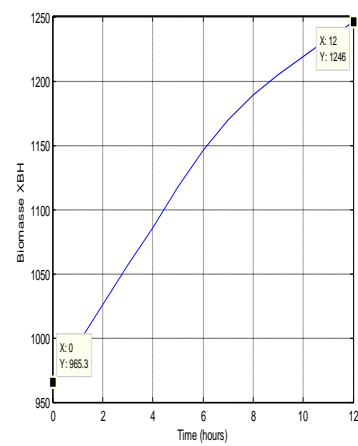
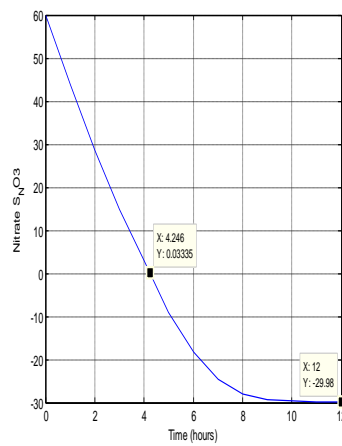
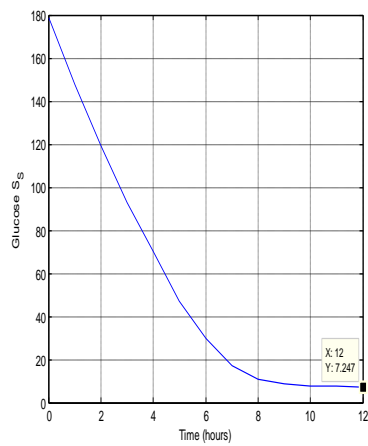
HRT=4h



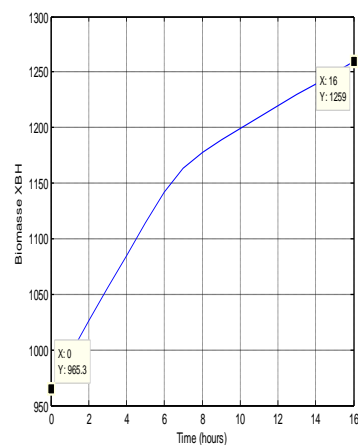
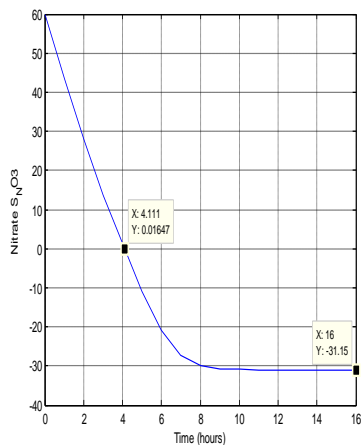
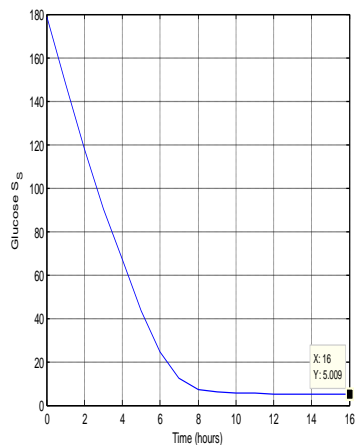
HRT=8h



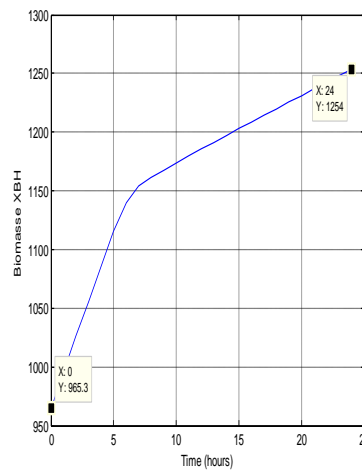
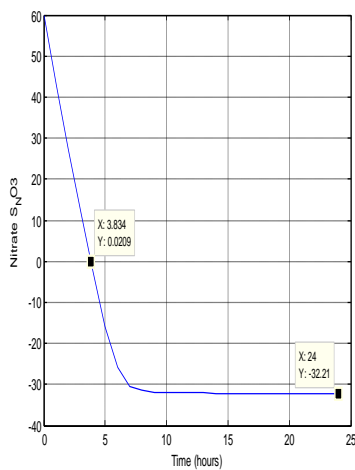
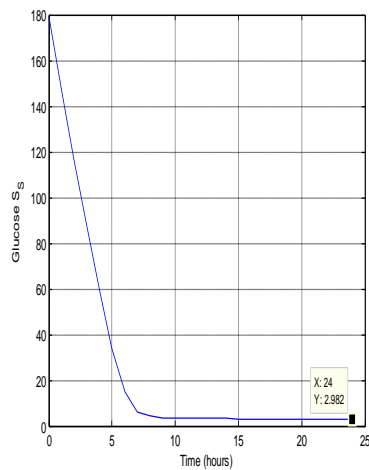
HRT=12h



HRT=16h

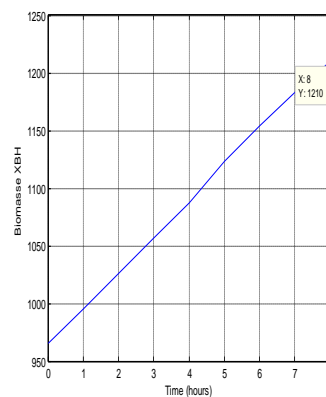
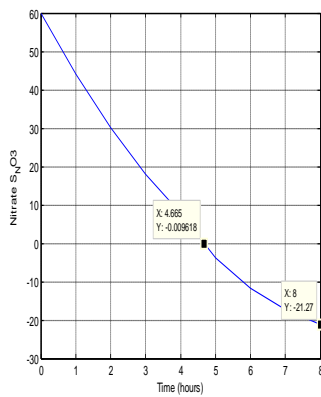
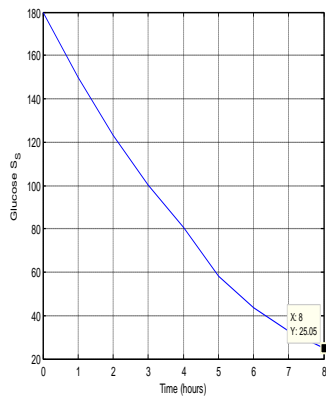


HRT=24h

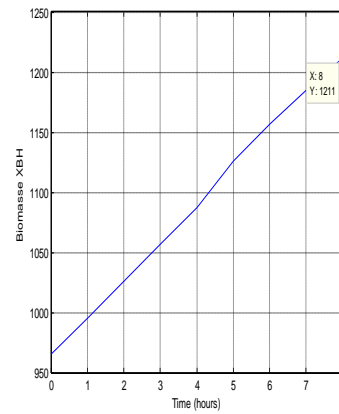
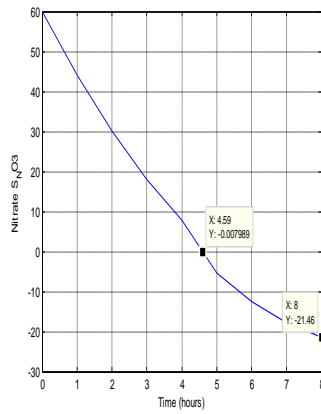
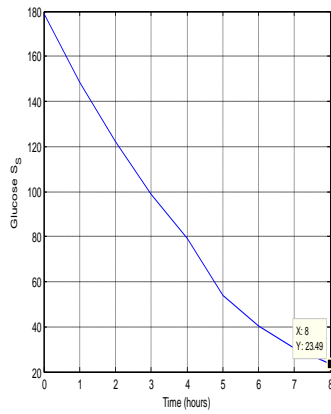


### 3. Effet du rapport DCO/N-NO<sub>3</sub>

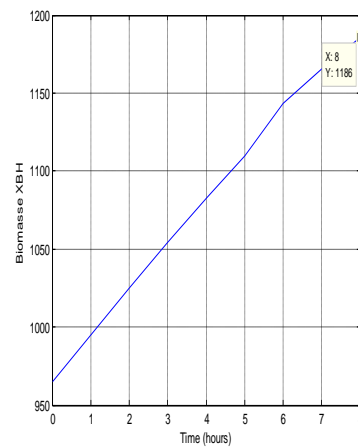
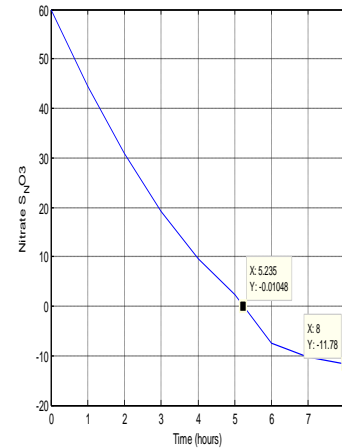
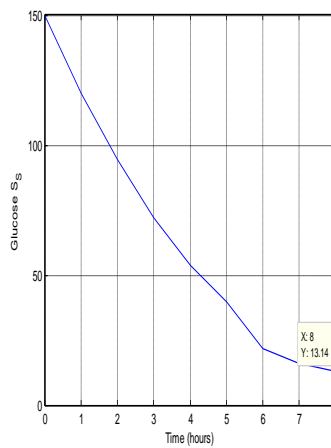
DCO/N-NO<sub>3</sub>=3



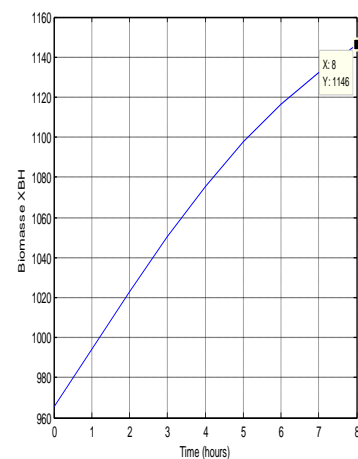
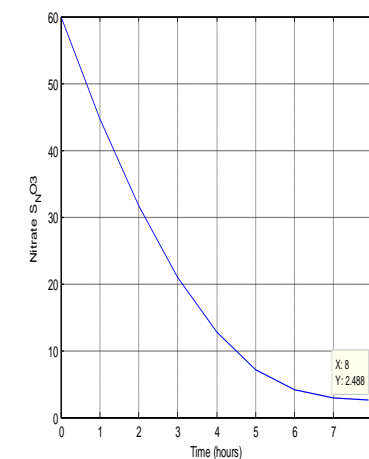
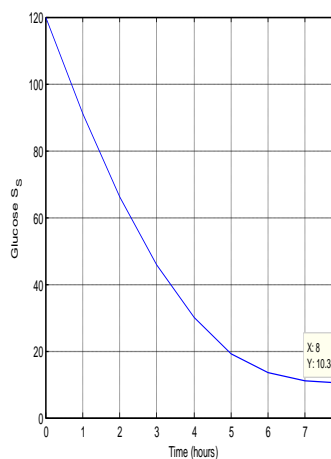
DCO/N-NO<sub>3</sub>=2.98



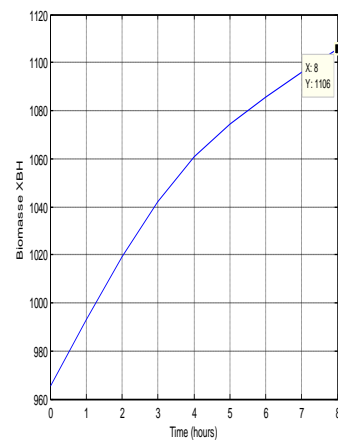
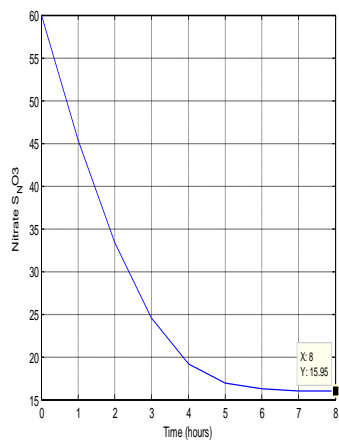
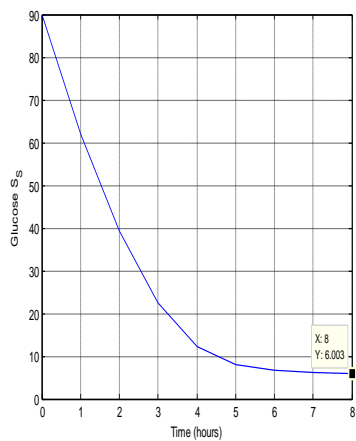
DCO/N-NO<sub>3</sub>=2.5



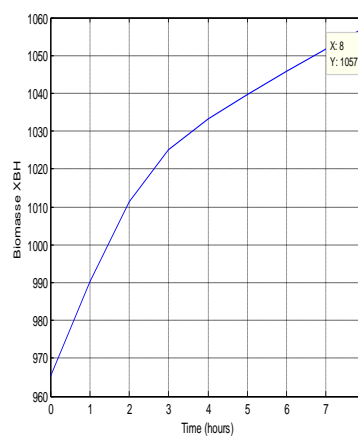
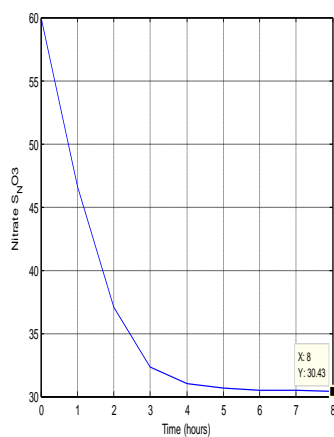
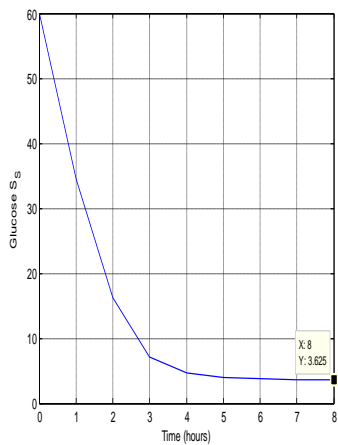
DCO/N-NO<sub>3</sub>=2



DCO/N-NO<sub>3</sub>=1.5



DCO/N-NO<sub>3</sub>=1



## Annexe D: Calcul de l'Ecart type

### 1. Ecart type entre les résultats expérimentaux et modélisés dans l'étude de l'effet de la concentration initial de N-NO<sub>3</sub>

Effet de N-NO <sub>3</sub>			
	30	60	100
<b>N-NO<sub>3</sub></b>			
En considérant le V <sub>T</sub>	3.88	3.79	8.29
En considérant le V <sub>effec</sub>	3.80	3.79	1.428
Réduction de l'Ecart type (%)	2.061	0	48.0
<b>DCO</b>			
En considérant le V <sub>T</sub>	39.865	30.47	20.66
En considérant le V <sub>effec</sub>	37.66	18.46	7.57
Réduction de l'Ecart type (%)	0.553	39	63

### 2. Ecart type entre les résultats expérimentaux et modélisés dans l'étude de l'effet du HRT

Effet de HRT					
	4	8	12	16	24
<b>N-NO<sub>3</sub></b>					
En considérant le V <sub>T</sub>	6.49	3.79	6.97	9.10	9.19
En considérant le V <sub>effec</sub>	4.92	3.79	6.97	9.10	9.19
Réduction de l'Ecart type (%)	24.2	0	0	0	0
<b>DCO</b>					
En considérant le V <sub>T</sub>	14.43	24.38	50.02	57.99	/
En considérant le V <sub>effec</sub>	17.40	12.37	48.08	55.01	/
Réduction de l'Ecart type (%)	-0.20	49	0.38	0.51	

### 3. Ecart type entre les résultats expérimentaux et modélisés dans l'étude de l'effet du rapport DCO/N-NO<sub>3</sub>

Effet de DCO/N-NO <sub>3</sub>						
	3	2.98	2.5	2	1.5	1
<b>N-NO<sub>3</sub></b>						
En considérant le V <sub>T</sub>	4.54	3.79	5.49	11.58	7.12	1.08
En considérant le V <sub>effec</sub>	4.54	3.79	5.49	9.95	5.56	0.65
Réduction de l'Ecart type (%)	0	0	0	14	21	39.81
<b>DCO</b>						
En considérant le V <sub>T</sub>	31.88	30.47	24.17	13.90	4.55	1.81
En considérant le V <sub>effec</sub>	20.28	18.46	7.24	10.79	1.84	2.48
Réduction de l'Ecart type (%)	36.38	39.41	70.04	22.37	59.56	27.01

## Annexe E : Production scientifique

### 1. Publication internationale

*International Journal of Chemical Reactor Engineering*. 2022. Experimental study and modeling of denitrification in an MBBR reactor. (Meriem Bouteraa, Rania Zamouche-Zerdazi, Mohamed Bahita and Mossaab Bencheikh-lehocine). Doi:10.1515/ijcre-2022-0126.

*Desalination and Water Treatment* .2021. Impact of clear waters parasites on the biological wastewater treatment. (Rania Zamouche-Zerdazi, Meriem Bouteraa, Souad Hallel, Mohamed El Amine Bouhamla, Mossaab Bencheikh Lehocine, Abdeslam Hassen Meniai). DOI: [10.5004/dwt.2021.26695](https://doi.org/10.5004/dwt.2021.26695)

*Journal of Water Process Engineering* . 2021. Role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dosage on methane production from tannery wastewater: experimental and kinetic study. (Ouafa Achouri , Antonio Panico , Mossaab Bencheikh-Lehocine , Kerroum Derbal, Dayana Arias , Floriana Iasimone, Roberta Padulano ,Meriem Bouteraa ,Amel Rebahi, Francesco Pirozzi) DOI :[10.1016/j.jwpe.2021.102313](https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102313)

*Énergie Procédia* ,2012, Application of respirometry in the assessment of chromium contaminated waste waters treatment . (RaniaZerdazi , Meriem Bouteraa, Amira Melizi Mossaab Bencheikh Lehocine, Abdeslam Hassen Meniai) .[Doi:10.1016/j.egypro.2012.05.055](https://doi.org/10.1016/j.egypro.2012.05.055)

*ÉnergieProcédia* ,2012. Use of Continuous Aeration Respirometry Method for the Prediction of Slightly Saline Waste Water Biodegradation. (Rania Zerdazi , Meriem Bouteraa, Amira Melizi, Mossaab Bencheikh Lehocine,, Abdeslam Hassen Meniai). [Doi:10.1016/j.egypro.2012.05.152](https://doi.org/10.1016/j.egypro.2012.05.152)

### 2. Publication nationale

*Algerian Journal of Environnemental Science and Technology*.2021.Investigation of hydrodynamic behavior of the moving bed biofilm reactor packed with kldnes K1. (Meriem Bouteraa, Rania Zamouche-Zerdazi, Mossaab Bencheikh Lehocine, Abdeslam Hassen Meniai)

*Algerian Journal of Engineering & Research*.2021. The best process from energy recovery of the Waste Kitchen university restaurants . (Mossaab Bencheikh Lehocine,Rania Zamouche-Zerdazi, Oufa Achouri , Meriem Bouteraa , Abdeslam Hassen Meniai)

*Algerian Journal of Environmental Science and Technology*. 2016. Biological denitrification of nitrate contaminated groundwater with moving bed biofilm reactor. (Meriem Bouteraa, Antonio.Panico, M. Bencheikh-Lehocine, K. Derbal, F.Pirozzi).

### **3. Conférences internationales**

- Le IV<sup>ème</sup> colloque international ‘Eau et Climat, Nord-Sud’, présentation d’une communication poster intitulée :« Effet du rapport S/X et du pH lors de l’enlèvement de nitrate dans les eaux usées ». Novembre 2015, Constantine, Algérie.
- The seventh international renewable energy congress ‘IREC 2016’, presentation d’une communication poster intitulée: “Effect of oxygen and temperature on biological denitrification”. March 2016. Hammamet- Tunisia.
- Third International Conference on Energy, Materials, Applied Energetics and Pollution. ICEMAEP 2016,” Biological Denitrification of Nitrate Contaminated Groundwater with Moving Bed Biofilm Reactor”. October 2016, Constantine, Algeria.
- La 4<sup>ème</sup> Conference International des Energies Renouvelable ‘CIER2016’, presentation d’une communication poster intitulée: “Influence of Velocity on Nitrate Removal of Contaminated Groundwater in a Denitrifying MBBR”. December 2016, Hammamet- Tunisia.
- The 10<sup>th</sup> international renewable energy congress ‘IREC 2019’, presentation d’une communication poster intitulée: “Determination of kinetic and stoichiometric parameters in anoxic moving bed Biofilm reactor by pulse respirometry”. March 2019. Sousse- Tunisia.
- International Conference on Sustainable Water Treatment Technologies and Environment, presentation d’une communication poster intitulée: “Denitrification in a Moving Bed Biofilm Reactor-Influence of Different Parameters”. October 2019, UDES, Bou Ismail Tipazza, Algeria.



- International Conference on waste treatment and valorization ICWTV2019, presentation d'une communication poster intitulée: "HYDRODYNAMIC BEHAVIOR STUDY OF MBBR", November 2019, Constantine, Algeria.
- The Hybrid 9<sup>th</sup> Jordan International Chemical Engineering Conference JICECO9, présentation d'une communication orale, Octobre 2021, Amman –Jordan.

#### 4. Conférences nationales

- Participation à La 1<sup>ère</sup> journée de l'hygiène et de la sécurité au sein des laboratoires (JHS), présentation d'une communication poster, Mai 2014, Université Salah Boubnider de Constantine 3, Algérie.
- Participation à La conférence nationale sur la science et la technologie de l'environnement « CNSTE », présentation d'une communication poster, 2015, université de Skikda, Algérie.
- Participation à La 3<sup>ème</sup> journée des jeunes chercheurs, présentation d'une communication poster, Mai 2016, Université Salah Boubnider de Constantine 3, Algérie.
- Participation à La 4<sup>ème</sup> journée des jeunes chercheurs, présentation d'une communication orales, Mai 2017, Université Salah Boubnider de Constantine 3, Algérie.
- Participation à l'atelier : Conception de logo, affiche, dessin, brochure, emballage ;  
Thème : affiche recyclage déchets de cuisine, Avril 2018 . Université Salah Boubnider  
de Constantine 3,Algérie.



Meriem Bouteraa\*, Rania Zamouche-Zerdazi, Mohamed Bahita and Mossaab Bencheikh-lehocine

# Experimental study and modeling of denitrification in an MBBR reactor

<https://doi.org/10.1515/ijcre-2022-0126>

Received June 17, 2022; accepted August 25, 2022;

published online September 13, 2022

**Abstract:** A denitrification mathematical model was used to describe the nitrates and organic carbons use by the denitrify biomass in the Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR). The model integrates the diffusive mass transfer mechanism as well as double substrates Monod kinetics. Preliminary experiments were realized in order to assess the operating conditions for growth of attached biomass, the determination of the optimal (COD/NO<sub>3</sub>-N) ratio, moreover the results of the previous study of the residence time distribution in this MBBR established the optimal hydrodynamic operating conditions with a dead volume of 22%. In this reactor, seeded with a mixed liquor from a purification station, kaldnesk1 were used as carriers. A total of 6 kinetic and stoichiometric constants under anoxic conditions were determined by batch-test pulsed respirometry; some parametric have been determined experimentally, such as  $Y_{HD}$ ,  $Y_{NO}$ ,  $\hat{\mu}_{HD}$  and  $K_S$ , and with their values 0.4 mgCOD (mgCOD)<sup>-1</sup>, 0.6 mg COD (mgCOD)<sup>-1</sup>, 0.864 d<sup>-1</sup> and 12.48 mg COD L<sup>-1</sup>, respectively. The other constants were determined using the model fitting (using MATLAB), such as  $K_{NO_3}$  and  $b_{HD}$  with its values, 0.25 mg NO<sub>3</sub>-N. L<sup>-1</sup> and 0.061 d<sup>-1</sup>, respectively. The model was used to simulated different operating condition and the results included the concentration profiles of NO<sub>3</sub>-N, COD and  $X_{BH}$ , which showed good agreement with the experimental ones, mainly by using the effective volume determined experimentally in the hydrodynamic study (RTD test) and which can reach 62% of the total volume under some operating. Additionally,

these findings demonstrate that moving bed reactor characterization may be accomplished using *in situ* pulsed respirometry (MBBR).

**Keywords:** denitrification; kinetic constants; mathematical model; pulse respirometry.

## 1 Introduction

Nitrate pollution from agricultural applications (including excessive application of inorganic nitrogen fertilizers and manure) have been considered as the main cause of water quality degradation in several countries. However, nitrate pollution of groundwater has several origins, including point pollution (e.g. wastewater effluent and intensive agriculture) and diffuse contaminants (e.g. fertilizers and atmospheric deposition). To avoid these dangerous effects on public health, strict quality standards have been set worldwide on nitrate in water for human consumption. According to limits recommended by the World Health Organization, the drinking water directive has set a maximum admissible concentration and guide level for NO<sub>3</sub>-N of 11.30 mg L<sup>-1</sup> (Bartram 2008).

To date, reported investigations on biological denitrification have focused on the suspended growth system (including pure and mixed culture) such as the activated sludge process (Rajakumar et al. 2008). There is still a lack of knowledge about the attached growth, such as Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR), Integrated Fixed Film Activated Sludge (IFAS), denitrifying filters and granular sludge, which have a large wastewater treatment market. Among biofilm processes, the moving bed biofilm reactor (MBBR) based process has been developed basing on the conventional activated sludge and the biofiltration process.

The MBBR is a Biofilm reactor, in which the biomass is grown on small supporting elements and is completely mixed, because of aeration under aerobic conditions and mechanical stirrer under anaerobic or anoxic conditions that induce a movement inside the reactor (Barwal and Chaudhary. 2014). The MBBR called biofilm reactors, are of interest for bioprocesses with low microbial growth rates.

\*Corresponding author: Meriem Bouteraa, Faculty of Process Engineering, Laboratory of Environmental Process Engineering (LIPE), University Salah Boubnider Constantine 3, University City Ali Mendjli 25000 Constantine, Algeria, E-mail: meriem\_bouteraa@yahoo.fr

Rania Zamouche-Zerdazi and Mossaab Bencheikh-lehocine, Faculty of Process Engineering, Laboratory of Environmental Process Engineering (LIPE), University Salah Boubnider Constantine 3, University City Ali Mendjli 25000, Constantine, Algeria

Mohamed Bahita, Faculty of Process Engineering, University Salah Boubnider Constantine 3, University City Ali Mendjli 25000 Constantine, Algeria

The use of support media increase their resistance to short term toxic loads, their ability to perform at low influent substrate concentrations (oligotrophic conditions), and their high volumetric biomass concentrations, allowing small reactor volumes (Ordaz et al. 2012). Moving-bed reactors are also much more complex to characterize, mainly because of the difficulty to obtain representative samples from the support compared to suspended biomass reactors (Ordaz et al. 2012). A remarkable process characteristic of biofilm processes compared to activated sludge processes is the fact that the performance of the former is often limited in diffusion, while the process kinetics for the latter are generally characterized by the concentrations of bulk liquid.

To study the process of denitrification and to estimate kinetic and stoichiometric parameters in biofilms, experimental work requires measuring the reduction of  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$  and  $\text{N}_2$  production in biofilms. This could be quite difficult given the complexity of the structure of the actual biofilm system. Several methods are widely applied in biofilm systems (Thompson 1932). The respirometer has been widely used for the characterization of the biological system from at least the last century (Ekama, Dold, and Marais 1986; Thompson 1932). More recently, respirometry combined with the injection of a substrate, as a pulse, has been applied in biological treatment systems for the determination of kinetic parameters. This technique consists of measuring the nitrate and oxygen concentration profile under anoxic and aerobic conditions (Kujawa and Klapwijk. 1999; Zamouche-Zerdazi, Bencheikh Lehocine, and Meniai 2014).

Recently, NUR (Nitrogen Uptake Rate) has been described by simple Monod kinetics model (ASM1). This

model was developed to describe the removal of organic carbon and nitrogen and has been successfully applied to reveal the mechanisms of nitrate reduction.

Therefore, the main objective of this work is based on the estimation of some kinetic and stoichiometric constants during denitrification in a biofilm system (MBBR reactor) using pulse respirometer technique, while considering the developed model ASM1 (Activated Sludge Modeling 1) in biofilms in order to determine the evolution of the abatement of carbonaceous load expressed in COD (Chemical Oxygen Demand), the nitrogenous load expressed in nitrate and nitrite as well as the proliferation of the denitrifying biomass (XBH). Pulse respirometry is a helpful technology that enables the quick measurement of a greater variety of parameters. The simulated results were compared with the experimental values obtained under different operating conditions of the MBBR, i.e. different initial  $\text{NO}_3\text{-N}$  concentration, COD/ $\text{NO}_3\text{-N}$  ratios and hydraulic residence times (HRT).

## 2 Materials and methods

### 2.1 Experimental set-up

The experimental bench scale MBBR system is schematically reproduced in Figure 1, a 2L glass cylinder vessel was used as biological reactor. The top of the reactor was closed and equipped with a one-way valve to ensure anoxic conditions in the system and avoid overpressure of  $\text{N}_2$  gas. The working volume was set equal to 1.8 L. The reactor was filled with kaldnes K1 as carriers up to have 50% filling percentage. Carriers are composed of high density polyethylene (HDPE), with its characterization, 9 mm in diameter, 8 mm in height and  $800 \text{ m}^2$  of surface area per  $\text{m}^3$ .

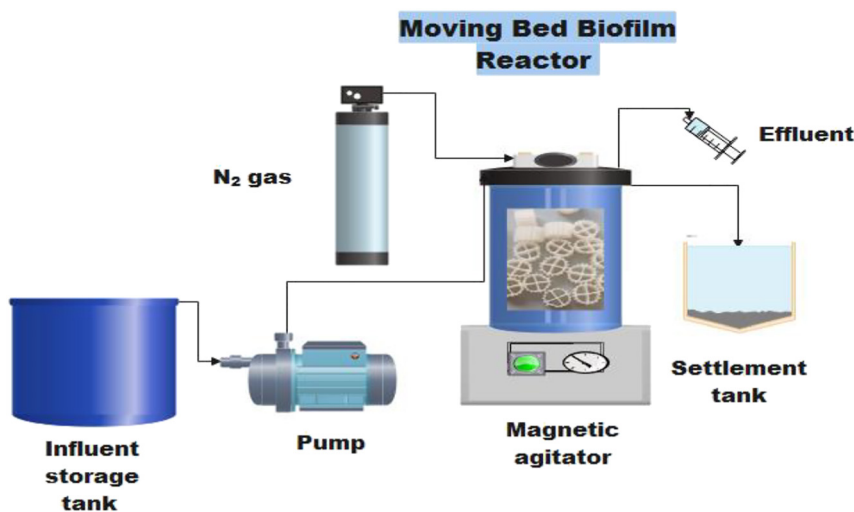


Figure 1: Schematic representation of the experimental setup for MBBR in anoxic condition.

## 2.2 Reactor operation

The moving bed reactor was inoculated with activated sludge collected from a local municipal wastewater treatment plant, Chelghoum Laid, Algeria. The reactor operated under continuous mode until significant biomass growth was observed. During the formation of the biofilm on the Kaldnes K1 supports, the moving bed reactor operated intermittently between continuous and discontinuous mode for 48 days with flow rate  $0.25 \text{ L h}^{-1}$  and HRT 8 h.

When the reactor was operated in continuous mode, it was alimented with 3L per day of the synthetic raw water containing acetate ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) as a carbon source and potassium nitrate ( $\text{KNO}_3$ ) as nitrogen source at (COD/ $\text{NO}_3^-$ -N) ratio of 2.98 as determined in the preliminary tests. Different nutrients were added to the synthetic water to insure bacterial growth from different stock solutions. These stock solutions were prepared with demineralized water to which were added  $150 \text{ mg L}^{-1}$  of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $325 \text{ mg L}^{-1}$  of  $\text{NaHCO}_3$  and 1% (v/v) of a solution composed of  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ( $0.20 \text{ mg L}^{-1}$ ), triplex ( $0.565 \text{ mg L}^{-1}$ ), 0.1% (v/v) of a trace nutrient solution containing  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ( $0.1 \text{ g L}^{-1}$ ),  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ( $0.03 \text{ g L}^{-1}$ ),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  ( $0.3 \text{ g L}^{-1}$ ),  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ( $0.2 \text{ g L}^{-1}$ ),  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ( $0.01 \text{ g L}^{-1}$ ),  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ( $0.02 \text{ g L}^{-1}$ ), and  $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ( $0.03 \text{ g L}^{-1}$ ) (Aslan and Cakici. 2007). The biological reactor was fed with influent using a peristaltic pump (Vario System ISMATEC SA). This period was alternated between the supply of synthetic raw water and pulse respirometer, to determine the kinetic and stoichiometric constants, the concentrations of nitrates and COD in every synthetic pulse injection were about 4 and  $25 \text{ mg L}^{-1}$  respectively.

Initially, the reactor was operated with an influent nitrate concentration of  $60 \text{ mg NO}_3\text{-N L}^{-1}$  as seen in the preliminary tests, but the concentrations of the pulsed substrates were ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ,  $37 \text{ mg L}^{-1}$  and COD,  $178.8 \text{ mg L}^{-1}$ ) (Ekama, Dold, and Marais 1986). It is necessary to mention that the operating time in pulse test was approximately 180 min.

## 2.3 Analytical procedures

During the course of continuous operation, temperature and pH were measured prior to sampling, samples of the MBBR effluent were analyzed for nitrate, nitrite, total suspended solid (TSS), volatile suspended solid (VSS) and COD. Samples were filtered through a  $0.45 \mu\text{m}$  micropores filter in order to remove interfering suspended particles. Samples analyses were performed in accordance to the Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (Rice et al. 2012), COD samples were digested in reactor of the type 'Model WTW thermos reactor CR 3000'.

## 2.4 The MBBR residence time distribution test (RTD)

The MBBR RTD test was performed to determine the hydrodynamic behavior of the MBBR using the pulse input method described by (Bouteraa et al. 2021), to study the effect of different operating parameters such as agitation speeds (100–300 rpm), filling medium (0–165.2 g) and finally different influent feed rates ( $0.1\text{--}2 \text{ L h}^{-1}$ ). All these investigations were conducted to determine the behavior of the reactor and define the optimal operating conditions for starting the MBBR.

The RTD test confirmed that the behavior of the designed MBBR was a perfectly stirred reactor, the most significant effect on the hydrodynamic behavior and mainly on the detected malfunction (the presence of dead zones) was the fraction of filling by the padding used, the hydraulic efficiency decreased while increasing the amount of support injected into the MBBR and created a dead volume varying between 10.5 and 38% (Bouteraa et al. 2021). This effect was reduced by increasing the feed rate which seemed to be discharged to these zones and reducing stagnant areas caused mainly by the amount of support injected into the MBBR.

The agitation speed did not have a significant effect especially for large fractions filling, a reduction in dead zones from 38 to 31% (Bouteraa et al. 2021), when increasing the stirring speed from 100 to 300 rpm, and the agitation should not be too intense, being able to disturb the growth of biofilm in the MBBR reactor.

It is important to underline that the presence of dead zones which reduce the reactor effective volume can have an influence on the performance of the MBBR. These fractions will be taken into consideration during the simulation of the evolution of the different parameters characterizing the performance of this biological treatment process.

A 22% of dead volume was recorded for the optimal bioreactor operating conditions, amount of media (165.2 g), stirring speed (100 rpm) and flow rate food ( $0.25 \text{ L h}^{-1}$ ) (Bouteraa et al. 2021).

## 2.5 Characteristics of the biofilm during respirometry tests

The initial adhesion of microorganisms was the critical process of biofilm formation, which was influenced by various conditions including the physicochemical properties of the bio carriers, environmental conditions, and sludge surface characteristics (Kobayashi, Hu, and Xu 2018).

Among these parameters, the temperature had an important effect on the growth of microorganisms; moreover the water temperature was then  $24\text{--}27 \text{ }^\circ\text{C}$ , at which, the biofilm on the support was very fine and did not grow, because the density of the biofilm increased with a decrease in temperature (Shrestha et al. 2009). Further Peric et al. (2009) also mentioned that the density of the biomass decreased as the temperature was rising. In addition, Housseiny and Borghei (2002) pointed out that frequent collisions between plastic elements caused erosion of the biomass from their surface, which led to limited growth of the biofilm.

In this study the developed biofilm was very thin in the MBBR reactor to remove nitrates in synthetic raw water. However, it was found that the attached biomass was more active than that in suspension even though its mass contribution was lower (more details in the next sections).

## 2.6 Respirometry method and parameters estimation

The pulse respirometer technique was used in this study to determine some kinetic and stoichiometric constants of denitrification in a MBBR reactor. The determination was well detailed in a previous study (Bouteraa et al. 2019).

In terms of mass balance, each batch period was similar to a respirometric pulse. This method was previously used by (Ordaz et al.

2012), for each cycle, after the injection of a known substrate concentration ( $S_S$  and  $S_{NO_3}$ ).

The NUR in the denitrification process is affected as well by the nitrate removal processes in anoxic systems. In this case, the variation of nitrate can be written as follows (Sözen and Orhon. 1999):

$$NUR = \frac{dS_{NO}}{dt} = -\frac{1-Y_{HD}}{2.86Y_{HD}}\hat{\mu}_{HD}\frac{S_S}{K_S+S_S}\frac{S_{NO}}{K_{NO}+S_{NO}}X_{BH} - \frac{1-f_{EX}}{2.86}b_{HD}X_{BH} \quad (1)$$

NUR had been described by simple Monod kinetics (ASM1). This model was developed to describe the elimination of organic carbon and nitrogen (Table 1). The choice of this model was based on the use of two easily biodegradable substrates (acetate sodium and potassium nitrate), its simplicity and its wide application in the field of respirometry test. A suitable description of these models can be found elsewhere (Gujer, Henze, and Mino 1999; Henze et al. 2015).

To estimate the kinetic and stoichiometric parameters, three different methods can be used, namely direct interpretation of the respirogram curve, the pulses of increasing substrate concentration or the adjustment of the model (Table 2).

The half-saturation constants for the carbon source ( $K_S$ ) and for the nitrates ( $K_{NO}$ ), the heterotrophic yield ( $Y_{HD}$  and  $Y_{NO}$ ) and the maximum specific growth ( $\hat{\mu}_{HD}$ ) are the important parameters in the evaluation of the Monod biokinetic constants which can be used in the ASM1 modeling.

$Y_{NO}$ ,  $Y_{HD}$  can be expressed as described by (Copp and Dold 1998; Orhon, Babuna, and Karahan 2009) and the maximum specific growth rate was estimated using the experimental data of the rapid kinetics and using the following Equation (3) (Ekama, Dold, and Marais 1986).

$$Y_{HD} = 1 - Y_{NO} = 1 - 2.86 \frac{\Delta[NO_3^-]}{\Delta[COD_s]} \quad (2)$$

$$\hat{\mu}_{HD} = \left[ \frac{\Delta NO_3 (V_{WW} + V_{ml})}{\Delta t f_{av} V_{ml} X_V} \right] \cdot \left[ \frac{2.86}{(1 - f_{cv} Y_{HD})} \right] \cdot Y_{HD} \quad (3)$$

$K_S$  was determined after the injection of pulses of increasing concentration, in a manner similar to the method previously reported. In the present work, the feeding strategy provided curves at several substrate concentrations (COD and  $NO_3$ ). So Specific Denitrification Rate (SDNR) ( $dS_{NO}/dt/X_{BH}$ ) was plotted against the actual substrate concentration (COD) according to Equation (4). The resulting graph showed a clear typical Monod shape which was used to estimate  $K_S$ . Moreover, reported experimental values for  $K_{NO}$  were in the range of 0.1–0.5 mg  $NO_3$ -N  $L^{-1}$  (Copp and Dold 1998; Henze et al. 1987), implying that the term ( $S_{NO}/(K_{NO} + S_{NO})$ ) could be equal to 1 since  $S_{NO}$  was very high in comparison to  $K_{NO}$ . Equation (1) can be expressed as follows:

$$\frac{dS_{NO}}{dt} = \frac{1-f_{cv}Y_{HD}}{2.86Y_{HD}}\hat{\mu}_{HD}\frac{S_S}{K_S+S_S}X_{BH} \quad (4)$$

**Table 1:** Process matrix for the denitrification developed model.

	Nitrate	Substrate	Biomass	
Component →	$S_{NO_3}$	$S_S$	$X_{BH}$	Kinetic rate expressions
Process ↓				
Anoxic growth	$-\frac{1-Y_{HD}}{2.86Y_{HD}}$	$-\frac{1}{Y_{HD}}$	1	$\hat{\mu}_{HD}\frac{S_S}{K_S+S_S}\frac{S_{NO}}{K_{NO}+S_{NO}}X_{BH}$
Anoxic decay			$-\frac{1-f_{EX}}{2.86}$	$b_{HD}X_{BH}$

**Table 2:** Parameters determination methods according to ASM1 model.

Parameter	Method
$Y_{HD}$	Respirograms direct interpretation
$Y_{NO}$	Respirograms direct interpretation
$\hat{\mu}_{HD}$	Respirograms direct interpretation
$K_S$	Increasing concentration pulses
$K_{NO_3}$	Fitting model
$b_{HD}$	Fitting model
$X_{BH}$	Fitting model

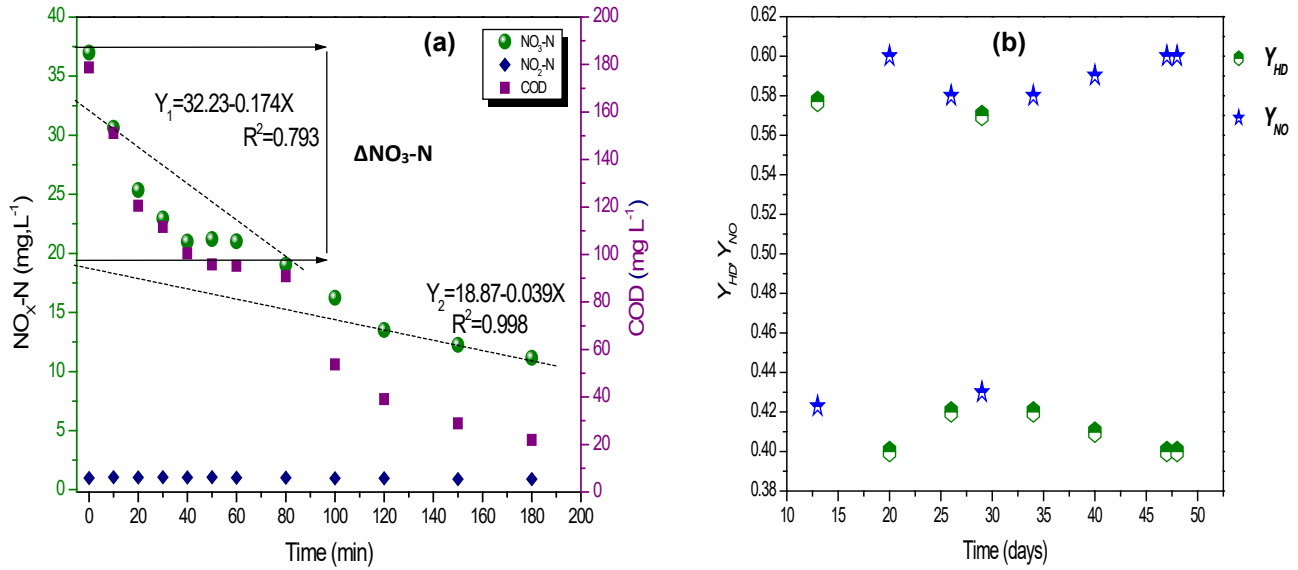
## 3 Results and discussion

### 3.1 Kinetic and stoichiometric constants estimation at anoxic condition

#### 3.1.1 $Y_{HD}$ and $Y_{NO}$ determination

Figure 2a shows an example of nitrates, nitrites and soluble COD variation, during pulse respirometry under anoxic conditions obtained on day 26, after the pulse substrates injection (sodium acetate and potassium nitrate) (178.8 mg COD  $L^{-1}$  and 37  $NO_3$ -N  $L^{-1}$ ) to determine the heterotrophic yield  $Y_{HD}$  and  $Y_{NO}$ . As can be seen in this figure, there are two parts, a rapid decrease at the start of the experiment can be observed, followed by a slow one. Ekama, Dold, and Marais (1986) attributed this behavior to the readily biodegradable substrate depletion. However, in this study, both substrates were soluble in nature and therefore were readily biodegradable.

Figure 2b shows the  $Y_{HD}$  and  $Y_{NO}$  variations observed during 48 experiments days (Ekama, Dold, and Marais 1986), Ordaz et al. (2012) attributed the  $Y_H$  variations to the unstable division between the fixed biomass and the suspended one. Moreover as  $Y_H$  becomes constant which means that a stable division is attained, according to (Ordaz et al. 2012). It can be seen from Figure 2b that a stationary phase was attained after 20th incubation days and maintained as such until the 26th day. However, at the 29th day a disturbance affected  $Y_{HD}$  but it returned quickly to the stationary level since the stirring speed was reduced from 200 to 100 rpm in order to avoid biomass detachment and reduce biomass loss through the effluent. In fact, Barwal and Chaudhary (2014) found that when stirring speed was high, biomass detachment was greater. Therefore, the sudden increase in  $Y_{HD}$  at the 29th incubation day could be due to a biomass detachment. The results show that after the 29th day  $Y_{HD}$  stabilized around 0.4–0.42 (mg COD/mg COD) for 19 consecutive treatment days, are



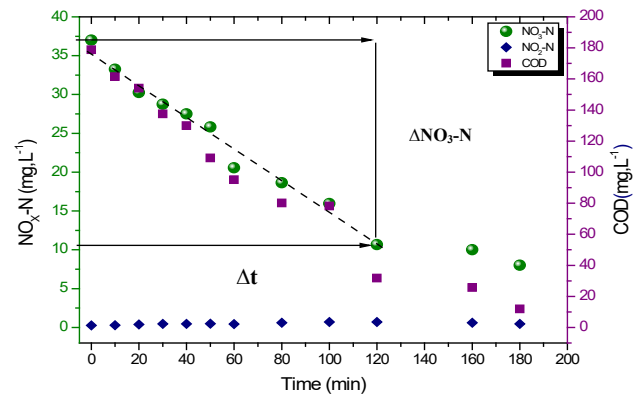
**Figure 2:** Temporal concentration evolution of (a) the nitrate, nitrite and COD, after the pulses injection, at the 26th day, (b) the heterotrophic yields  $Y_{\text{HD}}$  and  $Y_{\text{NO}}$  estimated for synthetic substrate obtained in each test.

within the range reported in the literature 0.4–0.6 (mg COD/mg COD) (Dold et al. 2005; Ekama, Dold, and Marais 1986; Gujer, Henze, and Mino 1999; Kujawa and Klapwijk 1999).

