

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MENTOURI CONSTANTINE

N° d'ordre :
Série :

THESE

Présenté a la faculté des sciences exactes
Département de chimie

Pour l'Obtention du Diplôme de Doctorat
En Sciences en Chimie Analytique et Physique

OPTION : Chimie Analytique et Physique

Présenté par : M^{me} Cheurfi wassila



Thème

**UTILISATION DE BACTERIES PRELEVEES DANS LA
STATION D'EPURATION D'EL MENIA CONSTANTINE
POUR LA DENITRIFICATION**

Devant le Jury :

Président :	HAOUAM Abdelkarim	Professeur	Université de Constantine
Rapporteur :	KEBABI Brahim	Professeur	Université de Constantine
Examineur :	BOUZAHER Yacine	Professeur	Université de Batna
Examineur :	BELMOKRE Kamel	Professeur	Université de Skikda

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 Kebabi Brahim. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour la confiance qu'il m'a accordée en m'accueillant dans son équipe et pour toutes les connaissances que j'ai acquises à ses côtés.

Je remercie vivement Monsieur Haouam Abdelkrim, professeur à l'université Mentouri de Constantine, qui me fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

Qu'il me soit permis d'adresser mes remerciements à Monsieur Bouzaher Yacine professeur à l'université de Batna, qui a aimablement accepté de juger ce travail.

Je remercie également Monsieur Belmokre Kamel, professeur à l'université de Skikda, qui a bien voulu se déplacer pour juger ce travail.

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

Je remercie vivement le service de la station d'épuration d'El Menia Constantine STEP pour leur disponibilité et l'autorisation d'accès aux points de prélèvement.

Grand merci enfin à toute ma famille, à mes parents pour tout ce qu'ils ont fait pour moi et l'éducation que j'ai reçue de leur part, je leur dédie cette thèse.

RESUME

La pollution de l'eau par les nitrates a été favorisée par la mise en place de méthodes de production agricole intensives, qui s'est traduite par une utilisation accrue des engrais chimiques. L'essentiel de cette pollution est dû à la différence entre les apports en nitrates sous formes d'engrais et ce qui est réellement consommé par les plantes. Pour remédier à cela nous avons effectué un travail qui consiste à diminuer la concentration des nitrates dans les eaux de surfaces tel que les barrages et les nappes phréatiques souterraines pour éviter les effets néfastes de la pollution. Ceci a été obtenu par un traitement biologique vus ses avantages économique et son efficacité pour réduire les nitrates.

L'étude que nous avons menée a montré le pouvoir de réduire la concentration des nitrates et de dégrader la matière organique (Méthanol, méthyléthylcétone, mélange tampon d'acide acétique et d'acétate de sodium) par l'utilisation d'une culture mixte de microorganismes prélevée dans la station d'épuration biologique d'El Menia Constantine. Les produits de la dénitrification et de la dégradation sont l'azote moléculaire, le gaz carbonique et l'eau. L'étude a été menée à 30°C dans un intervalle de concentration en source de carbone allant de 500 à 2000 ppm. Une corrélation a été mise en évidence entre l'augmentation du temps de latence et l'augmentation de la concentration en substrat carboné. Une forte diminution des performances de dégradation a été observée à partir de 2000 et 1500 ppm pour la méthyléthylcétone et le méthanol respectivement. La vitesse de dénitrification varie avec la nature de la source de carbone et de la capacité des microorganismes à métaboliser cette source de carbone avec une efficacité d'élimination des nitrates. Cependant, pour réduire les nitrates, le mélange tampon d'acide acétique et d'acétate de sodium est consommé préférentiellement par rapport au méthyléthylcétone et au méthanol. L'utilisation des nitrates seuls produit moins d'énergie que la consommation conjointe d'oxygène et des nitrates.

Mots clés :

Nitrate, dénitrification, biodégradation, culture mixte, source de carbone.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....	1
 CHAPITRE 1: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	
I. Introduction.....	5
II. Cycle de l'azote	6
II.1. La fixation	7
II.2. L'assimilation.....	7
II.3. L'ammonification	7
II.4. La nitrification.....	7
II.5. La réduction assimilatrice	8
II.6. La dénitrification.....	8
III. Nitrates.....	8
III.1. Sources et dangers de la pollution.....	8
III.1.1. Effets sanitaire.....	10
III.1.2.Effets sur la faune et la flore	12
III.2. Procédés d'élimination des nitrates	15
III.2.1. les procédés électrochimiques	15
III.2.2. traitements par échange d'ions.....	16
III.2.3. Procédés membranaires de dénitrification.....	17
III.2.4. Procédés biologiques de dénitrification	21
III.2.4.1. Réduction assimilatrice	22
III.2.4.2. Réduction dissimilatrice en azote ammoniacal	22
III.2.4.3. Dénitrification	23

III.3. Les techniques biologiques d'élimination de la pollution azotée	30
III.3.1. Les systemes a boues activées	31
III.3.2. Les réacteurs a biomasse fixée	35
IV. Pollution des eaux en Algérie	39
IV.1. Introduction	39
IV.2. Pollution des eaux par les nitrates en Algérie	40
IV.3. Quelques exemples de pollution des eaux en Algérie	41
IV.3.1. Cas des eaux superficielles dans le Nord-Est algerien	41
IV.3.2. Cas des eaux souterraines de la plaine d'Al Ma El Abiod(Algerie)	41
IV.3.3. Cas des eaux souterraines de l'aquifere superficiel de Ain Djacer Batna	42
V. Les composés organiques volatils (COV)	46
V.1. Définition	46
V.2. Les sources d'emmission	46
V.3. Effets et impact des COV	47
V.3.1. Effet des COV sur l'environnement	47
V.3.2. Effets sur la santé	49
V.4. Techniques de réduction des emissions de COV	49
V.4.1. Traitement biologique	51
V.5. Avantages et inconvenients des differents procédés	52
V.6. Estimation de la matière organique	54
V.6.1. La demande chimique en oxygène	54
VI. Généralites microbienne	55
VI.1. Introduction	55
VI.2. La croissance bactérienne	55
VI.3. Conditions du développement microbien	56
VI.3.1. Conditions nutritives	56
VI.3.2. Conditions physico-chimiques	57
VI.4. Cinétiques de croissance en batch	58

VI.4. 1. Schéma de croissance	59
VI.4.2. Suivi de la croissance bacterienne en culture mixtes.....	60
VI.4.2.1. Les mesures directes du nombre de microorganismes.....	60
VI.4.2.1. Les mesures indirectes du nombre de microorganismes	62
CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES	
I. Matériel et méthodes.....	64
I.1. Matériel	64
I.1.1. Micro-organismes	64
I.1.2. Milieu de culture	64
I.1.3. Source de carbone et d'énergie.....	65
I.1.4. Conservation des échantillons.....	69
I.1.5. pH-métrie.....	69
I.1.6. Centrifugeuse	70
I.1.7. Spectrophotomètre.....	70
I.1.8. réacteur 'batch'	73
I.2. Méthodes d'analyses	74
I.2.1. Mésure de la biomasse	74
I.2.2. Dosage des nitrates.....	74
I.2.3. Dosage de la source de carbone	74
II. Les conditions opératoires	75
CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION	
I. Etude du méthyléthylcétone comme source de carbone.....	76
I.1. Effet de la concentration initiale de la méthyléthylcétone	76
I.2. Influence de l'oxygène	80

I.3. Influence de la concentration initiale des nitrates	82
II. Etude de la méthanol comme source de carbone.....	86
II.1. Effet de la concentration initiale de la méthanol	86
II.2. Effet de l'oxygène	88
II.3. Influence de la concentration initiale des nitrates	90
III. Etude d'un mélange tampon d'acide acétique et d'acétate de sodiun comme source de carbone	94
III.1. Effet de la concentration initiale du mélange tampon d'acide acétique et d'acétate de sodiun.....	94
III.2. Effet de l'oxygène	95
III.3. Influence de la concentration initiale des nitrates	98
CONCLUSION ET PERSPECTIVE.....	101
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	105
ANNEXES.....	114

Introduction Générale

L'eau est un besoin vital et l'accès à une eau de bonne qualité nécessite un engagement de notre part pour sa protection. De nombreuses activités humaines conduisent à la pollution de l'eau. Les différentes pollutions issues des secteurs industriels, agricoles ainsi que les activités quotidiennes de l'homme, imposent de trouver une solution pour traiter ces divers types de polluants, qui peuvent avoir des conséquences d'ordre sanitaires, écologiques, industrielles ou agricoles.

La teneur en nitrates des eaux souterraines ou de surface est en augmentation continue ces dernières années avec l'intensification de l'agriculture, de l'industrialisation et de l'urbanisation. Environ 30% à 70% des fertilisants azotés utilisés en agriculture sont perdus dans l'environnement sous forme d'ammoniac et d'oxyde d'azote qui polluent l'atmosphère [Zhu, 2000; Silvan *et al.*, 2002], et sous forme de nitrates que l'on retrouve dans les eaux de surface et souterraines [Li *et al.*, 2003 ; Yapo O. B *et al.*, 2009].

Les nitrates constituent à la fois un des nutriments pour les plantes, et sont aussi également consommés par les bactéries et champignons terrestres. Les nitrates, qui ne sont pas consommés par les plantes, sont alors stockés sous forme de matières organiques. Ces dernières, sont lessivées par les eaux de ruissellement et d'infiltration.

Les nitrates emportés dans les eaux d'infiltration au cours d'une année ne proviennent donc que pour une faible part des engrais apportés cette même année. Cela veut dire que la pollution actuelle des nappes souterraines provient d'une vingtaine d'années d'épandage d'engrais. Un arrêt immédiat de la fertilisation du sol ne montre un effet qu'après plusieurs années.

En Algérie plusieurs enquêtes ont montré que la pollution par les nitrates des eaux souterraines a atteint un stade alarmant. Le programme de surveillance des eaux de puits et de sources, réalisé par le laboratoire de chimie des eaux de l'A.N.R.H, a montré l'existence depuis 1994 d'une forte concentration en nitrates dans les eaux des nappes souterraines, dans le centre du pays (la plaine de la Mitidja, le Haut Chelif) et à l'Ouest (Sidi Bel Abbès), avec

une teneur dépassant largement la dose maximale de 50 mg/l : 270 mg/l à Miliane [bouziani.M, 2000].

Des solutions curatives et ponctuelles doivent donc être proposées aux populations concernées, déjà confrontées aux eaux trop riches en nitrates. La présence de nitrates dans les eaux est à l'origine de la méthémoglobinémie chez le nourrisson et de cas de cancers du nasopharynx, de l'oesophage et de l'estomac chez l'animal (Levesques, 1976 et 1982 ; Billaut; 1989). Pour les eaux riches en nitrate, l'élimination de celui-ci peut être réalisée soit par des traitements biologiques : Dénitrification hétérotrophe ou autotrophe, soit par des traitements physicochimiques : Echanges d'ions, procédés membranaires [Yapo O. B *et al.*, 2009].

Les traitements biologiques occupent une place importante parmi les procédés mis en place pour éliminer les nitrates. La dénitrification biologique repose sur l'utilisation de bactéries, essentiellement de la famille des *Pseudomonas*, qui utilisent les nitrates à la place de l'oxygène de l'air, et qui les transforment en azote gazeux. Les bactéries hétérotrophes consomment les produits organiques pour en tirer l'énergie, tandis que les bactéries autotrophes tirent cette énergie des matières inorganiques et du soufre parfois [Wehbe.N, 2008].

Le développement industriel, entraîne souvent une pollution rapide par les composés organiques, surtout celle des composés organiques volatils. Ces derniers proviennent principalement de l'utilisation des véhicules automobiles et de la fabrication et l'utilisation industrielle ou domestique des solvants. Mais il existe également des émissions naturelles (plantes, incendies de forêts, décompositions, etc.).

Leurs émissions génèrent deux types d'impact : un impact direct sur la santé de l'homme selon le polluant envisagé, allant de la simple éruption cutanée (ou irritation) à la génération de cancers, pour les COV les plus nocifs tels que le benzène. Et un impact indirect sur l'environnement : la pollution photochimique observée dans la troposphère par production excédentaire de composés oxydants (ozone), la destruction de la couche d'ozone stratosphérique.

Plusieurs études sur les COV ont été menées, les résultats de ces dernières ont contribué à la proposition de différents traitements. Dans ce contexte on peut citer la photodégradation [Zuo, G-M. *et al.*, 2006], [Chen,F. *et al.*, 2002], la combustion [Lee, Wang, 2006], [Centeno, 2005], la destruction par oxydation catalytique [Edouard, D. *et al.*, 2005], le traitement par

absorption sur charbon actif [Dege, P. et al., 2001] et la séparation par l'utilisation de membranes sélectives [Dubray, A. et al., 2004], [Lui, Y.J. et al., 2006]. Cependant les procédés biologiques apparaissent comme une alternative intéressante. Ils exploitent la diversité fonctionnelle des micro-organismes dans le but de métaboliser les polluants présents dans les effluents gazeux. Leurs impacts environnementaux mineurs, leur bonne image auprès du grand public et leurs coûts modérés en termes d'investissement et de fonctionnement comparés aux techniques physico-chimiques. Sont des arguments qui plaident pour leur développement et leur utilisation [Lalanne.F, 2006].

On peut donc envisager d'effectuer simultanément la réduction des nitrates et la dégradation des composés organiques solubles dans l'eau par un traitement biologique (dénitrification hétérotrophe).

L'objectif de cette thèse est l'utilisation de bactéries prélevées dans la station d'épuration d'El Menia Constantine pour la dénitrification. Cette dernière se base sur l'exploitation conjointe du méthanol, de la méthyléthylcétone ainsi qu'un mélange tampon composé d'acide acétique et d'acétate de sodium comme source de carbone et d'énergie.

Avant d'aborder les résultats obtenus au cours de ce travail, le premier chapitre sera consacré à une étude bibliographique afin de décrire l'importance de l'azote et les nitrates dans l'ensemble des systèmes vivants. Ainsi que leurs sources, leur impact sur l'organisme et sur l'environnement. Les différents procédés de leur traitement seront ensuite abordés, en insistant sur le traitement biologique (dénitrification biologique). Par ailleurs nous ferons ensuite le point sur la pollution des eaux par les nitrates en Algérie. Un aperçu général sur les composés organiques volatils, l'élimination biologique de la pollution organique, la cinétique de croissance en batch et l'influence de quelques facteurs de l'environnement sur cette croissance sera donné.

Le deuxième chapitre regroupe les appareillages et les méthodes spécifiques utilisés lors de l'expérimentation.

Dans le troisième chapitre une série d'expériences a été faite pour l'étude de la dénitrification en utilisant le Méthanol, la méthyléthylcétone et le mélange tampon d'acide acétique et d'acétate de sodium comme source de carbone et d'énergie. Les constantes cinétiques de la

croissance bactérienne et l'influence d'un certain nombre de facteurs opératoires sur la vitesse de dénitrification seront examinées.

Nous terminons cette thèse par la donnée d'une conclusion mettant en évidence les résultats atteints ainsi qu'un ensemble de perspectives qu'on peut atteindre par l'approfondissement de cette étude.

Etude Bibliographique

I. Introduction

L'azote représente 78% de l'atmosphère et 4 à 6% du poids sec d'un animal. Il 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.D, 1995].

