

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université de Jijel

Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister en chimie

Option : Chimie physique

Intitulé : les méthodes physiques d'analyse

THEME

**Dénitrification par l'utilisation d'une culture mixte
prélevée dans la station d'épuration d'El Menia
Constantine**

Présenté le 09 Janvier 2012 par

AOUATI Mohamed Khelil

Devant le Jury:

Président : Mr. LEGHOUCHI Essaid Professeur à l'Université de Jijel.

Rapporteur : Mr. KEBABI Brahim Professeur à l'Université de Constantine.

Examineur : Mr. HAOUAM Abdelkrim Professeur à l'Université de Constantine.

Examineur : Mr. BELGHOSI Mabrouk Maître de conférence à l'Université de Jijel.

Je dédie ce travail

A mes parents

***Vous êtes toujours présents dans mon cœur et
mon esprit***

***A ma femme et mes enfants,
sans qui rien n'aurait été possible***

A mes parents

REMERCIEMENTS

*Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire pollution et traitement des eaux de l'université Mentouri de Constantine sous la direction de Monsieur le professeur **B. KEBABI**.*

Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour la confiance qu'il m'a accordé en m'accueillant dans son équipe et pour toutes les connaissances que j'ai acquies.

*Je remercie vivement Monsieur **H. LAGHOUCI**, professeur à l'université de Jijel, qui me fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire.*

*Qu'il me soit permis d'adresser mes remerciements à Monsieur **M. BELGHOBSI**, Maître de conférence à l'université de Jijel, qui a aimablement accepté de siéger à ce jury.*

*Je remercie également Monsieur **A. HAOUAM**, professeur à l'université de Constantine qui a bien voulu se déplacé pour juger ce travail.*

Je remercie tous ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce travail par discussions fructueuses et leurs aides indéniables qu'ils m'ont apportés.

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE I : Synthèse Bibliographique	
I.1 Introduction	3
I.2. Cycle de l'azote	4
I.2.1.La fixation	4
I.2.2.L'assimilation	5
I.2.3.L'ammonification (ou minéralisation).....	5
I.2.4.La nitrification.....	5
I.2.5.La réduction assimilatrice	6
I.2.6.La dénitrification	6
II. NITRATES.....	6
II.1.Source.....	6
II.1.1.Dans l'organisme.....	6
II.1.1.1.Source endogène	6
II.1.1.2.Source exogène.....	7
II.1.2.Dans l'environnement	7
II.2. Origine de la pollution des eaux par les nitrates.....	8
II.3. Exemples des régions polluées par les nitrates.....	11
II.3.1. Dans le monde	11
II.3.2. En Algérie	11
II.4. Les effets des nitrates	12
II.4.1. Effets sur la santé	13
II.4.1.1. La méthémoglobinémie.....	13
II.4.1.2. Autres effets	14
II.4.2. Effets sur l'environnement	15
II.4.2. 1.Eutrophisation	15
II.4.2. 2. Les marées vertes	16
III. Les procédés d'élimination des nitrates	16

III. 1. Les procédés physicochimiques	17
III.1.1. Echange d'ions.....	17
III.1.2. Les procédés membranaires	18
III.1.2.1. Osmose inverse	18
III.1.2.2. L'électrodialyse	19
III.1.2.3. La nanofiltration	19
III.1.3. Procédés électrochimiques	19
III.2. Les procédés biologiques	20
III.3. Les avantages et les inconvénients des procédés d'élimination des nitrates	20
III.4. Choix de notre traitement	21
IV. Elimination biologique des nitrates	22
IV.1. La dénitrification biologique	22
IV.1.1. La dénitrification hétérotrophe	22
IV.1.2. La dénitrification autotrophe	23
IV.1.2.1. La dénitrification à l'hydrogène	23
IV.1.2.2. La dénitrification sur support soufré.....	24
IV.1.2.3. La dénitrification par le fer métallique	24
IV.2. Techniques biologiques d'élimination de la pollution azotée	24
IV.2. 1. Les procédés à biomasse libre	25
IV.2. 1.1. Les Configurations de base : Les systèmes à boues activées	25
IV.2. 1.2. Le SBR	27
IV.2. 1.3. Les réacteurs à membranes	28
IV.2. 2. Les procédés à biomasse fixée	28
IV.2. 2.1. Le lit bactérien à ruissellement	28
IV.2. 2.2. Les contacteurs biologiques rotatifs (RBC) ou biodisques	29
IV.2. 2.3. Les réacteurs (ou biofiltres) immergés	29
IV.2. 2.4. Les réacteurs à lit fluidisé	29
V. Les populations des micro-organismes.....	30
V.1. Conditions nutritives	31
V.2. Les facteurs physico-chimiques	31
V.2. 1. L'eau	31

V.2. 2. Le pH	31
V. 2. 3. La température	32
V. 2. 4. L'oxygène	33
V. 3. Potentiel d'oxydo-réduction	33
V. 4. Toxicité	33
V.5. Les techniques classiques de la mesure de croissance	34
V.5.1. Schéma de croissance bactérienne	35

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

I.1. Matériel	38
I.1.1. Micro-organisme	38
I.1.2. Milieu de culture	38
I.1.3. Source de carbone	40
I.1.4. pH mètre	40
I.1.5. Réacteur DCO	40
I.1.6. Incubation	40
I.1.7. Centrifugation	40
I.2. Méthodes d'analyses	40
I.2.1. Mesure de la biomasse	41
I.2.2. Relation entre la densité optique et l'extrait sec	43
I.2.3. Dosage des métabolites	44
I.2.3.1. Dosage des nitrates	44
I.2.3.2. Dosage de la source de carbone	46
I.3. Les conditions opératoires	48

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Etude de la dénitrification en utilisant le méthanol comme source de carbone	50
I.1. Etude de la croissance bactérienne	50
I.2. Cinétique de la réduction des nitrates	55
I.3. Suivi du pH du milieu réactionnel au cours de la dénitrification	56

I.4. Effet de l'oxygène sur le processus de dénitrification	57
I.4.1. Effet de l'oxygène Sur la croissance bactérienne	57
I.4.2. Effet de l'oxygène Sur la dégradation du méthanol.....	58
I.4.3. Effet de l'oxygène Sur la dégradation des nitrates	59
II. Etude de la dénitrification en utilisant le succinate de sodium comme source de carbone	60
II. 1. Suivi de la dénitrification en présence de 500 et 1000 ppm du succinate de sodium comme source de carbone	60
II. 1.1. Cinétique de la croissance bactérienne.....	60
II. 1.2. Cinétique de la réduction des nitrates en présence de 500 ppm du succinate de sodium comme source de carbone.....	61
II. 1.3. Cinétique de la réduction des nitrates en présence de 1000 ppm du succinate de sodium comme source de carbone.....	62
II.2. Les paramètres de contrôle de dénitrification	64
II.2.1. Effet de la concentration initiale de la source de carbone.....	64
II.1.2. Effet du rapport C/N.....	66
II.1.3. Effet des chlorures.....	67
Conclusion générale.....	70
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	72
ANNEXES.....	84
Annexe 1	84
Annexe 2	85
Annexe 3	86
Annexe 4.....	87
Annexe 5	88
Annexe 6	89

Liste Des Abréviations

N₂ : azote moléculaire.

NH₃ : ammoniac.

NH₄⁺ : ammonium.

NO : oxyde nitrique.

NO₂⁻ : nitrite.

NO₃⁻ : nitrate.

NTK : L'azote Kjeldahl.

NGL : L'azote global.

NAR : nitrate réductase.

NIR : nitrite réductase.

NOR : oxyde nitrique réductase.

N₂OR : oxyde nitreux réductase.

SBR : Sequencing Batch Reactor.

RBC : Rotating Biological Contactor.

MeOH : méthanol.

ppm : partie par million.

Batch : Réacteur en discontinu.

N-NO₃ : Concentration des nitrates.

N-NO₂ : Concentration des nitrites.

N_{org} : azote organique.

DO : Densité optique.

DCO : Demande chimique en oxygène.

[C]₀ : Concentration initiale.

μ : taux de croissance spécifique (temps⁻¹).

X : concentration de la biomasse (masse / unité de volume).

Q_x : Quantité de la biomasse produite (productivité) (masse / volume. temps).

Y_{x/s} : Coefficient de production de la biomasse (masse de cellule formée /masse de substrat consommé).

F : flux de la biomasse (volume / unité de temps).

V : volume de la biomasse (unité de volume).

α : Taux spécifique de lyse (temps⁻¹).

r_g : taux de croissance bactérien (masse / volume. temps).

S et S' : concentration du substrat injecté et rejeté du bioréacteur respectivement (masse / unité de volume).

F et F' : flux du milieu injecté et rejeté du bioréacteur (volume / temps).

$Y_{P/S}$: coefficient de production des produits de synthèse (masse de produit formé / masse de substrat consommé).

q_p : taux spécifique de formation de produit (temps⁻¹).

r_{su} : taux d'utilisation du substrat (masse / unité de volume).

Liste des tableaux et figures

- Tableau 1 :** Principales origines des NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ dans l'environnement [Ratel, 1992]. (p10)
- Tableau 2 :** Teneurs en nitrates et activités ou occupation du sol [Ratel, 1992]. (p10)
- Tableau 3 :** La concentration des nitrates dans différents sites en Algérie. (p12)
- Tableau 4 :** Avantages et inconvénients des différents procédés d'élimination des nitrates. (p21)
- Tableau 5 :** Composition du milieu de culture [Patureau D., 1995]. (p39)
- Tableau 6 :** La composition de la solution de traces éléments [Patureau D., 1995]. (p39)
- Tableau 7 :** Calculs du taux de croissance et productivité pour les deux cultures. (p58)
- Tableau 8 :** Les concentrations équivalentes des différentes valeurs du rapport C/N. (p66)
-
- Figure 1 :** Le cycle de l'azote [Bothe et al, 2007]. (p 4)
- Figure 2 :** Mécanisme de la pollution des eaux par les nitrates. (p 9)
- Figure 3 :** Carte Telezza [Chabour N, 2004]. (p12)
- Figure 4 :** Réduction de la méthémoglobine par transfert d'un électron du NADH. (p14)
- Figure 5 :** Formation de nitrosamines à partir des nitrites et des amines dans le milieu acide de l'estomac (L'hirondel, 1996). (p14)
- Figure 6 :** L'eutrophisation dans le lac Tanga (w d'El Kala) aout 2010. (p15)
- Figure 7 :** L'eutrophisation dans le lac Ghdir Beni Hamza (w de JIJEL) Avril 2010. (p15)
- Figure 8 :** Individus de grande dimension d'*Ulva armoricana*, en suspension dans l'eau (Baie de Douarnenez, photo X.Caisey, IFREMER). (p16)
- Figure 9 :** schémas représentatifs du Principe de l'osmose et de l'osmose inverse [Tansakul C, 2009]. (p18)
- Figure 10 :** Procédé classique à boues activées [d'après Barnard et al, 1998]. (p25)
- Figure 11:** modèle de Ludzack-Ettinger modifiée[Cooper et al, 1994]. (p25)
- Figure 12 :** Modèle de Barnard de 1973. (p26)
- Figure 13 :** Chenal d'oxydation [Cooper et al, 1994]. (p26)
- Figure 14 :** Principe de fonctionnement du réacteur SBR (Torrijos et al, 2000). (p27)

Figure 15 : les principaux modèles de traitement de l'azote par immobilisation de la biomasse [Sorensen et Jorgensen, 1993]. (p28)

Figure 16: Echelle de pH reliés à quelques environnements [Madigan M. 2000]. (p32)

Figure 17: Schéma reliant la croissance des micro-organismes à la température [Madigan M. 2000]. (p32)

Figure 18 : Technique de dénombrement sur boîte de pétri [Delignette-Muller, 1995].(p34)

Figure 19 : Technique turbidimétrique de mesure de la biomasse. (p35)

Figure 20 : les phases de croissance établies par [Buchanan, 1918]. (p36)

Figure 21 : Schéma de l'absorbance. (p42)

Figure 22 : Spectrophotomètre JENWAY de types 6300 spectrophotomètre. (p42)

Figure 23 : Courbe d'étalonnage reliant L'extrait sec de biomasse produite à la densité optique (DO (600 nm)). (p43)

Figure 24 : Courbe d'étalonnage reliant concentration des nitrates à la densité Optique (DO (415nm)). (p46)

Figure 25 : Courbe d'étalonnage de la DCO. (p48)

Figure 26 : Photographie des conditions de notre travail. (p49)

Figure 27 : Cinétique de la croissance bactérienne avec le méthanol comme source de carbone. (p51)

Figure 28 : Cinétique de la réduction des nitrates avec le méthanol comme source de carbone. (p55)

Figure 29 : Evolution du pH au cours de la dénitrification avec le méthanol comme source de carbone. (p56)

Figure 30 : Effet de l'oxygène sur la croissance bactérienne en fonction du temps. (p57)

Figure 31: Effet de l'oxygène sur la dégradation du méthanol. (p58)

Figure 32 : Effet de l'oxygène sur la dégradation des nitrates. (p59)

Figure 33 : Cinétique de la croissance bactérienne en présence de 500 ppm et 1000 ppm du succinate de sodium comme source de carbone. (p61)

Figure 34 : Cinétique de la réduction des nitrates en présence de 500 ppm du succinate de sodium comme source de carbone. (p61)

Figure 35 : Variation du pH au cours de la réaction de la dénitrification en présence de 500 ppm de succinate de sodium comme source de carbone. (p62)

Figure 36 : Cinétique de la réduction des nitrates en présence de 1000 ppm du succinate de sodium comme source de carbone. (p63)

Figure 37: Variation du pH au cours de la réaction de la dénitrification en présence de 1000 ppm de succinate de sodium comme source de carbone. (p63)

Figure 38 : Effet de la concentration initiale du succinate de sodium sur la croissance bactérienne. (p64)

Figure 39 : Effet de la concentration initiale du succinate de sodium sur la réduction des nitrates. (p65)

Figure 40 : Effet de la concentration initiale du succinate de sodium sur le pH. (p65)

Figure 41 : Effet du rapport C/N sur la croissance bactérienne. (p66)

Figure 42 : Effet du rapport C/N sur la réduction des nitrates. (p67)

Figure 43 : Effet des chlorures sur la croissance bactérienne. (p68)

Figure 44 : Effet des chlorures sur le pH. (p69)

Introduction générale

Introduction générale

L'homme utilise son environnement comme une ressource inépuisable. Cependant l'eau est de plus en plus rare et précieuse. La rareté croissante de l'eau douce et le mauvais usage que l'on en fait menacent le développement durable. De nombreuses études, menées en Europe et aussi dans quelques pays en voie de développement comme l'Algérie, ont confirmé la présence des nitrates dans les eaux souterraines à des taux très élevés. Ces concentrations sont dues à l'utilisation excessive d'engrais azotés et de déjections animales en agriculture. Les teneurs élevées en nitrates sont l'une des causes de la dégradation de la qualité de l'eau. Certaines études effectuées dans des régions en Algérie montrent que la concentration en nitrates dépasse les 50 mg/L, norme recommandée par l'O.M.S (Organisation Mondiale de la Santé). A titre d'exemple 570 mg/L de nitrate ont été enregistrés dans des eaux prélevés d'Oued Mezzouze (W.de Skikda), [Chabour.N, 2004].

La consommation qui dépasse 50 mg/L peut provoquer la méthémoglobinémie du fait de la transformation des nitrates en nitrites et en nitrosamines cancérigène. Ces concentrations excessives provoquent le phénomène d'eutrophisation croissante des écosystèmes [Mamaidi. M.S. et al, 2009]. Ces dernières décennies ont poussé (O.M.S) à considérer les nitrates comme un danger potentiel pour la santé publique.

Les différentes techniques d'élimination des nitrates utilisées sont les traitements biologiques : dénitrification hétérotrophe ou autotrophe, et traitements physico-chimiques : Echanges d'ions, Osmose inverse. Les processus biologiques de traitement des nitrates se sont avérés un des moyens les plus économiques et des plus efficaces pour réduire les nitrates [Werner, 1991].

La dénitrification n'est qu'une alternative à la respiration classique de l'oxygène, le nitrate ou l'un des intermédiaires est utilisé comme accepteur final d'électrons transférés le long de la chaîne respiratoire [Tiedje, 1988].

L'objectif de ce travail présenté dans ce mémoire est dévoué essentiellement à l'étude de l'efficacité de la dénitrification par l'utilisation d'une culture mixte prélevée dans la station d'épuration d'El-Menia Constantine, en utilisant le méthanol et le succinate de sodium comme source de carbone et d'énergie.

Le travail réalisé est présenté sous forme d'un mémoire composé de trois chapitres :

Le premier chapitre synthèse bibliographique qui fait le point sur le rôle des nitrates dans le cycle de l'azote, leurs sources, les origines de la pollution nitrique dans le monde et en Algérie ainsi que leurs risques sanitaires. Après avoir abordé le sujet de la pollution par l'excès des nitrates dans les eaux, nous allons démontrer les différents procédés de leurs traitements, en insistant sur le choix du traitement biologique, et nous allons donner un aperçu général sur les micro-organismes et l'influence de quelques facteurs environnementaux sur la croissance. Nous terminerons ce chapitre par les techniques classiques de la mesure de croissance bactérienne.

Le deuxième chapitre présente le matériel et les méthodes expérimentales utilisées.

Le troisième chapitre est consacré à l'étude de l'efficacité de la dénitrification en utilisant le méthanol et le succinate de sodium comme source de carbone et d'énergie. Les constantes cinétiques de la croissance bactérienne et l'influence d'un certains nombre de facteurs opératoires (C/N, pH, O₂) sur la vitesse de dénitrification seront examinées.

Nous terminons par une conclusion générale dans laquelle nous rassemblerons les différents résultats obtenus.

Synthèse Bibliographique

CHAPITRE I

Synthèse Bibliographique

I.1 Introduction :

L'azote est un élément chimique très répandu dans la nature. Il constitue 78% de l'atmosphère, c'est un élément essentiel de la matière vivante. Il est indispensable à la vie de l'homme. Il représente 4 à 16% du poids sec d'un animal, constitue entre 16 et 23% des protéines cellulaires et environ 12% des acides nucléiques [Cole, 1993]. L'ensemble des réactions biologiques de croissance et de maintenance requiert la présence de l'élément azote [Patureau, 1995].

En milieu aquatique, les composés de l'azote existent sous forme inorganique (azote ammoniacal, nitrites et nitrates), organique (labile et stable) et moléculaire gazeux dissous (95% du total).

On distingue :

-l'azote ammoniacale (NH_4^+ , NH_3) qui est la forme la plus réduite ;

-l'azote organique (acides aminés, protéines) qui rentre dans l'ensemble des matières organiques ;

-l'azote nitreux (NO_2^-) et l'azote nitrique (NO_3^-) qui est la forme la plus stable en milieu aérobie ; elle atteint 65% du stock totale d'azote organique et inorganique dissous de l'océan mondial [Lacaze J.C, 1996].

Au plan appliqué à la pollution azotée :

- L'azote Kjeldahl (NTK). Il regroupe l'azote présent sous forme organique et celui sous forme ammoniacal ;
- L'azote global (NGL). Le terme couvre l'ensemble des formes azotées présent dans une eau, c'est-à-dire azote organique, azote ammoniacal, nitrite, nitrate. Il correspond donc à l'addition, au terme NTK, des formes oxydées de l'azote.

On appelle cycle de l'azote les diverses transformations que subit l'azote dans la biosphère. Toutes les étapes du cycle de l'azote sont effectuées par les populations microbiennes spécifiques tels que les Cyanobactéries, les Rhizobium, les Azotobacter, les Azospirillum. Ces bactéries et /ou algues, dites Diazotrophiques, transforment l'azote gazeux en molécules

simples comme l'azote ammoniacal et l'azote nitrique, alors utilisées par les plantes ou toute autre forme de vie. En plus de l'importance de l'azote en tant que constituant de la biomasse, les réactions de transformation de l'azote sont également capitales par leur couplage à la production d'énergie cellulaire [Kermarrec, 1999].

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.2. Cycle de l'azote :

Le cycle de l'azote est le résultat du métabolisme microbien sur les composés azotés. Les transformations mises en jeu sont des réactions d'oxydoréduction modifiant le niveau de valence de l'atome azote. Le cycle de l'azote (figure 1) est réalisé par les six processus suivants :

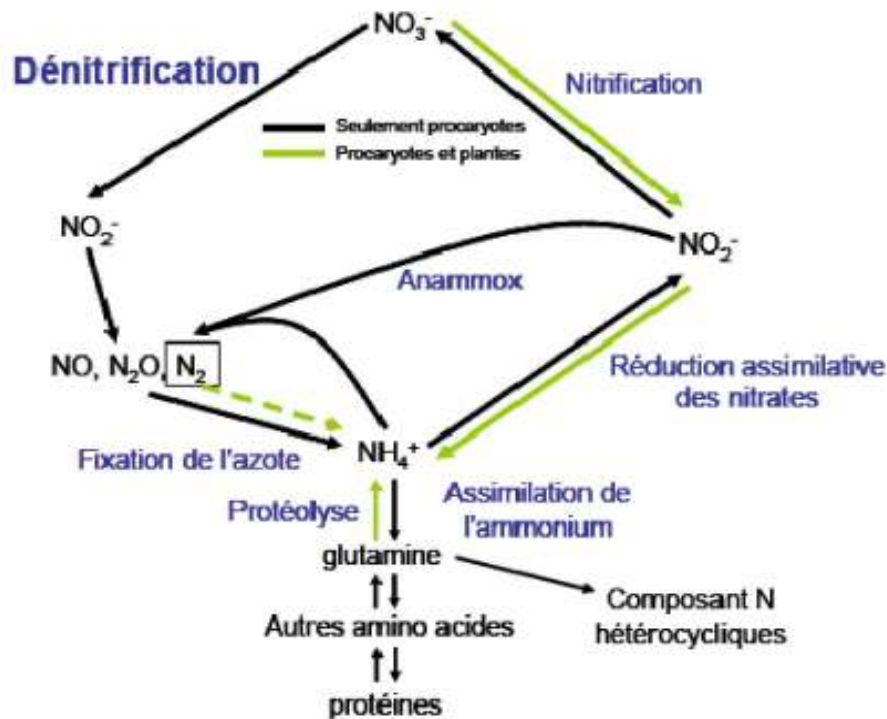
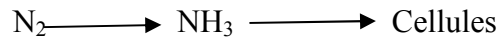


Figure 1 : Le cycle de l'azote [Bothe et al, 2007]

I.2.1. La fixation :

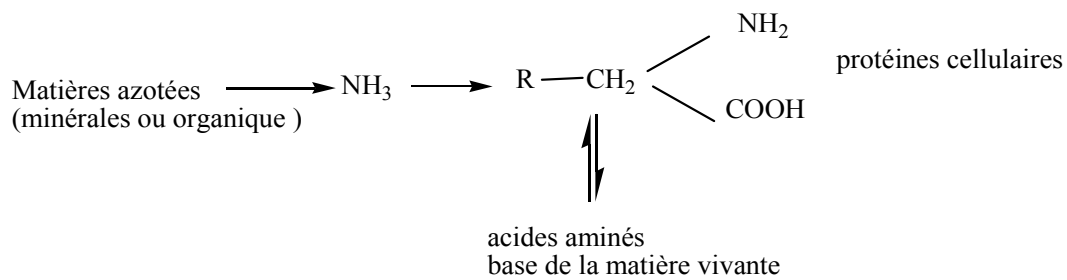
Elle correspond à l'aptitude que possèdent certains organismes à utiliser l'azote moléculaire pour la synthèse de leurs protéines.

L'azote est alors réduit à l'état d'ammoniac avant d'être assimilé [Martin, 1979].



I.2.2.L'assimilation :

L'assimilation est la conversion de la forme assimilable de l'azote c'est-à-dire de l'azote ammoniacal (NH₃) en azote organique et constitutif de la biomasse.



I.2.3.L'ammonification (ou minéralisation):

Cette étape est le procédé à partir duquel, les composés azotés organiques sont transformés par des réactions enzymatiques en composés minéraux azotés (NH₃) ou (NH₄⁺).

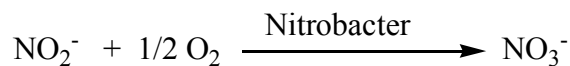
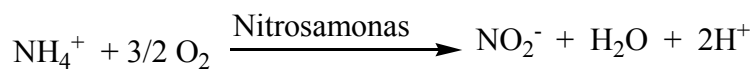
Ces composés organiques azotés proviennent soit :

- De l'excrétion de composés azotés par les organismes vivants.
- De la mort et de la décomposition des cellules vivantes.

I.2.4.La nitrification :

La nitrification est le transfert de l'ammonium en nitrate. On distingue deux types de Nitrifications :

1. Nitrifications lithotrophes qui utilise une source de carbone inorganique.
2. Nitrifications hétérotrophes qui concernent différents groupes de bactéries. Elles s'effectuent en deux étapes :
 - La nitritation : oxydation de l'azote ammoniacal en nitrite.
 - La nitratisation : oxydation du nitrite en nitrate.



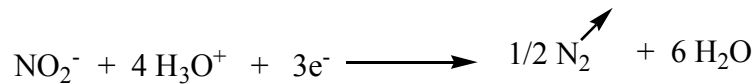
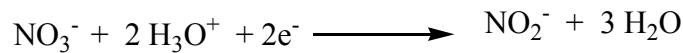
Ces deux réactions (nitritation, nitratisation) sont réalisées uniquement en présence d'oxygène.

I.2.5. La réduction assimilatrice :

(Ou dissimilatrice) qui est la réduction des composés oxydés (azote nitreux NO_2^- , azote nitrique NO_3^-) en azote ammoniacal (NH_4^+)

I.2.6. La dénitrification :

La dénitrification est la réduction des nitrates (NO_3^-) en azotes moléculaires gazeux (N_2) par l'intermédiaire de bactéries dénitrifiantes



II. NITRATES :

Les nitrates (NO_3^-) sont des sels de l'acide nitrique. Ce sont des composés azotés naturels incolores et inodores présent dans les écosystèmes.

Il est le produit de l'oxydation de l'azote par les microorganismes dans les plantes, le sol ou l'eau et, dans une moindre mesure, par les décharges électriques comme la foudre [Beatson, 1978]

Les nitrates sont très solubles dans l'eau, ne sont pas retenus par le sol et migrent facilement vers les eaux superficielles et souterraines lorsque les niveaux excèdent les besoins de la végétation [Santé canade 1992].