### 3.1.2 Maximum specific growth rate $\hat{\mu}_{\text{HD}}$ determination

Figure 3 shows the nitrate, nitrite and COD evolution at the 47th incubation day to estimate  $\hat{\mu}_{\text{HD}}$ . Ekama, Dold, and Marais (1986) used a low  $S_0/X_0$  (F/M) ratio to determine the maximum specific growth rate of heterotrophic biomass under anoxic conditions with municipal wastewater containing readily biodegradable COD. A rapid degradation followed by a slower one was acquired: an initial rapid rate of denitrification where the nitrate concentration initially present would decrease at a constant rapid rate reflecting the utilization rate of readily biodegradable COD, because its concentration was relatively high that the heterotrophs growth rate was at its maximum in accordance with Monod kinetic. Once the readily biodegradable COD from the influent was depleted, the denitrification rate reduced because COD substrate was of a particular form (Ekama, Dold, and Marais 1986). However, in the present study the decrease in the specific growth rate could be attributed to the COD concentration reduction since sodium acetate was a readily biodegradable substrate.

After several operation days, the stationary phase was reached and corresponded to a constant yield  $Y_{\text{HD}}$  (Bouteraa et al. 2019), using the pulsed respirometric protocol consisting in stopping the supply of the MBBR by leaving it



**Figure 3:** Evolutions of nitrate, nitrite and COD concentration at 47th incubation day.

while mixing, then adding 37 mg L<sup>-1</sup> of  $\text{NO}_3\text{-N}$  and 178.8 mg L<sup>-1</sup> of COD as sodium acetate. In this study, the  $S_0/X_0$  ratio was set at 0.1547 mg COD/mgVSS was a low ratio, therefore, the rate of maximum specific growth ( $\hat{\mu}_{\text{HD}}$ ), was estimated according to development (Ekama, Dold, and Marais 1986).

The results of Figure 3 were used to estimate the different Equation (3) parameters ( $\Delta\text{NO}_3 = 37 - 10.66 = 26.34$  mg L<sup>-1</sup>) ( $\Delta t = 0.083$  d), Active biomass ( $f_{\text{av}} \cdot X_v = 993.85$  mg VSS L<sup>-1</sup>) and ( $f_{\text{cv}} = 1.42$  (mgCOD/mgVSS)). The denitrification rate ( $dS_{\text{NO}}/dt/X_{\text{BH}}$ ) obtained in this study was 0.63 (mg  $\text{NO}_3\text{-N}$ /mg VSS/d) and the  $\hat{\mu}_{\text{HD}}$  value was 0.864 d<sup>-1</sup>.

Ekama, Dold, and Marais (1986) found a denitrification rate ( $dS_{\text{NO}}/dt/X_{\text{BH}}$ ) equal to 1.03 mg  $\text{NO}_3\text{-N}$ /mg VSS/d and  $\hat{\mu}_{\text{HD}}$  4 d<sup>-1</sup> with wastewater as carbon source.

### 3.1.3 Half saturation constants $K_S$ determination

Figure (4a) shows the results obtained on 48th incubation day, after four different initial amounts injection of substrate with COD concentrations (26.82, 55.13, 110.26 and 119.2 mg of COD L<sup>-1</sup>) and initial nitrate concentrations (9, 18.5, 37 and 40 mg of NO<sub>3</sub>-N L<sup>-1</sup>). Figure (4b) shows the SDNR versus COD plot, where a typical Monod curve can be seen, which allows the  $K_S$  value estimation.

Equation (4) shows the dependence of the SDNR ( $dS_{NO}/dt/X_{BH}$ ) values on COD substrate concentrations, hence, the carbon source half saturation constant ( $K_S$ ) can be determined through the kinetics of nitrates and COD variations in pulse respirometric experiments with different injected concentrations (Onnis-Hayden and Gu 2008). The observed SDNR values were found for different COD substrate concentrations added to the system. Furthermore, the half saturation constant ( $K_S$ ) was equal to  $S_S$  when SDNR was equated to  $\left[ \frac{1-f_{cv}Y_{HD}\hat{\mu}_{HD}}{2.86Y_{HD}} \right]$  on the SDNR Monod type curve as a function of  $S_S$ . Furthermore, Figure 3 shows that  $dNO_3\text{-N}/dt$  varied when NO<sub>3</sub>-N was equal to 10 mg L<sup>-1</sup> corresponding to an  $S_S$  value of 31 mg L<sup>-1</sup> implying that  $K_S$  was inferior than the value shown in this figure (Bouteraa et al. 2019).

The results of the evolution of both substrates (nitrates and COD) for each initial concentrations set are shown in Figure 4a. The initial SDNR was plotted against the initial COD substrate concentration (Figure 4b). A typical Monod

curve was obtained as can be seen in Figure 4b and the obtained  $K_S$  value is around 12.48 mg COD L<sup>-1</sup>.

Ordaz et al. (2012) report that  $K_S$  values in the literature for suspension cultures were well above the 0.5–3 mg L<sup>-1</sup> range. This could be due to the presence of the biofilm, as Gonzalez-Gil et al. (2001) reported that  $K_S$  for acetate increased almost 10 times when an anaerobic culture was growing in granular form, compared to suspended biomass.

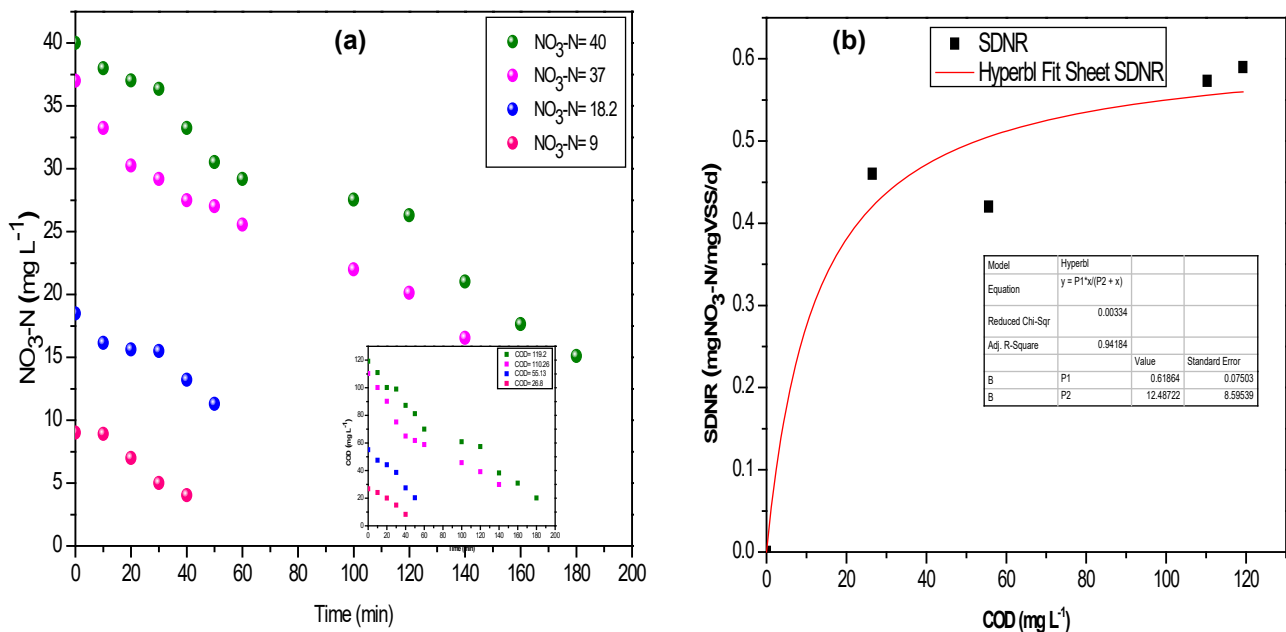
## 3.2 Model calibration and validation

This section will present the validation of the previously determined biokinetic constants, in order to model the process and to exploit it in the prediction of the MBBR performances in different operating conditions other than the operating conditions already explored experimentally.

### 3.2.1 Mass balance

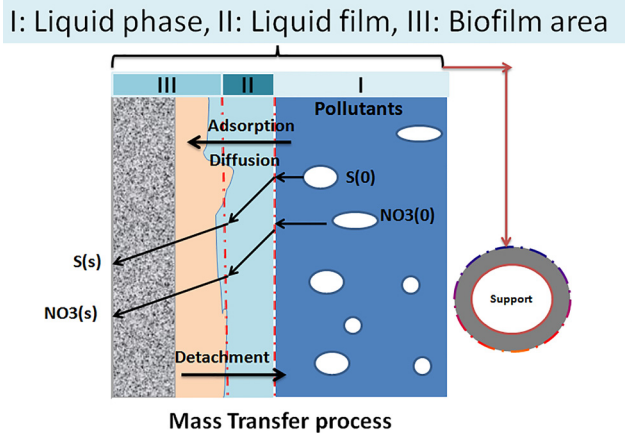
Usually in a moving fixed bed biofilm reactor it is assumed that the denitrifying biomass kinetics is subject to a single limitation of substrate and the denitrifying biomass growth is subject to a dual limitation of substrates, nitrate and carbon organic being considered as the primary substrates.

The schematic diagram representing the use of nitrates and organics by denitrifying biomass in a MBBR is presented in Figure 5 (Lin and Gu, 2020).



**Figure 4:** Evolution of (a) nitrate and COD observed after different initial concentrations of nitrate and COD injection at day 48 of the experiment, (b) Monod curve of SDNR at different initial COD.





**Figure 5:** Schematic diagrams of nitrate and COD utilizations by denitrifying biomass.

Based on diffusion (Fick's law) and biological reaction (Monod kinetics), the balances of the nitrate and the sodium acetate substrates in the reactor can be expressed by Equations (5)–(7)

Nitrogen substrate mass balance:

$$\frac{dS_{NO_3}}{dt} = \left( \frac{Q_0}{\alpha V \epsilon} \right) (S_{NO_3(0)} - S_{NO_3}) - k_{fNO_3} (S_{bNO_3} - S_{SNO_3}) \frac{A}{\alpha V \epsilon} - \frac{1 - Y_{HD}}{2.86 Y_{HD}} \mu_{HD} \frac{S_{NO_3} S_S}{(K_{NO} + S_{NO})(K_S + S_S)} X_{BH} \quad (5)$$

Carbone substrate mass balance:

$$\frac{dS_S}{dt} = \left( \frac{Q_0}{\alpha V \epsilon} \right) (S_0 - S_S) - k_{fDCO} (S_{b(S)} - S_S) \frac{A}{\alpha V \epsilon} - \frac{\mu_{HD} S_{NO_3} S_S}{Y_{HD} (K_{NO} + S_{NO})(K_S + S_S)} X_{BH} \quad (6)$$

Heterotrophic biomass mass balance:

$$\frac{dX_{BH}}{dt} = \left( \frac{\mu_{HD} S_{NO_3} S_S}{(K_{NO} + S_{NO})(K_S + S_S)} - b_{HD} \right) X_{BH} + \frac{A}{\alpha V \epsilon} b_s L_f X_f \quad (7)$$

### 3.2.2 Contribution of mass transfer coefficients and the biomass attached in the nitrate removal

Due to the diffusional resistance to the substrates transport, diffusion coefficients in the biofilm are lower than in the liquid phase, due to which is posed by bacteria and their extracellular materials. Therefore the diffusion coefficient in biofilm was obtained by multiplying the diffusion

coefficient in the bulk liquid phase by a factor of 0.8 to allow for additional diffusional resistance in the biofilm (Lin and Gu 2020). Calculated values of the biofilm diffusion coefficients ( $D_f$ ) for nitrate and acetate were 1.3 and 1.051  $\text{cm}^2/\text{day}$ , respectively.

The film transfer coefficient ( $k_f$ ) was computed from the empirical formula for the packed-bed reactor (Lin and Gu 2020). The transfer coefficient of the liquid film ( $k_f$ ) became high or low, when the coefficient was high meaning that liquid is of minor important, contrary for low coefficient (Lin and Gu. 2020).

$$k_f = 1.17 v_s (Re)^{-0.42} (Sc)^{-0.67} \quad (8)$$

Where  $v_s$  is the superficial flow velocity (cm/d) through the reactor,  $Re = d_p v_s / \nu$  is the Reynolds number (dimensionless),  $Sc = \nu / D_w$  is the Schmidt number (dimensionless),  $d_p$  is the glass bead diameter (cm), and  $\nu$  is the water kinematic viscosity ( $\text{cm}^2 \text{d}^{-1}$ ). The computed values of the liquid-film transfer coefficients for nitrate and acetate were 3.02 and 2.60  $\text{cm d}^{-1}$ , respectively.

The biofilm specific shear-loss coefficient ( $b_s$ ) on the glass bead can be evaluated via the following empirical formula (Lin and Gu 2020):

$$b_s = 2.29 \times 10^{-6} \left[ \frac{v_s (1 - \epsilon)^3}{d_p \epsilon^3 a} \right] \quad (9)$$

Where  $\nu$  is the water kinematic viscosity ( $\text{cm}^2 \text{d}^{-1}$ ), and ( $a$ ) is the column bed specific surface area ( $\text{cm}^{-1}$ ). The computed value of  $b_s$  was equal to 2.83.10<sup>-8</sup>  $\text{d}^{-1}$ . From these results, it is noticed that  $k_f$  and  $b_s$  are very small compared to the literature (Lin and Gu 2020), therefore the molecular diffusion in the biofilm due to lower values can be removed.

For the biomass attached contribution to remove nitrates, the separation of the suspended and fixed biomass on the support was performed and each one placed in a reactor. Also the optimal denitrification conditions that were determined in both reactors (HRT = 8h, COD/NO<sub>3</sub>-N = 2.98, NO<sub>2</sub>-N less than 1 mg L<sup>-1</sup> and NO<sub>3</sub>-N = 60 mg L<sup>-1</sup>) were totally fixed.

All the analyses were investigated for the two reactors, the biomass concentration on the support was quantified by dry weight according to (McAdam and Judd 2007) method, the support was extracted from the reactor, (i) dried at 100 °C to constant weight (48 h); (ii) marked; (iii) weighted; and (iv) then placed in the reactor, to measure the biomass on suspension using the standard method.

The results of this experiment are indicated in Table 3. It is noted that the nitrate removal efficiency in the reactor with the support are better compared to the suspension,

**Table 3:** Substrate removal efficiency in a reactor with and without support.

	Reactor without Carrier			Reactor without suspension		
	Influent	Effluent	Removal rate (%)	Influent	Effluent	Removal rate (%)
NO <sub>3</sub> -N (mg L <sup>-1</sup> )	60	20.77	65.38	60	7.63	87.28
NO <sub>2</sub> -N (mg L <sup>-1</sup> )	0.3	0.211	29.66	0.40	0.0329	91.77
COD (mg L <sup>-1</sup> )	178.8	112.056	37.32	178.8	14	92.17
T °C			30			30.5
pH			7.50			7.70
Salinity (%)			0.6			0.6
TSS (g L <sup>-1</sup> )			2.95			–
Amount of biomass in the reactor (g)			5.9			0.944

0.944 g of the fixed biomass have reduced the nitrate, nitrite and COD concentration to 87.28, 91.77 and 92.17% respectively, but the suspension one can achieved 74.90, 32.31 and 40.49% of this reduction. The anoxic conditions were strictly observed in the developed biofilm rather than in the suspension. Eikelboom (2000) reported that under aerobic conditions the flocs with radii less than 0.4 mm were aerobic, up to their centers and for concentrations in dissolved oxygen equal to 2 mg. L<sup>-1</sup>, in the aeration tanks. However, for larger flocs, the centers were deprived of oxygen and consequently, a denitrification could take place. The thicker the biofilm the better efficiency was achieved.

In conclusion with a low biofilm (16%) developed on the support the activity was better compared to the one for the suspension. Due to the limited mass of the attached biomass and the molecular diffusion removal in the biofilm, it was assumed that the reactor was a fully mixed reactor representing suspended and attached biomass.

### 3.2.3 Parameter estimation and model validation

After reaching the steady state, a multitude of parameters were studied which influence the denitrification performance in the MBBR biological reactor (Pan et al. 2013a; Pan, Ni, and Yuan 2013b). Among these parameters were the nitrate concentration, the HRT and finally the COD/NO<sub>3</sub>-N ratio effects. The obtained results are shown in Figure 6.

The simulation will be carried out considering the total and the effective volumes and for this a value  $\alpha$  will be assigned in the model.

$\alpha$  was evaluated on the basis of the dead volume which was determined in the hydrodynamic study (RTD test) using sodium chloride as chemical tracer,  $\alpha$  was calculated

according to Equation (10), the  $\alpha$  values and the dead volume found are shown in Table 4.

$$\alpha = V_{Effec}/V_T \quad (10)$$

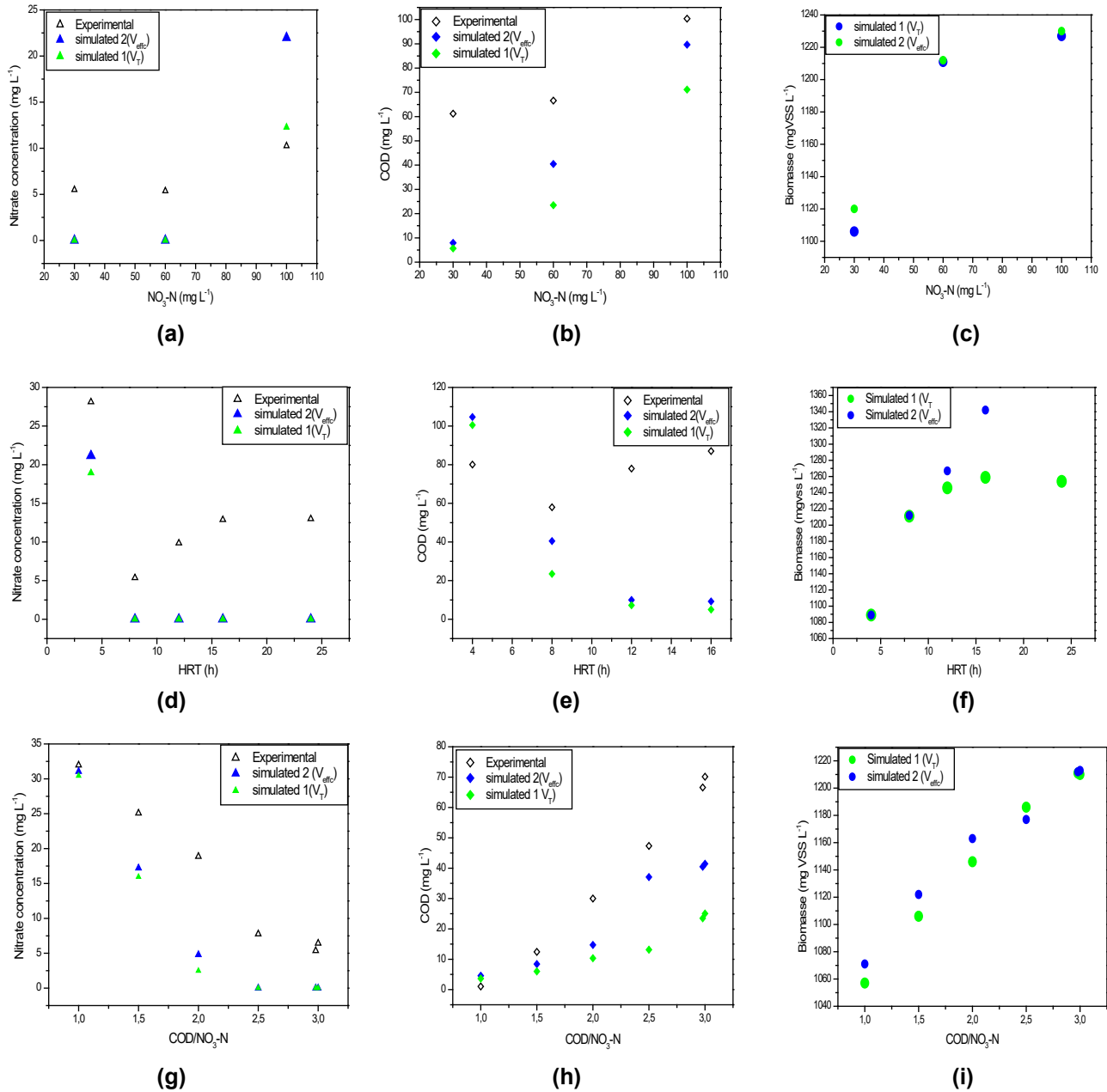
The new denitrification model includes 6 stoichiometric and kinetic parameters in total, as summarized in Table 2. Four of these parameters (i.e.  $Y_{HD}$ ,  $Y_{NO}$ ,  $\hat{\mu}_{HD}$ ,  $K_S$ ) are well established by experimental studies.

Then a sensitivity analysis of the other calibrated parameters and the fit between the model predictions and the experimental data, to the values variation, was carried out. The remaining two parameters, which are unique to the proposed model ( $K_{NO_3}$ ,  $b_{HD}$ ), were then calibrated.

Compared to the experimental part, in the modeling work and in order to solve the mathematical model, MATLAB language with a properly written program was adopted (code) and based on the numerical integration method Runge–Kutta or RK-4th order. The model equations were sampled every 1 h (step size = 1 h).

The results of the experimental and simulation by input of the total and effective volume are shown in Figure 6. It is noticed that the effective volume values approach a little bit to the experimental part values compared to the total volume values. The reel HRT was quite different from the estimated one.

This modeling allowed the estimation of the heterotrophic biomass concentration ( $X_{BH}$ ) in the different operation conditions, a magnitude difficult to access by experimental evaluation, considering the total and the effective volumes, a proliferation of the heterotrophic biomass that varied between 1120 and 1230 mg VSS. L<sup>-1</sup> by varying the initial concentration of nitrates from 30 and 100 mg NO<sub>3</sub>-N. L<sup>-1</sup>, and an increase of 1089-1342 mgVSS.L<sup>-1</sup> by varying the HRT of 4 and 24h. It rose from 1071 and 1210 mgVSS.L<sup>-1</sup> by varying the C/N ratio of 1 and 3, considering the effective volume.



**Figure 6:** Experimental and simulated reduction rates of  $\text{NO}_3^-$ , COD and biomass in tests with nitrate and acetate pulse feeding depending on the parameters (a, b and c) effect of  $\text{NO}_3\text{-N}$  (d, e and f) effect of HRT and (g, h and i) effect of  $\text{COD}/\text{NO}_3\text{-N}$ .

The simulated concentrations were quite close to the experimental ones mainly by varying the ratio  $\text{COD}/\text{NO}_3\text{-N}$  and mainly for those that were low (1–1.5).

It is important to note that the standard deviation between the experimental and simulated values was reduced in the majority of the simulated results using the effective volume instead of the total volume (Figure 6); this reduction was more significant and reached 48% and 63% for the nitrate and COD effluent concentrations,

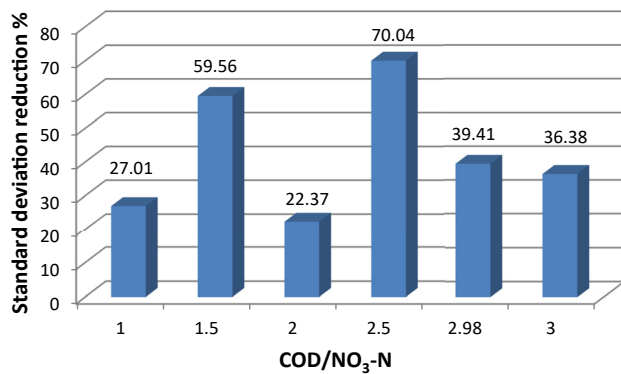
introducing  $100 \text{ mg L}^{-1}$  of  $\text{N-NO}_3$  initial influent concentration and setting an HRT of 08 h.

Similarly, the reduction in standard deviation was more significant and reached up to 70% for the effluent COD concentration at 2.5  $\text{COD}/\text{NO}_3\text{-N}$  ratio (Figure 7), note that this reduction is not constant and varies from one condition to another.

The calibration of the model allowed estimating  $K_{\text{NO}_3}$  and  $b_{\text{HD}}$ , at  $0.25 \text{ mg NO}_3\text{-N.L}^{-1}$  and  $0.061 \text{ d}^{-1}$ , respectively.

**Table 4:** Values of  $V_T$ ,  $V_{Dead}$ ,  $V_{Effective}$  and  $\alpha$  in different denitrification operating conditions.

	Condition	$V_T$ (L)	$V_{Dead}$ (%) / $V_{Dead}$ (L)	$V_{Effective}$ (L)	$\alpha$
NO <sub>3</sub> -N initial concentration effect (mg L <sup>-1</sup> )	30	2	22.5/0.45	1.55	0.775
	60	2	22.5/0.45	1.55	0.775
	100	2	22.5/0.45	1.55	0.775
HRT(h) effect	4	2	10.95/0.219	1.78	0.89
	8	2	22.5/0.45	1.55	0.775
	12	2	19/0.38	1.62	0.81
	16	2	38/0.76	1.24	0.62
	24	2	–	–	–
	–	–	–	–	–
COD/NO <sub>3</sub> -N ratio effect	3	2	22.5/0.45	1.55	0.775
	2.98	2	22.5/0.45	1.55	0.775
	2.5	2	22.5/0.45	1.55	0.775
	2	2	22.5/0.45	1.55	0.775
	1.5	2	22.5/0.45	1.55	0.775
	1	2	–	–	–

**Figure 7:** Percentage reduction in standard deviation at different COD/NO<sub>3</sub>-N for the effluent COD concentration.

All the stoichiometric and kinetic parameters determined experimentally and by calibration of the proposed model are grouped in Table 5. Several studies have shown that biofilm processes have a high nitrate removal capacity. The developed studies also allowed the estimation of a multitude of kinetic and stoichiometric constants for a variety of synthetic waste and raw water substrates. The experimental results are summarized in Table 5.

## 4 Conclusions

The Moving Bed process efficiency was investigated for the simultaneous nitrogen and carbon removal in the presence of carriers and in their absence and the removal efficiency reached 87 and 65% respectively. This indicates that

although the thickness of the biofilm in the support is very thin but its elimination capacity is very high.

To solve the proposed mathematical model, a moving bed biofilm reactor was successfully characterized using *in situ* pulsed respirometry. *In situ* pulsed respirometry combined with the ASM1 model allowed the determination of 6 stoichiometric and kinetic parameters, including  $Y_{HD}$ ,  $Y_{NO}$ ,  $\hat{\mu}_{HD}$ ,  $K_S$ ,  $K_{NO_3}$  and  $b_{HD}$ , which were estimated by experimental work and a simulation process. The experimental estimate is presented with sufficient explanation and interpretation. Once the model equations were established, MATLAB was used to solve them. Pulse respirometry is a helpful technology that enables the quick measurement of a greater variety of parameters.

The effect of considering the effective volume and diffusion in the solid cake on the modeling of the system has been widely discussed.

The mathematical model proposed was able to predict the performance of the pilot-scale moving-fixed bed biofilm reactor. The approaches of model and experiments developed in this study could be applied in the design of a full-scale moving-fixed bed treatment process to remove nitrogen and carbon simultaneously in the existing small-sized or medium-sized water and wastewater treatment plants where land availability is limited.

## Nomenclatures

ASM1	activated sludge modelling
NUR	nitrate uptake rate (mg N L <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
OUR	oxygen uptake rate (mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )

Table 5: Parametervalues used for the Denitrification Model compared with the literature.

Carbon source	Reactor type	COD <sub>0</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	COD/ N-NO <sub>3</sub>	S <sub>0</sub> /X <sub>0</sub>	Support presence	Method of estimating the bio kinetic constants	T°C	Y <sub>HD</sub> (mgCOD/ mgCOD)	Y <sub>NO</sub> (mgCOD/ mgCOD)	$\hat{\mu}_{HD}$ (d <sup>-1</sup> )	K <sub>S</sub> (mg COD.L <sup>-1</sup> )	K <sub>NO</sub> (mgNO <sub>3</sub> -N)	b <sub>HD</sub> (d <sup>-1</sup> )	k <sub>f</sub> (nitrates) (cm d <sup>-1</sup> )	b <sub>s</sub> (d <sup>-1</sup> )	Reference
Waste water	Batch reactor	550	14.86	0.2	-	Batch	nf	0.64	-	4	nf	-	nf	nf	nf	Ekama, Dold, and Marais (1986)
Syntheticwastewater + Methanol	Batch reactor	600	4.74	12	-	Batch	20	0.4	-	1.28	-	-	0.04	nf	nf	Dold et al. (2005)
Syntheticwastewater + Dairywaste	Batch reactor	nf	4.7	nf	-	Batch	20	nf	-	1.91	nf	-	nf	nf	nf	Lin and Gu (2020)
Syntheticwastewater + Sodium acetate	Batch reactor	430	nf	0.07	-	Batch	18	0.93	-	nf	nf	-	nf	nf	nf	Kujawa and Klapwijk (1999)
	Batch reactor	600	3.5	nf	-	Respirometric pulse	20	0.18 (mg biomass COD/mg NO <sub>3</sub> )	-	3.7	nf	-	nf	nf	nf	Mokhayeri et al. (2006)
	Batch reactor and MBBR	590	3.93	nf	+	Batch	30	0.0189 (mg biomass COD/mg NO <sub>3</sub> )	-	0.434	-	-	0.00503	349.41	2.71.10 <sup>-2</sup>	Lin and Gu (2020)
Syntheticraw water + Sodium acetate	MBBR (continuous and batch reactor feeding)	178.8	1-3	0.238	+	Respirometric pulse	23	0.4	0.6	0.864	12.48	0.25	0.061	3.02	2.83. 10 <sup>-8</sup>	This study

nf, not find.

$S_{NO}$	nitrate-nitrogen concentration ( $\text{mg N L}^{-1}$ )
$f_{EX}$	fraction of endogenous mass converted into inert products
$S_{NO}$	nitrate concentration ( $\text{mg N L}^{-1}$ )
$S_S$	readily biodegradable COD ( $\text{mg COD L}^{-1}$ )
$Y_H$	yield coefficient for heterotrophs ( $\text{mg COD (mg COD)}^{-1}$ )
$Y_{HD}$	anoxic yield coefficient for denitrifiers ( $\text{mg COD (mg COD)}^{-1}$ )
$\mu_{HD}$	maximum growth rate for denitrifiers ( $\text{day}^{-1}$ )
TSS	total suspended solids ( $\text{mg L}^{-1}$ )
$S_{NO3(0)}$	initial concentration of nitrates in suspension ( $\text{mg L}^{-1}$ )
$S_{NO3}$	nitrate concentration at the outlet ( $\text{mg L}^{-1}$ )
$S_{SNO3}$	concentration of nitrates at the liquid biofilm interface ( $\text{mg N L}^{-1}$ )
COD	chemical oxygen demand ( $\text{mg L}^{-1}$ )
$b_{HD}$	endogenous decay coefficient for denitrifiers ( $\text{day}^{-1}$ )
$K_{NO}$	half saturation coefficient for denitrification ( $\text{mg N L}^{-1}$ )
$K_S$	half saturation coefficient for carbon removal ( $\text{mg COD L}^{-1}$ )
$X_{HD}$	heterotrophic biomass concentration ( $\text{mg VSS L}^{-1}$ )
$X_V$	concentration of active biomass in the reactor ( $\text{mg VSS L}^{-1}$ )
$f_{CV}$	ratio of the sludge ( $\text{mg COD (mg VSS)}^{-1}$ )
$f_{av}$	the activated fraction of the VSS.
$V_{WW}$	volume of wastewater (L).
$V_{ml}$	volume of mixed liquor (at concentration $X_V$ ( $\text{mg VSS L}^{-1}$ ))
SDNR	specific denitrification rate: $dS_{NO}/dt/X_{BH}$ ( $\text{mg NO}_3\text{-N/mg VSS/d}$ )
VSS	volatile suspended solids ( $\text{mg L}^{-1}$ )
$S_{b(0)}$	initial concentration of COD in suspension ( $\text{mg COD L}^{-1}$ )
$S_{b(S)}$	COD concentration at the outlet ( $\text{mg COD L}^{-1}$ )
$S_S$	COD concentration at the liquid/biofilm interface ( $\text{mg COD L}^{-1}$ )
$k_{fNO3}$	nitrate liquid film transfer coefficient ( $\text{cm d}^{-1}$ )
$X_f$	denitrifying biomass density
$b_s$	shear loss coefficient of the biofilm of the denitrifying biomass ( $\text{d}^{-1}$ )
$D_f$	diffusion coefficient ( $\text{cm}^2/\text{day}$ )
$\nu$	kinematic viscosity of water ( $\text{cm}^2\text{d}^{-1}$ )
$b_s$	the specific shear-loss coefficient ( $\text{d}^{-1}$ )
$X_f$	density of nitrifying biomass
$V_{Effec}$	effective volume
$A$	surface (cm)
$\varepsilon$	reactor porosity (dimensionless)
$dp$	diameter of support (cm)
$\nu_s$	superficial flow velocity (cm/d)
Re	reynolds number (dimensionless)
Sc	the Schmidt number (dimensionless)
$L_f$	nitrifying biofilm thickness (L)
$k_{fDCO}$	coefficient of liquid film transfer of COD
$L_f$	denitrifying biofilm thickness

**Acknowledgment:** We would like to express our sincere thanks to the Engineers of the LIPE laboratory, Faculty of Process Engineering (Salah Boubnider Constantine 3 University, Algeria). We would like to acknowledge the contribution of the Environment Department of Constantine City, Algeria, for allowing the collection of sludge samples in the treatment plant. Chelghoum Laid, Algeria.

Special thanks to Professor A.H. Meniai for his scientific contribution and his precious help.

**Author contributions:** All the authors have accepted responsibility for the entire content of this submitted manuscript and approved submission.

**Research funding:** None declared.

**Conflict of interest statement:** The authors declare no conflicts of interest regarding this article.

## References

- Aslan, S., and H. Cakici. 2007. "Biological Denitrification of Drinking Water in a Slow Sand Filter." *Journal of Hazardous Materials* 148: 253–8.
- Bartram, J. 2008. *Guidelines for Drinking-Water Quality: Second Addendum*, 1, 3rd ed. Geneva: World Health Organization.
- Barwal, A., and R. Chaudhary. 2014. "To Study the Performance of Biocarriers in Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR) Technology and Kinetics of Biofilm for Retrofitting the Existing Aerobic Treatment Systems: A Review." *Reviews in Environmental Science And Bio/Technology* 13: 285–99.
- Bouteraa, M., R. Zamouche-Zerdazi, M. Bencheikh-Lehocine, and A.-H. Meniai. 2019. "Determination of Kinetic and Stoichiometric Parameters in Anoxic Moving Bed Biofilm Reactor by Pulse Respirometry," In *10th International Renewable Energy Congress (IREC)*, 1–6.
- Bouteraa, M., R. Zamouche-Zerdazi, M. Bencheikh-Lehocine, and A.-H. Meniai. 2021. "Investigation of Hydrodynamic Behavior of the Moving Bed Biofilm Reactor Packed with Kaldnes K." *ALJEST* 7 (3): 10.
- Copp, J. B., and P. L. Dold. 1998. "Comparing Sludge Production under Aerobic and Anoxic Conditions." *Water Science Technology* 38: 285–94.
- Dold, P., S. Murthy, I. Takacs, and C. Bye. 2005. "Batch Test Method for Measuring Methanol Utilizer Maximum Specific Growth Rate." *Proceedings of the Water Environment Federation* 9: 5911–32.
- Eikelboom, D. H. 2000. *Process Control of Activated Sludge Plants by Microscopic Investigation*. London: IWA publishing.
- Ekama, G. A., P. L. Dold, and G. R. Marais. 1986. "Procedures for Determining Influent COD Fractions And the Maximum Specific Growth Rate of Heterotrophs in Activated Sludge Systems." *Water Science and Technology* 18: 91–114.
- Gonzalez-Gil, G., L. Seghezzi, G. Lettinga, and R. Kleerebezem. 2001. "Kinetics and Mass-Transfer Phenomena in Anaerobic Granular Sludge." *Biotechnology and Bioengineering* 73: 125–34.
- Gujer, W., M. Henze, and T. Mino. 1999. "Activated Sludge Model No. 3." *Water Science Technology* 39: 183–93.
- Henze, M., C. P. L. Grady, J. R. Gujer, W. Marais, and T. Matsuo. 1987. *Activated Sludge Model No.1*. London: IAWPRC Scientific and Technical.
- Henze, M., W. Gujer, T. Mino, and M. van Loosedrecht. 2015. "Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3." *Water Intelligence Online* 5: 1–121.
- Housseiny, S. H., and S. M. Borghei. 2002. "Modelling of Organic Removal a Moving Bed Biofilm Reactor." *Scientia Iranica* 53–8.
- Kobayashi, T., Y. Hu, and K. Q. Xu. 2018. "Impact of Cationic Substances on Biofilm Formation from Sieved Fine Particles of

- Anaerobic Granular Sludge at High Salinity." *Bioresource Technology* 257: 69–75.
- Kujawa, K., and B. Klapwijk. 1999. "A Method to Estimate Denitrification Potential for Predenitrification Systems Using NUR Batch Test." *Water Research* 33: 2291–300.
- Lin, Y.-H., and Y. Gu. 2020. "Denitrification Kinetics of Nitrate by a Heterotrophic Culture in Batch and Fixed-Biofilm Reactors." *Processes* 8: 547.
- McAdam, E. J., and S. J. Judd. 2007. "Denitrification from Drinking Water Using a Membrane Bioreactor: Chemical And Biochemical Feasibility." *Water Research* 41: 4242–50.
- Mokhayeri, Y., A. Nichols, S. Murthy, R. Riffat, P. Dold, and I. Takacs. 2006. "Examining the Influence of Substrates and Temperature on Maximum Specific Growth Rate of Denitrifiers." *Water Science and Technology* 54: 155–62.
- Onnis-Hayden, A., and A. Gu. 2008. "Comparisons of Organic Sources for Denitrification: Biodegradability, Denitrification Rates, Kinetic Constants and Practical Implication for Their Application in WWTPs." *Proceedings of the Water Environment Federation* 17: 253–73,.
- Ordaz, A., C. S. Oliveira, G. Quijano, E. C. Ferreira, M. Alves, and F. Thalasso. 2012. "Kinetic and Stoichiometric Characterization of a Fixed Biofilm Reactor by Pulse Respirometry." *Journal of Biotechnology* 157: 173–9.
- Orhon, D., F. G. Babuna, and O. Karahan. 2009. *Industrial Wastewater Treatment by Activated Sludge*. London: IWA Pub.
- Pan, Y., B.-J. Ni, P. L. Bond, L. Ye, and Z. Yuan. 2013a. "Electron Competition Among Nitrogen Oxides Reduction during Methanol-Utilizing Denitrification in Wastewater Treatment." *Water Research* 47: 3273–81.
- Pan, Y., B.-J. Ni, and Z. Yuan. 2013b. "Modeling Electron Competition Among Nitrogen Oxides Reduction and N<sub>2</sub>O Accumulation in Denitrification." *Environmental Science and Technology* 47: 11083–091.
- Peric, M., D. Neupane, B. Stinson, E. Locke, S. Kharkar, N. Passarelli, M. Sultan, G. Shih, S. Murthy, W. Bailey, J. Carr, and R. D. Minassian. 2009. "Phosphorous Requirements in a Post Denitrification MBBR at a Combined Limit of Technology Nitrogen And Phosphorous Plant." *Water Environment Federation* 15: 237–51.
- Rajakumar, S., P. M. Ayyasamy, K. Shanthi, P. Thavamani, P. Velmurugan, Y. C. Song, and P. Lakshmanaperumalsamy. 2008. "Nitrate Removal Efficiency of Bacterial Consortium (Pseudomonas Sp. KW1 and Bacillus Sp. YW4) in Synthetic Nitrate-Rich Water." *Journal of Hazardous Materials* 157: 553–63.
- Rice, E. W., R. B. Baird, A. D. Eaton, and L. S. Clesceri. 2012. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 22nd éd. Washington DC: American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Environment Federation (WEF).
- Shrestha, A., R. Riffat, C. Bott, I. Takacs, B. Stinson, M. Peric, D. Neupane, and S. Murthy. 2009. "Denitrification Stoichiometry and Kinetics of Moving Bed Biofilm Reactor." *Proceedings of the Water Environment Federation* 4: 153–65.
- Sözen, S., and D. Orhon. 1999. "The Effect of Nitrite Correction on the Evaluation of the Rate of Nitrate Utilization under Anoxic Conditions." *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 74: 790–800.
- Thompson, W. R. 1932. "Studies in Respirometry :I. A Compines Gas Burette Interferometer Respirometer." *The Journal of General Physiology* 16: 5–22.
- Zamouche-Zerdazi, R., M. Bencheikh Lehocine, and A.-H. Meniai. 2014. "Influence of Endogenous OUR Determination on the KLa, Exogenous OUR, Total Oxygen Consumption and Heterotrophic Yield in a Completely Mixed Batch Reactor." *International Journal of Chemical Reactor Engineering* 12: 695–704.

---

**Supplementary Material:** The online version of this article offers supplementary material (<https://doi.org/10.1515/ijcre-2022-0126>).

## Biological denitrification of nitrate contaminated groundwater with moving bed biofilm reactor

M.Bouteraa<sup>\*1</sup>, A.Panico<sup>2</sup>, M.Bencheikh-Lehocine<sup>1</sup>, K.Derbal<sup>3</sup>, F.Pirozzi<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Process Engineering Faculty, Environmental Engineering Department, University of Constantine 3, Ali Mendjeli Nouvelle Ville, Constantine, Algeria,

<sup>2</sup> Telematic University Pegaso, Piazza Trieste e Trento 48, 80132, Naples, Italy;

<sup>3</sup> Process Engineering Department, National Polytechnic School of Constantine, Bp 75, A, Nouvelle Ville RP, Constantine; Algeria.

<sup>4</sup> Department of Civil, Architectural and Environmental Engineering, University of Naples Federico II, via Claudio 21, 80125, Naples, Italy.

\*Corresponding author: meriem\_bouteraa@yahoo.fr ; Tel.: +213 778645394

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received : 08/11/2016

Accepted : 20/06/2017

#### Key Words:

Nitrate;

Groundwater;

Biofilm reactor;

Nitrate;

Denitrification.

### ABSTRACT/RESUME

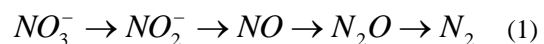
**Abstract:** In recent years, the massive and uncontrolled use of fertilizer in agriculture has increased the level of nitrate in groundwater up to make this strategic and valuable source of water useless or not convenient for drinking water purpose. Several processes have been tested to remove nitrate from groundwater and although efficient, they require high capital as well as management costs. Biological processes represent a valid and low cost alternative to remove nitrate from water. This paper, actually, presents the preliminary and encouraging results of the start-up and operating of a bench scale 1.8L Moving Bed Biofilm Reactor (MBBR) to remove biologically nitrate. Kaldnes K1 were used as biofilm carrier and the reactor was fed with synthetic water simulating a typical groundwater with different concentrations of nitrate, i.e.  $\text{NO}_3^-$ -N ranging from 30 to 60 mg/L. Acetate was added as carbon source.

### I. Introduction

Groundwater is globally the main source of drinking water and, in arid countries, even the only one. The quality of groundwater has been getting worse in the last decades because of high level of nitrate as consequence of the extensive use of chemical fertilizers in intensive agriculture systems as well as the discharge on soil of domestic and animal wastes. Elevated concentrations of nitrate in water can be harmful for human health: nitrate can actually cause methemoglobinemia in infants (Blue-Baby) and even cancer [1].

Conventional physical-chemical methods to remove nitrate from water include ion exchange, reverse osmosis and electro-dialysis. But all of these processes are expensive and the concentrated waste brines require further treatment or disposal [2] The use of biological denitrification to convert nitrates

to harmless nitrogen gas (Eq. (1)) [3] could offer an alternative treatment process for the remediation of groundwater contaminated by nitrate due to the low cost and high denitrification efficiency of the process.



Different biological systems can be used to perform the biological removal of nitrate from water; Moving Bed Biofilm Reactors (MBBRs) is one of them and one of the most promising. The MBBRs show the advantages of both, attached and suspended growth systems and are used to treat wastewater as well as raw waters for drinking purpose. This system is based on the use of carriers where the biomass attaches and grows [4]; MBBRs are operated similarly to the activated sludge



reactors as carriers are in constant movement in the biological tank [5].

The performance of MBBR<sub>s</sub> depends on the shape and amount of carriers used to fill the reactor: commonly the percentage of tank occupied with carriers varies from 50 and 70% in volume. Carriers are characterized by an extremely high specific surface area and this aspect allows to have a higher biomass concentration in a smaller reactor volume than in conventional suspended growth system, thus reducing the costs of the treatment. Anyway, not the whole surface area of carriers is useful for growing biomass, but at least a 70% as reported in the literature [6].

The performance of MBBR is the result of attachment, growth and detachment of biofilm, and all these processes are influenced by the environmental conditions: shape of carriers, thickness of biofilm, mixing intensity, pH, nutrient levels, ionic strength and temperature of water.

Several studies have been conducted on biological removal of nitrate from groundwater [7- 8- 9] using attached growth systems, but really few with MBBR, the aim of this study actually, has been to test the performance of this system in removing nitrate from synthetic water with characteristics similar to a real groundwater. Nitrate concentration was varied from 30 to 60 mg/L of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N and acetate was used as external source of carbon for the denitrifying heterotrophic bacteria.

**II. Materials and methods**

**II.1. MBBR Configuration**

The MBBR was set up in an air-tightly closed 2L plastic cylinder (fig.1.)The working volume was set equal to 1.8 L. The bioreactor was filled with kaldnes K1 as carriers with a filling percentage of 50 %. Carriers are made of high density polyethylene (HDPE) (fig.2.).

A magnetic stirrer system was placed on the bottom of the reactor to perform the mixing of the bulk, thus avoiding the settlement of carriers and promoting the contact between biomass and substrates.

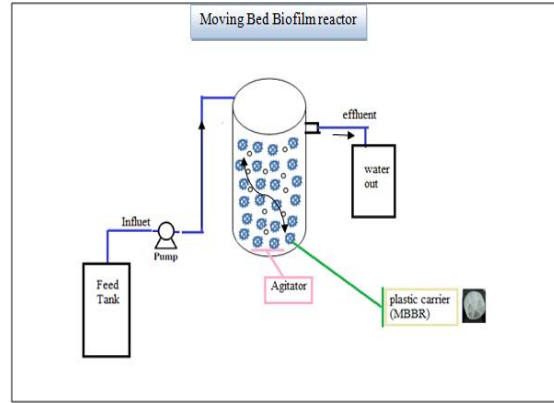


Figure 1. Schematic diagram of the experimental apparatus.



Figure 2. K1 carriers

**II.2. MBBR Operation**

The MBBR was inoculated with activated sludge from a municipal wastewater treatment plant located in Nola, Italy. The biomass concentration in sludge was 13.43 g/L as total solids (TS). The bioreactor during the start-up was operated for 40 days with a hydraulic retention time (HRT) of 24 h. The inlet flowrate and initial nitrate concentration were 1.25 ml/min and 30 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, respectively. When the bioreactor reached stationary condition, the content of nitrate in the influent was increased gradually up to the final concentration of 60 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N. In table 1 the operating conditions of the MBBR are listed.