Le cycle de l'azote est caractérisé par trois réservoirs : azote organique (acides aminés, protéines...), azote minéral (NO_2^- , NO_3^- ...) et composés gazeux (N_2 , NH_3 , N_2O ...) et est régi par des processus chimiques et biologiques permettant le passage d'une forme azotée à l'autre (Figure 1). Dans les milieux naturels, on n'observe pas d'accumulation d'azote dans l'un ou l'autre compartiment car un équilibre s'instaure entre ces trois réservoirs. L'azote est un constituant essentiel pour toutes les formes de vie, aussi bien dans les écosystèmes aquatiques que terrestres (l'homme prenant part à ces processus). De façon générale, l'azote est un facteur limitant de la croissance pour les règnes animal et végétal dans les écosystèmes naturels [Portejoie.S *et al.*, 2002].

Par son expansion démographique et géographique, l'homme a transformé les écosystèmes naturels et a modifié le cycle de l'azote : dans les zones densément peuplées où les activités humaines et particulièrement agricoles sont importantes, on observe une accumulation de l'azote. Cette accumulation résulte de deux processus : le transport d'azote d'une région géographique à une autre par le biais de la nourriture des animaux notamment et la fixation d'azote atmosphérique.

En évaluant à l'échelle mondiale les entrées et sorties d'azote dans le système Sol - Plante - Animal, [Van der Hoek.K, 1998] arrive à la conclusion que l'efficacité d'utilisation de l'azote est de 60% pour la production végétale mondiale et de 10,5% pour la production animale mondiale. Pour cela, il se base sur un régime alimentaire avec le taux protéique minimal n'entraînant aucune incidence sur les performances zootechniques. Si l'on restreint ces données au secteur agricole mondial, l'efficacité d'utilisation de l'azote est de 37%.

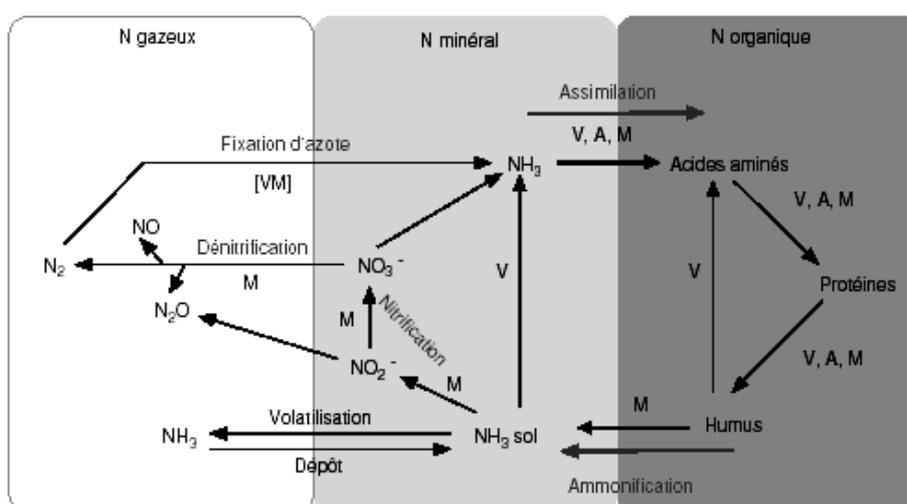
Le surplus d'azote introduit dans ce secteur s'accumule dans les sols ou, selon les cas, est redistribué sous différentes formes dans l'eau (Tableau 1).

Tableau 1 : Bilan azoté mondial (millions de tonnes) pour la production végétale et la production animale [Van der Hoek.K, 1998].

Entrées	Production végétale		Production animale	
	Engrais	73.6	Aliments pour animaux	20.5
Fixation biologique	45.0	Pâturages	83.1	
Déjections	102.4	Divers (déchets de cuisine...)	10.8	
Total	221.0	total	114.4	
Système sol- plante-animal				
Sorties	Culture (alimentation-industrie)	49.1	Production animale (viande, lait, œufs, laine)	12.0
	Pâturages	83.1	Déjections	102.4
	Surplus (sols, air, eau)	88.8	Total	114.4
	Total	221.0		

II. 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 (Figure1) fait intervenir des réactions de fixation, d'assimilation, d'ammonification, de nitrification et de dénitrification.

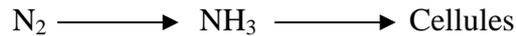


A : animaux, M : microorganismes, V : végétaux, [VM] : symbioses végétal/microorganisme

Figure 1 : Le cycle de l'azote (Portejoie.S et al., 2002)

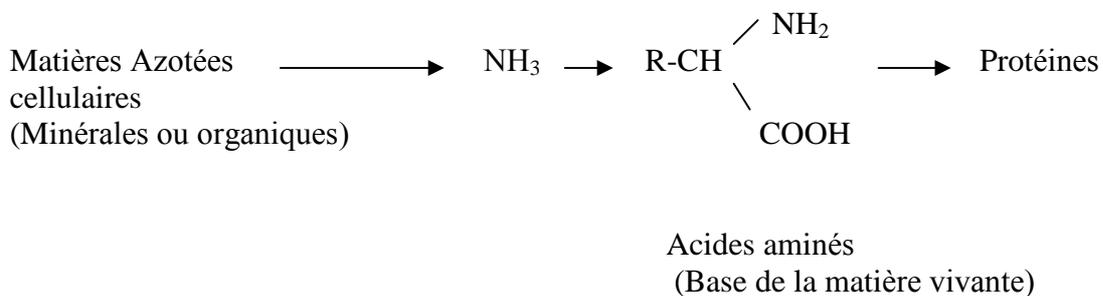
II.1. La fixation

La fixation correspond au passage de l'azote moléculaire (N_2) en azote fixé, habituellement en azote ammoniacal sous l'action de certains organismes.



II.2. L'assimilation

L'assimilation est la transformation de matière azotée minérale ou organique inerte en matière vivante.



II.3. L'ammonification

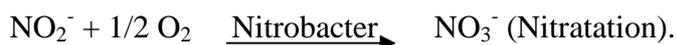
L'ammonification est la libération d'ammoniac à partir de matières azotées organiques provenant soit :

- l'excrétion de matières azotées par les organismes vivants.
- de la mort et de la décomposition des cellules vivantes.



II.4. La nitrification

La nitrification est l'oxydation de l'azote ammoniacal en nitrate par l'intermédiaire de bactéries nitrifiantes.

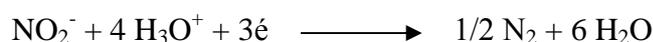


II.5. La réduction assimilatrice

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

II.6. La dénitrification

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



III. Nitrates

Les nitrates sont des sels de l'acide nitrique. Ce sont des composés azotés naturels de formule chimique NO_3^- (ion nitrate), présents dans tous les écosystèmes. Ils sont essentiels à la croissance des végétaux qui les puisent dans le sol, mais peuvent devenir néfastes pour les plantes et les animaux s'ils sont trop abondants. Ils entrent dans la composition des engrais chimiques et naturels (fumiers). Ce sont des composés facilement entraînés par les eaux de pluie, de drainage, de ruissellement ou d'infiltration.

III.1. Sources et dangers de la pollution par les nitrates

La présence de nitrates dans les eaux continentales provient à 55 % de l'agriculture, suite à l'épandage de doses massives d'engrais azotés et de lisier (effluents d'élevage). Le reste est issu des rejets des collectivités locales (35 %) et de l'industrie (10 %) [Goudot.S, Tap.J].

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 le nitrate d'argent topique utilisé pour le traitement des brûlures, les antipaludiques, la nitroglycérine, les antidiarrhéiques, les diurétiques, les antidotes pour les intoxications au cyanure et au sulfure d'hydrogène et les vasodilatateurs utilisés pour le traitement de la coronaropathie.

Très solubles dans l'eau, les nitrates constituent aujourd'hui la cause majeure de pollution des grands réservoirs d'eau souterraine du globe qui par ailleurs présentent en général une qualité chimique et bactériologique satisfaisante pour l'alimentation. Alors qu'en l'absence de contamination, la teneur en nitrates des eaux souterraines varie de 0,1 à 1 milligramme par litre d'eau, elle dépasse souvent aujourd'hui 50 milligrammes par litre, norme retenue pour les eaux potables par l'Organisation mondiale de la santé. L'essentiel de cette pollution est dû à la différence entre les apports en nitrates sous forme d'engrais et ce qui est réellement consommé par les plantes.

La pollution par les nitrates est un problème complexe. Les nitrates constituent à la fois un des nutriments pour les plantes, et sont aussi également consommés par les bactéries et champignons terrestres. Les nitrates, qui ne sont pas consommés par les plantes, sont alors stockés sous forme de matières organiques. Les bactéries terrestres consomment et décomposent ces matières organiques tout en libérant les nitrates même quand les plantes sont en repos et s'alimentent peu : dans ce cas, ne pouvant être consommé par ces dernières, les nitrates libérés sont lessivés par les eaux de ruissellement et d'infiltration [www.cnrs.fr]. Les nitrates emportés dans les eaux d'infiltration au cours d'une année ne proviennent donc que pour une faible part des engrais apportés cette même année. L'essentiel provient de la production de nitrates par la matière organique morte des sols, c'est-à-dire des nitrates épandus les années précédentes et stockés. À ceci s'ajoute parfois la lenteur de la progression de l'eau d'infiltration dans les sols.

Cela veut dire que la pollution actuelle des nappes souterraines provient d'une vingtaine d'années d'épandage d'engrais. Un arrêt immédiat de la fertilisation du sol ne montre un effet qu'après plusieurs années [Wehbe.N, 2008].

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

III.1.1. Effets sanitaire

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

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

a. Maladie bleus des bébés

Sous l'action des nitrites, l'hémoglobine se transforme en méthémoglobine qui bloque le transport de l'oxygène. Il s'agit d'une oxydation de l'hémoglobine en méthémoglobine. 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. Les tissus et les muqueuses se colorent alors en bleu, ce qui donne son nom à la « maladie bleue ». Les symptômes de cette maladie apparaissent lorsque le taux de méthémoglobine atteint 10 %. 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.

Ce sont surtout les foetus et les nourrissons qui y sont sensibles pour plusieurs raisons [Ratel.M.O]:

- ◆ Le caractère acide de leur estomac qui contient une flore bactérienne favorisant la transformation des nitrates en nitrites
- ◆ La déficience en enzyme qui transforme la méthémoglobine en hémoglobine,
- ◆ La transformation facile de l'hémoglobine foetale en méthémoglobine,
- ◆ La consommation en eau, par rapport à leur poids, qui est plus importante que celle des adultes.

b. Cancer des intestins et de l'estomac

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

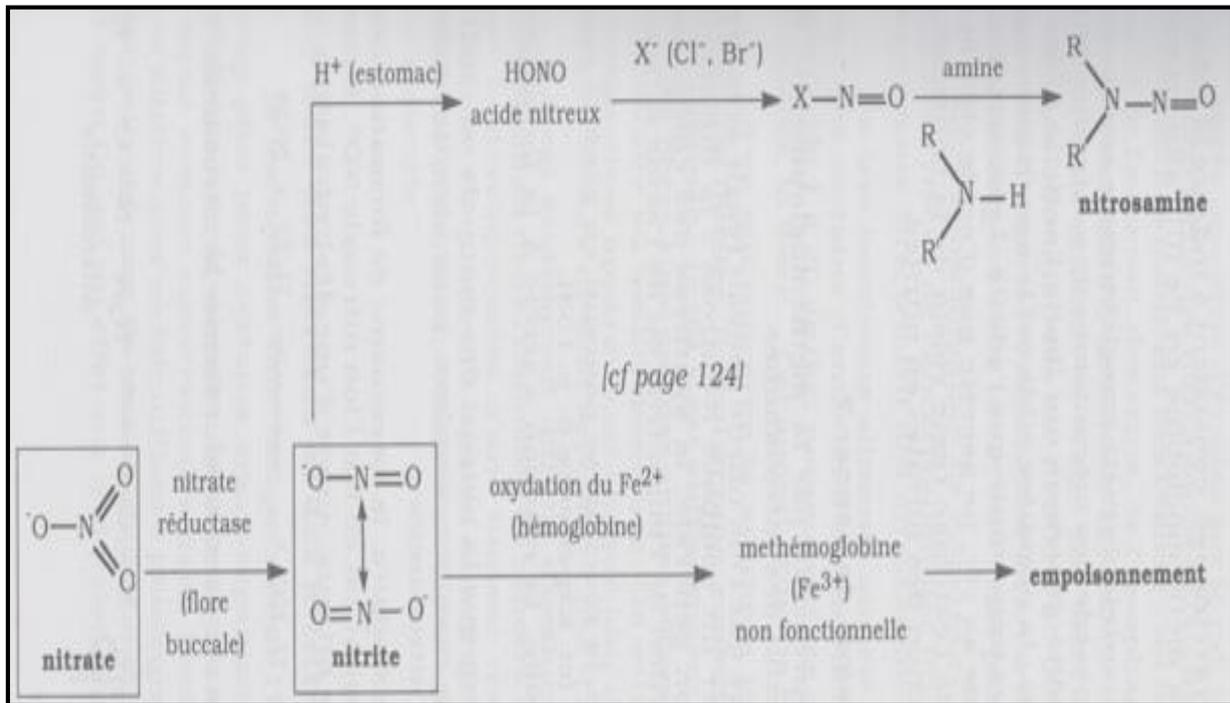


Figure 2: Effets sanitaires des nitrites

Ces conséquences justifient la fixation de normes strictes.

Tableau 2: normes admises en Europe et en Algérie en composés azotés dans l'eau potable

Composés azotés	Normes (mg/l)
Ammonium (NH_4^+)	0,5
Nitrites (NO_2^-)	0,1
Nitrates (NO_3^-)	50,0

D'autres effets des nitrates sur l'homme sont :

- L'augmentation du risque de mort fœtale
- L'augmentation du risque de malformation congénitale
- L'augmentation du volume de la glande thyroïde
- L'apparition plus précoce de l'hypertension artérielle

Le danger des nitrates ne viendrait pas de sa forme NO_3^- mais d'une forme dérivée, le nitrite [Wehbe.N. 2008].

III.1.2. Effets sur la faune et la flore

a. Eutrophisation

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

La pollution des eaux par les nitrates peut avoir plusieurs conséquences. En effet, elle provoque un phénomène de dystrophisation (eutrophisation accéléré).

La dystrophisation est un phénomène qui résulte du rejet de matières organiques fermentescibles dans les eaux ou de leur enrichissement par les minéraux nutritifs - nitrates et phosphates - provenant de l'agriculture et des effluents domestiques rejetés [Jacques Capbancq et al, 2002]. Comme le renouvellement des eaux lacustres est évidemment beaucoup plus lent que celui d'un cours d'eau, ces éléments nutritifs libérés directement ou par l'intermédiaire de la dégradation de matières organiques vont provoquer une prolifération du phytoplancton et des plantes aquatiques qui va elle-même engendrer un véritable bouleversement des conditions écologiques du lac. La mort de ces masses proliférantes provoquera une désoxygénation progressive mais permanente des eaux profondes avec pour conséquence la disparition des espèces de poissons nobles. Peu à peu, le fond du lac va être le siège de crises de dystrophie avec dégagement de gaz putrides (SH_2 , NH_3). Le chimiocline, plan qui délimite les couches désoxygénées de celles plus superficielles riche en oxygène remontera progressivement vers la surface avec pour conséquence la perte progressive de toute vie animale au-dessous des premiers mètres de profondeur.

