

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du titre de Master 2^{ème} cycle en chimie

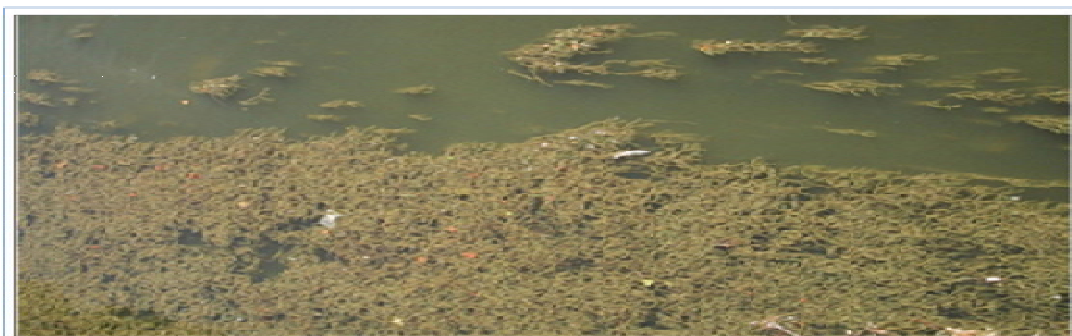
Option : Chimie de l'environnement

Présenté par :

ABDELMALEK FATIHA ET BELAICHE ALDJIA

THÈME

**Elimination des nitrates par voies biologiques :
Etude de l'influence des paramètres opératoires
sur la dénitrification en réacteur batch.**



Soutenus le : 04/07/2011 devant le jury suivant :

Mr. H. LOUNICI	Professeur	UMMTO	Président
Mlle A. CHEIKH	MA « A »	UMMTO	Promotrice
Mlle O. ALI	MA « B »	UMMTO	Co-promotrice
Mme R. CHEMLAL	MA « A »	ENP	Examinatrice
Mlle B. BAAZIZ	MA « B »	UMMTO	Examinatrice

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire master de chimie de l'environnement de la faculté des sciences de l'université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Sous la direction de monsieur le professeur H.LOUNICI responsable du master environnement.


Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à notre promotrice M^{lle} A. CHEIKH pour son entière disponibilité, son aide, les conseils et les connaissances qu'elle n'a cessé de nous prodiguer le long de notre travail.

Il nous est particulièrement agréable d'adresser nos sincères remerciements à notre Co-promotrice M^{lle} ALI OUMESSAAD pour sa disponibilité, ses conseils ainsi que ses explications et encouragements le long de ce travail.

Notre gratitude s'adresse à monsieur Pr H.LOUNICI pour son aide précieuse et encouragements durant notre étude. Ainsi que pour l'honneur qu'il nous a fait en présidant le jury de notre soutenance.

Nous tenons à remercier également tous les membres du laboratoire master, notamment M^{lle} TOUATI Zahra, l'Ingénieur du laboratoire qui nous a soutenues depuis le début de notre travail.

Nous exprimons toute notre gratitude à l'ensemble du jury, MR H.LOUNICI, Mme R. CHEMLAL, et Mlle B. BAAZIZ, qui malgré leurs nombreuses occupations nous ont fait l'honneur de participer au jury en acceptant d'examiner ce travail.



Sans oublier les enseignants qui ont contribués à notre formation, du primaire à l'université. En particulier les enseignants du département de Chimie de l'Environnement.

Nous remercions vivement toutes les personnes ayant porté aide de près ou de loin ainsi que tous les amis et collègues pour leurs encouragements.

Grand merci enfin à toutes nos familles, particulièrement Samir et AREZKI, à nos parents pour tout ce qu'ils ont fait pour nous, nous avons le plaisir de leurs dédier ce mémoire.

PRINCIPALES NOTATIONS ET ABREVIATIONS

H	Hydrogène
O	Oxygène
N	azote
Norg	azote organique
N ₂	azote moléculaire
NO	oxyde nitrique
NH ₃	ammoniac
NH ₄ ⁺	ammonium
N ₂ O	protoxyde d'azote ou oxyde nitreux
NO ₂ ⁻	nitrite
NO ₃ ⁻	nitrate
X	concentration de la biomasse (masse /unité de volume)
μ	Taux de croissance spécifique (temps-1)
NAR	nitrate réductase
NIR	nitrite réductase
NOR	oxyde nitrique réductase
N ₂ OR	oxyde nitreux réductase
DCO	Demande Chimique en Oxygène
DO	Densité optique
MeOH	Méthanol
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
%	Pourcentage
g/Mol	gramme par mole.
mg/L	Milligramme par litre
° C	Degré Celsius
T	Température
Min	minutes.
h	heure.

Liste des figures

Figure n°1 : Le cycle de l'azote.....	4
Figure n°2 : Eutrophisation d'un lac.....	8
Figure n°3 : Individus de grande dimension d' <i>Ulva armoricana</i> , en suspension dans l'eau.....	9
Figure n°4 : Evolution de la matière organique et de la biomasse en présence d'une culture bactérienne lors de la dénitrification.....	23
Figure n°5 : la représentation de Monod qui permet la détermination du μ_{\max} , K_s	26
Figure n°6 : dispositif de la sélection des bactéries dénitrifiantes en Réacteur discontinu.....	28
Figure n°7 : Photographie de cinétique de dénitrification en mode « batch ».....	29
Figure n°8 : Schéma pour définir la densité optique du milieu.....	31
Figure n° 9 : photographie des différents dosages effectués.....	32
Figure n°10 : Cinétique de la réduction des nitrates et production des nitrites.....	33
Figure n°11 : variation du pH au cours de la réaction de dénitrification.....	34
Figure n°12 : Cinétique de dénitrification à différentes concentrations de méthanol.....	34
Figure n°13 : Evolution de la biomasse et l'élimination de DCO lors de la dénitrification au différentes concentrations initiales de méthanol.....	35
Figure n°14 : Influence de la concentration initiale du méthanol sur le taux de croissance (μ) et le rendement de dénitrification.....	36
Figure n°15 : Variation de taux de croissance (μ) et le rendement d'élimination de la DCO en fonction des concentrations initiales de méthanol.....	36
Figure n°16 : Les constantes cinétiques déterminées par l'application du modèle Monod.....	37
Figure n°17 : Influence du rapport C/N sur la croissance bactérienne.....	38
Figure n°18 : Rendement de dénitrification en fonction du rapport C/N.....	39

<u>Figure n°19</u> : Cinétique de dénitrification à différentes concentrations du phosphore.....	39
<u>Figure n°20</u> : Influence de la concentration initiale du phosphore sur le taux de croissance (μ) et le rendement de dénitrification.....	40
<u>Figure n°21</u> : Variation de taux de croissance (μ) et de consommation du phosphore à différentes concentrations initiales de celui ci.....	40
<u>Figure n°22</u> : Les constantes cinétiques déterminées par l'application du <i>modèle Monod</i>	41
<u>Figure n°23</u> : Influence de concentrations initiales des nitrates sur la cinétique de dénitrification.....	42
<u>Figure n°24</u> : Influence des concentrations initiales des nitrates sur le rendement de la dénitrification.....	42
<u>Figure n°25</u> : Influence de la concentration initiale des nitrates sur la croissance bactérienne.....	43
<u>Figure n°26</u> : influence de la température sur la cénitique de dénitrification.....	44
<u>Figure n° 27</u> Influence de la température (T) sur le taux de croissance (μ) de bactérie et le rendement d'élimination des nitrates (R).....	45
<u>Figure n° 28</u> : Influence de pH sur la cinétique de dénitrification.....	46
<u>Figure n°29</u> : Le rôle du pH sur le rendement de dénitrification et le taux de croissances (μ).....	49
<u>Figure n°30</u> : Le rendement de dénitrification pour les différents pH.....	49

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	1
-----------------------------	---

▼ La partie bibliographique :

Chapitre I : généralités sur les nitrates

I - Généralité sur l'azote	3
I.1. Cycle de l'azote	3
II - Nitrates :	4
II.1. Propriétés physico-chimiques	4
II.2. Sources de contaminations	5
II.3. Origines des nitrates dans les eaux.....	6
II.4. Les effets des nitrates.....	6
II.4.1. Effets sur l'organisme et risques sanitaires.....	6
II.4.1.1. La méthémoglobinémie.....	6
II.4.1.2. Autres effets.....	7
II.4.2. Effets sur l'environnement.....	7
II.4.2.1. Eutrophisation.....	7
II.4.2-2. Marées vertes.....	8
II.5. Nitrates en Algérie.....	9

Chapitre II : Procédés d'éliminations des nitrates.

I - Les procédés physico-chimiques.....	11
I .1. Échanges d'ions (dénitratation)	11
I .2. Procédés membranaires.....	12
I.2.1. Osmose inverse.....	12

I.2.2. L'électrodialyse.....	12
I.3. Electrocoagulation.....	13
I.4. L'électro-réduction.....	13
II - Procédés biologiques :	13
II.1. Dénitrification.....	15
II.2. Microorganismes dénitrifiants.....	15
II.2.1. Bactéries hétérotrophes.....	16
II.2.2. Bactéries autotrophes.....	16
II.3. Biochimie de la dénitrification.....	17
II.3.1. Dénitrification hétérotrophe.....	17
II.3.2. Dénitrification autotrophe	17
II.4. Facteurs influençant la dénitrification	18
II.4.1. Concentration des Nitrates	18
II.4.2. L'oxygène dissous.....	19
II.4.3. La nature de la source de carbone.....	19
II.4.4. La température	19
II.4.5. Le pH	20
II.4.6. Le rapport C/N	20
II.4.7. Le phosphate.....	21
II.4.8. Substances toxiques et inhibitrices de la dénitrification :.....	21
II.5. Cinétique du processus de dénitrification	21
II.5.1. Evolution d'une culture bactérienne.....	21
II.5.2. Cinétique de croissance :	23
II.5.2.1. Le taux de croissance pendant la phase exponentielle .23	
II.5.2.2. Modélisation de la courbe de croissance	24
II.5.2.3. Détermination des constantes bio cinétiques.....	25
II.5.3. Vitesse de dénitrification.....	26

▼ La partie expérimentale :

Introduction	27
--------------------	----

CHAPITRE III : Matériels et méthodes

III.1. MATERIELS	27
III.1.1. Sélection des micro-organismes dénitrifiants	27
III.1.2. Alimentation.....	28
III.1.3. Dispositif expérimental	29
III.1.4. Matériels utilisées	30
III.2. Méthodes d'analyses	31
III.2.1. Mesure de la biomasse	31
III.2.2. Dosage des métabolites	32

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

I- Suivi de la réaction de dénitrification par l'utilisation du méthanol comme source de carbone :	33
II - Influence de la concentration initiale du Méthanol :	
III- Influence du rapport C/N :.....	38
IV- Influence de la concentration initiale du phosphore :.....	39
V- Influence de la concentration des nitrates :.....	42
VI- Influence de la température sur l'élimination des nitrates :	43
VI- Influence de pH sur la cinétique de dénitrification bactérienne.....	45
Conclusion générale	48
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Introduction générale

Aujourd'hui plus que jamais, la protection de la santé et le respect de l'environnement font parti des préoccupations de l'homme qui est confronté chaque jour à de nouveaux dangers. L'une de ses inquiétudes vient des nitrates, il ne s'agit pas d'un produit nouveau mais depuis les années quarante on insiste sur ses dangers et sa présence dans l'environnement ne cesse de croître.

Les nitrates sont souvent associés à l'eau qui pourtant n'en contient que très peu comparée aux végétaux. Ainsi le problème des nitrates rentre dans le cadre de l'optique du «traitement des eaux». Les sources de nitrates dans les eaux souterraines comprennent les matières animales et végétales en décomposition, les engrais agricoles, les fumiers, les eaux usées domestiques (Jordan T.E et al, 1996). Les nitrates étant très solubles dans l'eau, l'excès non absorbé par les plantes rejoint la nappe phréatique.

L'intensification inconsidérée des activités agricoles a eu pour résultat la pollution des eaux souterraines par les engrais et autres produits chimiques. Les nitrates dégradent le milieu naturel et menacent la santé humaine. Si la pollution des nappes est essentiellement liée aux pollutions diffuses d'origine agricole, celle des cours d'eau subit les effets conjugués de pollutions ponctuelles (industrielle et domestique) et du ruissellement de pollutions agricoles. Les nitrates sont issus d'excès d'azote dans un compartiment du cycle de cet élément, et lorsqu'ils ne sont pas éliminés ou assimilés par la biomasse terrestre, ils conduisent à une dégradation du milieu naturel, il faut donc les éliminer (Nemeth, 2001).

La pollution des eaux par les nitrates présente un double risque. Ingérés en grande quantité, les nitrates ont des effets toxiques sur la santé humaine. Par ailleurs, ils contribuent avec les phosphates à modifier l'équilibre biologique des milieux aquatiques en provoquant des phénomènes d'eutrophisation.

De plus, l'augmentation des concentrations en nitrates déversé dans l'environnement, constitue non seulement une pollution en soit, mais peut aussi entraîner à long terme un déséquilibre du cycle de l'azote et une accélération de la dénitrification pouvant accroître les concentrations en oxyde nitrique et protoxyde d'azote, responsable du réchauffement climatique et la destruction de la couche d'ozone (Germon, 1999).

L'élimination des nitrates est devenue possible grâce aux différentes techniques physico-chimiques (échangeurs d'ions, osmose inverse, ...etc.) et biologiques (dénitrification hétérotrophe ou autotrophe). Les nitrates contenus dans les eaux usées urbaines sont essentiellement traités par voie biologique. Les boues activées, les biofiltres, les lits bactériens et le lagunage sont autant de procédés capables de réaliser ce traitement de manière plus ou moins poussée (Dupin, 1992).

La dénitrification biologique permet l'élimination des nitrates par leur réduction en azote gazeux. Lors de la dénitrification au sens strict (respiration des nitrates, ou réduction véritable) le nitrate joue le rôle d'accepteur d'électron dans l'oxydation de composés oxydables sous des conditions anoxiques. Le produit ultime de la réduction est l'azote gazeux.

L'objectif de ce travail est l'étude de la réaction de dénitrification en batch par boues activées prélevées dans la station d'épuration de Tizi-Ouzou par l'utilisation du méthanol comme source de carbone et d'énergie.

Avant d'aborder les résultats obtenus au cours de ce travail, une étude bibliographique a été menée afin de décrire l'importance de l'azote dans l'ensemble des systèmes vivants y compris les nitrates, leurs sources, leur effet sur l'organisme et sur l'environnement. Les différents procédés de leur traitement seront ensuite abordés, en insistant sur ceux actuellement utilisés (dénitrification biologique). Un aperçu général sur l'évolution de la matière organique en présence d'une masse bactérienne dénitrifiante, la cinétique de croissance en batch, l'influence de quelques facteurs de l'environnement sur cette croissance et nous terminerons ce chapitre par un rappel sur la mesure de la croissance bactérienne.

La deuxième partie regroupe les appareillages et les méthodes spécifiques utilisés lors de l'expérimentation. Durant cette partie une série d'expériences a été faite d'abord pour l'étude de la dénitrification en utilisant le Méthanol comme source de carbone et d'énergie. Les constantes cinétiques de la croissance bactérienne et l'influence d'un certain nombre de facteurs opératoires (C/N, P, pH et T°) sur la vitesse de dénitrification seront examinées.

Une conclusion, résumant les buts atteints et les perspectives qu'on peut atteindre par l'approfondissement de cette étude, termine ce mémoire.

Partie Bibliographique

Chapitre I

Généralités sur Les nitrates

Chapitre I : Généralités sur les nitrates

I - Généralités sur l'azote :

L'azote est un élément chimique très répandu dans la nature. L'ensemble des réactions biologiques de croissance requiert la présence de cet élément. (Leprince, 1980). La forme azotée la plus abondante et la plus stable (N_2), représentant 78% en volume, soit 385.10^{11} tonnes de l'atmosphère terrestre. En effet il constitue entre 16 et 23 % de protéines cellulaires et environ 12 % des acides nucléiques. (Patureau, 1995). L'azote entre également dans la composition des sols (10^{10} à 10^{11} tonnes) et les océans (5.10^{11} tonnes). (Martin, 1979).

Dans l'eau, l'azote se trouve en solution sous forme combinée : nitrates (NO_3^-), Nitrites (NO_2^-), azote ammoniacal (NH_3 , NH_4^+), azote organique.

I.1. Cycle de l'azote :

On appelle cycle de l'azote les diverses transformations que subit l'azote dans la biosphère (figure1). La plupart d'entre elles sont d'origine microbienne et leur importance agronomique est considérable car elles régissent le bilan de l'azote du sol et la mise en disposition de la plante des formes minérales seule utilisables (Henin, 1981). Pour une circulation effective des nutriments dans le cycle de l'azote, chaque composant du cycle doit servir comme récepteur et comme source. (Van Diest, 1994).

L'azote est présent à différents degrés d'oxydation dans la nature, et le va-et-vient entre les formes les plus oxydées et les plus réduites est appelé couramment le cycle de l'azote.

NO_3^-	+5	nitrate
NO_2^-	+3	nitrite
NO	+2	oxyde nitrique
N_2O	+1	oxyde nitreux
N_2	0	diazote
NH_3 (NH_4^+)	-3	ammoniac/ammonium

Formes inorganiques du cycle de l'azote et leur degré d'oxydation.

L'azote est soumis à des cycles d'assimilation, minéralisation, oxydation, réduction qui sont le fait d'organismes animaux et végétaux, ainsi que de microorganismes (Heathwaite, 1993). Les principales étapes du cycle de l'azote sont : la fixation, l'assimilation, l'ammonification, la nitrification et la dénitrification (figure 1).

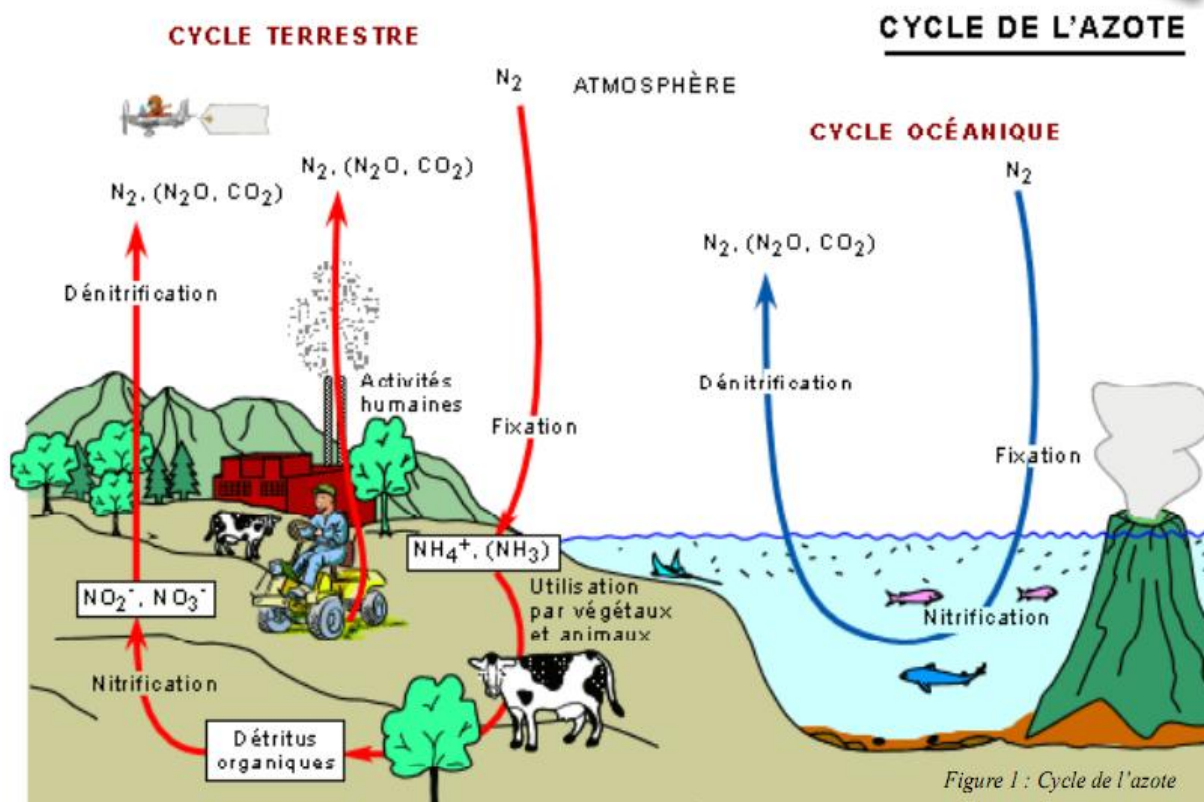


Figure1 : le cycle de l'azote (Idrici, 2006).

II - Nitrates:

II.1. Propriétés physico-chimiques:

Le nitrate est un composé inorganique composé d'un atome d'azote (N) et de trois atomes d'oxygène (O). Sa formule chimique est NO_3^- . Sa masse moléculaire est de 62g/Mol. L'azote constituant la molécule de nitrate est dénommé azote nitrique et est généralement noté N- NO_3^- . Ainsi un gramme d'ion NO_3^- correspond à 0,22 gramme d'azote nitrique. (Santé Canada, 1992)

Les nitrates étant des sels très solubles dans l'eau ; ils migrent donc aisément dans la nappe phréatique lorsque les niveaux excèdent ce que les plantes peuvent utiliser.

Le nitrate est un élément minéral nutritif pour les végétaux et les microorganismes. Pour cette raison, les sels de nitrate comme par exemple le nitrate de potassium (encore appelé salpêtre, de formule KNO_3), le nitrate de sodium ($NaNO_3$), le nitrate de calcium ($Ca(NO_3)_2$) ou le nitrate d'ammonium (NH_4NO_3), sont utilisés pour la fabrication de fertilisants azotés.

Le nitrate est également utilisé pour la composition d'explosifs ou de ciments spéciaux, comme additif et colorant alimentaire, pour la coagulation de latex, dans l'industrie nucléaire et pour le contrôle des odeurs et de la corrosion dans les systèmes hydrauliques. (Adam, 1980)

II.2. Source de contamination :

En raison de la stabilité de l'ion nitrate, la plupart des substances azotées de l'environnement ont tendance à se transformer en nitrates, donc elles sont des sources potentielles de ce dernier. (Adam, 1980 ; Egboka, 1984).

Résidus de la vie, animale et humaine, les nitrates sont présents dans le sol à l'état naturel. Cependant une pollution aux nitrates est tout de même à déplorer. Les origines en sont diverses :

- D'une part, on constate qu'une proportion non négligeable soit 55% provient des rejets de nitrates liés aux activités agricoles. On trouve en tête de liste l'utilisation d'engrais dans les cultures. Les plus fortes teneurs s'observent soit dans les zones de cultures céréalières et maraîchères, soit dans les zones d'élevage intensif où la production d'engrais de ferme épandue dépasse souvent les capacités d'épuration des sols et des cultures.
- Par ailleurs, 35% concernent les activités domestiques avec pour principal acteur les déjections humaines et les fosses septiques.
- Enfin, 10% sont attribués aux activités industrielles avec notamment l'industrie alimentaire qui durant plusieurs années a utilisé les nitrites comme agents antimicrobiens, particulièrement pour prévenir le botulisme, dans les produits de salaison comme par exemple dans les viandes et les saucisses.
- L'industrie lourde détient aussi sa part de responsabilité avec les émissions de moteurs à combustion interne ; le nitrite de sodium utilisé comme agent anticorrosif dans les liquides de refroidissement ; le nitrate d'ammonium dans les blocs à geler et l'azote gazeux dans le soudage à l'arc.
- Dans l'industrie pharmaceutique, les nitrates et les nitrites sont essentiels à la synthèse de certains médicaments notamment le nitrate d'argent topique utilisé pour le traitement des brûlures, les antipaludiques, la nitroglycérine, les anti-diarrhéiques, les diurétiques, les antidotes pour les intoxications au cyanure et au sulfure d'hydrogène et les vasodilatateurs utilisés pour le traitement de la coronaropathie. (Mammeri, 2007).

II.3. Origine des nitrates dans les eaux :

Les nitrates existent dans les eaux à l'état naturel en absence de pollution. Leur concentration, alors, n'excède pas en général 3 mg/l à 5 mg/l dans les eaux superficielles et quelques mg/l dans les eaux souterraines. (Ould Ali, 2004).

La majorité de la pollution azotée de l'eau provient de l'agriculture. En agriculture, l'azote a un rôle bénéfique et il est utilisé volontairement. Mais dans le milieu aquatique c'est un résidu ou un excédent. L'agriculture serait donc responsable de 2/3 de la pollution azotée de l'eau, les usages domestiques 2/9 et l'industrie 1/9. Les apports d'azote dus à l'eau des rejets domestiques et industriels sont estimés à 340 000 t/an à 10 % près, tandis que les diverses activités agricoles en apportent 720 000 t/an, à 15% près.