Table 1. Operating conditions of the anoxic MBBR

Days of operation	COD/ NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N	HRT(h)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N(mg/L)
0-40	3	24	30
41-52	3	24	40
53-67	3	24	50
68-77	3	24	60

The bioreactor was fed with a peristaltic pump (WATSON MARLOW 520 Du) from a 10 L influent storage tank. Sludge was not recirculated.

### II.3. Synthetic Water Composition

The synthetic water was composed of  $\text{NO}_3^-$  as electron acceptor and sodium acetate as electron donor. A COD/  $\text{NO}_3^-$ -N ratio equal to 3 was set according to a previous study [10]. This value is lower than stoichiometric (i.e. 3.74 [11]) to take into account the occurrence of other biological reactions that consume COD. The most commonly carbon sources used in heterotrophic denitrification are methanol, ethanol and acetate. In this study was tested acetic acid because is more readily metabolized than methanol and more safety for human health than methanol and ethanol [12-13].

In detail, the synthetic water was prepared by adding various amounts of  $\text{KNO}_3$  and  $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$  (sodium acetate) to a demineralized water containing 150 mg/L of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 325 mg/L of  $\text{NaHCO}_3$  and 1% (v/v) of a solution composed of  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.20 mg/L), titriplex (0.565 mg/L), 0.1% (v/v) of a trace nutrient solution containing  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0.1g/L),  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (0.03g/L),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (0.3 g/L),  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.2g/L),  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.01g/L),  $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0.02g/L), and  $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0.03g/L) [14].

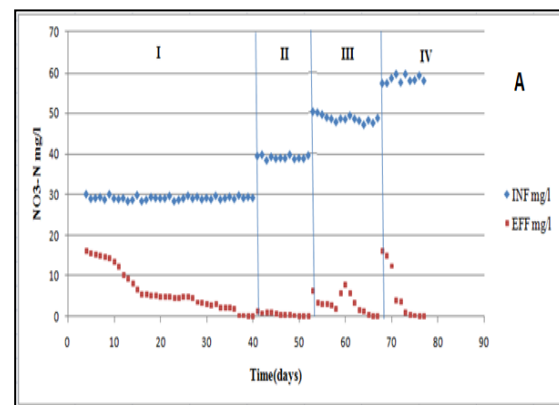
### II.4. Analytical Methods

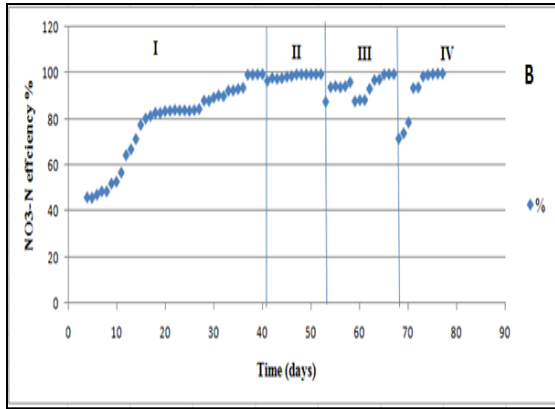
Samples were collected from the influent and effluent stream once a day and filtered through 0.45  $\mu\text{m}$  membranes. All the analyses were conducted according to the standard analytical methods for water and wastewater [15]. Nitrate concentrations were measured with 761 compact IC (Metrohm), COD through titration, T and pH with digital probes.

### III. Results and discussion

As reported in figure 3A and 3B, the start-up of the reactor lasted 40 days (phase I). Subsequently the  $\text{NO}_3^-$ -N concentration in the influent was increased by 10 mg/L, from 30 mg  $\text{NO}_3^-$ -N/L to 40 mg  $\text{NO}_3^-$ -N/L. MBBR showed a high resilience since a negligible reduction in the efficiency was observed only in the first day after the increase of the nitrate load. Then the efficiency rapidly reached again percentage next to 100% (phase II), proving that the reactor was supplied with an amount of biomass higher than that strictly necessary to degrade the input substrate during the start-up phase.

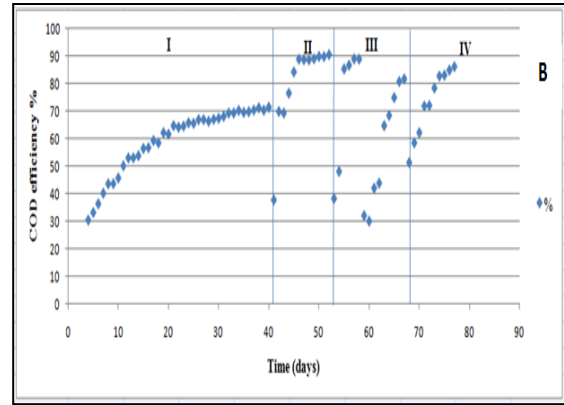
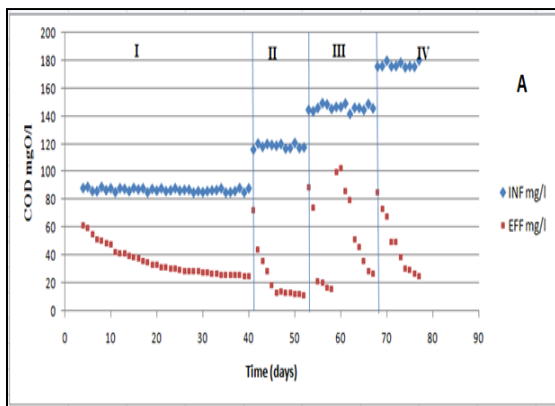
At the day 53 the  $\text{NO}_3^-$ -N concentration in the effluent was further increased setting its value equal to 50 mg  $\text{NO}_3^-$ -N/L (phase III). In this phase, although the increase of  $\text{NO}_3^-$ -N concentration was, as previously done, by 10 mg/L, the MBBR required a pretty longer, but anyway reasonably short, time to recover its efficiency. This longer time was necessary for the microorganisms to increase their number up to have a value adequate to remove all the  $\text{NO}_3^-$ -N contained in the influent. Phase III was also characterized by a drop of MBBR efficiency due to an intentionally caused failure in the air-tight sealing of the reactor with the aim of testing the influence of the oxygen on the anoxic MBBR. The occurrence of oxygen concentration higher than decimals actually inhibited the denitrifying bacteria and consequently reduced the efficiency of process. Once the concentration of oxygen was back to a negligible value the efficiency showed again values close to 100%. At the day 68 the  $\text{NO}_3^-$ -N concentration in the influent was further increased by 10 mg/L up to reach the final value of 60 mg  $\text{NO}_3^-$ -N/L (phase IV). In this phase the time required by the reactor to recover the efficiency was longer than in phase III showing the tendency that recovery times are proportional to the  $\text{NO}_3^-$ -N content in the influent





**Figure 3.** Effect of  $\text{NO}_3^-$ -N/L concentration in the effluent on the denitrification process: (A) numeric values; (B) percentage values. I = 30 mg $\text{NO}_3^-$ -N/L II = 40 mg $\text{NO}_3^-$ -N/L; III = 50 mg $\text{NO}_3^-$ -N/L; IV = 60 mg $\text{NO}_3^-$ -N/L

In figure 4A the concentrations of COD in the influent as well as in the effluent are reported during the 4 phases through which the anoxic MBBR was operated, whereas in figure 4B the COD removal efficiency is shown. As it can be easily noticed, comparing figure 3 with figure 4, a perfect correspondence between nitrate removal and COD consumption is found as proof of the occurrence of the denitrification process. Although the nitrate removal efficiency reached values of about 100%, COD removal efficiency was around 72% and this result ensured that the reactor was not carbon limited. The slight increase of residual COD in the system when the  $\text{NO}_3^-$ -N concentration was increased in the influent proves that the COD/  $\text{NO}_3^-$ -N ratio set equal to 3 is not the optimal value. It has to be searched among values lower than 3, because other reactions rather than denitrification involving heterotrophic microorganisms take place promoted by the low concentration of  $\text{O}_2$  present in the influent [16-17].



**Figure 4.** COD removal efficiency: (A) numeric values; (B) percentage values. I = 30 mg $\text{NO}_3^-$ -N/L II = 40 mg  $\text{NO}_3^-$ -N/L; III = 50 mg  $\text{NO}_3^-$ -N/L; IV = 60 mg  $\text{NO}_3^-$ -N/L

#### IV. Conclusion

This study proves the high efficiency as well as resilience of anoxic MBBR system used to biologically remove nitrate from groundwater. Kaldnes K1 showed to be really effective to grow the biomass, but other types of carriers are expected to be as performing as K1. The study was limited to 60 mg  $\text{NO}_3^-$ -N/L as nitrate load and 24 hours as HRT. Moreover, the short time required to MBBR to fully recover its efficiency when the operating conditions were changed and intensified leads to think that this system has wide margins to successfully treatment waters with a higher load of nitrate in a smaller volume and a shorter time. Furthermore, the residual COD concentration that represents the main drawback of the system can be reasonably reduced up to value close to zero by decreasing the COD/  $\text{NO}_3^-$ -N ratio and/or supplying the system with a activated carbon filter phase.

#### Acknowledgement

This research has been conducted in the framework of the International Project AL16M002 of Scientific and Technological Cooperation 2016-2018 promoted by the Ministries of Foreign Affair of Algeria and Italy.

The authors want to express their gratitude to Doctor GianpieroCesaro of the Municipal Wastewater Treatment Plant of Nola for his support.

#### V. References

1. Gomez, M.A.Gonzalez-Lopez, J. Hontoria-Garcia, E. Influence of carbon source on nitrate removal of contaminated groundwater in a denitrifying submerged filter. *Hazardous Materials Journal*, 80 (2000) 69–80.

2. Sarina, J.E. David, E.R. Drinking water denitrification using a membrane bioreactor. *Water Research*, 38 (2004) 3225–3232.
3. Koren, D.W. Gould, W.D. Bedard, P. Biological removal of ammonia and nitrate from simulated mine and mill effluents. *Hydrometallurgy*, 56 (2000) 127–144.
4. Ødegaard, H. Gisvold, B. Strickland, J. The influence of carrier size and shape in the moving bed biofilm process. *Water Sci Technol*, 41 (2000) 383–392.
5. Kermani, M. Bina, B. Movahedian, H. Amin, MM. Nikaiein, M. Application of moving bed biofilm process for biological organics and nutrients removal from municipal wastewater. *Am J Environ Sci*, 4(6) (2008) 675–682.
6. Bolton, J. Tummala, A. Kapadia, C. Dandamudi, M. Belovich, J. Procedure to quantify biofilm activity on carriers used in wastewater treatment systems. *J Environ Eng*, 132 (2006) 1422–1430.
7. Jeris, J.S. Owen, R.W. Hickey, R. Flood, F. Biological fluidized-bed treatment for BOD and nitrogen removal. *J. Water Pollut. Control Fed*, 49 (1977) 816–831.
8. Mulcahy, L.T. LaMotta, E.J. Mathematical model of the fluidized bed biofilm reactor. Report No 58-78-2.
9. Chen, S.D. Chen, C.Y. Shen, Y.C. Chiu, C.M. Cheng, H.J. Treatment of high-strength nitrate wastewater by biological methods operational characteristics study. *Water. Sci. Technol*, 34 (1996) 269–276.
10. Wang, Q. Feng, C. Zhao, Y. Hao, C. Denitrification of nitrate contaminated groundwater with a fiber-based biofilm reactor. *Bioresource Technology*, 100 (2009) 2223–2227.
11. Chiu, Y. Chung, M.S. Determination of optimal COD/nitrate ratio for biological denitrification. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 51 (2003) 43–49.
12. Dahab, M.F. Lee, Y.W. Nitrate removal from water supplies using biological denitrification. *J Water Poll Cont Fed*, 60 (1988) 1670–1674.
13. Rchna, Sharma, SK. ChanderSobti, R. Nitrate removal from ground water. *A review. E-J Chem* 9 (2012) 1667- 1675.
14. Sukru Aslan, S. Cakic, H. Biological denitrification of drinking water in a slow sand filter. *Hazardous Materials* 148 (2007) 253–258.
15. Standard methods for the examination of water and wastewater 22 nd Edition.
16. Gomez, M.A., Gonzalez-Lopez, J., Hontoria-Garcia, E. Influence of carbon source on nitrate removal of contaminated groundwater in a denitrifying submerged filter. *Hazardous Materials Journal* 80 (2000) 69–80.
17. Fan, B., Qu, J.H., Lei, P.J., Li, D.P. Studies on nitrate removal by a combined heterotrophy electrode biofilm reactor. *Acta scientiae Circumstantiae* 21 (2001) 257-262.

**Please cite this Article as:**

Bouteraa M., Panico A., Bencheikh-Lehocine M., Derbal K., Pirozzi F., *Biological denitrification of nitrate contaminated groundwater with moving bed biofilm reactor*, **Algerian J. Env. Sc. Technology**, 3:2 (2017) 33-37

## Investigation of hydrodynamic behavior of the moving bed biofilm reactor packed with Kaldnes K1

M.Bouteraa\*, R. Zamouche-Zerdazi<sup>1</sup>, M. Bencheikh Lehocine, A.H. Meniai

Laboratory of Environmental Process Engineering (LIPE), Faculty of Process Engineering, University Salah Boubnider Constantine 3, University City Ali Mendjli 25000 Constantine, Algeria.

\*Corresponding author: meriem\_bouteraa@yahoo.fr ; Tel.: +213 549684821

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received : 24/03/2020  
Accepted : 02/11/2020

#### Key Words:

hydrodynamic compartment;  
Moving bed biofilm reactor;  
KaldnesK1.

### ABSTRACT/RESUME

**Abstract:** The research study below aims to characterize the hydrodynamics of a Moving Bed Biofilm Reactor filled with Kaldnes K1. Firstly, find the type of reactor (stirrer or piston) and finally set the operating conditions for carrying out the biological denitrification in an MBBR reactor.

The hydrodynamics were determined by means of pulse tracer tests and by calculating distribution curves of the residence time at different stirring speeds (100 - 300 rpm), for different support infill (0 - 165.2 g) and at different influent feed rates (0.1 - 2 L.h<sup>-1</sup>).

The moving bed biofilm reactor (MBBR) showed reactor behavior, it is a perfectly stirred reactor, and the optimal operating conditions are for stirring speeds of 100 rpm, quantities of support of 165.2 g and a feed rate 0.816 L h<sup>-1</sup>.

## I. Introduction

In recent years special attention has been paid to biofilm systems [1] used in the biological treatment of different effluents and under different conditions. Biofilms attached to carrier materials were applied in moving bed biofilm reactors (MBBR) [2], the great advantage of this technology is the high biomass content leading to more cost-effective treatment [3]. The MBBR process requires an accentuated mechanical or hydrodynamic mixture, where the supports are circulated continuously to facilitate sufficient mass transport to the biofilm developing on the supports [4].

Resistance Time Distribution (RTD) techniques have long been recognized in the chemical industry as powerful tools for characterizing flow patterns and diagnosing malfunctions in complex flow equipment such as packed bed catalytic reactors [5]. The basic principle of the technique is to inject an inert tracer, such as a dye, a conductive solution or a radioactive compound, in the form of an "impulse" or a "step change" and determine the output concentration of the tracer material. The form of the "response signal" can be used to determine certain parameters such as the average residence time of the fluid in the

equipment, the presence of dead volumes and / or bypass flows, as well as the intensity of the effects of mixing along the radial and axial directions [5].

The hydraulic characteristics of mobile attached growth systems have a significant impact on system performance, supports of different sizes and shapes can influence flow paths and hydraulic speeds with an impact on mass transfer of oxygen and substrate [6] and the dynamics of biofilm, including growth, thickness and detachment, [7]. [8] reported some uncertainties in hydrodynamics at the reactor level regarding the interaction between the biofilm and the bulk phase and reactor design. Thus, the effect of the structure and morphology of the biofilm on the mass transport processes in the MBBR must be well deciphered because the presence and structure of the biofilms influence the local flow regime and the transport of substrates in the biofilm. [9]

Few studies have examined the impact of supports on hydraulic flow models and mixing conditions, the majority of these studies have helped to identify hydraulic limitations, such as inactive volume (stagnant flow), short- hydraulic circuits and preferred flow paths [10]. The dead volume or

stagnant areas reduce the actual volume available for chemical and biochemical reactions, reducing processing capacity [11].

The objectives of this study set the reactor behavior and the operating conditions, the effect of the variation of three main operating parameters to quote the speed of agitation, the flow rate of the influent and the fraction of filling by the support used, on the hydrodynamic behavior of the MBBR reactor

## II. Materials and methods

### II.1. Experimental setup

The hydrodynamic study was carried out in an MBBR reactor, designed for the biological denitrification of water, it is mainly composed of a reactor with a capacity of 2.25 liters, filled with quantities of the carrier medium (Kaldnes 1) varying between 0 and 165.2g and having a percentage from 0 to 52.5% of the total effective volume of the reactor. The supports used (Kaldnes 1) are made of polyethylene with a density of 0.95 and an effective specific surface of  $800 \text{ m}^2 / \text{m}^3$ . The support has a cylindrical shape, having a height of 8 mm and a diameter of 9 mm [12,13].

The influent is supplied by a peristaltic pump (brand), varying the flow rate between  $0.1$  and  $2 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ , magnetic stirring varying between 100 and 300 rpm allowing contact between the tracer and the water, hydrodynamic studies were performed in the absence and presence of a variant amount of support (Figure .01).

01).

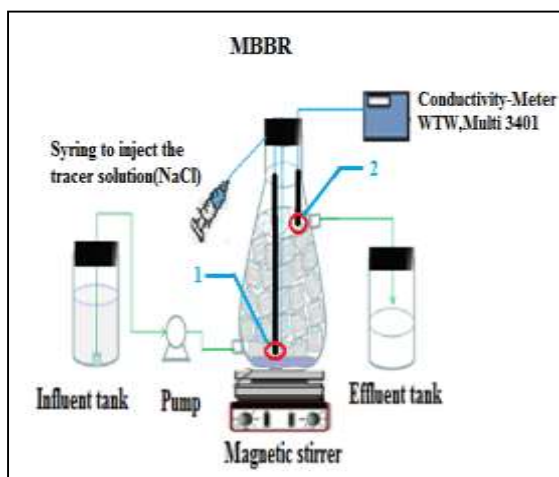


Figure 1. Schematic diagram of the MBBR reactor considered in the RTD measurements.

### II.2. Analytical methods

The experiments carried out for the characterization of the hydraulic behavior of the MBBR used in the next studies of the biological denitrification of waters were established on the basis of the RTD curves. The hydrodynamic characteristics of the reactor have been verified using sodium chloride (NaCl) as a tracer, on the one hand since it is an economical tracer and its implementation is simple and on the other hand the possibility of using current measuring equipment, a conductivity meter with continuous recording by injecting salt allows to disturb the conductivity of the water.

The hydrodynamic studies carried out in the present study were carried out in clean environments (without biofilm) with clear water, but it should be noted that in some studies, the hydraulic behavior of the reactors was carried out in a clean environment (without biofilm) use distilled water, low conductivity and use a clean tracer like NaCl [14]. also hydrodynamic studies carried out in the presence of purifying biomass (with biofilm), considering that the tracers used were not absorbed by the sludge particles, had no inhibitory effect on bacteria and would not be used as a nutrient by micro-organisms [10].

To obtain the RTD curves, a sodium chloride solution (3 M) about 5 ml was injected instantaneously in the form of a Dirac at the inlet of the reactor (point 01, Figure 1), The concentration and the volume injected were previously optimized, so that the injection is carried out without disturbing the flow within the reactor but the pulse must be detectable by the conductivity-meter. Signal detection at the reactor outlet (point 02, Figure 1) is carried out by measuring the conductivity and the values are expressed in NaCl concentration ( $c(t)$ ) using a previously established curve linking the conductivity to the different salt concentrations (Conductivity:  $1.836 \cdot 10^3 c(t) + 64.714$ )  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .

The experiments are carried out for approximately 3 times the hydraulic retention time of the reactors [15], The conductivity meter used is a conductivity meter (Multi-parameter WTW, Multi 340I). The measurement is associated with an integrated temperature measurement allowing automatic compensation of the conductivity value as a function of the temperature of the solution. ( $T = 22 \pm 2^\circ \text{C}$ ).

### II.3. Theoretical interpretations

The RTD is linked to the output concentration of the tracer ( $C(t)$ ) by the distribution function of the residence time ( $E(t)$ ), which describes quantitatively how much time a fraction of the fluid has passed in the reactor. [16]

$$E(t) = \frac{c(t)}{\int_0^{\infty} c(t)d(t)} \quad (1)$$

The normalization conditions imply that:

$$\int_0^{\infty} E(t)d(t) = 1 \quad (2)$$

$$\mu_n = \int_0^{\infty} t^n E(t)d(t) \quad (3)$$

The first pulse is the average time that the effluent molecules have stayed inside the reactor, and it is known as the average residence time ( $\bar{\tau}_s$ ).

$$\bar{\tau}_s = \frac{\int_0^{\infty} tE(t)d(t)}{\int_0^{\infty} E(t)d(t)} = \frac{\mu_1}{\mu_0} = \frac{\int_0^{\infty} tE(t)d(t)}{1} = \int_0^{\infty} tE(t)d(t) \quad (4)$$

The second moment is taken from the mean and it is known as the distribution variance

$$\sigma_t^2 = \int_0^{\infty} (t - \bar{\tau}_s)^2 E(t)d(t) \quad (5)$$

Using the average residence time, E (t) can be expressed as a function of dimensionless time ( $\theta$ ).

$$E(\theta) = \bar{\tau}_s E(t) \quad (6)$$

Here  $\theta = t / \bar{\tau}_s$ , and  $\bar{\tau}_s$  is average residence time. The model correlates the average residence time and the variance of the RTD curve, obtained with tracing methods. In this model, the Peclet number is determined from  $\sigma_t^2$  and the value of  $\bar{\tau}_s$  obtained from RTD.

$$\sigma^2_{\theta} = 2 \left( \frac{D}{\mu L} \right) - 2 \left( \frac{D}{\mu L} \right)^2 * (1 - e^{-\mu L/D}) \quad (7)$$

Where D is the axial dispersion coefficient,  $\mu$  is the average speed of the fluid and L is the axial distance from the reactor [16].

Among all the information contained in the RTD, the calculation of the moments of the distribution makes it possible to reach, to the exclusion of any modeling of the quantities such as the average value of the distribution, its dispersion, etc.

The order time (n) around the origin is defined by the following relation:

Pe represents the Peclet number, which is the inverse of the dispersion number ( $Pe = \mu L/D$ ) can be calculated by the Equation (8) [16]:

$$\sigma^2_{\theta} = 2 \left( \frac{1}{Pe} \right) - 2 \left( \frac{1}{Pe} \right)^2 * (1 - e^{-\mu L/D}) \quad (8)$$

Pe can be used to characterize the axial back-mixing. The higher the value of Pe, the lower the back mixing [16].  $\sigma^2$  This is the dimensionless variance of the RTD expressed as follows:

$$\sigma^2_{\theta} = \frac{\sigma_t^2}{\bar{\tau}_s^2} \quad (9)$$

N is the number of theoretical agitated reservoirs and can be calculated by the Equation. (10).

$$\sigma^2_{\theta} = 1/N \quad (10)$$

$$\frac{D}{\mu L} = \frac{\sigma^2_{\theta}}{2} \quad (11)$$

Dead space ( $V_d, \%$ ) is calculated using the equation. (12) :

$$\frac{V_d}{V_R} = \left( 1 - \frac{\bar{\tau}_s}{t} \right) * 100 \quad (12)$$

### III. Results and discussion

An example of the time evolution of c (t) after injection of the tracer, as well as the evolution of E (t), moments of order 1 and 2 for a feed rate of **0.816 L. h<sup>-1</sup>**, a quantity of support of **165.2 g** and a stirring speed of **100 rpm** are presented respectively in Figure 02. (a), (b), (c) and (d)

The mean residence time and the distribution variance are estimated by calculating the area under curve (c) and (d),

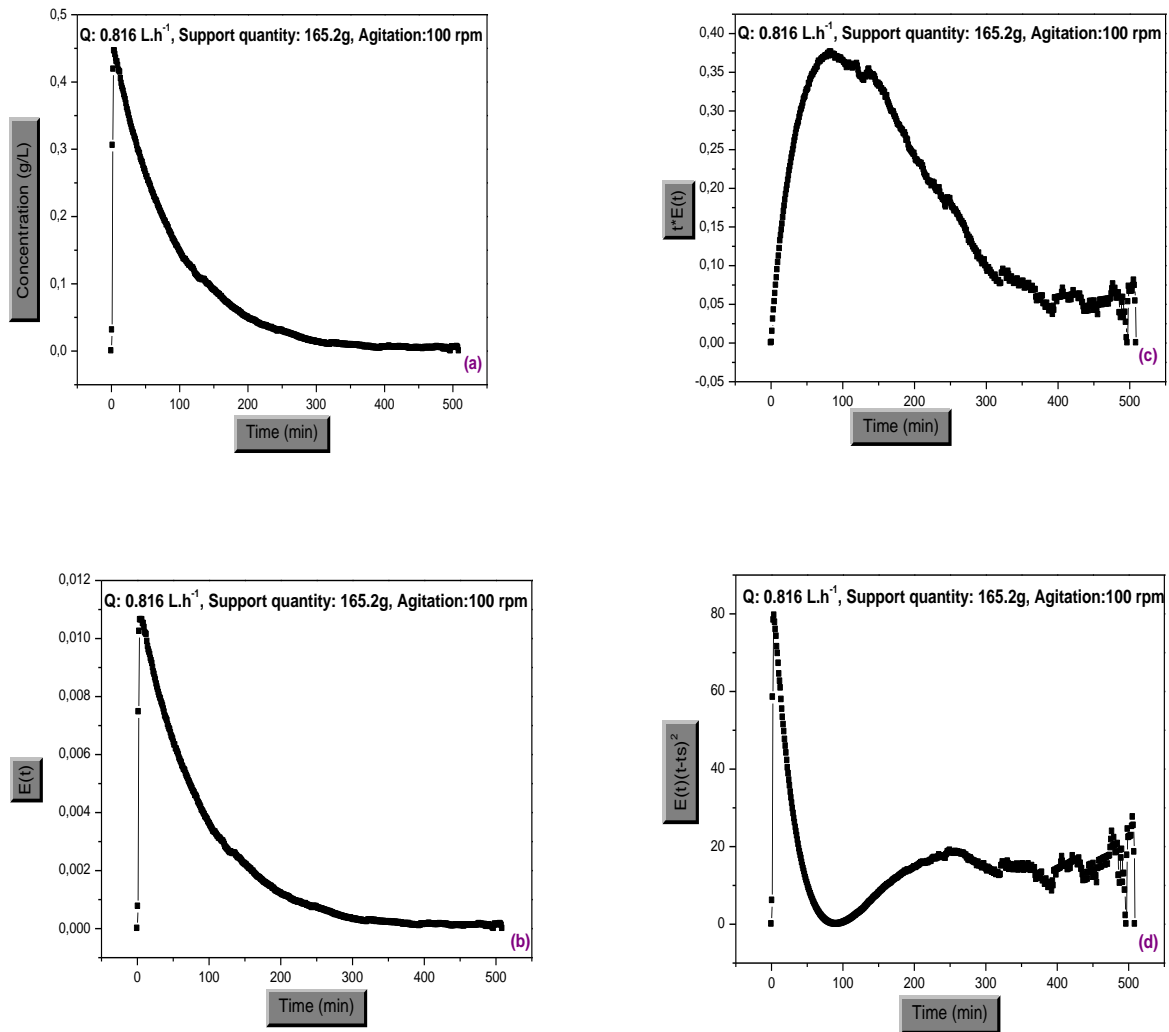


Figure 2. Temporal evolution of  $c(t)$ ,  $E(t)$ ,  $tE(t)$  et  $(t - \bar{\tau}_s)^2 E(t)$  (feed rate:  $0,816 \text{ L. h}^{-1}$ , amount of support:  $165,2\text{g}$ , stirring speed:  $100 \text{ rpm}$ )

RTD tests were carried out for different stirring speeds (Figure. 3 and 4), different quantities of supports (Figure .05 and 06) and different feed rates (Figure 7 and 8), The results of all the experiments carried out are summarized in Tables 1, 2 and 03.

### III.1. Effect of stirring speed

The hydraulic efficiency ( $\bar{\tau}_s/\tau$ ) was calculated for each condition studied, for a clear water supply flow rate of  $0.816\text{L.h}^{-1}$  and by varying the stirring speed from 100 to 300 rpm ( Table 1).

The distribution fraction of the residence time ( $E(t)$ ) and the average residence time ( $\bar{\tau}_s$ ) were determined using equations (1) and (6). Figure 3 shows the tracer distribution time during a pulse injection into the

reactor as a function of the different agitation speeds tested.

Two key events must be carefully analyzed when reading the exit signal after injection of the tracer, the moment when the tracer appears for the first time in the effluent and the point where its maximum output concentration is recorded. [17]. All the curves recorded present a single concentration peak, followed by an exponential decay function, this is a characteristic behavior of a perfectly agitated reactor, but long streaks are recorded in the distributions of the curves, this could be linked to the presence of dead zones or stagnation, or the tracer will penetrate these zones by diffusion, then it will be eliminated very gradually [17], in the case of the presence of a short circuit, two peaks will be recorded, of which: the first corresponding to the



short circuit and the second to the rest of the fluid (response of the reactor).

According to the results grouped in Table 1, The differences between the hydraulic residence time and the average residence time indicate that the reactor has deviated from the ideal flow behavior and that a malfunction is diagnosed [18]. The average residence time was always shorter than the theoretical value, the hydraulic yields were always less than 100%, but while increasing the stirring speed, the average residence time is closer to the theoretical residence time which is 147.058 min, the average hydraulic efficiency improved from 61.52 to 68.56% when the stirring speed has been increased from 100 to 300 rpm, these results confirm the presence of dead zones which reduce the effective volume of the reactor [19].

In previous studies, the positive effect of aeration on hydraulic efficiency has also been observed. Indeed, the behavior of the reactor tended to be completely mixed due to the agitation favored by the injection of air [11,20], but since this reactor will be used in denitrification studies in an anoxic medium, the effect of air injection has not been studied.

The results indicated a reduction in dead zones from 38 to 31%, increasing the stirring speed from 100 to 300 rpm, a small impact in the clean case (without biomass), but in the case where the reactor works in the presence of biomass, agitation has a significant effect on the growth of biofilm. [21] indicates that a low stirring speed in an MBBR reactor promotes bacterial growth and the accumulation of biomass on the walls of the support, on the other hand, a high stirring speed will influence the flow regime which becomes turbulent, will ingest by as a result, higher shear forces, under such conditions, the accumulation of biomass on the walls is reduced and the release of the biomass is favored. [22] Also reported that adequate turbulence is ideal for maintaining the necessary flow velocity to achieve efficient system performance. Extremely high turbulence detaches the biomass from the support and is therefore not recommended. In addition, the collision and the attrition of the media in the reactor cause the biofilm to detach from the external surface of the media. For this reason, the MBBR support is provided with fins on the outside to protect the loss of biofilm and promote the growth of biofilm.

*Table 1. Results of the RTDs obtained for the different agitation speeds*

Feed rate (L.h)	Support quantity (g)	stirring speeds(t r.min <sup>-1</sup> )	$\tau$ (min)	$\bar{\tau}_s$ (min)	$\sigma^2$	$\bar{\tau}_s / \tau$ (HE) (%)	$\sigma_{\theta}^2$	D/ $\mu$ L	Pe	V <sub>d</sub> (%)	N
<b>Test 01</b>											
0.816	165.2	<b>100</b>	147.05 8	90.481 5	7585.06 4	61.52	0.92	0.46	2,17	38	1,08
0.816	165.2	<b>200</b>	147.05 8	100.63	7597.25 4	68.42	0,75	0,37	2,66	31.55	1,33
0.816	165.2	<b>300</b>	147.05 8	100.83	7440.72	68.56	0,73	0,36	2,73	31.4	1,36

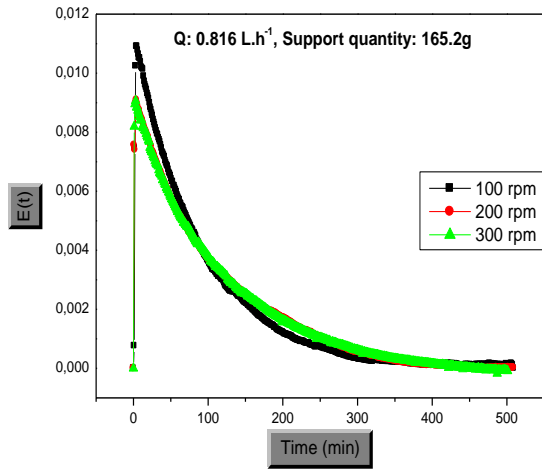


Figure 3. The different distributions of the residence time for the different stirring speeds (Feed rate: 0.816 L. h<sup>-1</sup>, Quantity of support: 165.2 g)

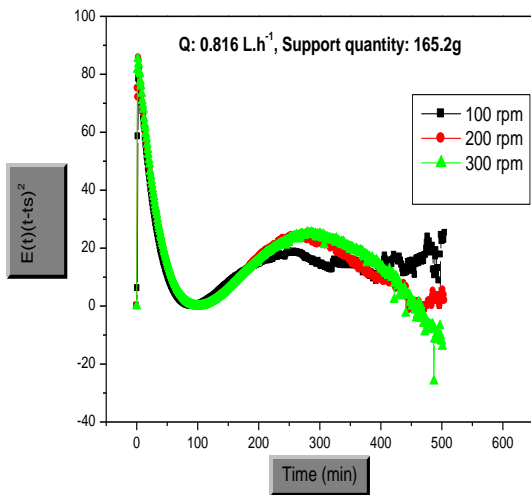


Figure 4. Evolution of  $(t - \bar{t}_s)^2 E(t)$  as a function of time for calculating the variance for the different stirring speeds (Feed rate: 0.816 L. h<sup>-1</sup>, Support quantity: 165.2g)

As the two preceding conditions have drawbacks and advantages, therefore, finding an adequate speed sufficiently large to reduce the percentage of dead zones in the MBBR, but sufficiently small, too, to avoid detachment of the biomass during the studies of denitrification would be ideal.

To analyze the number of dispersions ( $D / \mu L$ ). [23] defined a low degree of mixing when  $D / \mu L \leq 0.02$  and a high degree of mixing when  $D / \mu L \geq 0.2$ . For an ideal piston flow reactor, the dispersion coefficient  $D / \mu L = 0$ , while  $D / \mu L = \infty$ , is expected in a perfectly agitated reactor. The values of the dispersion coefficient (Table 01) varied from 0.3 to 0.4, suggesting a moderate to high degree of mixing. A mean Peclet number, the inverse of the dispersion degree ( $\mu L / D$ ), of 2.73 also confirmed the large degree of dispersion  $Pe < 5$ , as indicated by Fogler[24]. The presence of media did not increase the values of the dispersion coefficients, but the same results were verified in the studies by Morgan-Sagastume and Noyola[20]. The backward mixing can also be characterized by the value of N-CSTR, an  $N \leq 3$  indicating a higher backward mixing [24]. Values ranged from 1.08 and 1.36 in supports.

### III.2. Effect of the amount of support

The filling fraction is the ratio between the volume of bio-carriers and the total volume of the reactor. The main advantage of MBBR technology is the ability to design the reactor size for a certain filling fraction and, therefore, more volume of bio-carriers could be added. This allows either better performance or an increase in the volumetric capacity of the reactor itself. However, the mixing and the hydrodynamics of the reactor can be compromised, for example, by the development of stagnant or dead zones.

In this part, the effect of the filling rate on the hydrodynamic behavior of the reactor has been studied always in its own condition, tracing studies have been carried out by injecting varying amounts of support 0, 41, 82 and 165.2g, times of average stays of 131,197 min, 112.25 min, 95.0368 min and 90.4815 min were obtained for a feed rate of 0.816L.h<sup>-1</sup>, an agitation speed of 100rpm and the different quantities of supports, respectively. The results obtained and all corresponding calculations are grouped in Table 2 and the output signals are shown schematically in Figures 5 and 6.

The hydraulic efficiency decreases while increasing the amount of support injected into the MBBR, it reached 89.21%, 76.33%, 64.62% and 61.52% for amounts of supports of 0, 41, 82 and 165.2 g, respectively. The average residence time is always lower than the theoretical value which is 147.058min, presenting a percentage of dead volume varying between 10.5% and 38%. As mentioned above, the use of supports contributes to improving the performance of the reactors but contributes to the creation of dead zones.

Table 2. Results of RTDs obtained for different quantities of support

Feed rate (L.h <sup>-1</sup> )	Support quantity (g)	stirring speeds(t r.min <sup>-1</sup> )	$\tau$ (min)	$\bar{\tau}_s$ (min)	$\sigma^2$	$\bar{\tau}_s/\tau$ (HE) (%)	$\sigma\theta^2$	$D/\mu L$	Pe	Va(%)	N
<b>Test 0 2</b>											
0.816	<b>0</b>	100	147.05 8	131.19	20674.2 0	89.21	1.20	0.60	1.66	10.5	0.83
0.816	<b>41</b>	100	147.05 8	112.25	11750.6 5	76.33	0.93	0.46	2.17	23.5	1.072
0.816	<b>82</b>	100	147.05 8	95.03	8593.28	64.62	0.95	0.47	2.12	35	1.05
0.816	<b>165.2</b>	100	147.05 8	90.48	7585.06	61.52	0.92	0.46	2.17	38	1.086

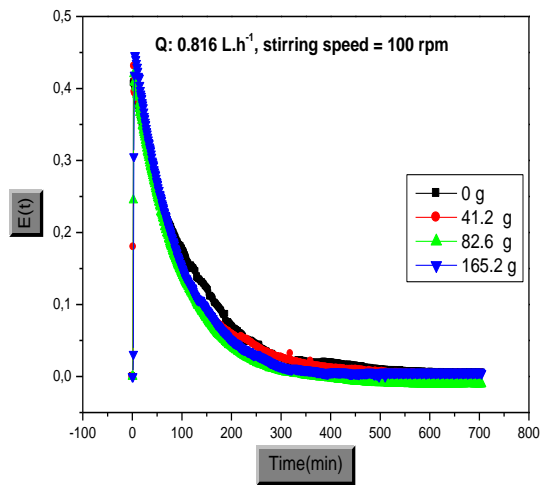


Figure 5. The different distributions of the residence time for the different amounts of support (Feed rate: 0.816 L. h<sup>-1</sup>, Stirring speed: 100 rpm)

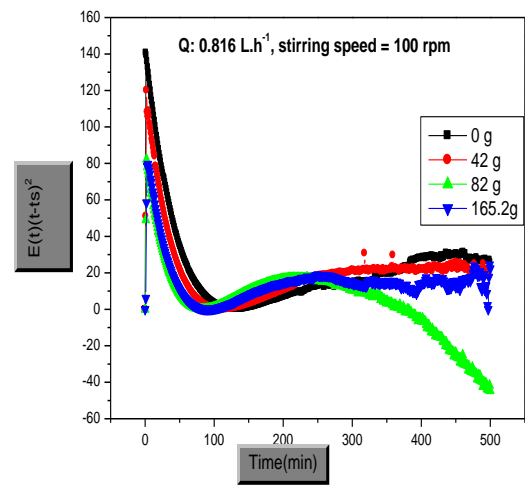


Figure 6. Evolution of  $(t - \bar{\tau}_s)^2 E(t)$  as a function of time for calculating the variance for the different quantities of support (Feed rate: 0.816 L. h<sup>-1</sup>, Stirring speed: 100 rpm)

The number of dispersion varies between 0.4 and 0.6 in the reactor with and without support, the number of dispersion is always greater than 0.2, so we are in the case of high degree of mixing. It has been observed that the injection of the supports with

different quantities into the MBBR has no effect on the dispersion coefficients (Table 02), and the number of dispersion without support is greater than those obtained with the different quantities of the

support. N-CSTR number, varies between 0.83 and 1.

From these results, it is concluded that the amount of packing has greatly influenced the hydrodynamic behavior in the MBBR reactor. Some authors recommend that the filling fraction (percentage of the volume of the reactor occupied with supports in an empty tank) should vary between 60 and 70 % [25] and it must not exceed 70% to obtain adequate properties for mixing bio-carriers in aerobic systems [26]. In this study the maximum filling rate tested is 56% causing 38% of dead volume this is probably due to the geometric shape of the reactor used, exceeding this rate will certainly accentuate this percentage of stagnant areas and reduce the desired treatment performance.

### III.3. Effect of feed rate

In this part, the effect of the flow rate on the hydrodynamic behavior of the MBBR was considered. The tracing studies were carried out by varying the flow rate of the clear water between 0.10 and 2 L.h<sup>-1</sup>, a speed d agitation of 100 rpm and

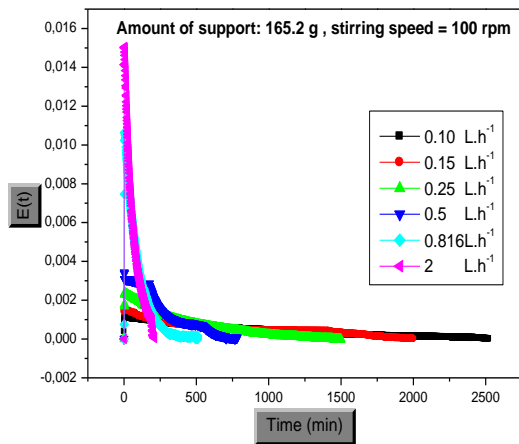
a quantity of support 165.2g. The results obtained and all the corresponding calculations are grouped in Table 3 and the output signals are shown diagrammatically in Figures 7 and 8.

In the various experiments carried out (Table 3), the average residence times obtained for the different flow rates tested are less than the estimated hydraulic residence times (Figure 9), this also reveals the same diagnosis of malfunction (the presence of dead zones). The effect is not regular this is due to the disturbance in the conductivity readings in certain situations caused by the high feed rate, but in general the increase in the feed rate has contributed to the reduction of dead zones, the percentage of Vd went from 38% for a supply flow of 0.10 L.h<sup>-1</sup> to 5.47% for a supply flow of 2 L.h<sup>-1</sup>, the increase in flow creates turbulence reducing stagnant areas caused mainly by the amount of support injected into the MBBR.

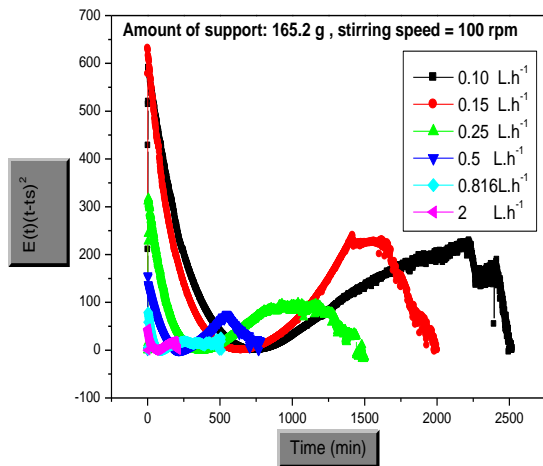
The number of disperses increases with the increase in the feed rate, so the behavior of the MBBR reactor, it is a perfectly stirred reactor, the same remark is observed for the Peclet number.

Table 3. Results of RTDs obtained for different feed rates

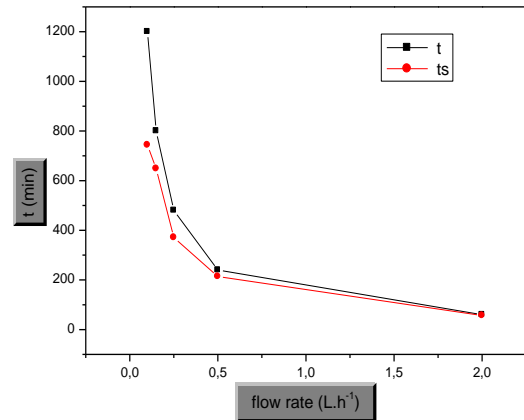
Feed rate (L.h <sup>-1</sup> )	Support quantity (g)	stirring speeds(t r.min <sup>-1</sup> )	$\tau$ (min)	$\bar{\tau}_s$ (min)	$\sigma^2$	$\bar{\tau}_s/\tau$ (HE) (%)	$\sigma\sigma^2$	D/ $\mu$ L	Pe	Vd(%)	N
<b>Test 03</b>											
0.10	165.2	100	1200	743.68 3	309696. 84	61.97	0.56	0.28	3.57	38	1.78
0.15	165.2	100	800	648.04 8	251826. 80	81	0.60	0.30	3.57	19	1.78
0.25	165.2	100	480	370.70 3	95193.7 06	77.22	0.69	0.35	2.85	22.5	1.43
0.5	165.2	100	240	213.74	28502.9 1	89.05	0.62	0.31	3.22	10.95	1.61
0.816	165.2	100	147.05 8	90.481 5	7585.06 4	61.52	0.92	0.46	2,17	38.48	1,08
2	165.2	100	60	56.72	2287.21	94.53	0.71	0.36	2.77	5.47	1.40



**Figure 7.** The different distributions of the residence time for the different feed rates (Stirring speed: 100 rpm, Amount of support of 165.2 g.)



**Figure 8.** Evolution of  $(t - \bar{\tau}_s)^2 E(t)$  as a function of time for calculating the variance for the different feed rates (Stirring speed: 100 rpm, Quantity 165.2 g.)



**Figure 9.** Comparison between the residence time  $t$  and  $\bar{\tau}_s$  for the different feed rates (Stirring speed: 100 rpm, Amount of support of 165.2 g.)

#### IV. Conclusion

Before starting the biological denitrification studies in the biofilm and moving bed reactor packed with Kaldnes K1, an in-depth study was devoted to the hydrodynamic behavior of this reactor under different operating conditions and by varying the stirring speed, the quantity of packing injected and the feed rate of the influent.

The main purpose of this type of study is to collect enough data to be able to characterize the reactor, set the most appropriate operating conditions, propose a transport model and predict the performance of the biological reactor for a possibility of improvement or development in design.

First of all, it can be concluded that the behavior of the designed MBBR is a perfectly stirred reactor, the most significant effect on the hydrodynamic behavior and mainly on the detected malfunction (the presence of dead zones) is the fraction of filling by the padding used, the more this fraction is reduced the more the percentage of dead zones is minimized, this effect is reduced by increasing the feed rate which seems to be disorged these zones, agitation does not have a significant effect especially for large fractions filling.