Les principales phases de la dystrophisation des eaux d'un lac :

- Les rejets d'effluents domestiques et/ou d'eaux riches en engrais car ayant lessivé les terres de cultures vont augmenter la teneur du lac en nitrates (et phosphates).
- L'apport de matières organiques fermentescibles contenues dans ces effluents va provoquer une consommation de l'oxygène dissous tandis que les algues prolifèrent par suite de l'enrichissement des eaux en sels minéraux nutritifs.
- La mort massive des algues provoque après quelque temps un phénomène de décomposition aérobie qui désoxygène totalement les eaux à partir d'une certaine profondeur marquée par l'apparition d'un chimiocline.

- se produit un phénomène de décomposition anaérobie au niveau des sédiments avec dégagement de gaz putrides et toxiques (SH_2 , NH_3). A ce stade, les eaux situées sous le chimiocline sont devenues impropres à toute vie animale.



Figure 3 : photographies représentant le phénomène d'eutrophisation

b. Marées vertes

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

Plusieurs régions du globe ont été touchés par ce phénomène, on peut citer la lagune de Venise avec 500 000 t d'ulves sur 500 km² en 1987. En France les neufs dixièmes des tonnages d'ulves ramassées chaque année proviennent de Bretagne.

L'azote est l'élément limitant à la croissance algale en fin de printemps et en été. L'augmentation des rejets de nitrates provoque une prolifération d'ulves. Ce problème

concerne la Bretagne où le lessivage important des terres agricoles conduisait à une arrivée sur le littoral d'eau riche en nitrates, au moment où la demande des ulves en croissance était maximale.

L'hydrodynamisme et les conditions météorologiques jouent un rôle important dans la prolifération et l'échouage de ces algues (énergie des vagues, vent, courants...).

Le genre *Ulva* présente une grande plasticité ainsi qu'un rapport surface/volume favorable qui augmente les échanges avec le milieu. Ainsi il peut extraire du milieu et stocker des réserves d'azote importantes ce qui lui est favorable lors d'apports irréguliers. De plus ce genre est capable de s'adapter à des éclaircissements faibles ou élevés mais ces ulves peuvent aussi résister à des températures allant jusqu'à -5°C. Ainsi l'ulve peut passer l'hiver et reprendre ensuite sa croissance lorsque les conditions redeviennent plus favorables.

Parmi les conséquences d'ulves on peut citer :

Algues échouées sur l'estran : les ulves décomposées sur l'estran constituent une réserve importante d'azote et de phosphore sous forme organique. Ces stocks nutritifs sont libérés progressivement dans l'eau et ils peuvent être alors réutilisés. Il faut également mentionner la libération dans l'atmosphère de composés polluants (H₂S).

Impact sur la faune : lorsque les ulves viennent se plaquer contre les mollusques (huîtres, moules...) elles diminuent le renouvellement de l'eau et l'apport en nourriture. Les poissons plats proches de la plage subissent aussi les conséquences de ces marées vertes.

Conséquences économiques : tout d'abord, le ramassage des algues à un coût relativement important, en ce qui concerne la Bretagne, le ramassage coûte entre 300 000 et 600 000 € par an. De plus les algues ont un impact défavorable sur le tourisme. Les élevages en milieu marin subissent de gros dommages eux aussi.

Pour toutes ces raisons, les nitrates doivent être éliminés des rejets vers les lacs et les rivières [Bougard.D, 2004]. Il est possible d'utiliser et de combiner certaines techniques pour que les eaux usées, domestiques et urbaines et les eaux usées résiduelles industrielles, ne soient déversées dans le milieu naturel qu'après avoir subi des traitements réduisant la pollution dans les limites acceptables, respectant les exigences biologiques du règne animal, du règne végétal et au-dessus de tout du genre humain.

III.2. Procédés d'élimination des nitrates

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.

Différents procédés existent à l'heure actuelle pour éliminer les nitrates de l'eau. Certains sont déjà utilisés industriellement pour le traitement de l'eau, ce sont essentiellement des procédés de filtration. D'autres techniques sont étudiées au niveau du laboratoire, comme la réduction par voie catalytique, électrochimique ou photocatalytique.

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

Les procédés physico-chimiques (injection de résines pour transformer les nitrates en ions non toxiques).

Les procédés biologiques, par dénitrification biologique (transformation de l'ion nitrate en azote gazeux).

III.2.1. Les procédés électrochimiques

Cette méthode a été largement étudiée pendant les dernières années [Casella.I, 2004 ; Tada.K, 2005].

Elle consiste à appliquer une tension sur une électrode de Pt ou Pd activée avec du germanium [Gootzen.J.F,1997]. Les électrons libérés conduisent à la réduction des nitrates et engendrent des espèces intermédiaires NO_2^- , NH_3 ... Comme on voit dans le tableau ci-dessous (Tableau 3).

Outre que la mauvaise sélectivité de la réduction, l'autre inconvénient est le fait que l'eau obtenue contient des concentrations assez élevées en métal dissous tel que l'étain Sn^{2+} [Katsounaros.I, 2000] qui n'est pas admis pour la consommation humaine.

Tableau 3: Valeurs des potentiels des couples mis en jeu dans la réduction électrochimique entre l'étain et les nitrates

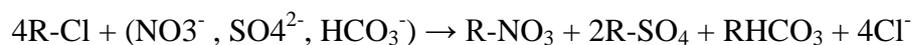
Couples	E°(V)
$\text{Sn}^{2+} + 2e^- \longrightarrow \text{Sn}$	-0,14
$\text{NO}_3^- + 10\text{H}^+ + 8e^- \longrightarrow \text{NH}_4^+ + 3\text{H}_2\text{O}$	0,88
$\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	0,835
$\text{NO}_3^- + 4\text{H}^+ + 3e^- \longrightarrow \text{NO}_{(g)} + 2\text{H}_2\text{O}$	0,96
$2\text{NO}_3^- + 10\text{H}^+ + 8e^- \longrightarrow \text{N}_2\text{O}_{(g)} + 5\text{H}_2\text{O}$	1,12
$2\text{NO}_3^- + 12\text{H}^+ + 10e^- \longrightarrow \text{N}_{2(g)} + 6\text{H}_2\text{O}$	1,25

III.2.2. Traitements par échange 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'Anglian Water Authority ont démarré en 1976 et 1978. En France, il a fallu attendre l'agrément des résines anioniques à cet effet (1985) [Marie.O.R, 2002].

Cette technique est très utilisée mais le seul inconvénient est le coût élevé surtout pour la régénération des résines [Simon.P, 1985].

Le principe de cette technique repose sur l'échange des ions nitrates et d'autres anions présents dans l'eau avec les ions chlorures contenus dans une résine (Marie Odile Ratel) selon la réaction suivante

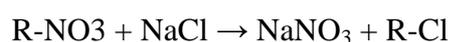


L'ordre d'affinité entre les différents anions varie avec les caractéristiques des résines, car il existe des résines plus ou moins sélectives aux nitrates.

En général l'ordre est le suivant : du plus retenu au moins retenu



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



Ainsi, une eau riche en sulfates pourra être gênante dans l'élimination des nitrates, la résine fixant préférentiellement les sulfates [Deguin.A, 1998]. Donc l'échange d'ions anionique doit être considéré comme une technique de dénitrification peu appropriée pour une eau qui contient trop de sulfates [Germonpre.R, 1983].

Le principe de l'échange d'ions implique certaines limites sur les eaux à traiter (Holl.W.H, 1988).

- La teneur en MES de l'eau brute doit être inférieure à 1 mg/l afin d'éviter un colmatage des résines.
- Le traitement d'une eau souterraine non turbide sans fer susceptible de flocculer ne pose pas de problème particulier.
- Dans une installation traitant une eau souterraine dont la minéralisation est relativement constante, l'optimisation des cycles de fonctionnement et de la quantité de réactif régénérant est aisée.
- Elle est moins facile pour une eau de surface, dont la minéralisation peut subir des variations accentuées par la variation des taux de traitement liée à la qualité de l'eau brute (turbidité, COT).

En effet, les eaux de surface, avant l'étape de dénitrification par échange d'ions devront être clarifiées.

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

- ◆ Rejetées dans une station d'épuration d'eaux usées
- ◆ Délivrées à une industrie de fabrication d'engrais azotés
- ◆ Mélangées à une eau brute avec un certain débit permettant d'obtenir une eau à une charge inférieure à 25 mg/l en nitrates.

III.2.3. Procédés membranaires de dénitrification

Les procédés membranaires sont des procédés physiques de traitement par le fait que l'on fait passer l'eau à traiter au travers d'une membrane poreuse qui arrête le passage de toute molécule dont la taille est supérieure à la taille de ces pores. L'osmose inverse est aussi connue pour le fait de pouvoir séparer les ions des sels dissous du solvant.

Depuis les années 1960, les membranes ont trouvé leur place dans de nombreux domaines d'application, comme la purification, les biotechnologies, l'industrie pharmaceutique et agroalimentaire, et traitement des eaux et des effluents [Berland.J.M,2002].

Une membrane est une fine barrière sélective qui, sous l'action d'une force motrice, permet le passage ou l'arrêt de certains composants entre les deux milieux qu'elle sépare.

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

a. Osmose inverse

L'osmose inverse est une des nombreuses techniques dites membranaires, c'est-à dire utilisant un film semi-perméable de faible épaisseur. Le principe de cette technique consiste à appliquer une pression supérieure à la pression osmotique de la membrane [Maurel.A]. Le dispositif est constitué de deux compartiments séparés par une membrane semi perméable. Sous l'action d'une certaine pression, la membrane laisse passer l'eau et s'oppose au passage des solutés, conduisant ainsi à la formation d'une eau pure (perméat). Le concentrat contient une saumure qui est progressivement évacuée. La pression appliquée et la concentration du soluté sont des facteurs qui influent sur le rendement qui est de l'ordre de 45%.

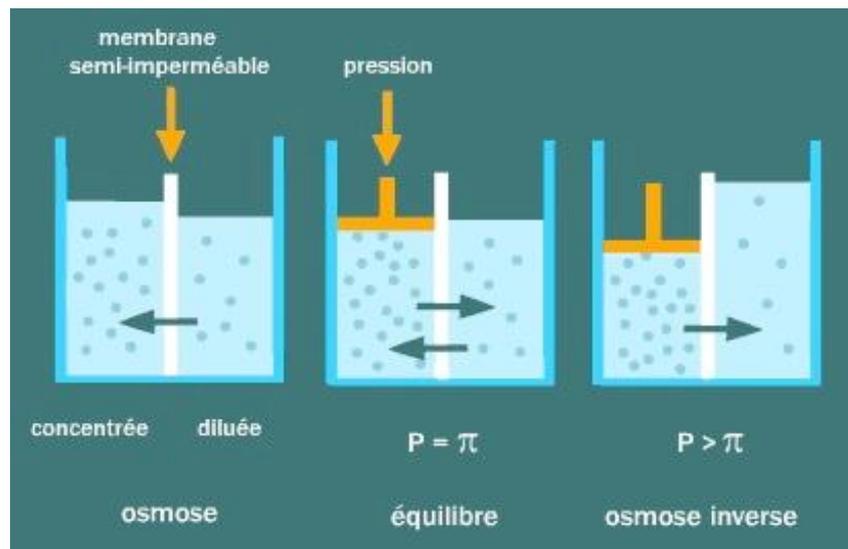


Figure 4 : schémas représentatifs de l'osmose inverse pour l'élimination des sels dissous

Les limites d'utilisation du procédé sont les suivantes :

- Le traitement n'est pas spécifique; il modifie la qualité initiale de l'eau et pourrait provoquer à dire d'experts certains troubles intestinaux plus ou moins graves,
- Un prétraitement est nécessaire, afin d'éviter le colmatage des modules et la précipitation des espèces dissoutes sur les membranes,
- Il y a présence de rejets concentrés.

Les avantages sont liés à l'absence de régénération. Par ailleurs, ce procédé pourra peut-être se développer avec l'introduction de nouvelles membranes plus spécifiques.

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

b. Électrodialyse

L'électrodialyse est une technique électro-membranaire qui désigne le transfert d'ions à travers une membrane qui leur est perméable, sous l'effet d'un champ électrique. Un électrodialyseur est constitué de succession de cellules à compartiments à membranes 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 sortent du premier compartiment en franchissant la membrane cationique et sont bloqués dans le deuxième compartiment par la membrane anionique. Les anions sortent aussi du premier compartiment en migrant la membrane anionique et sont bloqués par la membrane cationique.

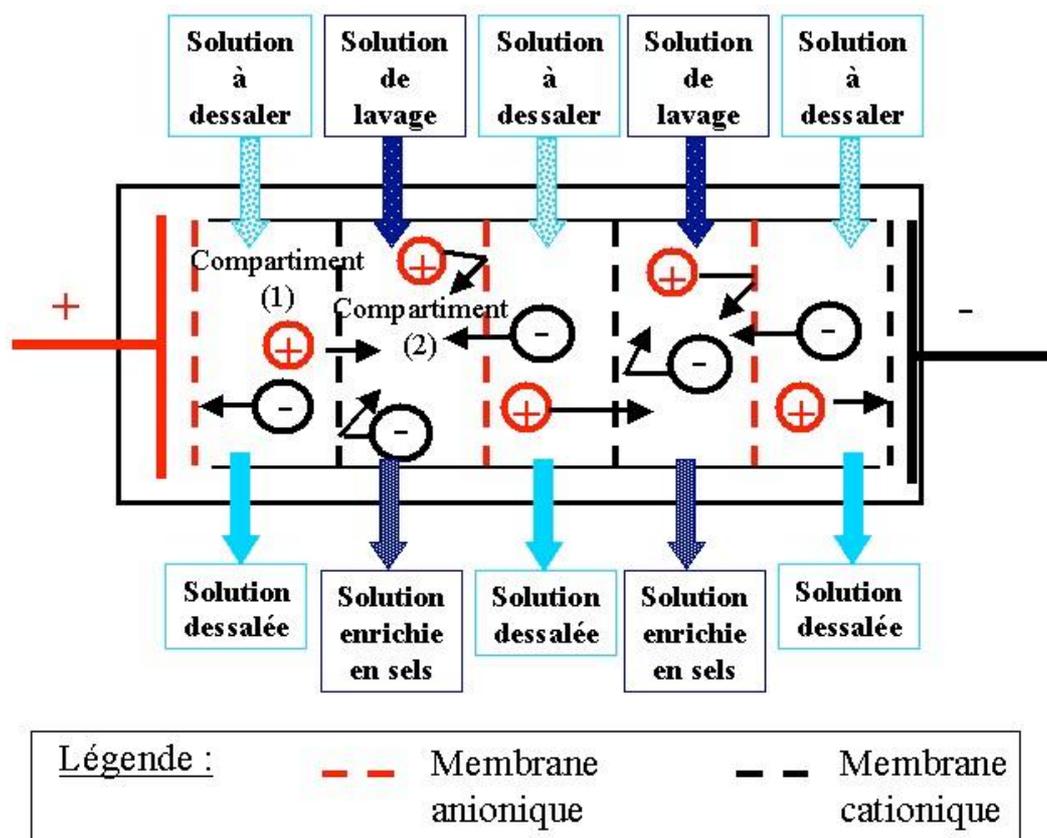


Figure 5 : Schémas représentatifs de l'électrodialyse pour la potabilisation de l'eau

Dans le premier compartiment, la concentration en sel dissout diminue. C'est donc un compartiment de dilution. Le deuxième compartiment voit augmenter la concentration en sels dissout. C'est alors un compartiment de concentration. Un compartiment sur deux est un compartiment de dilution, un sur deux est un compartiment de concentration. Une électrode à chaque extrémité de l'appareil assure le passage du courant.