II.4. Les effets des nitrates :

La présence d'ion nitrate dans les eaux engendre deux principaux impacts (Casellas, 2002) :

- 1- Sanitaire en étant cause potentielle de méthémoglobinémie et source de nitrosamines.
- 2- Ecologie en contribuant aux phénomènes d'eutrophisation.

II.4.1. Effets sur l'organisme et risques sanitaires :

Les nitrates ne sont pas toxiques en eux-mêmes. C'est leur transformation en nitrites et composés nitrosés (nitrosamines et nitrosamides) qui peuvent provoquer des troubles caractéristiques. (Ratel, 2002).

II.4.1.1. La méthémoglobinémie :

C'est l'effet le plus anciennement connu, et sûrement le seul scientifiquement prouvé, des nitrates. (Mammeri, 2007). La méthémoglobine est une forme d'hémoglobine qui ne permet pas le transport d'oxygène. Chez un individu normal, environ 0,8 % de l'hémoglobine se trouve sous forme de méthémoglobine. La méthémoglobinémie correspond à l'accumulation anormale de méthémoglobine, lorsqu'elle est trop importante, le transport de l'oxygène ne se fait plus correctement avec des conséquences plus ou moins graves. Les symptômes de cette maladie apparaissent lorsque le taux de méthémoglobine atteint 10 % avec les premiers signes de cyanose (coloration bleue de la peau). Lorsque la méthémoglobine dépasse 20 %, des signes plus sérieux se font jour, comme des maux de tête, vertiges, tachycardie, asthénie... Des troubles de conscience et des signes neurologiques suivent au-delà de 60 % et, à partir de 70%, l'intoxication peut-être mortelle. (L'hirondel, 1996).

Les personnes les plus menacées sont les nourrissons de moins de 6 mois car leur hémoglobine est plus facilement oxydable en méthémoglobine. Le pH de leur estomac est

proche de la neutralité, les nitrates s'y transforment donc plus aisément en nitrites et leur alimentation à base d'eau et de légumes (carottes, épinard...) leur apporte beaucoup de nitrates. (Sades, 2010).

Notons aussi qu'il existe une enzyme qui régénère l'hémoglobine empêchant l'accumulation de méthémoglobine inactive, elle est appelée méthémoglobine-réductase ou NADH-cytochrome b5 réductase. Cependant, chez le nourrisson, cette enzyme est inactive d'où sa forte sensibilité.

II.4.1.2. Autres effets :

D'autres effets des nitrates sur l'homme sont supposés mais pour l'instant, aucun n'est scientifiquement prouvé.

- Les nitrosamines : ce sont le produit de réaction entre des dérivés des nitrates et certains acides aminés. Le caractère cancérigène de ces nitrosamines a été établi chez l'animal et est suspecté chez l'homme par extrapolation. (Bougherara, 2006).
- L'augmentation du risque de mort fœtale
- L'augmentation du risque de malformation congénitale
- L'augmentation du volume de la glande thyroïde
- L'apparition plus précoce de l'hypertension artérielle

D'autres études épidémiologiques (National Toxicology Program, 2001) ont permis de constater une faiblesse de la reproduction et du développement chez les animaux à la suite d'une exposition à de très fortes doses de nitrites. (Banas, 2007).

Tout ceci n'est que suppositions, tantôt démontrées puis réfutées, le danger des nitrates reste à prouver malgré tout celui-ci ne viendrait pas de sa forme NO_3^- mais d'une forme dérivée, le nitrite NO_2^- . (Levallois *et al.*, 1998).

II.4.2. Effet sur l'environnement :

L'effet principal des nitrates sur l'environnement consiste à favoriser la croissance végétale. Cet impact, qui peut apparaître bénéfique dans un premier temps, s'avère désastreux pour les écosystèmes aquatiques lorsque la prolifération végétale est poussée à l'excès. Il ya l'apparition du phénomène d'eutrophisation. (Danas, 2007).

II.4.2.1. Eutrophisation :

L'eutrophisation est décrite comme la dégradation particulière de la qualité des eaux calmes telles que les lacs, ce processus naturel est très lent : il peut s'étaler sur des siècles ou des millénaires, et parfois sur de plus longues périodes encore.

Les nitrates en excès dans l'eau sont une des causes, avec les phosphates, de l'eutrophisation des milieux aquatiques (Jacques Capblancq *et al.*2002). Ce phénomène se manifeste par une prolifération massive de plantes et d'algues, qui réduisent la teneur en oxygène dans l'eau, parfois jusqu'à une teneur létale. L'eutrophisation devient un vrai problème dans la région des grands lacs en Amérique du nord, en Europe, en Mexique, dans la Nouvelle Zélande, au Maroc et dans d'autres pays. Les lacs sont devenus :

- verts et nauséabonds : Dégagement de H_2S , NH_3 , et du CH_4 néfastes pour les espèces vivantes, dû au développement des bactéries anaérobies,
- invivables pour les poissons à cause de la prolifération parfois massive des cyanobactéries
- malsains en tant qu'eau potable,
- La turbidité du milieu accentue de façon considérable l'appauvrissement en oxygène en empêchant la photosynthèse de s'effectuer et provoquant ainsi l'asphyxie de la faune et de la flore aquatique.
- inimaginables comme lieux de délasserment d'où la diminution de la fréquentation des touristes, (Idrissi, 2006).

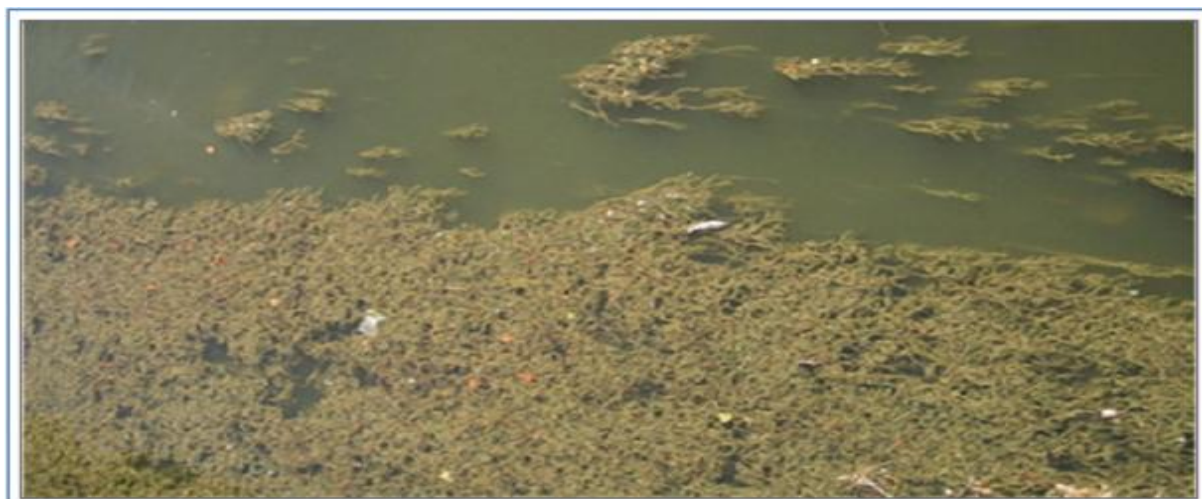


Figure n° 2 : Eutrophisation d'un lac. (Bachagha-Talhi, 2009).

II.4.2.2. 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 *Ulve*, au printemps et en été. Ces algues s'accumulent ainsi sur l'estran en quantité très importante. Plusieurs régions du globe ont été touchées par ce phénomène, on peut citer la lagune de Venise avec 500 000 t d'ulves sur 500 km² en 1987. En France les neufs dixièmes des tonnages d'ulves ramassées chaque année proviennent de Bretagne. (Alain Ménesguen, 2003). Ce phénomène a les mêmes conséquences que pour

l'eutrophisation en plus de répercussions sur le tourisme car les nuisances sont tous d'abord d'ordre visuel et olfactif, mais la putréfaction des tonnes d'ulves dégage de l'hydrogène sulfureux, non seulement nauséabond mais aussi néfaste pour les espèces vivantes du milieu incitant les touristes à fuir les plages touchées par la marée verte. (Sades, 2010).



Figure n°3 : Individus de grande dimension d'*Ulva armoricana*, en suspension dans l'eau (Alain Ménesguen, 2003).

II.5. LES NITRATES EN ALGERIE : (Rapport du Secrétariat d'Etat d'Environnement, 1999 ; Ministère de l'Environnement Algérien, 2003).

L'Algérie comme tous les autres pays du monde, est touchée par ce fléau. Le problème des nitrates a fait son apparition dans plusieurs régions de notre pays. Une étude récente réalisée par l'Agence Nationale des Ressources Hydriques (ANRH) et l'université de Blida montre que dans la wilaya de Blida, la procédure de contamination des eaux a atteint un niveau critique. Les concentrations en nitrates ont été mesurées pendant une période (1990-1993), ce qui a permis de déterminer les zones les plus touchées dans la région d'étude.

- La zone du haut Cheliff s'est avérée durant la période considérée la plus touchée avec des teneurs allant jusqu'à 270mg/l.
- La zone de Mitidja a fait l'objet d'un suivi de 1985-1993 lequel a montré que les parties Est centre de la Mitidja présentaient des teneurs notables en nitrate notamment dans la région de Réghaia pour atteindre en 1993 une valeur de 200 mg/l. La partie ouest de la Mitidja ne présente quand à elle pratiquement aucun signe de pollution par les nitrates.

- En 1990, l'ANRH a mené une campagne de mesure de la pollution de la nappe de Sidi Bel Abbes. Les eaux souterraines captées par des puits présentaient des teneurs en nitrate variant de 60 à 196mg/l. Les plus faibles mesures correspondaient à des zones de faible perméabilité des formations géologiques.
- Dans les trois cas cités ci-dessus, seuls quelques rares cas de mort de nourrissons par méthémoglobinémie ont été rapportés par les services d'hématologie.
- L'ANRH a également procédé en 1990 à la détermination des teneurs en nitrate au niveau de quelques barrages du nord algérien (Kheddara, Ghrib, Hamiz, Bouroumi et Derdeur) ainsi que certains oueds alimentant ces barrages (Harbil, Kheddara et Issar). Il a été observé que les plus fortes teneurs apparaissent en saison chaude (étiage) et pouvaient atteindre 56mg/l, mais restaient globalement inférieures à la norme de l'OMS (50mg/l). Un risque d'eutrophisation des plans d'eaux a été rapporté.
- Une étude réalisée en 1992 montre que dans une région du pays dont l'écosystème est différent, le problème est le même. En effet, il a été mesuré dans la région de l'Oued des teneurs dépassant les 150mg/l.
- La pollution en nitrates représente un sérieux problème pour l'environnement à cause des rejets déversés dans les rivières et de l'utilisation excessive des engrais en agriculture. Le degré de pollution varie d'une zone à l'autre avec des teneurs qui dépassent parfois celles que préconise l'OMS. L'état actuel de pollution des nappes souterraines est le reflet des substances nitratées infiltrées quelques années auparavant, l'importance du temps de transfert dépendant de la profondeur de la nappe aquifère et de la structure de la roche. Les quantités d'engrais azotés employées n'ont guère diminué, voire ont augmenté— malgré la sensibilisation des agriculteurs —parce que les surfaces de terres dévolues aux labours ont progressé. (Derradji, Bousnoubra, Kherici, et al., 2007).

Chapitre II

Procédés d'éliminations des nitrates

Chapitre II : Procédés d'éliminations des nitrates

Les méthodes de traitement des eaux polluées industrielles ou domestiques sont nombreuses et varient selon la nature, la quantité des polluants et les disponibilités économiques et géographiques pour une mise en place du procédé de traitement. Au cours des dernières décennies, il y a eu un développement important dans les procédés et les techniques d'épuration de l'eau, Réduisant ainsi la pollution dans des limites acceptables, respectant les exigences biologiques du règne animal, du règne végétal et au-dessus de tout du genre humain. (Cheremisinoff, 1996).

Pour limiter les apports des nitrates dans les eaux, il paraît intéressant de faire une rapide synthèse des connaissances actuelles en ce qui concerne les principaux procédés d'élimination des nitrates dans les eaux, en détaillant plus particulièrement les procédés de type biologiques. (Bougherara, 2006).

I - Les procédés physico-chimiques :

I.1. échanges d'ions (dénitratation) :

Il s'agit d'un procédé physico-chimique où l'on utilise des résines échangeuses d'ions. Les résines échangeuses d'ions sont des produits synthétiques possédant des fonctions chimiques actives capables, sous certaines conditions, d'échanger certains ions contre d'autres. On distingue les résines cationiques, échangeurs d'ions électropositifs (cations), les résines anioniques, échangeurs d'ions électronégatifs (anions).

Dans le cas de l'élimination des nitrates, on utilise des résines de type anioniques (échangeuse d'anions). Comme la plupart des échangeurs, ces résines se présentent sous forme de billes de diamètre compris entre 0.4 et 0.8 mm, ce sont des polymères de composés aromatiques comprenant des groupes ionisés de type basiques. (Larpet & Chapiat, 1988)

Les nitrates sont donc déplacés, mais non éliminés, et se retrouvent dans les éluats, non biodégradables facilement, dont l'évacuation pose problème. En fait ceux-ci peuvent être :

- Rejetés dans une station d'épuration des eaux usées.
- Délivré à une industrie de fabrication d'engrais azotés.

De plus ce procédé est très coûteux. (Mammeri, 2007).

I.2. Procédés membranaires de dénitratisation :

Les procédés membranaires sont des procédés physiques de traitement par le fait que l'on fait passer l'eau à traiter au travers d'une membrane poreuse qui arrête le passage de toute molécule dont la taille est supérieure à la taille de ces pores.

Lorsque l'on souhaite éliminer (donc arrêter) les nitrates, la membrane utilisée doit avoir des pores suffisamment petits, ce qu'on appelle nanofiltration.

I.2.1. Osmose inverse :

L'osmose inverse est une des nombreuses techniques dites membranaires, c'est-à-dire utilisant un film semi-perméable de faible épaisseur. Le principe de cette technique consiste à appliquer une pression supérieure à la pression osmotique de l'eau à traiter riche en nitrates qui permet d'obtenir une eau déminéralisée après avoir traversée cette membrane. (Maurel, 2009).

Les limites d'utilisation de ce procédé sont les suivantes :

- Le traitement n'est pas spécifique, il modifie la qualité initiale de l'eau
- Un prétraitement est nécessaire, afin d'éviter le colmatage des modules et la précipitation des espèces dissoutes sur les membranes.
- Il y a présence de rejets concentrés.

Les avantages du procédé sont liés à l'absence de régénération. Par ailleurs, ce procédé pourra peut être se développer avec l'introduction de nouvelles membranes plus spécifiques. Cette technique, bien développée pour le dessalement des eaux de mer ou saumâtre, reste limitée pour la dénitratisation. (Bougherara, 2006).

I.2.2. L'électrodialyse :

L'électrodialyse est une technique électro-membranaire qui désigne le transfert d'ions à travers une membrane qui leur est perméable, sous l'effet d'un champ électrique. (Najah Wehbe, 2009). La mise en œuvre nécessite l'utilisation de membranes sélectives (à base de benzyl-4-pyridinium) qui permettent de retenir les nitrates. Les rendements obtenus pour l'élimination des nitrates peuvent atteindre 40 à 60 %. (Ratel, 2002).

La principale application de l'électrodialyse est le dessalement des eaux saumâtres (taux de salinité aux environs de 5000 ppm). Au-dessus ce taux, on utilise plutôt l'osmose inverse. Elle est également utilisée pour la production de saumure à partir d'eau de mer. Une autre application importante est la déminéralisation du lactosérum. (Najah Wehbe, 2009)

Les limites d'utilisation et avantages sont les mêmes que pour l'osmose inverse.

I.3. Electrocoagulation :

L'électrocoagulation est l'application du champ électrique au procédé de coagulation floculation. Cependant le coagulant est le produit de la réaction de l'oxydation du métal (aluminium ou fer) à l'anode d'une cellule électrochimique. Des potentiels de (20 à 80 volts) permettent de réduire la teneur en nitrates de 100-300 mg-N/L à 30 mg-N/L après 100 minutes (Koparal et Ögütveren, 2002).

L'anode, en métal de fer, s'oxyde selon la demi-réaction d'oxydation ($\text{Fe} \rightarrow \text{Fe}^{2+} + 2\text{e}^-$), et à la cathode a lieu la réduction de l'eau ($2\text{H}_2\text{O} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2 + 2\text{OH}^-$).

Dans la solution, les Fe^{2+} réagissent avec OH^- pour donner les hydroxydes ferreux $\text{Fe}(\text{OH})_2$ selon la réaction : $\text{Fe}^{2+} + 2\text{OH}^- \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_2$. Avec l'oxygène dissous dans la solution, l'hydroxyde ferreux ($\text{Fe}(\text{OH})_2$) devient un hydroxyde ferrique ($\text{Fe}(\text{OH})_3$) insoluble, qui va coaguler les particules de nitrates.

I.4. Électroréduction :

Parmi les méthodes de traitement des nitrates, la voie électrochimique semble l'une des plus prometteuse, car elle produit deux gaz atmosphérique totalement inoffensifs, soit l'azote, N_2 , et l'oxygène, O_2 . Cette technique fait l'objet d'un intérêt croissant de la part de nombreux Chercheurs, et s'avère être un procédé simple, efficace et intéressant sur le plan économique et écologique pour éliminer les micropolluants organiques présents dans les eaux usées agricoles (Burton, Jaouen et Martinez, 2006).

Le principe de la technique se base sur la réduction des nitrates en azote gazeux à la cathode et l'oxydation de l'eau en oxygène gazeux à l'anode. Selon les conditions opératoires, la réduction électrochimique peut être plus ou moins complète et peut donner naissance à divers produits tels les nitrites, l'ammoniac ou l'azote gazeux.

En plus des deux gaz principaux formés, le processus d'électroréduction des nitrates génère des groupements hydroxyles, ce qui devrait faire accroître l'alcalinité du milieu réactionnel. (Bachagha-Talhi, 2009).

Un inconvénient des traitements physico-chimiques réside dans le fait que les nitrates sont extraits de l'eau, mais non éliminés. Ils se retrouveront donc d'une manière ou d'une autre sous forme de déchets.

II – Procédés biologiques :

Les traitements biologiques occupent une place prépondérante parmi les procédés mis en place pour éliminer les nitrates. (Ratel, 2002). Le principe de traitement biologique est le même que celui des milieux épurateurs naturels, où les polluants biodégradables sont

employés comme éléments nutritifs et/ou source énergétique pour les organismes vivants tels que les bactéries et les plantes. (Burton, Jaouen et Martinez, 2006).

Les procédés biologiques de dépollution peuvent être classés selon :

- **La réaction biologique** : Par rapport à la présence ou l'absence d'oxygène, ils peuvent être aérobies, emphanoxiques en présence d'un oxydant qui remplace l'oxygène ou anaérobies en l'absence total d'oxygène.
- **La culture microbienne** : On distingue les procédés à *biomasse libre* où les cellules sont mobiles maintenues en suspension par agitation et les procédés à *biomasse fixée* où la biomasse est fixée sur des supports, eux-mêmes fixes ou mobiles.
- **L'homogénéité du milieu** : Le procédé peut être parfaitement homogène où les concentrations de biomasse et de substrats sont les mêmes en tout point du réacteur ou non homogène dans le cas où un gradient de concentration existe par exemple le long d'un réacteur.

Par combinaison de toutes ces caractéristiques, plusieurs types de réacteurs peuvent être conçus. On distingue ainsi par exemple :

- Les réacteurs à boues activées : cellules libres, milieu homogène et souvent aérobie ou anoxie. Ce type d'installation très répandu représente la majorité des installations de traitement des nitrates.
- Les réacteurs à lit fixe : cellules fixées constituant un biofilm sur les parois du réacteur ou sur un support immobile, milieu hétérogène et souvent anaérobie.
- Les réacteurs à lit mobile : cellules fixées sur des supports mobiles, milieux homogènes maintenus par agitation soit par un gaz (lit turbulé) soit par la recirculation du liquide (lit fluidisé).

En génie des procédés, la coutume est de caractériser les procédés selon la manière dont ils sont alimentés :

- le réacteur continu : le débit d'entrée (non nul) est égal au débit de sortie et le volume du réacteur est donc constant.
- Le réacteur semi-continu ou Fed-batch : le débit d'entrée est variable mais le débit de sortie est nul. Pendant la phase de réaction le volume est donc variable. Il augmente jusqu'au niveau maximal et une fois la réaction terminée une partie du réacteur est vidée.
- Le réacteur batch : le réacteur est rempli au début jusqu'au volume maximal. Les réactions se déroulent à volume constant puis le réacteur est en partie vidé.

On notera que les deux dernières classes de systèmes fonctionnent sur un mode séquentiel : l'effluent à traiter est introduit dans le réacteur, les réactions démarrent, les phases solide et

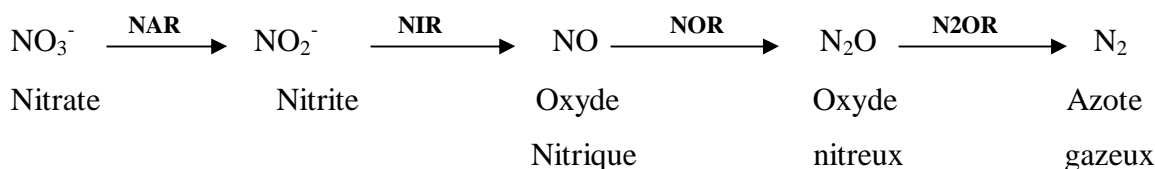
liquide (partie épurée) sont séparées puis la phase liquide est soutirée. A la fin de cette séquence, le réacteur peut alors être réalimenté. (Mazouni, 2006).

Les procédés biologiques sont multiples et de conceptions variées, et du fait que notre travail va porter essentiellement sur la dénitrification biologique dans un réacteur batch à boues activées, on s'étalera donc sur les notions indispensables concernant ce procédé.

II.1. La dénitrification :

La dénitrification biologique est un processus respiratoire microbien qui fournit aux micro-organismes de l'énergie nécessaire à leur croissance. Pour cela certains micro-organismes convertissent le nitrate (NO_3^-) en azote gazeux (N_2) pour produire de l'énergie nécessaire à la croissance cellulaire. La plupart des microorganismes dénitrifiants sont facultatifs et utilisent donc préférentiellement l'oxygène comme accepteur final d'électrons dans la chaîne respiratoire. C'est pourquoi la dénitrification requiert des conditions anaérobies, ou plus exactement anoxie. (Kargi, 2000). Une concentration de $0,2 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ serait suffisante pour inhiber la dénitrification dans un procédé par boues activées traitant des eaux usées domestiques. (Metcalf et Eddy, 2003).

La réduction des nitrates se fait en deux étapes. La première étape est la conversion des nitrates en nitrites. Les nitrites sont ensuite réduits en azote gazeux avec pour intermédiaire le monoxyde d'azote et l'oxyde nitreux. (Firestone et al., 1979 ; Ye et al., 1994 ; Yoshimatsu, 2000).



Chaque étape étant catalysée par une enzyme particulière : nitrate réductase (NAR), nitrite réductase (NIR), oxyde nitrique réductase (NOR) et enfin oxyde nitreux réductase (N_2OR). (Schwartzbrod et Martin, 1985).

II.2. Microorganismes dénitrifiants :

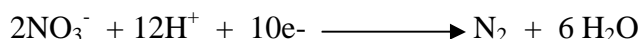
Les micro-organismes dénitrifiants sont des bactéries aérobies ayant la capacité de réduire le nitrate quand l'oxygène fait défaut. Elles sont donc anaérobies facultatives. Contrairement à la nitrification, l'aptitude à dénitrifier est largement répandue dans le monde bactérien. (Gamble et al, 1977).

La dénitrification permet donc une disparition des nitrates du milieu qui sortent du système par voie gazeuse. Cette réaction est un processus microbiologique réalisé par plusieurs groupes de bactéries. On distingue 2 types de dénitrification : la dénitrification hétérotrophe (utilisation du carbone organique comme source d'énergie) et la dénitrification autotrophe.

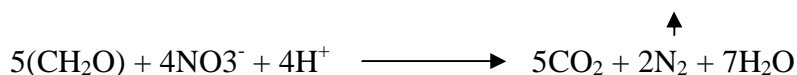
II.2.1. Bactéries hétérotrophes :

La plupart des bactéries permettant la dénitrification sont hétérotrophes. Il existe une vingtaine d'espèces de bactéries strictement dénitrifiantes. Généralement non sporulées, à Gram négatif et anaérobies facultatives, elles appartiennent notamment aux genres *Bacillus*, *Paracoccus* et *Pseudomonas* (*P. denitrificans*, *P. stutzeri*, *B. licheniformis*). (Paynes, 1981). En l'absence d'oxygène, ces bactéries dénitrifiantes, souvent aérobies facultatives, vont utiliser l'oxygène des nitrates comme accepteur final d'électron (Knowles, 1982). Certaines de ces bactéries ne peuvent accomplir qu'une ou deux étapes de la dénitrification. Selon les capacités enzymatiques des bactéries et les conditions chimico-physiques du milieu, la réaction de dénitrification peut être complète libérant de l'azote moléculaire ou partielle libérant du protoxyde d'azote (Hénault et Germon, 1995).