The stirring speed, the feed rate and the fraction of filling by the support used will be adjusted by taking into consideration the percentage of dead zones created by this choice, but also by taking into

consideration the advantage of using this type of design. reactors in the biological denitrification of water, which is to achieve good degradation yields

by ensuring that the conditions set do not alter and do not damage the development of biofilm on the walls of the lining.

V. Nomenclature

$E(t)$ residence time distribution function ( $\text{min}^{-1}$ )	$\mu$ speed of the fluid( $\text{cm/s}$ )
$\bar{\tau}_s$ average residence time (min)	$L$ axial distance (m)
$\mu_n$ the moment	$D$ axial dispersion coefficient ( $\text{cm}^2/\text{s}$ )
$\mu_1$ the moment of order (1)	$\sigma^2_\theta$ dimensionless variance
$\mu_0$ the moment of order (0)	$N$ number of theoretical agitated reservoirs(dimensionless)
$\sigma^2_t$ variance ( $\text{min}^2$ )	$V_d$ Dead volume (L)
$\theta$ dimensionless mean residence time	$V_R$ reactor volume (L)
$\mu L/D$ dispersion number (dimensionless)	<b>RTD</b> Resistance Time Distribution (min)

VI. References

- Lazarova , V.Biofilm characterization and activity analysis in water and wastewater treatment. *Water Res* 29 (1995) 2227–2245.
- Rusten, B.; Hem, L. J. Nitrification of municipal wastewater in moving-bed biofilm reactors. *Water Environ. Res.* 67(1995).
- Mcquarrie, J. P.; Boltz, J. P. Moving Bed Biofilm Reactor Technology ; Process Applications , Design , and Performance. *Water Environ. Fed.* 83, (2010).
- Rusten ,B.;Eikebrokk, B.;Ulgenes, Y.; Lygren, E.Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. *Aquac. Eng.*,3 (2006) 322–331.
- Levenspiel, O. *Chemical Reaction Engineering*. 3rd ed.; New York 1999 .
- Herrling ,M. P.; Guthausen, G.;Wagner ,M.;Lackner, S.,Determining the Flow Regime in a Biofilm Carrier by Means of Magnetic Resonance Imaging. 5 (2015) 1023–1032.
- Rusten ,B.;Eikebrokk ,B.; Ulgenes , Y.; Lygren , E.Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. 34, 5 ( 2006) 322–331.
- Boltz , J. P.;Daigger, G. T.Uncertainty in bulk-liquid hydrodynamics and biofilm dynamics creates uncertainties in biofilm reactor design,” *Wat.Sci.Tech.* 61. 2 (2010) 307–316.
- De Beer ,D.; Stoodley, P.; Lewandowski , Z.Liquid Flow in Heterogeneous Biofilms. . 44 (1994) 636–641.
- Holloway , T. G.;Soares, A.Influence of internal fluid velocities and media fill ratio on submerged aerated filter hydrodynamics and process performance for municipal wastewater treatment. *Process Saf. Environ. Prot.*, (2017).
- Sharma , M. K.;Kazmi , A. A.Effect of physical property of supporting media and variable hydraulic loading on hydraulic characteristics of advanced onsite wastewater treatment system.*Taylor, Francais.* ( 2014) 37–41.
- Barwal ,A. ;Chaudhary, R. Impact of carrier filling ratio on oxygen uptake & transfer rate , volumetric oxygen transfer coefficient and energy saving potential in a lab-scale MBBR, *J. Water Process Eng.* 8 (2015) 202–208.
- Ødegaard, H.;Gisvold ,B.;Strickland, J.the influence of carrier size and shape in the moving bed biofilm process. *Water Sci Technol.* 41 (2000) 383–391.
- Zamouche, R.; Etude et Modelisation des Dysfonctionnement dans les systèmes d’épuration biologique.UniversitySalah Boubnider ,Constantine, 2016.
- Ghazani, M. T.Etude des performances et optimisation d’un reacteur cascade a biomasse hybride pour le traitement des eaux usees urbaines.(2007).
- Méndez-Romero, D.C.,López-López, A.;Vallejo-Rodríguez, R.;and León-Becerril, E.Chemical Engineering and Processing : Process Intensification Hydrodynamic and kinetic assessment of an anaerobic fixed-bed reactor for slaughterhouse wastewater treatment. *Chem Technol Biotechnol* 50. (2011) 273–280 .
- Méndez-Romero, D. C.; López-López, A.;Vallejo-Rodríguez, R.; León-Becerril , E.Hydrodynamic *Eng. Process. Process Intensif* 50 3 (2011) 273–280.
- Dias , J.; Bellingham, M.; Hassan, J.; Barrett , M.; Stephenson, T.; Soares, A.Impact of carrier media on oxygen transfer and wastewater hydrodynamics on a moving attached growth system. *Chem. Eng. J* 1 (2018) 399-408.
- Li , S.; Nan, J.; Gao, F.Hydraulic characteristics and performance modeling of a modified anaerobic baffled reactor (MABR) *Chem. Eng. J.*, 15 ( 2016) 85-92.
- Morgan-Sagastume, J. M.; Noyola, A.; Evaluation of an aerobic submerged filter packed with volcanic scoria,” *Bioresour. Technol* 99 (2008) 2528–2536.
- LAU , D.; LIU , L. Y.Effect of Flow Rate on Biofilm Accumulation in Open Channels. *Water Res.*, 27 3 (1993) 355-360.
- Leiknes,T.; Ødegaard, H. Moving bed biofilm membrane reactor ( MBB-M-R ): CHARACTERISTICS and potentials of a hybrid process.
- Tomlinson ,B.; Chambers ,E. J.Effect of longitudinal mixing on the settleability of activated sludge,” *Stevenage, Engl* (1979).
- Fogler H.S.Elements of Chemical Reaction Engineering. 4th edn., London, 2006.
- Salvetti , R.; Arianna, A.; Roberto , C.; Luca, B.Effects of temperature on tertiary nitrification in moving-bed biofilm reactors. *Wat. Res* 40 (2006) 2981–2993.
- Barwal, R. Chaudhary , A.To study the performance of biocarriers in moving bed biofilm reactor (MBBR) technology and kinetics of biofilm for retrofitting the existing aerobic treatment systems: A review,” *Rev. Environ. Sci. Biotechnol* 3 (2014) 285–299.

Please cite this Article as:

Bouteraa M., Zamouche-Zerdazi R., Bencheikh Lehocine M., Meniai A.H., Investigation of hydrodynamic behavior of the moving bed biofilm reactor packed with Kaldnes K1, **Algerian J. Env. Sc. Technology**, 7:3 (2021) 2003-2012



## Impact of clear waters parasites on the biological wastewater treatment

Rania Zamouche-Zerdazi\*, Meriem Bouteraa, Souad Hallel, Mohamed El Amine Bouhamla, Mossaab Bencheikh Lehocine, Abdeslam Hassen Meniai

*Laboratoire de l'Ingénierie des Procédés d'Environnement "LIPE", Faculté de Génie de Procédés, Université Salah Boubnider Constantine 3, Ville Universitaire Ali Mendjli 25000 Constantine, Algérie, emails: docran16@yahoo.com (R. Zamouche-Zerdazi), meriem\_bouteraa@yahoo.fr (M. Bouteraa), mossaabbb@yahoo.fr (M.B. Lehocine), meniai@yahoo.fr (A.H. Meniai)*

Received 6 February 2020; Accepted 19 September 2020

---

### ABSTRACT

In wastewater treatment plants (WWTP), it is common to bypass non-compliant effluents based either on a visual estimate or on variations of the global parameters, in order to preserve the water biological treatment. This is often adopted when these parameters increase or an apparent change in the color of the influents feeding the treatment plant. However, the dilution of wastewater by the clear waters attracts no attention and no alarm management position. Consequently, the main purpose of this study is to draw the attention of the WWTP managers to this fact often classified as not dangerous and not alarming, the effects of feeding disturbances and nutritional deficiencies caused by the presence of clear waters considered as parasites, will be evaluated on the treatment efficiency, the microbial activity, the flocculation status, and the microbial morphology, using a semi-continuous reactor, fed by a synthetic substrate obtained after leaching of 5 g L<sup>-1</sup> animal feed for 4 h. The nutrient deficiency caused by the introduction of clear water into the sanitation networks causes not only the excessive proliferation of filaments by reaching a filamentous index (FI) of 5, but also the opening of microbial floc. Decantation was completely reduced and a decrease in the maximum exogenous respiration of 92.55% was recorded when the nutrients in the synthetic substrate were reduced by a factor of 1/10.

*Keywords:* Wastewater treatment; Food disturbances; Respirometric test; Flocculation state; Microbial activity

---

### 1. Introduction

The activated sludge is subject to qualitative variations which often make the good separation of purified sludge-water in the decanter precarious. The interruption or incomplete flocculation of biological buildings is the cause of a multitude of reasons, which can act in isolation or in synergy. These agglomeration difficulties can be grouped into two main classes, non-biological dysfunctions to mention sludge deflocculation, light flocs, floating materials, active tension foams, start-up foams, and non-biological dysfunctions mainly bulking and biological mosses, a classification was developed by Wanner and Grau [1], which is

mainly based on the relationship between the conditions of the environmental medium (oxygen concentration, sludge age, the aerobic or anaerobic condition, etc.) and the predominance of certain filaments, which have been identified by several authors [2–4], with the aim of effectively and quickly remedying, but unfortunately an accumulation of dysfunctions is often encountered in the majority of WWTPs.

The local WWTP of IBN ZIAD, 12 km far from the city of Constantine (East of Algeria), has frequently encountered problems of settling, like the dispersed and non-flocculated growth of the biomass, hence often insufficient size, a viscous state of the sludge and a partial or complete bulking.

---

\* Corresponding author.

In order to establish any links between the operation of the WWTP and observed biological malfunctions, a thorough reading and analysis of data from this station over the past 5 y were necessary.

A large variation in the monthly flowrates was observed with significant differences between the lowest and highest values which represented 38.24% and 94.98%, respectively, of the nominal flowrate value of  $800 \text{ L s}^{-1}$ . The monthly flowrates in dry weather are sometimes more important than those in rainy weather, due to the discharge of clear water into the network supplying the plant (Fig. 1).

Particular attention was paid to the variation of the organic load in the influent of the WWTP, expressed in total suspended solids (TSS), biochemical oxygen demand (BOD), and chemical oxygen demand (COD), by considering values for the last 5 y.

Large discrepancies were also recorded between the minimum and maximum TSS values and the biodegradable and non-biodegradable organic loads, as well as large fluctuations in the monthly quantities where for instance, for the first quarter of the 4th year of monitoring, the amount of TSS increased almost doubled between January and February, then decreased in March by 36% of the value recorded in February. The same trend was recorded between July and August of the same year. Also, the estimated biodegradable load in BOD decreased by 55% between July and August then rose by 45% for the same year. As previously mentioned this could not be caused by seasonal variations but rather by the presence of clear waters considered as parasites causing abrupt dilutions in organic feeds to the treatment plant (Tables 1 and 2). However, the biodegradability of the wastewater supplying the local plant was almost constant during the last 5 y of monitoring and the ratio of the biodegradability (BOD/COD) was varying between 0.27 and 1.23 with an average of 0.502, a value between 0.3 and 0.8 indicating an easy biological treatment of the wastewater [5].

The parasite waters may have several origins such as irrigation channels, clear water coming from the infiltrations of drinking water networks, and rainwater. These waters can generate a high dilution of the raw effluents and a considerable hydraulic load as well as an imbalance between the organic and the hydraulic load, inevitably causing malfunctions on each of the unit operations of the plant.

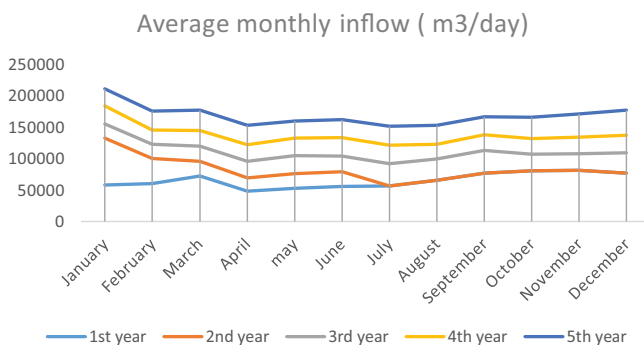


Fig. 1. Average monthly inflows for the last 5 y (IBN ZIAD WWTP).

Although the problems are different from one municipality to another, the problem of abandoned water particularly during dry weather is general and amplifies those due to heterogeneity or the variability of the composition of wastewater, particularly from networks receiving discharges from different industrial and residential sources, the absence of flow regulation basins, etc. (case of the local zoomed plant).

The nutrient deficiency usually concerns nitrogen or phosphorus and most often is associated with the discharge of industrial wastes that are rich in soluble biodegradable carbon fraction but deficient in proper quantity and quality in at least one nutrient [6].

Several past studies considered the settling problem linked to nutritional perturbations in WWTPs, and the first publications referring to biological problems date back to 1932 when Donaldson [7] assimilated the filamentous microorganisms to garden weeds, and found that their presence in large numbers limited settling, research is still going on to study this type of biological malfunction where this problem arises from time to time despite the efforts made to improve and control the WWTPs [8–11].

The purpose of this study is to determine the impacts of these disturbances in the plant feeding caused by clear water parasites, on the biological treatment of urban wastewater, on the microbial activity, on the morphological presentation of sludge and on their settling ability, and to draw the attention to the managers of the WWTP which do not especially have regulatory basins that this type of disturbance caused by clear waters can lead to a delicate situation.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Used reactor and the applied experimental program

The experimental program was carried out in a pilot consisting essentially of a transparent PVC cylindrical aeration tank, 20 L in volume, provided with a ball-type discharge valve, an agitator, a four blades stainless steel turbine type linked to an electric motor, varying the stirring speed between 20 and 400 rpm and an aquarium porous coil air diffuser, spread on the bottom of the driver, linked to a vacuum pump ensuring the continuous supply of air (Fig. 2). The reactor was operated in semi-continuous mode and fed with a synthetic substrate.

According to the objectives set for the present study, the experimental approach consisted of bringing the sludge collected at the local WWTP into contact with a synthetic substrate, after reaching the adaptation, and improving the degradation, microbial activity, and flocculation status by maintaining the same operating conditions as the sludge retention time (SRT) of 12 d, the hydraulic retention time (HRT) of 1.6 d and a  $\text{COD}_t$  between 600 and  $700 \text{ mg L}^{-1}$  and a ratio C/N/P of 100/5.58/0.0139, a food disturbance program was applied, the first of which was the major nutritional food deficit (nitrogen) and the second the dilution of the three major nutrients C, N, and P by clear water (Fig. 3).

### 2.2. Analytical procedures

The flocculation state before and after each step of the applied experimental program was evaluated mainly through the four following parameters:



- The turbidity of the supernatant after half an hour of settling.
- The filamentous index (FI) where according to the abundance of the filaments, a global or specific index to each species can be assigned [6,12,13].
- The capillary suction time, a technique developed by Gale and Baskerville [14], on a small scale as a practical and convenient means of measuring the filtration ability without resorting to an external source of pressure or suction. This ability is closely related to the size distribution of the microbial flocs and their state of aggregation [15,16]. Since the adaptation of the analysis by CST meter as a quantitative measure of the properties of different suspensions, it has known a wide field of application, passing through the evaluation of the mechanical stability of oil drilling [17], the study of the relationship between the rheological behavior of sludge and its dewatering [18], until the optimization of polymers, for the improvement of the flocculation quality of the suspensions [19].
- The values of sludge volume index and its volume index which is the volume of the sludge after 30 min of settling relative to the unit of mixed liquor suspended solids (TSS), often expressed in mL g<sup>-1</sup> of TSS [20]; this index can also be expressed only through the volume occupied by an initial liter of sludge after 30 min of settling.

The lowest values of the capillary suction time and the turbidity of the supernatant correspond to the best quality of sludge and better settling, whereas the highest values of the filament index and the sludge volume index (or volume

index) correspond to poor quality of the sludge, hence disturbances in the settling.

Respirometry was the tool used to quantify the activity of biomass in the various stages of the followed experimental program. Generally, it is based on the on-line measurement of oxygen consumption, oxygen uptake rate

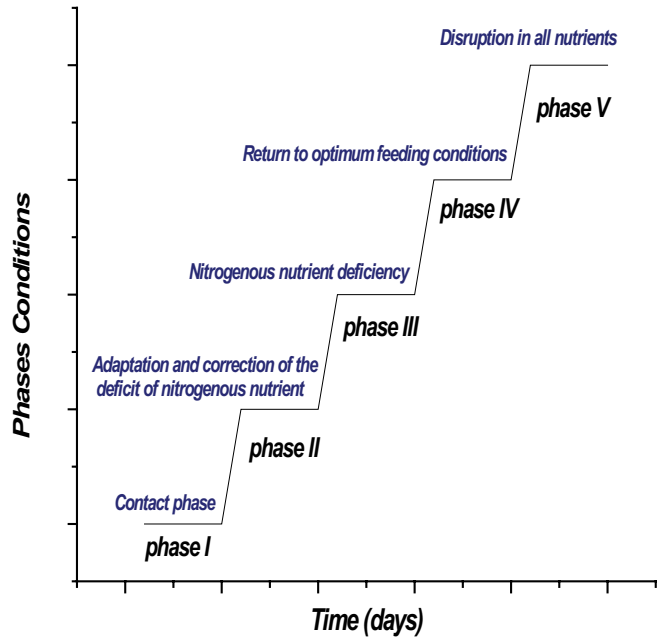
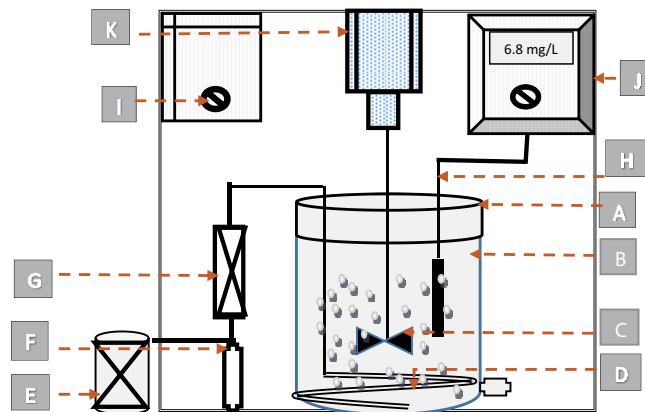


Fig. 3. Followed experimental program.



A:	Plastic cover of the container
B:	Transparent PVC cylindrical aeration tank of 20 L
C:	Mixing mobile of a 4 paddle turbine type in stainless steel of a diameter of 60 mm
D:	Serpentine type air diffuser
E:	Air pump
F:	An expansion device of compressed air scale 0–2 bar
G:	A flow meter on the air supply circuit
H:	Dissolved oxygen electrode
I:	Electronic converter and digital reading of the polarography Electrode
J:	Electronic controller of the mixing velocity
K:	Electric motor of the turbine type paddles with a variable rpm (20 and 400)

Fig. 2. Detailed scheme of the reactor used.

(OUR), by the bacterial purifying populations. Under aerobic conditions, microorganisms consume oxygen in proportion to substrate removal and biomass growth. The rate of respiration is the amount of oxygen consumed per unit volume and time [21,22].

The observation and the estimation of the geometrical parameters, characterizing the respirometric peaks play a key role in the detection and the instantaneous evaluation of the situation of the WWTPs, when they are facing certain malfunctions and to quote the initial slope of the peak, the peak height or maximum respiration  $OUR_{\text{exomax}}$  ( $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ min}^{-1}$ ) after injection of the amount of exogenous substrate and the peak area which is the amount of oxygen consumed QTO ( $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ ) by the microorganisms to metabolize the injected substrate [23].

$$OUR_T = OUR_{\text{exo}} + OUR_{\text{end}} \quad (1)$$

$$OUR_{\text{exo}} = K_L a (S_{\text{end}} - S_0) - \frac{d(S_0)}{dt} \quad (2)$$

$$OUR_T = K_L a (S_{\text{OS}} - S_0) - \frac{d(S_0)}{dt} \quad (3)$$

The parameters: pH, total COD ( $COD_T$ ), soluble COD ( $COD_s$ ), TSS, VSS, salinity, electrical conductivity,  $\text{NH}_4$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ , and  $\text{PO}_4$  parameters were investigated before and after every step of the experimental program according to Standard Methods.

Several authors had used microscopic visualization and image processing as a tool census, characterization, monitoring, diagnosis, and remediation [13,24–26]. Microscopic observation was carried out for the different components of the sludge (interstitial fluid, microbial floc, and micro fauna) in the fresh state or in the state stained with Methylene blue, using a microscope with variable magnification (Infinity, Optech). These visualizations were carried out for the different samples in each phase and could give information about the state of flocculation, the presence of the filaments and the dimensions of the flocs.

### 2.3. Synthetic substrate

In theory, it would be ideal to use a substrate to which the biomass is already acclimated, but it is possible to use substrates which have very low latency phases, such as yeast extract, sodium acetate, and glucose for carbonaceous substrates and nitrogenous ammonia for the nitrogen substrate. Yeast extract has demonstrated its very rapid biodegradability compared to that of sodium acetate and glucose [27], since it contains micronutrients that promote bacterial growth, but unfortunately for continuously fed reactors for a long period of operation, another substrate should be used, that is more accessible, less expensive, and has characteristics close to urban wastewater.

For the necessary large volumes of synthetic wastewater for the pilot supply, a synthetic substrate obtained after leaching of an animal feed was used with a dose of  $5 \text{ g L}^{-1}$  and a contact time of 4 h. The time and the dose were optimized to obtain leachates of composition close to

wastewater (Table 3). Nitrogen and phosphorus fractions were low in the obtained leachates, hence necessary additions to study the effect of nutrient deficits.

The use of this type of synthetic substrate not only had the advantage of using substrates with very low costs, supplying reactors mainly operating in continuous and semi-continuous modes but also to avoid increasing the salinity and the conductivity of the substrate in the reaction medium, a case encountered during the use of sodium acetate as carbon source, for instance.

### 2.4. Inoculum

The mixed liquor was collected in the last aeration basin of the biological treatment chain of the local WWTP, designed to treat a flow rate of  $800 \text{ L s}^{-1}$  of wastewater and rainwater collected in a unitary network.

Microscopic visualizations in the colored state (Methylene blue staining) were carried out in order to detect the initial state of the inoculum before the adaptation step. A low flocculation was observed with floc opening and minimal presence of filaments ( $FI = 1$ ) with rather crowded interstitial fluid, an average perimeter and surface area of the flocs varying between  $8.18$  and  $97.87 \mu\text{m}$  and  $112.64$  and  $2,579.52 \mu\text{m}^2$ , respectively (Fig. 4a).

## 3. Results and discussion

During the entire experimental period, the temperature of the reaction medium and the pH varied slightly in ranges of  $19.9^\circ\text{C}$  and  $23.8^\circ\text{C}$  and of  $7.41$  and  $7.98$ , respectively. The electrical conductivity and salinity in the aeration basin varied from  $1,600$  to  $2,210 \mu\text{S cm}^{-1}$  and from  $0.8\%$  to  $1\%$ , respectively, which would consolidate the good choice of the used synthetic substrate.

For dissolved oxygen, a gradual decline was recorded from the end of phase III without reaching a very low value ( $\leq 2 \text{ mg L}^{-1}$ ), despite the fact that the oxygen supply was adequately provided throughout the experimental period.

### 3.1. Effect on the flocculation state of biological aggregate

Filamentous bacteria play an important role in the formation of flocculated sludge structures granting them more resistance to predation and hydrodynamic disturbances. However, when their density is too high, the apparent density of the aggregates can decrease, resulting in a decrease or even a complete alteration of the settling [4].

Microscopic observations were performed to monitor the morphology of organic aggregates and the presence of filamentous bacteria in each phase.

Initially during the adaptation phase (phase I) a series of microscopic visualizations were performed revealing, on the one hand, the minimal presence of the filaments which corresponds to IF varying between 0 and 1 and on the other hand a not correctly developed flocculation with a cloudy supernatant and a not well-defined sludge blanket (Fig. 4a).

In the synthetic substrate used, the COD was mainly in soluble form, the  $COD_s/COD_T$  ratio was 0.98. However, the nitrogen fraction was mainly in organic form ( $84.53\%$ ) which had to through an ammonification before being

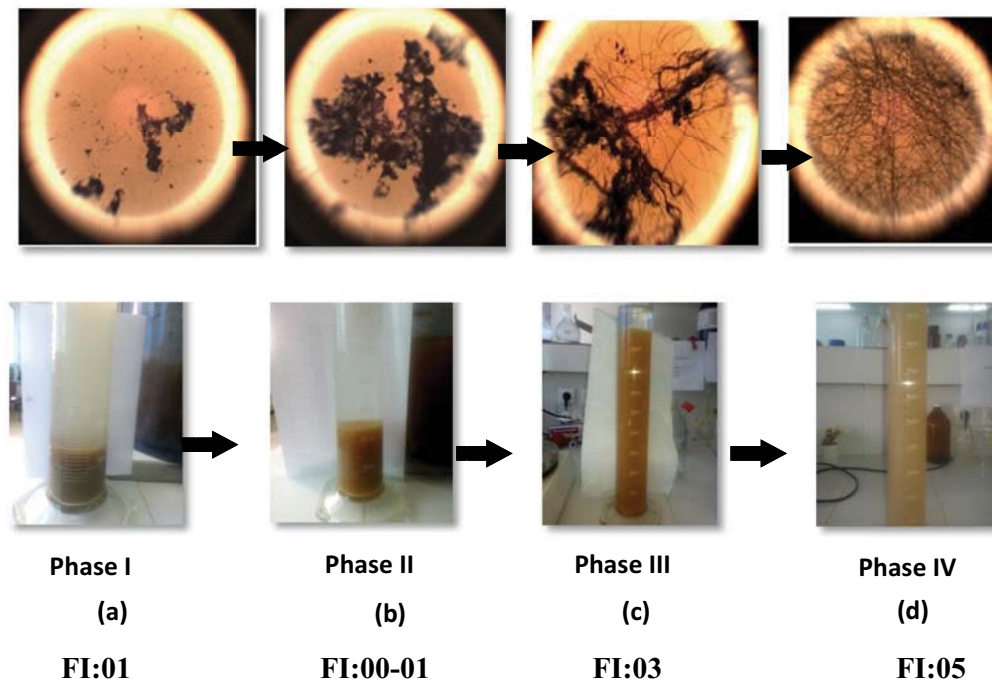


Fig. 4. Microscopic and macroscopic presentation of microbial flocs in the different phases: (a) before adaptation (start of experiments), (b) after adaptation and the correction of the deficit of nitrogenous nutrient, (c) after nitrogenous nutrient deficiency, and (d) after disruption in all nutrients.

assimilated by microorganisms [28]. The ammonium ions being the preferred nutrient source of nitrogen because of its high solubility in water and since it was immediately ready to be adsorbed and metabolized by bacteria [28], this nitrogen source was largely preferred to the organic form such as amino acids, so it was necessary to enrich the medium with the ammoniacal form in phase II, by changing the ratio C/N/P ( $\text{COD}/\text{N}-\text{N}_r/\text{P}-\text{PO}_4$ ) from 100/5.58/0.0139–100/9.21/0.0139, respectively.

This state was improved after adding an ammonia nitrogen supply (phase II), the flocculation was more developed (denser and firmer aggregates), the interstitial liquid was more clear, and a very clear sludge blanket with an IF equal to 0 (Fig. 4b).

In phase III, a deficiency of nitrogen form (ammoniacal form) was imposed, the same indicators reported in the literature [28] concerning this nutrient deficiency in an activated sludge treatment process were observed. These indicators included the undesirable growth of filamentous organisms deficient in nutrients and the production and accumulation of nutrient-deficient biological mosses (021 N, 0041, 0092, 0581, 0675, 0803, 0961, *Haliscomenobacter hydrophila*, *Microthrix parvicella*, Nocardioforms filaments), a fraction of filamentous organisms oscillating between 1% and 20% is sufficient to create the most delicate problems of settling which is the bulking of sludge [29,30].

After nitrogenous nutrient deficiency (phase III), the number of filaments increased gradually, reaching an IF equal to 3. The nitrogen deficiency imposed after adapting the microorganisms to a regular nitrogen threshold for 10 d (phase II), favored the development of filamentous microorganisms.

Although this disturbance lasted only 4 d, the effect was very apparent microscopically and macroscopically, the sludge blanket significantly increased, inevitably causing a loss of solid (Fig. 4c).

Based on the results of microscopic visualizations, the reduction of purification yields from phase III was therefore due to the release of the extracellular polymer matrix which could represent up to 60% of the organic fraction of sludge, whereas the cellular biomass represented only up to 20% [31]. This has been observed macroscopically by the gradual increase in the viscous state of the mixed liquor.

Nutrient deficiency caused not only the excessive proliferation of the filaments but also the opening of the aggregate structure. The estimate of the effect of this perturbation on microbial activity was evaluated experimentally by respirometric tests.

After the correction of the nitrogen and the return to the conditions of good operation, the state of flocculation improved significantly and the filamentous index IF decreased by two units passing from 3 to 1 (phase IV).

The reduction of nutrients in the synthetic substrate feeding the reactor by a factor of 1/10 (dilution of wastewater by the water parasites and this factor was set according to the maximum variation in the organic loads of the influents of the plant) caused a complete proliferation of the sludge where the filamentous index reached its maximum value 5 and decantation was completely degraded (Fig. 4d).

It may also be noted that the reduction of oxygen concentration in the aeration basin, from phase III was due to the progressive proliferation of the filaments requiring more oxygen demand at the same time, because of their large exchange surfaces.

To explain the mechanisms of growth of filamentous microorganisms, under feeding disturbances or nutritional deficiency conditions, several hypotheses have been put forward. For instance, the competition between filamentous and non-filamentous microorganisms in case of low nutrient content or oxygen concentration, was based on the fact that the area/volume ratio ( $A/V$ ) is more important for filamentous bacteria than flocs, thus facilitating mass transfer (nutrient) and correlatively growth rate [32]. The proliferation of filaments may be related to the ability of the filaments to pierce the flocs from outside to access the substrate in case of deficiency. This situation can lead to a more open and filamentous aggregation, whereas in the case of substrate abundance, more compact structures appear [30,33,34], and finally, some filaments, can have high storage capacities during periods of feeding disturbances, favoring and thus preserving their growth [35–37].

The sludge capacity, represented by the SVI, was to be measured in each phase of the experimental program. The SVI could be calculated only at start-up and during phase I and II, for the other phases, dilutions will be required to calculate this parameter ( $V_{30} > 250$  mL).

The dilutions were not carried out but the follow-up of the settling volumes after 30 min of settling ( $V_{30}$ ) was rather carried out. The increase of the settling volumes during phase III was explained in particular by a change in the

morphology of the aggregates from the 1st day of nutrient disturbance (nitrogen) (Fig. 5).

The gradual increase in sludge number or settling volume was associated with an increase of one or more units in the overall filament index and alteration of the morphology of biological aggregates and interstitial fluid (Fig. 5a).

The follow-up of the state of the flocculation was also evaluated by two other parameters, the turbidity of the supernatant of the liquor taken from the reaction medium after half an hour of decantation and the capillary suction time. The latter made it possible to evaluate the rearrangement of the flocs in the inter-particle space (flocculation or deflocculation) by evaluating the filtration ability time of the liquor through a specific filter paper.

The values of the capillary suction time had been standardized by relating them to their concentrations of TSS (CSTS), since they had a considerable influence on the measurement of the capillary suction time [38].

The correction of the nitrogen deficiency in phase II was not very apparent in the CSTS measurements, but it was in the measurement of turbidity which clearly increased in the 1st day of disturbance, spending an average of 25.4 NTU in phase II at over 1,000 NTU in Phase V (Fig. 5c).

However, these disturbances were not too well-estimated by the capillary suction time since the state of

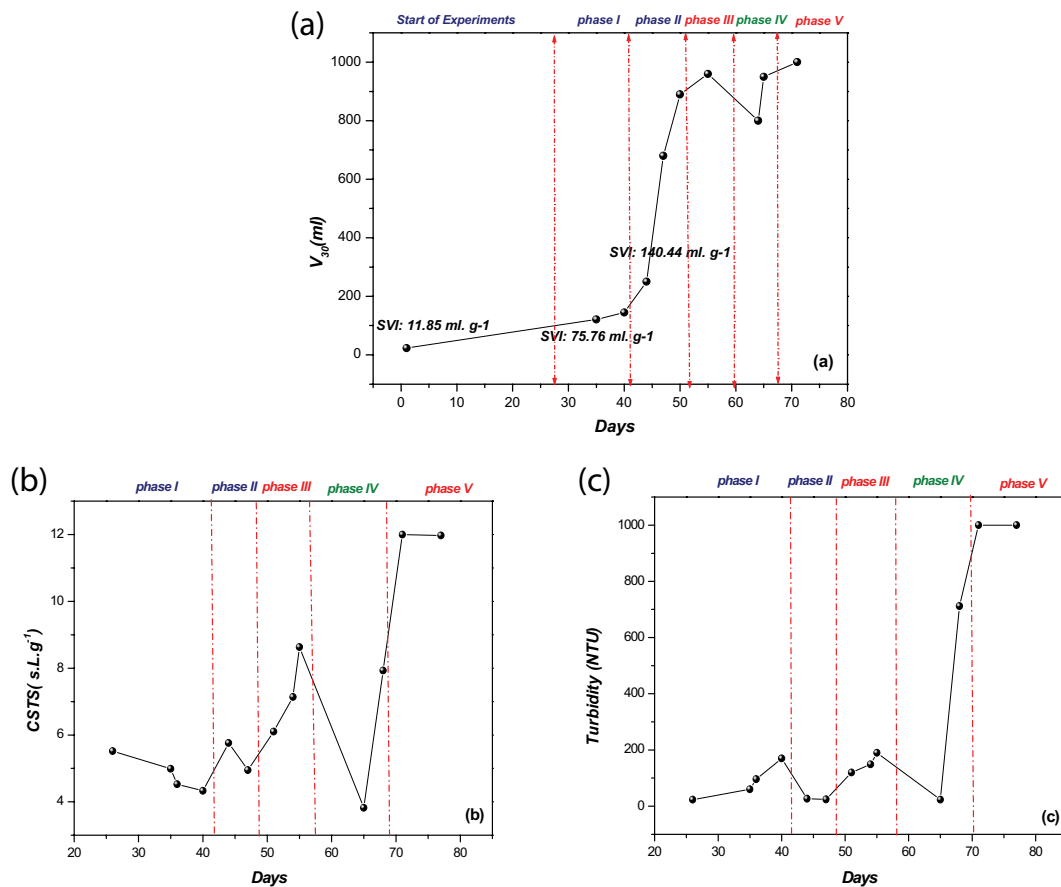


Fig. 5. Temporal Evolution of (a)  $V_{30}$  in each phase, (b) the standardized capillary suction time, and (c) the supernatant turbidity in the different phase.

flocculation gradually became lost from the 1st days of disturbance, passing on average from 5.35 s L g<sup>-1</sup> in phase II to 11.98 s L g<sup>-1</sup> in phase V (Fig. 5b).

This increase in capillary suction time particularly in phase V was rather due to the excessive proliferation of filaments (a weaving of filaments reducing this time). Although the precaution of standardizing the capillary suction time with respect to the concentration of TSS, was taken into account, except that this time was not standardized with respect to the viscosity of the reaction medium which gradually increased (based only on the visual estimation) to from phase III.

Although the disturbance in feeding caused enormous morphological changes inducing a reduction of the purification and settling capacities, remediation was reached by a correction of this deficit (phase IV).

### 3.2. Effect on the purification performance

Phase I was prolonged over a long period (39 d), but although the operating conditions were very favorable and the microorganisms seemed to be adapted (good activity and the mobility of some microorganism was observed microscopically), the treatment and decantation yields seemed to be unsatisfactory. As mentioned above a second phase (phase II) was imposed in order to improve the purification performances before applying the disturbances.

The improvement in purification performance was achieved by correcting the nitrogen deficiency in the synthetic substrate feeding the biological reactor, by an addition of excess nitrogen in the ammoniacal form (phase II).

The evolution of the abatement efficiencies of the various parameters of interest (COD<sub>T</sub> and COD<sub>S</sub>) are shown in Table 4 for the different monitoring phases. The nitrogen supply improved the state of the flocculation and also resulted in an improvement in the COD<sub>T</sub> and COD<sub>S</sub> abatement efficiency reaching 50.30% and 49.016%, respectively.

The purification yields were significantly reduced in the different phases following phase II, this could be due either to a reduction of the microbial activity or to a deflocculation of the microbial aggregates releasing their

intracellular components and thus contributing to an increase of the carbon load, measured as COD<sub>T</sub> or COD<sub>S</sub>.

Although a remediation step was applied for 15 d by the return to optimal feeding conditions in phase IV, the purification performance did not reach the desired purification level, probably this was also due to the operating mode of the used biological reactor (semi-continuous reactor) or the reduction in the microbial activity (considered in the next section).

### 3.3. Effect on microbial activity

The microbial activity was initially carried out in order to follow the adaptation of the microorganisms to the injected exogenous substrate (leached substrate) and then it was used to monitor the activity of the microbial flora presented in different morphological aspects. The microbial activity was evaluated by respirometric tests carried out after incubation of the mixed liquor taken from the biological reactor in a continuous aerated respirometer [39].

The respirometric tests were carried out by injecting the synthetic substrate into the respirometer, at low S<sub>0</sub>/X<sub>0</sub> ratios (0.04 mg COD/mg VSS) [40,41].

Respirometry tests allowed the estimation of oxygen transfer coefficients in the respirometer (K<sub>L</sub>a), endogenous respiration (OUR<sub>end</sub>), maximal exogenous respiration (OUR<sub>exomax</sub>), maximal total respiration (OUR<sub>tmax</sub>), and the total amount of oxygen consumed (QTO) [23]. These different parameters were evaluated in phase I, II, III, and V (Fig. 6).

It was noted that the endogenous release was performed by the sludge washing technique [42], for the first two respirometry experiences (liquor is taken in phase I and II) and by the technique of continuous aeration of the sludge for a time-varying between 16 and 24 h [43,44] before test, for the last two respirometry experiences (liquor taken in phase III and V), the second technique was applied because the increase in the sludge sail reducing the efficiency of the washing technique.

Initially, the amount of consumed oxygen and the exogenous maximum respiration were 58.608 mg L<sup>-1</sup> of the respirometer reactor and 166.32 mg L<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, respectively.

Table 1

Estimated monthly organic load expressed in TSS in the influents of the local WWTP for the last 5 y

Monthly TSS <sup>a</sup> (Tons)	1st year	2nd year	3rd year	4th year	5th year
January	7.43	12.4	2.94	5.736	–
February	13.1	7.77	3.03	10.40	5.261
March	8.49	5.79	2.98	6.615	4.956
April	5.29	4.80	5.04	6.361	4.287
May	7.68	7.17	5.70	7.670	4.531
June	4.28	5.82	4.94	5.480	5.167
July	6.56		5.61	6.092	4.544
August	7.02		6.45	3.493	6.017
September	6.26		4.15	4.656	5.526
October	1.24		4.72	4.662	5.106
November	1.48		5.54	3.557	4.603
December	8.39		6.35	3.355	4.080

<sup>a</sup>Monthly amounts of TSS were estimated by calculating the average of the daily quantities obtained and multiplying the daily concentration by the average daily flow.

A very interesting level of activity [45], where the amount of consumed oxygen increased by 24.37% when adding nitrogen (Table 2). This increase could be due either to the improvement of the microbial activity or to the nitrification of the nitrogen excess (increase of autotrophic activity microorganisms). However, it should be noted that a reduction in endogenous respiration estimated at 39.65% between phase I and phase II had been recorded as well as a reduction of the exogenous maximum respiration, since the availability of nitrogen would promote the synthesis (microbial multiplication of heterotrophs and autotrophs), hence a decrease in respiration. Two other respirometric tests were performed by reaching phase III and V and the results for these last two injections are shown in Table 5.

In addition to the morphological change of the microorganisms and after 62 d of experimentation (phase III), the microbial activity was reduced by 77.5% compared to the total quantity consumed and by 90.83% and 97.03% compared to the maximal exogenous and total respiration recorded in phase II, respectively.

This reduction was amplified after a reduction of a factor of 1/10 of the nutrients C, N, and P in the synthetic substrate feeding the reactor and was 91.52% compared to the total quantity consumed and by 92.22% and 92.55% in relation to maximal exogenous and total respiration, recorded in phase II, respectively.

Maximum respiration was significantly higher than endogenous respiration in phases I and II and despite the nutritional stress imposed, they remained higher but to a much lesser degree.

#### 4. Conclusions

The nature of the influent supplying sewage treatment plants is directly related to sanitation networks which unfortunately are often altered either by the clear water parasites or the septicity of the effluents.

The data from the local WWTP (IBN ZIAD STEP) over the last 5 y had been used to identify two major causes that

could disrupt the treatment process, citing the variation of the hydraulic load (sometimes caused by water parasites) and the variation of the organic load.

The purpose of this study was to explore the effect of food disturbances and nutritional deficiencies in the influent composition of WWTPs on the treatment efficiency, morphological status of microbial sludge, and their settling capacity.

To achieve these objectives, the experimental approach adopted consisted in analyzing the operation of a pilot of capacity of 20 L subjected to disturbances in the feeding of

Table 3  
Composition of leachate animal food used to feed the biological reactor

Parameter	Average value
pH	7.6
Conductivity ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	1,472
Salinity (%)	0.8
Turbidity (NTU)	36.5
TSS ( $\text{mg L}^{-1}$ )	483
VSS ( $\text{mg L}^{-1}$ )	465
$\text{COD}_T$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	778.17
$\text{COD}_5$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	763.29
$\text{N-NO}_3^-$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	0.013
$\text{N-NO}_2^-$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	0.033
$\text{N-NH}_4^+$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	6.72
$\text{N-N}_k$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	43.446
$\text{N-N}_{\text{Mineral}}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	6.766
$\text{N-N}_T$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	43.49
$\text{P-PO}_4^{3-}$ ( $\text{mg L}^{-1}$ )	0.1086
Ratio	
$\text{COD}_T/\text{N-N}_T/\text{P-PO}_4^{3-}$	100/5.58/0.0139
$\text{COD}_5/\text{COD}_T$	0.98
VSS/TSS	0.96

Table 2  
Estimated monthly organic load expressed in  $\text{BOD}_5$  in the influents of the local WWTP for the last 5 y

Monthly $\text{BOD}_5^a$ (Tons)	1st year	2nd year	3rd year	4th year	5th year
January	9.81	10.6	3.80	4.688	4.333
February	7.40	5.55	3.73	4.569	4.518
March	6.96	5.79	3.20	4.510	4.369
April	2.50	5.85	5.28	5.550	3.794
May	3.63	5.31	4.42	6.271	3.608
June	9.52	5.00	5.04	4.743	4.437
July			6.21	5.009	5.022
August			5.81	2.257	4.717
September			6.00	4.120	8.048
October			4.54	4.338	6.162
November			4.79	3.562	5.328
December	9.39		4.62	3.355	5.640

<sup>a</sup>Monthly amounts of  $\text{BOD}_5$  were estimated by calculating the average of the daily quantities obtained and multiplying the daily concentration by the average daily flow.

one of the nutritive elements (nitrogen), or of the totality of the organic load.

The analysis of the pilot's operation during the five stages of monitoring clearly showed the effect of feeding disturbances on the morphological state of the sludge, on the settling capacity, and on the purifications estimated in terms of COD. However, despite the important effect of these disturbances on microbial activity, it still existed.

The effect was assessed by quantifying several parameters and the results showed that the stabilization of the purification system could only be achieved by stabilizing the purification conditions and the composition of the influent feeding the WWTP, particularly purification and biological basins.

The measurements carried out on the pilot for more than 77 d confirmed the effect of these disturbances in feeding on the decantation of the activated sludge, their morphological state, and on their activity. The main conclusions are:

- Despite the short duration of the imposed disturbances, their effects were very significant.
- Nutrient deficiency (N) led to excessive proliferation of filaments, an opening of the structure of the aggregates, and thus a release of intracellular constituents, causing a disturbance in the purification and the settling yields.
- The effect of the deficit of major nutrients C, N, and P (dilution by parasite water) was greater compared to nitrogenous nutrient deficiency.

- Remediation could be achieved by correcting nutrient deficiencies.
- The accumulation of problems that may arise in a treatment plant (variation of hydraulic loads and organic loads, disruption of the power supply) complicates and aggravates the problems in the treatment plants.

Therefore, maintaining a stable mass load over time is one of the main conditions of the stability of the purification performance of sewage treatment plants. By controlling the discharge of wastewater into the urban plant or by installing regulatory basins upstream of the treatment plants, it is possible to preserve the operation of the treatment plants and avoid the problem of bulking which is difficult to control afterward.

### Symbols

- BOD<sub>5</sub> — Biochemical oxygen demand in 5 d, mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>
- COD<sub>s</sub> — Soluble chemical oxygen demand, mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>
- COD<sub>T</sub> — Total chemical oxygen demand, mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup>
- CST — Capillary suction time, second
- FI — Filamentous index
- K<sub>L</sub>a — Oxygen transfer coefficient, Time<sup>-1</sup>
- NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub> — Nitrite and nitrate concentration, mg L<sup>-1</sup>
- N-N<sub>K</sub> — Kjeldahl-nitrogen concentration, mg L<sup>-1</sup>

Table 4  
Variation in COD<sub>T</sub> and COD<sub>s</sub> abatement performance throughout the experimental period

Phases	COD <sub>T</sub> abatement efficiency	COD <sub>s</sub> abatement efficiency
Phase I	16.52	15.77
	28.69	5.20
	37.94	64.98
	38.094	16.86
	21.79	25.86
Phase II	22.72	25.46
	50.30	49.016
Phase III	-15.11	-67.34
	-1.054	-3.89
	-5.83	-2.17
Phase IV	-5.40	-11.63
Phase V	-1.93	-11.20

Table 5  
Parameters characterizing microbial activity in each phase

Parameter	S <sub>end</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	OUR <sub>end</sub> (mg L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	K <sub>L</sub> a (min <sup>-1</sup> )	OUR <sub>exomax</sub> (mg L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	OUR <sub>Tmax</sub> (mg L <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup> )	QTO (mg L <sup>-1</sup> )
Phase I	7.85	8.352	7.92	166.32	665.28	58.60
Phase II	8.03	5.04	5.76	86.4	387.07	72.89
Phase III	8.5	3.54	8.85	7.92	11.46	16.40
Phase V	8.1	3.84	4.8	6.72	28.8	6.18

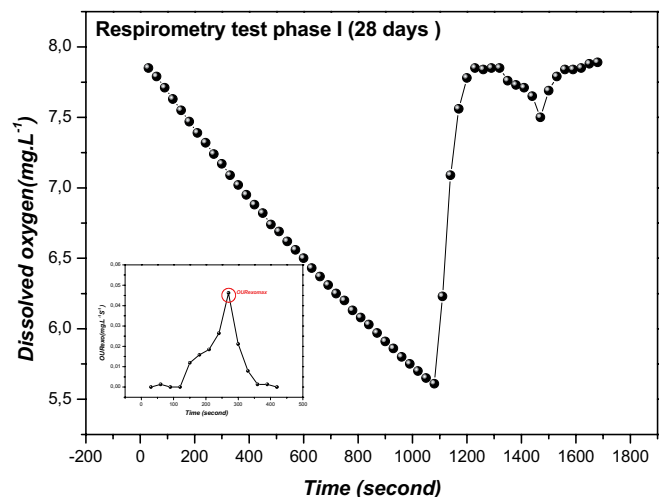


Fig. 6. Temporal evolution of dissolved oxygen and exogenous respiration in phase I.