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

c. Nanofiltration

La nanofiltration est une technique membranaire relativement récente qui couvre un domaine de séparation intermédiaire entre l'ultrafiltration et l'osmose inverse, dans la famille des procédés membranaires sous pression [Bannoud.A.H, 2001 - Wang.D, 2005]. Elle est basée sur l'utilisation d'une membrane à pores nanométriques (< 2 nm) porteuse de charges ioniques superficielles. La membrane peut être composée d'un matériau organique ou minéral.

La nanofiltration permet de retenir les molécules de masses moléculaires allant de 200 à 2000 g/mol) par effet physique et les ions par effet électrostatique. Elle est utilisée principalement dans le domaine de la pharmacie, pour la séparation de petites molécules à forte valeur ajoutée (antibiotiques), et pour le fractionnement d'amino-acides.

Au stade des recherches, la nanofiltration a été étudiée pour éliminer les nitrates dans les eaux potables. Garcia et Paugam [Garcia.F, 2006 ; Paugan.L, 2003] ont montré qu'il y a un effet marqué de la concentration des sels sur la rétention des nitrates.

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

Selon les membranes utilisées et les conditions opératoires, les taux de rétention des nitrates vont de 10 à 90%. La présence dans l'eau d'autres ions que les nitrates influe fortement sur leur rétention. Garcia et coll. [Garcia.F, 2006] ont étudié l'influence de divers ions dans la solution de nitrates, et ont montré que la présence des ions sulfates divalents provoque une diminution de la rétention des nitrates. Cet effet est dû à la forte rétention des sulfates à cause de leur taille et des répulsions électrostatiques (la membrane étant chargée négativement), les nitrates traversant alors la membrane pour assurer l'électro-neutralité du perméat.

III.2.4. Procédés biologiques de dénitrification

Les traitements biologiques occupent une place importante parmi les procédés mis en place pour éliminer les nitrates [M.O.Ratel, 2002]. Ils constituent un moyen relativement efficace pour l'élimination de la pollution azotée et carbonée.

Les processus biologiques ont l'avantage de ne générer aucun déchet secondaire nuisible, contrairement aux méthodes physico-chimiques. Les extraits du procédé sont du gaz carbonique (CO₂), des vapeurs d'eau (H₂O) ainsi qu'une fraction résiduelle des contaminants. L'enlèvement de nitrate dans les eaux usées est principalement effectué par dénitrification, processus biologique qui s'avère habituellement plus économique que les traitements physico-chimiques [Metcalf Eddy, 2003].

La dénitrification biologique repose sur l'utilisation de bactéries, essentiellement de la famille des Pseudomonas, qui utilisent les nitrates à la place de l'oxygène de l'air, et qui les transforment en azote gazeux. Les bactéries hétérotrophes consomment les produits

organiques pour en tirer l'énergie tandis que les bactéries autotrophes tirent cette énergie des matières inorganiques et du soufre parfois.

La dénitrification est un processus anoxie au cours duquel les bactéries hétérotrophes vont modifier leur métabolisme pour utiliser les nitrates (NO_3^-) comme accepteurs d'électron au lieu de l'oxygène moléculaire. La réduction biologique du nitrate au cours de la dénitrification mènera à la production finale de N_2 (produit gazeux inerte).

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

Les trois voies de réduction du nitrate sont présentées en Figure 6.

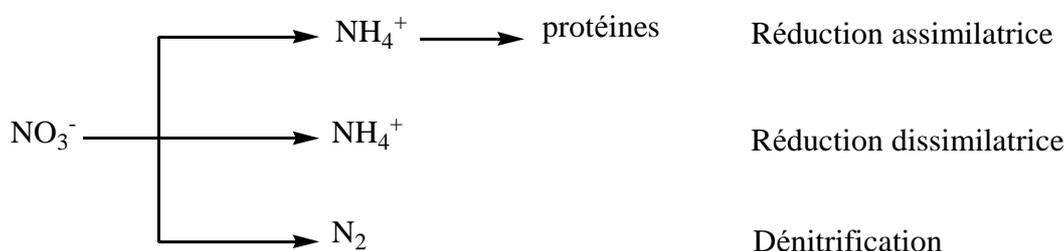


Figure 6 : les voies de la réduction du nitrate

III.2.4.1. Réduction assimilatrice

En absence d'azote ammoniacal dans le milieu, le nitrate ou le nitrite peuvent être utilisés comme sources d'azote. Cette réduction du nitrate en azote ammoniacal est une réaction endergonique indépendante de la concentration en oxygène et réalisée aussi bien par les Eucaryotes que les Procaryotes tels que des *Azotobacter* ou des *Pseudomonas* [Tiedje.J, 1988 – Martin.G, 1979].

III.2.4.2. Réduction dissimilatrice en azote ammoniacal

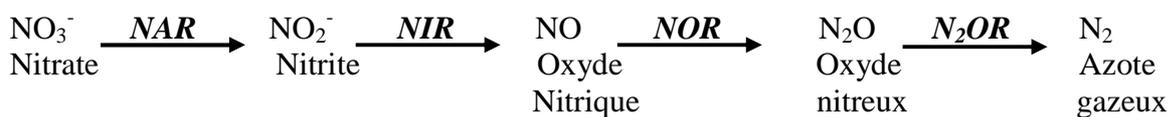
Cette réaction implique la conversion du nitrate en azote ammoniacal qui n'est alors pas incorporé dans une molécule organique. Elle est généralement associée à des zones anoxiques. Cette réduction est réalisée par un nombre de bactéries beaucoup plus important que ce qui était supposé initialement [Stouthamer, 1988 - Tiedje.J, 1988]. Ces bactéries sont

généralement fermentaires, anaérobies strictes comme *Clostridium*, *Desulfovibrio* sp. ou anaérobies facultatives comme *Escherichia coli*, *Klebsiella* ou encore aérobie avec des *Pseudomonas*, *Bacillus* (Tiedje, 1988). La plupart des études ont porté sur la réduction du nitrite en azote ammoniacal. Des enzymes ont été purifiées chez *E.coli* [Coleman.K *et al*, 1978], chez *Desulfovibrio desulfuricans* [Liu.M.C et Peck.D, 1981] et leurs donneurs d'électrons respectifs ont été caractérisés [Steenkamp et Peck, 1980]. Il existe également une autre voie de réduction dissimilatrice du nitrate en nitrite très commune chez de nombreux microorganismes. Si la concentration en nitrate est suffisamment faible, alors la réduction peut aboutir à l'azote ammoniacal [Tiedje.J, 1988].

III.2.4.3. Dénitrification

a. Définition

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



Chaque étape étant catalysée par une enzyme particulière [Schwartzbrod.J et Martin.G, 1985] : nitrate réductase (NAR), nitrite réductase (NIR), oxyde nitrique réductase (NOR) et enfin oxyde nitreux réductase (N₂OR). Les micro-organismes responsables de la dénitrification sont des bactéries hétérotrophes anaérobies facultatives qui utilisent le nitrate et le nitrite (au lieu de l'oxygène) comme accepteurs finaux d'électrons dans des conditions anoxiques («respiration des nitrates»). Le procédé requiert un donneur d'électrons qui peut être soit un composé minéral réduit comme le soufre ou l'hydrogène soit un composé organique (glucose, méthanol, éthanol, etc....) [Bougard.D, 2004].

La dénitrification est un procédé anaérobie, qui utilise l'oxygène des nitrates, pour oxyder, soit la matière organique (dénitrification organotrophe), soit des substances minérales (dénitrification lithotrophe). La dénitrification organotrophe est également hétérotrophe, les bactéries intervenantes utilisent également du carbone organique pour leur synthèse cellulaire. Par contre, les bactéries de la dénitrification lithotrophe sont autotrophes, car elles consomment, pour la synthèse cellulaire, le CO₂ dissous dans l'eau, ou lié sous forme de bicarbonates.

b. Bactéries de la dénitrification

- Hétérotrophie

Les bactéries possédant une enzyme (nitrate réductase), capable de transformer les nitrates en nitrites, en anaérobiose ou en anoxie, sont extrêmement nombreuses (les *Enterobacteriaceae*, par exemple), mais toutes ne sont pas capables d'intervenir dans le processus de dénitrification biologique hétérotrophe des eaux.

Les bactéries possédant une enzyme (nitrite réductase), ou un groupe d'enzymes capable de réduire les nitrites jusqu'au stade de l'azote gazeux, sont moins nombreuses, et surtout moins bien connues (un exemple en est *Alcaligenes faecalis*).

Enfin, il existe des germes, comme certaines espèces appartenant au genre *Pseudomonas*, qui possèdent un arsenal enzymatique suffisamment complet pour réduire les nitrates jusqu'au stade de l'azote moléculaire gazeux.

- Autotrophie

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

Thiobacillus denitrificans est le germe responsable de la dénitrification autotrophe utilisant le soufre, ou la pyrite de fer (FeS_2), comme donneur d'électrons (réducteur). *Ferrobacillus ferrooxydans*, qui utilise le fer ferreux (Fe^{2+}) comme donneur d'électron, a d'abord été soupçonné [Lind.A.M, 1977], puis identifié dans des essais en pilote de dénitrification par la pyrite [Haider.Net al, 1988]. D'autres auteurs ont identifié *Gallionella* comme responsable de la dénitrification de certaines eaux ferrugineuses [Gouy.J, 1983 ; Gouy.J et al., 1984].

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

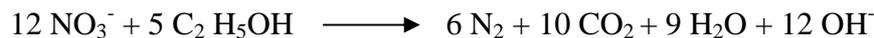
c. Biochimie de la dénitrification

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

- Dénitrification hétérotrophe

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

Les composés organiques carbonés, donneurs d'électrons, sont aussi variés que les bactéries qui les utilisent. Pour le glucose, l'éthanol [Patureau.D, 1995], les réactions stoechiométriques sont les suivantes :



- Dénitrification autotrophe

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

Les réactions biochimiques sont, bien entendu, différentes, selon que le réducteur est le soufre, la pyrite, ou l'hydrogène gazeux :

- Avec le soufre :

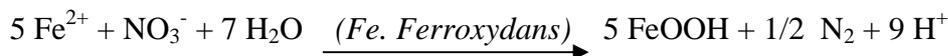


Elle est réalisée par des bactéries du type *Thiobacillus denitrificans* qui ont la capacité de réduire les nitrates en oxydant de nombreux composés soufrés comme S_2^- , S, $S_2O_3^{2-}$, $S_4O_6^{2-}$, SO_3^{2-} et même H_2S .

- Avec la pyrite :



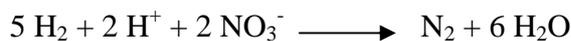
avec la réaction secondaire :



soit le bilan total :



- Avec l'hydrogène :



Elle est réalisée par des bactéries du type *Paracoccus denitrificans* et *Alcaligenes eutrophus* [Tiedje.J *et al.*, 1982 ; Tiedje.J, 1988].

d. Facteurs influençant la dénitrification

- **La température**

La dénitrification étant l'œuvre d'un grand nombre d'espèces bactériennes, les conditions optimales de température sont très variables et on rapporte dans la littérature des gammes de tolérance étendues de 5°C à plus de 75°C [Martin.G, 1979]. Aux basses températures, les vitesses de dénitrification sont faibles mais mesurables jusqu'à 3°C [Sutton.P *et al.*, 1975]. La température agit aussi sur la dénitrification via son rôle dans la solubilité et la diffusion de l'oxygène.

- **Le pH**

Le pH optimum se situe entre 7 et 8,5 [Bougard.D, 2004]. Les variations de pH affectent les produits de la réaction. Aux pH acides ($\text{pH} < 5$), il y'a accumulation d'oxydes nitrique et nitreux [Patureau.D, 1995]. La réaction biologique étant consommatrice d'ions H^+ , elle provoque une élévation du pH qui peut devenir inhibitrice aux alentours de pH 9. Il est donc nécessaire de réguler le pH par un acide au cours de tout procédé de dénitrification biologique. Cependant, les travaux de Gee et Kim (2004) montrent que la dénitrification est possible à pH 9,5 dans un réacteur SBR accumulant les nitrites.

- **L'oxygène**

Les rendements de dénitrification sont affectés par la présence d'oxygène. En effet les bactéries dénitrifiantes n'utilisent le nitrate qu'en absence d'oxygène. Les étapes de la dénitrification sont graduellement inhibées lorsque la concentration en oxygène dissous augmente et c'est d'abord la réduction de l'oxyde nitreux ou protoxyde d'azote (N_2O) qui est affectée puis celle du nitrite et enfin celle du nitrate. Cependant, il existe quelques micro-organismes qui sont capables de dénitrifier en aérobiose.

- **La nature de la source de carbone**

La disponibilité en carbone organique est essentiel à l'activité des bactéries dénitrifiantes hétérotrophes car le substrat carboné fournit l'énergie nécessaire à leur métabolisme et constitue l'élément de base de leurs synthèses cellulaires. Les faibles performances de dénitrification biologique, résultant en général d'une limitation des eaux usées en carbone bioassimilable, imposent l'apport d'une source de carbone exogène afin d'améliorer les performances de traitement. Le méthanol et l'acétate de sodium sont les principaux substrats carbonés synthétiques ayant été utilisés dans le domaine de la dénitrification des eaux résiduaires [Foglar et Briski, 2003 ; Louzeiro *et al.*, 2002].

La nature du substrat utilisé peut influencer la cinétique de dénitrification. Ainsi, Moser-Engeler *et al.* (1998) soulignent que les vitesses de dénitrification en présence d'acétate, de propionate ou de butyrate sont quatre fois plus importantes que celles observées avec le méthanol ou l'éthanol.

Le rapport C/N

Quelle que soit la source de carbone utilisée, la détermination d'une concentration en carbone à fournir par rapport à la concentration en nitrate à éliminer (rapport C/N) est une étape préliminaire obligatoire à toute optimisation de traitement biologique par dénitrification. Lors du traitement de l'azote dans les eaux, le besoin global en DCO (demande chimique en oxygène) à partir du nitrate est de 2,86 mg DCO / mg N-NO₃⁻ soit 1,15 mg DCO / mg N pour la réduction du nitrate en nitrite et 1,71 mg DCO / mg N pour la réduction du nitrite en azote moléculaire, sans prendre en compte les besoins en matière organique pour la croissance cellulaire. De nombreux auteurs [Nyberg *et al.*, 1992] soulignent qu'indépendamment de la source de carbone utilisée, le rapport DCO/N doit être compris entre 3 et 6 pour avoir de bonnes performances de dénitrification biologique. En étudiant l'influence de la source de carbone sur la dénitrification des lixiviats, Carley et Mavinic (1991) ont observé que le rapport DCO/N minimum pour effectuer une dénitrification complète varie d'une source de carbone à l'autre : 5,9 pour l'acétate de sodium ; 6,2 pour le méthanol et 9 pour le glucose. Cette variation peut être due à la diversité des rendements de conversion du substrat en biomasse par les micro-organismes.