Ils entrent dans la composition des engrais chimiques et naturels (fumiers) ils sont aussi utilisés dans les explosifs, comme agents oxydants dans l'industrie chimique et comme agents de conservations.

II.1. Source :

II.1.1. Dans l'organisme :

II.1.1.1. Source endogène :

L'homme contient naturellement des nitrates dans son organisme. Les concentrations plasmiques des nitrates sont variables pendant la journée et lors de l'existence.

Dès 1916 Mitchell a observé que la quantité de nitrate dans les urines était plus importante que celle ingérée [Lespine A, 2001], mettant ainsi en évidence la production endogène des nitrates. En 1981, la production de monoxyde d'azote (NO) est détectée dans l'organisme, sa durée de demi-vie est courte 3 à 5 secondes, il se trouve donc rapidement transformé en nitrate.

C'est à partir de 1985 avec les travaux de [Stuehr et Marletta] que de nombreuses études permirent d'expliquer la formation de monoxyde d'azote. Il s'agit d'une réaction biochimique intracellulaire qui consiste en la dégradation d'une molécule d'un acide aminé la L-arginine en L-citrulline entraînant la libération de monoxyde d'azote qui va réagir avec l'oxygène et former des molécules N_2O_3 et N_2O_4 donnant par hydrolyse les nitrates NO_3^- .

II.1.1.2.Source exogène :

Les nitrates exogènes viennent de la nourriture et de l'eau, ainsi que les légumes. Il a été estimé dans plusieurs études que les légumes apportent 70 à 80 % du nitrate ingéré [Boquillet C. et al, 2007]. Le reste correspond pour environ 10 % à l'eau et 10 % aux autres aliments. Tous les aliments n'apportent pas la même quantité des nitrates selon les saisons et les teneurs en nitrate utilisés comme engrais.

II.1.2.Dans l'environnement :

Les nitrates sont présents dans le sol à l'état naturel à cause des résidus de la vie, animale et humaine. Comme les nitrates sont indispensables au développement des plantes, c'est pourquoi l'homme en apporte à ses cultures afin de favoriser leurs productions.

On constate qu'une proportion non négligeable soit 55% provient des rejets de nitrates liés aux activités agricoles. 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. Les nitrates en excès finissent par rejoindre les cours d'eau et les nappes souterraines. 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 [Ruiz L et al, 2003] : 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 anti-corrosif 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 la nitroglycérine, les antipaludiques, le nitrate d'argent topique utilisé pour le traitement des brûlures, les diurétiques les anti diarrhéiques, les antidotes pour les intoxications au cyanure et au sulfure d'hydrogène et les vasodilatateurs utilisés pour le traitement de la coronaropathie.

II.2. Origine de la pollution des eaux par les nitrates :

Les nitrates sont la cause majeure de pollution d'eaux souterraines qui par ailleurs présentent une qualité chimique et bactériologique satisfaisante.

Les nitrates existent dans les eaux à l'état naturel en absence de pollution, leurs concentrations varie de 0,1 à 1 mg/L d'eau, elle dépasse souvent aujourd'hui 50 mg/L (norme retenue par l'Organisation Mondiale de la Santé pour les eaux potables) [Wehbe.N, 2008].

La progression de cette contamination est couramment de 0,5 à 1 mg/L/an et peut atteindre 2 mg/L/an, cela veut dire que la pollution actuelle des nappes souterraines provient d'une vingtaine d'années d'épandage d'engrais, une situation voisine se rencontre dans les eaux superficielles [Ratel, 2002].

Les nitrates jouent un rôle important comme engrais, car ils constituent le principal aliment azoté des plantes, dont ils favorisent la croissance. C'est pourquoi l'agriculture utilise des engrais azotés, sous formes d'ions nitrate, ou d'autres ions transformés en nitrates par les bactéries du sol. Leur grande solubilité et leur assimilation rapide les font apprécier en période de sécheresse, lorsque les engrais ammoniacaux ne peuvent agir convenablement (figure 2) [Chantal G, 2001].

De nombreuses recherches et bilans des activités agricoles ont été réalisées ces dernières années afin de comprendre les mécanismes ayant entraînés cette augmentation continue dans les eaux.

L'utilisation d'engrais minéraux n'est pas l'unique source de nitrates. Mais c'est l'ensemble du système de culture et la dynamique du cycle de l'azote qui déterminent le risque d'entraînement des nitrates dans les nappes.

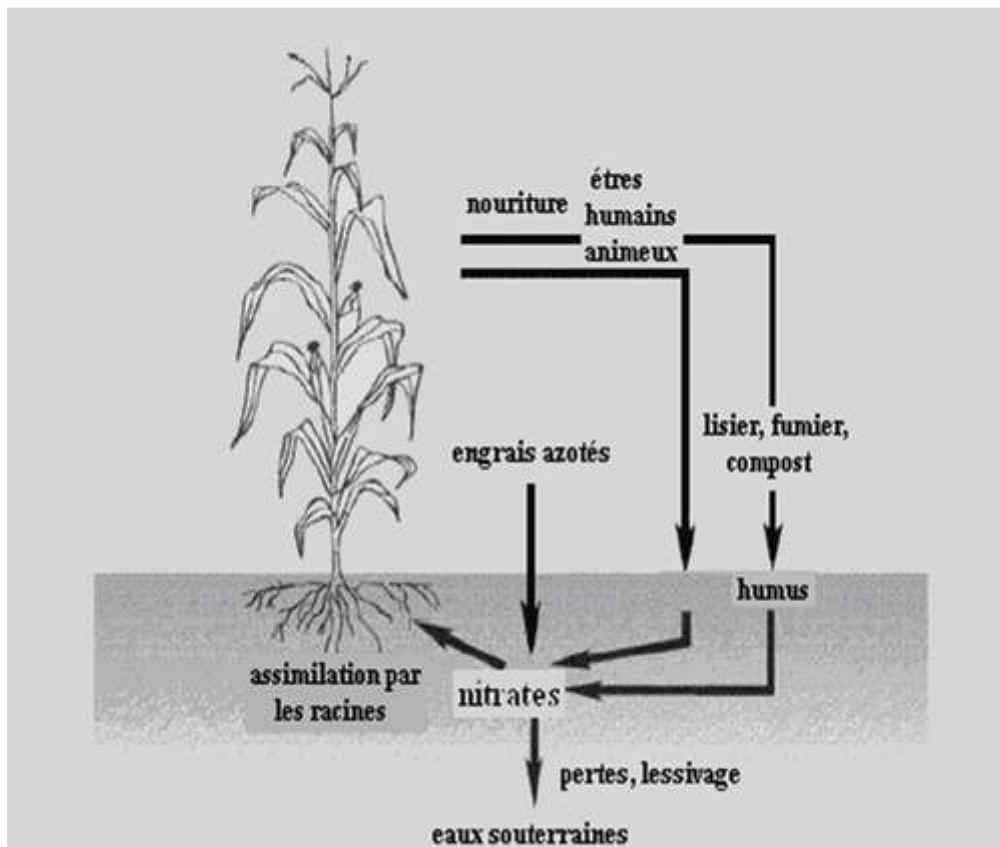


Figure 2 : Mécanisme de la pollution de l'eau par les nitrates.

A ces engrais azotés il convient d'ajouter les nitrates d'origines animales. Un porc de moins de six mois et qui pèse 100 Kg évacue une quantité de lisier (mélange d'urine et de matières fécales) correspondant à 1 m³/an [Stimm.w, 1996].

La troisième source de pollution de l'eau par les nitrates est industrielle et domestique. L'azote des eaux d'égouts est rejeté dans le milieu naturel et s'y oxyde en nitrates. Les rejets industriels et urbains ne sont qu'en partie épurés, avant d'être évacués dans le réseau hydrologique de surface.

L'augmentation des teneurs des composés azotés traduisent une pollution de la ressource liée aux activités humaines (tableau 1) et en particulier aux activités de surfaces (tableau 2) [Duboz, 1992].

Tableau 1 : Principales origines des NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ dans l'environnement [Ratel, 1992].

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

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

Tableau 2 : Teneurs en nitrates et activités ou occupation du sol [Ratel, 1992].

Teneurs	Activités et occupation des sols
Très élevées et croissantes	Occupation urbaine et industrielle dense et/ou agriculture intensive.
Moyennes	Agriculture traditionnelle moyennement intensive, habitat rural dispersé
Faibles	Forêt et zone d'élevage intensif avec des prairies permanentes peu fertilisées

II.3. Exemples des régions polluées par les nitrates :

II.3.1. Dans le monde :

Depuis le début des années soixante la pollution des eaux a cru au monde une importance très considérable. Actuellement en France on note un accroissement des teneurs en nitrates pour la plupart des eaux de surface ; 90% des valeurs observées sont au dessus des « bornes » qui seront utilisées par l'agence européenne de l'environnement (IFEN, 1994). Les teneurs sont particulièrement élevées au nord d'une ligne Girond-Alsace une zone d'agriculture intensive et de forte densité de population [OCDE, 1982. Meybeck et al 1989. Barroin, 1991].

En Bretagne 30,6 mg/L est la moyenne régionale du réseau de surveillance [Novince E, 2009]

II.3.2. En Algérie :

En Algérie l'utilisation est plus large et intense des terres agricoles, ce qui nécessite une utilisation accrue d'engrais entraînant une pollution progressive et continue des réserves d'eau par les nitrates.

Une étude réalisée à Skikda a montrée que la concentration des nitrates a atteint 49,7 mg/L dans certains sites [Bordjiba O, 2009]. Une autre étude réalisée sur le barrage Ghrib Ain Defla (Nord Ouest de l'Algérie) au cours de la période entre avril et octobre 2007 a montré que la concentration des nitrates en juillet est le double de celle trouvée en avril, ceci correspond à la période d'introduction des engrais dans les terres agricoles au voisinage de ce barrage [Hamaidi M.S, 2009]. Deux situations très alarmantes observées l'une à la plaine de la Mitidja ou la concentration est passée de 130 mg/L en 2002 à 260 mg/L en 2004 [Salem Z, 2007]. Et la deuxième observée en 2004 à Oued Mezzouz Collo W de Skikda comme le montre la figure 3 [Chabour N, 2004] où la concentration atteint 570 mg/L. dépassant largement la norme O.M.S (50 mg/L). Des valeurs de 80 à 120 mg/L ont été obtenues dans de nombreux puits captant la nappe de Chéria [Baali F. et al, 2007]. Le tableau 3 montre l'intensité de la gravité de la pollution par les nitrates des ressources aquatiques Algériennes.

Tableau 3 : La concentration des nitrates dans différents sites en Algérie.

Villes	N-NO ₃ ⁻ en mg/L	Année
La Mitidja	260	2004
Collo (Oued Mezzouz)	570	2004
Sidi Bel Abbas	175	2004
Batna (Ain Jasser)	125	2006
Chéria	80-120	2007
Skikda	47.9	2008
Tlemcen	242	2008
Chleff	100	2008

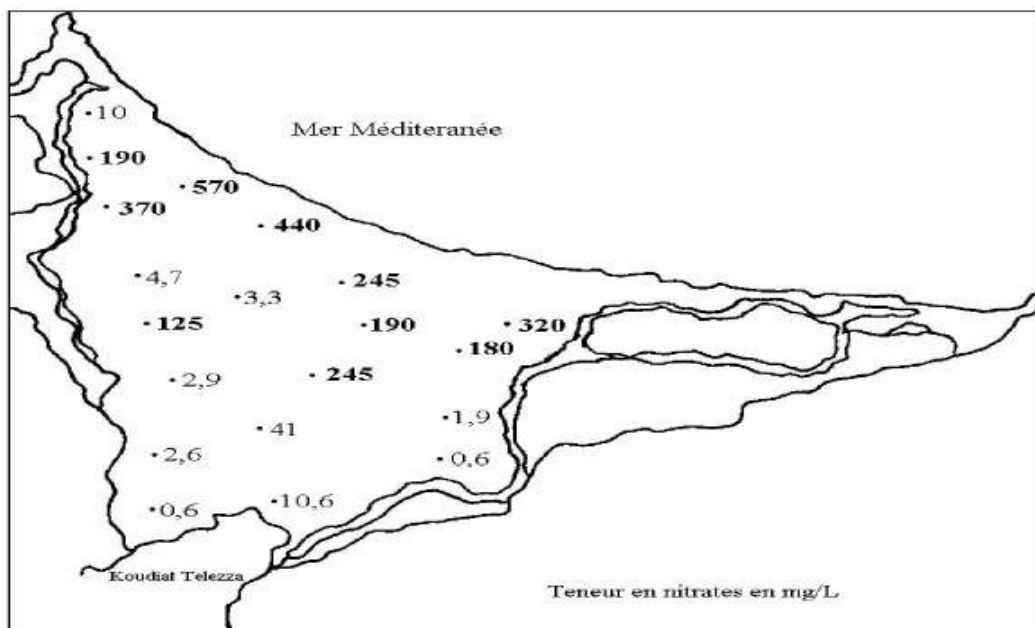


Figure 3 : Distribution spatiale des nitrates [Chabour N, 2004]

II.4. Les effets des nitrates :

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

- Sanitaire en étant cause potentielle de méthémoglobine et source de nitrosamines.
- Ecologique en contribuant aux phénomènes d'eutrophisation.

II.4.1. Effets sur la santé :

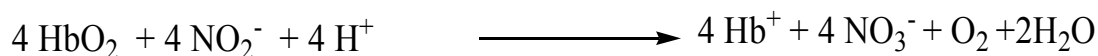
Les nitrates ne sont pas toxiques à dose physiologique tant qu'ils sont sous cette forme, ils ont une toxicité indirecte. Le danger vient des nitrites et autres composés formés à partir des nitrates qui eux ont une toxicité directe.

II.4.1.1. La méthémoglobinémie :

C'est l'effet le plus anciennement connu, et sûrement le seul scientifiquement prouvé, des nitrates.

L'hémoglobine assure le transport de l'oxygène dans l'organisme grâce à la présence de fer dans la molécule (à l'état bivalent : fer ferreux). Dans ce cas l'hémoglobine au contact de l'oxygène donne naissance à l'oxyhémoglobine qui assure la livraison d'oxygène aux divers tissus de l'organisme.

Si le fer est oxydé à l'état trivalent en présence des nitrites, l'oxyhémoglobine libère son oxygène et se transforme en méthémoglobine (MetHb) incapable de fixer l'oxygène. Il s'agit d'une oxydation de l'hémoglobine.



Stœchiométrie de la réaction entre l'ion nitrite et l'oxyhémoglobine [L'hirondelle, 1996].

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.

Les personnes les plus menacées sont les nourrissons de moins de six mois car leurs Hémoglobine se transforment assez facilement en méthémoglobine du fait que les nourrissons de moins de six mois boivent plus d'eau proportionnellement à leurs poids, et que leur estomac est faiblement acide et contient une flore bactérienne capable de transformer les nitrates en nitrites.

Il existe une enzyme qui régénère l'hémoglobine empêchant l'accumulation de méthémoglobine inactive, elle est appelée méthémoglobine- réductase ou NADH – cytochrome b5 réductase. Chez le nourrisson, cette enzyme est inactive ce qui renforce sa sensibilité.

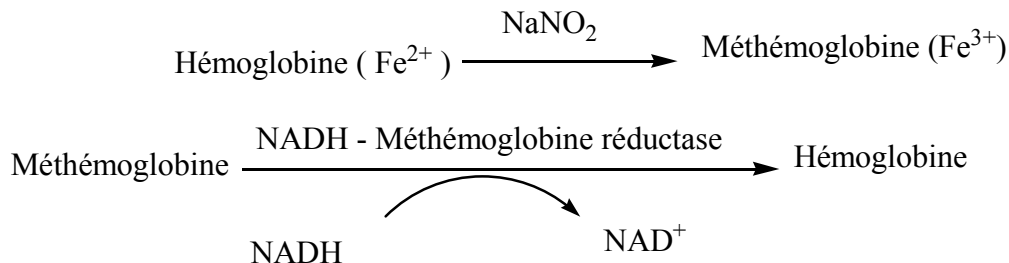


Figure 4 : Réduction de la méthémoglobine par transfert d'un électron du NADH.

II.4.1.2. Autres effets :

Les nitrosamines peuvent se former in vivo par réaction de nitrites à p H inférieure à 3 (et donc de leurs précurseurs, les nitrates) sur les aminés secondaires ou tertiaires présentes dans les denrées alimentaires et dans divers médicaments.

On possède peu de renseignements sur le métabolisme des nitrosamines chez l'homme, le risque de cancer n'a pas été démontré, malgré la mobilisation d'efforts de recherche [marie, 2002]. Il a été établi chez toute une gamme d'espèces animales que les composés nitrosés sont cancérigènes.

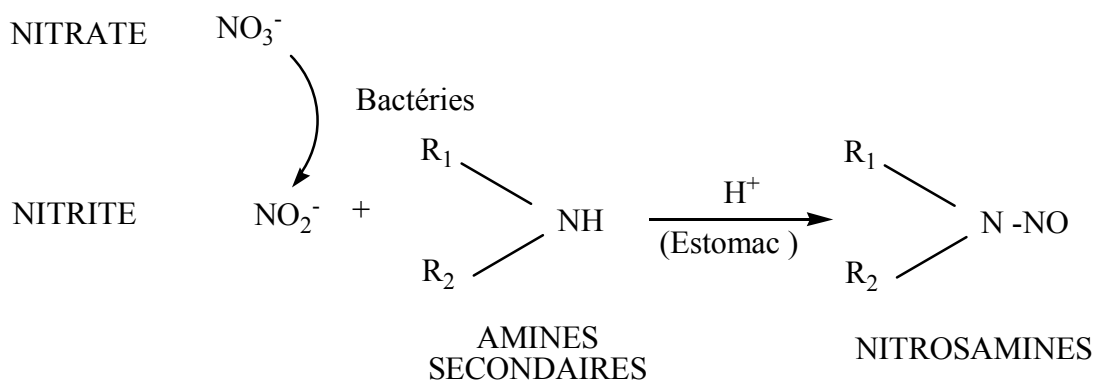


Figure 5 : Formation de nitrosamines à partir des nitrites et des amines dans le milieu acide de l'estomac [L'hirondelle, 1996].

II.4.2. Effets sur l'environnement :

L'augmentation des teneurs en nitrates dans les eaux a également un impact sur l'environnement, en présence des phosphates modifie l'équilibre biologique des milieux aquatiques [Jacques C, 2002].

II.4.2.1. Eutrophisation :

Les eaux de surface, riches en nitrates sont la principale cause de l'eutrophisation qui est une croissance excessive des micro algues (phytoplanctons) et des macro algues dans les rivières, les lacs et les zones littorales.

L'eutrophisation d'un milieu aquatique se caractérise par une prolifération de plantes et d'algues, qui réduisent la teneur en oxygène (l'anoxie), c'est à dire l'absence de l'oxygène dans l'eau et donc la mort de tous les poissons et invertébrés qui conduira par la suite à la mort de l'écosystème aquatique en quelques décennies voire même en quelques années. On parle alors d'hyper eutrophisation ou encore de dystrophisation.

Le problème d'eutrophisation s'est accentué en Algérie ces dernières années.

L'Eutrophisation a causé ces dernières années une situation alarmante, Par le biais des oueds le barrage Ghrib à Ain Defla reçoit d'une part les rejets de plusieurs agglomérations et d'autre part les engrais agricoles qui ont provoqué au cours de ces dernières années une eutrophisation croissante de cet écosystème [Mamaïdi M.S. et al, 2009]. ainsi dans le lac Tonga (El kala, Est Algérien). (Figure 6) où une grande partie de la surface du lac est couverte par les algues et il est devenu inutilisable pour la récréation, de même que la zone humide d'El Kennar Nouchfi, le site de Ghedir Béni Hamza (W de Jijle) (Figure 7) Le marais est aussi caractérisé par une exceptionnelle prolifération de nénuphars blancs.



Figure 6 : L'eutrophisation dans le lac Tonga (W d'El Kala) aout 2010



Figure 7 : L'eutrophisation dans le lac Ghedir Beni Hamza (W de JIJEL) Avril 2010.

II.4.2. 2. Les marées vertes :

C'est un phénomène particulier d'eutrophisation marine côtière due à l'enrichissement des eaux en nutriments. Il s'agit de la prolifération massive de certaines espèces d'algues vertes, du genre *Ulve*. Les ulves se développent dans l'eau de mer suite aux quantités suffisantes de sels nutritifs azotés et phosphorés.

La prolifération s'accélère en printemps (mai -juin) pour aboutir en général à une biomasse maximale en début d'été, capable de recouvrir l'estron. Le phénomène est apparu en Bretagne au début des années 70 [Boquillet et al, 2007], où le lessivage important des terres agricoles conduisait à l'enrichissement des eaux en nitrates sur le littoral.

Le genre *Ulva* présente une très grande plasticité physiologique. La minceur du thalle et l'importance du rapport surface/volume permet d'augmenter les échanges avec le milieu ambiant [Menesguen, 2001]. ce genre est capable de s'adapter à des éclaircissements faibles ou élevés [Henley et al, 1991], 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.



Figure 8 : Individus de grande dimension d'*Ulva armoricana*, en suspension dans l'eau (Baie de Douarnenez, photo X.Caisey, IFREMER).

III. Les procédés d'élimination des nitrates :

Actuellement les procédés d'élimination des nitrates peuvent être classés en deux catégories :

- Les procédés physico-chimiques : échange d'ions, procédés membranaires, procédés électrochimiques.
- Les procédés biologiques : dénitrification hétérotrophe ou autotrophe.

III. 1. Les procédés physicochimiques :

On utilise le terme dénitratisation par opposition de la dénitrification qui correspond à une transformation biologique, trois types de traitements physico-chimiques peuvent être mis en œuvre.

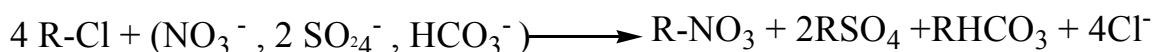
- Échange d'ions sur résines.
- Deux procédés membranaires osmose inverse et électrodialyse.

Le principe de ces procédés est de ne pas décomposer les nitrates, mais seulement de les extraire de l'eau à potabilité pour les restituer dans le milieu naturel sous forme plus concentrée [Sibony, 1983].

III. 1. 1. Echange d'ions :

Le traitement des eaux par échange d'ions est un procédé ancien et largement répandu aux Etats-Unis, la première réalisation industrielle de dénitratisation de l'eau potable par cette voie a été mise en route en 1974. En Grande-Bretagne, deux stations réalisées par l'Angian Water Authority ont démarré en 1976 et 1978. En France, il fallu attendre l'agrément des résines anioniques à cet effet(1985) [Marie, 2002].

Le principe de cette technique repose sur l'échange ionique entre les ions indésirables présents dans l'eau avec les ions chlorures contenus dans une résine en quantité équivalente selon la réaction suivante :



On distingue deux types de résines, des résines cationiques échangeurs d'ions électropositifs et des résines anioniques échangeurs d'ions électronégatifs. Dans le cas de l'élimination des nitrates on utilise les résines anioniques.

Les anions nitrates ne sont pas les seuls retenus, il existe même une sélectivité différente suivant l'espèce anionique. Du plus retenu au moins retenu dont l'ordre est le suivant :



Cette technique est très utilisée mais le seul inconvénient est le cout élevé surtout pour la régénération des résines [Simon, 1985]. Les résines possèdent une capacité d'échange limitée et doit être régulièrement régénérées par une solution fortement concentrée d'ions choisis. Ainsi selon l'ordre d'affinité ci dessus, une eau chargée par les sulfates pourra être gênante dans l'élimination des nitrates, donc les nitrates sont déplacés mais pas éliminés, Ils se

retrouveront d'une manière ou d'une autre sous forme de déchets, rejetés en station d'épuration des eaux usées, ou délivré à une industrie de fabrication d'engrais azotés.

III.1.2. Les procédés membranaires :

III.1.2.1. Osmose inverse :

L'osmose inverse c'est un procédé de diffusion entre deux solutions de concentration différente, en utilisant un film semi-perméable de faible épaisseur [Maurel A. 2006].

Sous l'action d'une certaine pression, la membrane laisse passer l'eau et s'oppose au passage des solutés (figure 9). Lors de l'osmose inverse, on inverse le processus en appliquant une pression supérieure à la pression osmotique.

Cette technique est bien développée pour le dessalement de l'eau de mer et reste limitée pour la dénitratisation [Balducci, 1994]. Le rendement dépend de la pression appliquée, de la concentration du soluté, et du flux demandé en eau traitée. Il peut varier de 85 à 95% (pression 30 à 60 bars).

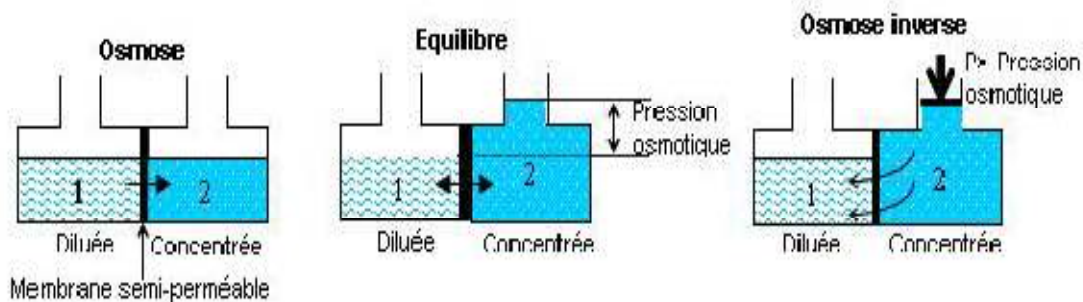


Figure 9 : schémas représentatifs du Principe de l'osmose et de l'osmose inverse

[Tansakul C, 2009].

La pression osmotique peut être calculée par la loi de Van't Hoff qui exprime que la pression osmotique exercée par un soluté est égale à la pression que ce corps aurait exercé dans l'état gazeux parfait dans le même volume (V) et à la même température (T). Si le soluté est dissocié en *i* ions, la pression osmotique sera *i* fois supérieure.

La pression osmotique d'une solution est proportionnelle à la concentration en solutés :

$$\Pi = i.C.R.T$$

Π : Pression osmotique (bar)

i : Nombre d'ions dissociés dans le cas d'un électrolyte

C : Concentration molaire (mol.L⁻¹)

R : Constante des gaz parfaits (0,082 L.bar.mol⁻¹K⁻¹)

T : Température absolue (K)

III.1.2.2. L'électrodialyse :

C'est une technique électro-membranaire qui consiste à éliminer les sels dissous d'une eau à travers une membrane sélectives sous l'action d'un champ électrique [Eckenfelder, 1982].