$N-NH_4^+$	– Nitrogenous ammonia concentration, $mg L^{-1}$
$N-N_{Mineral}$	– Mineral nitrogen concentration, $mg L^{-1}$
$N-N_T$	– Total nitrogen concentration, $mg L^{-1}$
NTU	– Nephelometric turbidity unite
OUR	– Oxygen uptake rate, $mg O_2 L^{-1} min^{-1}$
$OUR_{end}$	– Endogenous oxygen uptake rate, $mg O_2 L^{-1} min^{-1}$
$OUR_{Tmax}$	– Maximum total respiration, $mg O_2 L^{-1} min^{-1}$
$OUR_{exomax}$	– Maximum exogenous respiration, $mg O_2 L^{-1} min^{-1}$
$PO_4^{3-}$	– Orthophosphate concentration, $mg L^{-1}$
QTO	– Amount of oxygen consumed, $mg/unit$ volume of the respirometric cell
$S_0$	– Oxygen concentration, $mg O_2 L^{-1}$
$S_{SO}$	– Saturated oxygen concentration, $mg O_2 L^{-1}$
$S_{end}$	– Endogenous oxygen concentration, $mg O_2 L^{-1}$
SVI	– Sludge volume index, $mL g^{-1}$
TSS/VSS	– Total and volatile suspended solids, $mg L^{-1}$
$V_{30}$	– Volume after 30 min of settling, $mL$

## References

- [1] J. Wanner, P. Grau, Identification of filamentous microorganisms from activated sludge: a compromise between wishes, needs and possibilities, *Water Res.*, 23 (1989) 2555–2570.
- [2] D. Jenkins, M.G. Richard, G.T. Daigger, *Manual on the Causes and Control of Activated Sludge Bulking and Foaming*, 2nd ed., Lewis Publishers, Michigan, 1993.
- [3] D.H. Eikelboom, *Process Control of Activated Sludge Plants by Microscopic Investigation*, IWA Publishing, London, 2000.
- [4] D.H. Eikelboom, B. Geurkink, Filamentous microorganisms observed in industrial activated sludge plants, *Water Sci. Technol.*, 46 (2002) 535–542.
- [5] Metcalf and Eddy, *Wastewater Engineering Treatment and Reuse*, International Edition ISBN 0-07-112250-8, 2001053724 CIP, Copyright®, McGraw-Hill, New York, NY, 2003.
- [6] M.H. Gerardi, *Settleability Problems and Loss of Solids in Activated Sludge Process*, John Wiley and Sons, Inc., Publication, USA, 2002.
- [7] W. Donaldson, Use Activated Sludge Increasing, *Civ. Eng.*, 2 (1932) 167–169.
- [8] L. Luoa, D. Lib, L. Baoa, J.Zhang, Filamentous sludge bulking recovery to a limited state for pollutant removal improvement using a novel gravity selector, *Desal. Water Treat.*, 135 (2018) 177–187.
- [9] N. Deepnaraina, M. Nasr, S. Kumaria, T. Stenströma, P. Reddyc, K. Pillaya, F. Buxa, Decision tree for identification and prediction of filamentous bulking at full-scale activated sludge wastewater treatment plant, *Process Saf. Environ. Prot.*, 126 (2019) 25–34.
- [10] Q.L. He, J. Zhang, S.X. Gao, L. Chen, W.L. Lyu, W. Zhang, J.Y. Song, X.L. Hu, R.F. Chen, H.Y. Wang, J. Yu, A comprehensive comparison between non-bulking and bulking aerobic granular sludge in microbial communities, *Bioresour. Technol.*, 294 (2019) 122151, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122151>.
- [11] D.R. de Graaff, M.C.M. van Loosdrecht, M. Pronk, Stable granulation of seawater-adapted aerobic granular sludge with filamentous Thiothrix bacteria, *Water Res.*, 175 (2020) 115683, doi: 10.1016/j.watres.2020.115683.
- [12] D. Jenkins, M.G. Richard, G.T. Daigger, *Manual on the Causes and Control of Activated Sludge, Bulking, Foaming, and Other Solids Separation Problems*, CRC Press Taylor et Francis Group, USA, 2004.
- [13] D.H. Eikelboom, *Process and Control of Activated Sludge Plants by Microscopic Investigation*, English ed., IWA Publishing, London, 2005.
- [14] R.S. Gale, R.C. Baskerville, Capillary suction method for determination of the filtration properties of a solid/liquid suspension, *Chem. Ind.*, 9 (1967) 355–356.
- [15] P.R. Karr, T.M. Keinath, Limitations of the specific resistance and CST tests for sludge dewaterability, *Filtr. Sep.*, 15 (1978) 543–544.
- [16] P.B. Sorensen, J.R. Christensen, J.H.E. Bruus, Effect of small scale solids migration in filter cakes filtration of wastewater solids suspensions, *Water Environ. Res.*, 67 (1995) 25–32.
- [17] G.H. Meeten, C. Lebreton, A filtration model of the capillary suction time method, *Pet. Sci. Eng.*, 9 (1993) 155–162.
- [18] M. Marinetti, S.K. Dentel, F. Malpei, L. Bonomo, Assessment of rheological methods for correlation to sludge filterability, *Water Res.*, 44 (2010) 5398–5406.
- [19] T.T. More, S. Yan, N.V. Hoang, R.D. Tyagi, R.Y. Surampalli, Bacterial polymer production using pre-treated sludge as raw material and its flocculation and dewatering, *Bioresour. Technol.*, 121 (2012) 425–431.
- [20] J. Rodier, B. Legube, N. Merlet, *Analyse de L'eau*, 9th ed., DUNOD, Paris, 2009.
- [21] M. Mahendraker, T. Viraraghavan, Respirometry in the environmental engineering, *Environ. Sci. Health*, 30 (1995) 713–734.
- [22] H. Spanjers, P. Vanrolleghem, G. Olsson, P. Dold, Respirometry in control of the activated sludge processes, *Water Sci. Technol.*, 36 (1996) 117–126.
- [23] R. Zamouche-Zerdazi, M. Bencheikh Lehocine, A.H. Meniai, Influence of endogenous OUR determination on the  $K_1a$ , exogenous OUR, total oxygen consumption and heterotrophic yield in a completely mixed batch reactor, *Int. J. Chem. Reactor Eng.*, 12 (2014) 695–704.
- [24] R. Jenné, C. Cenens, A.H. Geerard, J.F. Van Impe, Towards on line quantification of flocs and filaments by image analysis, *Biotechnol. Lett.*, 24 (2002) 931–935.
- [25] M. Schmid, A. Thill, U. Purkhol, M. Walcher, J.Y. Bottero, P. Ginestet, P.H. Nielsen, S. Weetz, M. Wagner, Characterization of activated flocs by confocal laser scanning microscopy and image analysis, *Water Res.*, 37 (2003) 2043–2052.
- [26] C. Lopez, M.N. Pons, E. Morgenroth, Evaluation of microscopic techniques (epifluorescence microscopy, GLSM, TPE-LSM) as a basis for the quantitative image analysis of activated sludge, *Water Res.*, 39 (2005) 468–546.
- [27] Kamen Pavlov Raev, Développement D'une Méthode Respirométrique Visant à Mesurer L'activité Biologique sur du Charbon Actif en Poudre, Thèse, Département De Génie Civil, École Polytechnique Géologique et des Mines de Montréal, 2010.
- [28] M.H. Gerardi, *Nitrification and Denitrification in the Activated Sludge Process*, John Wiley and Sons, Inc., New York, NY, 2002.
- [29] J.C. Palm, D. Jenkins, D.S. Parker, Relationship between organic loading, dissolved oxygen concentration and sludge settleability in the completely mixed activated sludge process, *J. Water Pollut. Control Fed.*, 52 (1980) 2484–2506.
- [30] J. Kappeler, W. Gujer, Development of a mathematical model for aerobic bulking, *Water Res.*, 28 (1994) 303–310.
- [31] B. Frolund, R. Palmgren, K. Keiding, P. Nielsen, Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation ion exchange resin, *Water Res.*, 30 (1996) 1749–1758.
- [32] W.O. Pipes, Bulking of activated sludge, *Adv. Appl. Microbiol.*, 9 (1967) 185–234.
- [33] M. Sezgin, D. Jenkins, D.S. Parkers, A unified theory of filamentous activated sludge bulking, *J. Water Pollut. Control Fed.*, 50 (1978) 362–381.
- [34] O.A. Lau, P.F. Strom, D. Jenkins, Growth kinetics of sphaerotilus natans and a floc former in pure and continuous culture, *J. Water Pollut. Control Fed.*, 56 (1984) 41–51.
- [35] M. Beccari, M. Majone, P. Massanisso, R. Ramadori, A bulking sludge with high storage response selected under intermittent feeding, *Water Res.*, 32 (1998) 3403–3413.



- [36] A.M.P. Martins, M.C.M. Van Loosdrecht, J.J. Heijnen, Effect of feeding pattern and storage on the sludge settleability under aerobic conditions, *Water Res.*, 37 (2003a) 2555–2570.
- [37] A.M.P. Martins, M.C.M. Van Loosdrecht, J.J. Heijnen, Effect of dissolved oxygen concentration on the sludge settleability, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 62 (2003b) 586–593.
- [38] X. Huacheng, H. Pinjing, Y. Guanghui, S. Liming, Effect of ultrasonic pretreatment on anaerobic digestion and its sludge dewaterability, *J. Environ. Sci.*, 23 (2011) 1472–1478.
- [39] M. Ros, M. Dular, P.A. Farka, Measurement of respiration of activated sludge, *Water Res.*, 22 (1988) 1405–1411.
- [40] P. Chudoba, B. Capdeville, J. Chudoba, Explanation of biological meaning of the  $S_0/X_0$  ratio in batch cultivation, *Water Sci. Technol.*, 26 (1992) 743–751.
- [41] M. Sakhraoui, R. Zamouche-Zerdazi, M. Bencheikh-Lehocine, A.-H. Meniai, Respirometric evaluation of  $S_0/X_0$  ratio effect on the kinetic and stoichiometric parameters of activated sludge, *Int. J. Hydrogen Energy*, 42 (2017) 12933–12942.
- [42] K. Direcks, P.F. Pind, H. Mosbaek, M. Henze, Yield determination by respirometry -the possible influence of storage under aerobic conditions in activated sludge, *Water SA*, 25 (1999) 69–74.
- [43] A. Alinsafi, N. Adouani, F. Beline, T. Lendormi, L. Limousy, O. Sire, Nitrite effect on nitrous oxide emission from denitrifying activated sludge, *Process Biochem.*, 43 (2008) 683–689.
- [44] U.J. Strotmann, A. Geldem, A. Kuhn, C. Gending, S. Klein, Evaluation of respirometric test method to determine the heterotrophic yield coefficient of activated sludge bacteria, *Chemosphere*, 38 (1998) 3555–3570.
- [45] G. Ekama, P. Dold, G. Marais, Procedures for determining influent COD fractions and the maximum specific growth rate of heterotrophs in activated sludge systems, *Water Sci. Technol.*, 18 (1986) 91–114.



## Role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dosage on methane production from tannery wastewater: experimental and kinetic study

Ouafa Achouri<sup>a</sup>, Antonio Panico<sup>b,\*</sup>, Mossaab Bencheikh-Lehocine<sup>a</sup>, Kerroum Derbal<sup>c</sup>, Dayana Arias<sup>d</sup>, Floriana Iasimone<sup>e</sup>, Roberta Padulano<sup>f</sup>, Meriem Bouteraa<sup>a</sup>, Amel Rebahi<sup>a</sup>, Francesco Pirozzi<sup>g</sup>

<sup>a</sup> Process Engineering Faculty, Environmental Engineering Department, University of Salah Bounbider Constantine 3, LIPE (laboratoire de l'Ingénierie des Procédés d'Environnement), Ali Mendjeli Nouvelle Ville, Constantine, Algeria

<sup>b</sup> Department of Engineering, University of Campania L. Vanvitelli, via Roma 29, 81031 Aversa, Italy

<sup>c</sup> Process Engineering Department, National Polytechnic School of Constantine, Bp 75, A, Nouvelle Ville RP, Constantine, Algeria

<sup>d</sup> Department of Chemical Engineering and Mineral Process, University of Antofagasta, Av. Angamos 601, Antofagasta, Chile

<sup>e</sup> Bioscience and Territory Department, University of Molise, C. da Fonte Lappone, 86090 Pesche, IS, Italy

<sup>f</sup> Regional Models and Geo-Hydrological Impacts (REMHI) Division, Fondazione Centro Euro-Mediterraneo sui Cambiamenti Climatici, Via T. A. Edison, 81100 Caserta, Italy

<sup>g</sup> Department of Civil, Architectural and Environmental Engineering, University of Naples Federico II, via Claudio 21, 80125 Naples, Italy

### ARTICLE INFO

#### Keywords:

Tannery wastewater  
Anaerobic digestion  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment  
Residual H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inhibition

### ABSTRACT

A pretreatment with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was conducted to improve the performance of the anaerobic digestion (AD) process for a partial treatment of tannery wastewater (TWW). Four different H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dosages (0.5, 1, 2, and 4 g/L) were tested by adding to TWW different volumes of a 30% (m/v) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution in order to improve the biodegradability of TWW organic load and decrease the total Cr concentration. Indeed, a less total Cr concentration was detected in pretreated samples that showed a minimum removal efficiency of 11% and a maximum removal efficiency of 41%. Moreover, several Biomethane Potential tests (BMP) were conducted to assess the enhanced biodegradability of pretreated TWW. Methane yields resulted in 594, 1151, 1090, 767, and 525 mL CH<sub>4</sub>/g TVS for the unpretreated TWW and for those pretreated with 0.5, 1, 2, and 4 g/L of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, respectively. BMP tests proved that the best pretreatment condition for TWW, in terms of methane production and consequently total COD reduction, was achieved with a low dosage of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (0.5 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/L), corresponding to 1.0·10<sup>-4</sup> g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/g TVS and 3.2·10<sup>-5</sup> g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/g COD, whereas the highest dosage (4 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/L) was not related to the highest methane yield. Such contradictory results highlights the relevance of an appropriate dosage of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Finally, a kinetic study was also conducted.

### 1. Introduction

Anaerobic digestion (AD) is a biological process, commonly used to stabilize and somehow sanitize, in an oxygen-free environment, organic solid waste prior to its final disposal or, alternatively, reuse in agriculture. AD process involves different groups of microorganisms that convert organic solids into biogas (a gas mixture, mainly composed of

CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub>), thus reducing the mass of organic solids to be disposed of and their potential dangerousness for the environment and human health [1]. Such process is also considered suitable and convenient for the treatment of various industrial wastewaters to reduce their organic load and recover energy from them [2–4]. Wastewaters from tannery factories are promising candidates to be treated by AD on the basis of their high organic load [5,6]. Tannery wastewaters (TWW) are

*Abbreviations:* A, Ultimate specific methane yield (mL CH<sub>4</sub>/g TVS); AD, Anaerobic digestion; BMP, Biomethane potential; GM, Modified Gompertz model; LF, Logistic function; r, Shape coefficient of the RM.; RM, Richards model; sCOD, Soluble chemical oxygen demand (mg/L); SS, Suspended solids (mg/L); t, Incubation time (d); tCOD, Total chemical oxygen demand (mg/L); TDS, Total dissolved solids (mg/L); TKN, Total Kjeldahl nitrogen (mg/L); TS, Total solids (mg/L); TVS, Total volatile solids (mg/L); TWW, Tannery wastewater; VSS, Volatile suspended solids (mg/L); WAS, Waste activated sludge; WWTP, Wastewater treatment plant; Y, Cumulative specific methane yield (mL CH<sub>4</sub>/g TVS); μ<sub>m</sub>, Maximum specific methane yield rate [mL CH<sub>4</sub>/(gTVS·d)]; λ, Lag phase (d).

\* Corresponding author.

E-mail address: [antonio.panico1@unicampania.it](mailto:antonio.panico1@unicampania.it) (A. Panico).

<https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102313>

Received 20 February 2021; Received in revised form 3 September 2021; Accepted 5 September 2021

Available online 17 September 2021

2214-7144/© 2021 Elsevier Ltd. All rights reserved.

universally known as one of the most polluting industrial effluents. Chromium used in the form of basic chromium sulfate ( $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$ ) for the treatment of hides presents harmful effects when it is not removed prior to discharging wastewater into the environment because of its toxicity. Furthermore, it is very persistent in the environment and not biodegradable [7]. Different methods are used to remove chromium from wastewater, such as chemical reduction followed by precipitation, ion exchange, bioremediation and membrane technologies [8]. Chemical precipitation is a process widely used in wastewater treatment for the removal of potentially toxic elements (PTEs) such as Cr. After adjusting the pH to basic conditions, the dissolved metal ions are converted into insoluble solids by adding an alkali [7]. According to Modhave and Shinde [9] at pH between 6.5 and 7.0, more than 99.0% of Cr(III) precipitates. Moreover, TWW are characterized for an extremely various composition depending on amount of water used, chemicals added and the final product of the tannery process. Therefore the average composition of TWW is as follow: (i) total COD (tCOD) concentration of 6200 mg/L; (ii) suspended solid (SS) content of 5300 mg/L; (iii) total dissolved solids (TDS) concentration of 37,000 mg/L including chromium, sulphate, chloride; (iv) total Kjeldahl nitrogen (TKN) concentration of 273 mg/L; (iv)  $\text{N-NH}_3$  and  $\text{PO}_4^{2-}$  concentrations of 153 and 21 mg/L respectively [10]. The high and fluctuating organic content as well as salinity, often, due to toxic compounds, make the treatment of TWW with traditional biological processes critical [11]. Nevertheless, thanks to low technology as well as costs required, such processes are the only affordable in developing countries, where the leather production is concentrated [12]. Therefore, the biological treatment of TWW has been investigated by various authors in aerobic conditions as well as in anaerobic conditions [13–16]. A unique treatment of the high-load TWW by AD aimed at its discharge into superficial waters is not enough to avoid environmental contamination, because its low efficiency (e.g. not higher than 60%) in removing total volatile solids (TVS) as well as its long reaction times [17]. Moreover, AD could turn into a factor of economic income thanks to the valorization of biogas to power and/or biomethane [18]. On the other hand, AD process, under optimal controlled conditions, is a very promising method suitable for the partial treatment of high-load TWW, thus resulting in the following benefits: i) moderate biosolids production; ii) low energy consumption; iii) high biogas yields [19]. Despite the above mentioned benefits from AD, its performance, in terms of organic load removal and biogas production, needs to be enhanced to make this process more attractive. The main limitation in treating TWW with AD is the hydrolysis stage of the AD process that is particularly slow, thus making the whole AD process, significantly slow [20]. Many strategies to reduce time required by hydrolysis stage, including chemical, physical, biological, and combined pretreatments have been tested [21,22]. Therefore, on the last decades, studies focused on enhancing the biodegradability of organic solids for biogas production in anaerobic conditions have been extensively conducted [23,24]. Among them, those concerning the hydrolyzation of organic solids have resulted in being the most encouraging. In particular, oxidation by hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) has gained interest for its proven effectiveness, wide availability, easy conduction, moderate costs and harmless by-products.  $\text{H}_2\text{O}_2$  is one of the most powerful oxidants. It is used to perform advanced oxidation processes (AOPs) and it is efficient to remove a wide variety of pollutants dissolved in water such as cyanides, nitrite, hypochlorite, phenol aromatics, formaldehyde, sulfite, thiosulfate, sulfide as well as organic compounds [25]. When  $\text{H}_2\text{O}_2$  reacts,  $\text{H}_2\text{O}_2$  is exothermically decomposed to  $\text{H}_2\text{O}$  and  $\text{O}_2$ . The oxidation reaction rate depends on the temperature, pH and presence of impurities and stabilizers [25,26]. Unlike conventional inorganic oxidizing agents such as chlorine and hypochlorite,  $\text{H}_2\text{O}_2$  releases no noxious or polluting by-products. From the literature, the effectiveness of  $\text{H}_2\text{O}_2$  in promoting the solubilization of organic solids is firmly proven, but the detrimental effects of a  $\text{H}_2\text{O}_2$  overdosage are less explored. A  $\text{H}_2\text{O}_2$  overdosage can result in an excessive reduction of COD and consequently an unsatisfactory biogas production as well as in setting not optimal

environmental conditions for microorganisms. Actually, it is well known that  $\text{H}_2\text{O}_2$  damages cells. Feki et al. [27] studied, in batch tests, several pretreatments, including oxidation by  $\text{H}_2\text{O}_2$ , on waste-activated sludge (WAS). The experiments were carried out to assess the effect of different operational parameters such as  $\text{H}_2\text{O}_2$  concentration, reaction time and pH. Researchers found promising results as  $\text{H}_2\text{O}_2$  oxidation, under optimal operational conditions (1.8 g  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{L}$ , 2 h of reaction time and pH 3.0) enhanced the organic solids solubilization rate by 19.2% and increased the biogas production volume by 30.2% approximately [27]. Moreover, Siddique et al. [28] investigated the effect of  $\text{H}_2\text{O}_2$  on petrochemical wastewater in a continuous stirred tank reactor (CSTR). They experimentally observed: i) an increase of the biodegradability index (BOD/COD) up to 35%; ii) an enhancement of methane yield; iii) a remarkable COD removal by  $98 \pm 0.5\%$ ,  $95 \pm 0.05\%$  and  $79 \pm 0.06\%$  with 9, 6 and 4 days of hydraulic retention time (HRT), respectively. Finally, Kameswari et al. [29] found an optimal  $\text{H}_2\text{O}_2$  dosages of 0.3 g  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{g}$  TS to treat sludge from tannery wastewater. Such treatments increased the soluble COD (sCOD) content by 43.5% and 29.6% in primary and secondary sludge, respectively. According to the previous considerations, this study was focused on finding the optimal  $\text{H}_2\text{O}_2$  dosage to increase the biodegradability of a real TWW and consequently promote the conversion of the organic matter into biogas through AD process. The expected results from AD are: (i) an effluent with a lower COD content than raw TWW; (ii) an energy vector that can supply electric power [30]. Both results, in addition to a low cost oxidant (i.e.  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) for the pretreatment, contribute to make feasible a complete treatment of TWW, less costly and easier to conduct than those traditional (i.e. physico-chemical and conventional or advanced aerobic biological processes). Such type of integrated treatment can be, therefore, affordable in developing countries where TWW are mostly produced and sometimes not adequately treated because of finance scarcity and technological gap. Results from this manuscript can be reasonably useful to implement this type of treatment process and such a consideration makes relevant this work. In order to understand comprehensively the role of  $\text{H}_2\text{O}_2$  pretreatment on AD process performance, the methane yield curves from biomethane potential tests (BMP) have been modelled with three kinetic models: the modified Gompertz model (GM), Logistics function model (LF) and Richard model (RM).

## 2. Materials and methods

### 2.1. Tannery wastewater

TWW was collected from the Tannery Manufacturer DMD s.p.a. located in Solofra, Italy. TWW was composed of two liquid waste streams, both coming from tanning process: the first stream was produced from the pretanning step (soaking, fleshing, unhairing, liming, etc...) and the second from the main tanning step (chrome tanning followed by synthetic tanning) and dyeing. The wastewater used for the experiments was obtained by mixing the two liquid waste streams according to a ratio of 50:50 (% v/v). The resulting TWW mixture was stored at 4 °C before further use. The TWW mixture was physically and chemically analyzed according to methods reported in Section 2.5, showing the following main characteristics: pH =  $4.12 \pm 0.10$ , TS =  $9681 \pm 115$  mg/L, TVS =  $5126 \pm 125$  mg/L, tCOD =  $15,721 \pm 210$  mg/L, sCOD =  $13,303 \pm 252$  mg/L, total Cr =  $146 \pm 4$  mg/L.

### 2.2. Inoculum

Waste activated sludge (WAS) from the municipal wastewater treatment plant (WWTP) located in Nola, Italy, was used as inoculum for the AD process. WAS was degassed for 30 days at  $35 \pm 2$  °C in air-tight batch reactors with the aim of adapting the inoculum to the new operating conditions (i.e. anaerobic) and reducing the content of the residual organic matter present in the sludge.

**Table 1**

Set up of BMP tests.

BMP test	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (g/L)	TVS (mg/ L)	TWW (mL)	Inoculum (mL)	Tap water (mL)	Nutrient solution (mL)
Unpretreated	–	5126 ± 125	203.0 ± 0.5	100.0 ± 0.5	277.0 ± 0.5	20.0 ± 0.5
R1	0.5	4740 ± 104	219.5 ± 0.5	100.0 ± 0.5	260.4 ± 0.5	20.0 ± 0.5
R2	1	4430 ± 133	235.0 ± 0.5	100.0 ± 0.5	245.1 ± 0.5	20.0 ± 0.5
R3	2	4440 ± 97	234.4 ± 0.5	100.0 ± 0.5	245.6 ± 0.5	20.0 ± 0.5
R4	4	4240 ± 102	245.4 ± 0.5	100.0 ± 0.5	234.5 ± 0.5	20.0 ± 0.5

### 2.3. Oxidation with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

TWW was pretreated with a 30% (m/v) liquid solution containing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in order to promote the solubilization of organic solids and decrease the total Cr concentration. According to the method described by Kameswari et al. [29] pH of the TWW was adjusted to 3.0 by using H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Such a pH provides favorable conditions for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> decomposition. Once the pH was set at 3.0, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution was added to 800 mL TWW samples up to reach H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentrations of 0.5, 1, 2, and 4 g/L, respectively. In order to study the effect of total Cr removal, each TWW sample was used to fill 4 beakers that were stirred for 10, 20, 30, and 60 min, respectively, at 300 rpm by using a non-heating 6 positions 50–850 rpm magnetic stirrer (VELP; France). The oxidation pretreatment was carried out at room temperature (i.e. 25 °C). After 30 min of settling, liquid samples were collected from the supernatant of each beaker and analyzed for total Cr concentration. The effectiveness of the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment was evaluated by calculating the variation of total Cr concentrations according to the following Eq. (1):

$$\text{total Cr (\%)} = \left| \frac{\text{total Cr}_{\text{fin}} - \text{total Cr}_{\text{in}}}{\text{total Cr}_{\text{in}}} \right| \cdot 100 \quad (1)$$

where *total Cr* is the concentration (mg/L) of total chromium; the subscripts *fin* and *in* stand for final and initial and they are used to differentiate the concentrations of the chemical parameter at the end (*fin*) and at the beginning (*in*) of the oxidation pretreatment, respectively.

### 2.4. BMP tests

According to a previous work [32] the inoculum/substrate ratio (I/S) was set equal to 1.5 (w/w) in terms of TVS. BMP tests were conducted on TWW samples that resulted in the best performance in terms of total Cr removal and biodegradability increase. BMP tests were carried out in 1000 mL serum Schott (Germany) bottles with air-tight caps equipped with a system composed of capillary pipes and valves useful to collect biogas. Different volumes of pretreated as well as unpretreated (control test) samples of TWW were mixed with a fixed 100 mL volume of degassed WAS (see Section 2.2) according to achieve the same I/S ratio for all the BMP tests. A solution containing micro and macronutrients (see Table 2) was also added to each TWW sample to provide nutrients during the incubation time. Furthermore, tap water was added to all BMP reactors up to set a working volume of 600 mL. Finally, pH was adjusted to 7 for all the BMP tests using a solution of NaOH (1 N), in order to have a favorable conditions for the growth of methanogenic archaea. Prior to sealing the BMP test reactors, nitrogen gas was sparged for 2–3 min to set anaerobic conditions. BMP test reactors were placed in a water bath kept at a constant temperature of 35 ± 2 °C. Details about the setup of BMP tests are reported in Table 1. All tests were conducted in triplicate. A second control test was conducted by filling the BMP test reactor with sole inoculum (100 mL), tap water (480 mL) and nutrient solution (20 mL) in order to measure the eventual production of

methane from the inoculum.

### 2.5. Analytical methods

Several physical and chemical parameters were measured on TWW samples, as follow: pH was measured using a pH meter (pH/ION, 340i, Germany); TS, TVS, tCOD, sCOD, were measured according to the standard analytical methods for water and wastewater [33]; total Cr<sup>-</sup> was measured using the Atomic Absorption Spectrometer (Spect AA. VARIAN, Australia). Biogas production was daily measured by the liquid displacement method [32]. The liquid solution was acidified by adding HCl solution up to reach 2% HCl (m/v) in order to avoid gas solubilization in the liquid. The composition of biogas was analyzed by gas chromatograph (GC, Varian Star 3400, Australia) equipped with a ShinCarbon ST 80/100 column and a thermal conductivity detector with an inject temperature of 120 °C. Argon was used as carrier gas, operated with a flow rate of 20 mL/min at 50 °C.

### 2.6. Kinetic study

Three kinetic models for the AD process were used to understand the effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment on the process performance [34]. Several models have been proposed in the literature to calculate kinetic parameters of the AD process [35,36]. Among them, in this study, GM, LF and RM (Eqs. (2), (3) and (4), respectively) were applied to fit the experimental cumulative methane yield curve. LF assumes that the rate of gas production is proportional to microbial activity. Also GM assumes that the rate of gas production is proportional to the microbial activity, but the coefficient of proportionality is not constant with time, but decreases with it, according to first-order kinetics. RM, which is a generalization of LF, considers a fourth parameter (*r*) that enables flexibility in drawing the shape of the cumulative methane yield curve [37].

$$Y = A \cdot \exp \left[ - \exp \left( \frac{\mu_m \cdot e}{A} \right) \cdot (\lambda - t) + 1 \right] \quad (2)$$

$$Y = \frac{A}{\left[ 1 + \exp \left( \frac{A - \mu_m}{A} \right) \cdot (\lambda - t) + 2 \right]} \quad (3)$$

$$Y = A \cdot \left\{ 1 - \left[ 1 + (r - 1) \cdot e^r \cdot \exp \left( \frac{\mu_m}{A} \cdot d^{\frac{r}{r-1}} \cdot (\lambda - t) \right) \right]^{1/(1-r)} \right\} \text{ With } r \neq 1 \quad (4)$$

where, respectively:

*Y* is the cumulative methane yield (mL CH<sub>4</sub>/g TVS); *A* the ultimate methane yield (mL CH<sub>4</sub>/gTVS);  $\mu_m$  is the maximum methane yield rate [mL CH<sub>4</sub>/(gTVS·d)];  $\lambda$  is the lag phase (d), *t* is the AD time (d), *e* is equal to 2.72 and *r* is the shape coefficient of the cumulative methane yield curve.

Origin 9 software was used to perform nonlinear regression analyses on experimental data fitted by GM, LF and RM. The effectiveness of the model fitting was evaluated by the regression coefficient (R<sup>2</sup>).

## 3. Results and discussion

### 3.1. Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment on total Cr removal

In the present study, pH of the solution was lowered from 4.12 to 3, in order to promote the action of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> according to Ghosh et al. [38]. Fig. 1 shows the effect of this pretreatment process on total Cr removal. With an initial concentration of 146.16 mg/L, the addition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> promoted the partial removal of total Cr by 11% to 41%, as minimum and maximum, for the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dosages of 0.5 and 4 g/L respectively. According to these results, it is evident that the total Cr removal efficiency

**Table 2**  
Composition of the nutrient solution [31].

Macronutrient	Concentration (mg/L)	Micronutrient	Concentration (mg/L)
NH <sub>4</sub> Cl	1112.0	FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	5.00
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	132.5	ZnCl <sub>2</sub>	0.13
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	44.50	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1.25
MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	250.0	(NH <sub>4</sub> ) 6MO <sub>7</sub> O <sub>24</sub> ·4H <sub>2</sub> O	1.60
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	189.0	AlCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.13
NaHCO <sub>3</sub>	2500.0	CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	5.00
–	–	NiCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	13.00
–	–	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	3.00
–	–	CuCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	8.00
–	–	HCl	1.00

increases with the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dosage. Moreover, as chromium could result in being toxic for microorganisms involved in the AD process [39], its removal improves the biodegradability of TWW. The reduction of total Cr concentration at low pH was an unexpected result, as such conditions are not ideal for metal salts precipitation. Anyway, this result is likely a consequence of an increase of Cr (III) concentration after the reduction of Cr(VI) to Cr(III) provided by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as well as an increase of pH due to the consumption of H<sub>3</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> ions [40]. The resulting higher Cr(III) concentration could have promoted the precipitation of chromium sulphate and/or chromium chloride and/or chromium hydroxide also at low pH thanks to the high concentration of sulphate and chlorides in TWW and the increased concentrations of Cr(III) and pH value after H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment [41].

### 3.2. Effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment on methane production

BMP tests were performed and monitored during 40 days of incubation. Volumes of methane were calculated according to STP (standard temperature and pressure) conditions.

Methane yields curves from the pretreated TWW samples as well as that untreated are plotted in Fig. 2. From this figure, it can be noticed that the highest methane yield was unexpectedly produced from BMP test R1 where total Cr concentration was the highest, after H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment and the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dosage was the lowest. Whereas methane yield from BMP test R4 (highest H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dosage and lowest total Cr concentration) was even lower than that from the control BMP test (untreated TWW sample). Methane yields from BMP test R3 was unsatisfactorily as well, despite the low total Cr content. At the end of the incubation time, methane yield from BMP test R3 was higher than that from the control BMP test but significantly lower than those from BMP tests R2 and, especially, R1. The specific methane yield rate was significantly high for BMP tests R1 and R2: the exponential phase took place after 5 days of incubation and the methane yield increased with time much more than production from BMP tests R3 and R4. Eskicioglu et al. [42] working on sewage sludge pretreated with 1 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/g TS, found a similar effect of the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment: although the sCOD increased by 200%, the methane yield was lower by 25% than that from the control test. Such phenomenon can be explained by the presence of the residual H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> that has not reacted with the organic matter during the pretreatment process and is capable to hinder the microorganism activity. The highest residual H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentrations were probably present in TWW samples pretreated with the highest H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dosages. These TWW samples were used to conduct BMP tests R3 and R4 and both tests showed a relatively low methane yield (from BMP test R4 even less than BMP test R3). Therefore, the residual H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> could have effectively inhibited the activity of microorganisms. Such considerations are in agreement with observations raised by Liu et al. [43]: the authors conducted AD on sewage sludge and found out that stages of hydrolysis, acidification and methanogenesis were inhibited by the residual H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, in particular activity of methanogenic archaea was seriously affected as the acetic acid progressively accumulated during the first days of incubation, thus reaching the

maximum concentration of 2700 mg/L. Their intuition was proven when they used catalase to break down the residual H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the pretreated sewage sludge. The results were remarkable: after 10 min, more than 2000 mg/L of residual H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the pretreated sludge was decomposed and the lag phase in the methane production curves was consequently reduced to 0.5 days. Therefore, taking also into account the results published by Feki et al. [27], the use of excessive amounts of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> can affect negatively the efficiency of the overall biodegradation process. This aspect was further corroborated by Wang et al. [44] that noticed that anaerobic bacteria were the most sensitive to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, as their growth in batch reactors was limited by both H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dosages of 0.25 and 5 mg/L. Such results confirmed that the residual H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was responsible for the low methane yield from BMP tests R3 and R4. A comprehensive study on the cell growth inhibition mechanisms promoted by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was conducted by Linley et al. [45]. The authors report that such inhibition occurs on the basis of two different mechanisms: 1) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> can damage cell DNA-associated iron through radicals produced by Fenton chemistry, immediately proximate to the DNA chain; 2) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> can oxidize proteins and lipids and play, therefore, the role of metabolism inhibiting agent. The first mechanism is limited by the amount of DNA-associated iron and therefore the rate of damaged DNA can result to be not proportional to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration, whereas the second mechanism is closely linked to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> availability and the inhibition effect can become more serious with the increase of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration.

The methane yield obtained after 40 days of incubation were respectively 594.80 ± 18.26, 1151.36 ± 21.95, 1090.58 ± 42.36, 767.32 ± 12.54 and 525.85 ± 54.72 mL CH<sub>4</sub>/g TVS for the untreated TWW sample and those pretreated with 0.5 (R1), 1 (R2), 2(R3), and 4 g/L (R4) of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Such yields were higher than that from the control BMP test by 94%, 83%, and 29% for R1, R2, and R3 respectively, whereas R4 showed a methane yield lower than that from the control BMP test by 12%.

The successful results obtained from BMP tests R1 and R2 are in agreement with those obtained by other researchers that focused their studies on the evaluation of the effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment on the production of methane and biogas from various substrates [27,43,46–50]. Song et al. [51] found out that pre-treating rice straws with 4% and 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (w/w) resulted in biogas productions of 327.5 and 319.7 mL/g VS, respectively. Such values were higher by 30.2% approximately than those obtained from the untreated sample. A combination of nitrous acid (HNO<sub>2</sub>) with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to pretreat WAS significantly improved the methane production by a range from 59 to 83% [52]. A thermal H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidation treatment aimed at improving the production of biogas was tested by Cacho Rivero et al. [17]: the authors proved that when WAS was thermo-oxidized with 2 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/g VSS at a temperature of 90 °C, the production of biogas increased more than that produced by thermal or oxidative pretreatment conducted singularly. Furthermore, the pretreatment of WAS under temperature of 60 °C and 74.2 mM of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> increased biogas production by 32.8% compared to that produced from the untreated sample. All the previously reported examples show the positive effect of oxidation by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on anaerobic digestion and no one the detrimental effect of residual H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. In the above mentioned papers, the high process temperature likely avoided the presence of dissolved residual H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in the liquid bulk, thanks to the reduced gas solubility as consequence of the high temperature. In addition, the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment improved also the composition of biogas. From Fig. 3, it can be noticed that the average fraction of methane in biogas increased from 64 ± 4% of the BMP control test to 80 ± 4%, 79 ± 4%, 77 ± 4% and 74 ± 4% respectively from BMP tests R1, R2, R3 and R4, thus achieving a maximum enhancement of 15%.

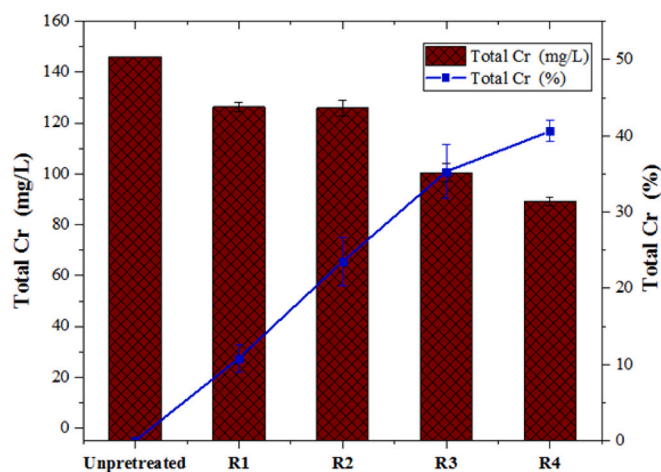
### 3.3. Effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment on total COD removal

Fig. 4 shows the removal efficiency of tCOD after AD process for the pretreated as well as untreated TWW samples. As expected, tCOD removal efficiency was more remarkable in TWW samples that produced

**Table 3**

Kinetic parameters estimated with (a) Modified Gompertz model, (b) Logistic function model and (c) Richards model.

(a) Modified Gompertz model						
BMP test	Y mL CH <sub>4</sub> /g TVS	A mL CH <sub>4</sub> /g TVS	μm mL CH <sub>4</sub> /(g TVS-d)	λ d	R <sup>2</sup>	
Unpretreated	594.80 ± 12.20	622.46 ± 7.99	25.17 ± 0.22	0.58 ± 0.05	0.991	
R1 (0.5 g H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /L)	1151.36 ± 11.51	1197.04 ± 10.34	57.21 ± 0.14	2.18 ± 0.04	0.995	
R2 (1 g H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /L)	1090.57 ± 6.12	1136.71 ± 11.07	58.50 ± 0.16	3.47 ± 0.04	0.995	
R3 (2 g H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /L)	767.32 ± 11.40	855.03 ± 22.41	31.43 ± 0.40	2.89 ± 0.07	0.984	
R4 (4 g H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /L)	525.85 ± 4.28	533.75 ± 5.61	22.39 ± 0.17	0.31 ± 0.03	0.995	
(b) Logistic function model						
BMP test	Y mL CH <sub>4</sub> /g TVS	A mL CH <sub>4</sub> /g TVS	μm mL CH <sub>4</sub> /(g TVS-d)	λ d	R <sup>2</sup>	
Unpretreated	594.80 ± 12.20	598.59 ± 4.85	26.93 ± 0.19	0.55 ± 0.05	0.994	
R1 (0.5 g H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /L)	1151.36 ± 11.51	1157.43 ± 10.34	60.76 ± 0.10	3.16 ± 0.04	0.998	
R2 (1 g H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /L)	1090.57 ± 6.12	1097.68 ± 5.36	57.62 ± 0.10	3.85 ± 0.04	0.998	
R3 (2 g H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /L)	767.32 ± 11.40	799.81 ± 10.23	35.99 ± 0.27	4.85 ± 0.07	0.991	
R4 (4 g H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /L)	525.85 ± 4.28	530.58 ± 5.36	22.54 ± 0.23	0.91 ± 0.06	0.992	
(c) Richard model						
BMP test	Y mL CH <sub>4</sub> /g TVS	A mL CH <sub>4</sub> /g TVS	μm mL CH <sub>4</sub> /(g TVS-d)	r	λ d	R <sup>2</sup>
Unpretreated	594.80 ± 12.20	596.02 ± 6.05	26.83 ± 0.65	2.18 ± 0.18	0.50 ± 0.02	0.994
R1 (0.5 g H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /L)	1151.36 ± 11.51	1162.77 ± 6.94	68.39 ± 0.32	1.79 ± 0.14	2.96 ± 0.03	0.998
R2 (1 g H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /L)	1090.57 ± 6.12	1100.15 ± 6.75	59.78 ± 0.32	1.89 ± 0.16	2.76 ± 0.04	0.998
R3 (2 g H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /L)	767.32 ± 11.40	766.45 ± 6.36	42.26 ± 0.39	4.64 ± 0.01	2.50 ± 0.05	0.995
R4 (4 g H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /L)	525.85 ± 4.28	557.11 ± 9.04	21.47 ± 0.74	0.91 ± 0.03	0.90 ± 0.09	0.995

**Fig. 1.** Removal of total Cr after pretreatment with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

higher amounts of methane. The maximum efficiency in removing tCOD was achieved in BMP test R1. The tCOD removal efficiency ranged from 57 ± 4% for the unpretreated TWW sample to 73 ± 3% and 71 ± 2% for TWW samples used for BMP tests R1 and R2, respectively. Whereas for BMP tests R3 and R4 tCOD removal was less efficient, thus achieving reductions of 59 ± 4% and 46 ± 4% respectively. Compared to unpretreated TWW sample, that pretreated with the lowest H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dosage (i.e. 0.5 g/L) increased the tCOD removal by approximately 30%. Such results are in agreement with those published by Siddique et al. [28] that studied the effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on the anaerobic co-digestion of petrochemical wastewater in a CSTR. The results obtained with HRTs of 9 and 6 days showed an almost complete tCOD removal with efficiencies of 98 ± 0.05% and 95 ± 0.05%, respectively for the petrochemical wastewater pretreated with a concentration of 1% (m/v) of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, whereas the efficiencies achieved for the unpretreated petrochemical wastewater accounted for 30 ± 2.5% and 33 ± 2.2% for 9 and 6 days of HRT,

respectively. The highest tCOD removal efficiencies reached by Siddique et al. [28] compared to those obtained from the present study are likely due to the different characteristics of the wastewater and the different hydraulic configuration of the system. In this study batch feeding and not mixed reactors were used, whereas Siddique et al. [28] used a CSTR. In such a reactor configuration, the contact between substrate and microorganisms as well as the supply of new substrate and the removal of noxious metabolites are favored, thus providing better conditions for the biological degradation process.

#### 3.4. Effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment on TS and TVS removal

Fig. 5 shows results of TS and TVS removal efficiency from AD process. After 40 days of incubation, TS removal efficiency for unpretreated TWW sample was equal to 24 ± 4%, whereas in TWW samples pretreated with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> the removal efficiencies were 43 ± 3%, 54 ± 4%, 28 ± 5% and 31 ± 3% from BMP tests R1, R2, R3 and R4, respectively. Similar results were obtained by Cacho Rivero et al. [53] performing a pretreatment on a municipal WWTP sludge with 2 g H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/g VSS. The TS removal efficiency increased by 19% approximately compared to the unpretreated sample. The effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on the disintegration as well as hydrolyzation of the organic solids was evident for BMP test R4, especially, where, despite the low methane yield, the TS removal efficiency was comparable to those obtained from the other BMP tests. In this specific case, the chemical oxidation effect prevailed on the biological oxidation effect. The TVS removal efficiency was also examined: enhancements of TVS removal were mainly due to the oxidation pretreatment that, disintegrating and hydrolyzing organic solids, promoted their biodegradation during AD process [25].

The TVS removal efficiency ranged from 45 ± 3% to 87 ± 3% with the maximum reached for BMP test R1. This result corroborates the highest methane yield achieved from BMP test R1. The TVS removal efficiency obtained from the unpretreated TWW sample was equal to 49 ± 4%, therefore that achieved from BMP test R1 was higher by almost 39%. Such a value represents the improvement due to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment.

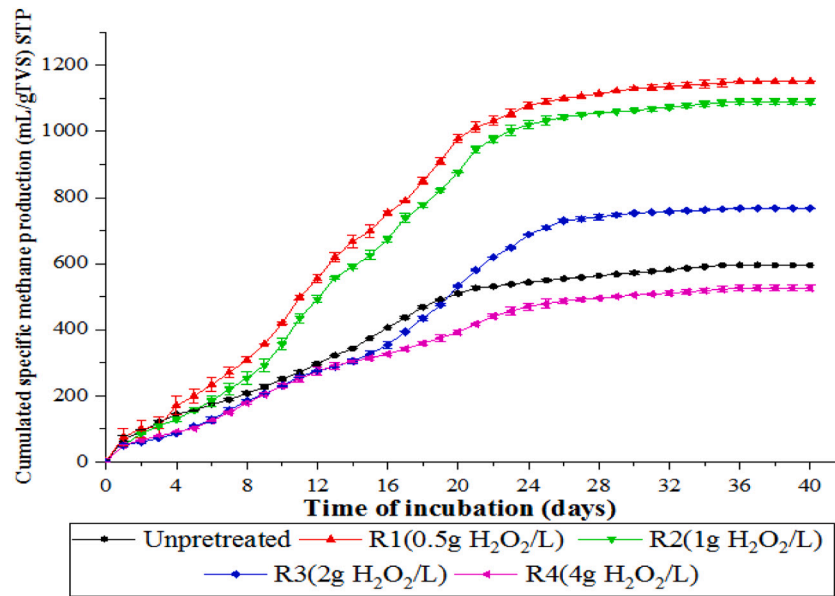


Fig. 2. Methane yield (mL CH<sub>4</sub>/g TVS).