Bien que ces méthodes de dénitrification biologique transforment les nitrates en un produit inoffensif, leur mise en œuvre est délicate et nécessite une maîtrise de tels processus ainsi qu'un contrôle et un suivi rigoureux et permanents des paramètres de fonctionnement (mécaniques, physico-chimiques et biologiques). En outre, des post-traitements intensives sont nécessaires afin d'éliminer les bactéries ainsi que la source des carbone telle que le méthanol [Mansell.B, 1999] et de garder toujours une qualité d'eau adaptée à la consommation humaine. Une formation des intermédiaires NO₂⁻ et N₂O a été mise en évidence par Kim et coll. [Kim.y.s et al, 2002] pour un rapport C/N élevé. Pour toutes ces raisons ainsi que le risque de prolifération bactérienne, la dénitrification biologique est peu utilisée pour l'eau potable.

Comparaison des différents procédés

Le Tableau 4 ci-dessous résume les principaux avantages et inconvénients des méthodes utilisées pour l'élimination des nitrates de l'eau.

Tableau 4 : Evaluation et comparaison des procédés de traitement des eaux

Technique	Avantages	Inconvénients	Rendement
Procédés biologiques	Élimination totale des nitrates	-Risques bactériologiques -Mise en œuvre délicate	80%
Procédés physicochimiques	Facilité de la mise en œuvre	-Formation des saumures	----
Procédés membranaires	Facilité de la mise en œuvre	-Formation de saumures -Traitement non spécifique -Coût élevé	45%

On voit que chaque procédé présente des difficultés soit sur le plan technique, soit sur le plan économique. Le coût de l'élimination des nitrates est à l'heure actuelle assez élevé [SIESA, 2004]. Le tableau ci-dessous présente une estimation des coûts d'investissement et d'exploitation par an pour le traitement de 1500 m³/jour d'eau dont la teneur en nitrate est de l'ordre de 50 à 60 mg/l. L'eau après traitement contient 25 mg/l en nitrates.

Tableau 5 : Coûts d'investissement et d'exploitation de différents procédés de dénitrification

Technique de dénitrification	Dénitrification biologique	Échange d'ions	Procédés membranaires
Coût d'investissement	850 000 € HT	800 000 € HT	1 450 000 € HT
Coût d'exploitation/ an	85 000 € HT	60 000 € HT hors renouvellement des résines	85 000 € HT hors renouvellement des membranes

III.3. Les techniques biologiques d'élimination de la pollution azotée

Les techniques de traitement des eaux usées sont nées pour corriger quelques-unes des conséquences les plus déplorables de la première révolution industrielle. Les premières réalisations font appel à des procédés biologiques extensifs. Ainsi dès 1850, les propriétés épuratoires des sols sont connues en France et en Grande Bretagne. La plus ancienne installation de lagunage naturel date de 1901, et est toujours en service : elle comprend 275 hectares de bassins, profonds de 1,40 m, à San Antonio (Texas). Cependant les techniques de traitement se sont véritablement développées avec l'introduction des procédés biologiques intensifs, à l'extrême fin du XIXe siècle : les lits bactériens deviennent opérationnels vers 1889, les boues activées vers 1915, et les biodisques à partir de 1929 [Boutin.P, 1986]

L'activité microbienne de ces procédés permet d'assimiler les diverses substances indésirables dans le milieu naturel. Ces dernières peuvent être classées en plusieurs groupes. En premier lieu, les matières organiques biodégradables, qui causent la chute de la concentration en oxygène dans les eaux de surface, sont caractérisées par des paramètres globaux, souvent la DCO ou la DBO. Ensuite, les matières azotées et phosphorées, ou « nutriments », sont à l'origine des phénomènes d'eutrophisation. L'azote ammoniacal contribue en plus à diminuer la concentration en oxygène du milieu et peut avoir des effets toxiques.

Les stations de traitement de l'eau apparaissent souvent au visiteur comme des systèmes complexes de cuves, tuyauteries, pompes, compresseurs, mélangeurs, dans lesquels s'écoule un liquide dont les caractéristiques sont en perpétuelle fluctuation. Au coeur de ces systèmes on trouve un ou plusieurs réacteurs de traitement. Ils sont constitués le plus souvent par une cuve agitée ou non dans le cas des « cultures libres » (boues activées) : bassin d'aération, chenal d'activation ... Dans le cas de cultures fixées, ils peuvent revêtir d'autres formes : lit fixe noyé (biofiltre) ou non (lit bactérien), ou disques en rotation en partie dénoyés (biodisques). Dans le cas des traitements biologiques, ces réacteurs doivent assurer deux fonctions :

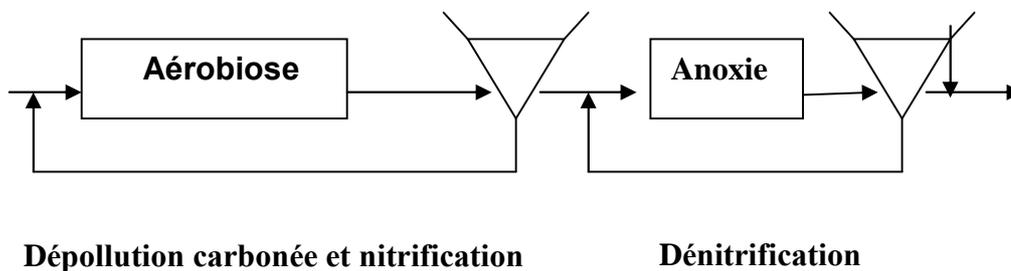
- mettre en contact la boue, qui contient les micro-organismes, et les substances à dégrader ;
- apporter l'oxygène éventuellement nécessaire à la dégradation des substances.

Dans le cas des procédés à culture fixée, deux fonctions supplémentaires doivent être assurées par le réacteur :

- offrir aux bactéries un support d'accrochage ayant une grande surface,
- permettre le contrôle de la croissance du film biologique et l'évacuation de la biomasse en excès, afin d'éviter le colmatage du réacteur.

III.3.1. 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 et mieux maîtrisée que la dénitrification, a été ajoutée à ces installations. Les procédés de dénitrification sont apparus plus tardivement et se sont intégrés aux systèmes nitrifiants préexistants. L'un des premiers schémas proposés (figure 7) était l'association dans un même bassin aérobie de la dépollution carbonée et de la nitrification, suivie d'un décanteur et d'un bassin anoxique permettant la dénitrification.



*Figure 7 : procédé à boues séparées et cultures en suspension
(Cooper et al., 1994).*

Une telle approche a nécessité une source de carbone externe (méthanol ou acétate). Afin d'éviter l'ajout d'une source de carbone exogène, Ludzack-Ettinger ont proposé un système (figure 8) où la dénitrification a lieu en tête et utilise le carbone présent dans l'effluent.

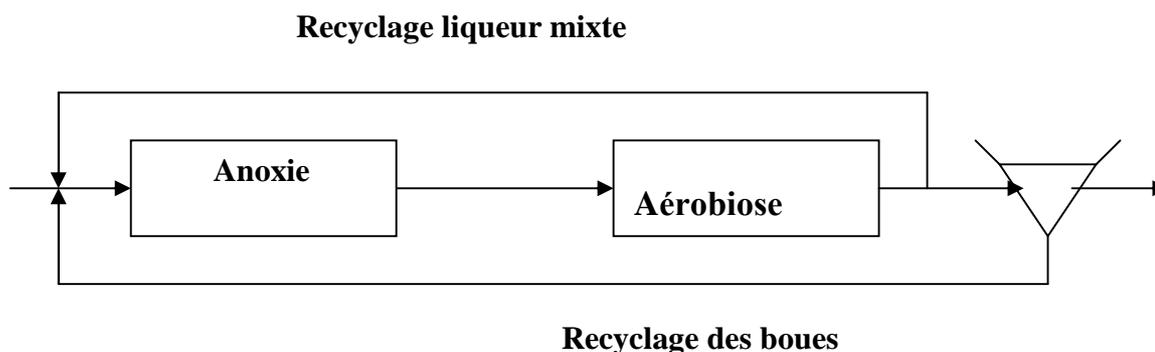


Figure 8 : modèle de Ludzack-Ettinger (Cooper et al., 1994).

Celui-ci est ensuite envoyé dans le réacteur de nitrification avec un recyclage des nitrates produits dans la zone aérobie. Ce modèle a l'avantage de rendre optimale l'utilisation de la DCO et de limiter la déstabilisation de la flore nitrifiante par la croissance des hétérotrophes comme dans le modèle précédent.

En 1973, Bernard complète le modèle précédent (figure 9) 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 parfois réalisée avec 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 10 mg N.L^{-1} [Cooper et al., 1994].

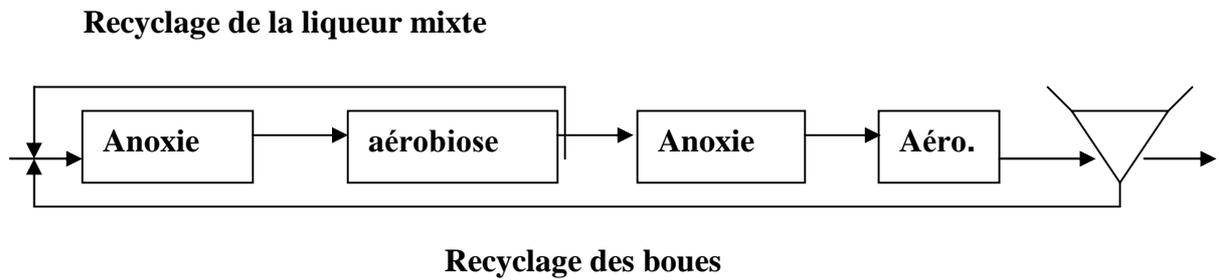


Figure 9 : Modèle de Barnard de 1973.

Récemment, des améliorations ont été apportées en vue du couplage avec la dépollution phosphorée. Par exemple, au modèle Bardenpho de 1974, un bassin anaérobie a été rajouté en tête, permettant le relargage du phosphate par hydrolyse des granules de polyphosphate et la consommation des acides gras volatils. Les très faibles taux de dénitrification du second bassin anoxique et le problème du recyclage des nitrates dans la zone anaérobie (inhibition par fortes concentrations en nitrate de la phase anaérobie de relargage du phosphate) ont abouti au développement du système à trois étapes de l'Université de Cape Town (UCT) (figure 10). Dans ce procédé, la recirculation des boues vers le réacteur anaérobie se fait via la zone anoxique [Sen et Randall, 1992].

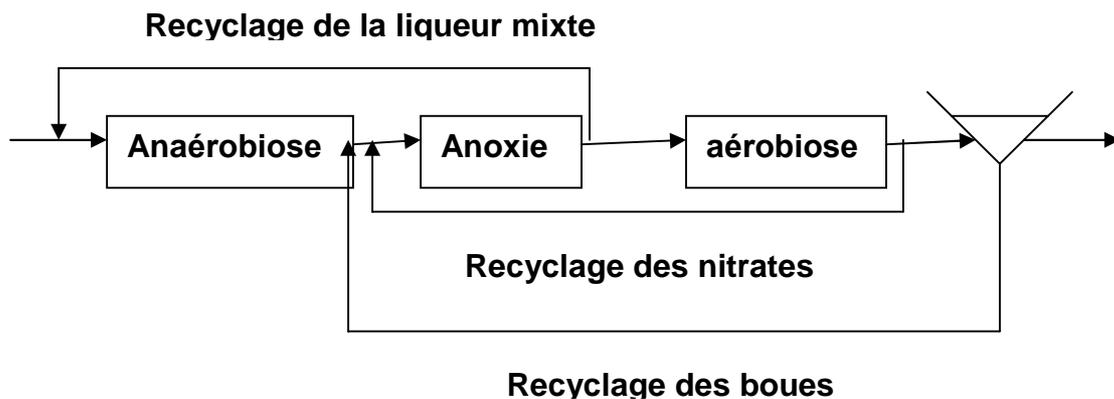


Figure 10 : Modèle UCT (1983).

Il existe aussi des systèmes à un seul réacteur où nitrification et dénitrification sont réalisées soit dans des zones différentes (cas des chenaux d'oxydation), soit dans une même zone soumise par alternance à une aération (procédé Biodénitro). Dans le premier cas, l'effluent suit un écoulement piston à travers des zones anaérobies, anoxique et aérobie. Dans le procédé danois Biodénitro (1983), deux bassins, reliés hydrauliquement entre eux, fonctionnent alternativement en aérobiose et en anoxie (figure 11).

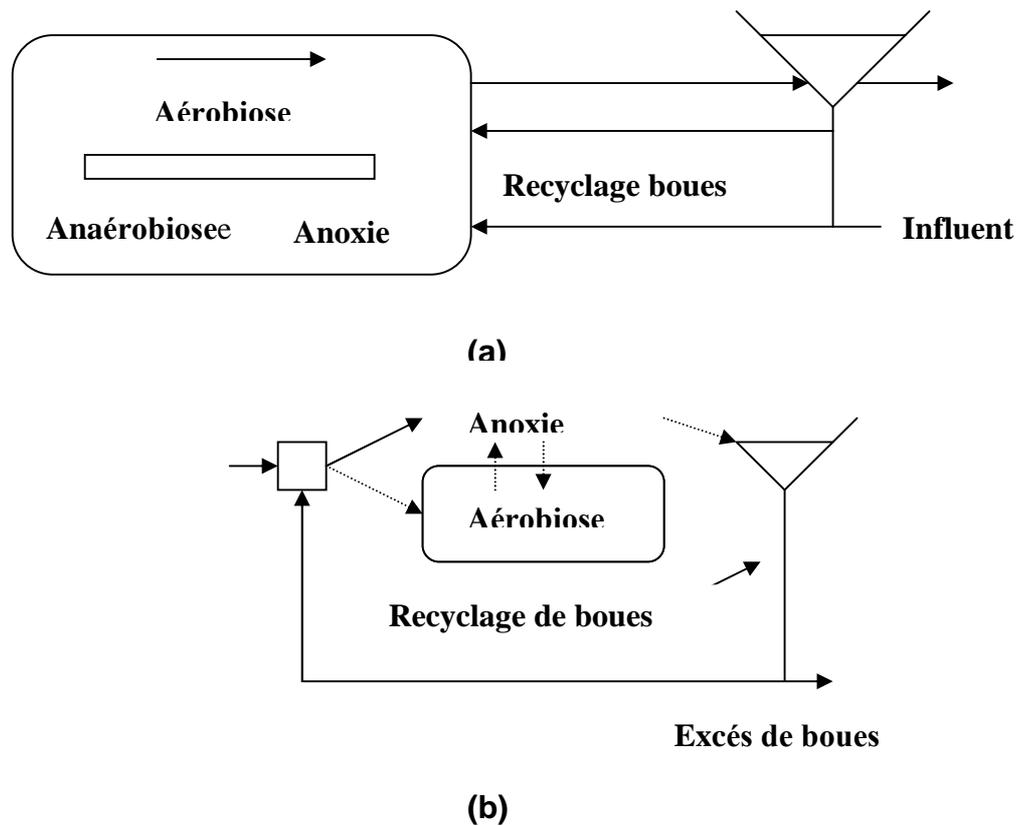


Figure 11 : Systèmes de nitrification-dénitrification à boues uniques. (a) chenal d'oxydation. (b) procédé Biodénitro (Cooper et al., 1994).