Le principe de l'électrodialyse est l'application d'un courant continu entre les électrodes d'une cellule, constituée de succession de cellules à compartiment de membrane semi perméables alternativement anioniques et cationiques.

Lors de l'action du champ électrique, la membrane anionique autorise le passage des anions et la membrane cationique laisse passer les cations. Les cations sortant du premier compartiment, en franchissant la membrane cationique, sont bloqués dans le deuxième compartiment par la membrane anionique. Les anions sortant aussi du premier compartiment en migrant à travers la membrane anionique sont bloqués par la membrane cationique. Dans le cas des nitrates, on a un compartiment sur deux riches en nitrates.

III.1.2.3. La nanofiltration:

C'est une technique membranaire récente, de séparation intermédiaire entre l'ultrafiltration et l'osmose inverse, dans la famille des procédés membranaires sous pression [Santafé-Moros, 2005.Garcia F, et al, 2006].Elle se base sur les membranes à pores nanométriques (< 2nm) porteuse de charges ioniques superficielles. La membrane est équipée d'un matériau organique ou minéral.

La nanofiltration fait retenir les molécules de masses moléculaires de 200 à 2000g/mol par effet physique et les ions sont retenues par effet électrostatiques. Elle est très utilisée dans le domaine pharmaceutique, pour la séparation de petites molécules à forte valeur ajoutée (antibiotiques).

Dans le cas des nitrates, la présence des sels a un effet marqué sur la rétention des nitrates. [Garcia et al, 2006]. Si on étudie l'influence de divers ions dans la solution de nitrate, on montre que les ions sulfates divalents ont causé la diminution de la rétention des nitrates suite à leur taille et des répulsions électrostatiques.

III.1.3. Procédés électrochimiques:

Cette méthode réside sur l'application d'une tension sur une électrode de Pt (ou Pd) activée avec du germanium [Gootzen J. F. E. et al, 1997]. Les électrons libérés conduisent à la réduction des nitrates et engendrent des espèces intermédiaires NO_2^- , NH_3 ...

Elle a été largement étudiée pendant les dernières années [Tada K., 2005]. Mais l'inconvénient de cette technique est dûe aux concentrations assez élevées en métal dissous tel que l'étain Sn^{2+} obtenue dans l'eau [Katsounaros I, 2006] qui n'est pas admis pour la consommation humaine.

III.2. Les procédés biologiques :

Les traitements biologiques occupent une place importante parmi les procédés mis en place pour éliminer les nitrates. La dénitrification biologique permet l'élimination des nitrates par leur réduction en azote gazeux. Lors de la dénitrification (respiration des nitrates), le nitrate joue le rôle d'accepteur d'électrons dans l'oxydation de composés oxydables sous les conditions anaérobies. Le produit ultime de la réduction est l'azote gazeux.

III.3. Les avantages et les inconvénients des procédés d'élimination des nitrates :

Le tableau 4 montre les avantages et les inconvénients des différents procédés d'élimination des nitrates.

Tableau 4 : Avantages et inconvénients des différents procédés d'élimination des nitrates.

Procédé	Avantages	Inconvénients
biologique	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Elimination totale des nitrates. ▪ Probabilité faible de formation de sous-produits toxiques. ▪ Spécifique des nitrates. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Faible à basses températures. ▪ surveillance suivie.
Résines échangeuses d'ions	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fiable en toutes circonstances. ▪ Adaptable à un fonctionnement automatique peu sensible aux basses températures. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Complexité du cycle CO₂ dépend de la qualité de l'eau brute. ▪ Non spécificité des espèces retenues (SO₂⁻, Cl⁻). ▪ Nécessité d'une régénération de résine. ▪ L'eau traitée peut être corrosive. ▪ Rejets très concentrés en nitrate.
Osmose inverse	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Procédé bien maîtrisé fiable en toutes circonstances. ▪ Peut fonctionner en automatique. ▪ La composition de l'eau brute a peu d'importance. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Modifie la qualité de l'eau initiale (l'eau traitée peut être corrosive). ▪ Traitement non spécifique. Coût élevé. ▪ Problème d'évacuation des éluats riches en nitrates. ▪ Durée de service des membranes.
Electrodialyse sélective	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ne nécessite pas de régénération. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Spécificité moyenne pour des rendements limités. ▪ Nécessité d'un prétraitement. ▪ Ponctualité de rejets concentrés.

III.4. Choix de notre traitement :

Le Tableau 4 ci-dessus résume les avantages et inconvénients des méthodes utilisées pour l'élimination des nitrates de l'eau potable. On remarque que les processus biologiques ont l'avantage de ne générer aucun déchet secondaire contrairement aux méthodes physico-chimiques.

Les traitements biologiques apparaissent comme les mieux adaptés dans la majorité des cas, en raison de leur facilité de mise en œuvre et de leur coût modéré.

IV. Elimination biologique des nitrates :

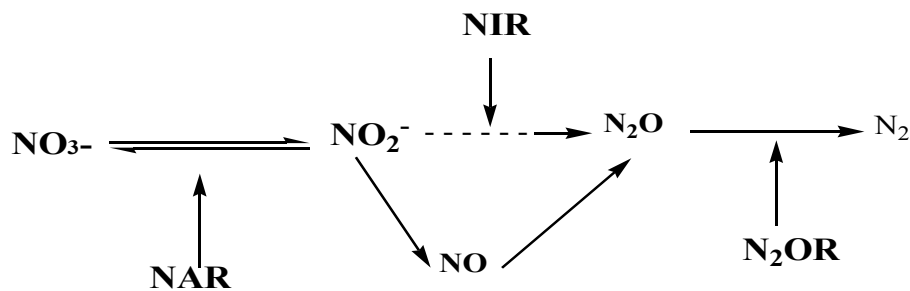
On rappelle en premier temps le processus de la dénitrification biologique.

IV.1. La dénitrification biologique :

La dénitrification est utilisée comme une solution pour l'élimination de la pollution nitrique dans notre partie expérimentale.

La dénitrification n'est qu'une alternative à la respiration classique de l'oxygène, le nitrate ou l'un des intermédiaires est utilisée comme accepteur final d'électrons transférés le long de la chaîne respiratoire [Tiedje, 1988].

Les oxydes d'azote solubles, nitrates (NO_3^-) ou nitrites (NO_2^-), sont transformés en composés gazeux : oxyde nitrique (NO) protoxyde d'azote (N_2O) et/ou azote (N_2) comme indique la chaîne de réactions suivante :



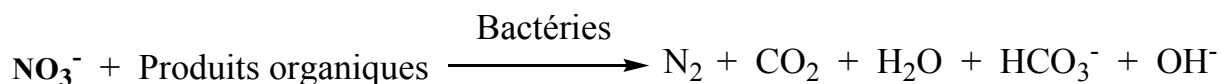
On distingue que chaque étape est catalysée par une enzyme particulière : nitrate réductase (NAR), nitrite réductase (NIR), oxyde nitrique réductase (NOR), et oxyde nitreux réductase (N_2OR) [Cavigelli et al, 2001]. Il y a deux types de dénitrification :

La dénitrification autotrophe et la dénitrification hétérotrophe (utilisation du carbone organique comme source d'énergie).

IV.1.1. La dénitrification hétérotrophe :

Les premières installations françaises d'élimination des nitrates en eau potable ont mis en œuvre la réaction de la dénitrification hétérotrophe.

La dénitrification hétérotrophe est la réaction la plus utilisée dans les procédés biologiques mis en œuvre à l'échelle industrielle. La réaction peut se schématiser comme suit :



Il existe une vingtaine d'espèces de bactéries strictement dénitrifiantes, la plupart d'eux permettent la dénitrification hétérotrophe. Parmi les plus reconnues on trouve les *Pseudomonas* et *Bacillus* [Paynes, 1985].

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. La dénitrification hétérotrophe requiert un donneur d'électrons d'un composé organique (méthanol, éthanol, glucose,...) [Bougard, 2004].

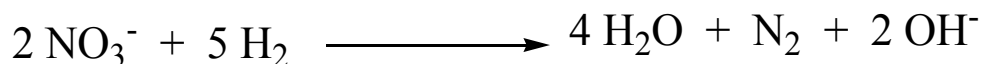
En absence d'oxygène, ces bactéries dénitrifiantes, souvent anaérobies facultatives, vont utiliser l'oxygène des nitrates comme accepteur final d'électrons. Certaines de ces bactéries ne peuvent accomplir qu'une ou deux étapes de la dénitrification.

IV.1.2. La dénitrification autotrophe :

La dénitrification autotrophe permet de réduire les nitrates en azote gazeux dans des conditions anoxiques par l'utilisation d'une source d'énergie inorganique, hydrogène ou soufre ou fer métallique. Les bactéries impliquées ont une cinétique très lente, le temps de contact et la vitesse de percolation utilisée étant faible (0,5 à 1m/h) rendent ces techniques plus difficilement applicables à l'échelle industrielle [Marie, 2002]

IV.1.2.1. La dénitrification à l'hydrogène :

La dénitrification biologique autotrophe peut avoir lieu avec l'hydrogène comme donneur d'électrons selon la réaction suivante [Kurt et al, 1987].



Elle est réalisée par des bactéries de type *Paracoccus* dénitrificans et *Alcaligenes* eutrophus [Tiedje et al, 1982; Teidje, 1988].

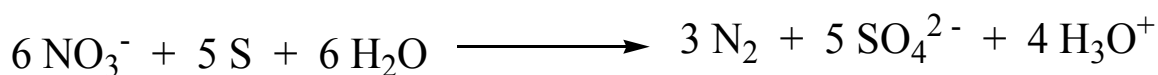
L'oxydation de l'hydrogène fournit aux bactéries l'énergie suffisante à la réduction des nitrates en azote gazeux. Le pH de l'eau augmente au cours de la réduction. En pratique, 9g d'H₂ sont nécessaires pour éliminer 100 g de nitrate [Dries, 1988].

Les avantages de ce procédé sont l'élimination complète des nitrates avec rejet d'azote gazeux, par ailleurs l'hydrogène n'élimine pas le substrat en excès dans les postes de traitements.

Les inconvénients du procédé sont liés à l'utilisation de l'hydrogène (stockage et risque d'explosion) et à la nécessité d'un temps de contact élevé (donc dimensionnement). Pour les temps de contact faibles, la décomposition des nitrates est incomplète et s'accompagne à mesure de l'augmentation du pH d'une formation de nitrites (Cloirec, 1998).

IV.1.2.2. La dénitrification sur support soufré:

Le soufre jouant le rôle de donneur d'électrons, la chaux servant à maintenir le PH, ce qui donne son nom au procédé (procédé soufre /chaux), la réaction peut être schématisée ainsi :



Cette réaction est catalysée par des bactéries autotrophes anaérobies du genre thiobacillus qui ont la capacité de réduire les nitrates en oxydant de nombreux composés soufrés comme : S^{2-} , S , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$, SO_3^{2-} et même H_2S .

Les Thiobacillus dénitrifiant a un pH optimum de croissance qui se situe entre 6,2 et 7,4 [Belcon et al, 1997].

IV.1.2.3. La dénitrification par le fer métallique :

Le principe de ce procédé se base sur la dénitrification autotrophe, avec pour accepteur d'électrons le fer métallique.

Les différents processus redox pouvant se produire en milieu naturel montrent que la dénitrification d'eaux pauvres en matières organiques est également possible en présence de fer ferreux.

IV.2. Techniques biologiques d'élimination de la pollution azotée :

Les principaux systèmes biologiques de dépollution azotée consistent :

- À la première étape, à oxyder l'azote ammoniacal en azote nitrique en milieu aérobie (nitrification).
- À la seconde étape, à réduire les nitrates formés en azote gazeux en condition anoxique (dénitrification).

Les microorganismes utilisés peuvent être soit en culture libre (système à boues activées), soit en culture fixée [Patureau, 1995]. Quelle que soit l'option technologique choisie, on trouve ensuite des systèmes à boues séparées et d'autres à boues uniques.

IV.2. 1. Les procédés à biomasse libre :

IV.2.1.1. Les Configurations de base : Les systèmes à boues activées :

Historiquement, le premier objectif des installations de traitement des eaux usées était l'élimination de la pollution carbonée. La nitrification, mieux connue mieux maîtrisée que la dénitrification, a été ajoutée à ces installations. Les procédés de la dénitrification sont apparus plus tardivement et se sont intégrés aux systèmes nitrifiants préexistants. L'un des premiers schémas proposés (figure 10) était l'association dans un même bassin aérobie de la dépollution carbonée et de la nitrification, suivie d'un bassin anoxique permettant la dénitrification.

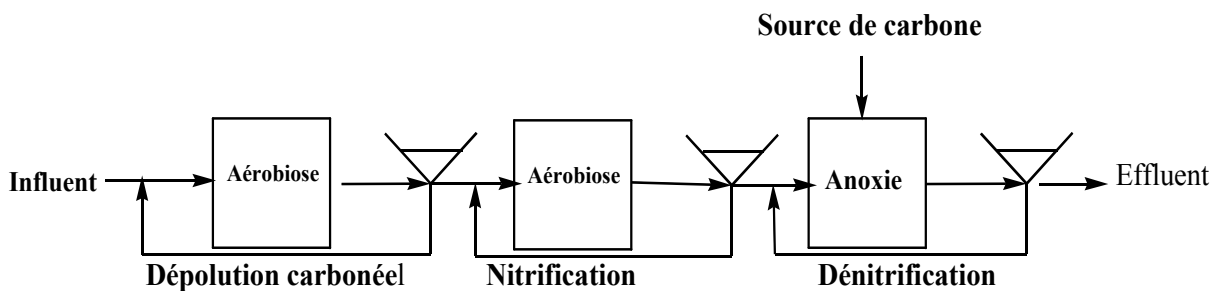


Figure 10: Procédé classique à boues activées [d'après Barnard et al, 1998].

Une telle approche a nécessité l'ajout d'une source de carbone externe au niveau du bassin de dénitrification (méthanol ou acétate). Afin d'éviter l'ajout de carbone exogène, Ludzack-Ettinger ont proposé un système (figure 11) où la dénitrification a lieu en tête et utilise le carbone présent dans l'effluent. Celui-ci ensuite envoyé dans le réacteur de nitrification avec un recyclage des nitrates produits dans la zone aérobie.

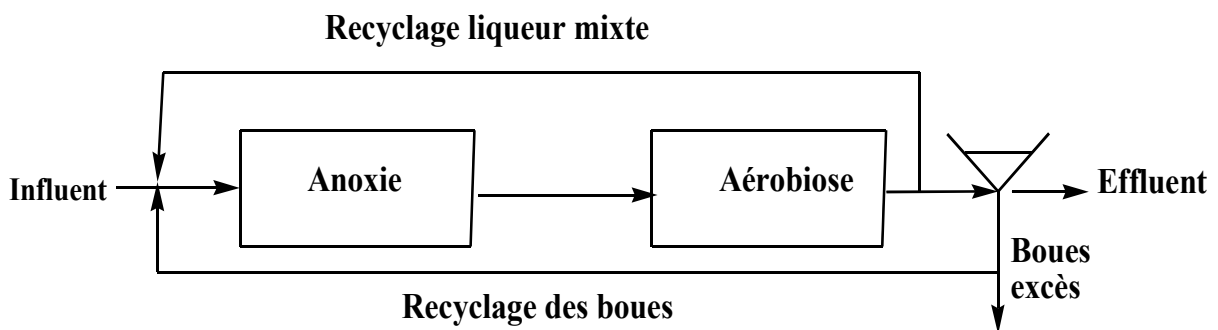


Figure 11 : modèle de Ludzack-Ettinger modifiée [Cooper et al, 1994].

L'avantage de ce modèle c'est l'optimisation d'utilisation de la DCO et de limiter la déstabilisation de la flore nitrifiante par la croissance d'hétérotrophes comme dans le modèle précédent.

En 1973, Bernard complète le modèle précédent (figure 12) en ajoutant un troisième bassin anoxique après le bassin aérobie nitrifiant, permettant la dénitrification avec le carbone endogène, et un quatrième bassin aéré qui assure le dégazage du dioxyde de carbone, l'augmentation du pH et la précipitation du phosphate (modèle Berdenpho). La dénitrification dans cette seconde zone anoxique est généralement très faible et est par fois réalisée par ajout de méthanol. Tous ces modèles ont été largement utilisés durant les 25 dernières années avec des performances de 85 à 95% en élimination de l'azote et des concentrations finales de moins de 10mg N.l^{-1} [cooper et al, 1994].

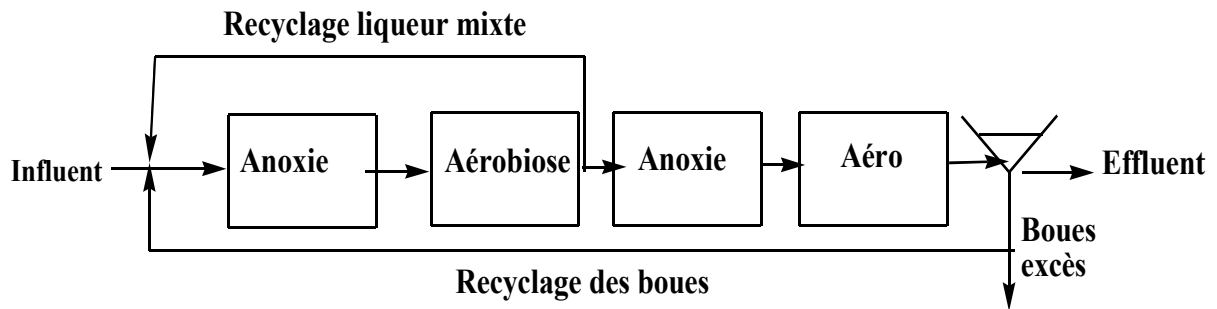


Figure 12 : Modèle de Barnard de 1973.

Il existe aussi des systèmes à un seul réacteur où nitrification et dénitrification sont réalisées soit dans des zones différentes (cas du chenal d'oxydation), soit en alternant des phases d'aération et de non aération dans une même zone (cas du SBR).

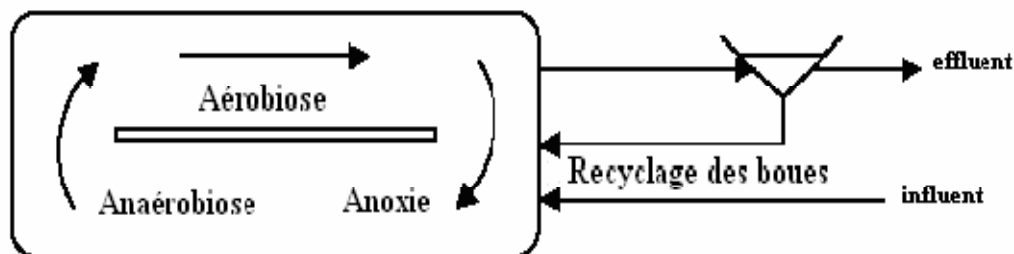


Figure 13: Chenal d'oxydation [Cooper et al, 1994].

IV.2.1.2. Le SBR :

Le SBR (Sequencing Batch Reactor) est un réacteur à biomasse libre, considérablement mélangé dans lequel l'alimentation et le soutirage se font de manière séquentielle.

Le principe de fonctionnement se fait par répétition de cycles identiques, et chaque cycle est divisé en quatre étapes : l'alimentation, la réaction biologique, la décantation et la vidange (figure 14

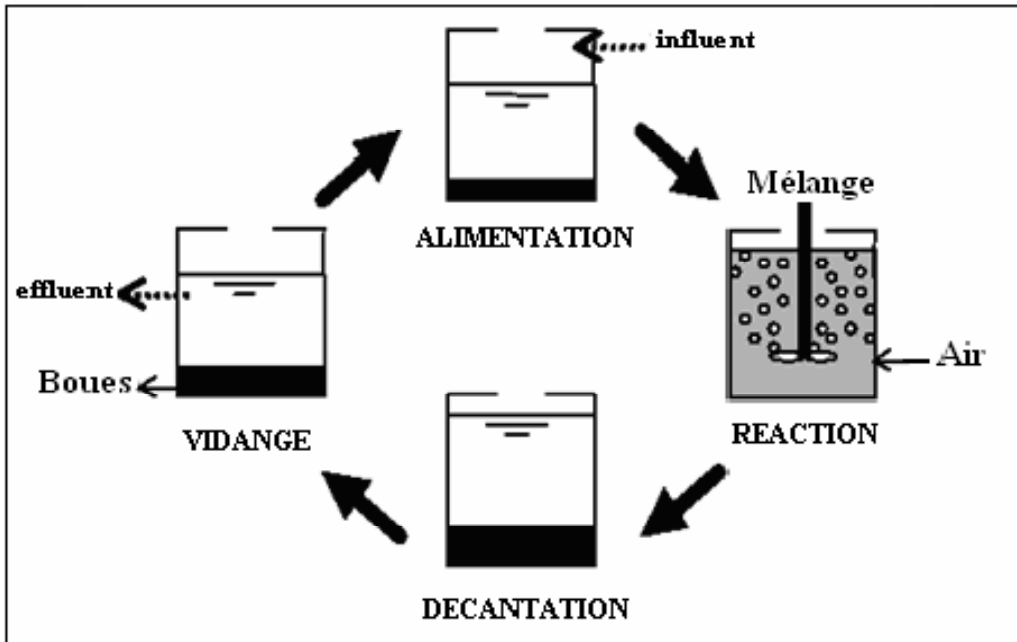


Figure 14 : Principe de fonctionnement du réacteur SBR (Torrijos et al, 2000).

La réaction du couplage nitrification / dénitrification dans un même réacteur se divise en deux phases : une phase aérobie pendant le transfert de l'azote ammoniacal en nitrate et phase d'anoxie en arrêtant l'aération pour la dénitrification, la phase d'aération vient directement après la phase anoxie, pour que la DCO soit élevée dans l'effluent. Les performances du SBR sont en fonction de la durée de chaque phase et du volume relatif amené à chaque cycle. Les débits d'alimentations journaliers (DAJ) peuvent fixer le temps de séjour hydraulique ainsi que la charge appliquée.

Le SBR est utilisé pour traitement d'eau de digesteur de boues (ou il peut rester de 800 à $1000 \text{ mg N-NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$) avec des efficacités moyennes de $1 \text{ Kg. N. m}^{-3} \cdot \text{J}^{-1}$ [Mossakowska et al, 1977]. Il est également utilisé pour les traitements d'effluents industriels comme les lisiers de porc, les effluents d'abattoir et les lixiviats de décharge [Mace et Mata-Alvarez, 2002].

IV.2. 1.3. Les réacteurs à membranes :

Afin d'éviter la perte de biomasse, les systèmes à boues activées sont complétés par une unité de séparation membranaire qui sert à retenir et recycler la biomasse. Le fonctionnement de cette méthode comme un réacteur à cellules immobilisées et les concentrations en biomasse dans ce type de système peuvent atteindre $120 \text{ Kg} \cdot \text{m}^{-3}$ [Dos Santos et al, 1999]. Comme il peut être utilisé en aérobie ou en anaérobie pour la nitrification /dénitrification. Suite à une configuration d'aération discontinue sur un lixiviat de décharge, des performances d'élimination de l'azote peuvent parvenir $0,7 \text{ Kg N} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{j}^{-1}$ [Van Dijk et Roncken, 1997].

Les inconvénients des procédés à membranes c'est le coût élevé de fonctionnement, il utilise plus d'énergie que les procédés classiques, pour assurer la recirculation de l'effluent et la perméabilité à travers la membrane, ainsi que le colmatage des membranes est un frein pour cette technique, c'est pour cette raison que ce type de procédé est peu utilisé dans le traitement de l'azote en station d'épuration.

IV.2. 2. Les procédés à biomasse fixée :

Le principe est basé sur l'utilisation de la capacité naturelle des microorganismes à se fixer sur un support solide, granulaire, fixe ou mobile, immergé ou non (Figure 15)

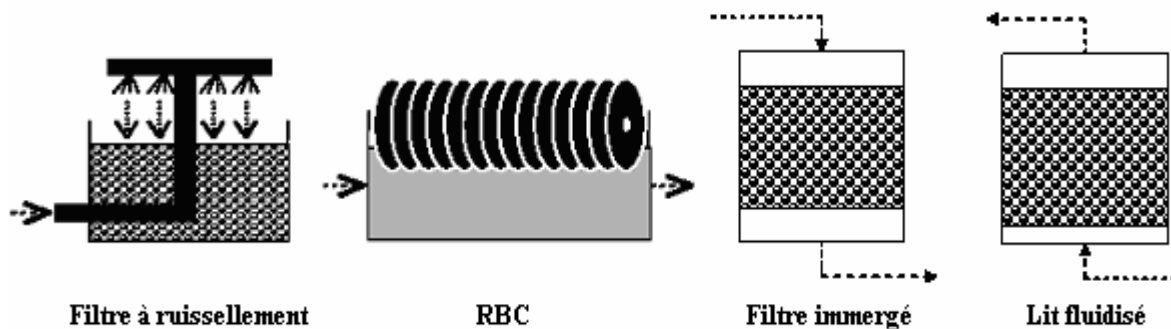


Figure 15 les principaux modèles de traitement de l'azote par immobilisation de la biomasse [Sorensen et Jorgensen, 1993].

IV.2. 2.1. Le lit bactérien à ruissellement :

C'est l'un des plus anciens systèmes à cellules immobilisées utilisés. Dans ce type de réacteur, la biomasse est fixée sur un support solide, circulaire surmonté d'un distributeur

rotatif. L'effluent à traiter est donc introduit par le haut et s'écoule par gravitation sur le lit bactérien. Le principal inconvénient de ce type de bio filtre est l'absence de colonisation par la biomasse de la base du réacteur, si bien qu'une augmentation de la charge en azote ammoniacal peut entraîner une baisse de performance par non élimination du surplus ammoniacal.