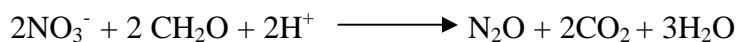
La dénitrification complète correspond à la demi-réaction redox suivante :



La réaction complète est obtenue en couplant cette demi-réaction à une demi-réaction d'oxydation de la matière organique fournissant les électrons nécessaires. Si l'on symbolise la matière organique par le monomère d'un sucre (CH_2O), on obtient alors la réaction complète suivante :



Lorsque la dénitrification est partielle s'arrêtant au stade de production du N_2O la réaction correspondante est la suivante :



II.2.2. Bactéries autotrophes :

Les germes dénitrifiants autotrophes, moins nombreux, sont mieux connus, que ce soient les bactéries oxydant le soufre (ou des composés soufrés, comme la pyrite), le fer ou l'hydrogène.

- *Thiobacillus denitrificans* est le germe responsable de la dénitrification autotrophe utilisant le soufre, ou la pyrite de fer (FeS_2), comme donneur d'électrons (réducteur).

- *Ferrobacillus ferrooxydans*, qui utilise le fer ferreux (Fe^{2+}) comme donneur d'électron, a d'abord été soupçonné (Lind, 1977), puis identifié dans des essais en pilote de dénitrification par la pyrite (Haider *et al.*, 1988). D'autres auteurs ont identifié *Gallionella* comme responsable de la dénitrification de certaines eaux ferrugineuses. (Gouy, 1983 ; Gouy, 1984).

- La dénitrification autotrophe, par l'hydrogène moléculaire gazeux H_2 , met en jeu d'autres bactéries. *Hydrogenomonas* est la plus connue d'entre elles.

II.3. Biochimie de la dénitrification :

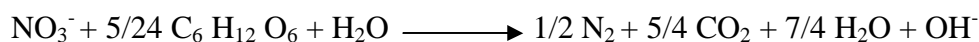
La réduction des nitrates est couplée à l'oxydation soit de composés minéraux comme le soufre ou l'hydrogène soit de composés carbonés organiques. (Patureau, 1995).

On observe deux principaux types de dénitrification selon le type des bactéries :

II.3.1. Dénitrification hétérotrophe :

Ce processus de dénitrification est connu depuis fort longtemps. La dénitrification s'effectue en condition anoxique sous l'action de bactéries hétérotrophes qui utilisent l'oxygène des nitrates pour oxyder un substrat carboné organique. L'oxydation du carbone fournit l'énergie et des électrons. Ces derniers sont transférés le long d'une chaîne du type respiratoire jusqu'à l'accepteur final qui est l'oxygène des nitrates. L'énergie libérée est utilisée par une enzyme, la nitrate réductase, par l'intermédiaire d'une phosphorylation : il s'agit donc d'un couplage, classique en biologie, oxydation/phosphorylation (Mammeri, 2007)

Les composés organiques carbonés, donneurs d'électrons, sont aussi variés que les bactéries qui les utilisent. Ces bactéries peuvent oxyder un grand nombre de substrats carbonés. Le substrat carboné fournit à la fois l'énergie et le carbone nécessaire au métabolisme et aux synthèses cellulaires. Pour un même nombre d'atomes de carbone, plus le substrat sera réduit, plus grand sera le nombre d'électrons libérés, et plus la chaîne sera courte, plus rapide sera sa dégradation. Par exemple, pour le glucose, l'éthanol (Patureau, 1995), les réactions stœchiométriques sont les suivantes :



II.3.2. Dénitrification autotrophe :

La dénitrification autotrophe est un phénomène rencontré parfois, de manière spontanée, dans les eaux souterraines. Elle est quasiment absente dans les eaux de surface, dont la richesse en matières organiques privilégie la dénitrification hétérotrophe.

De la même manière que précédemment, les nitrates sont réduits en azote gazeux dans des conditions anoxiques. Par contre, l'apport d'énergie se fait au moyen d'un substrat

Inorganique, hydrogène ou soufre ou fer métallique (Wehbe Nadjah, 2009).

Dans la dénitrification autotrophique, l'hydrogène et les composés soufrés servent comme substrat et le dioxyde de carbone ou le bicarbonate est utilisé comme source de carbone pour la synthèse de cellules. (Gaid et *al.*, 1980)

II.4. Facteurs influençant la dénitrification :

La dénitrification peut avoir lieu à partir du moment où 3 facteurs sont réunis :

- une source de nitrates sans laquelle la dénitrification n'a pas lieu de se produire.
- une absence d'oxygène sans quoi les bactéries utilisent l'oxygène libre plutôt que l'oxygène des nitrates.
- un substrat carboné facilement utilisable comme source d'énergie pour les bactéries hétérotrophes.

D'autres facteurs physico-chimiques tels que la température et le pH peuvent influencer la dénitrification. La dénitrification étant réalisée par de nombreuses espèces de bactéries ayant des exigences physico-chimiques différentes, les valeurs optimales pour les paramètres influençant la dénitrification peuvent varier en fonction de l'espèce bactérienne concernée. (CURIE, 2006).

II.4.1. Concentration des Nitrates :

En générale, le nitrate est nécessaire pour la synthèse des enzymes surtout la nitrate réductase. Selon Bryan (1981), le nitrate affecte la production du nitrate réductase : sa présence déclenche la synthèse et sa concentration détermine la quantité d'enzymes synthétisée. La concentration des nitrates est d'ailleurs importante car elle joue sur la vitesse de la réaction de la dénitrification. (Bougherara, 2006).

La relation entre la vitesse de dénitrification et la concentration en nitrates ne fait pas l'objet d'un consensus dans la littérature. Pour certains auteurs, il n'existe aucune relation entre la vitesse de dénitrification et la concentration en nitrates (Gardner et *al.*, 1987). Pour d'autres, au contraire, cette relation peut être décrite par une cinétique de Michaël-Menten qui se caractérise par une forte dépendance de la vitesse de dénitrification aux faibles concentrations et une faible dépendance aux fortes concentrations (Betlach et Tiedje, 1981).

Un autre effet des concentrations en nitrates pourrait être sur l'ordre de la réaction. Bowman et Focht (1974) mettent en évidence une cinétique d'ordre 1 pour de faibles concentrations en nitrates tandis que pour des fortes concentrations la cinétique de la réaction serait d'ordre 0. La valeur limite à partir de laquelle la cinétique de la réaction changerait serait égale à 1mg N-NO₃⁻/l. Cependant peu d'études ont été réalisées sur la détermination de cette valeur limite.

En conclusion, la concentration en nitrates ne joue pas à partir du moment où les nitrates sont suffisamment présents dans le milieu. (CURIE, 2006).

II.4.2. L'oxygène dissous :

La dénitrification ne peut avoir lieu qu'en absence d'oxygène dissous dans le milieu. Les Bactéries réalisant la dénitrification étant des aérobies facultatives, elles consomment l'oxygène dissous avant l'oxygène des nitrates, la dénitrification étant moins rentable d'un point de vue énergétique que la respiration. Cependant, la dénitrification est relativement compétitive vis à vis de la respiration et va pouvoir commencer en présence de faibles taux d'oxygène dissous (Mariotti, 1986). Le taux limite d'oxygène dissous à partir duquel la dénitrification peut s'initier est compris entre 0.2 et 2 mg/l (Focht et Chang, 1975 ; Nakajima et al., 1984 ; Trevor, 1985).

II.4.3. La nature de la source de carbone :

La plupart des bactéries dénitrifiantes étant hétérotrophes, la présence de carbone organique est indispensable à la réalisation du processus de dénitrification. Le carbone organique favorise également le processus de dénitrification en accélérant la respiration aérobie donc l'anoxie. (Davidsson et Leonardson, 1996).

Bien que de faibles quantités de matières organiques (1 mg/l à quelques mg/l) suffisent au développement des bactéries (Gounot, 1991), la disponibilité en carbone organique facilement assimilable peut être un facteur limitant de la dénitrification (Engler et Patrick, 1974 ; Groffman et al., 1996). Le processus de dénitrification est davantage sensible à la qualité qu'à la quantité de carbone organique présent dans l'eau et les sédiments (Groffman et al., 1991)

La nature du substrat utilisé peut influencer la cinétique de dénitrification. Ainsi, Moser-Engeler et al. [1998] ne 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.

II.4.4. La Température :

La dénitrification étant l'œuvre d'un grand nombre d'espèces bactériennes, les conditions optimales de température sont très variables et on rapporte dans la littérature des gammes de tolérance étendues de 5°C à plus de 75°C (Martin, 1979). De 35 à 60°C la dénitrification augmente avec la température, avec essentiellement accumulation de protoxyde d'azote, alors qu'à des températures supérieures à 60°C, elle décroît (Knowles, 1982). Aux basses températures, les vitesses de dénitrification sont faibles mais mesurables jusqu'à 3°C (Sutton et al., 1975).

La relation entre dénitrification et température reste assez complexe à étudier car la température agit sur de nombreux facteurs : activité microbienne totale, solubilité de l'oxygène, diffusion des espèces chimiques...etc. On notera l'influence particulière de la température sur l'oxygène. Pour des fortes températures, la solubilité de l'oxygène diminue et de ce fait augmente le taux de dénitrification et inversement. (Hiscock, Lloyd et Lerner, 1991). Dans le cas général, la dénitrification est réalisée par des micro-organismes mésophiles. (Bougard, 2004).

II.4.5. Le pH :

La relation entre le pH et la dénitrification est relativement complexe. La dénitrification peut modifier le pH et parallèlement le pH peut exercer un certain contrôle sur la dénitrification et ses produits. La dénitrification consommant des ions (H^+), le pH a tendance à augmenter lors de la réaction de dénitrification mais cette relation est souvent masquée par d'autres réactions chimiques ayant lieu simultanément dans le milieu. (CURIE, 2006).

La dénitrification peut se produire dans une large gamme de pH comprise entre 4 et 11 (Knowles, 1982) mais serait optimale pour des pH compris entre 7 et 8,5 (Bremmer et Shaw, 1958).

II.4.6. Le rapport C/N :

Quelle que soit la source de carbone utilisée, la détermination d'une concentration en carbone à fournir par rapport à la concentration en nitrate à éliminer (rapport C/N) est une étape préliminaire obligatoire à toute optimisation de traitement biologique par dénitrification. Lors du traitement de l'azote dans les eaux, le besoin global en DCO (demande chimique en oxygène) à partir du nitrate est de 2,86 mg DCO / mg $N-NO_3^-$ 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. De nombreux auteurs (Skrinde et Bhagat, 1982 ; Nyberg et *al.*, 1992 ; Tam et *al.*, 1992 a et b) soulignent qu'indépendamment de la source de carbone utilisée, le rapport DCO/N doit être compris entre 3 et 6 pour avoir de bonnes performances de dénitrification biologique. En étudiant l'influence de la source de carbone sur la dénitrification des lixiviats, Carley et Mavinic (1991) ont observé que le rapport DCO/N minimum pour effectuer une dénitrification complète varie d'une source de carbone à l'autre : 5,9 pour l'acétate de sodium; 6,2 pour le méthanol et 9 pour le glucose. Cette variation peut être due à la diversité des rendements de conversion du substrat en biomasse par les micro-organismes.

II.4.7. Le phosphate :

Les ions PO_4^- qui interviennent dans la transformation $\text{ATP} \leftrightarrow \text{ADP}$, sont nécessaires à la croissance bactérienne. Ils apparaissent comme un facteur limitant de la croissance. Toutefois, de trop grandes valeurs de phosphate favorisent cette croissance aux dépens de la dénitrification. En effet, des études ont montré que la vitesse de la dénitrification atteint un maximum pour des valeurs comprises entre 0.45 et 0.55 mg/l de PO_4^- . (Leprince & Richard, 1980).

II.4.8. Substances toxiques et inhibitrices de la dénitrification :

Mise à part les influences de l'oxygène et du pH, d'autres corps ou composés inhibent la dénitrification ; selon leurs compositions ils peuvent agir au niveau des cytochromes ou au niveau des enzymes comme inhibiteurs compétitifs qui empêchent leur régénération. (Martin, 1979). Parmi les substances toxiques pour la dénitrification, on peut citer :

- Les agents chélatants tel que les cyanures, les dithioles, les chlorates, et le dinitriphénol qui inhibent la chaîne respiratoire des microorganismes.
- Les ions sulfures qui inhibent NOR et N_2OR .
- Des composés organiques tels que l'hydroxylamine, pyruvate et l'acétylène qui inhibent également N_2OR . (Bougherara, 2006).
- Les métaux tels que Cr, Cu, Ni, Pb influent sur la dénitrification par la répression de la croissance bactérienne à cause de leur complexations avec la matière organique (Martin, 1979).

Les nitrites sont également toxiques envers la dénitrification, l'élimination des ions nitrites est toujours plus rapide que celle des nitrates, ce phénomène est dû à un mécanisme protecteur des cellules pour en contrôler l'accumulation toxique. L'accumulation des nitrites inhibe la dénitrification car elle fait diminuer le pH du milieu, cette diminution du pH (acidification du milieu) inhibe la synthèse enzymatique des nitrates réductase et nitrites réductase. (Glass & Silvestein, 1997).

II.5. Cinétique du processus de dénitrification :

II.5.1. Evolution d'une culture bactérienne :

La dénitrification implique nécessairement la présence d'une pollution carbonée qui peut être directement puisée dans l'eau brute ou résiduaire. Les polluants sont utilisés comme source de carbone et d'énergie. Dans un milieu anoxique où les conditions nutritionnelles et physico-chimiques adéquates sont réunies (Pour la biosynthèse, les nutriments nécessaires en quantité importante sont C,H,O,N,P,S ainsi que les éléments majeurs K, Na, Mg, Ca, Fe et les

éléments en traces Mn, Zn, Cu, Co, Mo (Boussaid, 1987). Le molybdène est un coenzyme de la nitrate réductase (Garcia, 1978 ; Martin, 1979).

Si l'environnement lui est favorable, les bactéries entrent alors dans un processus de croissance engendré par l'ensemble de leurs activités physiologiques. Ce processus se traduit par l'augmentation coordonnée et irréversible du matériel cellulaire, suivi de la division cellulaire qui développe l'accroissement de la population bactérienne jusqu'à l'épuisement du milieu nutritif.

Le schéma classique de la croissance d'une population bactérienne dénitrifiante hétérotrophe en milieu non renouvelé a été établi par Buchanan (1918) (Figure 8). Il décompose la cinétique de croissance en sept phases distinctes (Charles-Bajard, 1996) :

1- la phase de latence (phase 1) : qui correspond à une phase de transition entre un état physiologique initial et un état de croissance à proprement dit (phase d'adaptation au nouvel environnement), la cellule bactérienne synthétise en particulier les enzymes nécessaires à la métabolisation du substrat.

2- la phase d'accélération de la croissance, au cours de cette phase, le milieu riche en nutriment permet un développement rapide des bactéries. La concentration de la matière organique diminue rapidement, la biomasse augmente parallèlement avec la synthèse cellulaire au cours de laquelle, les matières organiques oxydées sont transformées en produits finaux de dégradations tels que CO₂, H₂O, NO₂, N₂,etc.

3- la phase de croissance quasi-exponentielle, dite aussi phase de croissance maximale ; au cours de cette phase, la vitesse de croissance, dX/dt , augmente proportionnellement avec la biomasse X : $\mu \text{ max} = dX/dt * 1/X$

Avec $\mu \text{ max}$ c'est le taux de croissance maximal (typique de la culture et du substrat) maintenu tant que le substrat est suffisant.

4- la phase de décélération ou phase de freinage, qui semble intervenir au fur et à mesure que le substrat s'épuise ou que des produits toxiques s'accumulent,

5- la phase stationnaire maximale, elle signifie qu'à ce moment, les bactéries utilisent les réserves accumulées précédemment, la croissance globale s'arrête et leur mortalité vient équilibrer la synthèse.

6- la phase d'accélération de la décroissance, la concentration en cellules vivantes diminue

7- la phase de décroissance exponentielle, qui apparaît lorsque le milieu devient fortement défavorable à la multiplication de cellules bactériennes, se traduit par la mort de nombreux micro-organismes. Cette mortalité est due à l'autolyse enzymatique des cellules. C'est la phase endogène. (MEMENTO, 2005).

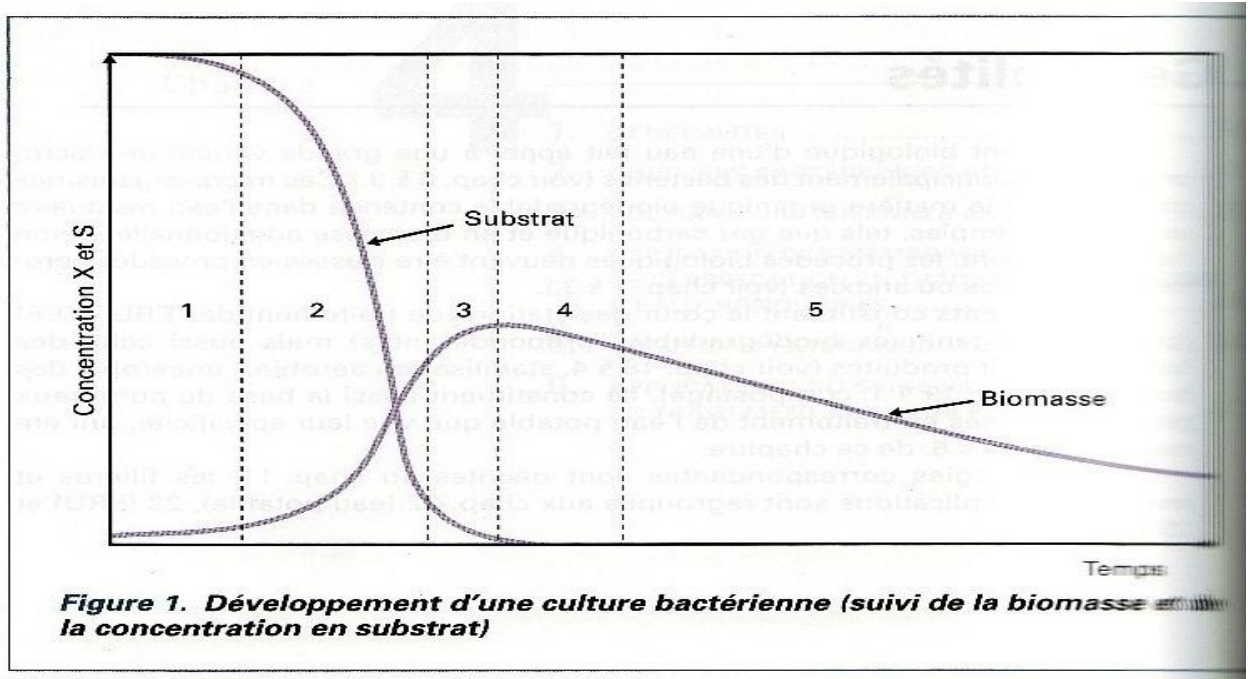


Figure n° 4 : Evolution de la matière organique et de la biomasse en présence d'une culture bactérienne lors de la dénitrification. (Momento, 2005).

II.5.2. Cinétique de croissance :

En dénitrification biologique, les équations cinétiques utilisées pour décrire la croissance bactérienne et l'utilisation du substrat sont similaires à celles décrites pour les bactéries aérobies hétérotrophes. La principale différence vient de fait que les nitrates sert d'accepteurs d'électron au lieu d'oxygène. (MEMENTO, 2005).

II.5.2.1. Le taux de croissance pendant la phase exponentielle :

Chaque cellule microbienne donne après multiplication deux cellules identiques. Après n générations, le nombre initial de cellules X_0 pour $t = 0$, devient au temps t , X tel que :

$$1- X = X_0 2^n$$

$$2- X = X_0 2^{\mu t} \quad \text{Qui s'intègre}$$

$$3- \ln X = \ln X_0 + \mu \cdot t \cdot \ln 2$$

$$4- \ln X - \ln X_0 = \mu \cdot t \cdot \ln 2$$

$$5- \mu = \frac{\ln X - \ln X_0}{t \cdot \ln 2} \quad \text{(III-1)}$$

$\left\{ \begin{array}{l} X_0: \text{Nombres de cellules à } t_0 \\ X: \text{Nombres de cellules à } t \\ \mu: \text{Taux de croissance (1/h)} \end{array} \right.$

Ceci vérifie que pendant la phase de croissance logarithmique, la croissance cellulaire est indépendante de la concentration du substrat, Si celui-ci est largement en excès. Dans le cas contraire le taux de croissance dépendrait de la concentration en substrat (S) qui joue le rôle de facteur limitant.

En traçant ln X en fonction du temps d'après équation 3 .La pente de la droite obtenue donne le taux de croissance :

$$\ln X = \ln X_0 + \mu t \ln 2$$

$$\ln X = \mu \ln 2 t + \ln X_0$$

μ_{max} varie en fonction de la nature du milieu nutritif, la concentration d'un facteur limitant et les facteurs physico-chimiques (température, pH, ...etc.).

Tableau 1 : Valeurs de taux de croissance (μ) pendant les différentes phases de la croissance Bactérienne.

Les différentes phases de croissances	Valeurs de μ
Phase de latence	$\mu = 0$
Phase d'accélération	μ augmente
Phase exponentielle	$\mu = \mu_{max} = Cste$
Phase de ralentissement	μ diminue
Phase stationnaire	$\mu = 0$
Phase de déclin	Mortalité

II.5.2.2. Modélisation de la courbe de croissance :

La croissance microbienne est un phénomène globalement très complexe dépend des conditions environnementales, de la biomasse, des substrats et dans certains cas des produits.

Plusieurs modèles mathématiques ont été proposés pour rendre compte de cette courbe de croissance, parmi les plus utilisées (Mazouni, 2006) :

- **Modèle de Monod (1941) :**

Ce modèle est le plus ancien, c'est également le plus connu, et encore le plus utilisé dans tous les secteurs de la microbiologie. C'est un modèle empirique, qui rend bien compte des phases 2 et 3 de croissance, très proche de la loi de *Michaelis-Menten* relative aux réactions enzymatiques vis-à-vis du substrat. On écrit alors la vitesse spécifique de croissance comme suit :

$$\mu_D = \mu_{\max} ([\text{NO}_3^-] / (K_s + [\text{NO}_3^-]))$$

Où : μ_D est le taux de croissance des bactéries dénitrifiantes à un temps donné,

μ_{\max} : est le taux maximal de croissance,

$[\text{NO}_3^-]$: est la concentration du substrat [mg NO_3^- /l] et

K_s est la constante de demi-saturation [mg NO_3^- /l],

K_s : il a la signification d'une concentration seuil au-dessous de laquelle le taux de croissance devient très dépendant de la concentration en substrat $[\text{NO}_3^-]$. Cette constante correspond à la valeur de $[\text{NO}_3^-]$ pour laquelle : $\mu_D = \mu_{\max} / 2$. (Lobry, 1991 ; Kargi, 2000).

Dans ce cas le taux de croissance s'approche du taux maximal pour les grandes concentrations en substrats et reste faible pour les faibles concentrations. L'ajustement de la courbe à des données expérimentales est réalisable à travers le calcul du taux de croissance maximal μ_{\max} et de la constante de demi-saturation K_s . (Mazouni, 2006).

II.5.2.3. Détermination des constantes bio-cinétiques :

Pour la détermination des constantes cinétiques (K_s , μ_{\max}) nous avons eu recours à la forme linéarisée de l'équation de Monod :

- **Détermination de K_s et μ_{\max} :**

La forme linéarisée de l'équation de Monod :

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_{\max}} \cdot \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{\max}}$$

La représentation de l'inverse de la vitesse d'élimination du substrat $1/\mu$ en fonction de l'inverse de la concentration $1/S$ permet la détermination du μ_{\max} , K_s à partir de la pente et de l'ordonnée à l'origine de la droite (Monod) comme le montre la figure n° 5.

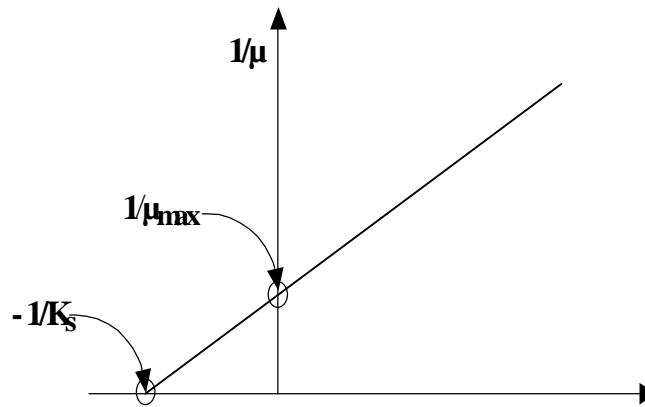


Figure n° 5 : la représentation de Monod qui permet la détermination du μ_{\max} , K_s .