L'ensemble de ces procédés à culture libre, malgré leurs avantages performances, entraîne la production de boues en grande quantité (dénitrification par des microorganismes hétérotrophes), de longs de séjour hydraulique (biomasse nitrifiante à faible taux de croissance). Les principales techniques utilisées actuellement dans le traitement des eaux usées reposent sur l'utilisation de procédés à culture immobilisée. Elles impliquent la concentration d'une biomasse spécifique dans un petit volume, des charges hydrauliques plus élevées, des temps de séjour plus courts grâce à l'absence de lessivage de la biomasse retenue dans le réacteur.

I11.3.2. Les réacteurs 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 12).

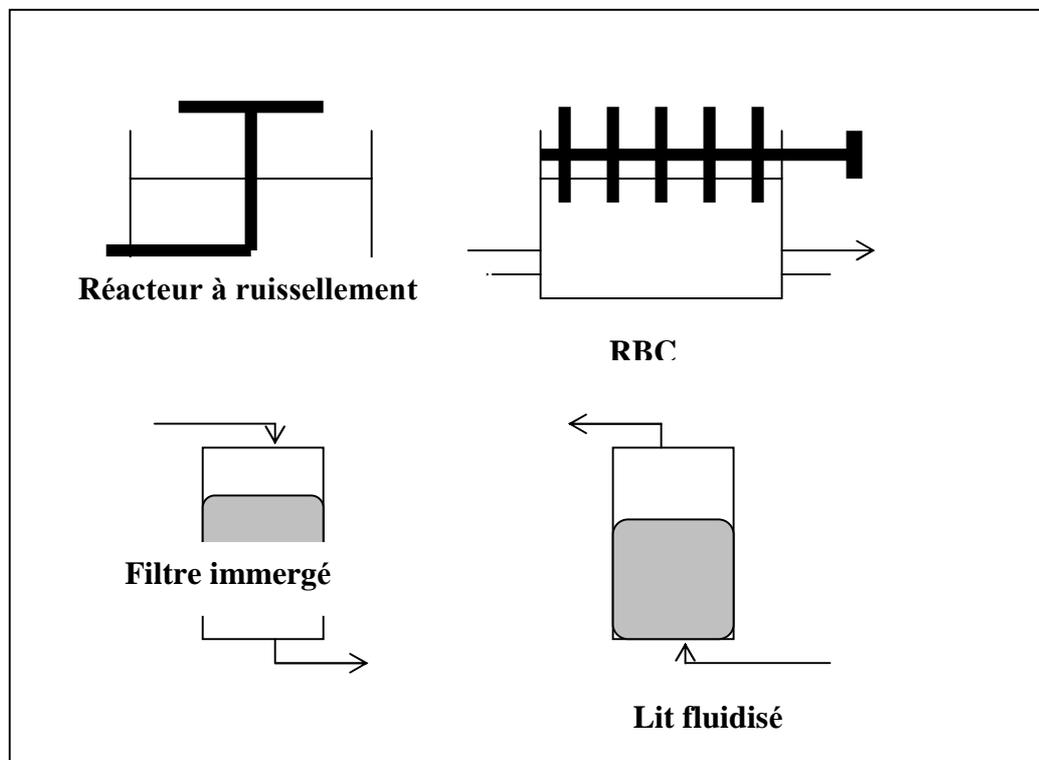


Figure 12 : les principaux modèles de traitement de l'azote par immobilisation de la biomasse (Sorensen et Jorgensen, 1993).

III.3.3. Le procédé lit bactérien

Le lit bactérien est un procédé d'épuration biologique aérobie. L'épuration de la phase liquide repose sur l'activité biochimique de micro-organismes qui dégradent la matière organique en présence d'oxygène. Cette oxydation transforme une partie de la matière organique en eau, gaz carbonique et énergie. Le reste est transformé en biomasse, concentrée sous forme de boues.

Dans le lit bactérien, les micro-organismes sont retenus sur un support, appelé garnissage, sous la forme d'un biofilm. Il s'agit d'une couche dense de bactéries, qui ont la capacité de produire des polymères leur permettant de former un film et d'adhérer à un support. Le garnissage est arrosé avec l'eau usée à traiter, après une décantation primaire ou un simple tamisage fin. Le temps de passage de l'eau au sein du système est très court, de l'ordre de quelques minutes [Seguret.F, 1998].

- **Le lit bactérien à ruissellement**

L'une des plus anciennes technologies utilisées pour l'élimination de l'azote est le lit bactérien à ruissellement essentiellement utilisée en nitrification. 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 gravité sur le lit bactérien. Le principal inconvénient de ce type de biofiltre 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 ammoniac

- **Les contacteurs biologiques rotatifs (RBC)**

Les contacteurs biologiques rotatifs sont quant à eux, constitués d'une succession de disques plus au moins immergés dans un réservoir à flux continu, tournant à une vitesse d'environ 1 rpm, et sur lesquels s'est développée la biomasse. Ces installations sont surtout conçues pour des procédés aérobies comme la nitrification, par séjour à l'air du biofilm, mais par immersion totale des disques et diminution de la pression partielle en oxygène, ils peuvent être utilisés en dénitrification.

- **La biofiltration**

La biofiltration est une nouvelle technologie de traitement des eaux usées. Elle met en jeu trois phases [Pujol.R, 1991] :

- une phase solide constituée par un matériau dont la granulométrie varie entre 2 et 6 mm. Ce matériau sert de support au biofilm, permet d'obtenir une concentration de biomasse très élevée (10 à 20 fois supérieure à celle des boues activées), et assure la rétention des matières en suspension ;
 - une phase liquide, constituée par l'eau à épurer,
 - une phase gazeuse du fait de l'injection de bulles d'air, qui apporte l'oxygène nécessaire à l'activité bactérienne.

La production de boues colmate progressivement le massif filtrant. Ces boues sont constituées de la biomasse en excès et des matières en suspension retenues. Elles sont décrochées périodiquement du matériau par des phases de lavage, impliquant des débits élevés d'eau et d'air. Ces lavages sont généralement réalisés toutes les 24 ou 48 heures.

Les biofiltres possèdent de nombreux avantages : faibles dimensions spécifiques, intégration facile au site, possibilité de traiter les odeurs, modularité, ... Ils sont principalement utilisés pour le traitement de la DBO [Canler.J.P et Perret.J.M, 1993], et pour la nitrification tertiaire [Canler.J.P *et al*, 1996].

- **Le biofiltre immergé**

Ce type de procédé est en plein essor actuellement avec le développement des supports plastiques et des nouveaux filtres permettant une fixation plus importante de microorganismes. 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, vitesse), par choix du système de lavage [Dupain, 1992].

La plupart des procédés fonctionnant en dénitrification utilise une biomasse hétérotrophe inconnue impliquant l'ajout d'une source de carbone. Mais il existe quelques procédés qui utilisent une flore dénitrifiante autotrophe.

Les rendements épuratoires en dénitrification autotrophe sont supérieurs à ceux obtenus en dénitrification hétérotrophe : 99 contre 75% [Dupain, 1992].

Ces procédés présentent les avantages de l'absence de post-traitement pour éliminer le carbone, d'une faible production de boue et donc de faibles fréquences de lavage (une heure toutes les deux ou quatre semaines). Cependant, les principaux inconvénients sont production de sulfate en grande quantité dans le cas des procédés sur soufre et les coûts élevés d'achat et de stockage du gaz ainsi que le danger de son utilisation pour le procédé sur hydrogène. De la même façon que pour les procédés utilisant des hétérotrophes, une augmentation de la charge hydraulique entraîne une accumulation des nitrites en sortie.

- **Les réacteurs à lit fluidisé**

La tendance actuelle est à la mise en place de système à lit fluidisé. Les particules-support, de taille plus petite qu'en lit fixe (généralement du sable), fluidisées par recirculation continue de l'effluent ou par l'ajout de gaz, permettent la fixation d'une quantité de biomasse supérieure et la diminution de la fréquence des lavages. Par exemple, la fréquence des lavages pour le lit fluidisé à flux ascendant de la société Anglian Water est d'une heure tous les cinq jours.

Ces lavages sont réalisés par prélèvement du sable sur les 50 cm supérieurs du lit, lavage et réinjection en haut du lit. Les performances de ces types de procédés peuvent aller jusqu'à 90-95% de dénitrification avec des fréquences de lavage réduites à trois lavages par mois.

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 membrane.

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 physiologie de la nitrification et de la 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 un

stress anaérobie ou encore la capacité de certaines souches à dénitrifier en conditions aérobies.

Ces comportements pourraient être utilisés en vue d'une combinaison nitrification-dénitrification dans un seul réacteur soumis à une seule contrainte d'aération.

IV. Pollution des eaux en Algérie

IV.1. Introduction

L'altération de l'environnement naturel, notamment le milieu aquifère est devenu progressivement une préoccupation mondiale. En Algérie, la principale source de satisfaction de la demande en eau est l'eau souterraine, du fait de son exploitation relativement facile. La croissance démographique et la modernisation de l'agriculture entraînent un grand problème de détérioration de la qualité de cette source souterraine, déjà en quantité limitée. Actuellement, les cours d'eau reçoivent en permanence les rejets urbains et industriels chargés d'éléments chimiques et organiques, souvent toxiques. Ces substances polluantes peuvent affecter de façon dangereuse la santé publique et l'environnement (eutrophisation) (figure 13), si elles continuent à être déversées dans la nature sans traitement préalable [Abdebaki.c, 2007].

Les services de l'A.N.R.H (Agence Nationale des ressources hydraulique), chargés d'inventorier les niveaux de pollution des eaux (Décret exécutif N° 93-163 du juillet 1993) ont confirmé la contamination biologique et chimique des ressources hydriques à plusieurs endroits du pays comme les eaux de barrage de Ouizert, Bakhada qui alimente la ville de Tiaret, barrage Boughrara, proche de la frontière Marocaine [Bouziani.M, 2000].

L'accroissement accéléré de la contamination des systèmes aquatiques au cours des dernières années ainsi que la modification progressive de la nature des pollutions qui deviennent de plus en plus chimiques et toxiques à court ou long terme, ont contribué à faire de la détermination de la qualité chimique des eaux l'une des tâches quotidiennes des organismes d'application et l'un des principaux soucis de la recherche hydroécologique [Derradji. F, 2007].



Figure 13 : phénomène d'eutrophisation au niveau du barrage Hamame Beni Haroune Algérie

On peut remarquer le phénomène d'eutrophisation sur les photos montrés dans la figure 13, la qualité de ces dernières est faible. Ceci est du aux quantités de pluie durant le mois de mai 2008.

IV.2. Pollution des eaux par les nitrates en Algérie

Les nitrates constituent le principal paramètre de la pollution organique. Ils se trouvent essentiellement dans les engrais et constituent la source majeure de matières azotées des plantes. Les deux tiers de la pollution par les nitrates sont causés par les cultures et l'élevage intensif. Les agriculteurs utilisent de plus en plus d'engrais car les productions agricoles en nécessitent des quantités importantes (jusqu'à 500 kg/ha) pour un meilleur rendement. Si on met trop d'engrais, la plante ne peut tout absorber et les nitrates s'infiltrerent donc dans le sol et finissent par polluer les nappes phréatiques puis les rivières. L'inconvénient des matières organiques est de favoriser l'apparition de mauvais goûts de l'eau qui pourront être exacerbés par la chloration, et de faciliter le développement des germes, algues et champignons [Cooper.CM, 1993].

En Algérie, les pratiques de fertilisation intense des sols dans certaines plaines agricoles et les rejets d'effluents industriels et domestiques ont augmenté la teneur en nitrates des eaux des nappes dans plusieurs régions, durant ces dernières années. Plusieurs enquêtes ont montre que la pollution par les nitrates des eaux souterraines a atteint un stade alarmant.

Le programme de surveillance des eaux de puits et de sources, réalisé par laboratoire de chimie des eaux de l'A.N.R.H, a montré l'existence depuis 1994 d'une forte concentration en nitrates dans les eaux des nappes souterraines, dans le centre du pays (la plaine de la Mitidja, le Haut Chelif) et à l'Ouest (Sidi Bel Abbès), avec une teneur dépassant largement la dose maximale de 50 mg/L : 270 mg/L à Miliane [Benmani.K et coll. 1995].

IV.3. Quelques exemples de pollution des eaux en Algérie

IV.3.1. Cas des eaux superficielles dans le Nord-Est algérien (Kébir Est et Bounamoussa)

Selon la délimitation des bassins adoptée par l'Agence nationale des ressources hydriques (ANRH), le bassin-versant de la Mafragh fait partie du bassin « côtier constantinois » (code : 03), situé dans l'extrême Nord-Est algérien. Il est drainé par deux rivières importantes – Bounamoussa à l'ouest et Kébir Est à l'est – qui rejoignent la mer Méditerranée par un exutoire unique : l'oued Mafragh

Les prélèvements concernant les cours d'eau du Kébir Est et Bounamoussa durant les années 2000 et 2001 ont été analysés au laboratoire central de l'Algérienne des Eaux (ADE) à Annaba (Algérie). Les méthodes de dosage des différents éléments sont celles qui figurent dans le Recueil des normes françaises. Eaux- Méthodes d'essai de l'Association française de normalisation [Afnor, 1995].

Les différents paramètres de pollution organique des eaux superficielles donnent des résultats sur la contamination ou non de ces eaux [Mayet.J, 1994].

Résultats d'analyses :

L'évolution (de l'oxygène dissous-nitrates) de l'oued Kébir Est à la station Mexa-barrage montre une baisse des teneurs en nitrates aux mois d'avril et de mai due probablement au manque de précipitations, et un enrichissement du milieu en oxygène dissous entre février et mai qui est confirmé par les nitrates.

L'évolution des concentrations en ammonium, nitrates et nitrites de l'oued Bounamoussa à la station Cheffia-barrage fait apparaître entre janvier et avril une augmentation provoquée par l'apport d'engrais. La présence des matières organiques est due au lessivage. En effet, la migration des nitrates est nettement plus rapide sur les surfaces cultivables laissées nues pendant l'hiver. Les rejets des collectivités et occasionnellement de certaines industries

(engrais, explosifs) peuvent aussi concourir à l'enrichissement en nitrates des eaux superficielles [Derradji.F, 2007].

Conclusion

La pollution représente un sérieux problème pour l'environnement à cause des rejets déversés dans les rivières de Kébir Est et Bounamoussa et de l'utilisation excessive des engrais en agriculture. Le degré de pollution varie d'une zone à l'autre avec des teneurs qui dépassent parfois celles que préconise l'OMS. On peut noter une concordance significative entre les variations pluviométriques et l'oxygène dissous dans les oueds Kébir Est et Bounamoussa.