IV.2. 2.2. Les contacteurs biologiques rotatifs (RBC) ou bio disques :

Les procédés à contacteurs biologiques rotatifs (RBC) sont constitués de disques plus ou moins immergés (40-60%) dans un réservoir à flux continu, tournent à une vitesse d'environ 1 rpm et sur les quels s'est développée la biomasse. Le biofilm est donc successivement en contact avec l'air et avec l'effluent à traiter. Ces installations sont surtout conçues pour des procédés aérobies comme la nitrification, mais ils peuvent être également utilisés pour la dénitrification par immersion total des disques, et diminution de la pression partielle en oxygène. Les rendements d'élimination de l'azote observés dans ce type de procédé sont de l'ordre 0,2 à 0,5 Kg N. m⁻³. j⁻¹ [Gupta et al, 1994].

IV.2. 2.3. Les réacteurs (ou biofiltres) immergés :

Les biofiltres immergés se constituent d'un milieu réactionnel rempli d'un solide sur lequel vont se fixer les bactéries. Le garnissage est un support inerte de nature variée (roche, verre, plastique) et de formes diverses, cubes, sphères, lamelles, grillages).

La fixation sur un support poreux granulaire immergé de la biomasse active permet de combiner à la fois la filtration dans la masse et la capacité épuratoire des microorganismes. Les procédés utilisés en nitrification/ dénitrification sont nombreux et ont des caractéristiques variables. Ils diffèrent d'une part par l'utilisation des biomasses, par la nature du matériau de garnissage, par les caractéristiques du flux de l'effluent (sens et vitesse), par choix du système de lavage [Dupain, 1992].

L'inconvénient principal de ces deux systèmes, lors d'un fonctionnement en dénitrification, est le colmatage du bio filtre entraînant un dysfonctionnement caractérisé par la production de nitrate.

IV.2. 2.4. Les réacteurs à lit fluidisé :

La tendance actuelle est à la mise en place de système à lit fluidisé. Les particules-supports, de taille plus petite qu'en lit fixe (généralement du sable), fluidisées par recirculation continue de l'effluent ou par ajout de gaz, permettent la fixation d'une quantité

de biomasse supérieure et la diminution de la fréquence des lavages. Les performances de ces types de procédés peuvent aller jusqu'à 90-95% de dénitrification.

Ces différents exemples de procédés en culture libre ou fixée montrent que la tendance actuelle s'oriente vers la combinaison de l'élimination des différentes pollutions tout en rendant plus compactes les unités de traitement et vers l'amélioration des performances des systèmes par utilisation de technologies nouvelles comme les lits fluidisés ou les réacteurs à membranes. Cette orientation passe par une connaissance accrue des différentes réactions biologiques et des possibilités d'interaction entre ces différentes voies. Il existe déjà des procédés combinant nitrification et dénitrification dans un même réacteur, mais ces deux réactions sont toujours, soit temporellement, soit spatialement, séparées et réalisées dans leurs propres conditions. Or, des études récentes sur la physiologie de nitrification / dénitrification ont montré des comportements atypiques de microorganismes, comme la capacité de bactéries nitrifiantes à réduire le nitrate en protoxyde d'azote ou en azote sous stress anaérobie ou encore la capacité de certaines souches à dénitrifier en conditions aérobies.

V. Les populations des micro-organismes :

Les micro-organismes sont définis comme un ensemble de populations, et recouvre un très large éventail d'entités. Caractérisé par une grande diversité taxonomique. En écologie microbienne, le terme micro- organisme montre un ensemble d'espèces bactériennes qui sont en interaction dans un même écosystème ou milieu et qui partagent une même fonction.

Selon un critère morphologique, trois formes prédominantes sont observées dans la nature :

- Les micro-organismes cylindriques dites en bâtonnet.
- Les micro-organismes sphériques ou coccoïdes.
- Les micro-organismes spiraux.

Comme il peut y avoir d'autres variantes, telles que les micro-organismes filamenteuses et les formes pédonculés.

Dans certaines conditions de stress : pH inapproprié, température excessive ou trop basse, carence nutritive...certains micro-organismes sont capables de développer des formes de résistances appelées spores. Ces formes, d'origines diverses, endospores, spores hyphales ou kystes, permettent la survie des micro-organismes durant de longs laps de temps.

Les micro-organismes sont classés dans deux grands groupes basés sur leurs besoins nutritionnelles [Oteng et Gyang, 1984]. Les micro-organismes autotrophes utilisent le carbone minéral comme unique source de carbone, alors que les micro-organismes hétérotrophes utilisent le carbone organique.

Les différentes catégories de micro-organismes (Annexe 1) peuvent être également classées selon leur source d'énergie [Scriban, 1994, Kermarrec, 1999].

V.1. Conditions nutritives :

Tout organisme doit rencontrer dans son milieu les éléments et les molécules nécessaires à son édification et à sa substance. Ces matériaux s'appellent des nutriments [Stanier, 1976].

La majorité des micro-organismes intéressant l'industrie alimentaire sont des hétérotrophes : ils nécessitent la présence obligatoire d'une (et parfois de plusieurs) substance(s) organique(s) servant de source d'énergie.

Les éléments nécessaires à la croissance sont C, O, H, N en quantité importante, P et S en quantité plus faible et enfin des oligo-éléments en quantité très faible (Ca, CO, Cu, K, Mg, Mn, Na, Fe, Zn, etc.) (Annexe2).

La molécule organique énergétique apporte en même temps le carbone, l'hydrogène, souvent l'oxygène supplémentaire l'azote, le phosphore et le soufre peuvent être tiré de molécules organiques ou minérales variées.

V.2. Les facteurs physico-chimiques :

Outre les exigences nutritives, le développement des micro-organismes est sous la dépendance de différentes conditions physico-chimiques dont les plus importants sont :

V.2. 1. L'eau :

La vie sur la terre est toujours associée à la présence de l'eau. Les fonctions biologiques des micro-organismes et surtout leur reproduction ne peuvent s'effectuer qu'en présence d'une certaine quantité de ce liquide. Il contribue à la masse d'une bactérie pour 80% ou plus [Scriban, 1994]. Au cours de la croissance, les substances nutritives et les déchets pénètrent et quittent respectivement la cellule en solution, les bactéries ne peuvent donc croître que dans ou sur des matières contenant suffisamment d'eau libre.

V.2.2. Le pH :

Les micro-organismes ont un comportement variable par rapport au pH. Les limites de pH pour la croissance et la reproduction bactérienne ont été étudiées par de nombreux auteurs, en particulier [Baas-Becking et col, 1960]. Les systèmes de bio-oxydation utilisés classiquement tolèrent une gamme de pH allant de 5 à 9 avec une zone optimale de 6 à 8.

En milieu anaérobie, la gamme possible est même plus réduite avec un pH de 6.8 à 7.5 [Boeglin]. Donc la plupart des micro-organismes se développent à un pH neutre, mais certains ont besoin d'un milieu acide (bactéries acidophiles) ou d'un milieu basique (bactéries alkaliphiles) comme indique sur la figure 16.

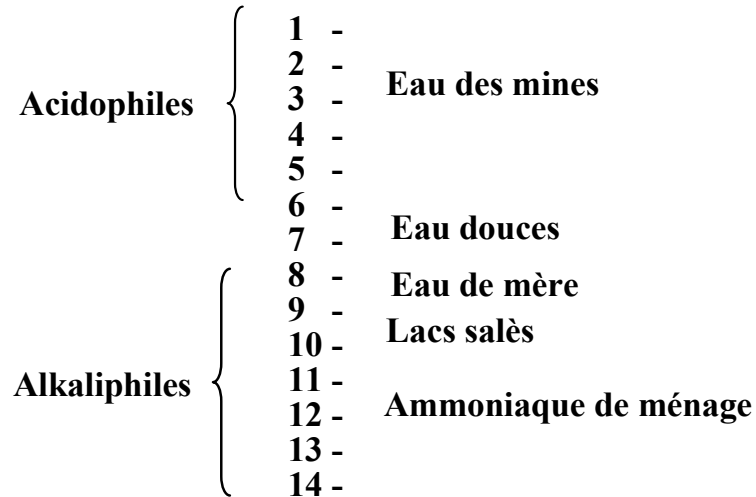


Figure 16 : Echelle de pH reliés à quelques environnements [Madigan M. 2000].

V.2.3. La température :

Cinq catégories de micro-organismes sont différenciées sur la base de leurs températures de croissance pour déterminer le type, comme indiqué sur la Figure 17

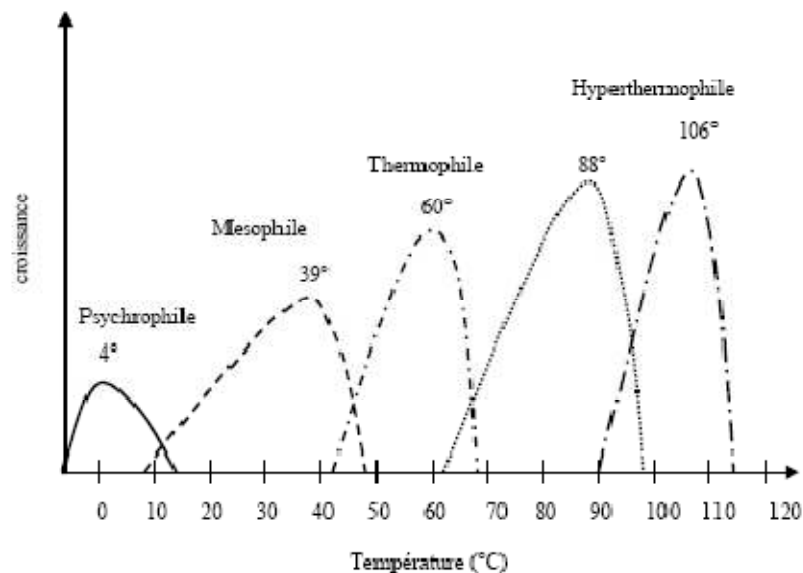


Figure 17 : Schéma reliant la croissance des micro-organismes à la température [Madigan M. 2000].

Les micro-organismes psychrophiles poussant de -15 à 10°C, on les trouve dans des environnements très froids, comme les glaces polaires. Les micro-organismes mésophiles dont la croissance est possible entre 10 et 45°C, mais la température optimale est comprise entre 30 et 37°C. On les trouve dans les environnements agroalimentaires, médicaux et environnementaux. Entre ces familles de micro-organismes, il existe des micro-organismes dits psychrotrope dont la température optimale de croissance est de 20°C mais qui sont capables de se développer entre 0 et 40°C. Ces micro-organismes se trouvent dans les eaux, la terre des climats tempérés et dans certains produits réfrigérés. Les micro-organismes thermophiles et hyper thermophiles sont présents dans les sources hydrothermales, le long du gradient de température.

V. 2. 4. L'oxygène :

Les micro-organismes possèdent des modes respiratoires variés : certains nécessitent de l'oxygène pour leur croissance alors que, pour d'autres, l'oxygène peut être délétère [Marchandin H, 2007]. On distingue selon ces modes respiratoires différents groupes de micro-organismes :

- ✓ Les micro-organismes aérobies stricts : ne sont pas capables de se développer en absence d'oxygène.
- ✓ Les micro-organismes anaérobies stricts : ne sont pas capables de se développer en présence d'oxygène.
- ✓ Les micro-organismes aéro-anaérobies facultatifs : sont capables de se développer en présence et en absence d'oxygène.
- ✓ Les micro-organismes microaérophiles : se développent uniquement lorsque la teneur en oxygène est réduite.

V. 3. Potentiel d'oxydo-réduction :

Ce facteur dépend de la nature des substances contenues dans le milieu (oxydantes ou réductrices) mais également de l'aération et de la texture du produit qui favorise ou non les transferts gazeux [guiraud, 1997].

V. 4. Toxicité

Généralement les substances ont un effet toxique sur l'activité des micro-organismes. Il peut y avoir inhibition partielle ou totale de l'épuration selon la nature de la substance incriminée ou

sa concentration. La plupart des substances minérales et des métaux sont toxiques tant pour les systèmes biologiques, aérobie qu'anaérobie. Il en est de même pour de nombreux composés organiques.

Sachant que les métaux sont souvent absorbés et concentrés dans les boues. Pour certains polluants tels que les cyanures et les phénols, la population bactérienne s'acclimata à une certaine concentration de ces substances, le plus souvent par formation de souches adaptées [Boeglin]

V.5. Les techniques classiques de la mesure de croissance :

L'étude de la croissance bactérienne ne peut être faite valablement que si l'on dispose de techniques appropriées d'évaluation de la population microbienne dont on souhaite étudier l'évolution. Les deux méthodes de mesure de la croissance d'une population des microorganismes les plus couramment utilisées sont [Mc Meeking T. et al, 1993].

- Le dénombrement des cellules viables sur boîte de Pétri.
- La mesure de la biomasse par turbidimétrie [Delignette-kuller M.L, 1995].

La première technique nécessite l'ensemencement par un échantillon de la suspension bactérienne d'une boîte de pétri et une culture au terme de laquelle sont comptées les colonies (figure 18). Cette technique suppose qu'à un microorganisme déposé au départ de pétri correspond après culture exactement une colonie. La croissance est ainsi mesurée en unités formant colonie (UFC). La méthode est très simple mais peut être coûteuse en temps et en matériel et peut conduire à l'obtention de cinétiques constituées d'un nombre limité de points expérimentaux.

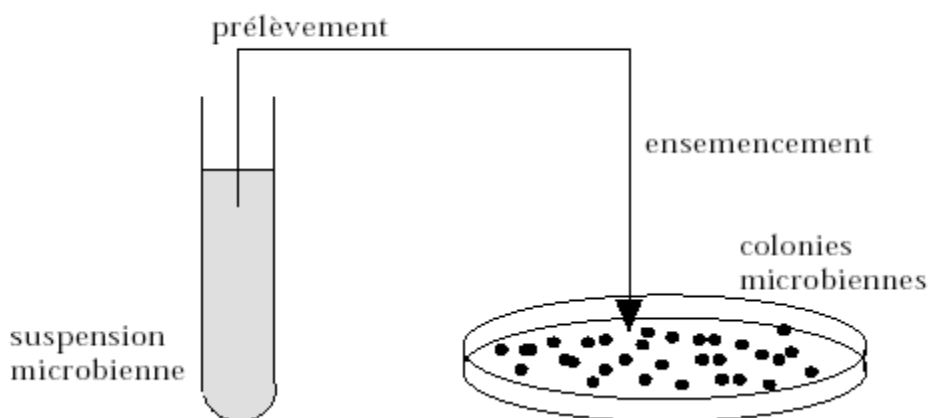


Figure 18 : Technique de dénombrement sur boîte de pétri [Delignette-Muller, 1995].

La deuxième technique ne consiste pas à compter directement les cellules mais à mesurer la biomasse bactérienne. C'est-à-dire la masse cellulaire sèche totale [Meynell G. G. et al, 1970]. L'augmentation de la biomasse bactérienne accompagnant la croissance d'une population de microorganismes entraîne l'opacification du milieu de culture, les techniques turbidimétriques permettent de suivre l'évolution de la biomasse bactérienne par la mesure de la densité optique (DO). Cette variable définie comme logarithme du rapport entre l'intensité I_0 du faisceau incident et l'intensité I du faisceau transmis, caractérise l'opacité d'un milieu (figure19).

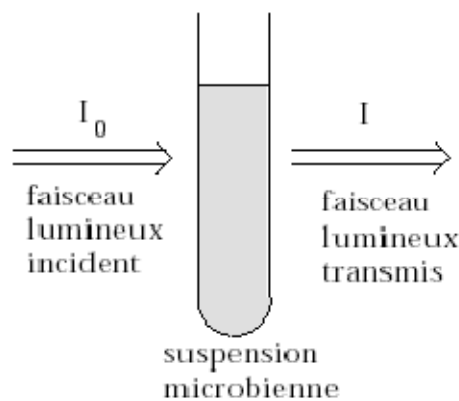


Figure 19 : technique turbidimétrique de mesure de la biomasse

V.5.1. Schéma de croissance bactérienne :

L'étude de la croissance d'une population bactérienne permet de suivre la courbe le long du cycle. Lorsque des micro-organismes sont cultivés en milieu liquide, ils se développent dans un système fermé, culture en (batch) ou discontinue : ils sont incubés dans un flacon fermé contenant un seul lot de milieu. Comme il n'y a pas d'apport de milieu frais au cours de l'incubation, la quantité d'éléments nutritifs diminue et la concentration de déchets augmente.

Le cycle est également représenté sous forme d'une courbe de croissance correspondant au suivi de la population (densité de population N) ou au suivi de la biomasse (densité de la biomasse X), éventuellement après transformation logarithmique, en fonction du temps. Depuis la première description de [Buchanan, 1918], il est classique de distinguer plusieurs phases dans la croissance des cultures des micro-organismes. Ces phases sont caractérisées par certaines valeurs ou variations de la vitesse de multiplication de la culture. On reconnaît classiquement les sept phases successives suivantes (Figure 20) :

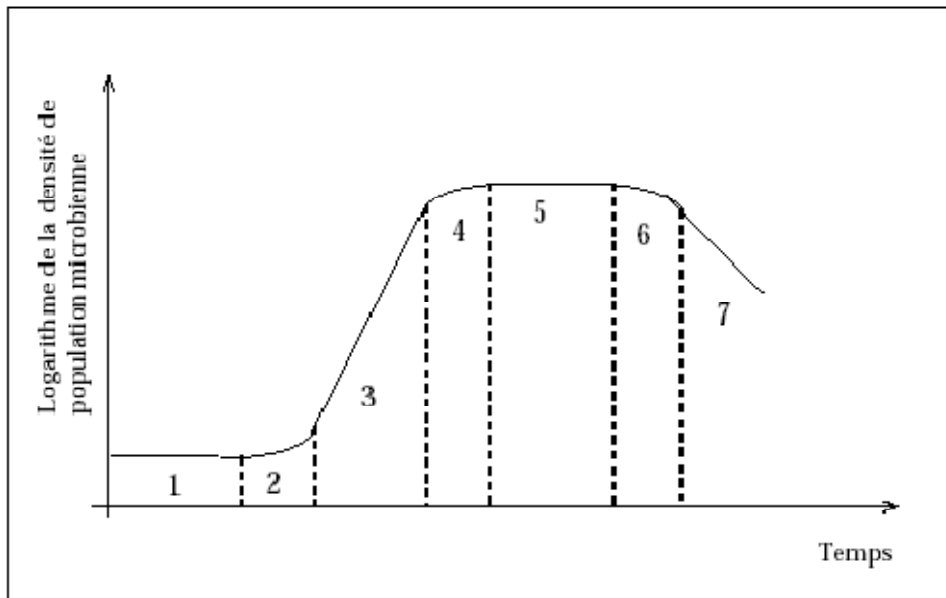


Figure 20 : les phases de croissance établies par [Buchanan, 1918].

a. Phase de latence

Il s'agit d'une période d'adaptation au cours de laquelle la cellule synthétise en particulier les enzymes qui lui sont nécessaires pour métaboliser le substrat présent [Reatz et Bauer, 2001].

Au cours de cette phase, il n'y a pas de reproduction cellulaire :

$$X = \text{cte} = X_0$$

X : la concentration cellulaire (nombre de cellule ou concentration en biomasse bactérienne par unité de volume de culture).

X_0 : la concentration cellulaire au temps $t = 0$.

La vitesse de croissance ($dX/dt = 0$).

b. Phase d'accélération de croissance

Lorsque la phase d'adaptation précédente est terminée, on assiste au démarrage de la croissance proprement dite : la reproduction cellulaire commence.

c. Phase exponentielle de croissance :

Pendant cette phase, les microorganismes se divisent et doublent leur nombre à un intervalle de temps régulier d'où la population est presque uniforme en termes de propriétés chimiques et physiologiques. Au cours de cette phase, la vitesse de croissance dX/dt augmente proportionnellement à X. D'où l'allure logarithmique (ou exponentielle) du phénomène.

En coordonnées semi-logarithmique, ($\text{Log}X = f(t)$), cette phase a l'allure d'une droite :

$$dX/dt = \mu X$$

On peut modéliser simplement la phase exponentielle de croissance par :

$$\text{Log}X = \text{Log}X_0 + \mu t$$

$$X = X_0 \cdot e^{\mu t}$$

Le taux de croissance est quant à lui constant et maximal, il est défini par l'équation différentielle suivante :

$$\mu = dX/dt \cdot 1/X = \mu_{\max}$$

Pour cette phase :

$$\text{Log}X_2 - \text{Log}X_1 = \mu_{\max}(t_2 - t_1)$$

$$\mu_{\max} = (\text{Log}X_2 - \text{Log}X_1) / (t_2 - t_1)$$

d. Phase de ralentissement :

La vitesse de taux de croissance régresse. Il y a un épuisement du milieu de culture du fait de la disparition d'un ou plusieurs composés nécessaires à la croissance et à une accumulation des produits inhibiteurs résultants du métabolisme bactérien, il existe un début d'autolyse des micro-organismes.

e. Phase stationnaire :

Dans cette période, il n'y a aucune augmentation du nombre de micro-organismes. Le taux de croissance par organisme est nul.

f. Phase de mort accélérée :

Durant cette période, le nombre de micro-organismes décroît, d'abord lentement puis de plus en plus vite, jusqu'à l'établissement d'une phase de mortalité logarithmique. Le taux de mortalité par organisme augmente jusqu'à un certain maximum.

g. Phase de déclin (décroissance) :

Un changement nuisible de l'environnement comme la carence en nutriment et l'accumulation de déchets toxiques conduisent à la diminution du nombre de cellules viables et une lyse cellulaire sous l'action des enzymes protéolytiques endogènes, caractéristique de la phase de mortalité. La mort d'une population de micro-organismes, comme sa croissance durant la phase exponentielle, est habituellement logarithmique. La cinétique de croissance des micro-organismes est donc essentiellement composée d'une phase de latence suivie d'une phase exponentielle puis d'une phase stationnaire

Matériel et Méthodes

CHAPITRE II

Matériel et Méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Micro-organisme

D'après la littérature, les germes dénitrifiant existent dans les zones où la concentration en oxygène dissout devient insuffisante ou nulle, pour cette raison nous avons choisi une source de prélèvement « station d'épuration des eaux usées d'El Menia Constantine ».

Les échantillons sont prélevés au niveau du bassin de décantation secondaire, car ce dernier, en plus de la faible concentration en oxygène dissous, assure l'existence d'un ou plusieurs germes dénitrifiant et facilite l'adaptation de ces germes dans le milieu synthétique.

Après avoir effectué un prélèvement qui a étéensemencé dans un milieu nutritif contenant auparavant une source de carbone comme source d'énergie. Pendant l'incubation nous avons suivi la croissance bactérienne en mesurant la densité optique et le pH de cette culture.

Par ailleurs, pendant la phase de croissance exponentielle, nous avons réalisé un prélèvement de cette culture auquel nous lui avons fait subir en premier lieu une centrifugation (4500 rpm pendant 15 minutes) suivie d'une filtration.

Le culot recueilli a été rincé à l'eau distillée afin d'éliminer toute matière indésirable. Ce dernier est alorsensemencé dans un autre milieu nutritif pour y subir les mêmes procédures expérimentales développées ci-dessus.

Il est nécessaire de refaire ces expériences au moins trois fois afin d'obtenir un culot ne contenant que des micro-organismes.

I.1.2. Milieu de culture:

Pour favoriser la croissance des micro-organismes dénitrifiants, nous avons utilisé un milieu de croissance synthétique, sa composition pour 1 litre d'eau bidistillée est repris au

tableau 5 [Patureau, 1995]. Ce milieu liquide constitué de macroéléments et de micro-éléments apporte aux micro-organismes tous les éléments nécessaires au développement cellulaire, à part la source de carbone représentée par Le méthanol ou le succinate de sodium.

Tableau 5 : Composition du milieu de culture [Patureau D., 1995].

Elements	Concentrations
KH₂PO₄	1,00 g/L
K₂HPO₄	1,00 g/L
KNO₃	1,00 g/L
NaCl	1,00 g/L
MgSO₄	0,20 g/L
CaCl₂	0,02 g/L
Solution TE	1,00 ml/L
pH	Ajusté à 4,2

La composition de la solution d'éléments trace (TE) est donnée au tableau 6.

Tableau 6 : La composition de la solution de traces éléments [Patureau D., 1995]

Eléments	Concentrations
HCl 37%	6,76 ml/L
FeCl₂ 4H₂O	1,5 g/L
H₃BO₃	0,06 g/L
MnCl₂ 4H₂O	0,1 g/L
CoCl₂ 6H₂O	0,12 g/L
ZnCl₂	0,07 g/L
NiCl₂ 6H₂O	0,025 g/L
CuCl₂ 2H₂O	0,015 g/l
NaMoO₄ 2H₂O	0,025 g/L
EDTA	5,2 g/L

I.1.3. Source de carbone:

Comme il est déjà mentionné dans la première partie, la dénitrification est réalisée par des bactéries hétérotrophes, qui ont besoin d'un apport de carbone organique pour leur métabolismes.

Le méthanol et le succinate de sodium, unique source de carbone et d'énergie, sont ajoutés séparément dans le milieu de dénitrification ce qui permet leur métabolisme et une production de biomasse, avec le nitrate de potassium (KNO_3) comme source oxydée unique d'azote.

I.1.4. pH mètre :

Les mesures du pH ont été réalisées à l'aide d'un pH-mètre « HANNA instruments » muni d'une électrode de verre. Le pH-mètre est préalablement étalonné avec des solutions tampons (pH = 4, 7 et 10).

I.1.5. Réacteur DCO :

Pour assurer le chauffage de nos échantillons afin d'oxyder le maximum de la matière organique, un DCO mètre « Hach » à 25 postes a été utilisé durant nos expériences.

I.1.6. Incubation :

Une étuve de marque « Memmert » a été utilisé pour l'incubation de nos échantillons et la vaporisation totale de l'eau contenue dans ces dernières.

I.1.7. Centrifugation :

Les échantillons sont au préalable centrifugé à 7000 t/min par une centrifugeuse « sigma 1-15 » à température ambiante pendant 10 mn. Le surnageant récupéré est dilué si nécessaire selon les méthodes de dosage.

I.2. Méthodes d'analyses :

Les processus biologiques de dénitrification mettent en jeu des réactions d'oxydoréduction : oxydation d'un substrat organique et réduction des nitrates en azote gazeux. Donc il est intéressant de suivre l'évolution dans le temps : pH, la biomasse, concentration des nitrates, la source de carbone.

I.2.1. Mesure de la biomasse :

Avant de parler de la méthode que nous avons utilisé pour la mesure de la biomasse, nous allons voir tout d'abord le principe de la spectrophotométrie afin de bien comprendre le choix de notre méthode.