II.5.3. Vitesse de dénitrification :

La vitesse de dénitrification R_D [mg NO_3^- oxydé/j] est définie comme le produit de la vitesse spécifique d'absorption du substrat et la concentration de biomasse dans le réacteur.

$$R_D = d [\text{NO}_3^-] / dt = - (\mu_{\max} / Y_D) \left(\frac{[\text{NO}_3^-]}{K_s + [\text{NO}_3^-]} \right) * X_D$$

Où : X_D : est la concentration de biomasse dénitrifiante dans le réacteur [g cellules/m³].

Y_D : est le rendement théorique du processus [mg MVS/mg NO_3^- éliminé].

(MVS : Matières Volatiles en suspension)

Partie
Partie
Expérimentale
Expérimentale

Chapitre III

Matériels & Méthodes

Chapitre III : Matériels et méthodes

Introduction :

Dans le cadre d'enrayer la propagation des infections d'origine hydrique et sauvegarder la santé humaine, ainsi que de préserver la nature et l'environnement, protection des milieux naturels (préservation ou restauration des usages de l'eau) alors les eaux usées ne peuvent rejoindre le milieu naturel qu'après avoir subi un traitement approprié de manière à assurer la protection des nappes d'eau. De nombreux travaux de recherche sur l'eau traitant principalement le problème de l'azote notamment l'étude des nitrates et des nitrites dans notre environnement. Ainsi notre travail se propose d'étudier le processus de dénitrification, procédé à culture en suspension, en particulier les boues activées qui sont couramment employés pour les grandes municipalités ; processus biologiques qui s'avèrent habituellement plus économiques que les traitements physico-chimique. (Metcalf et Eddy, 2003).

La présente étude visait à établir le principe de fonctionnement d'un dispositif de dénitrification en batch en mode discontinu par une culture prélevée dans la station d'épuration de l'est de Tizi-Ouzou en utilisant le Méthanol comme source de carbone et d'énergie.

L'objectif principal de ce travail est donc de rechercher les limites de mise en œuvre de réaction de dénitrification en boues activées s'appuyant sur les facteurs influençant la cinétique de la croissance bactérienne et l'influence d'un certain nombre de facteurs opératoires (C/N, P, pH, T°, concentration de source de carbone,...etc.) sur la vitesse de dénitrification seront examinées, ce qui permet d'aboutir à une meilleure compréhension de l'interdépendance des facteurs régissant la vitesse de dénitrification et de dégager les limites de fonctionnement garantissant une élimination optimale de l'azote et de nitrates.

III.1. MATERIELS :

III.1.1. Sélection des micro-organismes dénitrifiants :

Vu que les stations d'épuration urbaines possèdent généralement une flore bactérienne assez complexe capable de traiter plusieurs polluant ; les micro-organismes dénitrifiants que nous avons utilisés pour l'inoculation de notre réacteur ont été prélevés des fonds des bassins

de dénitrification de la « station d'épuration des eaux usées de Tizi-Ouzou » car il est connu que les micro-organismes dénitrifiants sont en concentration appréciable dans les zones des solutions aqueuses où la concentration en oxygène est faible ou nulle.

Afin de sélectionner les bactéries dénitrifiantes, les boues sont mises dans un erlens fermé (bioréacteur spécifique pour mener des cultures en conditions contrôlées), en présence d'une alimentation riche en nitrate. Le dispositif fonctionne en discontinu. Un suivi de la concentration des nitrates et nitrites est effectué régulièrement et la solution d'alimentation est renouvelée à chaque fois que la concentration diminue au dessous de la norme. Une fois que la consommation des nitrates est réalisée au bout de 10 heures, les boues seront transférées dans un système en continu qui permettra le développement et le maintien de notre biomasse dénitrifiante.

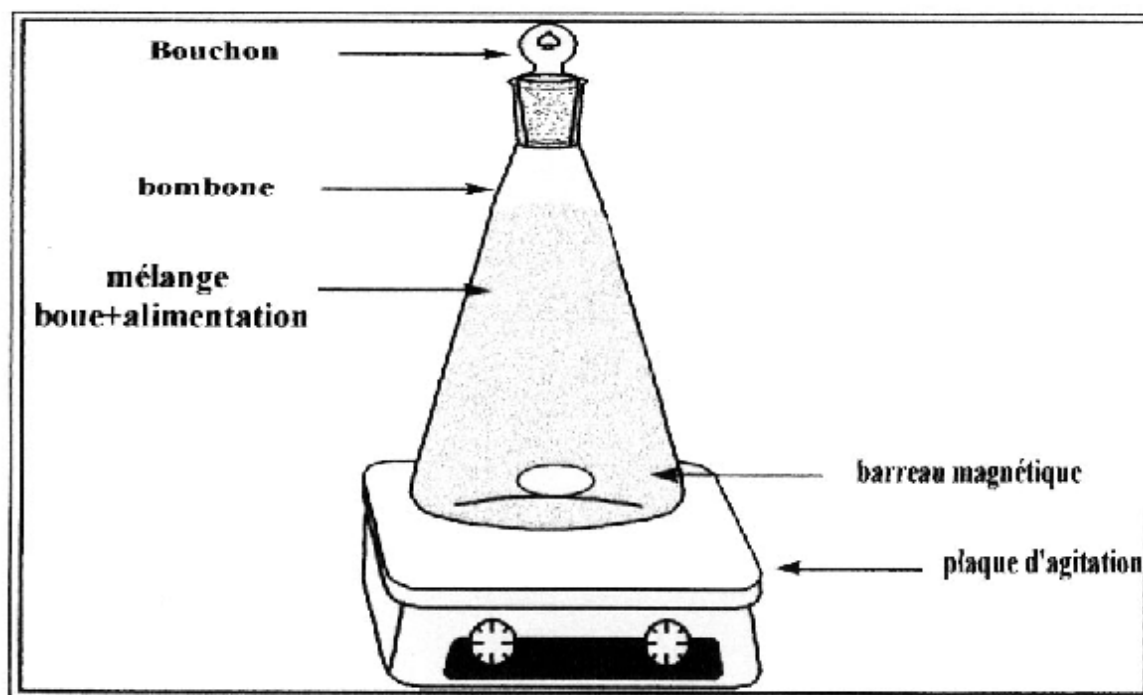


Figure n°6 : dispositif de la sélection des bactéries dénitrifiantes en Réacteur discontinu.

III.1.2. Alimentation lors de la sélection microbienne :

Pour favoriser la croissance des micro-organismes dénitrifiants lors de la sélection, nous avons utilisé un milieu de croissance synthétique qui apporte aux micro-organismes tous les éléments nécessaires au développement cellulaire, la composition des solutions d'alimentation est représentée dans le tableau n°4. Il est à signaler que l'effluent synthétique est préparé dans de l'eau de robinet. Le pH des solutions est neutre. Les expériences ont été effectuées à une température ambiante (20-25°C).

Tableau 2 : La composition de l'alimentation de sélection en discontinu.

composés	Alimentation en discontinu :
KNO ₃	2000mg/l \Leftrightarrow 1227.72mg/l de NO ₃ ⁻
K ₂ HPO ₄	2000mg/l \Leftrightarrow 355.95mg/l de P
FeSO ₄	10mg/l
MgCl ₂	25mg/l
méthanol	2ml/l

III.1.3. Dispositif expérimental :

Nos essais de dénitrification sont réalisés sur un dispositif de laboratoire en réacteurs batch erlens d'un volume totale d'un litre contenant 100ml de boues activées sélectionnée, avec un milieu nutritif composés de méthanol comme source unique de carbone et d'énergie, du phosphore, et des nitrates comme sources d'oxygène.

Les réacteurs sont ensuite hermétiquement fermés afin d'obtenir l'anoxie et munies d'un barreau aimanté sont placés sous agitation à température ambiante (20-25°C).
(Voir la figure n° 10)

Des prélèvements horaires d'échantillons liquides sont effectués à partir de ces réacteurs, afin de réaliser le suivi de la croissance bactérienne, les concentrations en nitrates, nitrites, phosphore, DCO et le pH.

**Figure n°7** : Photographie de cinétique de dénitrification en mode « batch ».

III.1.4. Matériels utilisées :

L'appareillage utilisé durant notre pratique se résume dans le tableau suivant :

Tableau 3 : le matériel utilisé durant la partie expérimentale.

Matériels	La marque
Plaques chauffantes et d'agitations Magnétiques à vitesse variable.	HEIDOPH MR 3001K
Balance analytique de marque	PIONEER OHAUS
Etuve pour le séchage	MEMMERT
Spectrophotomètre UV-visible	SECOMAM PRIM
le DCO-mètre de 24postes	CR3200 WTW
pH – mètre	HANNA
Distillateur	MERIT W4000

III.2. Méthodes d'analyses :

III.2.1. Mesure de la biomasse microbienne:

- **Spectrophotométrie :**

La mesure de l'opacification du milieu de culture est une technique très prisée pour mesurer la biomasse, c'est-à-dire la masse bactérienne sèche présente par unité de volume (ML^{-3}). Il est en effet possible d'utiliser une loi, analogue à celle de Béer-Lambert, exprimant la proportionnalité entre la contribution bactérienne à l'absorbance du milieu A et la biomasse B présente en solution,

$$A = \text{Log} (I_0 / I_2) - \text{Log} (I_0 / I_1) = \text{Log} (I_1 / I_2) = \alpha d B$$

Où : I_0 : représente l'intensité lumineuse du rayon incident,

I_1 : l'intensité du rayon transmis en l'absence de biomasse,

I_2 : l'intensité du rayon transmis en présence de biomasse,

d : la longueur du trajet optique, et α un coefficient de proportionnalité.

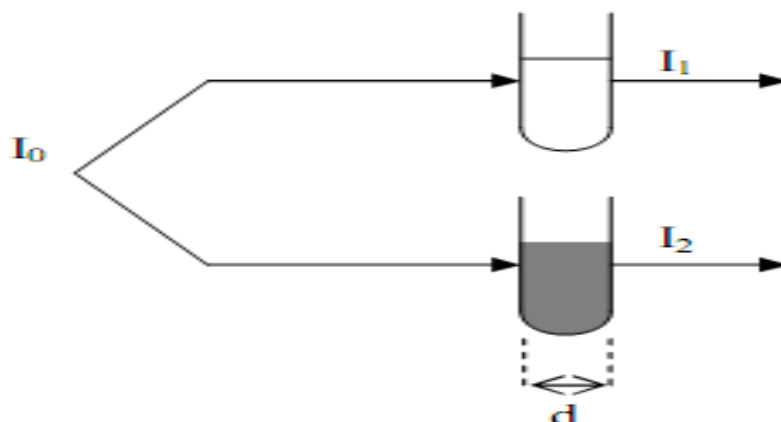


Figure n°8 : Schéma pour définir la densité optique du milieu (Lobry J, 1991).

L'absorbance est rapportée conventionnellement à un trajet optique de 1cm pour définir la densité optique (DO) du milieu :

$$DO = (1/d) \text{Log} (I_1 / I_2) = \alpha B$$

L'absorbance ou la turbidité d'une culture est souvent déterminé par spectrophotométrie, l'échantillon est placé dans une cuvette ensuite on place la cuvette dans le spectrophotomètre, les micro-organismes jouent le rôle d'une barrière physique pour la lumière. Si on choisi une longueur d'onde bien déterminée le taux de la lumière transmise par l'échantillon sera proportionnel à la quantité des microorganismes présents dans l'échantillon.

L'absorbance de la culture est généralement mesurée à une longueur d'onde autour de 600 nm. Il faut faire attention dans le cas ou le milieu est très concentré (absorbance > 2) dans ce cas la courbe qui relie la masse cellulaire avec l'absorbance est non linéaire, donc il faut faire la dilution de l'échantillon.

La densité optique d'une culture cellulaire est mesurée par l'absorbance à une longueur de 600 nm avec un spectrophotomètre UV-Visible.

- **Dosage de la biomasse :**

L'augmentation du nombre des microorganismes dans la solution entraîne une augmentation de la turbidité de la solution. Ce nombre est proportionnel à la densité optique de la solution. Les mesures des densités optiques pour la détermination de la concentration des microorganismes sont réalisées à 600nm.

Plusieurs solutions de différentes concentrations en microorganismes sont préparées. Après mesure de leurs densités optiques à 600nm, elles sont introduites dans une étuve à 105 °C jusqu'à l'évaporation totale de l'eau contenue dans les échantillons. Une droite

d'étalonnage est réalisée reliant la densité optique de la solution (à 600 nm) à la masse des microorganismes présents dans la solution (voir annexe).

III.2.2. Dosage des métabolites :

Les prélèvements d'échantillons effectués au cours des expériences sont dosés par colorimétrie afin de suivre l'évolution des ions nitrates, nitrites, orthophosphates, pH et le dosage de la source de carbone est effectué par l'intermédiaire d'une oxydation chimique (méthode de DCO). Le protocole expérimental est présenté en Annexe.

Les dosages sont effectués selon les normes (voir annexes) :

- Les nitrates : Méthode au réactif sulfophénique
(Norme AFNOR NF 90 012)
- Les nitrites : Méthode au réactif de diazotation
(NORME AFNOR NF 90 013)
- Mesure de la demande chimique en oxygène (DCO)
(Standard methods page 532). 1985.
- Les orthophosphates : Méthode spectrophotométrique
(Norme AFNOR ISO, TC 147)
- Mesure du pH : pH mètre. (Metrohm).

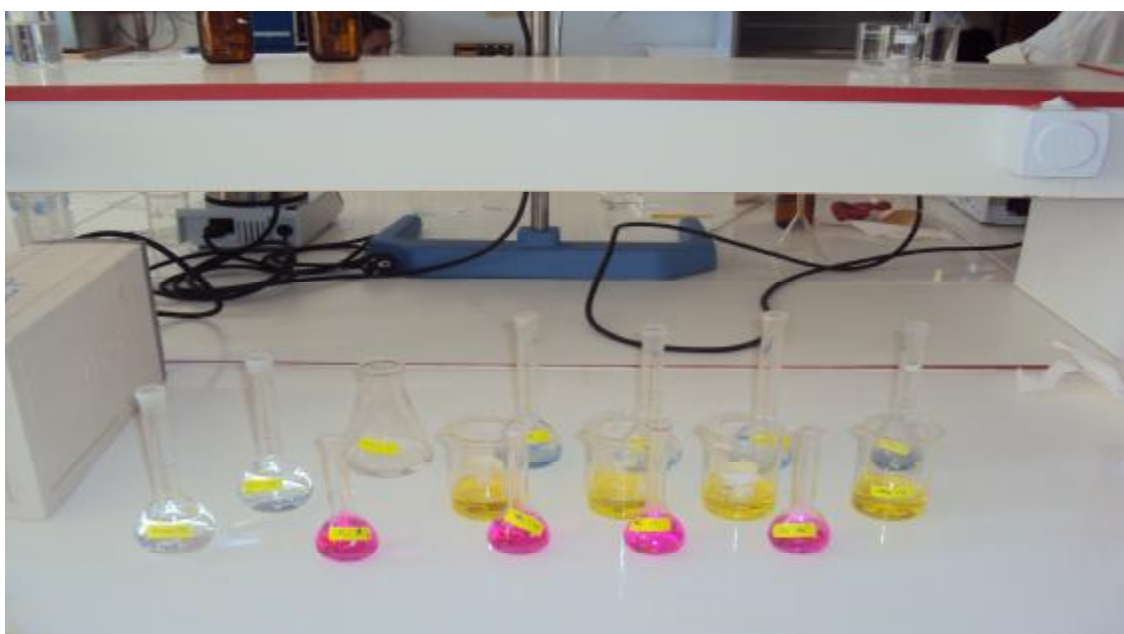


Figure n°9 : photographie des différents dosages effectués.

Chapitre IV

Résultats & Discussion

Chapitre IV : Résultats et Discussion

I. suivi de la réaction de dénitrification par l'utilisation du méthanol comme source de carbone :

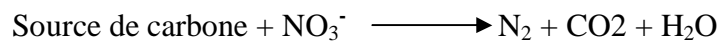
Dans cette partie nous avons suivi l'évolution de la croissance bactérienne et la concentration des nitrates en fonction du temps en choisissant 0.5ml/l du méthanol comme source unique de carbone et d'énergie avec le nitrate comme accepteur final d'électrons ($N-NO_3^- = 200 \text{ mg/l}$) et 10mg/l du phosphore. Le bioréacteur est maintenu à température ambiante (25°C).

Au cours de l'incubation nous avons observé :

- L'augmentation de l'opacité du milieu qui s'explique par la multiplication des microorganismes selon l'équation suivante :

$$dN/dt = \mu \max ([NO_3^-] / (K_s + [NO_3^-]) * (S_{\text{met}} / S_{\text{meth}} + K_{S_{\text{meth}}}) * (S_P / S_P + K_{S_P}))$$

- L'apparition de bulles de gaz qui s'explique par la réaction suivante :



La croissance bactérienne est accompagnée d'une consommation proportionnelle d'ions nitrates comme la montre la figure n°10 qui représente la diminution de la concentration des nitrates et la variation de la concentration des nitrites en fonction du temps.

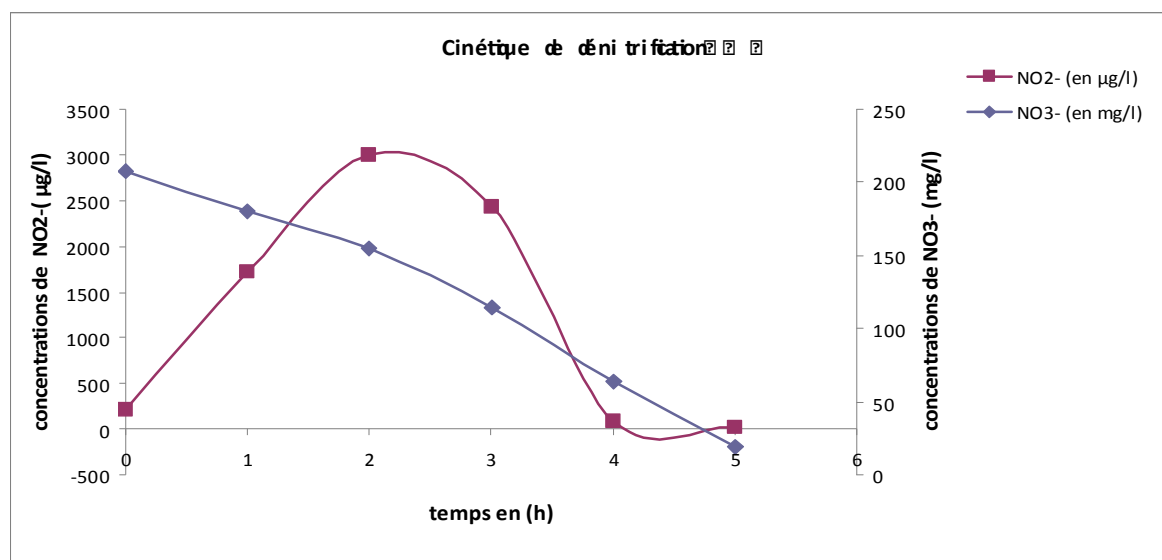


Figure n°10 : Cinétique de la réduction des nitrates et production des nitrites.

• **Suivi du pH du milieu réactionnel au cours de la dénitrification :**

Au cours de la réaction de dégradation des nitrates nous avons observé une très légère augmentation du pH dans notre réacteur qui est de 7.08 à 7.45 car la réaction biologique est consommatrice de protons. Ceci s'explique par l'utilisation d'un milieu nutritif suffisamment tamponné (K_2HPO_4 , ...etc.). La variation du pH au cours de la réaction de dégradation est présentée sur la figure n°11 :

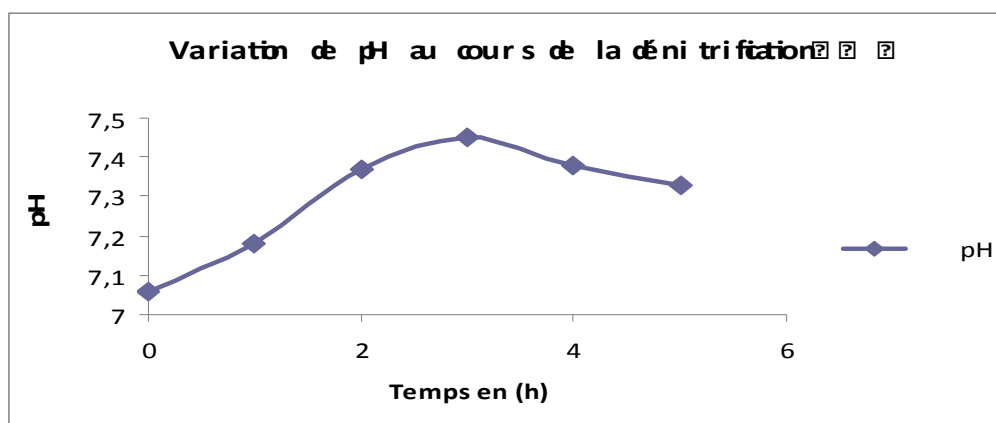


Figure n°11 : variation du pH au cours de la réaction de dénitrification

II. Influence de la concentration initiale du Méthanol :

Plusieurs expériences ont été menées afin d'évaluer dans nos conditions opératoires l'influence de la concentration initiale de la source de carbone sur le phénomène de la dénitrification. Les autres paramètres étant fixes.

Durant nos expériences, nous avons mesuré en concomitance la réduction des nitrates, l'évolution des nitrites, la DCO, le pH et la croissance bactérienne en fonction du temps. Les expériences ont été réalisées avec les concentrations initiales en méthanol de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5ml/l. Les résultats obtenus sont représentés sur les figures 12, 13, 14, et 15 suivantes :

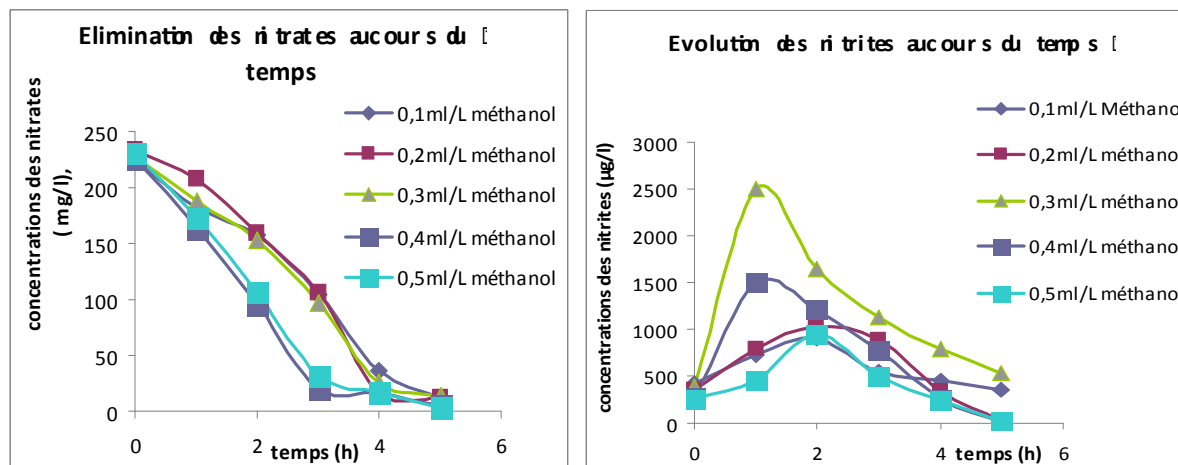


Figure n°12 : Cinétique de dénitrification à différentes concentrations de méthanol.

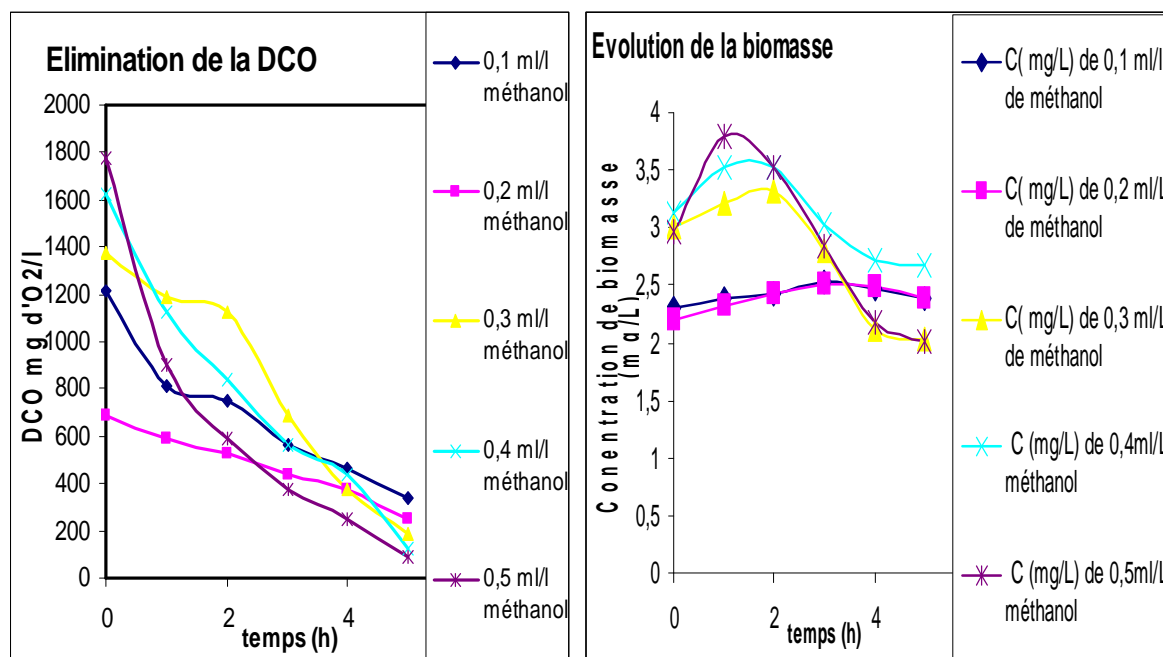


Figure n°13 : Evolution de la biomasse et l'élimination de DCO lors de la dénitrification au différentes concentrations initiales du méthanol.