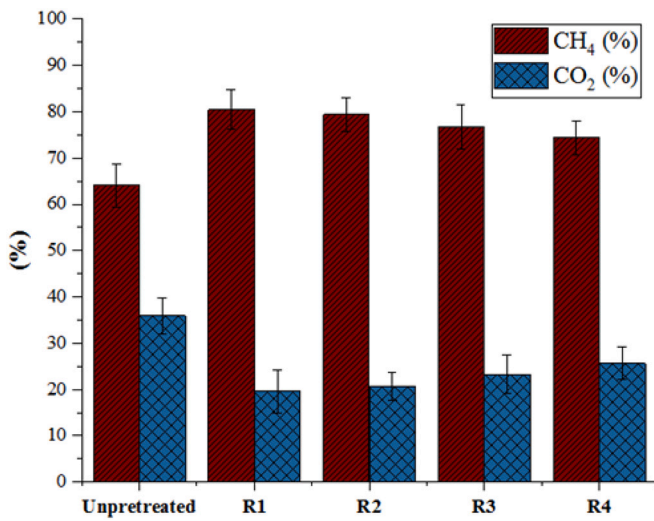


Fig. 3. Biogas composition.

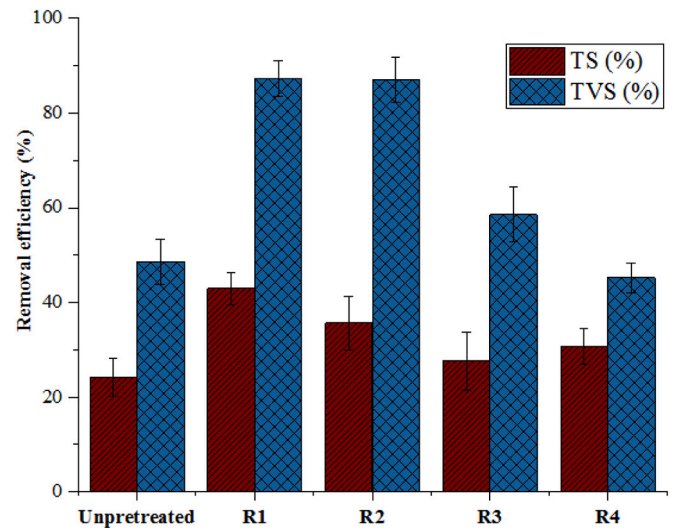


Fig. 5. TS and TVS removal efficiency.

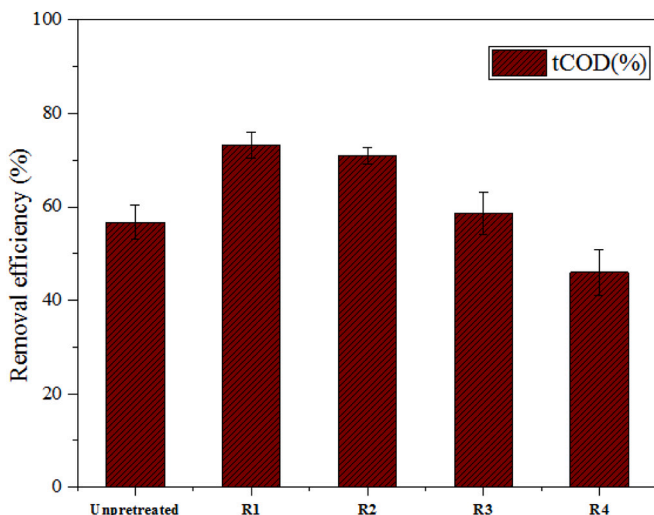


Fig. 4. Total COD removal efficiency.

### 3.5. The effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment on the kinetics of methane production

The kinetic study was carried out by fitting the experimental methane yield curves obtained from the BMP tests with the three kinetic models mentioned above (i.e. Section 2.6): GM, LF and RM.

Fig. 6 and Table 3 show a general agreement between the simulated and experimental data for the three kinetic models. The relative correlation coefficients ( $R^2$ ) for RM were constantly higher than 0.994, ranging from 0.994 and 0.998, whereas  $R^2$  for GM ranged from 0.984 to 0.995 and  $R^2$  for LF ranged from 0.991 and 0.998, as shown in Table 3. From a careful analysis of results in Table 3 and curves in Fig. 6, the exponential phase begins earlier, and consequently, the duration of the lag phase decreases by increasing the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dosage. According to results reported in Table 3, the methane yield is overestimated by GM in a range of 1.5% and 11.4%.

Moreover, the fitting results of LF for BMP tests R1 and R2 are satisfactory: the overestimation of A is about 1.0% for the control test, 0.5%, 0.6%, 4.2% and 1.0% for BMP tests R1, R2, R3, and R4,

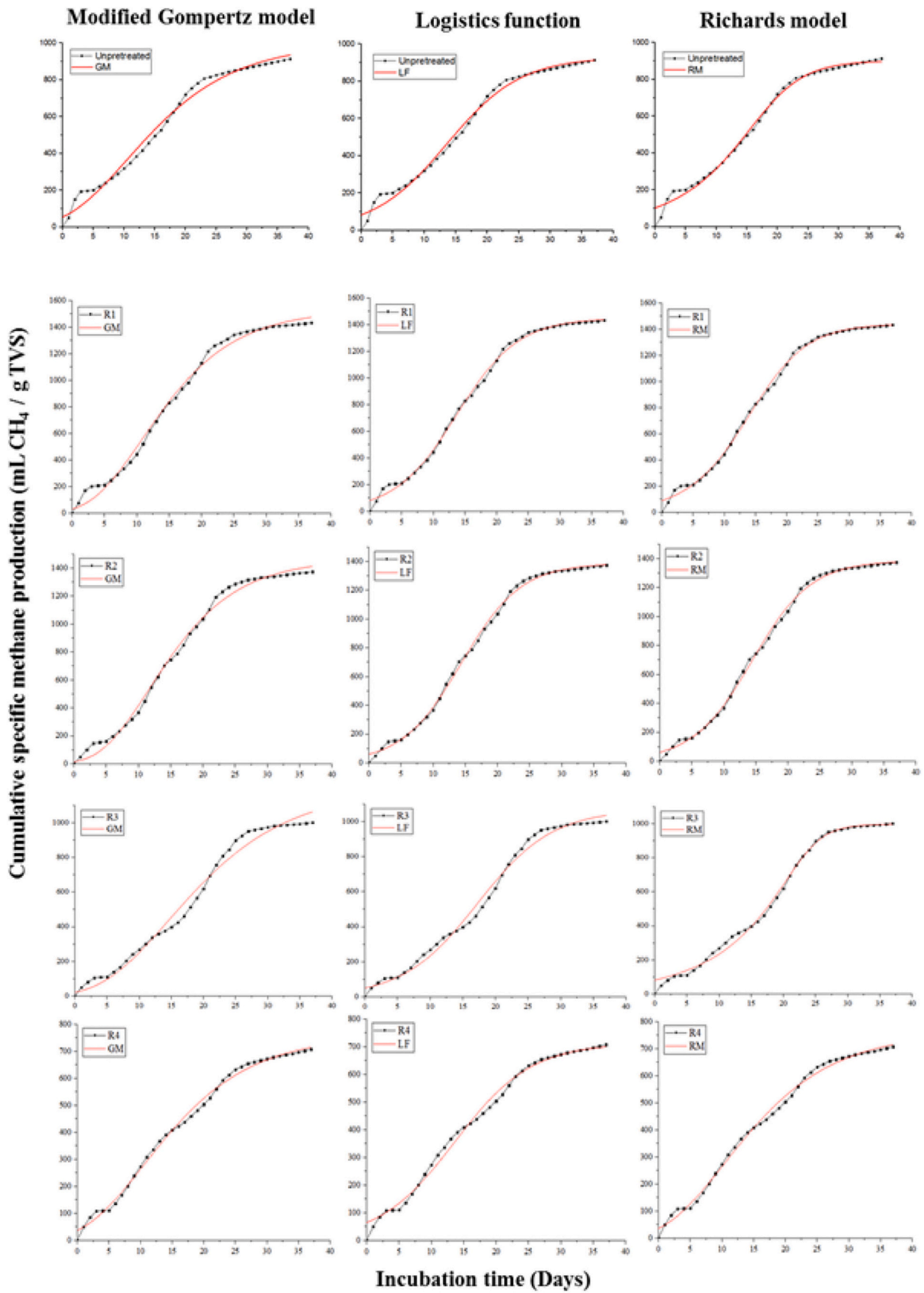


Fig. 6. Comparison between experimental methane yields and those simulated by models.



respectively. In regards to RM, the fitting results are similar or even better to those obtained with LF. The higher reliability is evident by observing the methane yield curves in Fig. 6 as well as calculating algebraically  $R^2$  (constantly higher than 0.994) that is reported in Table 3. Moreover, also RM overestimates the parameter  $A$ , but the overestimation is less significant: 0.3% for the control BMP test, and 1.0% and 0.9% for BMP tests R1 and R2 respectively. The effect of oxidation pretreatment is evident in  $\mu m$ , which increased considerably after pretreatment, as estimated by the three models. Such parameter shows similar values for the three models. It ranges from 22.39 to 58.50 mL  $CH_4$ /(g TVS·d) for GM, from 22.54 to 60.76 mL  $CH_4$ /(g TVS·d) for LF and from 21.47 to 68.39 mL  $CH_4$ /(g TVS·d) for RM. In order to further confirm the reliability of the kinetic models in predicting experimental data,  $\mu m$  was also calculated directly as the slope of the exponential phase in the curves of Fig. 2. The relative results are as follow: 29.57 mL  $CH_4$ /(g TVS·d) for the control BMP test, and 62.42, 57.85, 40.25, and 27.21 mL  $CH_4$ /(g TVS·d) for BMP tests R1, R2, R3 and R4, respectively. Such results are significantly close to those simulated by LF and RM that therefore can be considered powerful tools in predicting the performance of AD process fed with TWW pretreated with  $H_2O_2$ . The inhibiting effect of the residual  $H_2O_2$  can be clearly noticed through kinetic parameters estimated by the three models. In particular, analyzing results obtained with RM that showed better adherence to experimental data, all the BMP tests filled with pretreated TWW samples resulted in a longer  $\lambda$  ( $2.96 \pm 0.03$  d,  $2.76 \pm 0.04$  d,  $2.50 \pm 0.05$  d,  $0.90 \pm 0.09$  d for R1, R2, R3 and R4, respectively) than BMP test filled with the unpretreated TWW ( $\lambda = 0.50 \pm 0.02$ d). Such a result highlights that microorganisms required a longer time for adapting to the presence of the residual  $H_2O_2$ .

Moreover, the inhibiting effect of the residual  $H_2O_2$  occurring in BMP tests R3 and R4 is evident observing  $A$  and  $\mu m$  values estimated by RM from BMP test R3 [ $A = 766.45 \pm 6.36$  mL  $CH_4$ /g TVS,  $\mu m = 42.26 \pm 0.39$  mL  $CH_4$ /(g TVS d)] and BMP test R4 [ $A = 557.11 \pm 9.04$  mL  $CH_4$ /g TVS,  $\mu m = 21.47 \pm 0.74$  mL  $CH_4$ /(g TVS d)] that are significantly lower than those from BMP test R1 [ $A = 1162.77 \pm 6.94$  mL  $CH_4$ /g TVS,  $\mu m = 68.39 \pm 0.32$  mL  $CH_4$ /(g TVS d)] and BMP test R2 [ $A = 1100.15 \pm 6.75$  mL  $CH_4$ /g TVS,  $\mu m = 59.78 \pm 0.32$  mL  $CH_4$ /(g TVS d)].

#### 4. Conclusion

The results of this study proved that the  $H_2O_2$  pretreatment of TWW promotes an improvement of AD process, up to increase the methane yield by 94% compared to unpretreated TWW. On the other hand, the experimental activities highlighted the critical aspect of a proper  $H_2O_2$  dosage that, otherwise, could generate an unexpected worsening of the AD process performance, up to reduce the methane yield by 12% compared to unpretreated TWW. Further studies are necessary to comprehensively understand and consequently mitigate the inhibiting effect of residual  $H_2O_2$  in order to avoid serious loss in AD process performance. Finally, this work confirmed the usefulness of kinetic models to estimate and compare the bio-kinetic parameters of the AD process.

#### Declaration of competing interest

The authors have no affiliation with any organization with a direct or indirect financial interest in the subject matter discussed in the manuscript.

#### Acknowledgments

This research has been conducted in the framework of the International Project AL16M002 of Scientific and Technological Cooperation 2016–2018 promoted by the Ministries of Foreign Affairs of Algeria and Italy.

The authors want to express their gratitude to Dr. Gaetano Maffei

and Michele de Maio of DMD spa Factory in Solofra and Dr. Gianpiero Cesaro of the Municipal Wastewater Treatment Plant of Nola.

#### References

- [1] E. Albini, I. Pecorini, G. Ferrara, Improvement of digestate stability using dark fermentation and anaerobic digestion processes, *Energies* 12 (2019) 1–16, <https://doi.org/10.3390/en12183552>.
- [2] M.A. Musa, S. Idrus, C.M. Hasfalina, N.N.N. Daud, Effect of organic loading rate on anaerobic digestion performance of mesophilic (UASB) reactor using cattle slaughterhouse wastewater as substrate, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15 (2018), <https://doi.org/10.3390/ijerph15102220>.
- [3] S. Papirio, S. Matassa, F. Pirozzi, G. Esposito, Anaerobic co-digestion of cheese whey and industrial hemp residues opens new perspectives for the valorization of Agri-food waste, *Energies* 13 (2020) 2820, <https://doi.org/10.3390/en13112820>.
- [4] G. Zhen, X. Lu, H. Kato, Y. Zhao, Y.Y. Li, Overview of pretreatment strategies for enhancing sewage sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: current advances, full-scale application and future perspectives, *Renew. Sust. Energ. Rev.* 69 (2017) 559–577, <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.11.187>.
- [5] M. Chowdhury, M.G. Mostafa, T.K. Biswas, A. Mandal, A.K. Saha, Characterization of the effluents from leather processing industries, *Environ. Process.* 2 (2015) 173–187, <https://doi.org/10.1007/s40710-015-0065-7>.
- [6] I.M. Crăciun, G. Vlad, D. Ignat, R. Mocanu, C.M. Berkesy, M. Some, Leather industry waste material energetic valorisation by anaerobic digestion thanks to a multi-phase process, *AES Bioflux* 9 (37–44) (2017) (ISSN: 2066-7620).
- [7] B. Mella, A.C.C. Glanert, M. Gutterres, Removal of chromium from tanning wastewater by chemical precipitation and electrocoagulation, *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists* 100 (2016) 55–61, <https://doi.org/10.1016/j.psep.2015.03.007>.
- [8] U. Durán, K.G. Coronado-Apodaca, E.R. Meza-Escalante, G. Ulloa-Mercado, D. Serrano, Two combined mechanisms responsible to hexavalent chromium removal on active anaerobic granular consortium, *Chemosphere* 198 (2018) 191–197, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.01.024>.
- [9] S.S. Modhave, D.R. Shinde, Hydrogen peroxide and activated charcoal mediated removal of chromium from chrome electroplating effluent, *Int. J. Sci. Eng. Res.* 4 (2013) 1091–1095 (ISSN 2229–5518).
- [10] G. Durai, M. Rajasimman, Biological treatment of tannery wastewater - a review, *J. Environ. Sci. Technol.* 4 (1) (2011) 1–17, <https://doi.org/10.3923/jest.2011.1.17>.
- [11] A. Mudhoo, S. Kumar, Effects of heavy metals as stress factors on anaerobic digestion processes and biogas production from biomass, *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 10 (2013) 1383–1398, <https://doi.org/10.1007/s13762-012-0167-y>.
- [12] B.B. Yusif, K.A. Bichi, O.A. Oyekunle, A.I. Girei, P.Y. Garba, F.H. Garba, A review of tannery effluent treatment, in: *Int. J. Appl. Sci. Math. Theory* vol. 2, 2016, pp. 29–43 (ISSN: 2489-009X).
- [13] V. Antony, P.C. Sabumon, S.V. Srinivasan, Enhanced anaerobic digestion of tannery primary sludge using pre-treatment techniques, *Int. J. Environ. Waste Manag.* 18 (2016) 24–42, <https://doi.org/10.1504/IJEW.2016.080260>.
- [14] S. Berhe, S. Leta, Anaerobic co-digestion of tannery waste water and tannery solid waste using two-stage anaerobic sequencing batch reactor: focus on performances of methanogenic step, *Journal of Material Cycles and Waste Management* 20 (2018) 1468–1482, <https://doi.org/10.1007/s10163-018-0706-9>.
- [15] A. Mekonnen, S. Leta, K.N. Njau, Anaerobic treatment of tannery wastewater using ASBR for methane recovery and greenhouse gas emission mitigation, *J. Water Process Eng.* 19 (2017) 231–238, <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.07.008>.
- [16] G.P.S. Priebe, E. Kipper, A.L. Gusmão, N.R. Marcilio, M. Gutterres, Anaerobic digestion of chrome-tanned leather waste for biogas production, *J. Clean. Prod.* 129 (2016) 410–416, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.04.038>.
- [17] J.A. Cacho Rivero, N. Madhavan, M.T. Suidan, P. Ginestet, J.-M. Audic, Enhancement of anaerobic digestion of excess municipal sludge with thermal and/or oxidative treatment, *J. Environ. Eng.* 132 (2006) 638–644, [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(2006\)132:6\(638\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(2006)132:6(638)).
- [18] D. Hayelom, A. Adhena, Tannery waste water treatment: a review, *Int. J. Emerg. Trends Sci. Technol.* 1 (2016) 1488–14494.
- [19] H. Shahriari, M. Warith, M. Hamoda, K.J. Kennedy, Anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste combining two pretreatment modalities, high temperature microwave and hydrogen peroxide, *Waste Manag.* 32 (2012) 41–52, <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.08.012>.
- [20] A. Panico, G. d'Antonio, G. Esposito, L. Frunzo, P. Iodice, F. Pirozzi, The effect of substrate-bulk interaction on hydrolysis modeling in anaerobic digestion process, *Sustainability* 6 (12) (2014) 8348–8363, <https://doi.org/10.3390/su6128348>.
- [21] Z.W. He, C.C. Tang, W.Z. Liu, Y.X. Ren, Z.C. Guo, A.J. Zhou, L. Wang, C.X. Yang, A. J. Wang, Enhanced short-chain fatty acids production from waste activated sludge with alkaline followed by potassium ferrate treatment, *Bioresour. Technol.* 289 (2019), 121642, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121642>.
- [22] Z.W. He, C.X. Yang, C.C. Tang, W.Z. Liu, A.J. Zhou, Y.X. Ren, A.J. Wang, Response of anaerobic digestion of waste activated sludge to residual ferric ions, *Bioresour. Technol.* 322 (2021), 124536, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124536>.
- [23] J. Ariunbaatar, A. Panico, G. Esposito, F. Pirozzi, P.N.L. Lens, Pretreatment methods to enhance anaerobic digestion of organic solid waste, *Appl. Energy* 123 (2014) 143–156, <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2014.02.035>.
- [24] Y. Wang, Y. Wei, J. Liu, Effect of  $H_2O_2$  dosing strategy on sludge pretreatment by microwave- $H_2O_2$  advanced oxidation process, *J. Hazard. Mater.* 169 (2009) 680–684, <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.04.001>.

- [25] T.H. Kim, S.R. Lee, Y.K. Nam, J. Yang, C. Park, M. Lee, Disintegration of excess activated sludge by hydrogen peroxide oxidation, *Desalination* 246 (2009) 275–284, <https://doi.org/10.1016/j.desal.2008.06.023>.
- [26] A.S. Stasinakis, Use of selected advanced oxidation processes (AOPs) for wastewater treatment—a mini review, *Glob. Nest J.* 10 (2008) 376–385, <https://doi.org/10.30955/gnj.000598>.
- [27] E. Feki, S. Khoufi, S. Loukil, S. Sayadi, Improvement of anaerobic digestion of waste-activated sludge by using H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidation, electrolysis, electro-oxidation and thermo-alkaline pretreatments, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22 (2015) 14717–14726, <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4677-2>.
- [28] N.I. Siddique, M. Sakinah, A. Munaim, A.W. Zularisam, Role of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) enhanced anaerobic co-digestion of petrochemical wastewater on cycle time minimization during biomethanation, *Acad. journals* 8 (2013) 996–1009, <https://doi.org/10.5897/SRE12.268>.
- [29] K.S.B. Kameswari, C. Kalyanaraman, K. Thanasekaran, Evaluation of various pre-treatment processes on tannery sludge for enhancement of soluble chemical oxygen demand, *Clean Techn. Environ. Policy* 16 (2014) 369–376, <https://doi.org/10.1007/s10098-013-0632-4>.
- [30] A.B. Mpofu, O.O. Oyekola, P.J. Welz, Anaerobic treatment of tannery wastewater in the context of a circular bioeconomy for developing countries, *J. Clean. Prod.* (2021), 126490, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126490>.
- [31] F.A. Aguilar Aguilar, D.L. Nelson, L.D.A. Pantoja, A. Soares Dos Santos, Study of anaerobic co-digestion of crude glycerol and swine manure for the production of biogas, *Rev. Virtual Quim.* 9 (2017) 2384–2403, <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20170142>.
- [32] O. Achouri, A. Panico, M. Bencheikh-Lehocine, K. Derbal, P. Fisasas, Effect of chemical coagulation pretreatment on anaerobic digestion of tannery wastewater, *J. Environ. Eng.* (2017), [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0001235](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001235).
- [33] APHA/AWWA/WEF, *Standard methods for the examination of water and wastewater*, *Stand. Methods* 541 (2012) ([https://doi.org/ISBN 9780875532356](https://doi.org/ISBN%209780875532356)).
- [34] N. Kythreoutou, G. Florides, S.A. Tassou, A review of simple to scientific models for anaerobic digestion, *Renew. Energy* 71 (2014) 701–714, <https://doi.org/10.1016/j.renene.2014.05.055>.
- [35] A. Donoso-Bravo, S.I. Pérez-Elvira, F. Fdz-Polanco, Application of simplified models for anaerobic biodegradability tests. Evaluation of pre-treatment processes, *Chem. Eng. J.* 160 (2010) 607–614, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.03.082>.
- [36] D.H. Kim, S.H. Hyun, Kinetics of Thermophilic anaerobic digestion and effects of propionate on Thermophilic anaerobic digestion, *Journal of Environmental Science & Engineering* 6 (2004) 58–63.
- [37] J.M. Beuving, J. Kogut, Modeling gas production kinetics of grass silages incubated with buffered ruminal fluid, *J. Anim. Sci.* 71 (1993) 1041–1046 (<https://doi.org/10.1093/jas/71.10.1041>).
- [38] P. Ghosh, R. Kumar, A.N. Samanta, S. Ray, Decontamination of tannery industry wastewater containing high organic load along with Cr<sup>3+</sup>: a comparative study, *Asia Pac. J. Chem. Eng.* 8 (5) (2013) 645–656, <https://doi.org/10.1002/apj.1705>.
- [39] E. Vaiopoulou, P. Gikas, Effects of chromium on activated sludge and on the performance of wastewater treatment plants: a review, *Water Res.* 46 (2012) 549–570, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.11.024>.
- [40] M. Pettine, L. Campanella, F.J. Millero, Reduction of hexavalent chromium by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in acidic solutions, *Environ. Sci. Technol.* 36 (2002) 901–907, <https://doi.org/10.1021/es010086b>.
- [41] C. Seigneur, E. Constantinou, Chemical kinetic mechanism for atmospheric chromium, *Environ. Sci. Technol.* 29 (1) (1995) 222–231, <https://doi.org/10.1021/es00001a029>.
- [42] C. Eskicioglu, A. Prorot, J. Marin, R.L. Droste, K.J. Kennedy, Synergetic pretreatment of sewage sludge by microwave irradiation in presence of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for enhanced anaerobic digestion, *Water Res.* 42 (2008) 4674–4682, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.08.010>.
- [43] J. Liu, R. Jia, Y. Wang, Y. Wei, J. Zhang, R. Wang, X. Cai, Does residual H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> result in inhibitory effect on enhanced anaerobic digestion of sludge pretreated by microwave-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment process? *Environ. Sci. Pollut. Res.* (2015) <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5704-z>.
- [44] F. Wang, D. van Halem, G. Liu, K. Lekkerkerker-Teunissen, J.P. van der Hoek, Effect of residual H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> from advanced oxidation processes on subsequent biological water treatment: a laboratory batch study, *Chemosphere* 185 (2017) 637–646, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.073>.
- [45] E. Linley, S.P. Denyer, G. McDonnell, C. Simons, J.Y. Maillard, Use of hydrogen peroxide as a biocide: new consideration of its mechanisms of biocidal action, *J. Antimicrob. Chemother.* 67 (2012) 1589–1596, <https://doi.org/10.1093/jac/dks129>.
- [46] Z.N. Abudi, Z. Hu, B. Xiao, A.R. Abood, N. Rajaa, M. Laghari, Effects of pretreatments on thickened waste activated sludge and rice straw co-digestion: experimental and modeling study, *J. Environ. Manag.* 177 (2016) 213–222, <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2016.04.028>.
- [47] P. Eswari, S. Kavitha, S. Kaliappan, I.T. Yeom, J.R. Banu, Enhancement of sludge anaerobic biodegradability by combined microwave-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pretreatment in acidic conditions, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23 (2016) 13467–13479, <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6543-2>.
- [48] E. Özön, A. Erdinçler, Effects of microwave, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/MW and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/heat pretreatments on the methane production from wastewater sludges: experimental and modeling approach, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26 (2019) 35411–35421, <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05190-2>.
- [49] S. Siami, B. Aminzadeh, R. Karimi, S.M. Hallaji, Process optimization and effect of thermal, alkaline, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidation and combination pretreatment of sewage sludge on solubilization and anaerobic digestion, *BMC Biotechnol.* 20 (2020) 21, <https://doi.org/10.1186/s12896-020-00614-1>.
- [50] S. Siami, B. Aminzadeh, R. Karimi, S.M. Hallaji, Process optimization and effect of thermal, alkaline, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidation and combination pretreatment of sewage sludge on solubilization and anaerobic digestion, *BMC Biotechnol.* 20 (2020), <https://doi.org/10.1186/s12896-020-00614-1>.
- [51] Z. Song, G. Yang, Y. Guo, T. Zhang, Comparison of two chemical pretreatments of rice straw for biogas production by anaerobic digestion, *BioResources* 7 (2012) 3223–3236, <https://doi.org/10.15376/biores.7.3.3223-3236>.
- [52] T. Zhang, Q. Wang, L. Ye, D. Batstone, Z. Yuan, Combined free nitrous acid and hydrogen peroxide pre-treatment of waste activated sludge enhances methane production via organic molecule breakdown, *Sci. Rep.* 5 (2015) 1–9, <https://doi.org/10.1038/srep16631>.
- [53] J.A. Cacho Rivero, N. Madhavan, M.T. Suidan, P. Ginestet, J. Audic, Oxidative co-treatment using hydrogen peroxide with anaerobic digestion of excess municipal sludge, *Water Environ. Res.* 78 (2006) 691–700, <https://doi.org/10.2175/106143006X101647>.

# The best process from energy recovery of the Waste Kitchen university restaurants

M. Bencheikh Lehocine\*, R. Zamouche-Zerdazi\*, O. Achouri, M Bouteraa,

H. Bounakja, N. Chaibi, A.H.Meniai

Laboratory of Environmental Process Engineering (LIPE), Faculty of Process Engineering, University Salah Bounider Constantine 3, University City Ali Mendjli 25000 Constantine, Algeria.

[email:mossaab.bencheikh@gmail.com](mailto:mossaab.bencheikh@gmail.com).

Date of submission:03/03/2021

Date of acceptance:16/07/2021

Date of publication: 22/09/2021

## Abstract

*This work is part of the perspective of sustainable development and within the framework of the eco-campus project, which avoids the use of energy-intensive treatment processes and is oriented towards extensive rustic processes, we examined the anaerobic treatment process of waste from restaurants of Saleh Bounider Constantine 03 University residences, which generates 737.44 tons of kitchen waste with current student capacity.*

*The primary objective of this study is to manage this waste, through the use of anaerobic digestion. The biodegradation of crushed kitchen waste was assessed by two routes: anaerobic using the Biochemical Methane Potential test and aerobic using respirometric tests, several parameters to cite the digestion conditions (thermophilic and mesophilic), the Inoculum substrate report were carried out (from 0.5 to 4), as well as the possibility of considering adding paper recovered from waste from the same university to stimulate the system.*

*The maximum production of methane is obtained for an optimal I / S ratio of 0.5, allowing an energy recovery of 112 mL. g TVS<sup>-1</sup> and 416 mL. g TVS<sup>-1</sup> of methane for mesophilic and thermophilic respectively, a production which experienced a marked improvement reaching 106.97 and 215.30% after adjustment of pH by adding paper for I / S equal to 3.5 and 4 respectively.*

**Keys Word:** Biodegradability, Anaerobic Digestion, Respirometry, Kitchen Waste, Methanogenic Potential.

## I. Introduction

The aim of this study was to evaluate the anaerobic digestion (AD) of kitchen waste from University restaurants Salah Bounider Constantine 3. The success of this process depends on the biodegradability of the substrate used [1]. Indeed, AD tests are basically anaerobic biodegradability tests. However, these require very long residence times [2], which limits the use of this type of test. Therefore, continuous aeration respirometry was used in parallel to possibly find a correlation between the two tests in order to use respirometry as a preliminary test to the AD tests. Biochemical Methane Potential (BMP) test were performed under

mesophilic conditions (37 ° C) and thermophilic conditions (55 ° C).

In order to monitor the effect of AD treatment, it was necessary to characterize the kitchen waste macroscopically by identifying the different foodstuffs on the one hand and to characterize them in terms of pollution parameters (COD, SS, TS, TVS, pH etc.) on the other hand. In addition, the secondary sludge from the local station of OUED EUTHMANIA was also characterized as being used as an inoculum in both test series (BMP test and respirometric tests) as well as the characterization of biogas in terms of volume and composition.

## II. Materials and methods

### II.1. Inoculum

The sludge used in this study comes from the local wastewater treatment plant of OUED EL-EUTHMANIA in Milacity, mainly treating effluents of domestic origin. In order to overcome the residual substrate and to adapt to the conditions of the tests envisaged; sludge samples were post-washed in bottles under anaerobic conditions and at the respective temperatures of the mesophilic and thermophilic conditions for 15 days, in order to promote the growth of anaerobes adapted to the substrate in question and to the respective operating conditions.

### II.2. Waste collection

One kilogram of waste was collected in each kitchen of the thirteen university residences located in Constantine University 3, the collected waste will undergo a sorting, quantification and an overall characterization before extracting a representative sample of the waste collected by applying the quarter technique.

### II.3. The different measuring devices

The measurement of the biodegradability of waste samples under aerobic conditions was carried out in a respirometer with continuous aeration [03], the tests were carried out for the waste in their solid and leached form. This respirometric technique has the advantage of being applicable to samples of high activity, because the amount of available oxygen will not be limiting, but on the other hand requires a much heavier experimental device.

In this type of respirometry, the determination of total or exogenous respiration must first be preceded by a determination of the transfer coefficient and the endogenous respiration [04].

The mass balance with respect to the oxygen concentration in the liquid phase of the respirometer after injection of a definite amount of substrate will be:

$$\frac{d(VC)}{dt} = Q_e C_e - Q_s C + V_L K_L a (C_s - C) - V_L OUR_T \quad (1)$$

In respirometric cell aerated continuously, the exogenous respiration can be expressed by the following equations [05].

$$\frac{dc}{dt} = K_L a (C_{end} - C) - OUR_{exo} \quad (2)$$

$$OUR_{exo} = K_L a (C_{end} - C) - \frac{dc}{dt} \quad (3)$$

The daily biogas production of each digester was measured by the water displacement method, taking

place in an acidified water column, with the addition of NaCl to avoid the absorption of CO<sub>2</sub>. The result obtained is expressed in milliliter per day of biogas produced [6]. On the other hand, the CH<sub>4</sub> content in the biogas was determined by suctioning and injecting a known volume of gas (V<sub>1</sub>) produced in a bottle which contains a solution of KOH in the presence of phenolphthalein. This bottle is shaken manually for 3-4 min, so that all CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>S are absorbed in the concentrated KOH solution. The remaining volume of biogas (V<sub>2</sub>) is 99.99% of CH<sub>4</sub>. It is again aspirated and measured in the biogas measuring device [7].

Liquid phase characterization was undertaken before and after anaerobic digestion period through the determination of pH, total solids (TS), total volatile solids (TVS), Alkalinity (TA) and total alkalinity (TAC), volatile Fatty acids (VFA), chemical oxygen demand (COD), according to Standard Methods [8]. pH was determined using a pH-meter (Jenway 3510 PH meter).

## III. Results and discussion

### III.1. Preliminary characterization of collected waste and the representative sample

The annual quantity generated by the thirteen university restaurants is 737,444 tons, of which 48.58% is generated in lunch and the rest is generated in dinner, the fraction of the water present in the waste in the form of sauce or other does not exceed 0.32% (W/W), this fraction was displaced by filtration.

The total mass of the representative sample before drying was 218.25 g, it is equal to 68.81 g after drying, the quantity of water entering the composition of the waste represents a percentage of 68.47%, according to [09], the amount of moisture content in the feedstock can have an influence in the anaerobic digestion process and methane yield. A study on the effect of moisture content ranged from 97 to 89% on anaerobic digestion of sludge showed that the amount of methane yield was decreased from 330 to 280 mL/gTVS. Moreover, Chen et al [10] found no significant difference in methane production for the three water contents studied during pretreatment (54%, 70% and 77%) studying the influence of moisture content of solid-state NaOH pretreatment and co-digestion on methane production in the semi-dry anaerobic digestion of rose stalk while for Liotta et al [10]. The experimental results on the effect of total solids content on methane and volatile fatty acid production in anaerobic digestion of food waste show a reduction of the specific final methane yield of 4.3% and 40.8% in semi-dry and dry conditions compared with wet conditions.

The composition of the waste shows that vegetable, egg, meat, bread and other category waste (**Table 1**), which includes scrambled pasta and legumes that are difficult to separate, have percentages greater than 10 % by weight, plastic and aluminum waste consist of yoghurt pots and cheese paper, despite their low levels in the composition of kitchen waste studied, aluminum, plastic and to a lesser extent paper can they are sorted for recovery, representing 1.13%, 1.89% and 0.82% respectively (**Table 1**).

Several studies have proven that food waste is the best biodegradable organic fraction of municipal solid waste from various sources, such as domestic and commercial kitchen waste, cafeterias and restaurants. Since kitchen waste (KW) has a high humidity and easily biodegradable characteristics, anaerobic treatment is preferable to thermal or thermochemical conversation technologies ([11], [12]), as showed in (**Table 2**), the majority organic fraction presents more than 85% of the total fraction, whereas the soluble organic fraction expressed in COD represents only 40.81 % of the

total organic fraction, soluble COD released during pretreatment is more accessible by the anaerobic consortium that can be rapidly converted to biogas[13].

Unfortunately, the representative sample has an acidic pH that is far below the optimal values. For the digestion process, the pH is between 6.5 and 8 [14], and for an optimal operation of the process, it must ideally be between 6.8 and 7.2 [15], but likewise, a good buffering capacity has been recorded since the alkalinity (**Table 2**) is clearly greater than 1000 mg. L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>[16], this will certainly have an influence on the yields of anaerobic digestion of this waste.

The question asked at this stage this composition will inhibit digestion or not, the prediction of the behavior of this food waste when it comes into contact with the inoculum under anaerobic conditions will be achieved only by preliminary respirometric tests under aerobic conditions.

**Table 1.** Substrate composition (representative sample of collected Kitchen Waste)

Type of waste	Composition (%)	Amount of water (%)
Chickpea	1,4866	64.92
Vegetables	14,7010	84.25
eggs	12,5206	54.22
Meat	11,1166	57.21
Bread	13,6273	56.39
Cheese	0 ,8093	79.48
Fruit	6,6072	70.72
Paper	0,8259	-
Plastic	1 ,8995	-
Aluminium	1,1397	-
Wood Paper	0 ,8259	-
Other	33,9940	74.10

**Table2.** Characterization of the substrate (representative sample of collected Kitchen Waste)

parameter	Value
<i>pH</i>	4,9
<i>Conductivity(ms/cm)</i>	2,30
<i>TS (mg .L<sup>-1</sup>)</i>	24484
<i>TVS (mg .L<sup>-1</sup>)</i>	20889
<i>TA (mg .L<sup>-1</sup>CaCO<sub>3</sub>)</i>	550
<i>TAC (mg .L<sup>-1</sup>CaCO<sub>3</sub>)</i>	3850
<i>COD<sub>T</sub>(mg .L<sup>-1</sup>)</i>	73711,25
<i>COD<sub>S</sub>(mg .L<sup>-1</sup>)</i>	30086,25
<i>VFAs(mg .L<sup>-1</sup>)</i>	3062

### III.2. Respirometric Tests

Since its implementation Respirometry has established itself as a robust and less expensive technique, it has been integrated in several areas, include the biodegradability tests ([17], [18]), toxicity tests ([19], [20], [21]) nitrification monitoring [22], Determination of biokinetic constants ([03],[23]) and monitoring of chlorination expansion treatment (proliferation of filamentous bacteria) ([24], [25]).The resulting biodegradability information from respirometric tests established in the context of this study can be used to estimate the biodegradability of these wastes prior to incubation in BMP-Test. that it presents certain characteristics which can be inhibitory of the anaerobic digestion.

The respirometric technique will be used to evaluate the biodegradability of these Kitchen Waste in their lixiviated and solid form in the acclimated and unacclimated state.

#### III.2.1. Respirometric test of the waste in the leached form

The crushed kitchen waste was brought into contact with the water for four hours, the leachates obtained are carefully analyzed after a coarse filtration, the tests were conducted for doses of the solid waste ranging from 4 to 20 g .L<sup>-1</sup>.The leachate COD<sub>S</sub> obtained ranged from 378.88 mg .L<sup>-1</sup> to 1120.88 mg .L<sup>-1</sup>for the solid substrate tested doses, while the COD<sub>T</sub> ranged from 917.618 mg .L<sup>-1</sup>to 2952.24 mg .L<sup>-1</sup>for the same doses; leachate obtained all presented an acidic pH (4.52-4.74) whatever the dose put in contact.

Many authors have shown the importance of the initial conditions in the biodegradation tests, more particularly the initial ratio between the substrate and the biomass concentration, designated  $S_0 / X_0$ . This ratio determines the type of respirometric response obtained [26], influences both the metabolic processes involved in the degradation, the identification of kinetic parameters as well as the dissociation of compartments easily and slowly biodegradable. The biodegradability tests were conducted under different initial  $S_0 / X_0$  ratios (0.04, 0.4 and 01 mg COD. mg TVS<sup>-1</sup>). The respirometric tests will be conducted for the soluble fraction and the total fraction of the leachate.

Maximum respiration reached 22.8, 3.48 and 2.16 mg. L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, for the soluble fraction of leachate and for the ratios 0.04, 04 and 1 mg COD. mg TVS<sup>-1</sup> respectively, close values were recorded for the total fraction of leachate and for same ratios  $S_0 / X_0$ , 22.2, 4.08 and 1.88 mg. L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, but requiring more time to degrade this fraction, the degradation time reached more than 09 hours for an initial ratio  $S_0 / X_0$  equal to 01mg COD. mg TVS<sup>-1</sup>(**Table 3**).It has been noticed that maximal respiration decreases while increasing the initial imposed ratios, this can only be explained by the predominance of microbial synthesis with respect to respiration while increasing this ratio.This predominance is clearly visualized in the respirogram obtained for an initial ratio  $S_0 / X_0$  equal to 01, since the return to the initial endogenous state did not take place, a difference between the value of the initial endogenous respiration before the injection of the substrate and endogenous respiration after injection of the substrate is recorded (very apparent in the total fractions) (**Figure 1**).

**Table 3.** Parameters for identifying the respirometric responses obtained for the various initial reports  $S_0 / X_0$  for the soluble and total fraction of the leachate from kitchen waste

Kitchen Waste Leachate	Soluble fraction			Total Fraction		
	$S_0/X_0$ (mg COD. mg TVS <sup>-1</sup> )					
$C_{end}$ (mg. L <sup>-1</sup> )	6.5	8.11	8.52	7.2	8.44	8.02
$K_L a$ (Min <sup>-1</sup> )	0.1	0.20	0.071	0.05	0.042	0.031
$OUR_{exo_{max}}$ (mg. L <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> )	22.8	3.48	2.16	22.2	4.08	1.88
The amount of oxygen consumed (mgO <sub>2</sub> . L <sup>-1</sup> )	4.24	7.63	12.042	11.02	11.83	15.70
Degradation time (min)	14	32.5	400	37.5	325	550

For total fraction kitchen waste leachate, the amount of oxygen consumed is almost constant even increasing the ratio of 10 (passing from a ratio of 0.04 to 0.4)(Table 3), against the degradation time is eight times higher. The times required for the reduction of the injected substrates in the soluble form are less important because of the nature of the injected substrate not requiring a hydrolysis step to be degraded (Figure 1).

The leachates from kitchen waste showed good biodegradability for all the reports tested, despite the acidic nature of leachates, biodegradability is still obtained even for the high ratio tested ( $S_0 / X_0$  equals 01), on the contrary a microbial growth was recorded for this report, the two ratios 0.4 and 01 will be tested in digestion (I / S equal to 2.5 and 01 mg TVS. mg COD<sup>-1</sup> respectively).

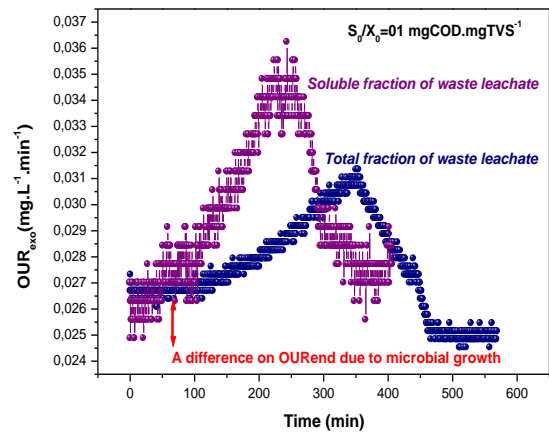
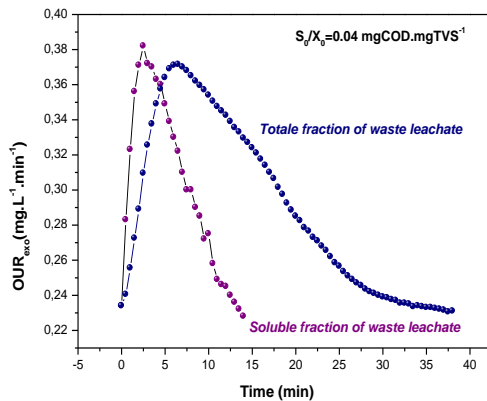


Figure 1. Respirogrammes obtained after injections of the total and the soluble fraction of waste leachate (example of two different ratios  $S_0 / X_0$ )



### III.2.2. Respirometric test of the waste in its solid form

Before carrying out the respirometric tests of the waste, a step of adaptation to kitchen waste (solid form) seems to be necessary (adaptation to high concentrations). A perfectly stirred reactor was used to adapt the microorganisms to the kitchen waste, progressive additions of solid waste crushed are injected into the reactor, from a concentration of 4 g.L<sup>-1</sup> to a concentration of 20 g.L<sup>-1</sup>, with a step of 4 g.L<sup>-1</sup>(Figure 2).

The microorganisms seem to be well adapted to the waste, the abatement efficiencies of the carbon load expressed in COD<sub>T</sub> are almost constant; varies between 58.45% and 66.18%(Figure2), corresponding to an increase in the biomass of 13.16 to 28.05 g.L<sup>-1</sup> of TS, a series of

microscopic visualizations were carried out in the fresh and colored state, which reflect a good state of flocculation with total absence of the filaments, the duration of 3 days seems to be adequate to gradually adapt the microorganisms to the heavy loads

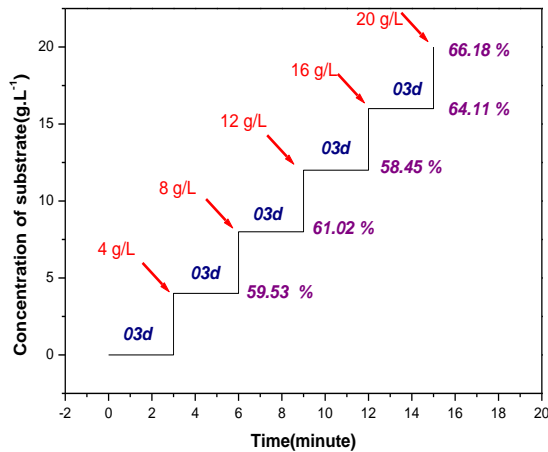


Figure 2. Program for injecting kitchen waste in solid form into the adaptation reactor

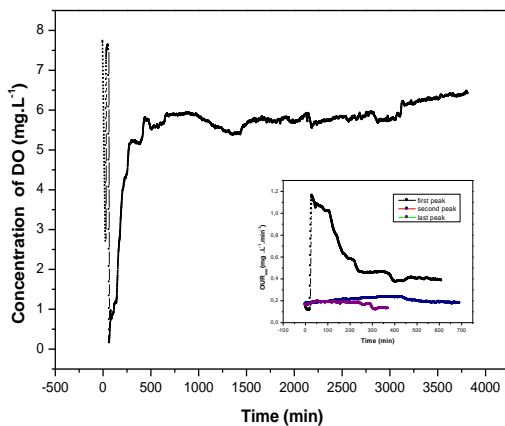


Figure 3. Temporal evolution of dissolved oxygen concentration and Respirogrammes obtained after solid substrate injections ( $S_0 / X_0$ : 0.4mg COD .mg TVS<sup>-1</sup>)

### III.3. Anaerobic digestion of kitchen waste (Discontinuous system)

As pointed out in the introduction, the objectives of this study are to evaluate the biodegradability of this waste and its methanogenic potential by considering the mesophilic and thermophilic conditions.