Spectrophotométrie :

C'est la turbidimétrie, procédé simple, rapide et actuellement très utilisé. Cette technique permet d'évaluer la concentration cellulaire en utilisant un spectrophotomètre à 600 nm. Plus il y a de micro-organismes, plus la lumière est réfléchi et plus l'intensité du faisceau restant est faible, plus la valeur d'absorbance est grande. Il est en effet possible d'utiliser une loi, analogue à celle de Beer-Lambert, exprimant la proportionnalité entre la contribution bactérienne à l'absorbance du milieu A et la biomasse B présente en solution,

$$A = \log I_0 / I_2 - \log I_0 / I_1 = \log I_1 / I_2 = \alpha . d . B$$

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.

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

$$DO = (1/d) \log I_1 / I_2 = \alpha B$$

L'absorbance ou la turbidité d'une culture est souvent déterminée 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 proportionnelle à la quantité des microorganismes présents dans l'échantillon

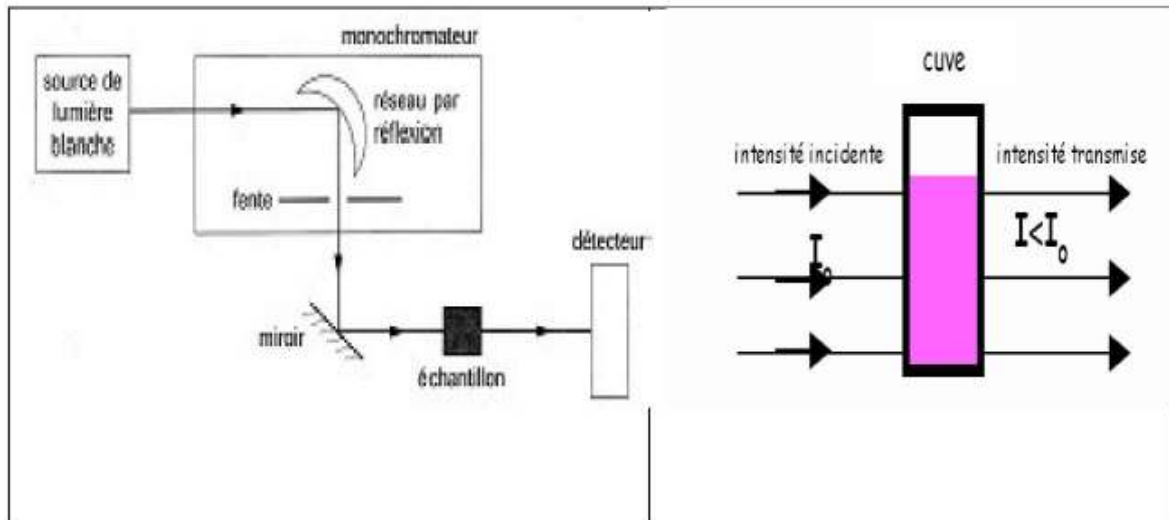


Figure 21 : Schéma de l'absorbance.

L'absorbance de notre culture est généralement mesurée à une longueur d'onde autour de 600 nm [Jianlong W. et al, 1999]. Rappelant que pour les milieux très concentrés (absorbance > 2), la courbe qui relie la masse cellulaire avec l'absorbance est non linéaire, donc il faut faire une dilution de l'échantillon.

La densité optique des cultures cellulaires est mesurée par l'absorbance à une longueur d'onde de 600 nm avec un spectrophotomètre «JENWAY de types 6300 spectrophotomètre».



Figure 22 : Spectrophotomètre JENWAY de types 6300 spectrophotomètre.

I.2.2.Relation entre la densité optique et l'extrait sec :

Lorsque le nombre de bactéries se multiplie dans la solution entraînant 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 600 nanomètres. Plusieurs solutions de différentes concentrations en microorganismes sont préparées. Après mesure de leurs densités optiques à 600 nanomètres, elles sont introduites dans une étuve à 105 °C jusqu'à l'évaporation totale de l'eau contenue dans les échantillons.

L'extrait sec de biomasse produite a été corrélé avec la densité optique (DO (600 nm)), d'où l'équation de la courbe d'étalonnage obtenue est la suivante :

$$\text{Extrait sec (mg)} = -3,51752 + 567,65499 \text{ DO}_{(600\text{nm})}$$

Coefficient de corrélation R = 0,99893

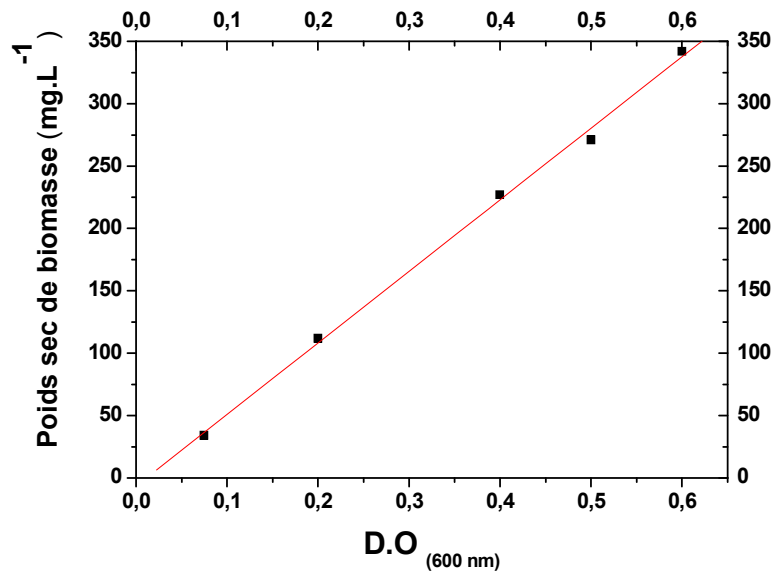


Figure 23 : Courbe d'étalonnage reliant l'extrait sec de biomasse produite à la densité Optique (DO (600 nm)).

I.2.3. Dosage des métabolites :

L'analyse des échantillons liquides ont été pris avec une seringue et préalablement, centrifugés à 7000 rpm (SIGMA 1-15), à température ambiante pendant 10 min [Chen K. et al, 1998]. Le surnageant récupéré est dilué si nécessaire selon les méthodes de dosages des substrats.

I.2.3.1. Dosage des nitrates :

Les nitrates sont dosés par colorimétrie. En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitro-salicylate de sodium, coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique : méthode au salicylate de sodium [Rodier J., 1978].

Protocole de dosage des nitrates par la colorimétrie :

Méthode au salicylate de sodium

Principe

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitro-salicylate de sodium, coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique.

Réactifs

-solution de salicylate de sodium à 0,5 %, à renouveler toutes les 24 heures.

-Acide sulfurique concentré. (d=1,84)

-Solution d'hydroxyde de sodium et de tartrate double de sodium et de potassium :

Hydroxyde de sodium	400 g
Tartrate double de sodium et de potassium	60 g
Eau distillée	1000 ml

Faire dissoudre les sels dans l'eau. Laisser refroidir et compléter à 1000 ml.

A conserver dans un flacon en polyéthylène.

-Solution mère étalon d'azote nitrique à 0,1 g.L⁻¹:

Nitrate de potassium anhydre	0,722 g
Eau distillée	1000 ml
Chloroforme (pour conserver)	1 ml

-solution fille étalon d'azote nitrique à 0,005 g.L⁻¹.

Amener 50 ml de la solution mère à 1000 ml avec de l'eau distillée.

Etablissement de la courbe d'étalonnage :

Dans une série de capsules de 60 ml, introduire successivement :

Numéro de capsules	T	I	II	III	IV
Solution étalon d'azote nitrique à 0.005 g.L⁻¹ (ml)	0	1	2	5	10
Eau distillée (ml)	10	9	8	5	0
Correspondance en mg.L⁻¹d'azote nitrique	0	0,5	1	2,5	5
Solution de salicylate de sodium (ml)	1	1	1	1	1

Evaporer à sec au bain marie ou dans une étuve portée à 75-80°C (ne pas surchauffer, ni chauffer trop longtemps). Laisser refroidir. Reprendre le résidu par 2 ml d'acide sulfurique concentré en ayant soin de l'humecter complètement.

Attendre 10 minutes, ajouter 15 ml d'eau bidistillée puis 15 ml de la solution d'hydroxyde de sodium et se tartrate double de sodium et de potassium qui développe la couleur jaune. Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 420 nm. Soustraire des densités optiques lues pour les étalons, la valeur relevée pour le témoin. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

Introduire 10 ml d'eau dans une capsule de 60 ml (pour des teneurs en azote nitrique supérieures à 10 mg, opérer une dilution). Alcaliniser faiblement avec la solution d'hydroxyde de sodium. Ajouter 1 ml de solution de solution de salicylate de sodium puis poursuivre le dosage comme la courbe d'étalonnage. Préparer de la même façon un témoin avec 10 ml d'eau bidistillée.

Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 415 nm et tenir compte de la valeur lue pour le témoin. Se reporter à la courbe d'étalonnage (figure 24).

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 10 ml, la courbe donne directement la teneur en azote nitrique exprimé en milligrammes par litre d'eau. Pour obtenir la teneur en nitrate (NO_3^-), (KNO_3), multiplier ce résultat par 4,43 et 7,27 respectivement.

Droite d'étalonnage du dosage des nitrates :

$$Y = 0,00624 + 0,25353 X$$

Coefficient de corrélation $R = 0,99935$

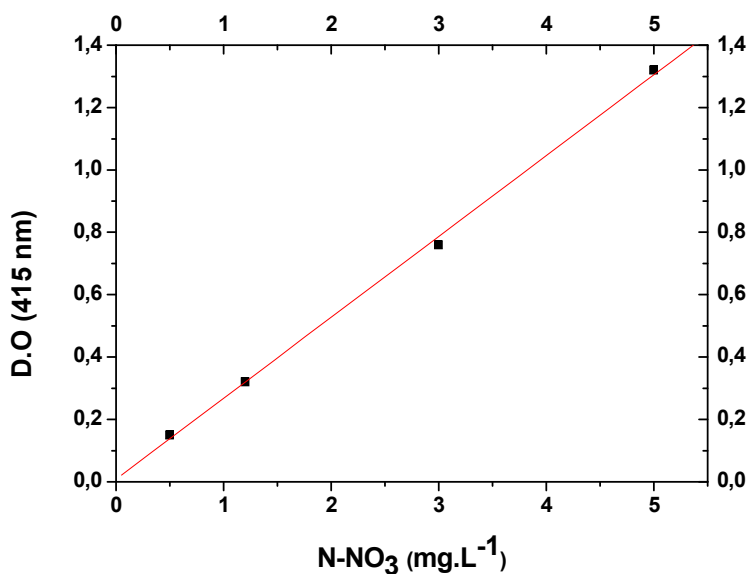


Figure 24 : Courbe d'étalonnage reliant concentration des nitrates à la densité optique (**DO (415nm)**).

I.2.3.2. Dosage de la source de carbone :

Le dosage de la source de carbone est effectué par l'intermédiaire d'une oxydation chimique (méthodes de DCO).

Mode opératoire :

Introduction :

La demande chimique en oxygène ou DCO est une mesure de toutes les matières organiques d'une eau résiduaire ou naturelle. Son principe repose sur l'oxydation à chaud en milieu sulfochromique concentré des matières organiques de l'échantillon et sur le dosage du chrome hexavalent résiduel.

Principe :

Les méthodes proposées reposent sur l'oxydation énergique en milieu sulfochromique, cette oxydation permet une dégradation plus poussée de la matière organique, suivant un protocole d'oxydation plus reproductible.

Appareillage :

Bloc chauffant à 150°C à 25 postes, capable de recevoir des tubes à vis. Spectromètre double faisceau et cuve.

Réactifs :

- H₂SO₄ concentré (d=1.83) contenant AgSO₄ (6,6 g.L⁻¹)
- HgSO₄ purifié en poudre.
- K₂Cr₂O₇ à 8,333 10⁻³ mol/L (2,4518 g.L⁻¹)

Protocole :

Introduire dans un tube, 3 ml de la solution acide, 0,1 g de sulfate de mercure, 2 ml d'échantillon (ou d'eau distillée pour le blanc) et un ml de la solution de dichromate de potassium.

Après fermeture hermétique et homogénéisation, le tube est placé dans le réacteur pendant 2 heures suivant la concentration en oxydant choisie.

La concentration en dichromate de potassium est de 4,167.10⁻² mol/l, le dosage final se fait par absorptiométrie à 610 nm : cette longueur d'onde correspond au "pic" d'apparition de la forme réduite Cr³⁺. La concentration mesurée doit être retranchée de la valeur correspondant au blanc avant d'obtenir la DCO par l'utilisation d'une courbe d'étalonnage.

Étalonnage

L'étalonnage a été effectué à partir d'une solution mère d'acide benzoïque (183 mg/L⁻¹ pour un DCO 360 mg.L⁻¹) : La DCO des différentes solutions a été traitée suivant le protocole établi et a permis la construction de la droite d'étalonnage $DO = f(DCO)$.

$$Y = -0.00126 + 3.5257 \times 10^{-4} X$$

Coefficient de corrélation $R_3 = 0,9984$

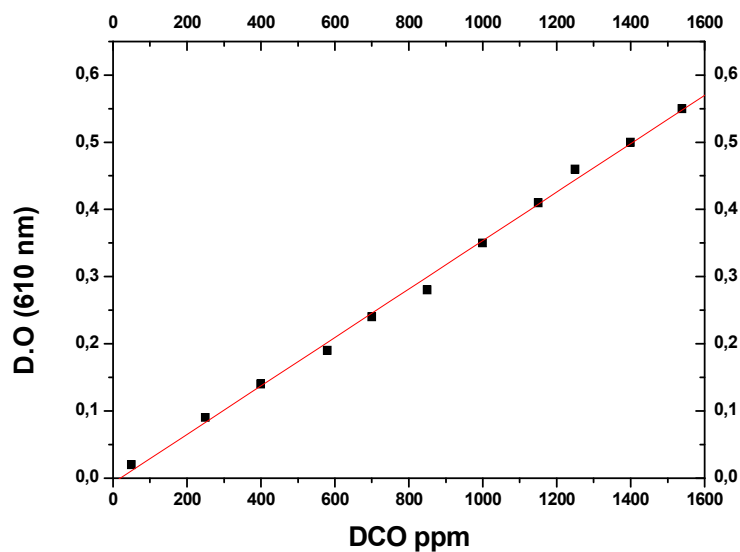


Figure 25 : Courbe d'étalonnage de la DCO

I.3. Les conditions opératoires :

Les cultures sont réalisées en réacteur batch (bouteilles en verre scellées d'un volume total de 500 ml) contenant 200 ml de notre milieu chargé avec différentes concentrations des différentes sources de carbone utilisées. Elles sont par la suite inoculées par 5 ml de boues activées prélevées dans la station d'épuration d'El Menia-Constantine. Rappelons que l'inoculation est effectuée grâce à une préculture adaptée (comme mentionné précédemment) à nos sources de carbone et au nitrate afin de réduire le temps de latence.

Les réacteurs sont ensuite hermétiquement fermés et maintenus à 32°C.

Des prélèvements horaires d'échantillons liquides sont effectués à partir des réacteurs, à l'aide d'une seringue sans les ouvrir, afin de réaliser le suivi de la croissance bactérienne, les concentrations en nitrates et le pH.

Ces prélèvements d'un volume de 6 ml, sont répartis dans deux tubes comme suit :

- ❖ 2 ml de volume total permet la lecture de la densité optique suivie de la mesure du pH.
- ❖ Le volume restant (4 ml) est injecté dans un tube fermé, il subit alors une centrifugation à 7000 t/mn pendant 10 min afin d'obtenir un surnageant exempt de cellules microbienne. Les échantillons conservés dans des flacons à 3°C permettent ainsi la mesure de la concentration en nitrates par la méthode de salicylate de sodium.



Figure 26: Photographie des conditions de notre travail

Résultats et Discussions

CHAPITRE III

Résultats et Discussions

I. Etude de la dénitrification en utilisant le méthanol comme source de carbone :

Il est préféré de s'assurer que nos micro-organismes prélevés dans la station d'épuration d'El Menia Constantine sont capables d'éliminer les nitrates avant de commencer notre étude. Afin que nous puissions comparer les résultats déjà obtenue dans la littérature, nous avons commencé par l'utilisation de la même source de carbone.

L'étude de la biodégradation du méthanol a été faite dans des conditions et des milieux variés, y compris les eaux de surfaces, les eaux usées, les eaux souterraines, les sédiments du sol. Le méthanol se dégrade complètement et sa dégradation ne produit pas d'intermédiaires persistants [Howard P.H., 1990]. IL est dégradé par une large variété de bactéries aérobies et anaérobies.

Les expériences ont montré que la nature de la source de carbone a une grande influence sur la voie de réduction du nitrate. [Purtschert I. et al 1996, Foglar L. et al 2003, Maneesha P. et al, 2009] ont utilisé le méthanol comme une source de carbone dans la dénitrification. Foglar L. a trouvé un taux de dénitrification de 97 % pendant 63 heures de traitement. [Bilanovic D. et al, 1999] ont trouvé que l'ajout du méthanol améliore le taux de dénitrification dans la station d'épuration en printemps.

Notre travail a été commencé par l'utilisation du méthanol comme source unique de carbone et d'énergie dans le processus de dénitrification pour voir les capacités de nos micro-organismes à dégrader le méthanol et les nitrates en même temps.

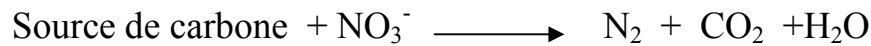
I.1. Etude de la croissance bactérienne :

Initialement nous avons utilisé le méthanol comme source unique de carbone et d'énergie à une concentration (500 mg.L^{-1}) avec le nitrate comme accepteur final d'électrons

(N-NO₃⁻ =137,80 mg.L⁻¹) et nous suivons l'évolution de la croissance bactérienne et la concentration des nitrates en fonction du temps afin d'étudier l'adaptation physiologique d'une culture mixte incubée dans un milieu synthétique. Le bioréacteur est maintenu à 32°C.

Au cours d'incubation nous avons observé :

- L'augmentation de l'opacité du milieu qui s'explique par la multiplication des microorganismes.
- L'apparition des bulles de gaz qui s'explique par la réaction suivante :



Les résultats sont représentés sur la figure suivante :

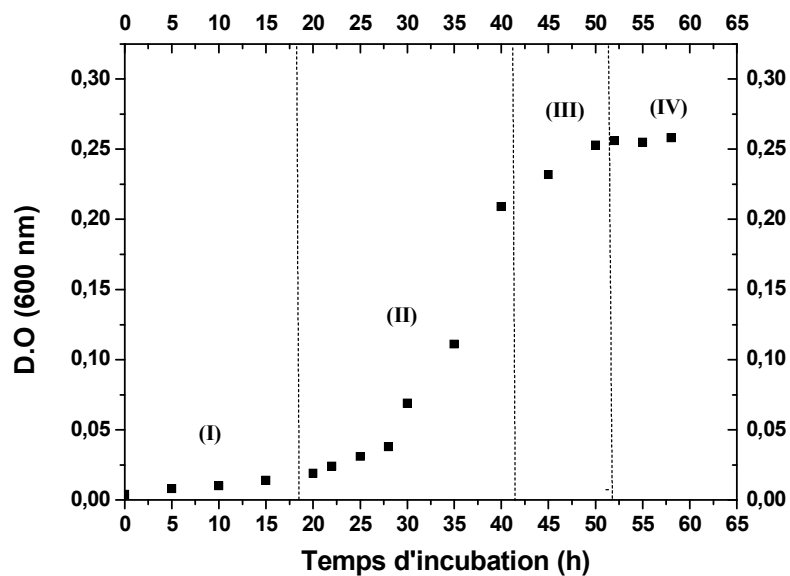


Figure 27: Cinétique de la croissance bactérienne avec le méthanol comme source de carbone.

La cinétique de la croissance bactérienne que montre la figure 27 suit quatre phases principales :

(I) La première phase qui est la phase de latence durant laquelle le nombre de bactéries reste constant, correspond à une période où les bactéries inoculées dans le milieu s'adaptent à

leur nouvel environnement et synthétisent les enzymes nécessaires à la métabolisation des substrats disponibles.

Durant cette phase, il n'y a pas de division cellulaire : $X = X_0 = \text{cte}$

La vitesse de croissance dx/dt est également nulle.

(II) Au cours de la seconde phase de la croissance maximale (phase exponentielle), ou le taux de croissance reste constant. Le nombre de cellules en culture et leur masse augmentent proportionnellement au temps, selon une progression géométrique; c'est-à-dire exponentiellement.

Taux de croissance bactérien

La définition du taux de croissance bactérien μ (h^{-1}) au cours de la croissance dans un réacteur batch durant chaque instant (t) :

$$\left[\begin{array}{l} \text{Le poids sec de la} \\ \text{Biomasse accumulée} \end{array} \right] = \left[\begin{array}{l} \text{Croissance} \\ \text{de} \\ \text{la biomasse} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{l} \text{Transport} \\ \text{de} \\ \text{la biomasse} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{l} \text{La lyse} \\ \text{de} \\ \text{la biomasse} \end{array} \right]$$

$$\frac{dx}{dt} = \mu X - \frac{F}{V} X - \alpha X \dots \dots \dots (1)$$

X : concentration de la biomasse (masse / unité de volume).

μ : taux de croissance spécifique (temps⁻¹).

F : flux de la biomasse (volume / unité de temps).

V : volume de la biomasse (unité de volume).

α : taux spécifique de lyse (temps⁻¹).

Aucun transport de la biomasse (influent et effluent) n'a lieu, car on a utilisé un réacteur batch et si on suppose que la croissance est en phase logarithmique, la respiration endogène (la lyse) fortement négligeable et donc $\alpha \ll \mu$.

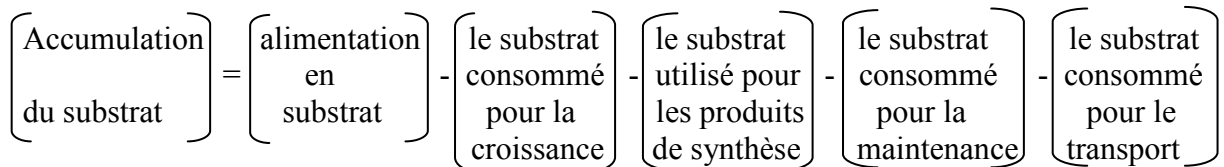
En écrit l'équation (1) :

$$\frac{dX}{dt} = \mu X = r_g \dots \dots \dots (2)$$

r_g : taux de croissance bactérien (masse / volume. temps).

Taux d'utilisation du substrat

La consommation des substrats c'est pour fournir le nécessaire en nutriments, en énergie, en composés structuraux de la croissance bactérien.



$$\frac{dS}{dt} = \frac{F}{V} \cdot S - \frac{\mu X}{Y_{X/S}} - \frac{q_p X}{Y_{p/S}} - mX - \frac{F'}{V} \cdot S' \dots \dots \dots (3)$$

S et S' : concentration du substrat injecté et rejeté du bioréacteur respectivement (masse / unité de volume).

$\frac{ds}{dt}$: vitesse de consommation du substrat (ou demande instantanée).

F et F' : flux du milieu injecté et rejeté du bioréacteur (volume / temps).

V : volume de la culture (unité de volume).

Y_{X/S} : coefficient de production de la biomasse (masse de cellule formée / masse de substrat consommé)

Y_{p/S} : coefficient de production des produits de synthèse (masse de produit formé / masse de substrat consommé).

μ et q_p : taux spécifique de croissance et de formation de produit respectivement (temps⁻¹).

Le réacteur batch n'a ni alimentation en substrat ni transport du substrat donc l'équation (3) peut être réécrite sous la forme suivante :

$$\frac{dS}{dt} = - \frac{\mu X}{Y_{X/S}} - \frac{q_p X}{Y_{p/S}} - mX \dots \dots \dots (4)$$

Souvent et spécialement en culture aérobie le coefficient de maintenance est insignifiant au terme $\frac{\mu X}{Y_{X/S}}$ et si aucun produit n'a été formé l'équation (4) devient :

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu X}{Y_{X/S}} = -\frac{1}{Y_{X/S}} \cdot \frac{dX}{dt} = r_{su} \dots \dots \dots (5)$$

Donc :

$$r_g = -Y_{X/S} \cdot r_{su} \dots \dots \dots (6)$$

r_{su} : taux d'utilisation du substrat (masse / unité de volume).

Rendement de croissance et productivité

A tout instant de culture, on peut calculer un rendement instantané

$$Y_{X/S} = \frac{dX}{dS} \dots \dots \dots (7)$$

qui représente la quantité de biomasse produite par gramme de substrat consommé pendant un intervalle de temps très court [Guiraud. J.P., 1998]. Ce rendement est en générale constant tant que le substrat S est le seul facteur limitant de la croissance. La quantité de biomasse s'exprime habituellement en grammes de matière sèche (parfois en grammes de protéines).

Le rendement global s'applique à l'ensemble de la culture :

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta X}{\Delta S} = \frac{(X - X_0)}{(S - S_0)} \dots \dots \dots (8)$$

En grammes de biomasse (masse sèche) produits par grammes de substrat consommé.

La productivité est la quantité de biomasse produite par unité de volume et de temps.

$$Q_X = \frac{\Delta X}{\Delta t} = \frac{X-X_0}{t-t_0} \dots \dots \dots (9) \quad (g \cdot L^{-1} \cdot h^{-1})$$

Calcul du taux de croissance spécifique et productivité :

Le taux de croissance spécifique μ [Guiraud. J.P., 1998] est calculé à partir de la relation suivante :

$$\mu = (\ln X_{max} - \ln X_0)/(t_{max} - t_0) \dots \dots \dots (10)$$

La quantité de la biomasse produite (productivité) Q_X est calculée à partir de l'équation (9)

Les calculs montrent que :

$$\mu = 0,07 \text{ h}^{-1}$$

$$Q_x = 5.215 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$$

(III) Au cours de la troisième phase (phase dite de croissance ralentie ou la phase de décélération), l'insuffisance de nourriture entraîne un ralentissement de la croissance bactérienne. On a observé alors un début de plafonnement de la masse cellulaire.

(IV) La quatrième phase correspond à une phase stationnaire qui signifie qu'à ce moment il n'y a aucune augmentation du nombre de bactéries et ces dernières utilisent les réserves accumulées précédemment. Le taux de croissance par organisme est nul.