Il apparait d'après les résultats expérimentaux illustrés par les courbes des figures n°12, et n°13 ci- dessus que :

- La vitesse de dénitrification augmente proportionnellement avec les concentrations initiales en méthanol.
- La consommation de méthanol durant le processus de dénitrification exprimée par la diminution de la DCO implique une croissance considérable de la biomasse dans le réacteur.

Pour mieux comprendre et caractériser la cinétique de croissance bactérienne et celle de dénitrification, nous avons calculé les paramètres de croissance et le rendement de réduction des nitrates et l'oxydation du méthanol représentés sur le tableau 4, et les figures 14 et 15 suivants :

Tableau 4 : Les paramètres d'évaluation de la croissance bactérienne et la dégradation du méthanol :

Concentration du méthanol (ml/L) :	Equation de la phase exponentielle de la courbe de croissance :	μ max (1/h) :	Rendement d'élimination des nitrates : R (%)	Rendement d'élimination de la DCO :
0.1	$Y = 0.031X + 0.526$	0,0447	94,70	96,42
0.2	$Y = 0.045X + 0.484$	0,0649	94,67	92,85
0.3	$Y = 0.048X + 0.801$	0,069	94,02	86,36
0.4	$Y = 0.059X + 0.856$	0,085	97,87	92,30
0.5	$Y = 0.247X + 0.071$	0,356	98,60	94,73

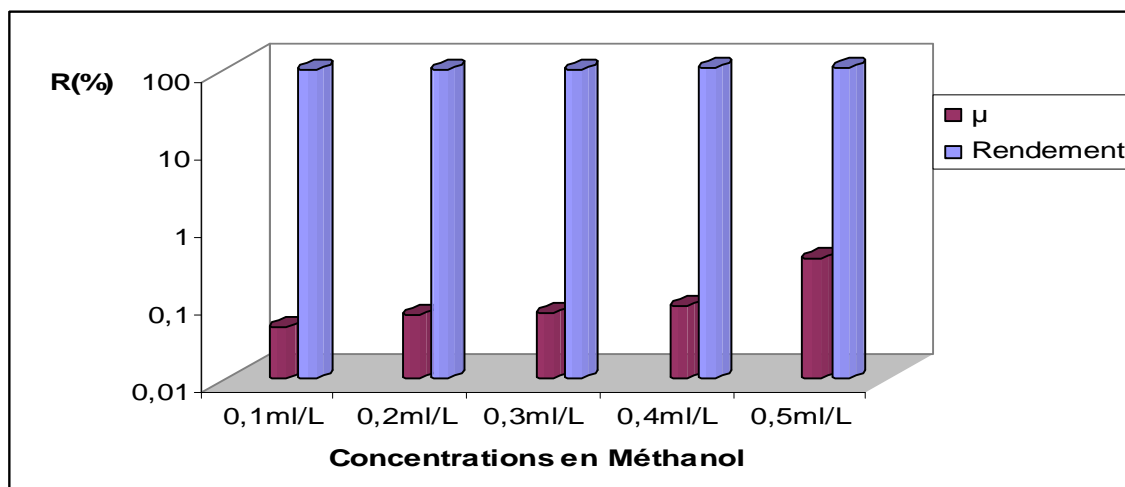


Figure n°14 : Influence de la concentration initiale du méthanol sur le taux de croissance (μ) et le rendement de dénitrification.

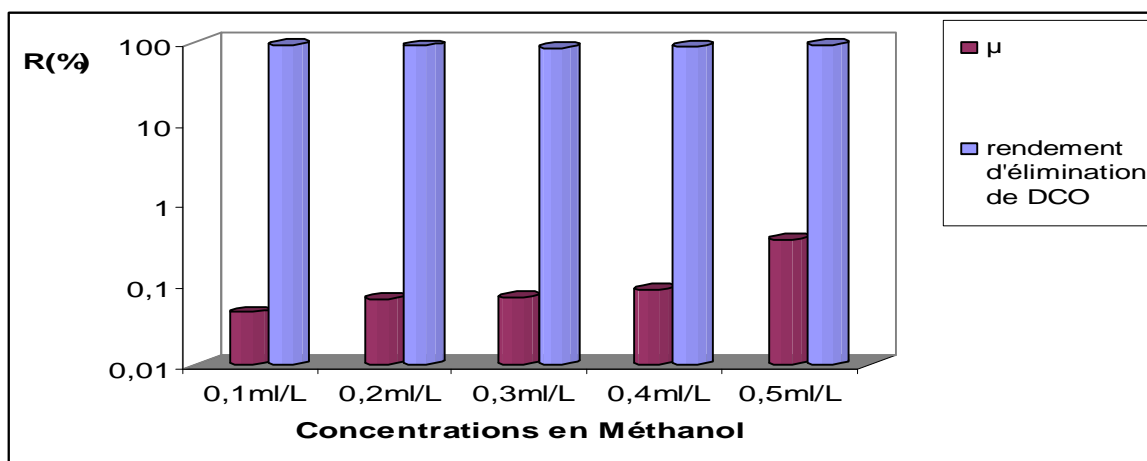


Figure n°15 : Variation de taux de croissance (μ) et le rendement d'élimination de la DCO en fonction des concentrations initiales de méthanol.

Nous constatons à partir de ces illustrations que l'augmentation de la concentration initiale de méthanol de 0.1 à 0.5m/l induit un meilleur rendement de conversion de ce dernier en biomasse au même temps que la réduction des nitrates ainsi que l'élévation significative du taux de rendement de l'élimination de la DCO. (Voir figures 17, 18 et 19).

- **Détermination des constantes cinétiques K_s et μ_{\max} :**

La représentation graphique de l'inverse du taux croissance ($1/\mu$) en fonction de l'inverse de la concentration ($1/S$) du méthanol permet la détermination de K_s et μ_{\max} :

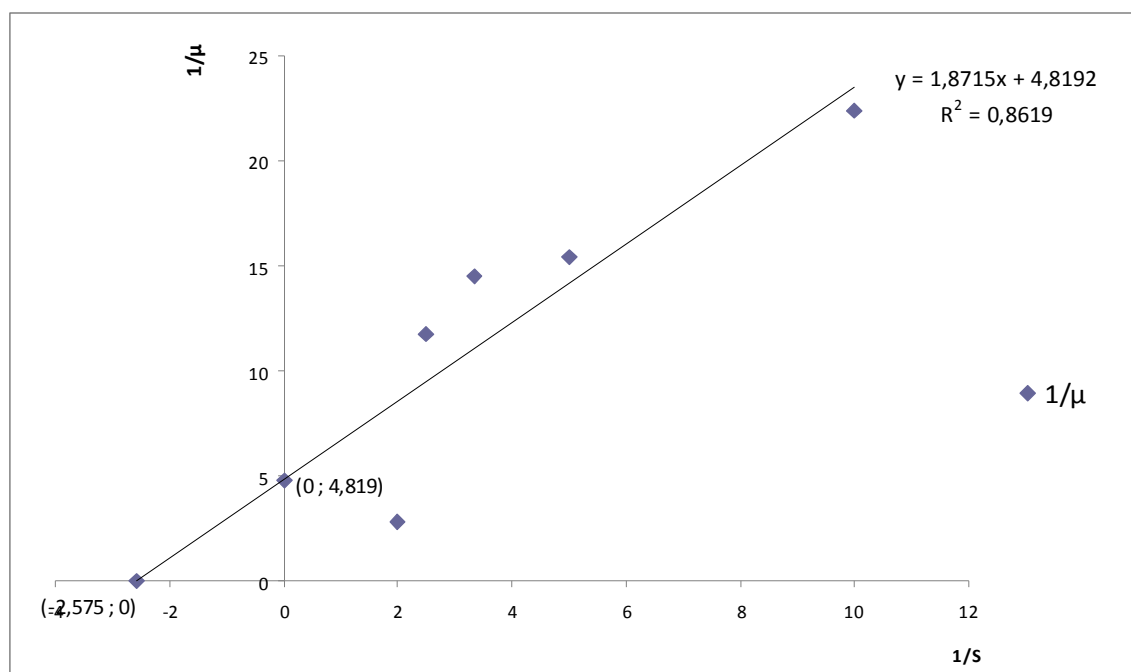


Figure n°16 : Les constantes cinétiques déterminées par l'application du *modèle Monod*

D'après la figure n°16, nous avons pu calculer le K_s et μ_{\max} :

A partir du graphe nous avons :

$$\mu_{\max} = 0,207 \text{ /h}$$

$$K_s = 0.388 \text{ ml/l}$$

Et l'équation de Monod devient :

$$\mu = 0.207 * S / (0.388 + S)$$

Nous savons que K_s est la concentration pour laquelle le taux de croissance prend la moitié de sa valeur maximale.

Durant l'incubation, La réaction de dénitrification étant consommatrice d'ions H^+ , le pH a tendance à remonter (légère basicité).

III. Influence du rapport C/N :

Pour évaluer l'influence du rapport C/N, nous avons fait varier le rapport (Substrat_{entré}/Nitrate_{entrée}) : la quantité du carbone est ajustée en fonction de celle de nitrate ($N-NO_3^- = 200\text{mg/l}$) selon le Tableau 5.

Tableau 5 : Les concentrations équivalentes des différentes valeurs du rapport C/N.

C/N : (g/g)	Méthanol (ml/l)
1.75	0.1
3.50	0.2
5.25	0.3
7.00	0.4
8.75	0.5

Les résultats sont représentés sur la figure n°17 suivante :

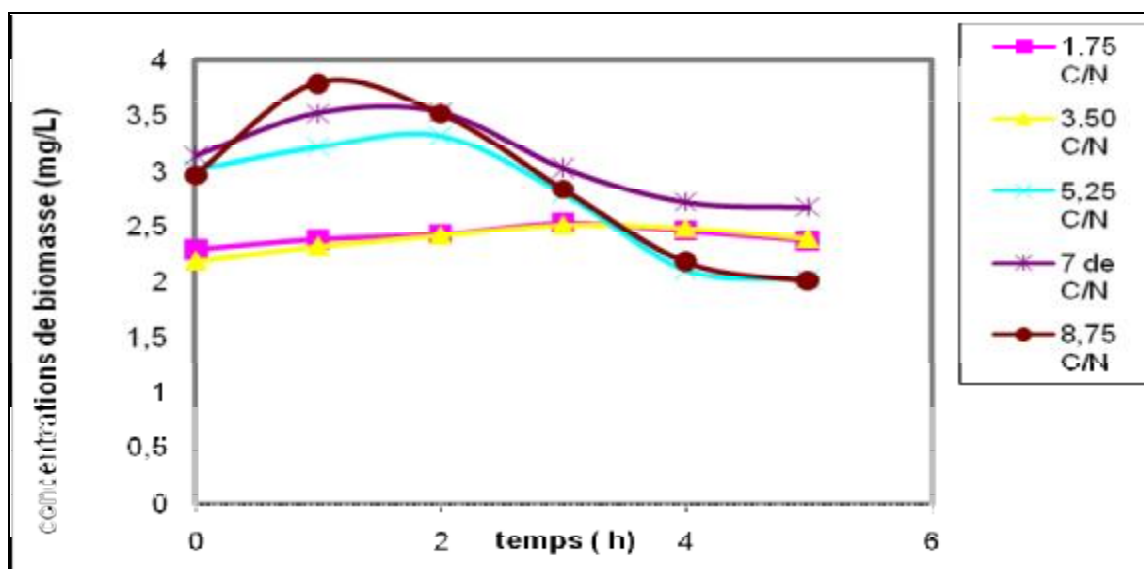


Figure n°17 : Influence du rapport C/N sur la croissance bactérienne.

La figure n°17 montre que le rapport C/N influe positivement sur la cinétique de croissance bactérienne, c'est-à-dire plus le rapport est élevé plus la production de la biomasse est grande.

Nous concluons qu'un rapport pondérale C/N de 8.75 est optimal pour réaliser une meilleure dénitrification avec un rendement de 98,60% comme le montre la figure n°18 suivante :

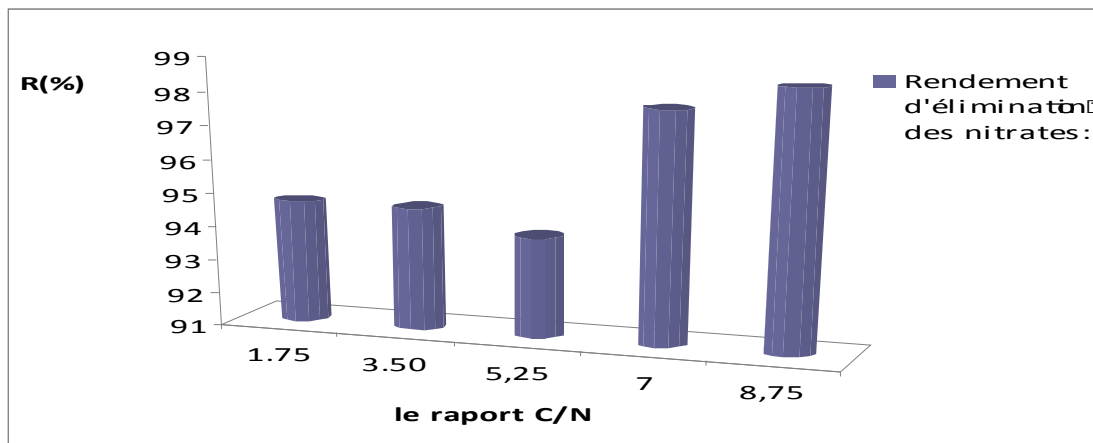


Figure n°18 : Rendement de dénitrification en fonction du rapport C/N.

IV. Influence de la concentration initiale du phosphore :

Dans ce cas nous avons fait la variation de la concentration du phosphore de (1, 2, 3, 4, 5 mg/l), en gardant les autres paramètres fixes (avec 0.5ml/l du méthanol, 200mg/l de nitrates) maintenues à température ambiante de 25°C. Les résultats sont représentés sur la figure n°19 :

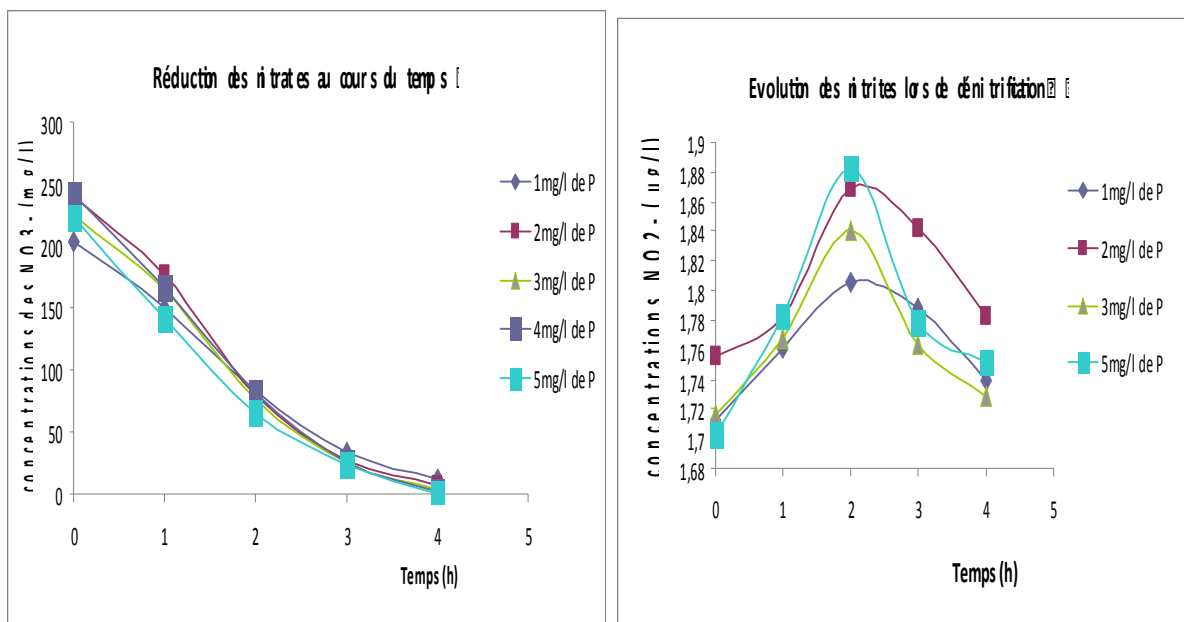


Figure n°19 : Cinétique de dénitrification à différentes concentrations du phosphore.

Nous remarquons aussi que l'élimination des nitrates en présence de concentrations initiales variables du phosphore augmente de façon proportionnelle avec celle-ci.

Pour mieux exploiter et maîtriser les courbes de croissance et celles de réduction des nitrates nous avons calculé les paramètres de croissance et le rendement d'éliminations des nitrates comme le montre le tableau 6 suivant :

Tableau 6 : Les paramètres d'évaluation de la croissance bactérienne et le rendement d'élimination des nitrates à différents concentrations initiales du phosphore.

Concentration du phosphore (mg/L) :	Equation de la phase exponentielle de la courbe de croissance :	μ max (1/h) :	Rendement d'élimination des nitrates : R (%)
1	$Y = 0.026X + 0.538$	0,037	66,86
2	$Y = 0.031X + 0.557$	0,044	72,59
3	$Y = 0.034X + 0.538$	0,049	85,15
4	$Y = 0.046X + 0.509$	0,051	95,2
5	$Y = 0.05X + 0.531$	0,072	98,29

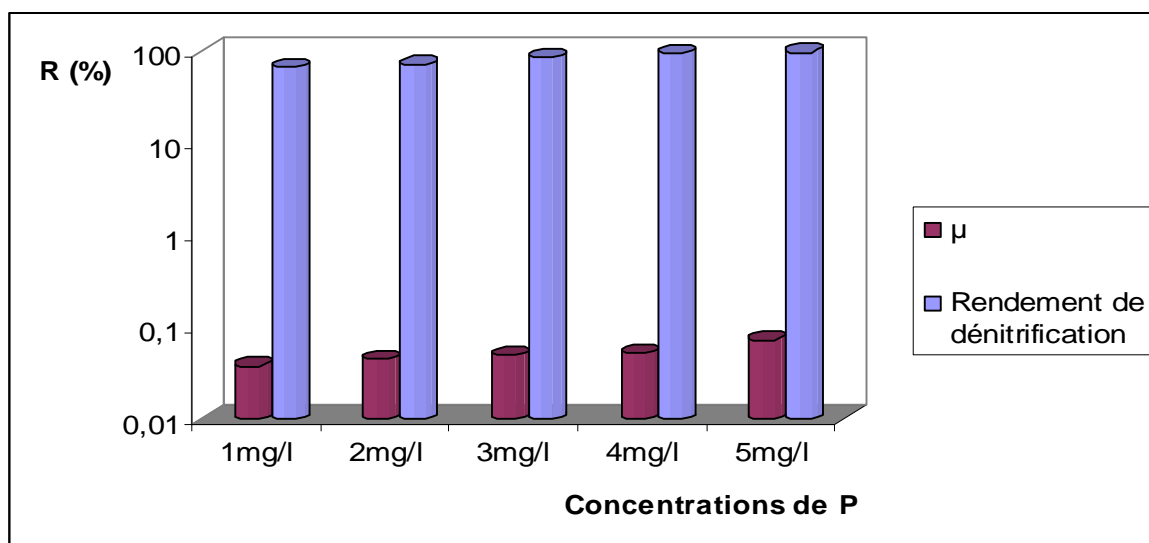


Figure n°20 : Influence de la concentration initiale du phosphore sur le taux de croissance (μ) et le rendement de dénitrification.

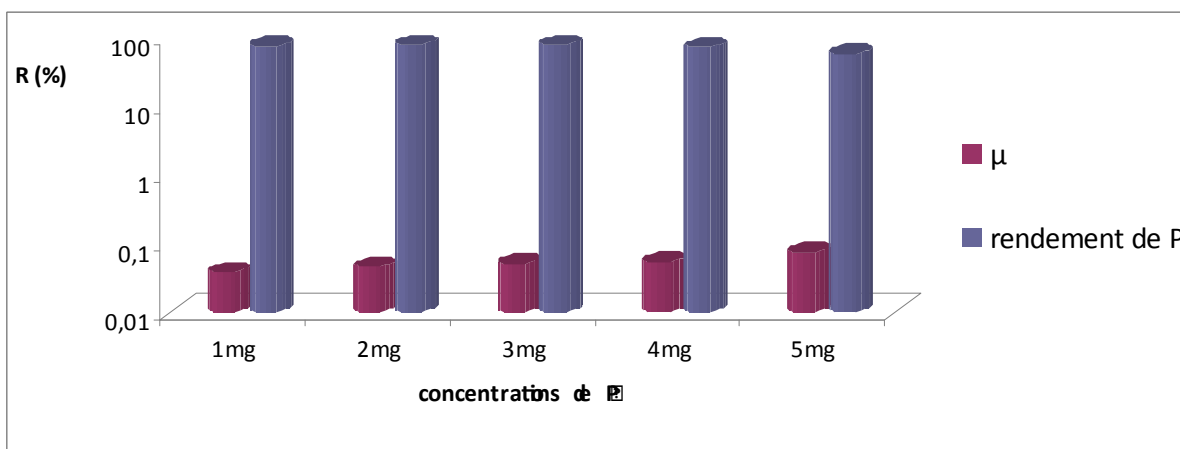


Figure n°21 : Variation de taux de croissance (μ) et de consommation du phosphore à différentes concentrations initiales de celui-ci.

D'après les données précédentes (tableau 6, figure n°20 et 21), nous pouvons constater que la vitesse de dénitrification peut être optimale à des fortes concentrations initiales en phosphore (4 à 5 mg/l de p). Ainsi le rendement de consommation du phosphore favorise la croissance bactérienne dans le réacteur au même temps que la dénitrification avec un meilleur rendement de 98% environ.

- **Détermination des constantes cinétiques K_s et μ_{\max} :**

La représentation de l'inverse du taux croissance ($1/\mu$) en fonction de l'inverse de la concentration ($1/S$) du phosphore permet la détermination de K_s et μ_{\max} :

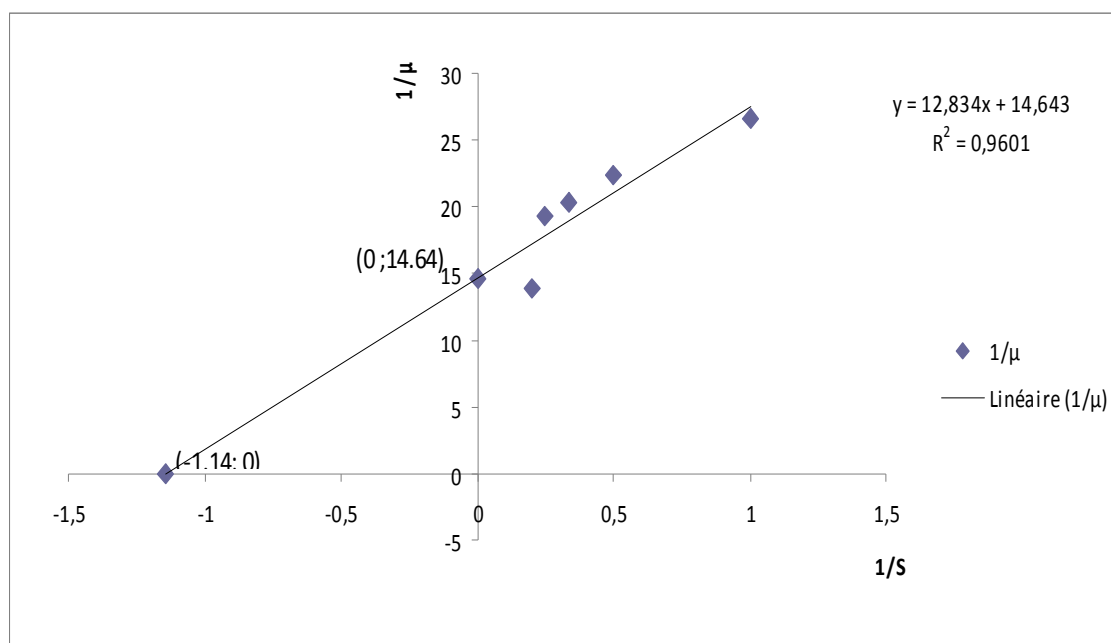


Figure n°22 : Les constantes cinétiques déterminées par l'application du *modèle Monod*.