Dans la région d'étude, même si les teneurs en polluants (surtout nitrates) des eaux superficielles et souterraines ne sont pas encore alarmantes, la situation risque de s'aggraver. L'état actuel de pollution des nappes souterraines est le reflet des substances nitrées infiltrées quelques années auparavant, l'importance du temps de transfert dépendant de la profondeur de la nappe aquifère et de la structure de la roche [Derradji.F, 2004]. Les quantités d'engrais azotés employées n'ont guère diminué, voire ont augmenté – malgré la sensibilisation des agriculteurs – parce que les surfaces de terres dévolues aux labours ont progressé. ■

IV.3.2. Cas des eaux souterraines de la plaine d'Al Ma El Abiod (Algérie)

La plaine d'El Ma El Abiod, à vocation essentiellement agricole, a connu, il y a une dizaine d'années, un développement industriel important, avec pour conséquences des rejets abondants non traités dans le milieu physique. Aussi, dans un avenir proche, il est à craindre que la qualité des eaux souterraines ne soit plus aux normes de potabilité pour l'alimentation humaine mais également pour beaucoup d'autres utilisations [Rouabhia. A, 2001].

El Ma El Abiod est une plaine de 420 km², située au sud-est de la ville de Tébessa, au nord-est de l'Algérie.

La pollution des eaux souterraines de la région d'El Ma El Abiod est d'origine essentiellement anthropique, industrielle, agricole et domestique.

Au cours de la dernière décennie, la région a connu un développement industriel important et la pollution industrielle est provoquée par les rejets thermiques, chimiques et organiques par voies terrestres ou atmosphériques.

Les unités industrielles qui sont des points potentiels ou réels de pollution peuvent être encore inventoriées. Étant donné la faiblesse de la profondeur du niveau piézométrique et la perméabilité élevée des sables, l'industrie constitue un foyer certain de dégradation de la qualité des eaux souterraines.

La polyculture représente plus de 50 % de l'ensemble de la superficie de la plaine d'El Ma El Abiod. Ces cultures sont soumises à des épandages intensifs d'engrais (riches en nitrates, phosphates et potassium) et de pesticides sous des formes de plus en plus inquiétantes, menaçant l'exploitation même de la nappe [Djabri. L, 1996].

Résultats d'analyses

Sur un ensemble de plus de deux cent points d'échantillonnage, les nitrates ont été dosés avec réduction au cadmium au moyen du NITRAVER V où la précision est de 0,8 mg/L N-NO₃ – pour les fortes concentrations. Pour les faibles teneurs, la réduction est faite au NITRAVER VI : la lecture s'est faite à 500 nm et la précision de mesure est de 0,010 mg/L N-NO₃ –.

Les résultats d'analyses effectuées ont mis en évidence des concentrations en nitrates particulièrement élevées au centre et au sud de la région, respectivement de l'ordre de 95 et 120 mg/L. Ces résultats montrent une pollution par les nutriments, dont les origines sont probablement liées aux engrais utilisés dans la région en quantités importantes, en vue de fertiliser au maximum le sol.

L'analyse hydrochimique a montré la mauvaise qualité des eaux et l'existence d'une pollution se traduisant par un excès des teneurs en chlorures, sulfates, sodium et nitrates. Cette pollution peut avoir deux origines, l'une naturelle et l'autre anthropique [Rouabhia.A, 2004].

Conclusion

La nappe des sables miocènes de la plaine d'El Ma El Abiod (Algérie) est menacée par de nombreux foyers de pollution (urbanisations, industrie, élevages, décharges sauvages, etc.), qui se sont multipliés dans la région en dehors de toute mesure de protection de l'environnement, et en particulier des ressources en eau. Des analyses physico-chimiques réalisées sur près d'une centaine de points avec le calcul d'un indice de contamination, et un suivi de la profondeur du plan d'eau de la nappe, montrent trois zones de différents degrés de pollution. La forte pollution est observée en aval des écoulements, ainsi qu'au niveau central, confirmant l'impact de l'industrie et de l'agriculture en cet endroit, où la perméabilité est importante. Cette zone doit faire l'objet d'une réglementation de protection.

IV.3.3. Cas des eaux souterraines de l'aquifère superficiel de Ain Djacer Batna

L'aquifère superficiel de Ain Djacer se trouvant à l'Ouest de Batna dans l'Est algérien est fortement sollicité par les pompages. L'utilisation de sa ressource en eau pour l'irrigation des céréales et des cultures maraîchères et l'utilisation intensive des engrais azotés ont contribué à la dégradation de la qualité des eaux par augmentation de la teneur des nitrates [Boudoukha. A, 2006].

La plaine d'Ain Djacer se trouve dans le Sud Est algérien, à 400 km de la capitale et à 50 km à l'Ouest de Batna. Il s'agit d'une vaste dépression entourée par les massifs carbonatés du Sud sétifien au Sud, à l'Est et à l'Ouest et ouverte vers le Nord. La mise en place de ces formations est en liaison directe avec les formations salées du Trias dyapiroïque. La plaine est constituée par des alluvions de surface et de la croûte calcaire datant du Villafranchien qui reposent sur une faible couche d'argile rouge. En profondeur on y trouve surtout des calcaires lacustres du Mio-Pliocène qui reposent à leur tour sur des argiles rouges ou des marnes. [Bencer.S, 2005]. L'aquifère principal se trouve dans le Mio-Pliocène entre 11 et 69 m de profondeur. L'épaisseur de l'aquifère dépasse rarement les 50 m. La perméabilité de l'aquifère est de l'ordre de 10^{-4} m/s. [Chabour.N, 1993].

Résultats des analyses

Des analyses chimiques ont été effectuées au laboratoire de l'agence nationale des ressources hydriques (ANRH) de Constantine, pour examiner l'évolution des concentrations des éléments chimiques dans les eaux souterraines de l'aquifère de Ain Djacer.

La chimie des eaux de l'aquifère de Ain Djacer est caractérisée par une grande variation des concentrations des éléments chimiques : Na^+ et Cl^- (86-1090 mg L^{-1}), SO_4^{2-} (112-732 mg L^{-1}), Ca^{2+} , Mg^{2+} et HCO_3^- (20-439 mg L^{-1}) et NO_3^- (1-125 mg L^{-1}). La conductivité électrique est élevée (600 - 4400 $\mu\text{S cm}^{-1}$).

L'origine de ces éléments chimiques est dans l'ensemble liée à la nature des formations géologiques (calcaire, dolomie, gypse, ...). Seuls les nitrates possèdent une origine différente, liés à l'utilisation des fertilisants chimiques (engrais) ou naturels (organique) dans l'agriculture [Boudoukha. A, 2006].

Conclusion

Entre la période de basses eaux 2003 et de hautes eaux 2004 une augmentation des concentrations en nitrates de près de 20 % des points d'eau échantillonnés. Ces teneurs varient entre 3 et 125 mg L⁻¹ mais en général elles restent relativement stables malgré ces flux entrant dans les périmètres irrigués. Cette stabilité ne peut être expliquée que par l'existence d'une dénitrification naturelle, dans la nappe ou dans la zone non saturée.

V. Les composés organiques volatils

Cette partie est volontairement courte car bon nombre d'ouvrages ou de thèses relatent, de façon très détaillée, la problématique des composés organiques.

V.1. Définition

On définit comme COV toute substance organique, à l'exclusion du méthane, contenant du carbone et de l'hydrogène, ce dernier étant parfois substitué par un atome de chlore (Cl), de fluor (F), de soufre (S) ou de phosphore (P). Les COV sont à l'état de gaz ou de vapeur dans des conditions normales de pression et de température : ils sont donc volatils.

La Directive 1999/13/CE (Directive Solvants) définit plus précisément un COV comme tout composé organique dont la pression de vapeur saturante est supérieure ou égale à 10 Pa à 20°C.

Les principales familles de COV sont :

- Les solvants : composés aliphatiques (heptane, hexane, essences minérales,...), hydrocarbures aromatiques (benzène, toluène, xylène,...), cétones (acétones,...), alcools (éthanol, méthanol, ...), esters (acétates de butyle, acétate d'éthyle,...),
- Les composés chlorés : dichlorométhane, trichloroéthylène,...
- Les composés azotés : amines, nitriles,...
- Les composés soufrés : mercaptans,...

V.2. Les sources d'émission

Il existe un grand nombre de sources de pollution appartenant à de multiples secteurs. La Figure 14 présente un inventaire des principales sources de COV [Le Cloirec, 2004].

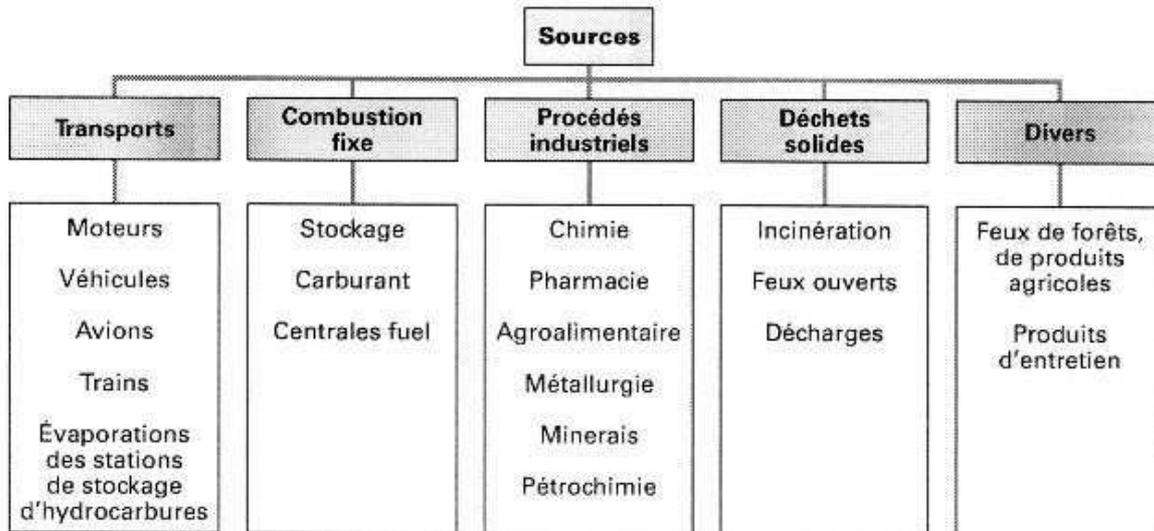


Figure 14: Sources d'émissions de COV (Le Cloirec (2004))

Les procédés industriels produisent une part importante des émissions de COV. Il s'agit aussi bien des industries employant des solvants (chimie de base et chimie fine, parachimie, dégraissage des métaux, application de peinture, imprimerie, colles et adhésifs, caoutchouc, etc...) que les autres (tels que le raffinage du pétrole, l'utilisation de CFC, la production de boissons alcoolisées ou de pain, etc...). Concernant les combustibles utilisés dans les foyers, leurs contributions aux émissions de COV ne sont sans aucune comparaison avec les proportions indiquées pour le SO₂ et les NO_x. Le transport, surtout automobile, contribue assez fortement à augmenter les émissions de COV.

V.3. Effets et impacts des COV

La présence de COV dans l'atmosphère présente des risques directs et indirects pour la santé humaine et pour l'environnement.

V.3.1. Effets des COV sur l'environnement

L'effet principal des COV sur l'environnement est lié à leur participation à des réactions photochimiques complexes avec d'autres composés présents dans l'atmosphère. En présence d'oxydes d'azote et du rayonnement solaire, ils contribuent à la formation de composés oxydes et nitres dont les plus connus sont les Peroxy-Acyle Nitrate (PAN). Ils font aussi partie des gaz précurseurs de l'ozone troposphérique (basse atmosphère) en se conjuguant avec les oxydes d'azote.

La figure 15 présente le cycle naturel de l'ozone, appelé cycle de Chapman, et les perturbations engendrées par la présence de COV.

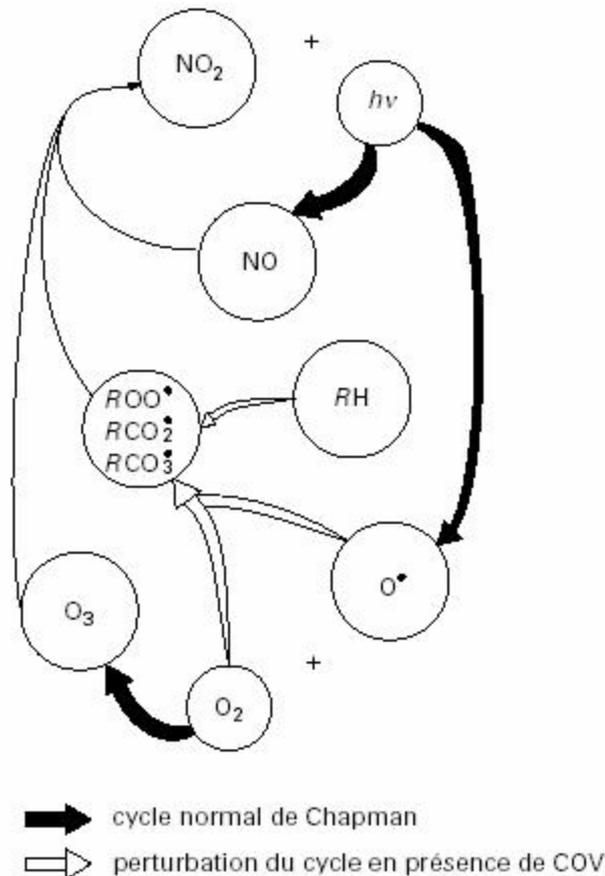


Figure 15 : Modification du cycle de Chapman par la présence de COV (ADEME, 1998)

Comme le montre la figure 15, l'ozone est présent de manière naturelle dans l'air et il se forme par combinaison d'un atome de dioxygène et d'un atome d'oxygène provenant de la dissociation d'une molécule de dioxyde d'azote sous l'effet du rayonnement solaire. Cette apparition d'ozone est régulée par la réaction inverse puisque O_3 se recombine avec le monoxyde d'azote précédemment créé. Cependant la présence de COV provoque une modification de ce cycle. En effet, ceux-ci sont transformés en composés radicalaires au fort pouvoir oxydant qui se combinent avec le monoxyde d'azote pour former du dioxyde d'azote. Un excès d'ozone est alors généré, aboutissant à un déséquilibre entre les concentrations d'ozone et de dioxygène dans l'air, la réaction étant défavorisée. Cet ozone va alors s'accumuler dans l'atmosphère.

La présence d'ozone dans la basse atmosphère est aussi à l'origine de divers problèmes écologiques notamment la perturbation de la photosynthèse des végétaux (forêts et cultures). Mais à l'heure actuelle, le problème majeur reste l'augmentation de l'effet de serre et donc le réchauffement accéléré de la planète.

Enfin du fait de flaques accidentelles, de fuites sur des réservoirs de stockage souterrains, ou de décharges de produits non contrôlés, une pollution de certains sols a été observée [Braida and Ong, 2000].

V.3.2. Effets sur la santé

Les COV présentent un caractère irritant pour les yeux, la peau, et les muqueuses. Les solvants à base de composés halogènes ou aromatiques comme le chloroforme ou le styrène entraînent des irritations cutanées et plus particulièrement des tissus adipeux [Lauwerys, 1992]. Une exposition à certains composés aromatiques peut également entraîner des irritations des yeux [Das et al., 1991]. Par ailleurs, à des concentrations plus élevées, d'autres COV sont aussi à l'origine de troubles cardiaques comme le toluène, le chloroforme ou le trichlorométhane [Lauwerys, 1992]. De plus, il a été montré qu'une exposition aux BTEX (benzène, toluène, éthylbenzène, xylène) pouvait entraîner le cancer de la vessie par exemple [Foo, 1991].