I.2. Cinétique de la réduction des nitrates :

Dans cette partie nous avons suivi l'évolution de la concentration des nitrates en fonction du temps, on a utilisés 150 mg /L des nitrates comme accepteur final d'électron. Le bioréacteur et maintenu à 32°C.

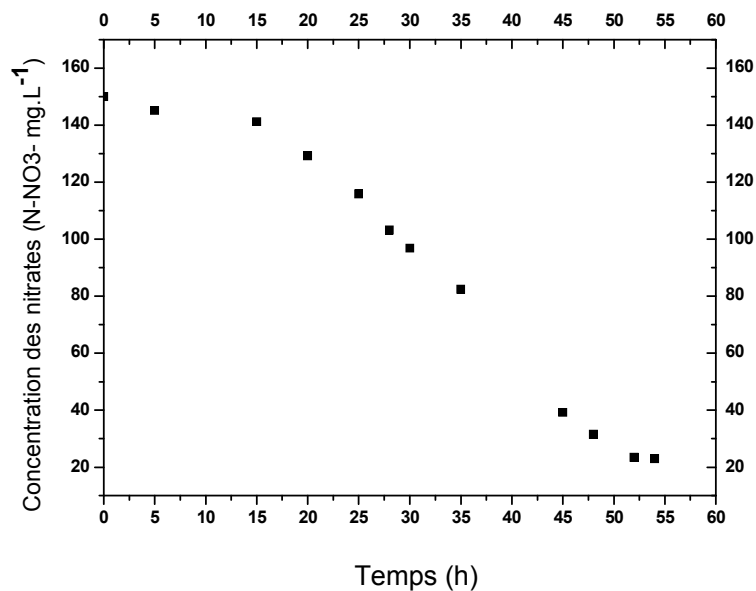


Figure 28 : Cinétique de la réduction des nitrates avec le méthanol comme source de carbone.

Au moment que les nitrates seront presque totalement consommés la croissance bactérienne s'arrête. Ceci montre que la dénitrification n'est qu'une alternative à la respiration classique de l'oxygène. Ainsi les nitrates sont utilisés comme accepteurs finaux d'électrons qui sont transférés le long de la chaîne respiratoire [Tiedje J. M., 1988].

Pendant la phase de croissance exponentielle la vitesse moyenne de disparition des nitrates est :

$$V_{\text{moy}} = 3,51 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}.$$

Une concentration en nitrates inférieure à 50 mg/L la norme de l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S) est obtenue après 45 heures de traitement.

La dénitrification s'arrête après 58 heures de traitement. La concentration des nitrates est alors de 23 mg.L⁻¹, ce qui donne un taux de dénitrification de 84,66 %.

I.3. Suivi du pH du milieu réactionnel au cours de la dénitrification :

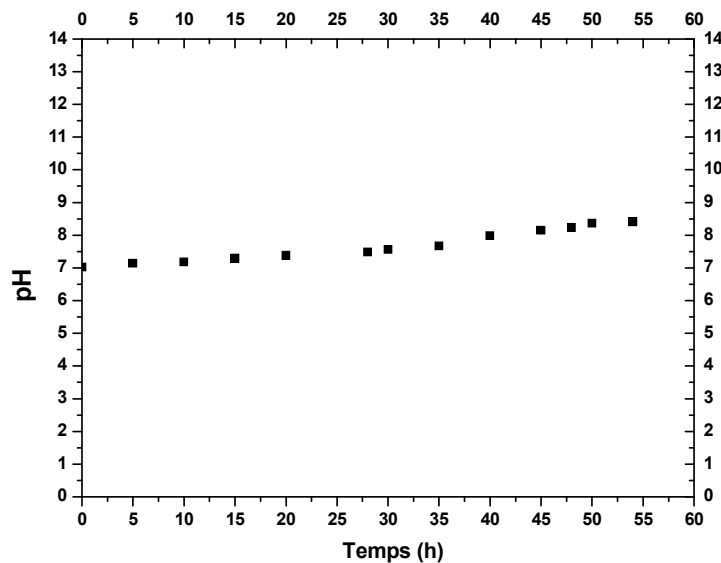


Figure 29 : Evolution du pH au cours de la dénitrification avec le méthanol comme source de carbone.

Au cours de la réduction des nitrates, on constate que les variations du pH sont faibles (notre cas le pH varie de 7,02 à 8,41) (figure 29). Montrant ainsi que le pH optimal pour la dénitrification est compris entre 7 et 8 [Mouchet, 1982].

I.4. Effet de l'oxygène sur le processus de dénitrification

I.4.1. Effet de l'oxygène sur la croissance bactérienne

Nous avons étudié le rôle de l'oxygène sur le mécanisme de dégradation du méthanol et de la capacité de dénitrification de nos micro-organismes, pour l'optimisation des conditions opératoires affectant le processus de dénitrification, en utilisant deux types de cultures :

- ❖ Une culture anoxie par barbotage d'azote.
- ❖ Une culture aérobie par barbotage d'oxygène.

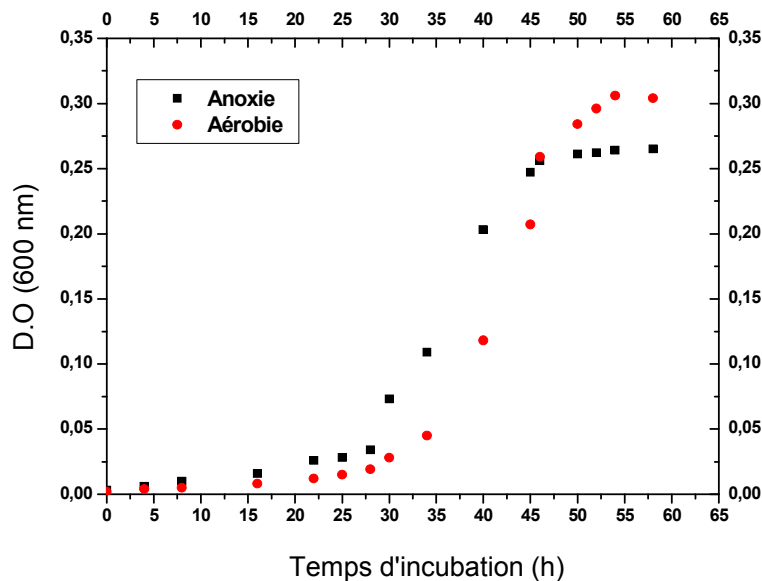


Figure 30 : Effet de l'oxygène sur la croissance bactérienne en fonction du temps.

La figure ci-dessus montre l'évolution de la croissance bactérienne en présence et en absence de l'oxygène en utilisant le méthanol comme source de carbone. La phase de latence des microorganismes dans le milieu aérobie est plus importante que celle dans le milieu anoxie ce qui explique que les micro-organismes anoxiques s'adaptent à leurs nouvel environnement (présence d'oxygène), une fois que les microorganismes anoxiques synthétisent les enzymes

aérobioses, le taux de croissance en présence d’oxygène et de nitrate est supérieur à celui observé avec le nitrate seul (anoxie).

Tableau 7 : Calculs du taux de croissance et productivité pour les deux cultures.

	Q_X (mg.L.h ⁻¹)	μ (h ⁻¹)	$Y_{X/S}$
Aérobie	5,821	0,095	0,326
Anoxie	4,643	0,081	0,260

I.4.2 Effet de l’oxygène sur la dégradation du méthanol

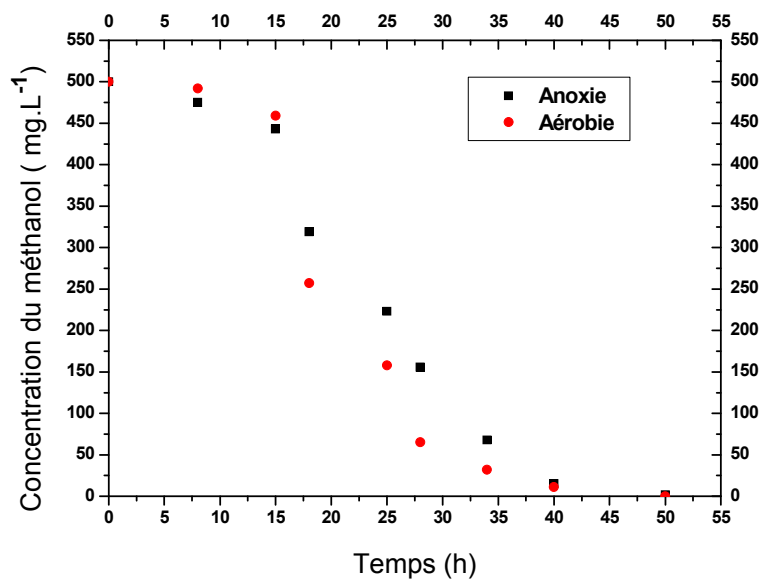


Figure 31 : Effet de l’oxygène sur la dégradation du méthanol

La figure 31 on remarque une légère influence sur la dégradation du méthanol en présence de l’oxygène. Au milieu anoxique une dégradation totale du méthanol au bout de 40 heures, la demande globale du substrat [Guiraud. J.P., 1998] est calculée a partir de la relation suivante :

$$Q_s = \frac{\Delta S}{\Delta t} = \frac{S_0 - S}{t - t_0}$$

$Q_s = 28,43 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a été observé. Tandis que au milieu aérobie se fait au bout de 44 heures avec une demande globale du substrat de $Q_s = 15,57 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

I.4.3 Effet de l’oxygène sur la dégradation des nitrates

Le processus de la dénitrification se produit beaucoup plus en milieu anaérobie en produisant de l’énergie. La dénitrification sera limitée en présence de l’oxygène mais le rendement de la dénitrification anaérobie est très important. Il paraît que l’oxygène ait un rôle prépondérant sur l’activation ou l’inactivation des enzymes dénitrifiantes [Parsons L et al, 1993]. On pensait que le milieu devrait être absolument anaérobie [Hutchinson K et al, 1993], mais des expériences ont montré qu’il pouvait y avoir dénitrification même avec certaine pression d’oxygène [knowles R, 1982 ; Lioyd D, 1993]. En effet certaines bactéries peuvent tolérer un faible taux d’oxygène, et réaliser la dénitrification utilisant à la fois l’oxygène et les nitrates comme accepteur final d’électrons.

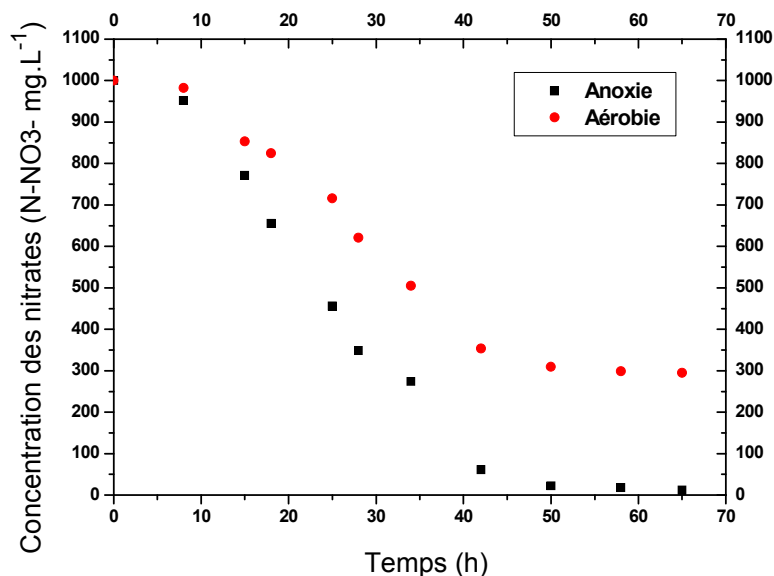


Figure 32 : Effet de l’oxygène sur la dégradation des nitrates.

La figure 32 montre que le taux de dénitrification dans les conditions aérobie est de 70,50 % tandis que dans les conditions anoxiques est de 98,80 %.

Conclusion

On utilisant le méthanol comme source de carbone et d'énergie dans des conditions anoxiques on atteint un taux de dénitrification 98,80 % qui est comparable à celle de [Foglar L, 2003].

Selon nos expériences qui atteignent un taux de dénitrification très élevé, nous pouvons conclure que nos micro-organismes prélevés de la station d'épuration d'El Menia Constantine dénitrifie bien en condition anoxique.

II. Etude de la dénitrification en utilisant le succinate de sodium comme source de carbone

II. 1. Suivi de la dénitrification en présence de 500 et 1000 ppm du succinate de sodium comme source de carbone

II. 1.1. Cinétique de la croissance bactérienne

Dans un premier temps, nous avons montré l'efficacité de dénitrification de nos micro-organismes prélevés de la station d'épuration d'El-menia Constantine, par la suite nous essayons d'optimiser les conditions nécessaires de dénitrification.

Pour cela nous avons suivi l'évolution de la croissance bactérienne et la concentration des nitrates en fonction du temps en utilisant 500 mg.L⁻¹ et 1000 mg. L⁻¹ du succinate de sodium comme source unique de carbone et d'énergie avec le nitrate comme accepteur final d'électrons (N-NO₃⁻ = 150 mg.L⁻¹).

Les résultats sont illustrés sur le graphe ci-dessous :

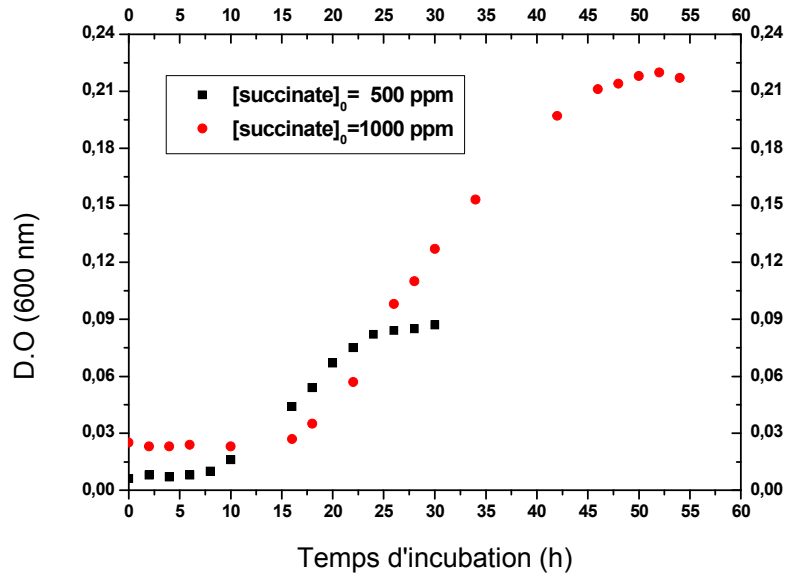


Figure 33 : Cinétique de la croissance bactérienne en présence de 500 ppm et 1000 ppm du succinate de sodium comme source de carbone.

D'après la figure 33 et pour les deux concentrations du succinate de sodium utilisé on a observé une augmentation de la biomasse plus importante pour 1000 mg.L⁻¹ par rapport à 500 mg.L⁻¹.

II. 1.2. Cinétique de la réduction des nitrates en présence de 500 ppm du succinate de sodium comme source de carbone

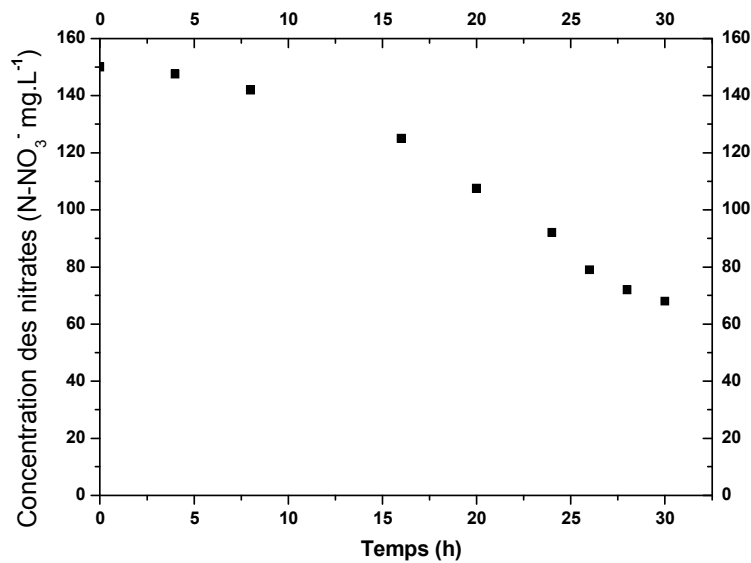


Figure 34 : Cinétique de la réduction des nitrates en présence de 500 ppm du succinate de sodium comme source de carbone.

En utilisant 500 ppm du succinate de sodium comme source de carbone, une inhibition de dénitrification a été remarquée pour une concentration de 68 mg.L^{-1} de $\text{NO}_3^- > 50 \text{ mg.L}^{-1}$ concentration admissible par l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S) et un taux de réduction des nitrates de 54,67 %.

Le pH évolue très peu, passe de 7,04 à 7,46 (figure 35).

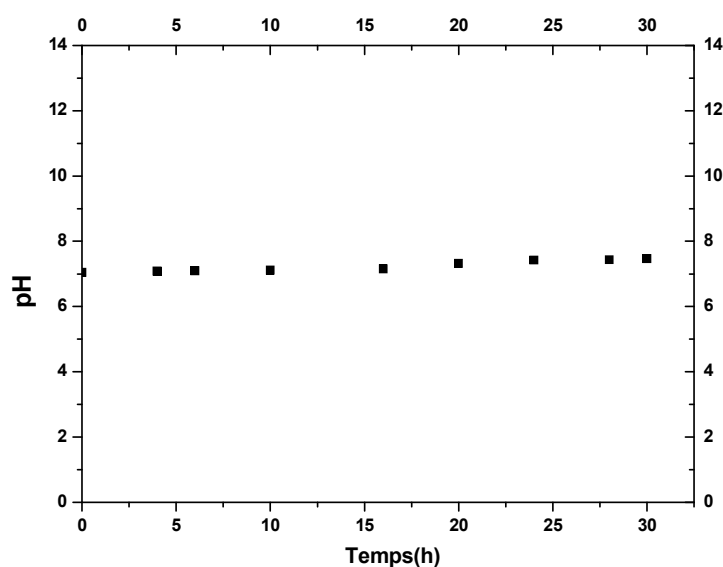


Figure 35 : Variation du pH au cours de la réaction de la dénitrification en présence de 500 ppm de succinate de sodium comme source de carbone.

II. 1.3. Cinétique de la réduction des nitrates en présence de 1000 ppm du succinate de sodium comme source de carbone

Nous avons augmenté la concentration du succinate de sodium comme source de carbone et d'énergie à 1000 mg.L^{-1} , pour un rendement de la réaction de dénitrification important (figure 36) avec une vitesse moyenne de dénitrification égale à $4,23 \text{ mg.L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

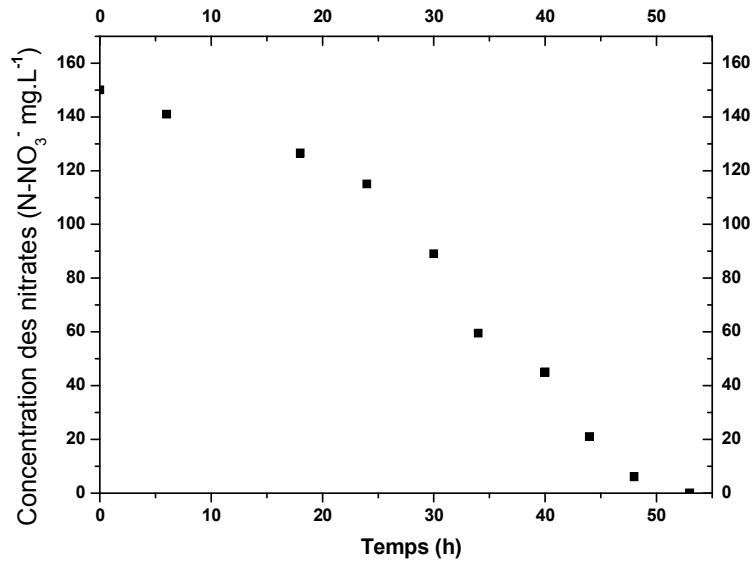


Figure 36 : Cinétique de la réduction des nitrates en présence de 1000 ppm du succinate de sodium comme source de carbone.

Le pH passe dans ce cas de 6,68 à 7,26 (figure 37).

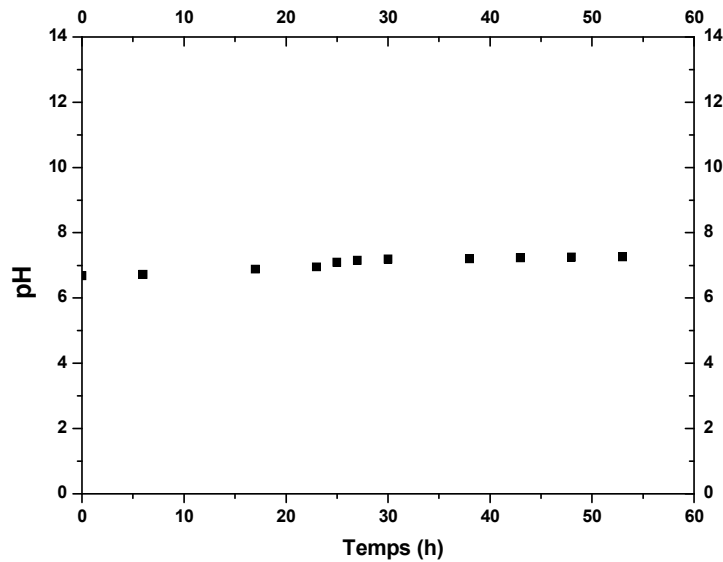


Figure 37: Variation du pH au cours de la réaction de la dénitrification en présence de 1000 ppm de succinate de sodium comme source de carbone.

D'autre par, nous avons suivi l'influence des paramètres de la dénitrification (concentration initiale de la source de carbone, rapport C/N, concentration en chlorures).

II.2. Les paramètres de contrôle de dénitrification

II.2.1. Effet de la concentration initiale de la source de carbone

Le processus de la dénitrification étudié a permis d'évaluer l'effet de la concentration initiale de la source de carbone dans nos conditions opératoires.

Nous avons réalisés des expériences avec des concentrations initiales en succinate de sodium de 1000 ppm, 2000 ppm et 3000 ppm, des mesures ont été prises en concomitance de la croissance bactérienne, la réduction des nitrates et le pH en fonction du temps. Les résultats obtenus sont représentés ci-dessous.

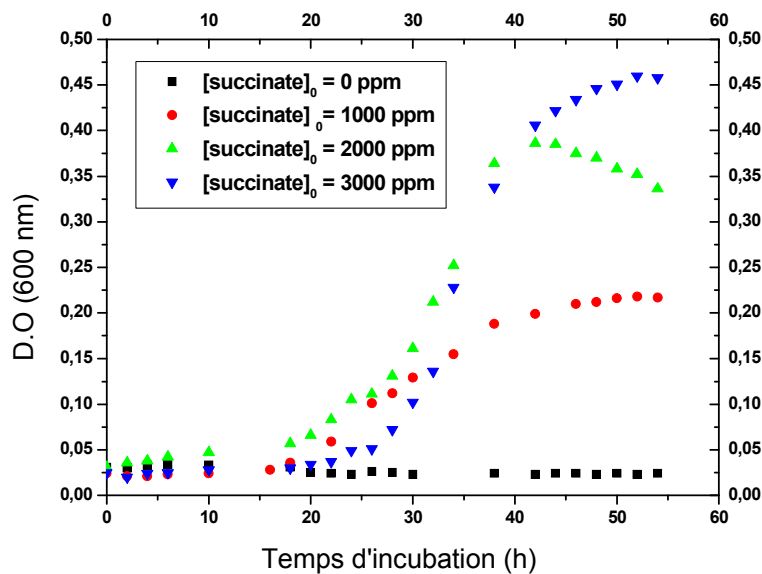


Figure 38: Effet de la concentration initiale du succinate de sodium sur la croissance bactérienne.

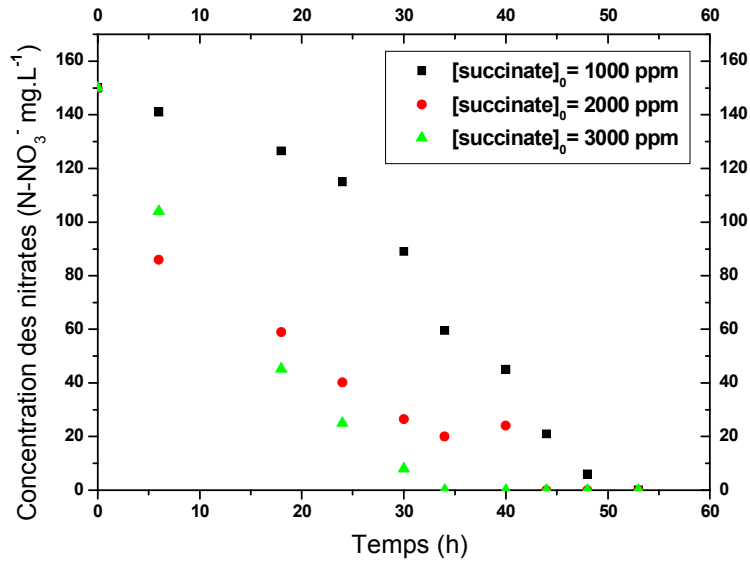


Figure 39 : Effet de la concentration initiale du succinate de sodium sur la réduction des nitrates.

D'après les figure 38 et 39 ci-dessus on a observés que l'augmentation de la concentration initiale de succinate de sodium donne un meilleur rendement de biomasse accompagné d'une réduction considérable au temps pour l'élimination totale des nitrates, avec cela le temps de latence remonte, mais en sont absence aucune croissance bactérienne n'est observé.

Le processus de dénitrification étant consommateur d'ions H^+ . La figure 40 montre une remonter du pH (légère basicité).