D'après la figure n°22, nous avons pu calculer le K_s et μ_{\max} :

A partir du graphe nous avons :

$$\mu_{\max} = 0.068 /h$$

$$K_s = 0.877 \text{ mg/l}$$

Et l'équation de Monod devient :

$$\mu = 0.068 * S / (0.877 + S)$$

V. Influence de la concentration des nitrates :

Afin de déterminer l'effet de l'accepteur d'électrons sur la croissance bactérienne et la vitesse de la réaction de dénitrification, les bactéries ont été inoculées et cultivées dans des milieux de cultures contenant différentes concentrations initiales en $N-NO_3^-$ de 50, 100, 150, 200, et 250 mg/l. Les résultats obtenus sont représentés sur les figures n°23, 24 et 25 :

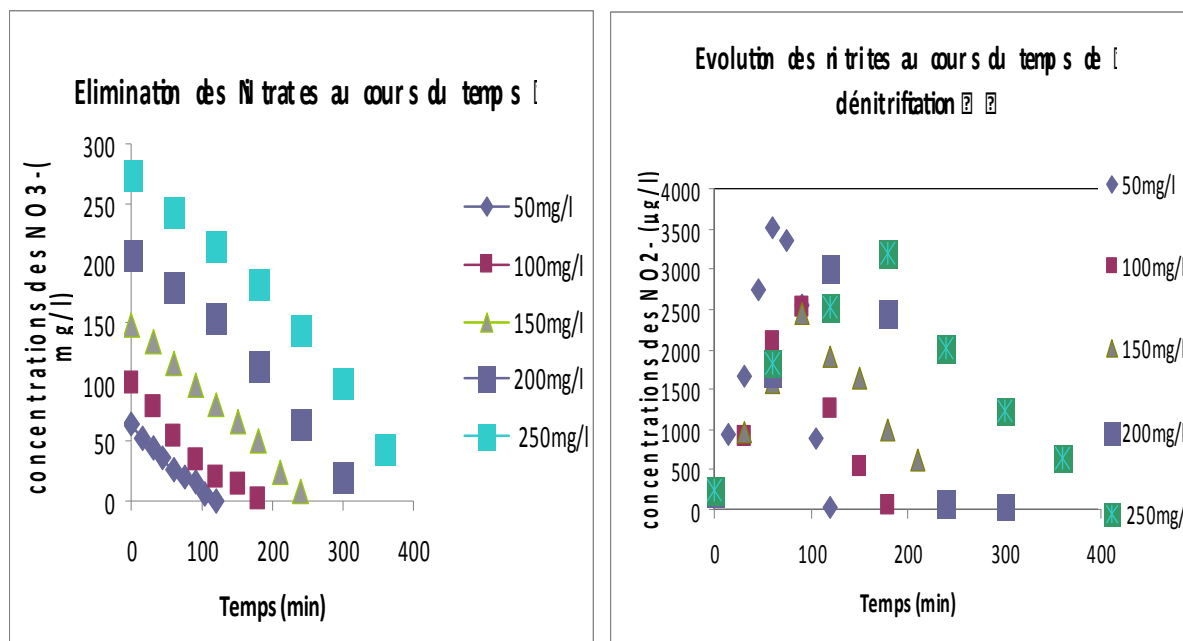


Figure n°23 : Influence de concentrations initiales des nitrates sur la cinétique de dénitrification.

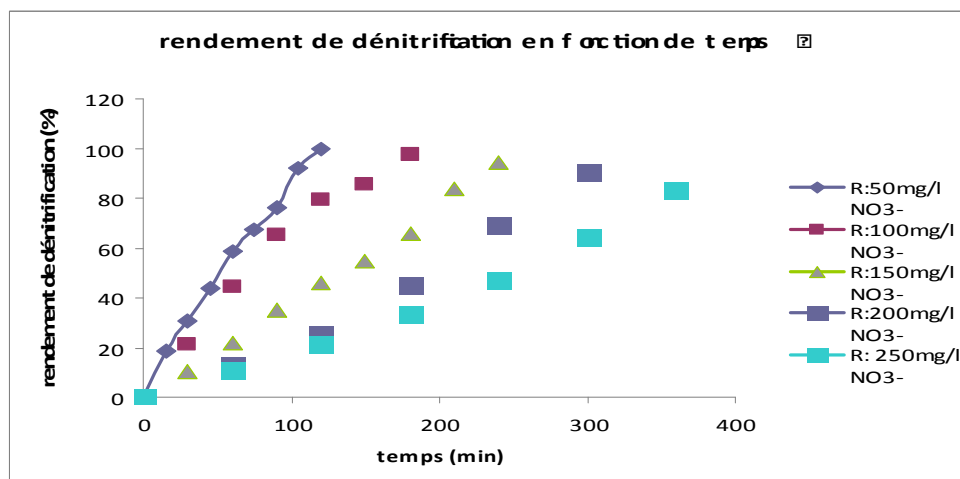


Figure n°24 : Influence des concentrations initiales des nitrates sur le rendement de la dénitrification.

La figure n°23 montre le suivi de l'évolution de la concentration des nitrates en fonction du temps, ainsi pour les différentes concentrations testées, nous avons remarqué une lente

cinétique de dénitrification correspondant à des fortes concentrations de nitrates (200, 250mg/l) et une cinétique rapide pour des faibles concentrations (50, 100, et 150mg/l).

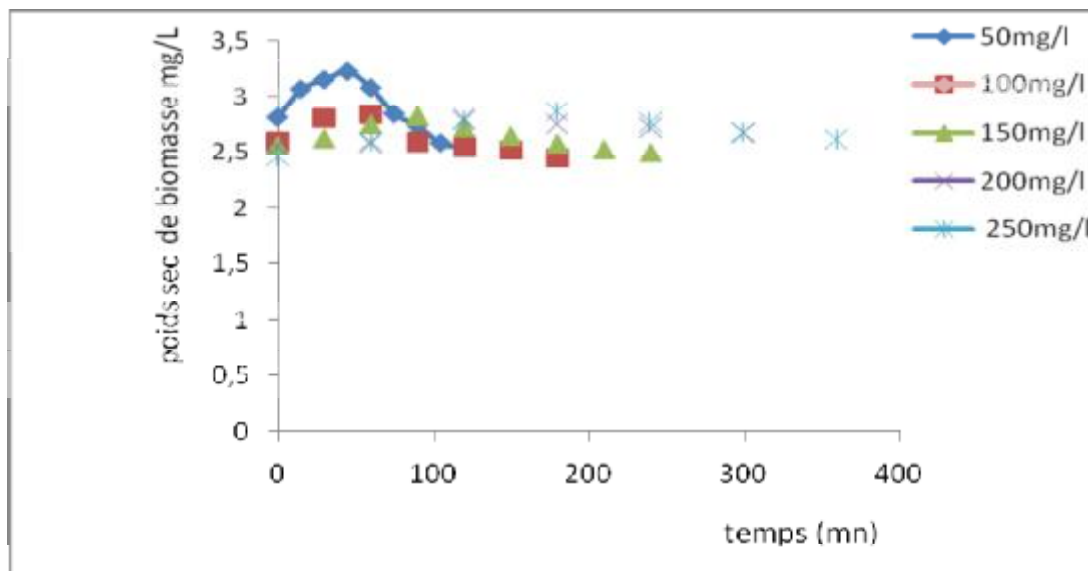


Figure n°25 : Influence de la concentration initiale des nitrates sur la croissance bactérienne.

La figure n°25 précédente, nous permet de mettre en évidence avec toutes les concentrations initiales testées des nitrates, que la croissance bactérienne évolue dans des étapes similaires, avec une augmentation considérable de taux de croissance à des forte concentrations en nitrates.

VI. Influence de la température sur l'élimination des nitrates :

Dans ce cas on a varié la température de (20, 25, 30, 35, 40°C) en gardant les autres paramètres fixes comme le montre le tableau7 suivant :

Tableau 7 : Conditions opératoires en cas de variations de température.

Différents réacteurs	Température en (°C) :	Composition du milieu :
1	20	200mg/l de nitrates + 10mg/l du phosphore + 0.5ml/L de méthanol
2	25	
3	30	
4	35	
5	40	

Les résultats sont représentés sur la figure n°25 :

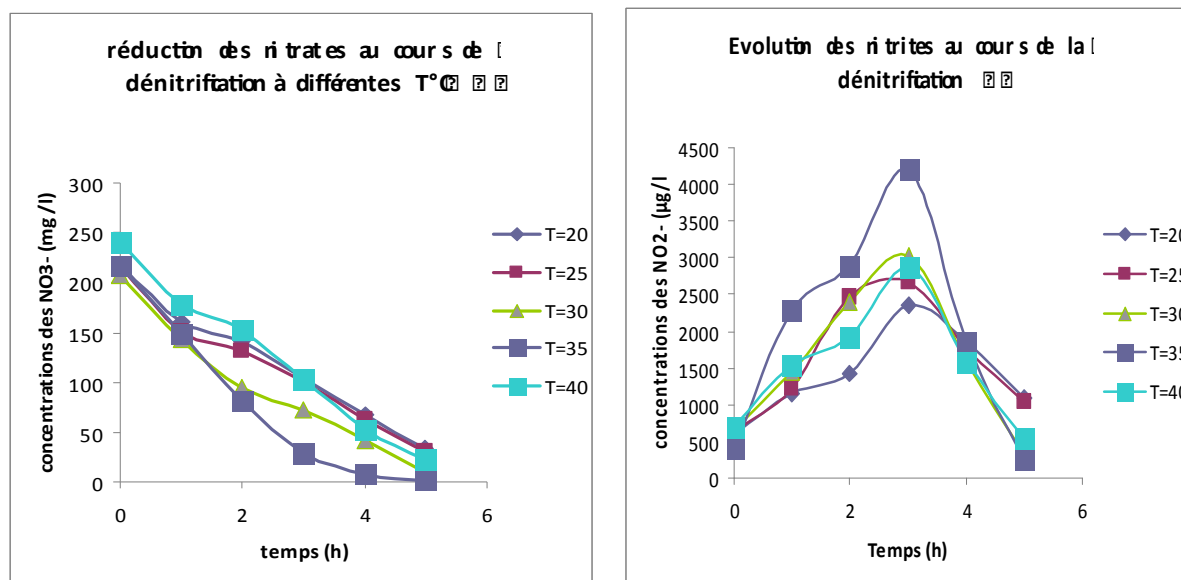


Figure n°26 : influence de la température sur la cinétique de dénitrification.

Pour mieux exploiter et maîtriser les courbes de croissance et celles de réduction des nitrates nous avons calculé les paramètres de croissance et le rendement d'éliminations des nitrates comme le montre le tableau 8 suivant :

Tableau 8 : Influence de la Température sur la cinétique bactérienne et le rendement d'élimination des nitrates :

Température (° C)	Equation de la phase exponentielle de la courbe de croissance :	μ max (1/h) :	Rendement d'élimination des nitrates : R (%)
20	$Y = 0.042X + 0.329$	0,060	84,71
25	$Y = 0.065X + 0.310$	0,093	85,73
30	$Y = 0.043X + 0.358$	0,062	95,41
35	$Y = 0.04X + 0.502$	0,057	99,44
40	$Y = 0.048X + 0.499$	0,069	90,96

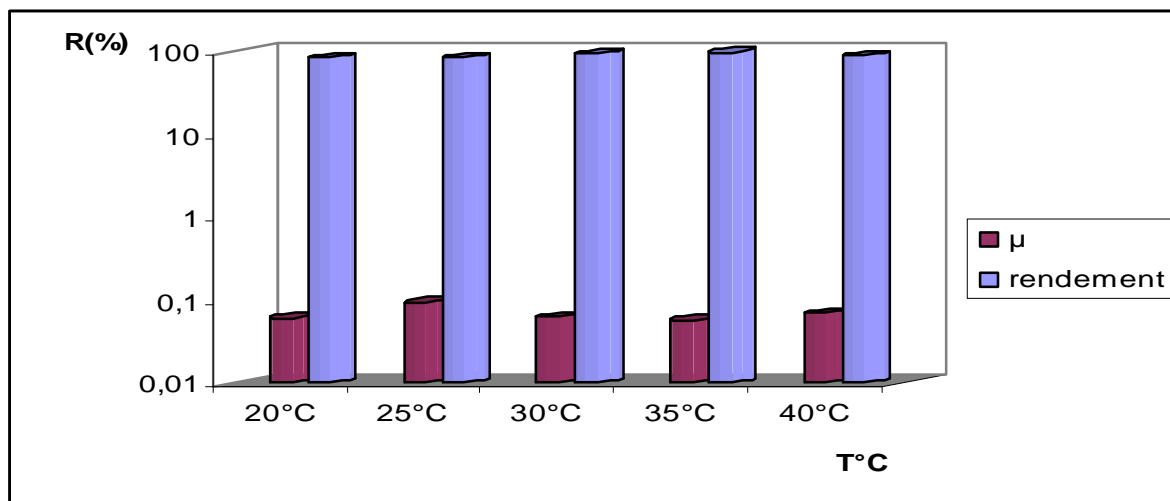


Figure n°27 : Influence de la température (T) sur le taux de croissance (μ) de bactérie et le rendement d'élimination des nitrates (R).

D'après les résultats expérimentaux représentés ci-dessus (Tableau 8 et figure n°27), nous pouvons déduire que la température optimale pour la croissance de ces bactéries se situe autour de 25°C. Ce résultat concorde avec les données théoriques concernant l'activité des bactéries dénitrifiantes ou leur température optimale de croissance est comprise entre 25 à 40°C. Toutefois, le rendement maximal d'élimination des nitrates est observé à la température (35°C), il est à 99.44%.

VII. Influence de pH sur la cinétique de dénitrification bactérienne :

Dans cette partie nous avons fait la variation du pH du milieu réactionnel de (4, 5, 7, 8, 9) en gardant les autres paramètres fixes comme le montre le tableau suivant :

Tableau 9 : Conditions opératoires en cas de variations de pH.

Différents réacteurs	Variation du pH :	Composition du milieu :
1	4	200mg/l de nitrates + 10mg/l du phosphore + 0.5ml/L de méthanol
2	5	
3	7	
4	8	
5	9	

Les résultats sont représentés sur la figure n°27 suivante :

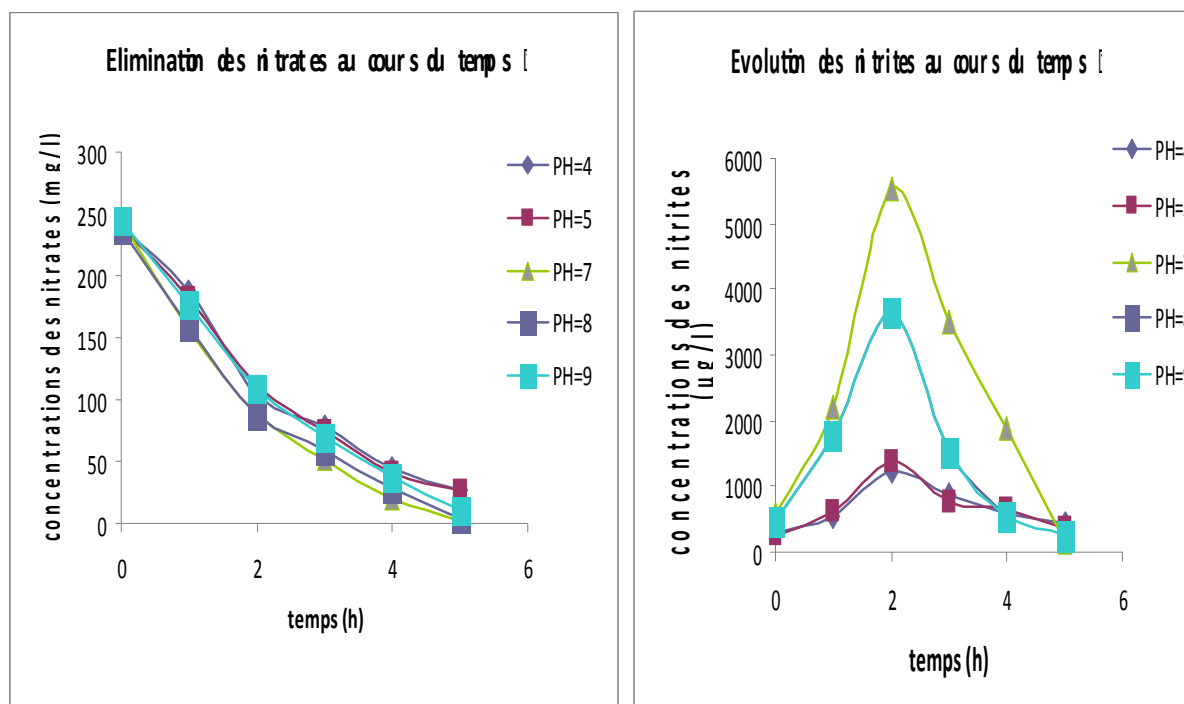


Figure n° 28 : Influence de pH sur la cinétique de dénitrification.

Pour mieux exploiter et comprendre les courbes de croissance et celles de réduction des nitrates nous avons calculé les paramètres de croissance et le rendement d'éliminations des nitrates comme le montre le tableau 10 suivant :

Tableau 10 : Influence de la variation du pH sur la cinétique bactérienne et le rendement d'élimination des nitrates :

pH	Equation de la phase exponentielle de la courbe de croissance :	μ max (1/h) :	Rendement d'élimination des nitrates : R (%)
4	$Y = 0.029X + 0.529$	0,041	86,35
5	$Y = 0.053X + 0.486$	0,076	88,98
7	$Y = 0.058X + 0.642$	0,083	98,93
8	$Y = 0.056X + 0.320$	0,080	98,14
9	$Y = 0.055X + 0.724$	0,079	95,26

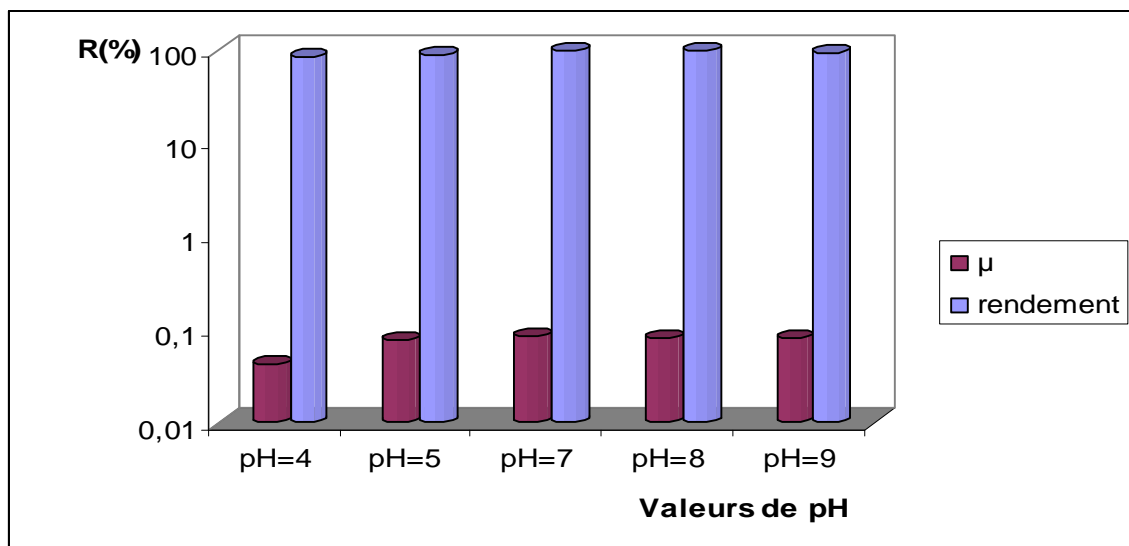


Figure n°29 : Le rôle du pH sur le rendement de dénitrification et le taux de croissances (μ).

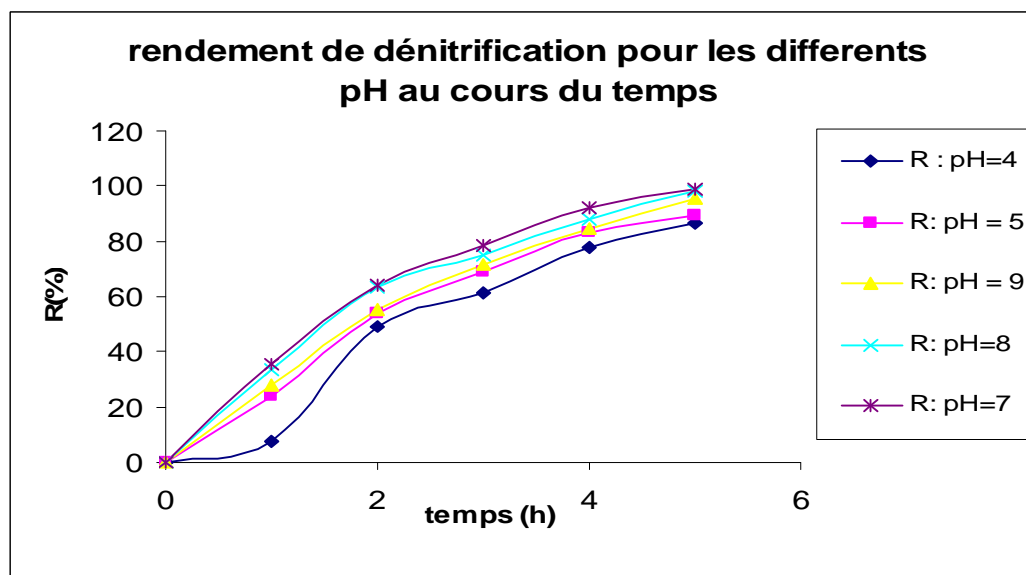


Figure n°30 : Le rendement de dénitrification pour les différents pH.

D'après les résultats expérimentaux représentés ci-dessus (Tableau 10, figure n°29, et n°30), nous pouvons déduire que le pH optimal pour la croissance bactérienne est compris entre 7 et 9, ce qui correspond à un bon rendement de dénitrification de 98%. Ce résultat concorde avec les données théoriques et selon Knowles (1982) la dénitrification peut se produire dans une large gamme de pH comprise entre 4 et 9 mais serait optimale pour des pH compris entre 7 et 8,5 (Bremmer et Shaw, 1958).

Conclusion

Conclusion générale :

Les nitrates sont des nutriments pour les végétaux. L'utilisation d'engrais azotés (élément constitutif des nitrates) inadaptée aux conditions locales et l'exploitation inappropriée des sols provoquent des concentrations excessives de nitrates dans les eaux.

La pollution des eaux par les nitrates présente un double risque. Ingérés en trop grande quantité, les nitrates ont des effets toxiques sur la santé humaine. Par ailleurs, ils contribuent avec les phosphates à modifier l'équilibre biologique des milieux aquatiques en provoquant des phénomènes d'eutrophisation.

Les méthodes biologiques de biodégradation ont donné leurs preuves pour palier à la pollution des milieux naturels et spécifiquement les eaux résiduaires issues des industries.

Le challenge que notre travail a porté est d'étudier les possibilités d'élimination des nitrates dans les eaux à l'aide d'un processus biologique simple et efficace « la dénitrification en batch », basé sur l'utilisation d'une culture de boues activées et bien entendu d'une source de carbone et d'énergie.

Dans notre étude nous avons pu réaliser le suivi des cinétiques de croissance des bactéries et de la dénitrification. Nous avons également étudié l'influence de quelques paramètres physico-chimiques qui peuvent avoir un effet accélérateur ou inhibiteur sur la réaction de dénitrification.

Les expériences réalisées ont prouvé que :

- Lors de la variation de concentrations initiales de méthanol (source de carbone), on aboutit à des cinétiques de croissance et de dénitrification proportionnelle à celle-ci, avec un taux de croissance maximal $\mu_{\max} = 0,207$ /h et une constante d'affinité au substrat

$K_s = 0.388 \text{ mg/l}$.

- L'augmentation de la concentration initiale du phosphore nous a donné un taux de croissance et un rendement de dénitrification importants avec $\mu_{\max} = 0.068 \text{ /h}$ et $K_s = 0.877 \text{ mg/l}$.

- L'augmentation de la concentration initiale des nitrates fait ralentir la cinétique de dénitrification.

- Nos résultats de variation de température nous a permis de constater que la température optimale pour la croissance bactérienne se situe autour de 25°C , et le rendement d'élimination des nitrates est maximal à la température de 35°C , ce qui correspond à un très bon rendement de dénitrification de 99.44%.