Samples of crushed solid waste of different concentrations were placed in bottles (BMT-Test) in the presence of the inoculum in addition to a sample composed only of sludge (inoculum), the different reactors are placed in an incubator at a temperature 37 ° C (mesophilic phase) and 55 ° C (thermophilic phase).

#### III.3.1. The production of biogas

The cumulative volumes of biogas produced during the process of digestion of substrates at different ratios (I / S) for mesophilic and thermophilic conditions are presented respectively in Figure 4 and 5.

The ratio R6 (I / S = 3) and R7 (I / S = 3.5) in mesophilic conditions showed a malfunction, that's why the results of these tests were eliminated. For the same conditions, the production of biogas starts from the first day and the quantity of production for the different ratios differs, the highest value is obtained for the ratio R2 with 50mL. g TVS<sup>-1</sup> and the smallest corresponds to the ratio R8 with 10 mL. g TVS<sup>-1</sup>. The amount of biogas begins to increase gradually from the second day until the 4<sup>th</sup> day for R8, R5. Then, the production stabilizes, this is explained by the lowering of the pH and the increase of the production of the VFA. Concerning R2 and R3 the increase will continue until the 9<sup>th</sup> day and stabilizes.

It is noted that the increase in the production of R1 is perceptible and constant 160 mL. gTVS<sup>-1</sup>. Indeed, the I / S ratio of 0.5 gave the best results of specific production of biogas which can be explained by an exponential microbial growth favored by the fact that the concentration of the substrate is relatively important compared to the concentration of the initial biomass.

In thermophilic conditions, the production of biogas is much greater than that in mesophilic conditions. It can be seen that for the ratio R1 (I / S = 0.5) the production of biogas is instantaneous and rapid compared to other reports, or there was a complete stoppage of production after the 5<sup>th</sup> day. In the case of anaerobic digestion in thermophilic phase, degradation of organic matter is faster and therefore more volatile fatty acids (VFA) generated which causes a rapid drop in pH and inhibition of methanogens. For the ratios R4 (I / S = 2) up to R8 (I / S = 4), there is a complete halt in the production of biogas, so for batch with a large amount of waste, the anaerobic digestion is completely inhibited in both thermophilic and mesophilic phases.

For R2 (I / S = 1) and R3 (I / S = 1.5), specific biogas production curves with more exponential phases are observed. Except that for R2, there is an



increase in production after the 22<sup>nd</sup> day that can be attributed to the restoration of the anaerobic system and the return to production.

The cumulative specific volume production of biogas from food waste after the 35<sup>th</sup> day of

incubation for the ratio R1 (I / S = 0.5) was 495.38 mL. g TVS<sup>-1</sup>, in the thermophilic phase and was 156.39 mL. g TVS<sup>-1</sup> in phase mesophilic for the same ratio, a production increase of 216.75% was achieved only by changing the incubation temperature.

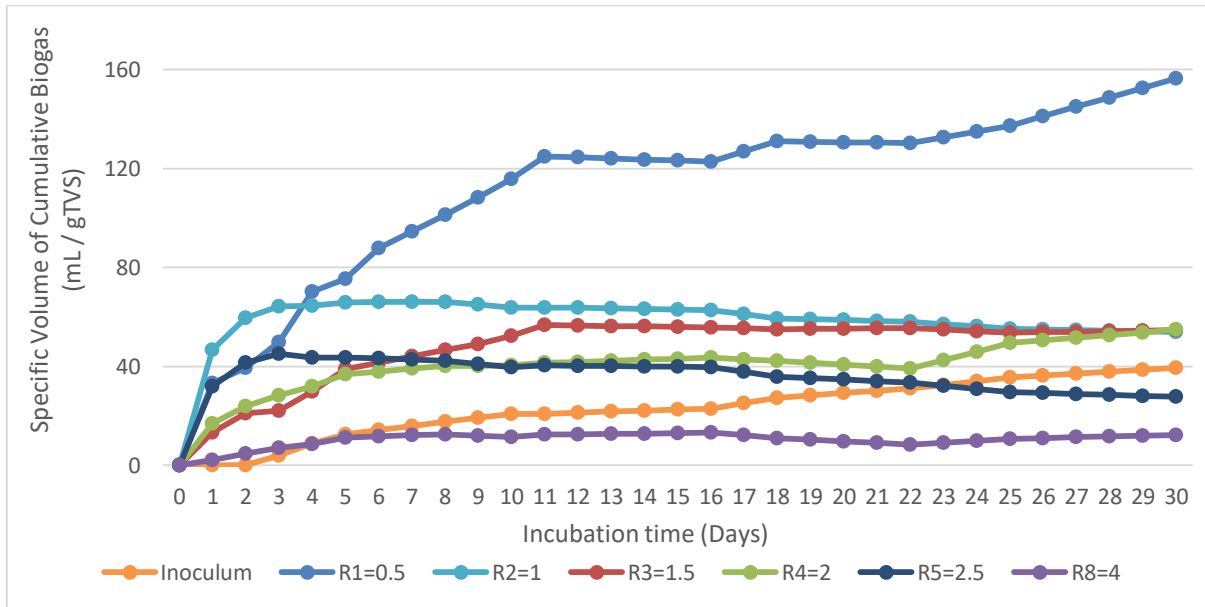


Figure 4. Cumulative production of the specific biogas in mL. g TVS<sup>-1</sup> for the various I / S ratios tested in the mesophilic phase

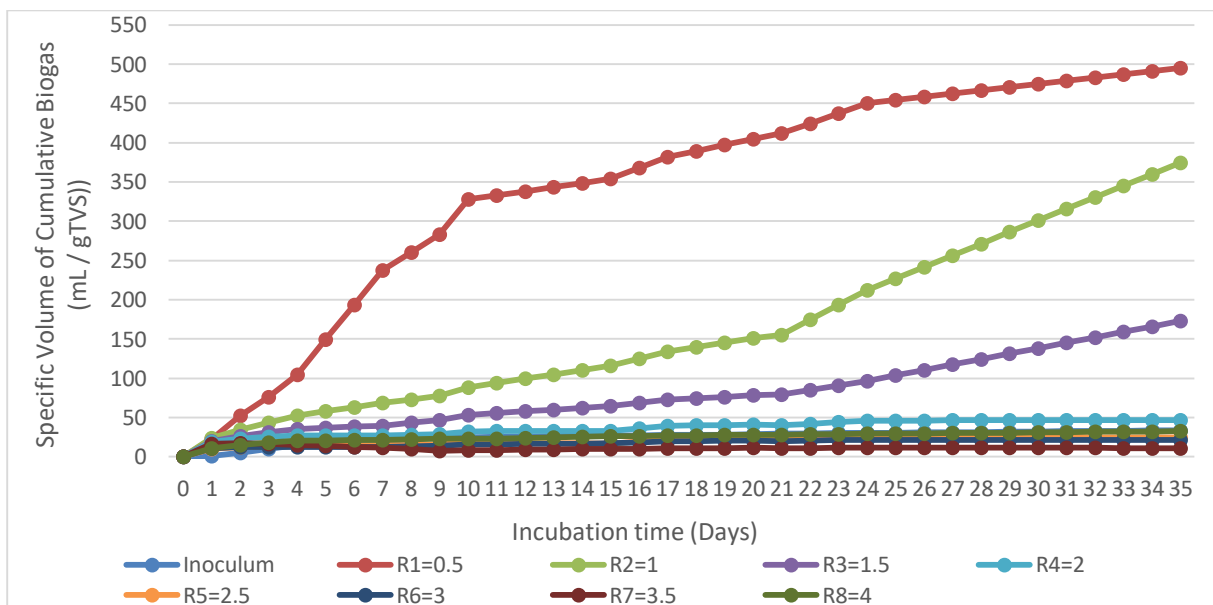


Figure 5. Cumulative production of the specific biogas in mL. g TVS<sup>-1</sup> for the various I / S ratios tested in the thermophilic phase

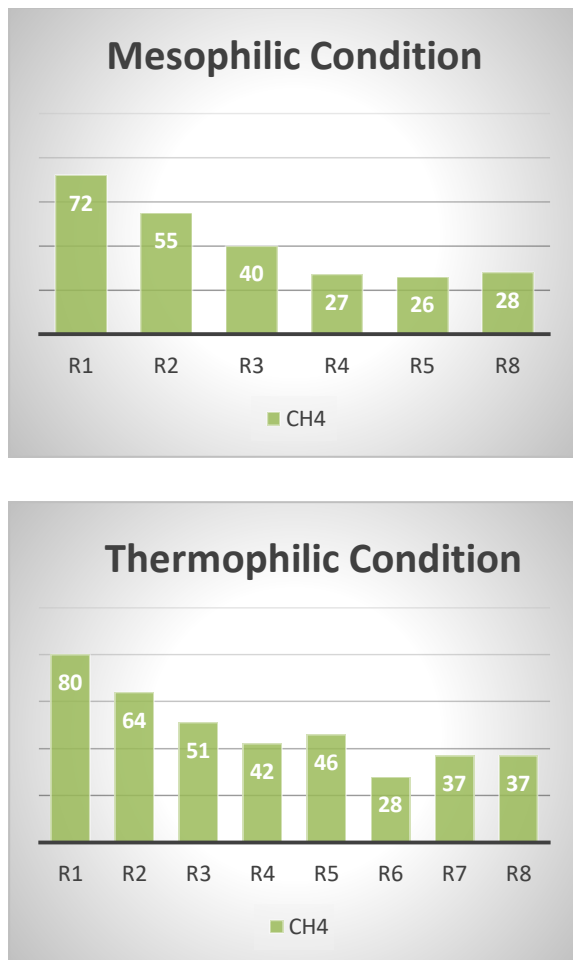
### III.3.2. Composition of the biogas produced

The volume of methane produced at the end of the experiments is presented in Figure 6, In mesophilic conditions, the percentage of methane in the biogas produced for the ratio R1 is 70% and for the ratios

R2 and R3 the percentages are 55% and 40% respectively. The amount of methane begins, gradually decrease until reaching a value of 20%. Likewise, for the other remaining samples (R4, R5, and R8) did not give a large amount of methane because of the strong presence of pH inhibitors and VFAs accumulation, as known food waste contains higher levels of organic materials, such as starches,

proteins, and lipids; accordingly, it may become a plentiful source of inexpensive organic substrate for fermentative VFAs production, Chen et al.[10]and Bong et al. [27] explained that the chances of VFAs inhibition increased following an increased proportion of food waste in the AD system, a VFAs concentration of more than 5000 mg.L<sup>-1</sup> may cause inhibition of digester [28].

Similarly, in thermophilic conditions, it is noted that the ratio R2, R3 give a percentage of 64% and 51% respectively of methane with a percentage of 80% for the ratio R1. The amount of methane begins, gradually decrease for R3, R4 until reaching a value of 42%.



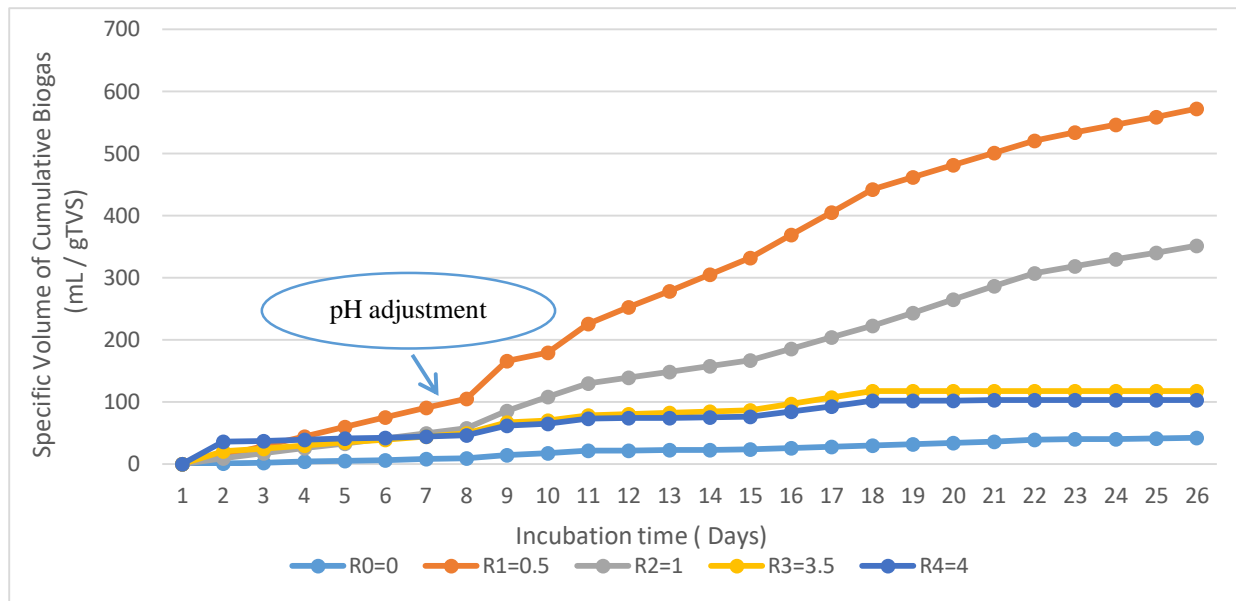
**Figure 6.** Biogas composition (%) produced in mesophilic and thermophilic conditions

### III.3.3. Effect of pH adjustment on biogas production

Since the optimum production of biogas by food waste was in the thermophilic phase, this test was repeated with the two small ratios (R1 = 0.5 and R2 = 1) and the large ratios (R3 = 3.5 and R4 = 4) in order to see the effect of adjusting the pH on the yield of biogas production. **Figure 7** represents the specific production of biogas accumulated after the adjustment of the pH in the thermophilic phase in the different ratios.

First, a higher latency phase was recorded, since the source of the sludge used as an inoculum is the adaptation reactor used in respirometric studies, where the biomass has been acclimated to the substrate but not acclimated to the operating conditions (temperature, anaerobic condition).

A drop in pH due to the accumulation of VFAs has been recorded. To adjust the pH a rejection of papers was used as a buffer solution with a pH = 8.2, Then the batches were bubbled with nitrogen to re-establish the anaerobic conditions, this procedure was applied daily. A positive effect was recorded on the production of biogas, where we notice increases in production after adjusting the pH. The cumulative specific volumes of biogas were 571.85; 351.64; 118.07; and 103.01 mL. g TVS<sup>-1</sup> for R1, R2, R3, and R4 respectively. Comparing with the results of the previous thermophilic part, a significant increase in production is recorded for all the reports tested, the most significant of which are those of reports R3 and R4, where without adjustment of pH the production of biogas was 45.07 and 32.67 mL. g TVS<sup>-1</sup> respectively. Either increases of 106.97 and 215.30% in production, which is encouraging to also recover this waste paper in anaerobic way since this type of waste exists in abundance in the university.



**Figure 7.** Cumulative production of the specific biogas after treatment and pH adjustment in the thermophilic condition

#### IV. Conclusion

At the end of this study, it is important to recall the main results obtained with regard to Kitchen Waste (KW). The characterization made it possible to determine the KW profile of University restaurants Constantine 3, KW After crushing, the waste solution was characterized by considering total and soluble COD, TS and TVS, TA and TAC, VFA, pH and conductivity. The results showed that the waste was at approximately 32% solids and are considered to be loaded with COD.

The prediction of the biodegradability of this waste was tested by continuous aeration respiration in the state of soluble and total leached and in the solid state with the biomass in the acclimated state and not acclimated, this technique has shown how a fast and efficient prediction technique before starting the biodegradation tests under anaerobic conditions.

The results obtained showed the importance of the ratio Inoculum on substrate in the biogas production and the elimination of the COD. The optimal I / S ratio was 0.5 with a maximum biogas production of 160 mL. g TVS<sup>-1</sup>, for mesophilic conditions, of which 70% is methane. For thermophilic conditions, the maximum production of biogas was 520 mL. g TVS<sup>-1</sup>, of which 80% is methane. Elimination of soluble COD was for the thermophilic conditions of 96%. Some tests exhibited very low biogas production, which led us to consider adding paper to increase the alkalinity of the system.

The KW if they are used in the production of methane would have produced 104000 m<sup>3</sup>. Kg<sup>-1</sup>. y<sup>-1</sup> in mesophilic phase and 391000 m<sup>3</sup>. Kg<sup>-1</sup>. y<sup>-1</sup> in

thermophilic phase, equivalent to annual electrical production of 592800 and 2228700 KWh. Kg<sup>-1</sup>. y<sup>-1</sup> respectively in mesophilic and thermophilic condition. This production can be improved by using other pretreatment other than the mechanical pretreatment deployed in this study (crushing).

The paper recovered from the discharges of the faculties of the university with its various administrative and educational institutions can be a possible and an important source allowing not only for the regularization of the pH but also for the contribution to the production of biogas.

Respirometry tests can also be used as preliminary tests before beginning anaerobic digestion for reconstitution of waste giving better biodegradability, the removal of waste may be inhibitory or to test pretreatments that can improve digestion yields.

#### Acknowledgment

The authors would like to thank infinitely all the managers of university kitchens at Salah Bounider University, Constantine 3, for their quantification and sampling efforts.

V. Nomenclature

<b>AD</b> :Anaerobic Digestion	<b>TAC</b> : Full Alkalimetry titer (mg CaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )
<b>KW</b> : Kitchen Waste	<b>TA</b> : Alkalimetrictiter(mg CaCO <sub>3</sub> .L <sup>-1</sup> )
<b>DO</b> :Dissolved Oxygen	<b>BMT-Test</b> : Biochemical Methane Potential test
<b>VFA</b> : Volatile Fatty Acid (mg.L <sup>-1</sup> )	<b>C<sub>0</sub></b> : The concentration of oxygen in the liquid phase(mg.L <sup>-1</sup> )
<b>COD</b> :Chemical Oxygen Demand (mg.L <sup>-1</sup> )	<b>C<sub>s</sub></b> : The concentration of oxygen saturation in the liquid phase(mg.L <sup>-1</sup> )
<b>COD<sub>s</sub></b> :SolubleChemical Oxygen Demand (mg.L <sup>-1</sup> )	<b>C<sub>end</sub></b> : The concentration of oxygen in the liquid phase in the endogenous state(mg.L <sup>-1</sup> )
<b>COD<sub>T</sub></b> :TotalChemical Oxygen Demand (mg.L <sup>-1</sup> )	<b>K<sub>La</sub></b> : Oxygen transfer coefficient (min <sup>-1</sup> )
<b>TS</b> :Total solids contained in waste or sludge (mg. L <sup>-1</sup> )	<b>OUR<sub>T</sub></b> :Total oxygen uptake rate (mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )
<b>TVS</b> :Volatile total solids contained in waste or sludge (mg. L <sup>-1</sup> )	<b>OUR</b> : Exoexogenous oxygen uptake rate (mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )

References

- Esposito, G., Frunzo, L., Liotta, F., Panico, A., Pirozzi, F., 2012. Bio-Methane Potential Tests To Measure The Biogas Production From The Digestion and Co-Digestion of Complex Organic Substrates. Open Environ. Eng. J. 5, 1–8.
- Ray<sup>1</sup>, N.H.S., Mohanty<sup>2</sup>, M.K., Mohanty<sup>3</sup>,R.C., 2013. Anaerobic Digestion of Kitchen Wastes: " Biogas Production and Pretreatment of Wastes, A Review ". Int. J. Sci. Res. Publ. 3, 2250–3153.
- Ros. M, Dular. M et Farkas. P (1988). Measurement of respiration of activated sludge. Water Research. 22(11), 1405-1411
- Zamouche Z.R, Bencheikh LM, Meniai AH. Influence of endogenous OUR determination on the K<sub>La</sub>, exogenous OUR,total oxygen consumption and heterotrophic yield in a completely mixed batch reactor. Int J Chem Reactor Eng 2014;12(2):695- 704.
- Contreras. E.M, Albertario. M.E, Bertola .C. N et Zaritzky .N.E ( 2008) Modeling phenol biodegradation by activated sludges evaluated through respirometric techniques, Journal of Hazardous Materiels 158 366-374.
- Lissens, G., Thomsen, A.B., De Baere, L., Verstraete, W., Ahring, B.K., 2004. Thermal wet oxidation improves anaerobic biodegradability of raw and digested biowaste. Environ. Sci. Technol. 38, 3418–3424.
- Othman, M.Z., Demirer, G.N., Materials, A., 2010. Enhanced Nutrients Removal in Conventional Anaerobic Digestion Processes. Int. J. Civ. Environ. Eng. 2, 203–209.
- APHA/AWWA/WEF, 2012. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. Stand. Methods 541.
- Fujishima, S., Miyahara, T., Noike, T., 2000. Effect of moisture content on anaerobic digestion of dewatered sludge: Ammonia inhibition to carbohydrate removal and methane production. Water Sci. Technol. 41, 119–127.
- Chen, Y., Ke, Z., Liang, Y.G., 2019. Influence of moisture content of Solid-state NaOH pretreatment and codigestion on methane production in the Semi-dry anaerobic digestion of rose stalk. BioResources 14, 4210–4223.
- Radmard, S.A., Haji, H., Alizadeh, A., Seifi, R., 2018. Enhancement anaerobic digestion and methane production from kitchen waste by thermal and thermo-chemical pretreatments in batch leach bed reactor with down flow. Res. Agr. Eng. 64, 128–135.
- Aboulfoth, A., El Gohary, E.H., El Monayeri, O.D., 2015. Effect of Thermal Pretreatment on the Solubilization of Organic Matters in a Mixture of Primary and Waste Activated Sludge. J. Urban Environ. Eng. 9, 82–88.
- Feki, E., Khoufi, S., Loukil, S., Sayadi, S., 2015. Improvement of anaerobic digestion of waste-activated sludge by using H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxidation, electrolysis, electro-oxidation and thermo-alkaline pretreatments. Environ. Sci. Pollut. Res. 22, 14717–14726.

14. Moody, L., Burns, R., Wu-Haan, W., Spajić, R., 2009. Use of biochemical methane potential (BMP) assays for predicting and enhancing anaerobic digester performance. Proc. 4th Int. 44th Croat. Symp. Agric. 930–934
15. Ma, J., Duong, T.H., Smits, M., Verstraete, W., Carballa, M., 2011. Enhanced biomethanation of kitchen waste by different pre-treatments. *Bioresour. Technol.* 102, 592–599.
16. Pavi, S., Kramer, L.E., Gomes, L.P., Miranda, L.A.S., 2017. Biogas production from co-digestion of organic fraction of municipal solid waste and fruit and vegetable waste. *Bioresour. Technol.* 228, 362–367.
17. Hoffmann, J., Rezniceková, I., Vanóková, S. et Kupec, J. (1997) Manometric determination of biological degradability of substances poorly soluble in aqueous environments. *International Biodeterioration and Biodegradation* 39: 327–332.
18. Shogren, R.L., Petrovic, Z., Liu, Z. et Erhan, S. Z. (2004). Biodegradation behavior of some vegetable oil-based polymers. *Journal of Polymers and the Environment* 12: 173–178.
19. Berkun, M. et Onal, A. (2004) Effects of inorganic metals on respirometric oxygen uptake and related Sag curve formations in streams. *Water S.A.* 30 :273–278.
20. Kungolos, A. (2005). Evaluation of toxic properties of industrial wastewater using online respirometry. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 40: 869–880.
21. Cokgor, E.U., Karahan, O. et Orhon, D. (2008) The effect of mixing pharmaceutical and tannery wastewaters on the biodegradation characteristics of the effluents. *Journal of Hazardous Materials* 156: 292–299.
22. Surmacz-Gorska, J., Gernaey, K., Demuyne, C., Vanrolleghem, P. et Verstraete, W. (1996) Nitrification monitoring in activated sludge by oxygen uptake rate (OUR) measurements. *Water Research* 30: 1228–1236.
23. Orhon, D., Genceli, E.A. et Cokgor, E.U. (1999). Characterization and modeling of activated sludge for tannery wastewater. *Water Environmental Research* 71: 50–63.
24. Kim, C. W., Koopman, B. et Bitton, G. (1994). INT-dehydrogenase activity test for assessing chlorine and hydrogen peroxide inhibition of filamentous pure cultures and activated sludge. *Water Res.* 28 (5): 1117–21.
25. Caravelli, A., Giannuzzi, L. et Zaritzky, N. (2004) Effect of chlorine on filamentous microorganisms present in activated sludge as evaluated by respirometry and INT-dehydrogenase activity, *Water Research* 38: 2395–2405
26. Chudoba, P., Capdeville, B. et Chudoba, J. (1992) Explanation of biological meaning of the  $S_0/X_0$  ratio in batch cultivation. *Wat. Sci., Tech.* 26(3-4), 743–751.
27. Bong, C.P.C., Lee, C.T., Ho, W.S., Hashim, H., Klemeš, J.J., Ho, C.S., 2017. Mini-review on substrate & inoculum loadings for anaerobic co-digestion of food waste. *Chem. Eng. Trans.* 56, 499–504.
28. Haider, M.R., Zeshan, Yousaf, S., Malik, R.N., Visvanathan, C., 2015. Effect of mixing ratio of food waste and rice husk co-digestion and substrate to inoculum ratio on biogas production. *Bioresour. Technol.* 190, 451–457.

## Application of respirometry in the assessment of chromium contaminated waste waters treatment

*R.Zerdazi \**, *M.Boutraa*, *A.Melizi*, *M.Bencheikh lehocine*, *A- H. Meniai*.

*Laboratoire de l'ingénierie des procédés d'environnement 'LIPE' Département de Chimie Industrielle,*

*Université Mentouri Constantine 25000 Algérie*

---

### Abstract

Restrictions concerning the disposal of waste waters are getting more severe, requiring a greater reliability for the waste water treatment plants as well as a better understanding and application of biological processes which depend upon the kinetics of the microorganisms' growth. This latter is greatly influenced by the physico-chemical conditions of the hosting media.

The use of respirometry, the principle of which is based on measuring the consumed amount of oxygen by a sample of activated sludge for the metabolism of a given amount of substrate, seems to be able to contribute to the improvement of the plant management. In fact, it enables the estimation of certain characteristic variables for a good process or the detection of the influence of the physico-chemical conditions such as pH, salinity, metal toxicity, etc.

Obviously these conditions have an impact on the enzymatic reaction rates and hence on the metabolism and cell multiplication.

In the present study, inhibition by chromium which is a major contaminant present in tanning, metallic surface treatment and other industries waste waters', is likely to neutralise the biomass, was studied by means of the respirometry technique to detect the immediate influence of this type of stress on the activity of microorganisms (autotrophic and heterotrophic), as well as on its purifying power and its aggregation morphology.

© 2012 Published by Elsevier Ltd. Selection and/or peer review under responsibility of The TerraGreen Society.

**Keywords:** Activated Sludge; Respirometry; Oxygen transfer; Microbial inhibition; Chromium

\* Corresponding author. Tel.: +213-031-81-88-80; fax: +213-031-81-88-80.

E-mail address: [docran@voila.fr](mailto:docran@voila.fr)

[Tapez un texte]

## 1. Introduction

The term respirometry is used to describe the measurement of oxygen consumption in wastewater samples or activated sludge. Under aerobic conditions the microorganisms consume oxygen in proportion to the organic matter and biomass in the sample. The first application of the respirometric technique for measuring wastewater oxidation was reported in 1924 by Otto Heinrich Warburg (1883–1970). It is based on manometry, which consisted in the analysis of gas pressure changes over an enclosed measuring system. Most of the respirometers available nowadays are based on Warburg's respirometer (manometry) [01, 02]. After the invention of the Warburg respirometer several researchers have developed different kinds of respirometric measuring techniques based on manometry, electrolytic or direct measurement of oxygen consumption.

Using new technologically advanced respirometers, it is possible to utilize respirometry for biodegradation measurements in water media and soils, for kinetic analysis and biokinetic constants determination, for modeling biological wastewater treatment processes, for managing toxicity, nitrification capacity, activated sludge activity, biodegradability of poorly soluble substances such as oils and organic compounds [01, 03, 04, 05].

It is noted that standard domestic wastewater has generally a constant composition and rarely contains compounds or factors that would inhibit biodegradation. In contrast, industrial effluents are characterized as complex mixtures with varying concentrations of pollutants and inhibitory substances, such as heavy metals, volatile organic compounds, poly-aromatic and polychlorinated organic substances, which may affect system performance [06]. Respirometry is an advantageous technique in identifying compounds that might potentially have an adverse effect on a wastewater treatment system [07, 08, 09, 10, 11, 12].

A respiration inhibition test is important to managers of treatment facilities in order to check and to evaluate wastewaters toxicity.  $EC_{50}$ ,  $EC_{20}$  and  $EC_{10}$  values are used in respiration inhibition and nitrification inhibition tests to represent the concentration of wastewater, which produces 50%, 20% and 10% inhibition of the oxygen uptake rate in comparison to a control sample [05].

In the open respirometer technique, a larger sample volumes and longer essay times were required in comparison to the closed respirometer, this technique consumes small sample volumes and the essay requires less than 10 min [13].

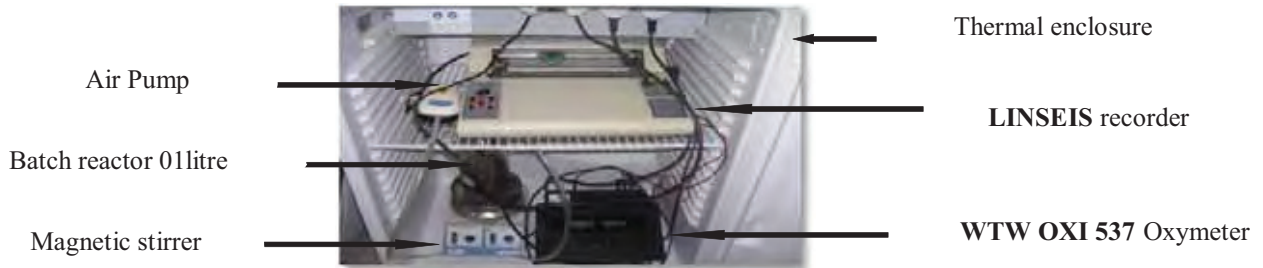
In this paper chromium was chosen to represent the mineral toxic waste waters, the objectives of the present work were (i) to study the effect of the chromium addition on the oxygen uptake rate (ii) to study the effect of the chromium addition on morphology of the sludge biomass and its ability to deflocculation.

## 2. Experimental materials and methods

### 2.1. Open respirometer experiments

The open respirometer (flowing gas /static liquid) consisted in a 500 ml working volume reactor in which the sample was placed, stirred with a magnetic stir-bar and continuously aerated at the bottom of the respirometer using an air pump, the DO concentration (C) measurements as a function of time (t) was recorded using the LINSEIS recorder. Oxygen uptake rate is dependent on temperature as well as

microbial activity which increase with it [14]. Therefore, it is important to keep a constant temperature during the entire experiment, which is often performed at  $20 \pm 1$  ° C using a thermal enclosure.



**Fig. 1.** Schematic picture of Open respirometer built in (lipe) laboratory

### 2.2. Activated sludge biomass source

The activated sludge was obtained from the aeration tank of the local waste water treatment plant « IBN ZIAD », Constantine, Algeria. It is of an extended aeration type activated sludge process with an anoxic zone ahead (AO). The four aeration compartments are equipped with four surface turbines (p:  $4 \times 93$  KW), aeration control is based on an alternation system (air-on/air-off) which corresponds to 15 cycles per day with a cumulative aeration time of 13h/day .aerator.

The samples were taken from the final compartment (A4), in order to minimize residual levels of pollution. The collected sludge was used immediately and no adjustment procedure was undertaken.

### 2.3. Sludge preparation

the sludge can be settled and the supernatant was then replaced with tap water in order to reduce the initial concentration of substrate in the sludge, this washing procedure was repeated until the theoretical concentration of soluble matter was reduced by more than 95% [15], in this work the procedure consisted to aerating the biomass in order to degrade all exogenous substrate initially present in the sample.

### 2.4. Carbon and nitrogen source

The substrate kind is a decisive factor for the type and rate of biochemical reactions taking place in an activated sludge system [16].

In this study, the choice was directed towards a binary substrate consisting of sodium acetate and ammonium chloride (a very easily degradable organic matter for heterotrophic and autotrophic bacteria). In this experiment, the injections of carbon and nitrogen to the reactor were such that the resulting chemical oxygen demand (COD) and  $(\text{NH}_4^+ - \text{N})$  in the reactor are equal to 15,2 mg/l et 1,6 mg/l respectively, the concentration of  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  is less than the concentration that inhibits nitrifying bacteria [17]. The concentration of biomass in the respirometer is in the range of 5,28 mg/l , hence the initial  $S_0/X_0$  ratio is about 2,87mg COD/mg TSS for the carbon substrate and 0,30 mg  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  /mg TSS for the nitrogen substrate.

### 2.5. Nitrification inhibitor

When sludge from nitrifying treatment plant is used some of the oxygen consumption is used for nitrification during measurements of organic degradation, a nitrifying inhibitor ‘allyl thio urée’  $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2\text{S}$  (ATU) [18] is often, used for this purpose, which inhibits the conversion of ammonia to nitrite. For OUR tests levels of 12 mg/l of inhibitor is typically used. However, investigations have shown that the additions of 10 mg/l of ATU impacts the endogenous respiration of the sludge which results in a lowered



OUR [19, 20]. Therefore one should be aware of how the results are used depending on the application of the method.

For the same experimental procedure, Baudouin.2004 recommends the addition of 20 mg/l of ATU in the respirometer but Delgado.2009 advocates a concentration about 10 mg/l of ATU, in this study the concentration of the inhibitor is 5 mg/l in the respirometer (experimental constraints).

## 2.6. The toxic inhibitor

To use the respirometer for assessing the effect of environmental physico-chemical conditions on microbial biodegradation of carbon and nitrogen compounds, chromium minerals was chosen since it is likely to inhibit wastewater treatment.

Although the discharge standards allowed in the most liquid discharges industries do not exceed 03 mg/l [23], the maximum amount of chromium introduced, under the form of chromium chloride hexa hydrate ( $\text{Cr Cl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ ), in the respirometer is 30 mg/l simulating an accidental spill.

## 2.7. Experimental procedure

The experimental procedure includes the following steps:

- The first step is setting the endogenous sludge, where the respirometer is filled with activated sludge aerated and not supplied with a volume of 500 ml during the night preceding the tests (agitation 100 :round/min, T : 20 °C) in this way, the substrate that could be initially in the sludge is completely consumed by bacteria .and this results in a plateau reached in terms of dissolved oxygen concentration.
- The second and the third step is the determination of the coefficient of oxygen transfer ( $k_L a$ ) and the endogenous respiration. Air injection is stopped, oxygen concentration is brought close to 1mg/l, then air supply is restarted and the variation of dissolved oxygen concentration is recorded. Deaeration curve obeys to equation (1):

$$\frac{dS_0}{dt} = k_L a (S_{0,sat} - S_{end}) - OUR_{end} \quad (1)$$

Where  $S_0$ ,  $S_{0,sat}$  and  $S_{end}$  are the instantaneous, the saturation and the endogenous DO concentrations, respectively.

- The fourth step is the injection of a certain amount of the synthetic binary substrate which gives rise to an increase in oxygen consumption by microorganisms (autotrophic and heterotrophic) and therefore a respirometric peak is obtained (equation (3) and (4)), once the substrate oxidized the dissolved oxygen concentration tends to return to the endogenous level as a result of the aeration.

$$OUR_t = OUR_{exo} + OUR_{end} \quad (2)$$

$$\frac{dS_0}{dt} = k_L a (S_{0,sat} - S_0) - OUR_t \quad (3)$$

$$OUR_{exo} = k_L a (S_{0,end} - S_0) - \frac{dS_0}{dt} \quad (4)$$

- The fifth step is to observe the effect of adding the toxic product on the parameters of respirometric peak, this will be clear by simultaneous injection of quantity of toxic and the same amount of substrate.

- After returning to the endogenous level, an adequate amount of nitrification inhibitor and the same amount of substrate are added, in order to differentiate between the toxic effect on the two components of the exogenous respiration of heterotrophs and autotrophs.

### 3. Experimental results and discussion

#### 3.1. $k_{La}$ and $OUR_{end}$ assessment

The oxygen mass transfer coefficient  $k_{La}$  and the endogenous respiration rates ( $OUR_{end}$ ) were obtained using a non-steady state procedure; they were calculated in a previous experiment as the slope of DO decrease in the reactor without external aeration and without external substrate. The experimental profiles obtained are plotted in Fig. 2, all the experiments were conducted under the same operational conditions.

The reproducibility of  $k_{La}$  measurements is not very good, the results varied considerably between two experiments. It is recommended, to determine this parameter for each experiment [19].

In fact, in this study  $k_{La}$  was determined at the beginning of each experiment since the endogenous respiration varies widely with microbial activity.

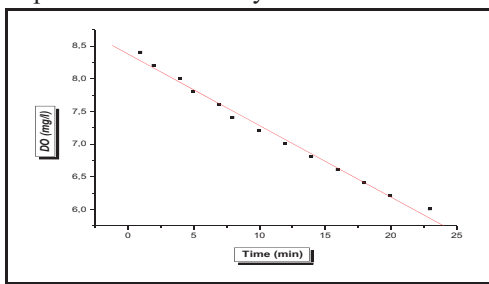


Fig.2. Dissolved oxygen (DO) concentration as function of time in endogenous stage

#### 3.2. Identifiability (substrate /biomass (ratio))

Many authors have highlighted the importance of initial conditions in biodegradation tests. In particular the initial substrate to biomass concentration ratio denoted  $S/X$ , which determines the type of respirometric response [24]. Indeed, this ratio influences both the metabolic processes involved during the degradation, the identification of kinetic parameters and the separation between easily and slowly biodegradable fractions.

The respirometric tests were conducted in this study by setting an initial ratio  $S_0/X_0$  to 2.87 mg COD/mg TSS (experimental constraints), while setting the same experimental conditions ( $T= 20\pm 1$ , Agitation: 100 r/min,  $V= 500$  ml).

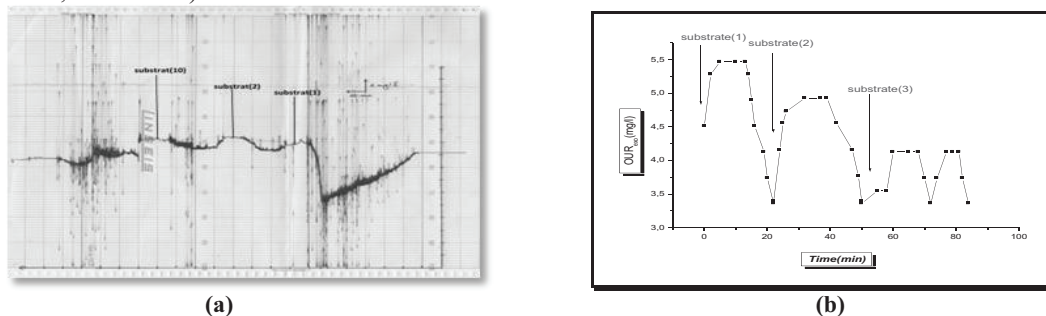


Fig.3. (a) Respirogramme obtained at 20°C, (b) the corresponding oxygen uptake rate (OUR) as function of time, to determine the effect of increasing additions of substrate on the amount of oxygen consumed

The area formed under the curve for each peak, represents the quantity of oxygen consumed (necessary) for the assimilation of exogenous substrate added.

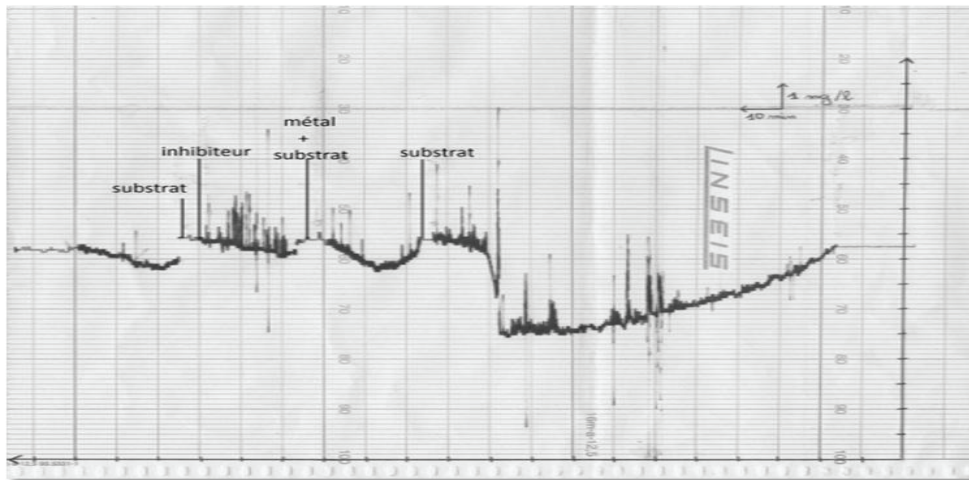
Respirometric method can be used, as well, to assess the initial substrate to biomass ratio  $S_0/X_0$ . Table 1 shows the effect of variation of this ratio on oxygen consumption. As the initial ratio is doubled oxygen consumption increase by 17%. Furthermore when it is augmented 10 times, oxygen consumption increased by only 28%. These results indicate that substrate is much more abundant in solution than biomass. Therefore the ratio is high, which is confirmed by the literature ( $> 2 \text{ mg DCO/ mg MVS}$ ).

**Table.1.** Effect of the initial  $S_0/X_0$  ratio on the amount of oxygen consumed

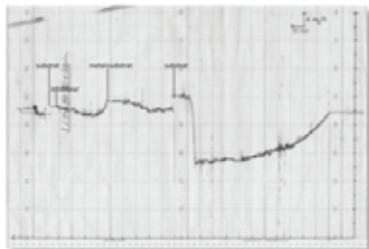
settings	$K_{L,a}$ ( $h^{-1}$ )	$OUR_{end}$ ( $mg/l.min$ )	the amount of oxygen consumed (mg/l) ( $S_0/X_0 : 2.87 \text{ mg COD/mg TSS}$ )	the amount of oxygen consumed (mg/l) ( $S_0/X_0 : 5.74 \text{ mg COD/mg TSS}$ )	the amount of oxygen consumed (mg/l) ( $S_0/X_0 : 28.7 \text{ mg COD/mg TSS}$ )
value	1,92	0,054	108,84	127,59	139,09

### 3.3. Respirometric response

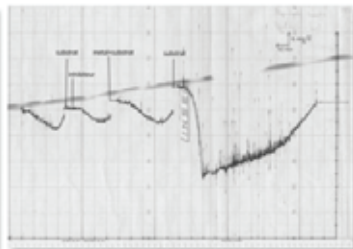
The evolution of dissolved oxygen concentration in experimental stages is represented in the following figures:



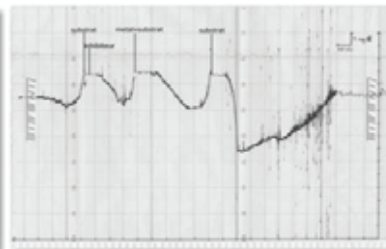
**Fig.4.** an example for the Respirogramme obtained at 20°C (1 mg/l Cr (III) addition)



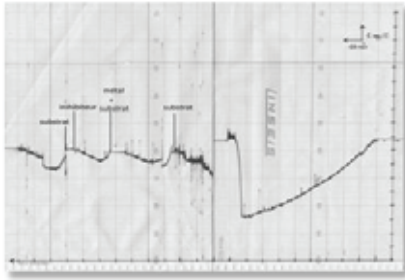
**Fig.5.** Respirogram obtained at 20°C (0,1mg/l Cr (III) addition)



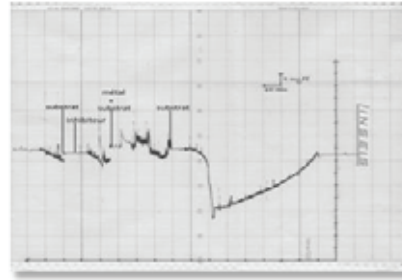
**Fig.6. :** Respirogram obtained at 20°C (0.5 mg/l Cr (III) addition)



**Fig.7.** Respirogram obtained at 20°C (4 mg/l Cr (III) addition)



**Fig.8.** Respirogramme obtained at 20°C (10 mg/l Cr (III) addition)



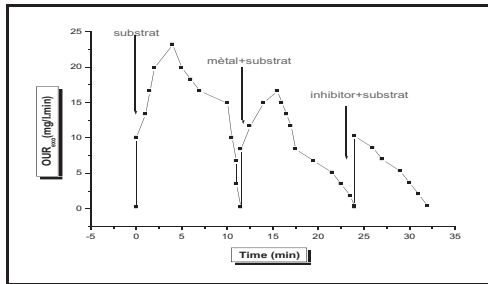
**Fig.9.** Respirogramme obtained at 20°C (30 mg/l Cr (III) addition)

**3.4. Effect of inhibition on OUR profiles**

OUR profiles were obtained by means of respirometric measurements under the same experimental conditions and the same initial  $S_0/X_0$  ratio. An example of the OUR profiles for the control reactor with and without toxic inhibitor addition are plotted in Fig.10.

The assessment and interpretation of the oxygen uptake rate (OUR) is now recognized as the most important tool to quantify major parameters and processes from significant experimental and modelling studies.

At first the OUR measurement gives a very fast response, when substrates are added, however in the second phase of the experiment, when substrate and chromium are added the respiration rate decreased as can be seen through the slope of the ascending part of the curve (central part of the curve of figure 10). Moreover, the position of the inflexion point on the two parts of the curve is different, indicating that the quantity of oxygen consumed is different as well.



**Fig.10.** OUR profiles obtained for binary substrate injection and 30 mg/l Cr (III) addition

The amount of oxygen consumed during the tests evaluating the effect of different pulses of chromium on microbial activity. The amount of oxygen consumed without Cr addition differs from one experience to another due probably to microbial activity (Table .2).

The reduction percentages in the amount of oxygen consumed with Cr (III) concentration added in comparison to the reference test is calculated according to the equation (5):

$$I\% = \frac{\int [OUR_{ex}(t)]_0 dt - \int [OUR_{ex}(t)]_I dt}{\int [OUR_{ex}(t)]_0 dt} \times 100 \tag{5}$$

Where %I is the reduction of respiratory activity, expressed as a percentage,  $\int [OUR_{ex}(t)]_0 dt$ , the amount of oxygen consumed in the absence of inhibitor (mgO<sub>2</sub>/L) and  $\int [OUR_{ex}(t)]_I dt$ , the amount of oxygen consumed in the presence of inhibitor (mgO<sub>2</sub>/L).

**Table.2.** The amount of oxygen consumed and the percentages of reductions in the amount during the tests evaluating the effect of different pulses of toxic on microbial activity.