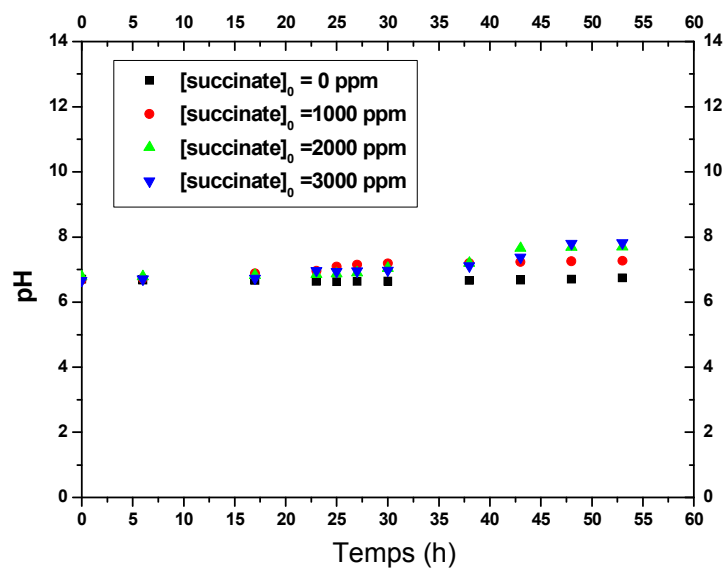


Figure 40 : Effet de la concentration initiale du succinate de sodium sur le pH.

II.1.2. Effet du rapport C/N

Nous avons fait varier le rapport ($\text{Substrat}_{\text{entré}} / \text{Nitrate}_{\text{entré}}$) pour évaluer l'effet du rapport C/N, sachant que la quantité du nitrate est ajustée en fonction de celle de carbone = 207,4 ppm comme le montre le tableau 8.

Tableau 8 : Les concentrations équivalentes des différentes valeurs du rapport C/N.

KNO_3 (ppm)	C/N
0	0
1000	1,5
3000	0,5
5000	0,3

Les résultats sont représentés ci-dessous

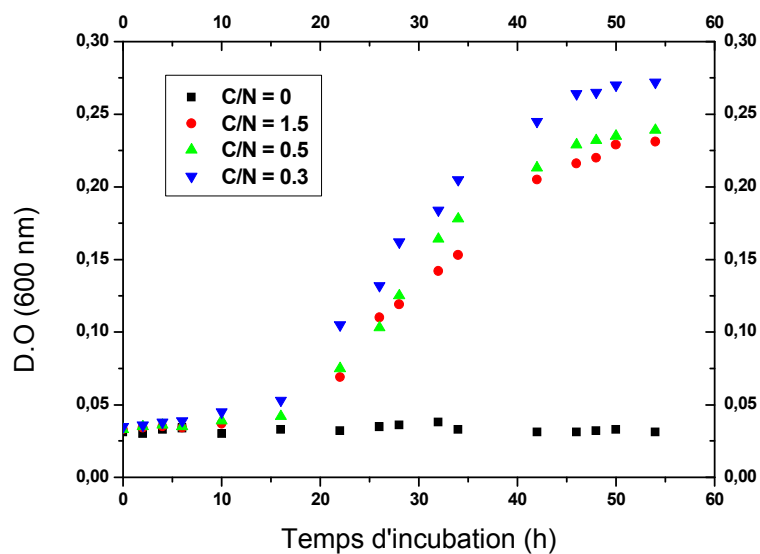


Figure 41 : Effet du rapport C/N sur la croissance bactérienne.

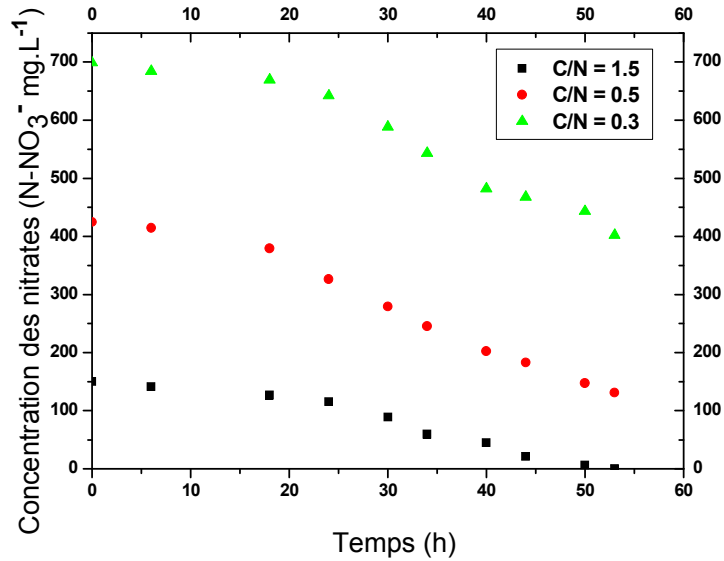


Figure 42 : Effet du rapport C/N sur la réduction des nitrates.

Selon la figure 41 on observe que le rapport C/N = 0 inhibe la croissance bactérienne, toute fois l'effet de l'augmentation du rapport C/N est légèrement plus favorable aux cinétique de la croissance.

La figure 42 montre qu'avec un rapport C/N =1,5 et à l'instant t = 54 heures une élimination total des nitrates. Toute fois, une inhibition de dénitrification a été observé avec les autres rapports (C/N = 0,5 et C/N = 0,3). Les taux de réduction des nitrates étaient 69,14 %, 42,49 % respectivement.

Nous concluons que pour un meilleur rendement de dénitrification soit le rapport C/N pondéral égale à 1,5.

II.1.3. Effet des chlorures

Nous avons étudiés l'effet des chlorures sur la croissance bactérienne car notre travail a été porté sur le traitement biologique des eaux usées ou eaux souterraines qui peuvent en générale être salées (figure 43).

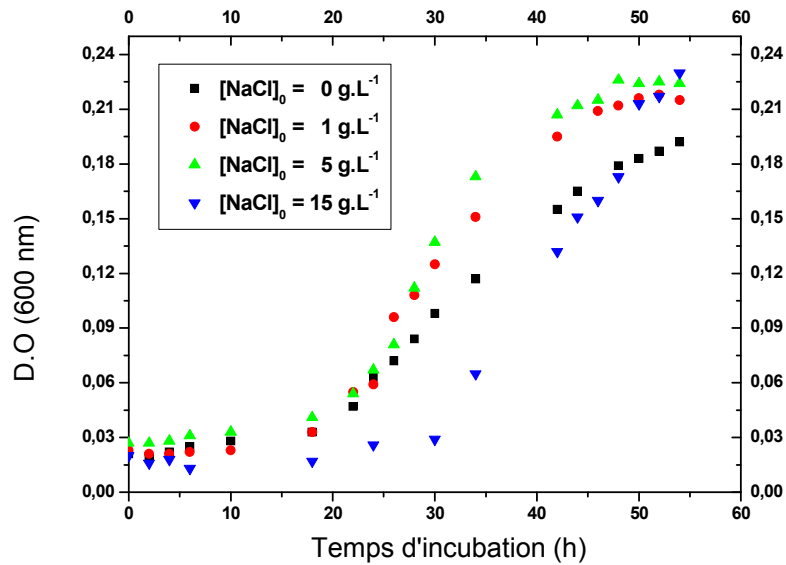


Figure 43 : Effet des chlorures sur la croissance bactérienne.

La figure ci-dessus montre l'étude cinétique de croissance en présence de plusieurs concentrations de NaCl (0 mg.L⁻¹, 1 mg.L⁻¹, 5 mg.L⁻¹, 15 mg.L⁻¹).

L'absence des chlorures fait augmenter la capacité de croissance. Cependant, la plus forte concentration diminue la cinétique de croissance de nos micro-organismes (se développent après un temps de latence de 30 heures).

La figure 44 montre l'effet des chlorures sur le pH en remarque une légère variation du pH. Toutefois, la concentration supérieure des chlorures (15 g.L⁻¹), leurs basses valeurs du pH consiste les résultats de la cinétique de croissance bactérienne (temps de latence élevé) donc il réduit la consommation d'ions H⁺.

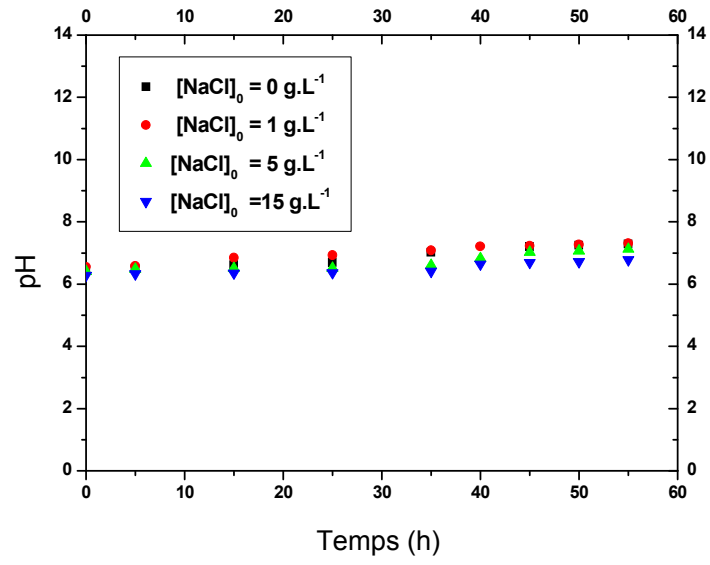


Figure 44 : Effet des chlorures sur le pH.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Le problème de pollution des eaux en Algérie est devenu alarmant, l'une des principales pollutions des eaux souterraines par les produits diffus, d'origine notamment agricole, est la pollution par les nitrates. L'utilisation intensive des fertilisants azotés en agriculture sont perdus dans l'environnement sous forme de nitrates que l'on retrouve dans les cours d'eaux (rivières, lacs,...) ou dans les eaux souterraines.

La pollution des eaux par les nitrates provoque un double risque, nuisances sur la santé humaine (Méthémoglobinémie), par ailleurs sa contribution avec les phosphates influe sur l'équilibre biologique (Eutrophisation).

Le travail présenté a permis d'étudier la dénitrification par l'utilisation d'une culture mixte des micro-organismes prélevés dans la station d'épuration d'El Menia Constantine en réacteur batch en utilisant deux sources de carbone organique. Nous avons également étudié l'influence de plusieurs paramètres physico-chimiques qui peuvent avoir un effet inhibiteur ou accélérateur sur la dénitrification.

- ❖ Les nitrates peuvent être éliminés soit par traitement physico-chimique (échanges d'ions, procédés membranaires) soit par traitement biologique (dénitrification hétérotrophe ou autotrophe). Cette étude montre que le traitement biologique semble être le mieux adaptée aux moyens de l'Algérie.
- ❖ Les deux sources de carbones utilisés pour la croissance des micro-organismes prélevés dans la station d'épuration d'El Menia Constantine, leurs cinétiques commencent par une phase de latence, suivi d'une phase de croissance exponentielle et se termine par une phase de stagnation, jusqu'à la consommation totale de la source de carbone et la disparition du polluant.
- ❖ Nos micro-organismes utilisés présentent une capacité de dénitrification en présence et en absence d'oxygène. En effet le taux de dénitrification en milieu aérobie (70,50 %) est moins important qu'en milieu anoxique (98,80 %).

- ❖ La réaction de la dénitrification à un grand rapport avec la nature de la source de carbone et la consommation d'ions H^+ .
- ❖ Notre processus est fiable pour la dénitrification car l'utilisation du méthanol comme source de carbone et d'énergie pour l'élimination des nitrates donne un bon rendement de dénitrification qui est comparable aux résultats trouvés dans la littérature.
- ❖ L'utilisation du succinate de sodium comme source de carbone est facilement assimilable par les micro-organismes et mieux pour réduire les nitrates.
- ❖ L'utilisation des deux sources de carbones succinate de sodium et le méthanol entraines une légère augmentation du pH.
- ❖ Le rapport C/N est un paramètre affectant l'élimination des nitrates.
- ❖ La cinétique de nos micro-organismes diminue en présence d'une concentration élevée des chlorures.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

A

Adam, J.W.H. (1980). Health aspects of nitrate in drinking-water and possible means of denitrification. *Water SA*, 6 : 79.

Adam, J.W.H. (1980). Health aspects of nitrate in drinking-water and possible means of denitrification. *Water SA*, 6 : 79.

Ambus, P., Lowrance, R. (1991). Comparison of denitrification in two riparian soils. *Soil Science Society of America Journal* 55: pp 994-997.

Alexander M., Marshal, K. C. et Hirsch P (1960). Autotrophy and heterotrophy in nitrification. *Int. Congr. Soil.*, 7th, pp 586-591.

B

Baali F.,Rouabhia A, Kherici A., Djabri L.,Bouchaou L., Hani A. (2007). Qualité des eaux souterraines et risque de pollution en milieu semi-aride. Cas de la cuvette de Chéria (NE Algerien). *Estudios Geológicos*, 63 (2) julio-diciembre 2007,pp 127-133.

Balducci F. (dir.Lacroix A.), (1994). Le traitement des nitrates dans l'eau potable. Bilan technico-économique. INRA R&A, Grenoble, 31 pages.

Barnard JL, Morgenroth E, Pitman T, Cooper P, Chapman A, Ching DWK. (1998). The development of nutrient-removal processes (abridged) - Discussion. *Journal of the Chartered Institution of Water and Environmental Management.* ; 12(5):330.

Barroin G, (1991). « La réhabilitation des plans d'eau ». *La recherche.* 238 (22), 1421.

Beatson, C.G. (1978). Methaemoglobinaemia-Nitrate in drinking water. Environ. Health, 86 :31.

Belcon G., Gillet M. (1997). Procédé de dénitrification biologique autotrophe par Thiobacillus dénitrificans sur soufre-maeri. REV. Fr, Sci. Eau, 2,3,267-279.

Buchanan, R.E. (1918). Life phases in a bacterial culture. J. Infect. Dis. 98, 1271-1273.

BorDjiba O., Bekhouche F., Hassine A. et Djenidi R. (2009). Impact de la pollution par les hydrocarbures sur la qualité des eaux usées dans la région de skikda (Nord-Est Algérien). European Journal of Scientific Research ISSN 1450-216X Vol.26 No.1 (2009). pp 87-97.

Boquillet C., Lany Y. You M. (2007). Le nitrate et traitement des eaux. U.C.O. Bretagne Nord.

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.

Bouwer E.J., Crowe P.B (1988) Biological processes in drinking water treatment. JAWWA, 9,82-93.

C

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, 749-765.

Cavigelli M.A. et Robertson G.P. (2001). Role of denitrifier diversity in rates of nitrous oxide consumption in a terrestrial ecosystem. Soil Biology and Biochemistry, 33. pp 297-300.

Chabour N. (2004). La surexploitation des eaux souterraines dans les plaines littorales : nappe de Telezza dans la région de Collo (Nord-Est Algérien). Sciences & technologie BN° 22. Décembre 2004. pp 127-132.

Chambon. P, Coin.L, Vial. J (1983). Risque pour la santé humaine de certains composés azotés présent normalement ou éventuellement dans l'eau de boisson, les nitrates et composés N-nitroso. La technique de l'eau l'assainissement N° 438/439 et 440/441 p25-32 :33-38.

Chantal G. (2001). Nitrate pollution of ground water: the response time of ground water. *Journal of bioscience and bioengineering*. Vol. 108, No. 7, pp 423–435.

Chen K., Lee S. et Houg J. (1998). Simultaneous carbon-nitrogen removal in waste water using phosphorilated PVA-immobilised microorganismes. *Enzyme and Microbial Technology* 23: 311-320.

Cloirec, P. Germinet, R. (1998). Les composés organiques volatils (COV). Lavoisier, Tec&Doc.

Cole, J. (1993). Controlling environmental nitrogen through microbial metabolism. *Trends in biotechnology* , 11(8),368-372.

Cooper. P., Day. Met Thomas. V. (1994). Process options for phosphorus and nitrogen removal from wastewater. *Journal of the institution of water and environmental management* , 8(1), 84-92.

D

Daizy Bougard. (2004). Traitement biologique des effluents azotées avec arrêt de la nitrification au stade nitrite. Thèse de doctorat. Ecole doctorale : science et procédé biologiques et industriels.

Dardel. F (de), (1987). Résines échangeuses d'ions et eau potable. *Eau Ind. Nuis.*, 112,45-47.

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). pp 139-149.

Delignette-Muller M.L, (1995). Méthodes de prédiction des aptitudes de croissance des populations de micro-organismes. Thèse de doctorat N°118-95 présentée devant l'Université Claude Bernard-Lyon I.

Deguin. A. (1998). Incidence des résines échangeuses d'anions sur la qualité de l'eau traitée selon le procédé Nitracycle. *TSM Eau*, 83, 4, 231-234.

Dong-UK Lee, Il-SU Lee, YE-DUK Choi and JAE-HO BAE. (2001). Effect of external carbon source and empty bed contact time on simultaneous heterotrophic and sulfur-utilising autotrophic denitrification. *Process biochemistry* 36. 1215-1224.

Dos Santos VAPM, Tramper J, Wijffels RH. (1998). Integrated nitrogen removal in compact systems by immobilized microorganisms: new-generation bioreactors. In: Elgewely MR, ed. *Biotechnology Annual Review*, Vol 4. Sara Burgerhartstraat 25/PO Box 211/1000 AE Amsterdam/Netherlands: Elsevier Science Publ B V; 1998:321-394.

Dries, D. Liessens J., Verstraete W., (1988). Nitrate removal from drinking water by means of hydrogenotrophic denitrifiers in a polyurethane carrier reactor. *Wat. Supply*, 6, 181-192.

Duboz, A. (1992). Pollution par les nitrates des eaux destinées à l'alimentation humaine. Causes et conséquences . Traitement possibles. *Cons. Gén. GREF*, Paris. p 23.

Dupin, S. (1992) Dénitrification biologique hétérotrophe appliquée 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, p281.

E - F - G

Enwall K., Philippot L., Hallin S. (2005). Activity and composition of the denitrifying bacterial community respond differently to long-term fertilization. *Applied and Environmental Microbiology* 71: pp 8335-8343.

Flaurence Curie (2006). Rétention de nitrate dans les zones humides riveraines. Thèse de doctorat. Université Paris IV.

Fraser, P. (1985) Nitrates : Epidemiological Evidence. *IARC Sci. Publ.*, 65 :183.

Foglar L, Briski F. (2003). Wastewater denitrification process - the influence of methanol and kinetic analysis. *Process Biochemistry*. 39(1). pp 95-103.

Foglar L. and Vuković M. (2005). High nitrate removal from synthetic wastewater with mixed bacterial culture. *Biores. Technol.*, 96. pp 879-888.

Galoway J.N., Aber J.D., Erisman J.W., Seitzinger S.P., Howarth R.W., Cowling E.B., Henley W. J., Levavasseur G., Franklin, L. A., Lindley, S. T., Ramus J., et Osmond C. B. (1991). Diurnal responses of photosynthesis and fluorescence in *Ulva rotundata* acclimated to sun and shade in outdoor culture. *Marine Ecology Progress Series*, 75, pp 19-28.

Gamble, T., Betlach, M. et Tiedje, J. (1977). Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 33 : 926-939.

Garcia F., Ciceron D., Saboni A. and Alexandrova S. (2006). Nitrate ions elimination from drinking water by nanofiltration: Membrane choice. *Separation and Purification technology*, 2006. 52(1). pp 196-200.

Garcia, J. T. (1981). La biosynthèse des enzymes de la dénitrification chez cinq bactéries dénitrifiantes. *Cah. ORSTOM. Sér. Biol.*, 43 : 3-6.

Germon, J., Couton, Y et Senez L. (1999). Epuration des effluents porcins par épandage ; efficacité et prise en compte de l'évolution des effluents au cours du stockage .

Gootzen J. F. E., Peeters P. G. J. M., Dukers J. M. B., Lefferts L., Visscher W. and van Veen J.A. R. (1997). The electrocatalytic reduction of NO₃⁻ on Pt, Pd and Pt + Pd electrodes activated with Ge. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 1997. 434(1-2). pp. 171-183.

Guiraud. J.P. (1998). *Microbiologie alimentaire.* (DUNOD) 422 p.

Gupta SK, Raja SM, Gupta AB. (1994). Simultaneous nitrification-denitrification in a rotating biological contactor. *Environmental Technology*. 1994; 15(2):145-153.

H

Hamaidi M.S. Hmaid F., Zoubiri A., Bouaklil F. et Dhan Y. (2009). Etude de la Dynamique des Populations Phytoplanktoniques et Résultats Préliminaires sur les Blooms Toxiques à Cyanobactéries dans le Barrage de Ghrib (Ain Defla-Algérie). *European Journal of Scientific Research* ISSN 1450-216X Vol.32 N°3 (2009). pp 369-380.

Hanus F, Bernard C (1988). Dénitrification des eaux potables dans un réacteur biologique à élimination continue de la biomasse en excès : un procédé inédit. *TSM Eau*, 83, 4, 243-246.

Haslay C, Leclerc H. (1993). Microbiologie des eaux.

Hauk,R.D. (1981). Nitrogen fertilizer effect on nitrogen cycle processes. Ecology Bulletin, 33 : 551.

Hiscock, K. M., Lloyd, J. W. et Lerner, D. N. (1991). Review of natural and artificial denitrification of groundwater. Water Research. 25 (9). pp 1099-1111.

Howard P.H. (1990). Handbook of environmental fate and exposure data for organic chemicals. Ed. Lewis Publishers, Chelsea.Michigan.

Hwang,y, Yoneyama, Y et Noguchi, Hiroshi. (2000). Denitrification characteristics of reject water in upflow biofiltration.

I - J - K

IFEN, (1994). L'environnement en France, édition 1994-1995. Dunod et Ifen. 1994. 1-339.

Jacques Capblancq et al. (2002). Eutrophisation des eaux continentales.

Jianlong W., Ping L. et Yi, Q. (1999). Microbial metabolism of di-butyl phthalate (DBP) by a denitrifying bacterium. Process Biochemistry 34: pp 745-749.

Katsounaros I., Ipsakis D., Polatides C. and Kyriacou G. (2006). Efficient electrochemical reduction of nitrate to nitrogen on tin cathode at very high cathodic potentials. Electrochimica Acta, 2006. 52 (3) pp 1329-1338.

Kermarrec, C. (1999). Bilan et transformation de l'azote en élevage intensif de pocs sur litière.Thèse de Doctorat. Univ. Renne I.

Kim M., Jeong S., Yoon S., Ja -Cho, Kim Y.H., Kim M.J., Ryu E.Y., and Lee S.J. (2008). Aerobic Denitrification of Pseudomonas putida AD-21 at Different C/N Ratios. Journal of bioscience and bioengineering. Vol. 106, No. 5, pp 498–502.

Knowles R. (1982). Denitrification, Dissimilatory Reduction of Nitrate to Ammonium, and Nitrification in a Bioturbated Estuarine Sediment as Measured with ¹⁵N and Microsensor Denitrification. *Microbiol Techniques Rev.*, 46. pp 43-70.

L

Lacaze J.C, (1996). L'eutrophisation des eaux marines et continentales causes, manifestations, conséquences et moyens de lutte. (DISTNB). Eds, mar, S.A 1996. Mus. Natn. Hist. Nat. Paris. p 169.

Lespine A. et Periquet A. (2001). Nitrate alimentation et santé. TTCF. Paris 24 p.

L'hirondel J. (2004). Les nitrates et l'homme, le mythe de leur toxicité. Les éditions de l'institut de l'environnement, 142 p

Liua D., Zhanga S., Zhenga Y., Shoun H. (2006). Denitrification by the mix-culturing of fungi and bacteria with shell. *Microbiological Research* 161(2006). pp 132-137.

Lloyd D. (1993). Aerobic denitrification in soils and sediments - From falacies to facts *Trends in Ecology and Evolution* 8: pp 352-356.

Lobry J.R. (1991). Réévaluation du modèle de croissance de Monod. Effet des antibiotiques sur l'énergie de maintenance. Thèse de Doctorat n°134-91 présentée devant l'Université Claude Bernard, Lyon I.

Louzeiro N. R., Mavinic D. S., Oldham W. K., Meisen A. and Gardner I. S. (2002). Methanolinduced biological nutrient removal kinetics in a full-scale sequencing batch reactor. *Water Research*. 2002; 36 (11). pp 2721-2732.

Lowrance R., Smittle D. (1988). Nitrogen cycling in a multiple-crop vegetable production system. *Journal of Environmental Quality* 17: pp 158-162.

M

Mace S, Mata-Alvarez J. (2002). Utilization of SBR technology for wastewater treatment: An overview. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2002; 41(23):5539-5553.

Madigan M.,J.Martinko,and J. Parker. (2000). *Biology of microorganisms*. ninth edition ed. 2000: Prentice hall Inc.

Maneesha P., Ginige Jocelyn C., Bowyer Leah F., Jürg K., Zhiguo Y.(2009). A comparative study of methanol as a supplementary carbon source for enhancing denitrification in primary and secondary anoxic zones. *Biodegradation* (2009) 20: pp 221 234.

Marchandin H. (2007). *Physiologie bactérienne*. Thèse de doctorat. Faculté de médecine Montpellier - Nîme.

Marie Odileratel. (2002). *Elimination des nitrates des eaux potables*.

Martin G. (1979). *Le problème de l'azote dans les eaux*. Technique et documentation.

Maurel A. (2006). *Osmose inverse et ultrafiltration, considérations théoriques*. *Techniques de l'ingénieur*. J 2 790. pp 1-19.

Mc Meeking T. A.,Olley J.N.,Ross T. et Ratkowsky D.A. (1993). Data collection and analysis. P: 28-54. In *Predictive microbiology: Theory and application*, Research Studies Press LTD. Taunton.

Menesguen A. (2001). *Les marées vertes en Bretagne. La responsabilité du nitrate Bretagne environnement* (2001) pp 118-124.

Menesguen A. (2003). *Les « marées vertes » en Bretagne, la responsabilité du nitrate*. IFREMER/Centre de Brest, Direction de l'Environnement et de l'Aménagement du Littoral.

Meybeck M. , Chapman D., Helmer R., (1989).Global Freshwater Quality : a first assessment. Global environmet monitoring system. W. H. O. , UNEP. Cambridge Massachussetts. Blackwell, 1-306. P121.

Meynell G. G. et Meynell E. (1970). Quantitative aspects of microbiological experiments. Cambridge University press, Cambridge.

Mossakowska A, Reinius LG, Hultman B. (1997). Nitrification reactions in treatment of supernatant from dewatering of digested sludge. Water Environment Research. 69(6):1128-1133.

Mouchet P. (1982). Réflexions complémentaire sur l'importance des phénomènes biologiques dans le traitement et la distribution des eaux de consommations, Techn. Eau Assain., 424, 4, pp. 7-25.