- A partir des variations du pH des milieux de dénitrification, on ne déduit que la plage optimale d'activité bactérienne dénitrifiante est de 7 à 9, avec un rendement de 98% environ.

Cette étude nous a montré que des études complémentaires s'avèrent nécessaires pour mieux comprendre certains résultats qui nous permettent d'optimiser les conditions de dénitrification afin de faciliter cette technique de traitement sur le site industriel.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

A

- § **Adam, J. W. H. (1980)** Health aspects of nitrate in drinking-water and possible means of denitrification. Water SA.
- § **Alexander, M, Marshall, K. C. et Hirsch, P. (1960)** Autotrophy and heterotrophy in nitrification. In Trans. Int. Congr. Soil. Sci., 7th. Madison, Wisconsin.
- § **Assaad, E., A. Azzouz, D. Nistor, A. V. Ursu, T. Sajin, D. N. Miron, F. Monette, P. Niquette et R. Hausler. 2007.** « Metal removal through synergic coagulation-flocculation using an optimized chitosan-montmorillonite system ». Applied Clay Science, vol. 37.
- § **Azzouz, A (2009).** Interactions chitosane–particules colloïdales, Synergie avec les argiles. In Chitine et chitosane : du biopolymère à l'application, chapitre 12, sous la dir. de Crini, G., P.-M. Badot et É. Guibal. Besançon [France]: Presses universitaires de Franche-Comté.

B

- § **Bachagha-TALHI (2010).** Optimisation de la réduction des nitrates par voie électrochimique, mémoire de maîtrise en génie de l'environnement de l'université du Québec.
- § **BANAS Damien et Jean-Christophe LATA, (2007).** Université Paris-Sud ; Laboratoire d'Ecologie, Systématique et Evolution ; UMR 8079 –CNRS/ENGREF/Univ. Paris-Sud ; Bât 362 ; F-91405 Orsay Cedex France :
<http://sylvie.tarantino.pagesperso-orange.fr/LB%20polluant%20habitat/NitrateLB.pdf>
- § **Barroin, G (1985).** La dénitrification en milieu lentisque. Revue Française des Sciences de l'Eau.
- § **Betlach, M. R. et Tiedje, J. M. (1981).** Kinetic explanation for accumulation of nitrite, nitric oxide and nitrous oxide during bacterial denitrification. Applied and Environmental Microbiology.
- § **Bliefert, C et al. (2001).** Chimie de l'environnement (air, eau, sols et déchets). Edition: Boeck & larciel.
- § **Bougard, D. (2004).** Traitement biologique d'effluents azotes avec arrêt de la nitrification au stade nitrite. Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier.

- § **Bougherara, H, (2006)**. La biodégradation par culture mixte en réacteur batch. Thèse de Magister en chimie analytique et physique, option : Chimie de l'environnement ; Université Mentouri constantine.
- § **Boussaid, F (1987)**. Etude de la dénitrification biologique in situ à l'aide de substrats cellulosiques. Thèse de Doctorat, Rennes I.
- § **Bremmer, J. M. et Shaw, K. (1958)**. Denitrification: I Methods of investigation. Journal of Agricultural Science.
- § **Burton, C., V. Jaouen et J. Martinez. (2006)**. Traitement des effluents d'élevage des petites et moyennes exploitations: Guide technique à l'usage des concepteurs, bureaux d'études et exploitants. Editions Quae.

C

- § **Cardot, C (1999)**. Génie de l'environnement, Les traitements de l'eau. Edition : Ellipses.
- § **Casellas, M., Dagot, C. et Baudi, M (2002)**. Stratégie d'élimination de l'azote d'un effluent urbain dans un réacteur discontinu séquentiel (SBR). Revue des sciences de l'eau.
- § **Charles-Bajard, S (1996)**. Modélisation à visée prévisionnelle de la cinétique de croissance d'une population de *Listeria monocytogènes*. Thèse de doctorat en Génétique et Biologie des Populations. Laboratoire de Biométrie. Université Claude Bernard LYONI.
- § **Charpiat D., Larpet J.P (1988)**. Biologie des eaux méthodes et techniques. Ed. MASSON.
- § **Cheremisinoff, N, P. (1996)**. Biotechnology for waste and wastewater treatment. New Jerzey, USA: Noyes Publications.
- § **Conchou, O., Powell, B., Pinay, G. et Fustec. E (1986)**. Contribution des mesures du potentiel d'oxydoréduction et du flux d'oxygène à la caractérisation des zones alluviales et de leur fonctionnement. Revue Française des Sciences de l'Eau.
- § **Cornu, M. (2000)**. Dynamique des populations bactériennes en cultures mixtes. Thèse présentée devant l'Université Claude Bernard-Lyon I.
- § **Curie Florence (2006)**. Retention de nitrates dans les zones humides riveraines : Rôle des facteurs hydrologiques, géomorphologiques et biogéochimiques. Approche multi échelle dans le bassin de la Seine. Thèse de doctorat, spécialité : Sciences de l'eau de l'université Paris VI.

D

- § **Davidsson, T. E. et Leonardson, L. G. (1996).** Effects of nitrate and organic carbon additions on denitrification in two artificially flooded soils. *Ecological Engineering*. 7(2): 139-149.
- § **Debrieu Céline. (1999).** Elimination des nitrates des eaux potables. Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et des affaires rurales, version N°1.
- § **Derradji. F, Bousnoub. H, Kherici. N, Romeo. M, Caruba. R, (2007) ;** Impact de la pollution organique sur la qualité des eaux superficielles dans le Nord-est algérien Département de géologie ; Université Badji Mokhtar.
- § **Desjardins, R. (1997).** Le traitement des eaux: 2e édition revue et améliorée. Éditions de L'École polytechnique de Montréal.
- § **Dupin, S. (1992).** Dénitrification biologique hétérotrophe appliqué au traitement des eaux d'alimentation : conditions et fonctionnement et mise au point d'un procédé. Thèse de doctorat de Microbiologie de l'Université de Claude Bernard, Lyon I.

E

- § Elimination des nitrates pour la production d'eau potable, Memo tec n°7 révision : 01/01/2006 : <http://www.dynavive.eu/DocuPDF/EliminationNitrates.pdf>.
- § **Egboka, B. C. E. (1984)** Nitrate contamination of shallow ground waters in Ontario, Canada. *Sci. Total Environ*, 35: 53.
- § **Engler, R. M. et Patrick, W. H. (1974).** Nitrate removal from floodwater overlying flooded soils and sediments. *Journal of Environmental Quality*. 3(4): 409-413.

F

- § Fiche Technique sur le traitement de l'eau potable n°2, le traitement des nitrates <http://eau.seine-et-marne.fr/library/92b41ad5-ffeb-4c3f-bd02-60c4c5912f7e-Fiche-Technique---Nitrates.pdf>.(11).
- § **Firestone, M. Firestone. R et Tiedje. J (1979)** Nitric oxide as an intermediate in denitrification: evidence from nitrogen-13 isotope exchange. *Biochemical and Biophysical research Communications*.
- § **Focht, D. D. (1974).** The effect of temperature, pH and aeration on the production of nitrous oxide and gaseous nitrogen: a zero order kinetic model. *Soil Science*. 118: 173-179.
- § **Focht, D. D. et Chang, A. C. (1975).** Nitrification and denitrification processes related to waste water treatment. *Advanced Applied Microbiology*. 19: 153-186.

§ **Foglar. L, Briski. F. (2003):** Wastewater denitrification process-the influence of methanol and kinetic analysis. Process Biochemistry.

G

§ **GAID, A. (1984)** Epuration biologique des eaux usées urbaines (volume I) OPU édition. Alger.

§ **GAID K., MARTIN G., MOREAUD H.,** Dénitrification autotrophique sur un mélange soufre-carbonates. TSM-L'eau, Janvier (1980).

§ **Gamble TN, Beltach R, Tiedje JM (1977)** Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. Applied and environmental microbiology.

§ **Garçia JL. (1978) :** Etude de la dénitrification dans les sols de rizière du Sénégal. Cah. O.R.S.T.O.M., sér.Biol.

§ **Gardner, W. S., Nalepa, F. N. et Malczyk, J. M. (1987).** Nitrogen mineralization and denitrification in Lake Michigan sediments. Limnology and Oceanography. 32(6): 1226-1238.

§ **GLASS C., SILVERSTEIN J. (1998):** Denitrification kinetics of high nitrate concentration water: pH effect on inhibition and nitrite accumulation. Water research.

§ **Gouy J.L (1983).** Contribution à la connaissance des ferrobactéries et de leur rôle dans l'environnement. Application à l'aménagement, Thèse Doct. 3^o Cycle, Toulouse, France.

§ **Gouy J.L, Berge P, Labroue L. (1984) :** Gallionella ferruginea, Facteur de dénitrification dans les eaux pauvres en matières organiques, C. R. Acad. Sci. Paris.

§ Groupe scientifique sur l'eau Institut national de santé publique du Québec
Fiche Nitrates/Nitrites, Juillet 2003 :

<http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/198-CartableEau/Nitrates.pdf>.

§ **Gounot, A. M. (1991).** Ecologie microbienne dans les eaux et sédiments souterrains. Hydrogéologie. 3: 239-248.

§ **Groffman, P. M., Axelrod, E. A., Lemunyon, J. L. et Sullival, W. M. (1991).** Denitrification in grass and forest vegetated filter strips. Journal of Environmental Quality. 20(3): 671-674.

§ **Groffman, P. M., Howard, G., Gold, A. J et Nelson, W. M. (1996).** Microbial nitrate processing in shallow groundwater in a riparian forest. Journal of Environmental Quality. 25(6): 1309-1316.

H

- § **Haider N, Morvan J, Martin G. (1988).** dénitrification en sous-sol, rôle des sulfures et des sels ferreux, water supply, 6, Bruxelles.
- § **Heathwaite, A. L. (1993).** Nitrogen cycling in surface waters and lakes. In T. P. Burt, A. L. Heathwaite et S. T. Trudgill (Eds.). Nitrate: Processes, patterns and management. Wiley J. & sons, Chichester, England, 99-140.
- § **Hénin, S. (1981)** Le cycle d'azote, les problèmes de fertilisation et de pollution. C.R. des séances de l'Acad. D'Agr. De France.
- § **Hénault, C. et Germon, J.-C. (1995).** Quantification de la dénitrification et des émissions de protoxyde d'azote (N₂O) par les sols. Agronomie. 15: 321-355.
- § **HISCOCK K., LLOYD J., LERNER. D (1991).** Review of natural and artificial denitrification of ground water. Water Research.

I

- § **IDRISSI Laila (2006),** Nitrates et nitrites Polluants qui menacent la santé et l'environnement, laboratoire des Analyses Chimiques et Biocapteurs, Faculté des Sciences et Techniques de Mohammedia ; LES TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE.
<http://www.technolabo.ma/TL1-2.pdf>.
- § **Isaacs SH, Henze M, Soeberg H, Kummel M (1994).** External carbon source addition as a means to control an activated sludge nutrient removal process. Water Research.

J

- § **Jacques Capblancq et al. (2002).** Eutrophisation des eaux continentales.
- § **Jean-Marie Rovel, Pierre Mouchet et Laurent Andriamirado, (2005) :** Mémento technique de l'eau, dixième édition ; Degrémont, Lavoisier SAS, tome I.
- § **Jorddan T. E. and Weller D. E. (1996):** Human contribution to terrestrial nitrogen flux: assessing the sources and fates of anthropogenic fixed nitrogen, Bioscience, n° 46.

K

- § **Kargi. F., Dinçer. R (2000):** Kinetics of sequential nitrification and denitrification processes. Enzyme and Microbial Technology 27.
- § **Knowles, R. (1982)** Denitrification. Microbiological reviews.
- § **Koparal, A. Savas, et Ülker Bakir Ögütveren. (2002).** «Removal of nitrate from water by electroreduction and electrocoagulation». Journal of Hazardous Materials, vol. 89, no1.

- § **Koskinen, W. C. et Keeney, D. R. (1982).** Effect of pH on the rate of gaseous products of denitrification in a silt loam soil. Soil Science Society of America journal. 46:1165-1167.
- § **Kucera, I., Dadak, V. ET Dobry, R. (1983)** the distribution of redox equivalents in the anaerobic respiratory chain of paracoccus denitrificans. European.

L

- § Les procédés membranaires pour le traitement de l'eau : Fiche Fndae n°14 : <http://www.fndae.fr/documentation/PDF/fndae14.pdf>.
- § **Letey, J., Valoras, N., Focht, D. D. et Ryden, J. C. (1981).** Nitrous oxyde production and reduction during denitrification as affected by redox potential. Soil Science Society of America journal. 45: 727-730.
- § **Lie, E. et Wellander, T. (1994)** Influence of dissolved oxygen and oxydation-reduction potential on the denitrification rate of activated sludge. Water science and technology.
- § **Lind A.M. (1977)** Nitrate reduction in the subsoil, Progr.Wat. Techn.
- § **Linberg, R. D. et Runnels, D. D. (1984).** Ground water redox reactions: an analysis of equilibrium state applied to Eh measurements and geochemical modeling. Science. 225: 925-927.
- § **L'hirondel J. et J-L. (1996)** Les nitrates et l'homme, le mythe de leur toxicité, les éditions de l'institut de l'environnement.
- § **Lobry, J. R. (1991)** Réévaluation du modèle de croissance de MONOD. Effects des antibiotiques sue l'énergie de maintenance. Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard, LYON I.
- § **Louzeiro NR, Mavinic DS, Oldham WK, Meisen A, Gardner IS. (2002),** Methanol-induced biological nutrient removal kinetics in a full-scale sequencing batch reactor. Water Research.

M

- § **MAMMERI Lamia. (2007).** Etude de la réaction de dénitrification par l'utilisation du succinate de sodium comme source de carbone, Thèse du magister en Chimie Analytique, Physique et Environnement, option Chimie de l'environnement ; université Mentouri Constantine.
- § **Mariotti. A. (1982).** Apport de la géochimie isotopique à la connaissance du cycle de l'azote. Thèse, Paris, Univ. P. et M. Curie.

- § **Martin G. (1979).** Le problème de l'azote dans les eaux. Technique et documentation.
- § **Maurel. A (2009) ;** Osmose inverse et ultrafiltration, considérations théoriques. Techniques de l'ingénieur. J 2 790.
- § **M. Djalel Eddine Mazouni (2006).** Modélisation et Commande en Temps Minimum des Réacteurs Biologiques Séquentiels Discontinus. Thèse de doctorat de l'université Claude Bernard LYON I.
- § **Ménesguen Alain (juin 2003).** Les marrées vertes en Bretagne, la responsabilité du nitrates ; direction de l'environnement et de l'aménagement littoral ;
<http://www.ifremer.fr/envlit/documentation/documents.htm>
- § **Metcalf, Eddy. (2003).** Wastewater Engineering. McGraw-Hill, New-York.
- § **Moore, P. A., Reddy, K. R, et Graetz, D. A. (1992).** Nutrient transformations in sediments as influenced by oxygen supply. Journal of Environmental Quality. 21(3): 387-393.

N

- § **Najah WEHBE (2009).** Dénitrification de l'eau potable en réacteur catalytique membranaire et photocatalytique. Thèse de doctorat en chimie, option chimie Catalytique et chimie physique délivrée par l'université de Claude Bernard LYON I.
- § **Nakajima, M., Hayamizu, T. et Nishimura, H. (1984).** Effect of oxygen concentration on the rates of denitrification and denitrification in the sediments of an eutrophic lake. Water Research. 18: 335-338.
- § **Nemeth, I. (2001).** Devenir de l'azote sous irrigation gravitaire. Application au cas d'un périmètre irrigué au Mexique. Thèse de doctorat. Université de Montpellier II Sciences et techniques du Languedoc.
- § **Nyberg U, Aspegren H, Andersson B, la Cour Jansen J, Villadsen IS. (1992).** Full-scale application of nitrogen removal with methanol as carbon source. Water Science and Technology.

O

- § **Ould Ali Hassina. (2004).** Elimination biologiques des nitrates sur un lit d'anneaux de rasching ; mémoire de fin d'étude d'ingénieur d'état en génie de l'environnement ; école nationale polytechnique d'Alger.

P

- § **Patureau, D. (1995).** Etude cinétique et physiologique d'une bactérie dénitrifiante en conditions aérobie, suivi d'un réacteur aéré, parfaitement mélangé, en culture pure et en culture mixte associée à une flore nitrifiante. Thèse de doctorat, Université de Toulouse.
- § **Paynes, W. J. (1985).** Diversity of denitrifiers and their enzymes. In H.L. Golterman (Ed.) Denitrification in the nitrogen cycle. Plenum Press, New York, 47-65.
- § **Paynes, W. J. (1981).** Denitrification. New York.

R

- § **Ratel, M.-O (2002).** Rapport sur l'élimination des nitrates des eaux potables. Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et des affaires rurales, version N°2, Document Technique FNDAE & SNIDE. www.fndae.fr/documentation/PDF/fndaehs04bis.PDF.
- § **Reddy, K. R. et D'Angelo, E. M (1994).** Soil processes regulating water quality in wetlands. In W. J. Mitsch (Ed.) Global Wetlands: Old World and New. Elsevier Science, 309-324.
- § **Rodier, J. et al, (2005).** L'analyse de l'eau «eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer». 8ème édition. Paris. Edition : Dunod. 1382p.
- § **Rittmann et Langeland W.E. (1985).** Simultaneous denitrification with nitrification in single-channel oxidation ditches. J water pollut control fed.
- § Rapport du Secrétariat d'état de l'Environnement. RADP. Etat de l'environnement en Algérie. Etabli par GTZ (Coopération Technique Allemande) pour le compte de la Banque Mondiale. Février 1999, 1-425p.
- § **RICHARD Y., Le PRINCE A. (1980)** ; L'azote dans le traitement des eaux potables le traitement biologique. TSM-L'Eau, N°4.

S

- § **S.A.Eurodia industrie,** Notice technique, Electrodialyseur Modèle EUR2-D589. EURODIA (1994).
- § **Sades Louiza (2010).** Dénitrification d'une eau chargée en nitrates par couplage de l'électrodialyse et d'un traitement biologique. Projet de fin d'étude en génie de l'environnement de l'école nationale polytechnique.
- § **Santé Canada (1992).** Le nitrate et le nitrite. Coll. «Santé de l'environnement et du milieu de travail». http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/nitrate_nitrite/index-fra.php. Et www.he-sc.gc.ca/catalogue/dpcpubs/repcoc.

- § **Schwartzbrod J et Martin G. (1985).** Les micro-organismes, agents biogéochimiques, In : Point sur l'épuration et le traitement des effluents (Martin G. Coordon.), Tec. & Doc. Lavoisier Ed., Paris, France, Vol.2-1, pp. 1-45.
- § **Schuler, M. L., Kargi F. (1992).** Bioprocess Engineering : Basic concepts.
- § **Shoun, H, Kim D.H, Uchiyama H et Sugiyama J, (1992).** Denitrification by fungi. FEMS Microbiology letters.
- § **Sigg.L et AL, (2001).** Chimie des milieux aquatique, chimie des eaux naturelles et des interfaces dans l'environnement. Edition : Dunod. 567p.
- § **Skrind, JR, Bhagat SK (1982).** Industrial wastes as carbon sources in biological denitrification. Journal of the Water Pollution Control Federation.
- § **Sutton PM, Murphy KL, Dawson RN (1975).** Low-temperature Biological denitrification of wastewater. Journal of the Water Pollution Control Federation.

T

- § **Tam NFY, Wong YS, Leung G (1992): a-** Effect of exogenous carbon sources on removal of inorganic nutrient by the nitrification-denitrification process. Water Research.
- § **Tam NFY, Wong YS, Leung G (1992): b-** Significance of external carbon sources on simultaneous removal of nutrients from wastewater. Water Science and Technology.
- § **Tiedje. J. M (1988):** Ecology of Denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In A.J.B. Zehnder (Eds.), Biology of anaerobic Microorganisms. New-York. John Weiley and sons.
- § **Trevor, J. T. (1985).** The influence of oxygen concentrations on denitrification in soils. Applied Microbiology and Biotechnology. 23: 152-155.

V

- § **Valiron.F, (1994).** Mémento du gestionnaire de l'alimentation en eau et de l'assainissement (Tome 1). Edition : Tec et Doc. Paris.
- § **Van Cleemput, O., Patrick, W. H. J. et Mc Ilhenny, R. C (1975).** Formation of chemical and biological denitrification end products in flooded soil at controlled pH and redox potential. Soil Biology and Biochemistry. 7: 329-332.
- § **Van Diest, A. (1994).** Agricultural Sustainability and Soil Nutrient Cycling, With Emphasis on Tropical Soils. International Society of Soil Science.

Y

- § **Ye. R., Averill B. et Tiedje J. (1994)** Denitrification: production and consumption of nitric oxide. *Applied and Environmental Microbiology*.
- § **Yoshimatsu. K., Sakurai, T. et Fujiwara, T. (2000)** Purification and characterization of dissimilatory nitrate reductase from a denitrifying halophilic archaeon, *Haloarcula marismortu*.

Annexes

Tableau I : Principales origines des NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ dans l'environnement (Ratel, 2002)

EAUX	Composés azotés concernés	Type de pollution	Source de pollution
Eaux, superficielles des rivières, canaux, lacs, étangs	Ammonium Ammoniac dissous Azote organique	ponctuelle	Rejets industriels et domestiques Rejets d'effluents d'élevage
	Nitrates Nitrites	Ponctuelle et diffuse	Alimentation des eaux superficielle par des nappes polluées
Eaux souterraines	NO_3^- presque uniquement	diffuse	« Fuites » des zones industrielles et habitées Activités agricoles intensives
		Macroponctuelle ou macrodiffuse	Même source que ci-dessus Rejets industriels, domestiques de l'agriculture ou des élevages

- D'origine diffuse : entraînement des nitrates provenant des engrais minéraux ou organiques non utilisé par les plantes.
- D'origine ponctuelle : rejets d'eaux usées domestiques, agricoles ou industrielles.

Le Tableau suivant : donne une liste de quelques micro-organismes réalisant une dénitrification complète ou partielle.

Tableau II : Liste de quelques micro-organismes capables de réaliser une dénitrification totale ou partielle ainsi que leurs habitats (modifié d'après Paynes, 1985). Les micro-organismes dénitrifiants des animaux ou des humains n'ont pas été mentionnés dans ce tableau suivant :

Nom de l'espèce	Réaction	Habitats
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	$\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2$ <u>Ou :</u> $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2$	Sol et plantes
<i>Agrobacterium radiobacter</i>		Eau et sédiments
<i>Aquaspirillum magnetotacticum</i>		Sol et rhizosphère
<i>Azospirillum brasilense</i>		Eau, sol, plantes et végétation en décomposition
<i>Bacillus sp</i>		Sol et eau
<i>Chromobacterium violaceum</i>		Eau douce
<i>Hyphomicrobium sp</i>		Eau, sol et plantes
<i>Janthinobacterium lividum</i>		Eau, sol et plantes
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Sol et eau
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>		Sol, eau et plantes
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		Sol et eau
<i>Pseudomonas picketti</i>		Sol et eau
<i>Pseudomonas stutzeri</i>		Sol
<i>Pseudomonas lemoingeeii</i>		Eau
<i>Rhizobium sp</i>		Marine
<i>Rhodopseudomonas sphaeroides</i>		
<i>Thiomicrospora denitrificans</i>		

<i>Aquaspirillum itersonii</i> E	$\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2\text{O}$	Eau douce
<i>Azospirillum lipoferum</i>		Sol
<i>Pseudomonas aerofaciens</i>		Sol et eau
<i>Pseudomonas chlororaphis</i>		Sol et eau
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		Sol eau et plantes
<i>Rhizobium japonicum</i>		Sol et plantes

Information sur le méthanol :

Le méthanol est un liquide incolore d'odeur agréable, miscible à l'eau en toutes proportions. Il fut découvert par Boyle en 1661. Le méthanol est également connu sous les noms d'alcool méthylique, d'hydrate de méthyle, de carbinol, d'alcool des bois ou d'esprit-de-bois. Il est utilisé dans de nombreuses synthèses chimiques et ses dérivés sont largement utilisés pour la production de produits de teinturerie, de résines, de produits pharmaceutiques et de parfums synthétiques.

Le méthanol est aussi utilisé comme combustible, pour dénaturer l'alcool éthylique, comme antigel, dans l'industrie des vernis, des colorants et de certaines matières plastiques.

Le méthanol est aussi un poison violent. Par ingestion, il provoque des atteintes hépatiques graves. De plus c'est un dépresseur du système nerveux central (comme l'éthanol) mais il s'élimine très lentement et ses effets sont cumulatifs.

Par contacts prolongés avec la peau des dermatoses peuvent survenir suite à la destruction du revêtement lipidique de la peau. Les projections sur les yeux sont irritantes (conjonctivite). Par inhalation prolongée, on obtient une ivresse avec nausées puis cyanose, œdème pulmonaire, agitation, fureur et mort! On observe également des troubles oculaires majeurs avec diminution de l'acuité visuelle, dilatation des pupilles, photophobie puis évolution vers la cécité.