Concentration of Cr (III) added ( mg/l)	0.1	0.5	1	4	10	30
OUR <sub>end</sub> (mg/l .min)	0.05736	n.d	0.0652	n.d	0.01008	0.10961
K <sub>1a</sub> (h <sup>-1</sup> )	34.42	n.d	9.78	n.d	60.24	16.4
the amount of oxygen consumed (mg/l) ( without Cr addition )	579.595	n.d	171.825	n.d	2415.1	187.925
the amount of oxygen consumed (mg/l) ( with Cr addition )	688.284	n.d	78.296	n.d	1326.43	114.43
I (%)	+18,75	nd	-54,43	nd	- 45,077	- 39, 10

n.d: not determined

The increase of the amount of oxygen consumed with 0.1 mg/l Cr addition (Table .2) can be explained that microorganisms adapted well to this level of toxicity, there were no inhibition moreover it could be possible that growth of the biomass contributed as well and it is much faster. Thereafter, the reduction of the amount of oxygen consumed became clearer as the concentration of chromium added is greater than 0.5 mg/l (Fig .4, 5, 6, 7, 8, 9).

A concentration of 1 mg/l reduces more than 50 % of the amount of oxygen consumed. The experimental data indicate that beyond this concentration there is no more inhibition effect.

The experimental data indicate a no good concordance between the inhibitor concentration and the percent decrease in the amount of oxygen consumed for the range of chromium metal concentration tested in the study , Because under low  $S_0/X_0$  ratios, the level of inhibition is much more pronounced at the beginning of the experiment due to fast consumption of substrate and the resulting steeper OUR profile, increasing the  $S_0/X_0$  ratio generally reduce the effect of inhibition [16], because cell multiplication becomes important and the degradation rate increases exponentially , experiment with low  $S_0/X_0$  ratios are therefore more sentive in determining toxicity.

### 3.5. Effect of inhibition in heterotrophic activity

Active biomass represents 70% of the total biomass and heterotrophic bacteria represent 90 % of the active biomass; the analytical means provide access to these ratios [25].

At low Cr concentration (0.1 mg/l), heterotrophic bacteria are already partially inhibited compared to the reference test, for higher concentration (30 mg/l) the inhibition is almost the same (Table .3).

**Table.3.** Effect of chromium toxic addition on the amount of oxygen consumed by heterotrophic bacteria

Concentration of Cr (III) added ( mg/l)	0.0	0.1	0.5	1	4	10	30
Rate of the amount of oxygen consumed by heterotrophic bacteria / the total amount of oxygen consumed.	65.57	41.71	n.d	n.d	n.d	87.098	41.49

### 3.6. Effect of chromium toxic addition on the floc forming

The observed changes of microbial flora could be associated with the respirometric technique to indicate a decay or inhibition of the microorganisms in the sludge.

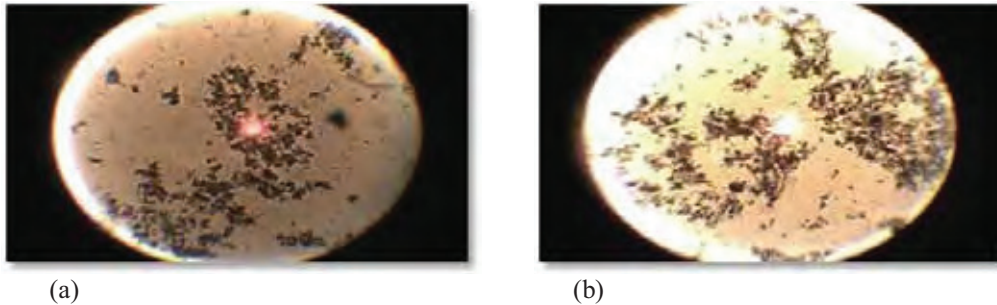


Fig .11. Micrographs of sludge samples obtained ((a) without toxic inhibitor, (b) with addition of 30 mg/l Cr (III) ( $\times 10$ ))

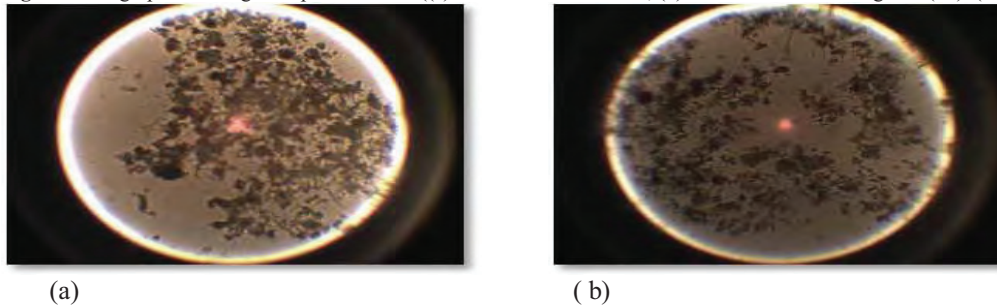


Fig .12. Micrographs of sludge samples obtained ((a) without toxic inhibitor, (b) with addition of 30 mg/l Cr (III) ( $\times 20$ ))

Aggregation of various microbial species, formed as bioflocs, is important in maintaining a desirable performance in many aerobic biological waste water treatment plants; several parameters influence the formation or not of bioflocs, like overloading of organic substrates, DO limitation, temperature variations and toxicant transients, such as heavy metal [26], phenol [27] and electrophilic compounds [28,29].

Changes in microbial composition and floc agglomeration in the respirometer was determined by microscope observation without and with 30 mg/l Cr (III) toxic inhibitor addition (Fig .11 and Fig .12), chromium addition may induce a lethal shock on biomass, rather than physiological impact (no deflocculation was visualized by microscopic observation).

### 4. Conclusions

In this paper respirometric technique is used to study the effect of chromium contaminated waste waters on microbial activity.

OUR measurement was used to evaluate the effect of chromium addition on oxygen, consumption. It was found that beyond 1mg/l of chromium the inhibition did not increased. However at low concentration of the inhibitor a catalytic effect seem to take place, which is probably due to the biomass increase. Moreover, a microscopic examination of microorganisms does not show a morphological changes or any deflocculation. From the results obtained, OUR test is more sensitive to toxic elements introduction than microscopic examination.

To increase the sensitivity of this method, the inhibition OUR experiments can be repeated by setting low  $S_0/X_0$  ratios and other type of substrates.

### Acknowledgement

The wastewater treatment plants at « IBN ZIAD », Constantine in Algeria, are all acknowledged for providing sludge for the experiments.

## References

- [01] Mahendraker V & Viraraghavan T (1995) Respirometry in environmental engineering. *Journal of Environmental Science and Health. Part A. Environmental Science and Engineering* 30: 713–734.
- [02] Logan BE & Wagenseller GA (1993) The HBOD test: a new method for determining biochemical oxygen demand. *Water Environment Research* 65: 862–868.
- [03] Hoffmann J, Rezníčková I, Vanóková S & Kupec J (1997) Manometric determination of biological degradability of substances poorly soluble in aqueous environments. *International Biodeterioration and Biodegradation* 39: 327–332.
- [04] Shogren RL, Petrovic Z, Liu Z & Erhan SZ (2004) Biodegradation behavior of some vegetable oil-based polymers. *Journal of Polymers and the Environment* 12: 173–178.
- [05] Davies S & Murdoch F (2002) The role of respirometry in maximising aerobic treatment plant efficiency. Strathkelvin Instruments Ltd, UK. URI: <http://www.strathkelvin.com/Documents/Aquaenviropaper.pdf>. Cited 2008/09/30.
- [06] Kungolos A (2005) Evaluation of toxic properties of industrial wastewater using online respirometry. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 40: 869–880.
- [07] Keech GW (1997) The impact of paper additives of activated sludge. Department of Chemical Engineering, University of Toronto. URI: <http://hdl.handle.net/1807/11395>. Cited 2008/10/01.
- [08] Hufschmid A, Becker-Van Slooten K, Strawczynski A, Vioget P, Parra S, Péringer P & Pulgarin C (2003) BOD5 measurements of water presenting inhibitory Cu<sup>2+</sup>. Implications in using of BOD to evaluate biodegradability of industrial wastewaters. *Chemosphere* 50: 171–176.
- [09] Tzoris A, Fernandez-Perez V, Hall EAH (2005) Direct toxicity assessment with a mini portable respirometer. *Sensors and Actuators B: Chemical* 105: 39–49.
- [10] WTW, Application report O2 500232. Respirometric determination of the BOD5 of sewage polluted with inhibitory or toxic substances using OxiTop® measuring system.
- [11] Berkun M & Onal A (2004) Effects of inorganic metals on respirometric oxygen uptake and related Sag curve formations in streams. *Water S.A.* 30:273–278.
- [12] Roppola, Katri, (2009) Environmental applications of manometric respirometric methods Faculty of Science, Department of Chemistry, University of Oulu, P.O.Box 3000, FI-90014, A 527 University of Oulu, Finland.
- [13] Edgardo M. Contreras a, M. Elisa Albertario a, Nora C. Bertola a,b, Noemí E. Zaritzky a,b (2008) Modelling phenol biodegradation by activated sludges evaluated through respirometric techniques.
- [14] Roš, M. (1993). Respirometry of activated sludge. Technomic Publishing Company, Inc. U.S.A. ISBN: 1-56676-029-1.
- [15] Klaus Dircks, Peter F Pind, Hans Mosbæk and Mogens Henze\*(1999) Yield determination by respirometry - The possible influence of storage under aerobic conditions in activated sludge
- [16] E. Ubay Cokgor \*, S. Ozdemir, O. Karahan, G. Insel, D. Orhon (2006) Critical appraisal of respirometric methods for metal inhibition on activated sludge.
- [17] B. Weiss, N. Roche, O. Potier, M.-N. Pons, S. Gauthier et C. Prost(1998) Apport des mesures respirométriques à la gestion d'une station d'épuration à boues activées

- [18] Surmacz-Gorska J, Gernaey K, Demuyne C, Vanrolleghem P & Verstraete W (1996) Nitrification monitoring in activated sludge by oxygen uptake rate (OUR) measurements. *Water Research* 30: 1228–1236.
- [19] Marinette Hagman, Jes la Cour Jansen (2007)
- [20] Benes, O., Spanjers, H. and Holba, M. (2002). *Respirometry techniques and activated sludge models*. *Wat. Sci. Tech.*, 46(4–5), 1–6.
- [21] Alexandre Baudouin, école des mines D'ALBI juillet 2004 'Etude bibliographique, économique et essais sur différentes méthodes de fractionnement de la demande chimique en oxygène d'un effluent urbain '.
- [22] Luis Fernande Delgado Zambrano, université Toulouse, février 2009 'Bioréacteur à membrane externe pour le traitement d'effluents contenant des médicaments anticancéreux, élimination et influence du cyclophosphamide de ces principaux métabolites sur le procédé, ' .thèse de doctorat.
- [23] Journal officiel de la république algérienne N° : 26 , 23 avril 2006.
- [24] Chudoba P., Capdeville B. et Chudoba J. : Explanation of biological meaning of the S0/X0 ratio in batch cultivation. *Wat. Sci. Tech.* (1992), 26(3-4), 743-751.
- [25] A.S.Kaprelyants , D.B.Kell ( 1992) Rapid assessment of bacterial viability and viability by rhodamine 123 and flow cytometry .*journal of applied bacteriology* , 72(5) : 410-422.
- [26] Neufel, R.D. Heavy metals –induced deflocculation of activated sludges .*j.water pollut.control fed* .48(8): 1940-1947
- [27] Galil NI , Schwartz-Mittelman A and Saroussi-Zohar O (1998) .biomass deflocculation and process disturbances exerted by phenol transient load conditions .*wat.sci tech*, 38(8-9): 105-112.
- [28] Bott and Love NG (2002) investigating a mechanistic cause for activated –sludge deflocculation in response to shock loads of toxic electrophilic chemicals .*water environ.res*.74 (3): 306-315.
- [29] Bott and Love NG (2004) implicating the glutathione-gated potassium efflux system as a cause of electrophile-induced activated sludge deflocculation *appl.envIRON.microbiol*.70 (9):5569-5578.



# Use of Continuous Aeration Respirometry Method for the Prediction of Slightly Saline Waste Water Biodegradation

*R.Zerdazi\*, M.Boutraa, A.Melizi, M.Bencheikh lehocine, A- H. Meniai.*

*Laboratoire de l'ingénierie des procédés d'environnement 'LIPE' Département de Chimie Industrielle,  
Université Mentouri Constantine 25000 Algérie*

---

## Abstract

The microorganisms growth kinetics is determined by the physical and chemical characteristics of the environment in which they find themselves and multiply; It is therefore essential to understand the effect of these environmental factors to master cell multiplication and hence the pollution biodegradation.

Respirometry has been used in recent years in the laboratory as an assessment technique of microbial activity and an effect detector of the contamination (presence of toxic, stress, increase or decrease in pH, temperature variation ...) on bacterial respiration and hence on the biological waste water treatment plant.

In this study respirometry has been used as a relatively quick and efficient means to detect the effect of the presence of a salt of up to 5 g / l (low salt stress) on the degradation of carbon and nitrogen pollution and on bacterial floc aggregation.

© 2012 Published by Elsevier Ltd. Selection and/or peer review under responsibility of The TerraGreen Society.

Keywords: Respirometry; waste water; salt stress; deflocculation

\* Corresponding author. Tel.: +213-031-81-88-80; fax: +213-031-81-88-80.  
E-mail address: [docran@voila.fr](mailto:docran@voila.fr)

---

## 1. Introduction

The salinity of a liquid is defined as the sum of cations and anions in it. The main salt present in almost inexhaustible quantities in the seas, oceans, salt lakes and also in salt deposits is sodium chloride (NaCl).

Salt is indeed a staple, used for food preservation as well as for the manufacture of chemicals products such as hydrochloric acid, sodium hydroxide (caustic soda), sodium bicarbonate, etc... ; The industrial sectors of agro-food, chemicals / pharmaceuticals, leather, textile and petroleum are major consumers of

salt but also major generators of saline pollution (Lefebvre and Moletta, 2006). In addition, many coastal cities, such as Hong Kong use seawater for toilet flushing to save freshwater (Wu and al., 2008). All these wastewater sources are characterized by high salinity and a high organic and nutrient load.

The treatment of salt effluent is effected by physico-chemical process, but the biological pathway used for the treatment of organic matter in saline effluents could reduce the cost of the physical and chemical finishing. The biological treatment of such effluents can only be done by means of microorganisms tolerant to high salt concentrations (halophiles). These microorganisms are present in the far oceans but also in hypersaline environments such as salt marshes or alkaline lakes.

Moderate acclimation of activated sludge to high salinity is possible. Acclimation implies the exposure of non-salt-adapted micro-organisms to increasing salt concentrations in order to permit the obtention of satisfactory effluent treatment performance at a given salt concentration. The success of such adaptation depends on several factors, such as the type and growth phase of micro-organisms, as well as the rapid or gradual increase of salt concentration during acclimation.

The survival and diversity of microorganisms in hypersaline effluents and their ability to degrade organic pollution carbon, nitrogen and phosphorus is the subject of numerous studies (Tokuz,R and al ,1978;Woolard , C.R and al , 1994; Panswad,T. and al , 1999; Pernetti ,M.and al ,2005; .... ).

The salt induced osmotic pressure which affects the metabolism of microorganisms. Indeed, the difference in solute concentration on both sides of the cytoplasmic membrane generates an osmotic pressure gradient. The free passage of water molecules through the cell membrane, allows then to reduce the concentration gradient. In addition to the passage of water molecules, bacteria can increase their internal solute concentration, through the production of potassium or sugar for example, the phenomenon of concentration which also regulates the osmotic pressure gradient.

Although some types of microorganisms (halophilic bacteria) need a salty environment to grow, the microorganisms most commonly used in biological treatment (non-halophilic bacteria) resent the salty environment.

respirometry is a more direct method for assessing sludge activity and thus toxicity to sludge. Many activated sludge respirometric methods are well-established and several standardized tests have existed for a long time (e.g., Organization for Economic Co-operation and Development (OECD), 1984; Environmental Protection Agency (EPA), 1996; International Organization for Standardization (ISO), 1986).

A continuous Aeration Respirometry is used in this study to predict whether or not to degrade the carbon and nitrogen pollution in the bacterial biomass of the treatment plant without adaptation in case of salt stress up to 5 g / l (low salt stress).

## 2. Materials and methods

### 2.1. Open respirometer experiments

Respiration was measured in an experimental set-up consisting of an open aeration batch reactor (500 ml working volume), as shown in Fig.1, the system was kept at a temperature of  $20 \pm 1$  ° C using a thermal enclosure and mixing was obtained by magnetic stirring. Oxygen was measured with an oxygen electrode connected to OXI 357 oxygen measuring unit from WTW.

Oxygen measurements were logged by LINSEIS recorder, and respiration rates were then calculated by linear regression of all the obtained dissolved oxygen (DO) data.

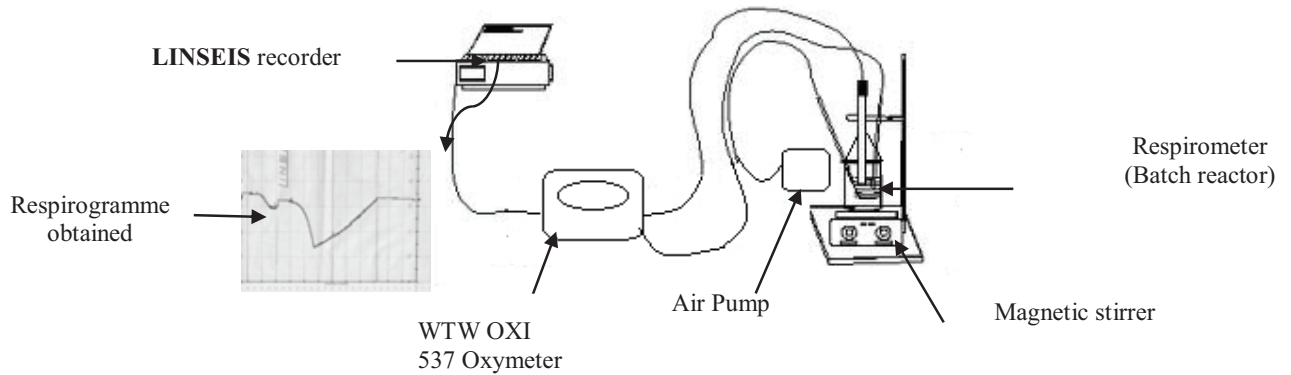


Fig.1. A schematic of the experimental open respirometer

## 2.2. Inoculations

There is a difference between halophilic bacteria and halotolerant bacteria. Indeed, the term "halophilic" means that microorganisms require the presence of salt (NaCl) in the medium for their growth. However, the term "halotolerant" means that microorganisms tolerate different salt concentrations but not required during growth (Table.1). (Kushner D. J., 1985)

To assess the influence of salt stress on the biodegradation of carbon and nitrogen composed and on the tolerance of microorganisms to adapt to this specific environment (the halotolerant bacteria), the respirometer were inoculated with fresh activated sludge obtained from a local sewage treatment plant 'IBN ZIAD' Constantine, Algeria designed to treat 800l/s (6916 m<sup>3</sup>/day) flow rate or 450000 population equivalent/d.

Sampling was carried out with a bottle of immersion (Fig .2); the bottle allows us to access multiple levels and allowing the sample to each desired level. The collected sludge was used immediately and no adjustment procedure was undertaken.



Fig.2. Sampling procedures in the « IBN ZIAD » station

Table.1 .Types of Halophilic Microorganisms

Categories	NaCl (M)		NaCl (g l <sup>-1</sup> )	
	Range	Optimum	Range	Optimum
Halotolerant (no Halophilic)	0–1	0 <0,2	0–60	<10
Slightly Halophilic	0,2–2,0	0,2–0,5	10–115	10–30
Moderate Halophile	0,4–3,5	0,5–2,0	25–200	30–115
Extreme Halophilic "Borderline"	1,4–4,0	2,0–3,0	80–230	115–175
Extreme Halophilic	2,0–5,2	>3,0	115–300	>175

### 2.3. Synthetic saline wastewater

Synthetic wastewater used throughout the studies was composed of binary substrate consisting of sodium acetate and ammonium chloride and Salt (NaCl) its concentration was varied between 0 and 5 g/l. the injections of carbon and nitrogen to the reactor were such that the resulting chemical oxygen demand (COD) and (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> -N) in the reactor are equal to 15,2 mg/l and 1,6 mg/l respectively, hence the initial S<sub>0</sub>/X<sub>0</sub> ratio is about 2,87mg COD/mg TSS for the carbon substrate and 0,30 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - N /mg TSS for the nitrogen substrate.

Acetate and ammonia have been chosen because these substrates are major components of domestic waste water (Volskay and Grady, 1990) and give a well defined respirogram without the need for adaptation of the sludge (Z.Kong and al, 1995).

## 3. Experimental results and discussion

### 3.1. $k_{La}$ and $OUR_{end}$ assessment on the respirometer

The experimental procedure for the determination of endogenous respiration and the transfer coefficient of oxygen in the respirometer includes the following steps:

- The sample is left to the endogenous (in continuous aeration) since the day before the test so that all the substrate (carbon or nitrogen) is consumed by microorganisms, (Delgado L, 2009) recommends only 2 to 3 hours so that all residual exogenous substrate is consumed, after this step, the sludge reaches a stable respiration called endogenous respiration, This results in a plateau reached in terms of concentration.  
It is necessary to know the saturation DO concentration in the mixed liquor medium, it is often estimated by the tabulated values for clean water, but can be measured by an oxygen sensor to saturation by aeration of the mixed liquor filtered (Yann Le Moullee, 2008), in this study the saturation concentration is determined for a sample decanted over 24 h (because the filtration of the mixed liquor is very difficult) the supernatant is recovered and then aerated to saturation at 20 ° C. Several experiments were conducted on the mixed liquor decanted the S<sub>0, sat</sub> is 8.98 mg O<sub>2</sub> / l at a temperature of 20 ° C, or this concentration is 9.2 mg O<sub>2</sub> / l for the clear water at the same temperature.
- The second step is the stopping of aeration and the third step to the resumption of supply of dissolved oxygen, the second and third step allows the determination of transfer oxygen coefficient  $k_{La}$  and endogenous respiration according to equation (1).

$$\frac{dS_0}{dt} = k_L \alpha (S_{0,sat} - S_{end}) - OUR_{end} \tag{1}$$

Where  $S_0$ ,  $S_{0,sat}$  and  $S_{end}$  are the instantaneous, the saturation and the endogenous DO concentrations, respectively.

- The fourth step is the return to the level of endogenous activated sludge after resumption of aeration (Fig.3.)

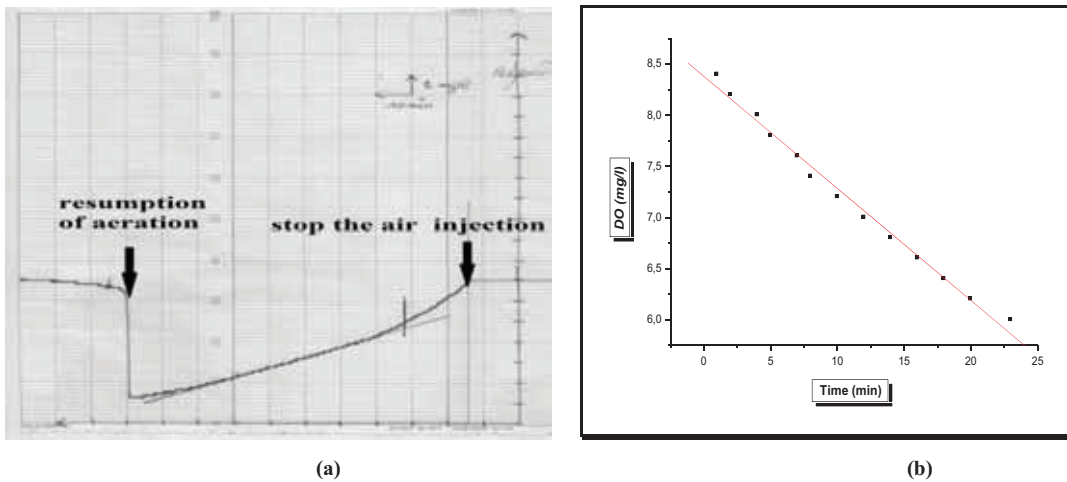


Fig.3. (a) Respirogramme obtained at 20°C, (b) Dissolved oxygen (DO) concentration as function of time in endogenous stage

Several tests were performed for the determination of  $K_L a$  in the same operating conditions (agitation 100 r/min,  $T = 20^\circ C$ ), we obtain the following reproducibility:

Table.2. different values of  $k_L a$  obtained in the different tests

tests	1	2	3	4	5
$OUR_{end}$					
(mg/l.min)	0,0317	0,1892	0,1828	0,0497	0,0664
$K_L a$ ( $h^{-1}$ )	1,18	4	4,90	1,569	2,21

The most important parameters to be adjusted in a respirometry test in continuous aeration is the aeration rate, agitation and reactor geometry, these parameters have been set in the various tests conducted to determine the transfer coefficient and endogenous respiration, but the reproducibility was not very good this can be caused by the following parameters:

- measurement of dissolved oxygen in the stop phase can be crucial distorted by the presence of some air bubbles around the electrode
- microbial activity cannot be identical in the same test

- although the liquid-gas surface area was minimized as much as possible during the experiments (in the stop phase) , It has been demonstrated that this transfer should not be ignored ( A .Guisasola and al , 2005)

For this and according to the literature it is recommended to determine this parameter set for each experiment (Alexandre Baudouin, 2004).

### 3.2. Toxicity studies

To enable the operating staff of a treatment plant to respond quickly and effectively to an unusual situation, the presence of toxic waste water must be demonstrated as soon as possible. To this end, the observation of peaks respirometric parameters such as slopes of the peaks, especially the reduction of respiratory activity plays an important role.

So the approach to study the effect of the presence of low salinity on respiratory activity is as follows:

- After the step of determining the transfer coefficient and the endogenous respiration, the next step is the injection of a certain amount of binary synthetic substrate, sodium acetate and ammonium chloride, this then gives rise to an increase in oxygen consumption by microorganisms (autotrophic and heterotrophic) and thus a peak respirometric, once the substrate oxidized the dissolved oxygen concentration tends to return to the endogenous level as a result of the continuous aeration.
- This step consists in observing the effect of adding salt on the respirometric parameters of the peaks; this will be clear by the simultaneous injection of a quantity of salt varying between 1 and 5 g / l and the same amount of substrate.

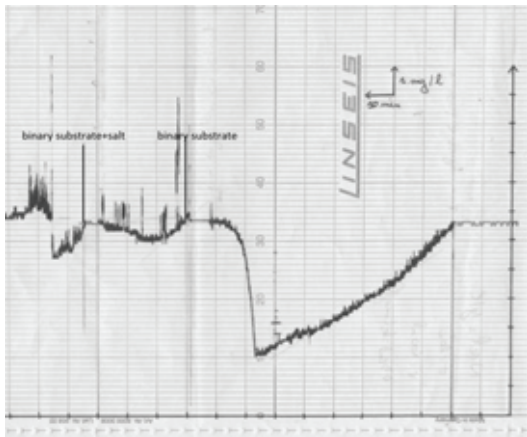
Exogenous oxygen uptake ( $OUR_{exo}$ ) data are central to respiration inhibition analysis; they can be obtained from equation (4),  $OUR_{exo}$  curve reflects the kinetics of aerobic biodegradation of C and N substrates simultaneous by heterotrophic and autotrophic microorganisms

$$OUR_t = OUR_{exo} + OUR_{end} \quad (2)$$

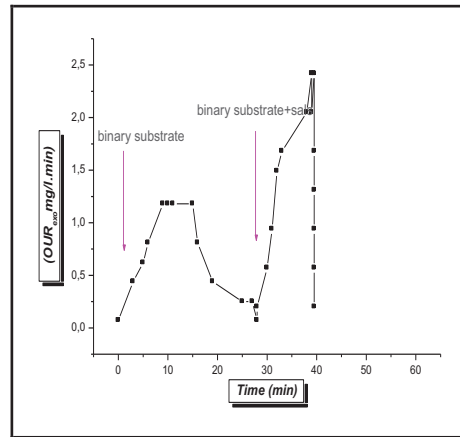
$$\frac{dS_0}{dt} = k_L \alpha (S_{0,sat} - S_0) - OUR_t \quad (3)$$

$$OUR_{exo} = k_L \alpha (S_{0,end} - S_0) - \frac{dS_0}{dt} \quad (4)$$

The evolution of dissolved oxygen concentration in experimental stages and the corresponding oxygen uptake rate ( $OUR_{exo}$ ) as function of time with and without salt addition is represented in the following figures:

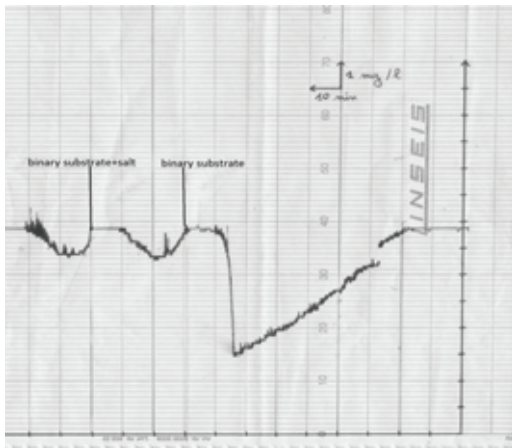


(a)

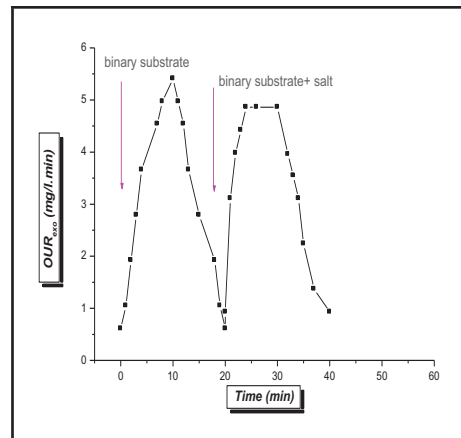


(b)

Fig.4. (a) Respirogramme obtained at 20°C without and with 1g/l addition of salt, (b) the corresponding oxygen uptake rate (OUR<sub>exo</sub>) as function of time

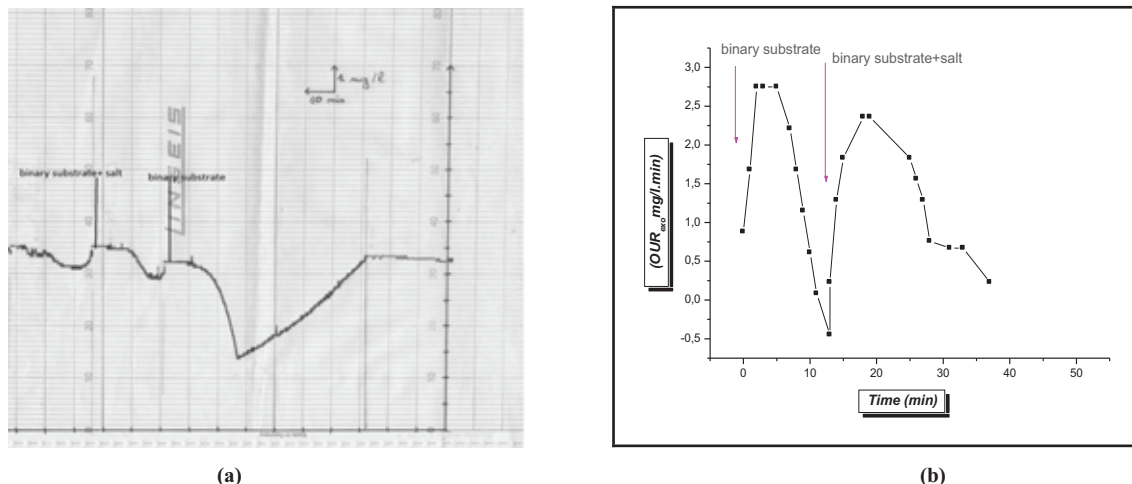


(a)

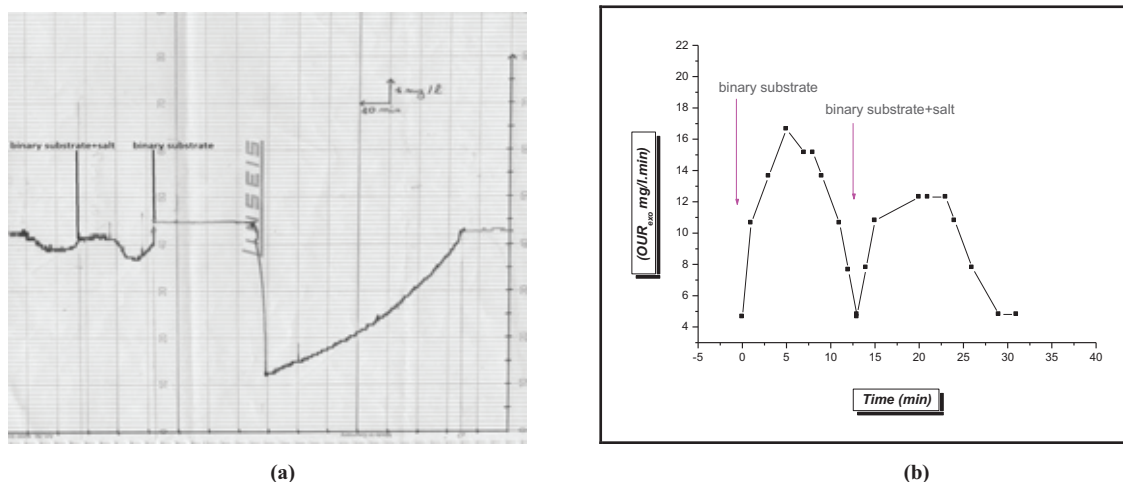


(b)

Fig.5. (a) Respirogramme obtained at 20°C without and with 3g/l addition of salt, (b) the corresponding oxygen uptake rate (OUR<sub>exo</sub>) as function of time



**Fig.6.** (a) Respirogramme obtained at 20°C without and with 4g/l addition of salt, (b) the corresponding oxygen uptake rate (OUR<sub>oxo</sub>) as function of time



**Fig.7.** (a) Respirogramme obtained at 20°C without and with 5g/l addition of salt, (b) the corresponding oxygen uptake rate (OUR<sub>oxo</sub>) as function of time

For concentrations up to 5 g / l of salt injected, inhibition is almost negligible; all respirogrammes obtained before and after injection of salt are almost identical (Fig.4, Fig.5, Fig.6, Fig.7).

3.3. Effect of the salt addition on the amount of oxygen consumed by microorganisms

The area formed under the curve for each peak (the corresponding oxygen uptake rate (OUR<sub>oxo</sub>) as function of time), represents the quantity of oxygen consumed (necessary) for the assimilation of exogenous substrate added.



The reduction percentages in the amount of oxygen consumed with salt concentration added in comparison to the reference test is calculated according to the equation (5):

$$I\% = \frac{\int [OUR_{RexO}(t)]_0 dt - \int [OUR_{RexO}(t)]_I dt}{\int [OUR_{RexO}(t)]_0 dt} \times 100 \quad (5)$$

Where %I is the reduction of respiratory activity, expressed as a percentage,  $\int [OUR_{RexO}(t)]_0 dt$ , the amount of oxygen consumed in the absence of salt (mgO<sub>2</sub>/L) and  $\int [OUR_{RexO}(t)]_I dt$ , the amount of oxygen consumed in the presence of salt (mgO<sub>2</sub>/L).

**Table.3.** The amount of oxygen consumed and the percentages of reductions in the amount during the tests evaluating the effect of different pulses of salt on microbial activity.

Concentration of NaCl added ( mg/l)	1	3	4	5
OUR <sub>end</sub> (mg/l .min)	0.074	0.080	0.098	0.1
K <sub>1,a</sub> (h <sup>-1</sup> )	1.85	4.36	2.67	15
the amount of oxygen consumed (mg/l) ( without salt addition )	13.25	65.205	35	163.2
the amount of oxygen consumed (mg/l) ( with salt addition )	14.36	69.205	33.23	168.9
I (%)	+8.37	+6.13	-5.057	+3.49

Microorganisms commonly used to treat urban wastewater are poorly suited to the treatment of liquid wastes containing organic compounds and a high concentration of salts.

In response to high salt concentrations gradients bacterial cells will tend to empty their water by osmosis, and consequently to dry up. This phenomenon is called **plasmolysis**, causes a decrease in cellular activity. The presence of salt has an impact on the efficacy of biological treatment.

The salt concentration limit not to exceed in order to have a good biological degradation varies from one author to another subsequent work (Markez et al., 1987), have shown that media containing less than 1% salt, equivalent to 12 g .l<sup>-1</sup> NaCl, are conducive to healthy development of non-halophilic bacteria. More recent studies (Woolard et al., 1995), made with traditional cultures of bacteria, used in domestic water treatment (activated sludge), show the difficulty of treatment of effluents containing 0.1 to 5% salt (1.2 to 60 g .l<sup>-1</sup> NaCl). Kargi and Dincer (1997) observed that the effluent COD removal efficiency fell from 85% to 59% when salinity increased from 0 to 5%.

As respirogrammes obtained and the quantity of oxygen consumed before and after addition of salt it was confirmed that for low salt concentrations up to 5 g / l, the microorganisms was able to adapt by regulating the gradient osmotic pressure and therefore it was supported that environment for the degradation of the carbon and nitrogen substrate, no reduction in microbial activity (Table .3) was detected. On the other side a slight increase in microbial activity is detected due to microbial growth obtained in the first phase of the experiment (without salt addition) because in this study the substrate is much more abundant in solution than biomass (high ratio S/X).

### 3.4. Effect of addition of salt on the floc agglomeration

The main response to rapid changes in salinity is the release of cellular material, following the outbreak of the bacteria, resulting in an increase of soluble COD (Kincannon and Gaudy, 1968).

To confirm the results obtained from the respirometric tests, proving that no inhibition is detected for a salinity between 1 and 5 g / l, a microscopic examination is to establish a larger image (100 ×) using a microscope-type OPTECH assisted by a camera (Fig .8) no dispersion or deflocculation of floc was displayed and no outbreak of the bacterial cell was observed, some microorganisms are still mobile after the addition of 5 g / l of NaCl.

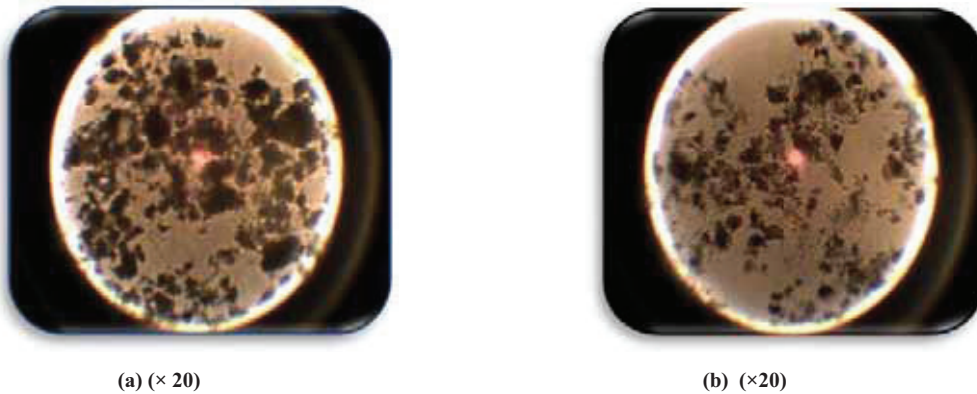


Fig .8. Micrographs of sludge samples obtained ((a) without salt, (b) with addition 5g /l of NaCl

### Conclusion

Given the variety of inhibitory compounds may enter accidentally in the treatment process of wastewater treatment plant, in an exhaustive list is almost impossible .They can be characterized by their purpose ( respirometric technique ) and not by their nature.

Respirometry seems to be a useful tool in monitoring and good start of treatment plants. Compared to many other methods, it is relatively easy to implement and low cost, the data could be used for simple characterization, control of the degradation process , to characterize more complex as the simulation and design of a treatment plant wastewater.

This study has shown that no reduction in microbial activity was detected at different NaCl concentrations: 1, 3, 4 and 5 g /l. using synthetic wastewater.

Because it difficult to compare removal efficiencies, and specific activities of microorganisms, this study was complete with a microscopic examination, no dispersion or deflocculation of floc was displayed and mobility of microorganisms are still good.

### Acknowledgments

Authors would like to express their gratitude to all technicians of wastewater treatment plants at « IBN ZIAD», Constantine in Algeria

## References

- [1] Lefebvre, O., Moletta, R., 2006. Treatment of organic pollution in industrial saline wastewater: a literature review. *Water Res.* 40, 3671–3682.
- [2] Wu, Y., Tam, N.F.Y., Wong, M.H., 2008. Effects of salinity on treatment of municipal wastewater by constructed mangrove wetland microcosms. *Mar. Pollut. Bull.* 57, 727–734.
- [3] Tokuz, R.Y., Eckenfelder, W.W., 1978. The effects of F/M on an activated sludge system treating high salinity wastewater. In: *Proceedings of 33rd Purdue Industrial Waste Conf.* Lewis, Chelsea, MI.
- [4] Woolard, C.R., Irvine, R.L., 1994. Biological treatment of hypersaline wastewater by a biofilm of halophilic bacteria. *Water Environ. Res.* 66 (3), 230–235.
- [5] Panswad, T., Anan, C., 1999. Impact of high chloride wastewater on an anaerobic/anoxic/aerobic process with and without inoculation of chloride acclimated seeds. *Water Res.* 33 (5).
- [6] Perneti, M., Di Palma, L., 2005. Experimental evaluation of inhibition effects of saline wastewater on activated sludge. *Environ. Technol.* 26 (6), 695–703.
- [7] Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). Activated sludge, respiration inhibition test. *Guideline for Testing of Chemicals*, 209; 1984.
- [8] Environmental Protection Agency (EPA). Modified Activated Sludge, Respiration Inhibition Test for Sparingly Soluble Chemicals. *Ecological Effects Test Guidelines OPPTS 850.6800*. EPA 712-C-96-168; 1996.
- [9] International Organization for Standardization (ISO). Water quality—Test for inhibition of oxygen consumption by activated sludge. *ISO 8192*; 1986.
- [10] Kushner D. J. (1985) In: *The Bacteria*. Academic Press, London, vol. 8, pp.171.
- [11] Volskay V. and Grady C.P.L.Jr (1990) respiration inhibition kinetic analysis *Water Environ. Res.* 24, 863–874.
- [12] Z.Kong P. Vanrolleghem, P. Willems and W. Verstraete, (1995) simultaneous determination of inhibition kinetics of carbon oxidation and nitrification with a respirometer, *Wat. Res.* Vol. 30, N<sup>o</sup>. 4, pp. 825-836,
- [13] Luis Fernande Delgado Zambrano, université Toulouse, février 2009 ‘Bioréacteur à membrane externe pour le traitement d’effluents contenant des médicaments anticancéreux, élimination et influence du cyclophosphamide de ces principaux métabolites sur le procédé’, thèse de doctorat.
- [14] Yann Le Moullee, université Nancy, octobre 2008.comparaison des approches systémiques, mécaniques des fluides numériques compartimentales pour la modélisation des réacteurs : application à un réacteur à canal à boues activées, thèse de doctorat ‘
- [15] Albert Girasol, Irene Junbany, Juan A Baeza , Julian Carrera And Javier Lafuente , ( 2005) respirometric estimation of the oxygen affinity constants for biological ammonium and nitrite oxidation , *chem technol biotechnol* , 80 : 388-396
- [16] Alexandre Baudouin,  cole des mines D’ALBI juillet 2004 ‘Etude bibliographique, économique et essais sur différentes méthodes de fractionnement de la demande chimique en oxygène d’un effluent urbain ‘.
- [17] Marquez M. C., Ventosa , Ruiz-Berraquero, (1987). A taxonomic study of heterotrophic halophilic and nonhalophilic bacteria from a solar system, *J. gen. Microbiol.*, Vol.133, p. 45.
- [18] Woolard C. R., Irvine R. L., (1995), Treatment of hypersaline wastewater in the sequencing batch reactor, *Water Res.*, Vol.29, 4, p. 1159.
- [19] Kargi, F., Dinc-er, A.R., 1997. Biological treatment of saline wastewater by fed-batch operation. *J. Chem. Technol.Biotechnol.*69(2),167–172.
- [20] Kincannon, D.F., Gaudy, A.F., 1968. Response of biological waste treatment systems to changes in salt concentrations.*Biotechnol.Bioeng.*10,483–496.



Nom et Prénom : Meriem BOUTERAA  
Titre : Dénitrification Biologique des Eaux  
Thèse en vue de l'Obtention du Diplôme de Doctorat troisième cycle

## Résumé

Une augmentation de la concentration des nitrates dans les eaux brutes à citer les eaux de surface et les eaux souterraines a des conséquences majeures sur la santé humaine et animale, notamment l'eutrophisation des cours d'eau et le risque de maladie du bébé bleu chez les jeunes nourrissons.

Différentes méthodes ont été utilisées pour éliminer les nitrates, soit par des méthodes physico-chimiques, notamment l'échange d'ions, l'osmose inverse et la nanofiltration, ou des méthodes biologiques en utilisant des réacteurs à boues activées et à biofilm de convertir les nitrates en azote neutre, le plus récemment utilisé des réacteurs à biofilm est le réacteur à biofilm à lit mobile (MBBR).

Pour atteindre les objectifs ciblés par cette recherche, l'étude a été divisée en trois parties, la première partie a été consacrée à l'étude de l'élimination des nitrates dans un réacteur batch, tout en soulignant les paramètres influençant la dénitrification, en revanche la deuxième partie a été consacrée au développement d'une méthodologie expérimentale pour un bon démarrage et une mise en œuvre adéquate d'un MBBR en conditions anoxiques pour la dénitrification des eaux brutes, cette chronologie a permis en même temps le contrôle du fonctionnement du MBBR par le suivi du taux de dégradation des hétérotrophes  $Y_{HD}$ , la détermination des constantes cinétiques et stœchiométriques en utilisant la technique de respirométrie pulse avec une mise en œuvre spécifique et unique à ce type de conception. En fin, la troisième partie a permis la validation des constantes cinétiques déterminées expérimentalement et la détermination d'autres constantes par calage au modèle proposé selon la vision ASM1. Le modèle mathématique proposé a permis de prédire les performances du réacteur à biofilm à lit fixe mobile à l'échelle pilote. Les approches du modèle et les expériences développées dans cette étude pourraient être appliquées à la conception d'un procédé de traitement à lit fixe mobile à grande échelle pour éliminer simultanément l'azote et le carbone dans les usines de traitement de l'eau et des eaux usées de petite ou moyenne taille existantes.

Mots clés : Dénitrification, Batch réacteur, MBBR, Respirométrie pulse, ASM1, Modélisation

Directeur de thèse : Dr ZAMOUCHE-ZERDAZI Rania - Université Constantine 3

Année Universitaire : 2022-2023