Myrold D. D., Tiedje J. M. (1985). Establishment of denitrification capacity in soil : effects of carbon, nitrate and moisture. Soil Biology and Biochemistry 17 : pp 819-822.

N - O - P

Narang A., Konopka A., Ramkrishna D. (1997). The Dynamics of microbial Growth on Mixtures of substrates in Batch Reactors. J. theor. Biol. 184, 301-317.

Novince E. (2009). Guihi M. Nitrate dans les eaux de surface. Direction régionale de l'environnement de Bretagne. L'eau en Bretagne. Bilan 2008-2009.

OCDE (Organisation for Economic Cooperation and Development), (1982). Eutrophication of Waters, Monitoring, Assessment and Control, Final Report. OECD Cooperative Programme on Monitoring, of Inland Waters (Eutrophication, Control, Environment Directorate, OECD, Paris, 1-154

Oteng K. et Gyang. (1984). Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds.

Parsons L. L., Murray R. E., Smith M. S. (1991). Soil denitrification dynamics—spatial and temporal variations of enzyme-activity, populations, and nitrogen gas loss. Soil Science Society of America Journal 55: pp 90-950

Patureau D. (1995). Etude cinétique et physiologique d'une bactérie dénitrifiante en conditions anaérobies. Thèse de doctorat, université. 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. pp 47-65.

Protejoie S., Martinez J., Landmann G. (2002). L'ammoniac d'origine agricole : impacts sur la santé humaine et animale et sur le milieu naturel. INRA Prod. Anim., 2002, 15 (3), pp 151-160.

Purtschert I., Siegrist H. and Gujer W. (1996). Enhanced denitrification with methanol as carbon source. Water science and Technology. Volume 33, issue 12, 1996 pp 117-126.

R - S

Ratel (1992). Elimination des nitrates de l'eau potable. Document technique.

Reatz E. et Bauer, W. (2001). Fermentations et Technologie Enzymatique. Science Alimentaire.

Rodier J., (1978). L'analyse de l'eau, 6ème édition.

Ruiz L. (2003). Transferts et transformations d'azote dans les bassins versants : de l'azote lessivable au nitrate dans les rivières et dans les nappes. Thèse de doctorat Rennes I.N.R.A.

Salem Z. Lebig H., Cherfa W. K. et Allia K. (2007). Valorisation of olive pits using denitrification. Desalination 204 (2007). pp 72-78.

Santafé-Moros A., Gozávez-Zafrilla J.M. and Lora-García J. (2005). Performance of commercial nanofiltration membranes in the removal of nitrate ions. *Desalination*, 2005. 185 (1-3). pp 281-287.

Santé Canada (1992). Le nitrate et le nitrite. Recommandation de l'eau potable au Canada. Document technique.

Schuler M. L., Kargi F. (1992). *Bioprocess Engineering: Basic concepts*. Edition Prentice Hall PTR.

Scriban R. (1993). *Biotechnologie (4^{eme} édition)* Ed. Technique et documentation Lavoisier.

Sibony Jaques. (1983). Technique et procédés d'élimination des produits azotés des les eaux potables. *La technique de l'eau et l'assainissement* N° 437. P47-52.

Skrind J.R., Bhagat S.K. (1982). Industrial wastes as carbon sources in biological denitrification. *Journal of the Water Pollution Control Federation*.54 (4): pp 370-377.

Smid A. E. et Beauchamp E. G. (1976). Effects of temperature and organic matter on denitrification in soil. *Canadian Journal of Soil Science*. 56. pp 385-391.

Sorensen B. H. et Jorgensen S. E. (1993). The removal of nitrogen compounds from wastewater. Amestredam, London, New-york, Tokyo.

Stanier R. Y. (1976). *Microbiologie générale*, Mosson et CIE éditeurs, pp 225-370.

T - V - W

Tada K. and Shimazu K. (2005). Kinetic studies of reduction of nitrate ions at Sn-modified Pt electrodes using a quartz crystal microbalance. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2005. 577(2). pp 303-309.

TANSAKUL C. (2009). Procédés hybrides à membranes pour le prétraitement d'eau de mer avant dessalement par osmose inverse. Thèse de doctorat Toulouse INSA.

Tiedje J. M. (1988). Ecology of Denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In A.J.B. Zehnder (Eds.), *Biology of anaerobic Microorganisms* (pp. 179- 244). New-York, John Weiley and sons.

Torrijos M, Vuitton V, Moletta R. (2000). Le procédé SBR : une solution efficace et économique pour dépolluer les eaux usées des petites fromageries du massif jurassien. In: nuisances Adpdtdeed, Poitiers ESdId, eds. 14èmes Journées Information Eaux (JIE 2000). Poitiers, 13- 15 septembre; 2000: 45-1 à 11 (communication orale, texte intégral).

Van Dijk L, Roncken G. (1997). Membrane bioreactors for wastewater treatment : the state of the art and new developments. *Water Science and Technology*. 1997; 35(10):35-41.

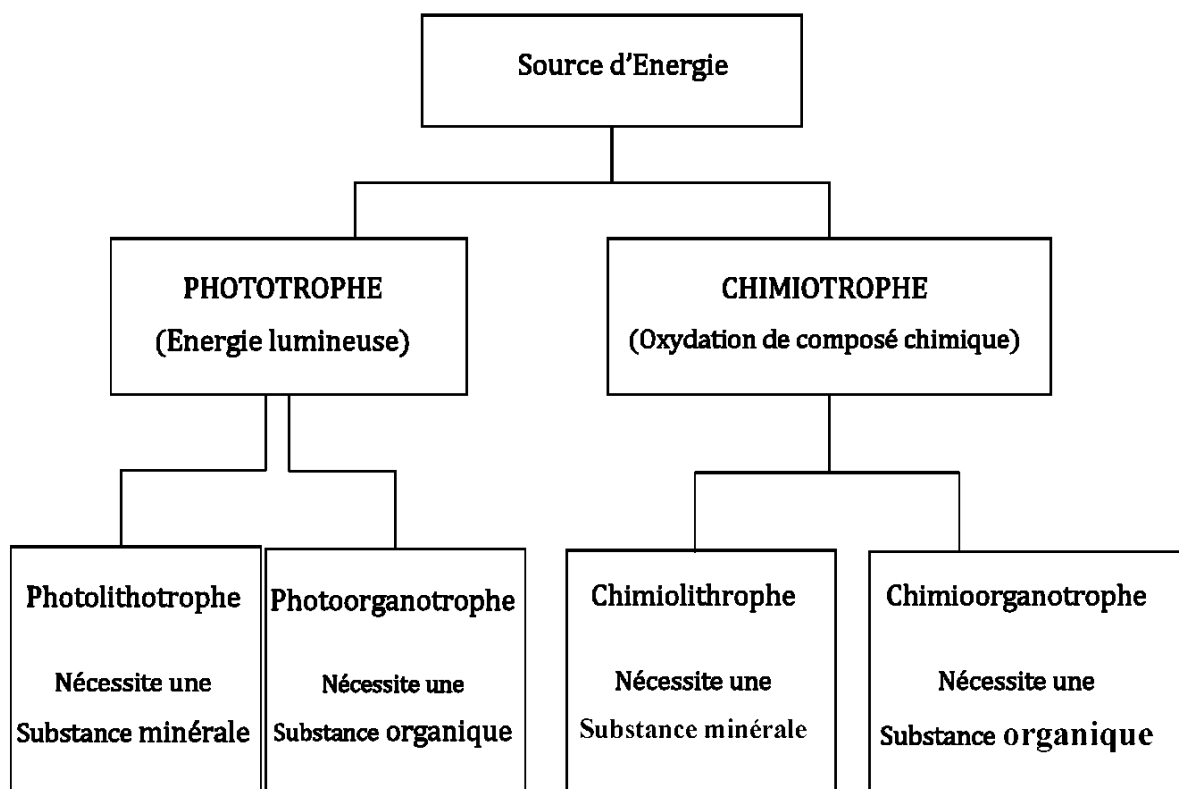
Wehbe N. (2008). Dénitrification de l'eau potable en réacteur catalytique membranaire et photocatalytique. Thèse de doctorat. Université Claude bernard Lyon.

Weier K. L., Doran J. W., Power J. F., Walters D. T. (1993). Denitrification and dinitrogen/nitrous oxide ratio as affected by soil water, available carbon, and nitrate. *Soil Science Society of America Journal* 57: pp 66-72.

ANNEXES

ANNEXES

Annexe 1 : Classement des microorganismes selon leurs type d'énergie



Annexe 2: Fonctions physiologiques des principaux éléments constitutifs des cellules microbiennes

ELEMENTS	FONCTION METABOLIQUE
Carbone	Constituant des composés organiques
Oxygène	Constituant des composés organiques et de l'eau
Hydrogène	Constituant des composés organiques et de l'eau
Azote	Constituant des protéines, des acides nucléiques, des coenzymes
Soufre	Constituant des protéines et de quelques coenzymes
Phosphore	Constituant des acides nucléiques, des phospholipides, des coenzymes
Potassium	Constituant de plusieurs enzymes et intervenant dans la synthèse protéique
Calcium	Cofacteur d'enzymes extracellulaires (protéases)
Magnésium	Cofacteur de nombreuses réactions enzymatiques (ATP)
Fer	Constituant de cytochromes, cofacteur de certaines enzymes et des protéines transporteuses d'électrons.
Manganèse	Cofacteur de quelques enzymes
Cobalt	Constituant de la vitamine B 12
Molybdène Nickel Zinc Cuivre	Constituant de certaines enzymes

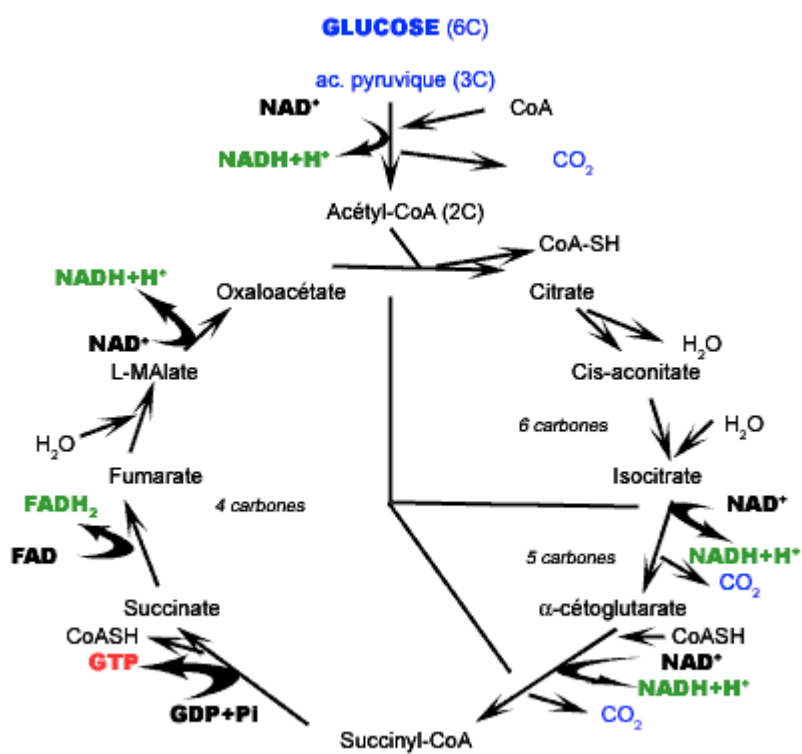
Annexe 3: Les caractéristiques physico-chimiques du méthanol

Source de carbone	MeOH
Formule moléculaire	CH ₄ O
Synonyme	Alcool méthylique
Etat physique	Liquide fluide
Poids moléculaire	32 g /mol
Densité	0,791 g/cm ³ à 20°C
Point d'ébullition	64,5°C
Point de fusion	- 97,8°C
Point d'eclair	12°C
Concentration de saturation	166 g/m ³
Viscosité	0,5513 à 25°C
Conductivité thermique	190,16 mWm ⁻¹ K ⁻¹ à 25°C
Conductivité électrique	5.10 ⁻⁹ Ω ⁻¹ cm ⁻¹ à 25°C

Annexe 4: Les caractéristiques physico-chimiques du succinate de sodium

Source de carbone	Succinate de sodium
Formule moléculaire	$C_4H_4Na_2O_4$
Formule structurale	$NaOOCCH_2CH_2COONa$
Etat physique	Poudre blanche
Point de fusion	$> 400^\circ C$
Densité	1.886 g/cm^3 à $25^\circ C$
Tension de vapeur	$< 0.00015 \text{ hPa}$ à $100^\circ C$ $1.16E-7 \text{ hPa}$
Solubilité dans l'eau	$> 100 \text{ g/l}$ à $25^\circ C$

Annexe 5: Cycle de krebs

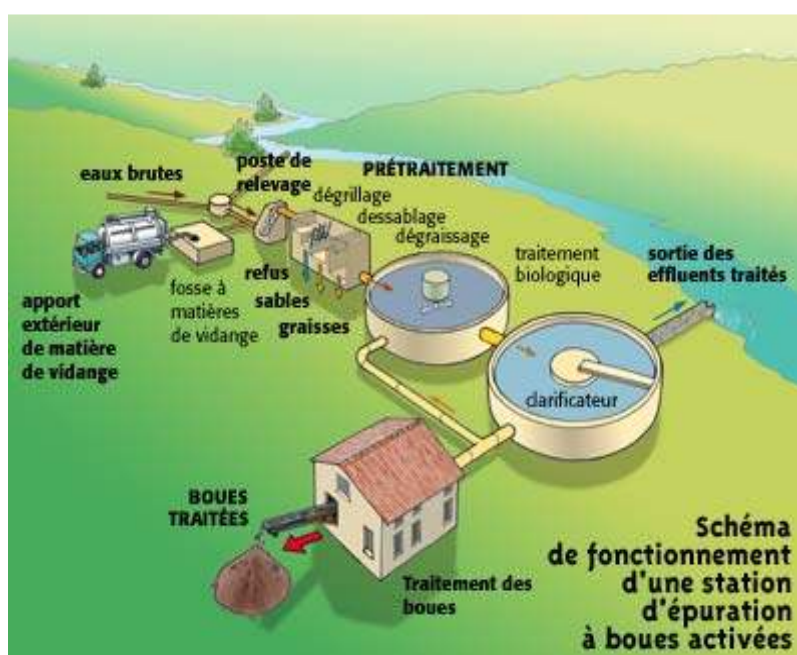


Cycle de krebs

Annexe 6 : La station d'épuration El Menia Constantine.

Introduction

Une station d'épuration est installée généralement à l'extrémité d'un réseau de collecte, sur l'émissaire principal, juste en amont de la sortie des eaux vers le milieu naturel. Elle rassemble une succession de dispositifs, empruntés tour à tour par les eaux usées. Chaque dispositif est conçu pour extraire au fur et à mesure les différents polluants contenus dans les eaux. La succession des dispositifs est bien entendu calculée en fonction de la nature des eaux usées recueillies sur le réseau et des types de pollutions à traiter.



Présentation de la station d'épuration des eaux usées d'El Menia Constantine

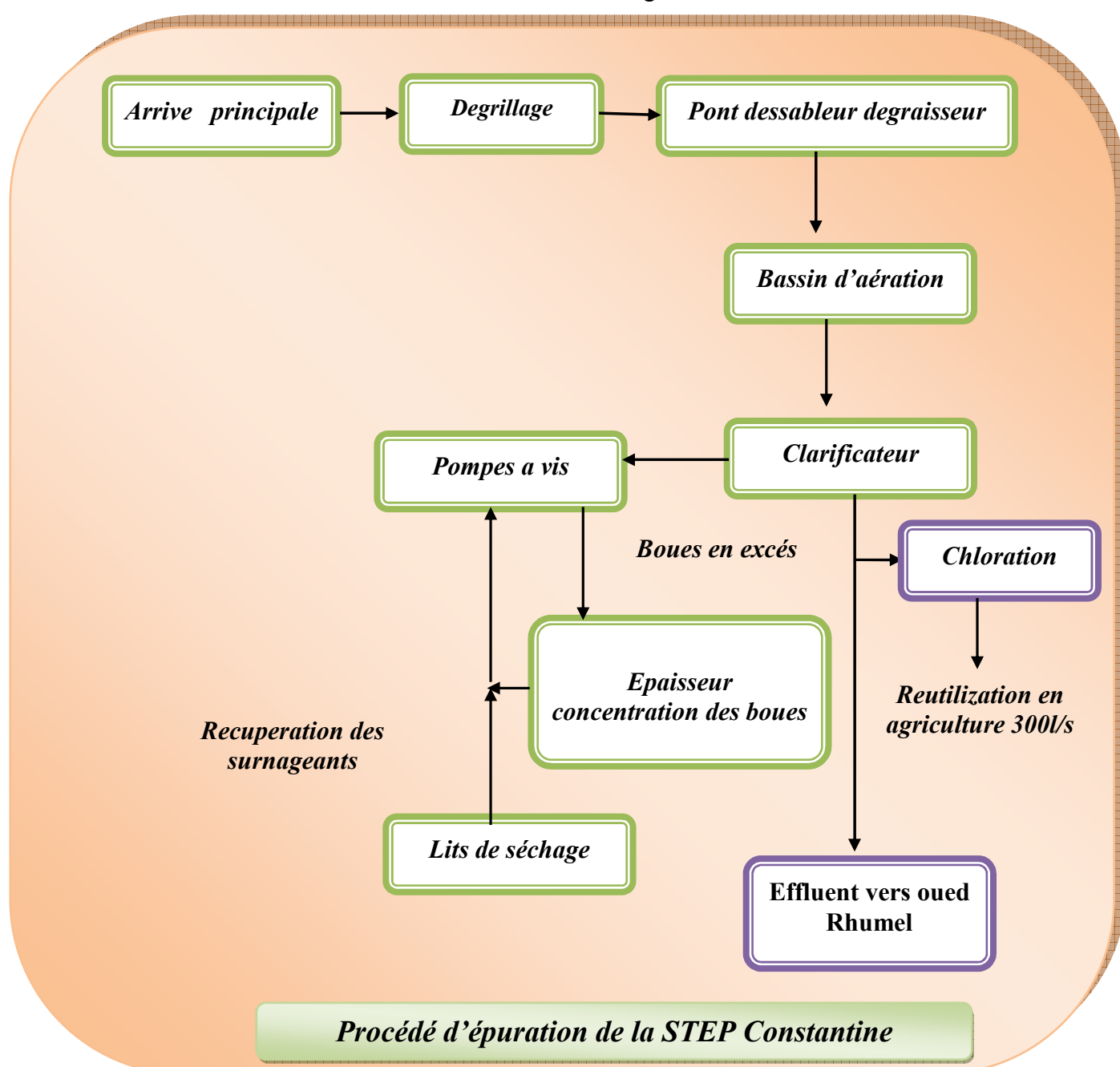
La station d'épuration des eaux usées de Constantine est située à 12 Km de la ville, dans la daïra de Hamma Bouziane, sur la route de Mila. Elle s'étend sur une superficie de 12 Hectares.

Elle a été mise en service le 15 mai 1997 et traite aujourd'hui une partie des rejets d'eaux usées déversées par la ville de Constantine.

Les étapes de traitement

Le processus de traitement comporte les étapes suivantes :

1. Criblage grossier a l'aide de cribles a barreaux mécaniques.
2. Des canaux a sable aérées éliminent le sable et les graisses
3. Le traitement biologique est accompli dans des bassins à aération mécanique.
4. Décantation dans les clarificateurs circulaires racles secondaires.
5. Les boues activées de retour sont refoulées par des pompes à vis et criblées a travers des cribles à barreaux moyens.
6. Les eaux usées traitées utilisées à la fin de l'irrigation seront désinfectées au chlore.



Réutilisation des eaux usées urbaines épurées

13% des eaux usées épurées sont réutilisées de manière directe par des agriculteurs. Les 87% d'eaux usées épurées produites par les stations d'épuration existantes non situées à proximité des périmètres agricoles, sont réutilisées indirectement à partir des oueds alimentant les barrages.



Bassins d'aération



Bassins de décantation



Lits de séchages



Eaux usées épurées



Réutilisation des eaux usées épurées et des boues actives en agriculture

Résumé

L'utilisation intensive des engrais en Algérie a entraîné une accumulation des nitrates dans les réserves d'eaux, ce qui provoque la dégradation de leur qualité. Avec les années, cette situation s'accroît de plus en plus. Des analyses récentes ont montré un niveau critique de pollution des eaux souterraines par les nitrates dans la région du Haut Chéleff et la plaine de la Mitidja (200 à 270 mg/L) dépassant ainsi largement le seuil de 50 mg/L fixé par les normes de l'Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S). Une concentration élevée des nitrates dans les cours d'eau entraînera leur eutrophisation et la consommation de cette eau aura pour conséquence l'apparition de la méthémoglobinémie chez l'homme.

Le travail que nous présentons ici consiste en une étude de la réaction de dégradation des nitrates des eaux potables par l'utilisation d'un processus biologique qui semble être le mieux adapté aux moyens dont dispose l'Algérie car il est économique et n'exige pas de grandes compétences technologiques par rapport aux techniques physicochimiques déjà connus. Ce processus nécessite l'utilisation d'un accepteur final d'électrons, souvent c'est un hydrocarbure tels que le méthanol, le glucose, le fructose... Dans notre cas nous avons testé à 32°C dans un milieu nutritif approprié, le Succinate de sodium et le Méthanol, comme source unique de carbone et d'énergie ainsi que l'influence de différents paramètres influençant la dénitrification (le rapport C/N, la concentration initiale de la source de carbone et le pH).

Nos expériences ont montré des cinétiques de croissance et de dénitrification différentes selon la nature de la source de carbone. L'effet de l'accroissement de la concentration initiale en nitrate en utilisant le méthanol comme source de carbone s'avère favorable aux cinétiques de croissance et a un effet secondaire sur la dénitrification. L'élimination des nitrates dans le cas du Succinate de sodium est rapide et complète, cependant, avec le méthanol cette élimination est partielle. L'augmentation de la concentration initiale de Succinate de sodium induit un meilleur rendement de conversion de ce dernier en biomasse et une réduction concomitante significative du temps nécessaire pour l'élimination totale des nitrates, cependant il y a une augmentation du temps de latence, alors qu'en leur absence, aucune croissance n'est observée.

Mots clés : Dénitrification, méthanol, succinate de sodium, source de carbone, Nitrate, Culture mixte.

Abstract

The intensive use of fertilizers in Algeria led to an accumulation of nitrate in water, which causes degradation of quality. Over the years, this situation is growing increasingly. Recent analysis is shown a critical level of groundwater pollution by nitrates in the Nagorno Cheleff and Mitidja plain (200 to 270 mg / L) far exceeding the 50 mg / L set by the standards the World Health Organization (WHO). High concentrations of nitrates in rivers and eutrophication will lead to their consumption of this water will result in the occurrence of methemoglobinemia in humans.

The work presented here is a study of the degradation reaction of nitrates from drinking water by using a biological process which seems best suited to the means available to Algeria because it is inexpensive and requires no major technological skills in relation to physicochemical techniques already known. This process requires the use of a final electron acceptor, is often a hydrocarbon such as methanol, glucose, fructose In our case we tested at 32° C in a medium nutritif appropriate, the Sodium succinate and methanol as a sole source of carbon and energy and the influence of different parameters affecting denitrification (the C/N, the initial concentration of carbon source and pH).

Our experiments showed growth kinetics and denitrification different depending on the nature of the carbon source. The effect of increasing the initial concentration of nitrate using methanol as a carbon source is pro-growth kinetics and a secondary effect on denitrification. The nitrate removal in the case of sodium succinate is rapidly and completely, however, with the methanol elimination is partial. Increasing the initial concentration of sodium succinate induces a more efficient conversion of that biomass and a concomitant decrease significantly the time required for complete removal of nitrates, however, there is an increase in latency, so that 'in their absence, no growth is observed.

Keywords: Denitrification, methanol, sodium succinate, carbon source, nitrate, mixed culture.

ملخص

أدى الاستخدام المكثف للأسمدة في الجزائر إلى تراكم النترات في المياه، والذي يسبب تدهور نوعيتها على مر السنين، وهي في حالة تزايد مستمر. وتظهر التحاليل الأخيرة مدى تلوث المياه الجوفية بالنترات في أعالي منطقة الشلف وسهل متيجة (200 حتى 270 ملغم / لتر) تتجاوز بكثير 50 ملغم / لتر المعايير التي وضعتها منظمة الصحة العالمية. التراكيز العالية من النترات في الأنهار والمجاري المائية يؤدي لتخثث و استهلاك هذه المياه سيؤدي إلى ظهور ميتهيموغلوبينية الدم لدى البشر.

العمل الذي قدمناه هنا هو دراسة إزالة النترات من مياه الشرب باستخدام عملية بيولوجية التي تبدو الأنسب للوسائل المتاحة في الجزائر لأنها غير مكلفة ولا تتطلب أي مهارات تكنولوجية كبرى بالنسبة للتقنيات الفيزيائية المعروفة. هذه العملية تتطلب استخدام قابل للإلكترون النهائي، وغالبا ما يكون هيدروكربون مثل الميثانول ، والجلوكوز ، والفركتوز.... وفي حالتنا تم اختبارها عند 32 درجة مئوية في وسط مغذي الاقضاء ، سكسينات الصوديوم والميثانول كمصدر وحيد للكربون والطاقة، كذلك تبين دراسة تأثير العوامل المختلفة على عملية نزع النتروجين (C/N) ، تركيز الأولي من مصدر الكربون ودرجة الحموضة pH).

وأثبتت تجاربنا حركية النمو ونزع النتروجين مختلفة تبعا لطبيعة مصدر الكربون. تأثير زيادة التركيز الابتدائي للنترات باستخدام الميثانول كمصدر الكربون صالحة لحركية النمو وتأثير ثانوي على نزع النتروجين. إزالة النترات في حالة سكسينات الصوديوم سريعة وبشكل كامل ، لكن مع الميثانول جزئية. زيادة التركيز الابتدائي لسكسينات الصوديوم تؤدي إلى مردود أحسن لهذا الأخير لتحويله إلى الكتلة الحيوية ، ويصاحب ذلك انخفاض كبير في الوقت اللازم لإزالة النترات كليا، ومع ذلك، هناك زيادة في زمن استتار، بحيث في غيابهم، لا يلاحظ أي نمو.

الكلمات المفتاحية : نزع النترات، الميثانول، سكسينات الصوديوم، مصدر الكربون، النترات، خليط بكتيري.