Dans un domaine de traitement par voie biologique, dans lequel les processus physiques tel que la dilution et la dispersion provoquent une baisse des concentrations, la biodégradation semble être facilitée.

En outre, le méthanol est utilisé dans des programmes de développement pour la dénitrification de l'eau usée. Le procédé de dénitrification convertit des oxydes d'azote en gaz d'azote par le processus métabolique normal de certains micro-organismes. Fondamentalement, le méthanol agit en tant que source de nourriture pour les micro-organismes qui dénitrifient à leur tour efficacement l'eau usée. De récentes études scientifiques ont prouvé que le méthanol se prêle bon comme agent idéal de croissance bactérienne pour ce processus.

Tableau III : les caractéristiques physico-chimiques du MeOH

Source de carbone	MeOH
Formule chimique	CH ₃ OH
État physique	Liquide fluide
Poids moléculaire	32 g.mol ⁻¹
Densité	0.791 g.cm ⁻³ à 20°C
Point d'ébullition	64.5°C
Point de fusion	- 97.8°C
Concentration de saturation	166 g.m ⁻³
Pression de vapeur	128 mbar à 20°C
Mobilité	COV : 100 %

TECHNIQUE ANALYTIQUE

I. DOSAGE DES NITRATES : Méthode au réactif SULFOPHENIQUE (Norme AFNOR NF 90 012).

Le dosage des nitrates se fait par colorimétrie dans le visible.

Réactifs :

- Acide sulfurique (36N).
- Ammoniac.
- Phénol.

Préparation du réactif sulfophénique :

Dissoudre 12 grammes de phénol dans 144ml d'acide sulfurique, H₂SO₄ pur (d = 1.84) et mettre le mélange au bain marie pendant 2 heures pour que la réaction soit totale.

Appareillage :

- Un photomètre UV visible, pour travailler à 440nm
- Cellule de dosage.

Mode opératoire :

1. Prendre 5ml de l'échantillon à analyser, le faire évaporer à sec.
2. Laisser refroidir et ajouter 2ml du réactif sulfophénique.
3. Attendre 10minutes, puis ajouter 15ml d'eau distillée et 15ml d'ammoniac qui développe la couleur jaune.
4. Compléter à 50ml avec de l'eau distillée.
5. Effectuer la lecture sur le photomètre à $\lambda = 440\text{nm}$.
6. La teneur en nitrates de l'échantillon est déduite à partir de la courbe d'étalonnage de nitrate.

II. DOSAGE DE NITRITES : Méthode au réactif de DIAZOTATION (Norme AFNOR NF T 90 013)

Réactif de diazotation :

- Acide orthophosphorique (H₃PO₄).
- Sulfaniamide (C₆H₈O₂N₂S).
- Dichlorure de N-(1-naphty) éthylène diamine (C₁₀H₇NHCH₂CH₂, 2HCl).

Préparation du réactif de diazotation :

- A 800 ml d'eau distillée, ajouter 100ml d'acide orthophosphorique concentré, et 40g de Sulfanilamide.
- Après dilution, ajouter 2g de dichlorure de N-(1-naphtyl) éthylène diamine

- Compléter à 1000ml avec de l'eau distillée.
- Mettre le réactif dans un flacon brun et le conserver à l'abri de la lumière.

Appareillage :

- Un photomètre UV visible, pour travailler à 537nm.
- Cellule de dosage.

Mode opératoire :

1. Prendre 50ml de l'échantillon à analyser.
2. Ajouter 1ml de réactif de diazotation.
3. Attendre 10minutes pour le développement de la couleur rose.
4. Effectuer la lecture sur le photomètre à $\lambda = 537\text{nm}$
5. La teneur en nitrites de l'échantillon est déduite graphiquement à partir de la courbe d'étalonnage de nitrite.

III. DOSAGE DE LA DCO (Demande Chimique en Oxygène)

(Stander methods pages 532). 1985

Appareillage :

- Un photomètre UV visible, pour travailler à 600nm.
- Cellule de dosage.

Réactif de digestion :

1. Dissoudre 10.216g de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, préalablement chauffé à 103°C pendant 2h, dans 500ml d'eau distillée.
2. Ajouter 167ml de H_2SO_4 concentré + 33.3 HgSO_4 , dissoudre à température ambiante et diluer à 1000ml avec de l'eau distillée.

Réactif d'acide sulfurique :

- Ajouter Ag_2SO_4 à H_2SO_4 concentré avec un taux de 5.5g d' $\text{Ag}_2\text{SO}_4/\text{kg H}_2\text{SO}_4$.
- Laisser reposer 1 à 2 jours afin qu' Ag_2SO_4 soit complètement dessous.
- La solution doit être conservée à l'obscurité.

Mode opératoire :

1. Prendre 2,5ml d'échantillon à analyser ou solution étalon et l'introduire dans un tube spécifique en verre.
2. Ajouter lentement 1.5ml de réactif de digestion + 3,5ml de réactif d'acide sulfurique dans chaque tube, après le mélange les tubes doivent être immédiatement bien fermés afin d'éviter toute évaporation suite à un fort échauffement dû à une réaction exothermique.
3. Bien mélanger les tubes au vortex, et laisser les refroidir.
4. Mettre le bloc chauffant en marche pendant au moins 30min. à 148°C , jusqu'à ce que le voyant de chauffe (heating) s'allume.
5. Positionner les tubes dans le bloc chauffant préalablement préchauffé, régler le minuteur sur 120min.

6. Après minéralisation des tubes échantillons, le bloc s'arrête automatiquement de chauffer.
7. Sortir les tubes, les laisser refroidir, les agiter.
8. Effectuer la lecture sur le photomètre à $\lambda = 600\text{nm}$.
9. La DCO de l'échantillon est déduite de la courbe d'étalonnage de la DCO.

IV. DOSAGE DES ORTHOPHOSPHATES : Méthode spectrophotométrique (Norme AFNOR ISO, TC 147)

Le dosage des orthophosphates se fait par colorimétrie dans le visible.

Réactifs :

- Acide sulfurique pur ($d = 1.84$) à 15% environ en volume.
- Acide ascorbique : solution à 50g/l.
- Tartrate de potassium et d'antimoine solution à 2.8g/l.
- Paramolibdate d'ammonium : solution à 40g/l.

Préparation des réactifs :

- Tartrate de potassium et d'antimoine : solution à 2.8g/l :

Dissoudre 0,28g de tartrate de potassium et d'antimoine ($\text{K}(\text{SbO})_2 \cdot \text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau distillée et compléter à 100ml avec celle-ci.

- Paramolibdate d'ammonium : solution à 40g/l :

Dissoudre 20g de Paramolibdate d'ammonium ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau distillée et compléter à 500ml avec celle-ci.

Filtrer éventuellement. La solution obtenue peut être conservé à 4°C dans un flacon de polyéthylène.

- Acide ascorbique : solution à 50g/l.

Dissoudre 5g d'acide ascorbique dans de l'eau distillée et compléter à 100ml avec celle-ci. Préparer cette solution chaque jour.

- Réactif combiné :

Dans une fiole jaugée de 100ml, mélanger :

- 50ml d'acide sulfurique.
- 5ml de la solution de tartrate.
- 15ml de la solution de paramolybdate d'ammonium

Compléter au volume avec de l'eau distillée, Ce réactif peut être conservé à 4°C.

Appareillage :

- Un photomètre UV visible, pour travailler à 700nm
- Cellule de dosage.
- Verrerie courante de laboratoire : doit être lavée à l'acide chlorhydrique et rincée à l'eau distillée.

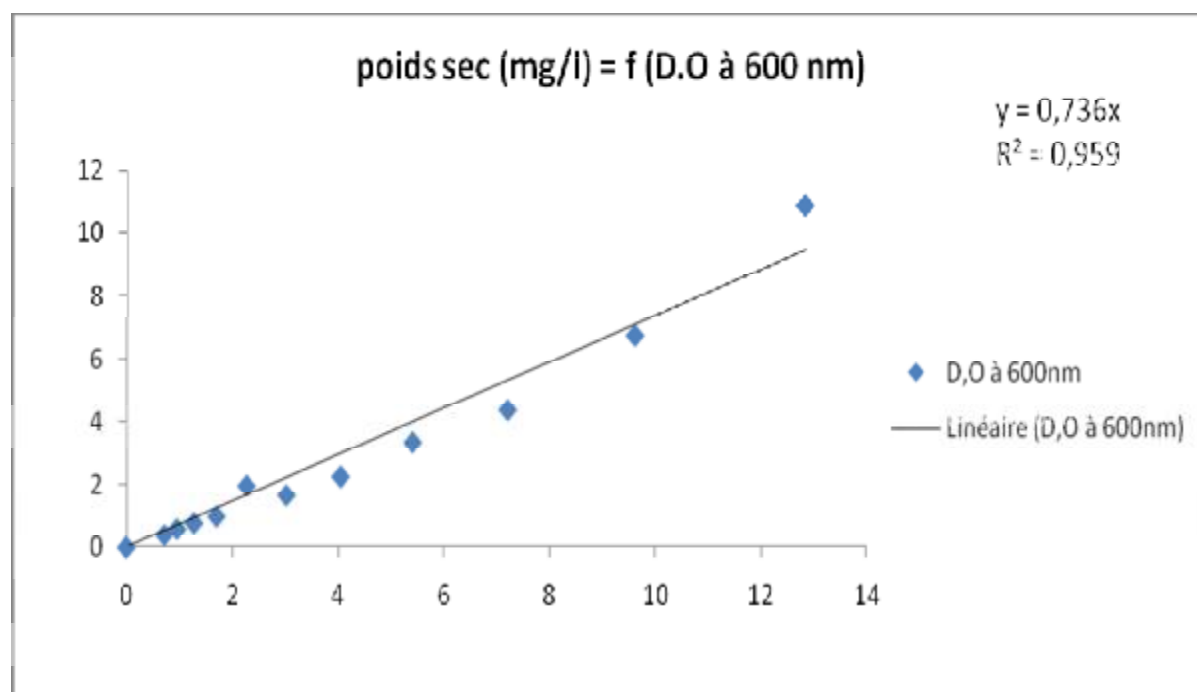
Mode opératoire :

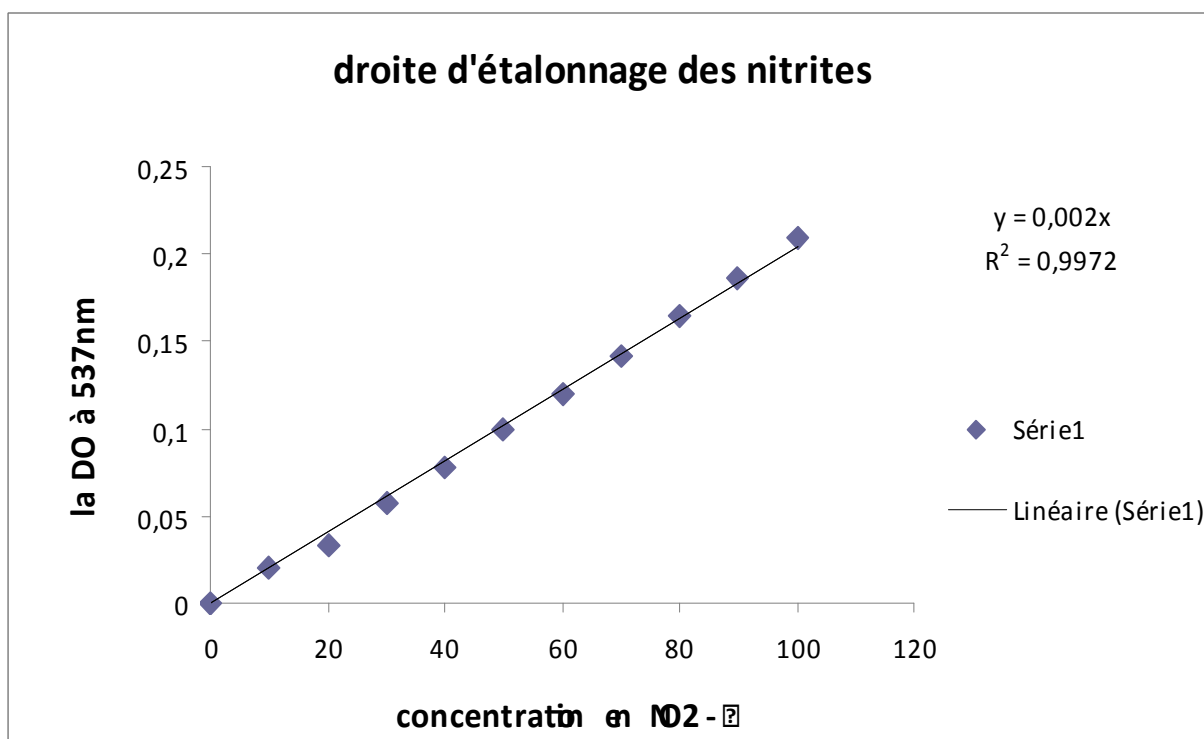
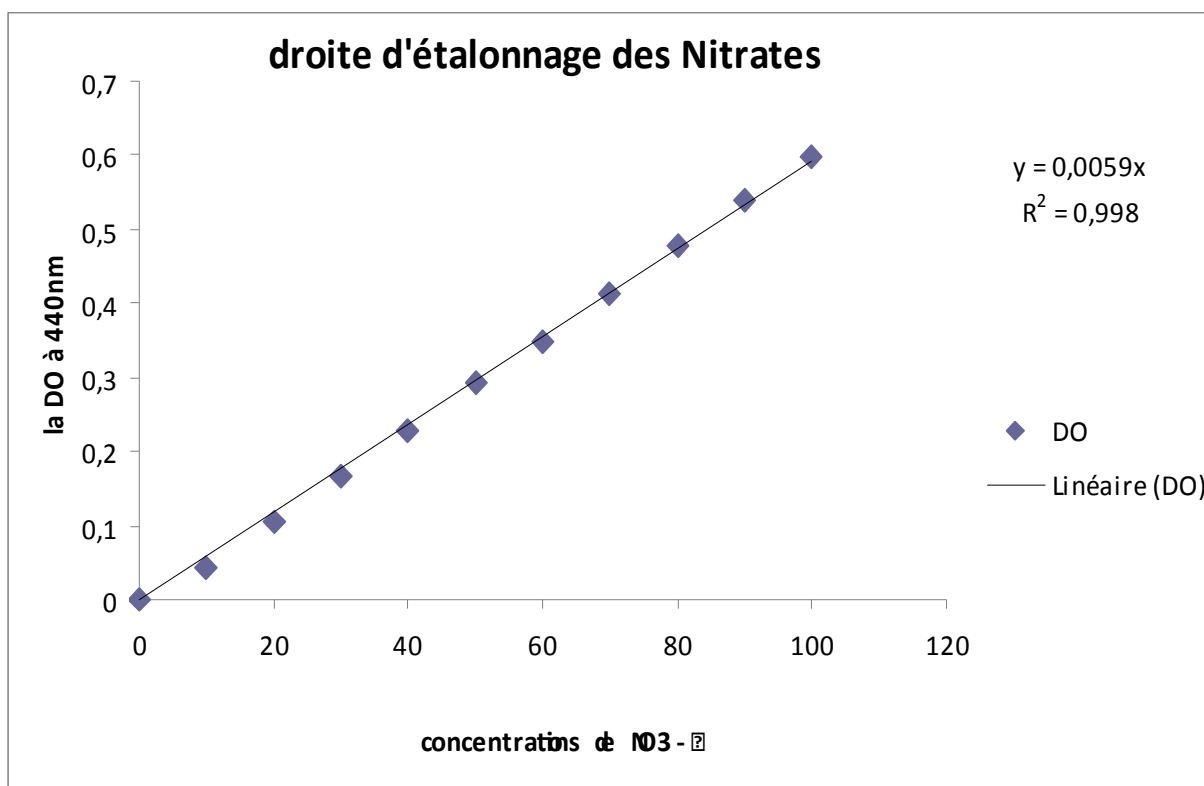
1. Vérifier le pH de l'échantillon qui doit être compris entre 2 à 7, l'ajuster si nécessaire.
2. Introduire 20ml de d'échantillon à analyser ou solution étalon dans une fiole jaugée de 25ml.
3. Ajouter 1ml de solution d'acide ascorbique, agiter, puis ajouter 4ml de réactif combiné, mélanger soigneusement.
4. Attendre 30minutes le développement et la stabilisation de la coloration bleue.
5. Effectuer la lecture sur le photomètre à $\lambda = 700$ ou 880nm.
6. La teneur en orthophosphates de l'échantillon est déduite à partir de la courbe d'étalonnage, et exprimer en milligramme par litre de phosphore.

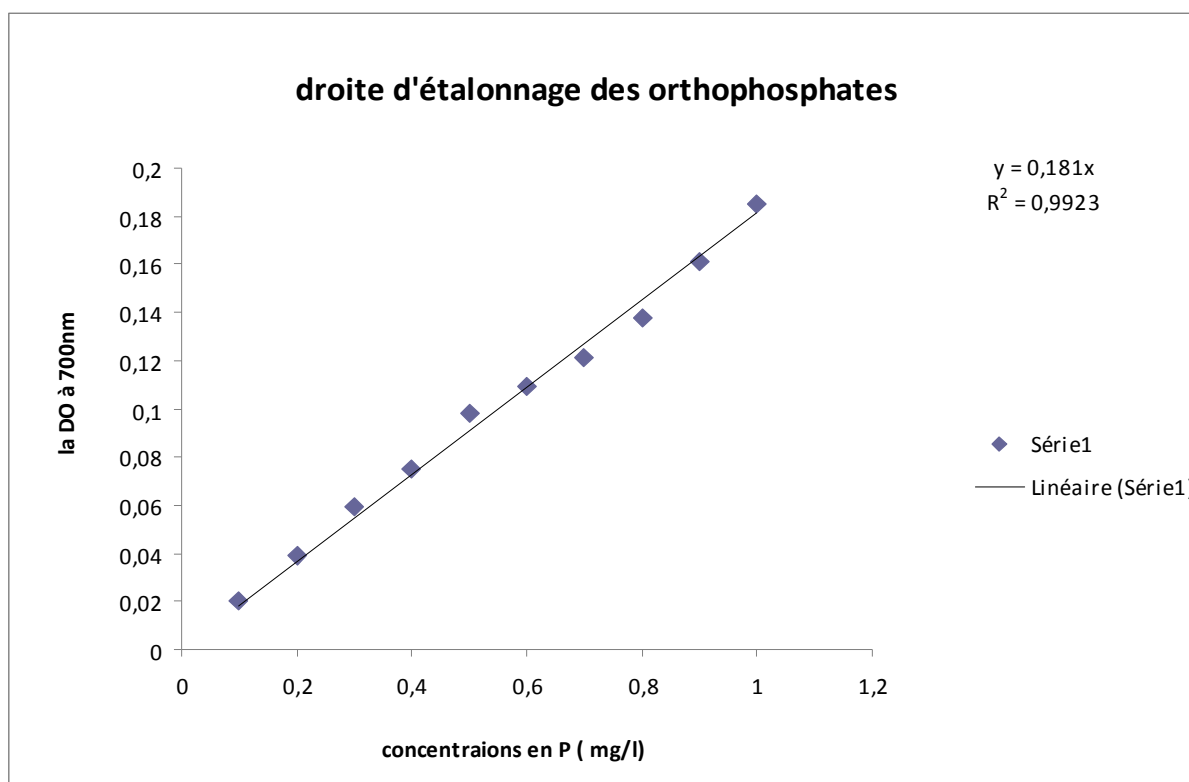
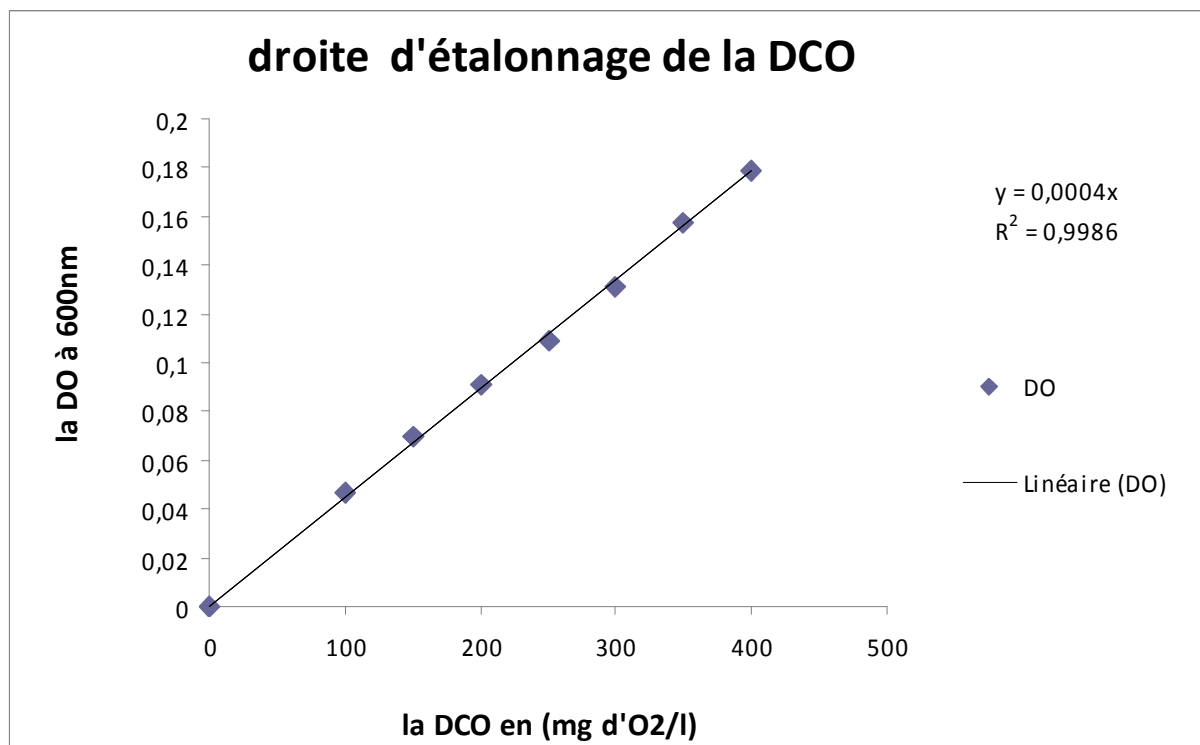
▼ Relation entre la densité optique et l'extrait sec :

La détermination de la matière sèche cellulaire est la méthode la plus rigoureuse. La technique utilisée consiste en :

- 200ml de culture bactérienne sont centrifugés puis lavés avec de l'eau distillée 3 fois.
- Le culot est remis en suspension dans 60ml d'eau distillée.
- La Do est lue à 600nm d'un spectrophotomètre.
- 50ml de cette suspension est séchée à 105°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant ($m - m_0$), et on a : $C_0 = (m - m_0) / 50\text{ml}$
- Le reste (10ml) est utilisé pour la préparation des dilutions, la prise de D.O est effectuée à 600nm.
- La courbe des DO en fonction des concentrations est établie.
- La relation linéaire entre la D.O (à 600 nm) et le poids sec correspondant de la biomasse suspendue est représenté sur le graphe suivant :







ملخص

في هذا العمل المثير للاهتمام درسنا تدهور النترات بالطريقة البيولوجية. و تعتبر تفريط في تركيز النترات السامة والضارة للإنسان، وسيما مدمرة للبيئة الطبيعية وقد أجريت عدة عمليات على تأثير معايير التشغيل مثل (P/ N/C، درجة الحموضة والحرارة، تركيز مصدر الكربون، الخ....) على معدل نزع النتروجين. وسجل أفضل نسبة نزع النتروجين حوالي 99، 44% عند 35 درجة مئوية

أيضا أظهرت النتائج أن مجموعة الأمثل من النشاط الجرثومي نازع للنترات هو 7 إلى 9 ، مع تحقيق مؤي قدره 98%.

Résume

Dans le présent travail nous intéressent à la dégradation des nitrates par voie biologique en réacteur batch. L'excès des nitrates sont considérés comme toxique et néfaste pour la santé humaine, notamment destructeur des milieux naturels. L'influence des paramètres opératoires (C/N/P, pH, T°, concentration de source de carbone, ...etc.) sur la vitesse de dénitrification ont été réalisées. Un meilleur rendement de dénitrification de l'ordre de 99, 44% à 35°C à été enregistré

Les résultats montrent aussi, que la plage optimale d'activité bactérienne dénitrifiante est de 7 à 9, avec un rendement de 98%.

Abstract

The present work explored the degradation of nitrates in batch reactor. A high nitrate concentration is considered as toxic, harmful to human and ecosystem health (destructive of the natural environment). So, we have been working on the problem and focused on the role and the influence of operating parameters such as (C/N/P, pH, temperature, concentration of carbon source, etc) on the rate of denitrification.

Denitrification efficiency of about 99,44% at 35°C was recorded. The results show also the optimal range of denitrifying bacterial activity is ranged from 7 to 9, with a yield of 98%.