V.4. Techniques de réduction des émissions de COV

Dans le but de réduire les émissions de COV, il est possible d'agir à la source en évitant toute production de polluant, en réduisant la consommation des solvants ou en substituant les produits polluants par des produits peu ou pas nocifs par exemple. Ces techniques sont dites primaires. Il est aussi possible d'agir après la formation des polluants : on parle alors de techniques secondaires. Ces dernières n'imposent pas le changement des produits mais l'ajout d'une unité de traitement en queue ou milieu de process, voire le changement d'une unité déjà existante. Parmi elles, il existe deux types de techniques comme illustré sur la Figure 16 : les techniques destructives et les techniques récupératives.

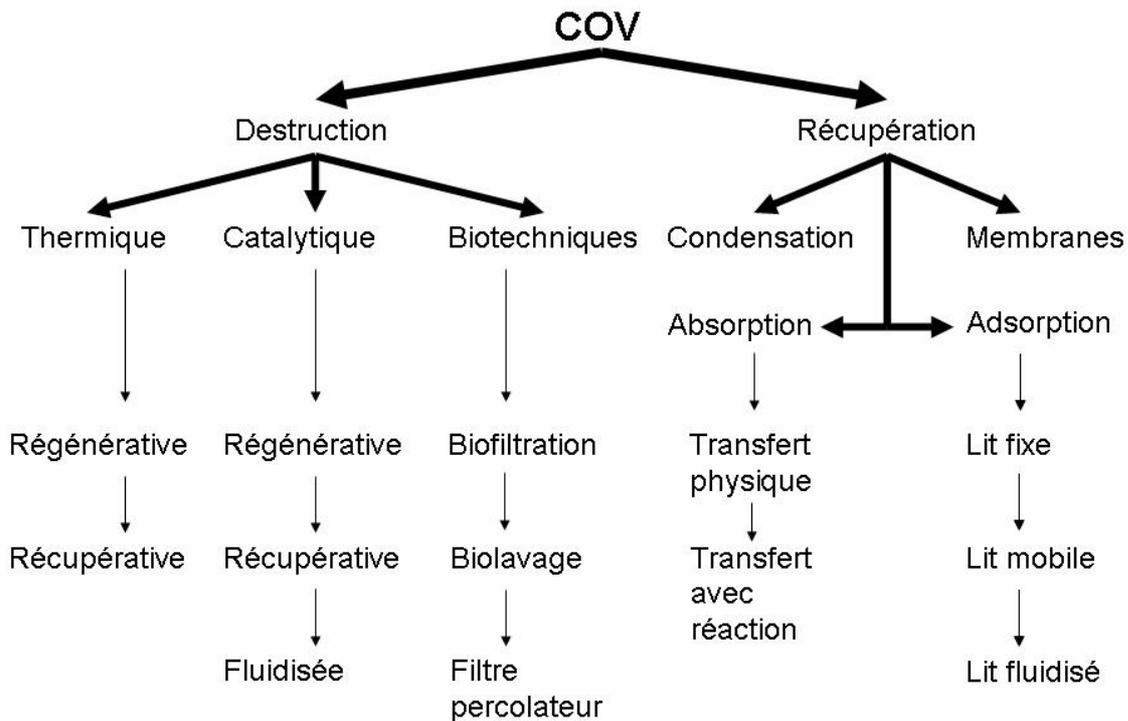


Figure I6 : Organigramme simplifié des principaux procédés de traitement de COV présents dans des émissions industrielles (Okeke, 1995)

Les techniques de destruction, telles que les procédés d'oxydation, l'irradiation et les procédés biologiques, permettent une valorisation énergétique des COV. Ces techniques sont le plus souvent utilisées pour le traitement de mélanges de composés.

Les techniques de récupération valorisent les COV en tant que matière première. On compte parmi elles l'adsorption (fixation des molécules de soluté sur un solide), la condensation (séparation des COV d'un flux d'incondensables par changement de phase), les systèmes membranaires (utilisation d'une membrane sélective) et l'absorption (transfert des molécules de soluté de la phase vapeur vers la phase liquide par lavage avec un absorbant (eau, huile ou autre)).

V.4.1. Traitement biologique (bioépuration)

Cette technique n'est applicable que si les COV étudiés sont solubles dans l'eau, biodégradables et en concentration convenable. Les COV sont alors dégradés par des microorganismes (essentiellement des bactéries), vivant en suspension dans la solution ou sur un support solide, à qui ils servent d'éléments nutritifs en présence d'oxygène. Les bactéries utilisent les composés organiques comme source d'énergie indispensable à la dégradation d'un substrat (catabolisme) et comme source de carbone pour leur biosynthèse (métabolisme). La dégradation des COV par les micro-organismes s'effectue en deux étapes, absorption dans la phase aqueuse puis oxydation, et se résume par l'équation :



Les micro-organismes impliqués dans ces réactions sont hétérotrophes, c'est-à-dire qu'ils utilisent le carbone organique contenu dans les COV comme source de carbone et d'énergie indispensable à leur développement [Edwards and Nirmalakhandan, 1996]. Dans des conditions optimales de température et d'humidité, la réaction précédente montre que la biodégradation peut conduire à une transformation et une oxydation totale des COV en CO₂ et en H₂O.

Les bioprocédés présentent des coûts de fonctionnement intéressants car après le transfert des polluants et donc leur élimination du flux gazeux, le liquide est régénéré par dégradation microbienne des composés dans cette phase [Brauer, 1986]. Néanmoins, ils nécessitent la gestion de certains paramètres majeurs garantissant l'obtention de rendements d'élimination corrects. Ces facteurs sont :

- le taux d'humidité,
- l'absorption ou transfert de masse du polluant de la phase gazeuse vers la phase liquide,
- l'assimilation du polluant par la biomasse,
- l'apport de nutriments minéraux,
- le pouvoir tampon du liquide de lavage ou du support de filtration,
- la teneur en oxygène dissout pour la dégradation aérobie
- l'élimination des sous-produits [Edwards and Nirmalakhandan, 1996].

Il existe trois types de procédés selon la mobilité ou non de la phase aqueuse et/ou de la biomasse (Figure 17).

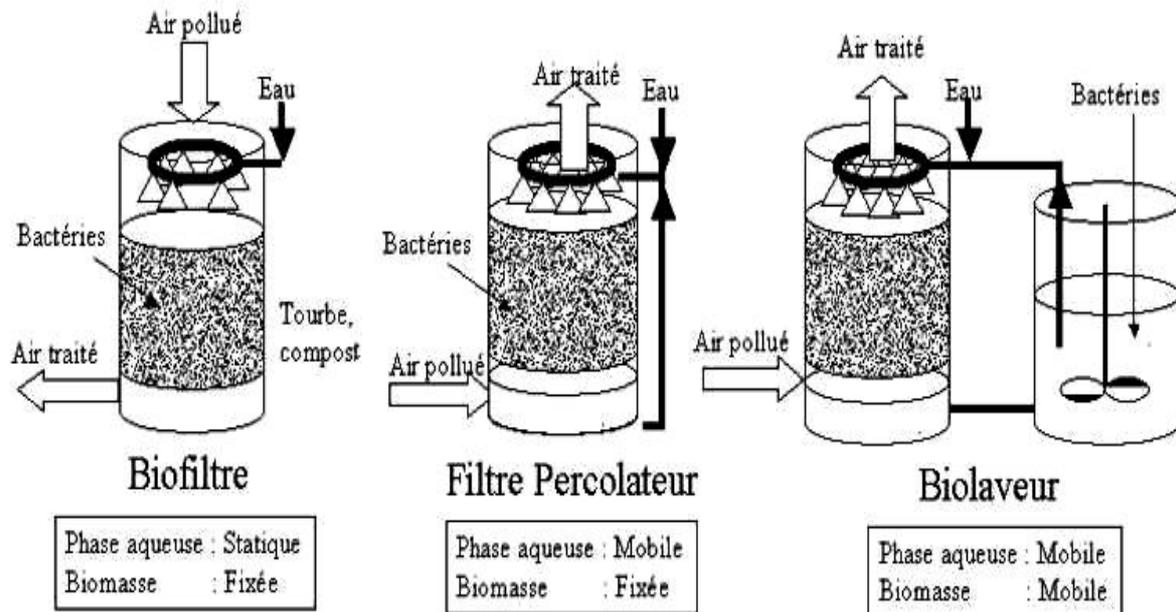


Figure 17: Traitements biologiques (Heymes, 2005)

Ces techniques apparaissent comme une alternative valable pour le traitement des COV, de par leurs couts d'investissement et de fonctionnement modérés.

V.5. Avantages et inconvénients des différents procédés

Les procédés de traitement cités présentent des avantages et des inconvénients. De ce fait, ils couvrent des champs d'application différents. Le tableau 6 présente un récapitulatif des principes de fonctionnement, avantages et inconvénients spécifiques pour chacun des procédés préalablement cités.

Tableau 6 : Caractéristiques des différents procédés utilisés pour le traitement des effluents gazeux, (Jorio and Heitz, 1999).

PROCEDES	PRINCIPE	AVANTAGES	INCONVENIENTS
INCINERATION THERMIQUE (IT) ET CATALYTQUE (IC)	Oxydation thermique température élevées 700-1400°C (IT) 370-480°C (IC) Temps de résidence faible 0,2-2s	-Fortes concentrations -Débits importants -Récupération d'énergie -Convient aux mélanges complexes	-Cout (investissement, Maintenance, énergie) -Ne convient pas aux gaz chlores, soufres, fluores -Erosion et empoisonnement du catalyseur
TRAITEMENTS BIOLOGIQUES	Transfert des polluants et de l'oxygène vers le biofilm Dégradation microbienne des composes	-Peu de déchet secondaires -Faibles couts investissement et fonctionnement -Débits élevés et concentrations faibles	-Restreint aux molécules biodégradables et hydrosolubles -Nécessite de larges superficies -Période d'arrêt peu tolérée
CONDENSATION	Changement de phase force des COV par diminution de la température ou augmentation de la pression	-Peu de maintenance -Emissions très faibles	-Couts de fonctionnement et d'investissement -Système volumineux
TECHNIQUES MEMBRANAIRES	Séparation des COV de l'effluent gazeux par passage au travers d'une membrane semi perméable	-Opération a température élevée (200°C) -Récupération de solvants	-Sensible aux variations de débits et de concentrations
LAVAGE	Transfert sélectif des COV de la phase gazeuse vers une solution de lavage	-Technique adaptée aux variations de charge et de débits -Flux importants	-Molécules solubles -Utilisation d'un solvant adapte au polluant -Transfert de pollution (rejets aqueux ou régénération)
ADSORPTION	Transfert des COV de la phase gazeuse vers un solide par adsorption Imprégnation possible du garnissage	-Traitement des solvants chlores -Accepte les variations de flux Flux importants	-Inadapté aux composes de faible poids moléculaires -Déchets secondaires (adsorbant et polluants condenses non valorisables) Couts d'exploitation et de régénération
PHOTOCATALYSE	Excitation d'un semiconducteur par rayonnement UV	-Faible encombrement	-Formation de sous produits Toxiques -Nécessité de régénération du catalyseur

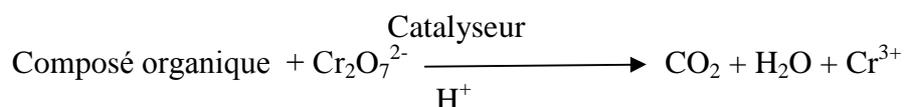
V.6. Estimation de la matière organique

V.6.1. La demande chimique en oxygène (DCO)

En principe, avec les méthodes analytiques actuelles, comme chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse, il est possible de détecter et de déterminer les composés organiques qui polluent les eaux. Pour déterminer la pollution globale, dans la pratique, on utilise très souvent des paramètres globaux qui décrivent la somme des pollutions provoquées par des polluants appartenant à un groupe de composés déterminés. Dans le domaine des eaux usées plusieurs de ces paramètres sont utilisés, par exemple la demande chimique en oxygène (DCO), la demande biochimique en oxygène (DBO).

Un de ces paramètres, qui donne une indication sur les quantités de substances chimiquement oxydables présentes dans l'eau, est la demande chimique en oxygène. Il s'agit là de la quantité d'oxygène qui est nécessaire pour oxyder principalement les composés organiques présents dans l'eau. Les substances qui se trouvent dans l'eau sont traitées chimiquement dans des conditions d'oxydation très sévères, de façon à estimer aussi celles qui sont difficilement dégradables biologiquement, comme les composés organiques chlorés.

Pour cela, on n'utilise pas l'oxygène moléculaire (c'est un oxydant faible, et la détermination de la consommation en O₂ est plutôt difficile). La détermination de la DCO se fait essentiellement par oxydation avec le dichromate de potassium, dans une solution d'acide sulfurique portée à ébullition à reflux pendant 2 heures en présence d'ion Ag⁺ comme catalyseurs d'oxydation et d'ions Hg²⁺ permettant de complexer les ions chlorures (Norme NF T 90-101). Dans ces conditions, 95 à 97 % des composés organiques sont oxydés. D'une manière simplifiée, on peut décrire cela par la réaction :



Plus il y a de substances oxydables dans l'échantillon d'eau, plus on utilise de dichromate. A partir de la quantité de dichromate utilisée, on calcule la quantité équivalente en oxygène, qui, en théorie, aurait réalisé la même oxydation.

La valeur de la DCO est une indication importante, avec laquelle on peut caractériser la pollution globale d'une eau ou d'eau usées par des composés organiques. C'est un paramètre d'évaluation utilisé pour estimer les taxes de pollution que doivent payer les entreprises.

Avec la valeur de la DCO, contrairement à la valeur de la DBO, les composés difficilement dégradables ou non dégradables biologiquement sont également mesurés.

VI. Généralités microbienne

VI.1. Introduction

Un microbe ou micro-organisme, fait partie d'un groupe large et extrêmement divers d'organismes. Ces organismes sont groupés sur la base d'une seule propriété : Ils sont si petits qu'ils ne peuvent être visualisés sans l'aide d'un microscope. Ils peuvent être classés en 5 groupes majeurs : virus, bactéries, algues, champignons (levures et moisissures) et protozoaires.

Les microbes assurent le recyclage du carbone, de l'azote et du phosphore (cycle géochimique), composants essentiels aux organismes vivants. On les trouve en association symbiotique avec les plantes, ils maintiennent la fertilité des sols et peuvent être utilisés pour éliminer les composants toxiques de l'environnement (biomédiation). Certains microbes sont pathogènes pour les plantes, ils détruisent d'importantes cultures alimentaires, mais d'autres peuvent servir d'agent de contrôle biologique des maladies [Niclin, 1993].

L'activité du métabolisme microbien se traduit par la production de biomasse (corps cellulaires), et /ou par la production ou la transformation de substances organiques et parfois minérales.

Le catabolisme est l'ensemble des réactions qui produisent de l'énergie biologiquement utilisable et les métabolites de base à partir des substrats organiques ou des réserves cellulaires. Cette dégradation est plus ou moins complète : elle donne lieu à la formation de «déchets»

L'anabolisme est l'ensemble des réactions qui permettent les synthèses cellulaires à partir de métabolites de base (issus du catabolisme) et d'éléments du milieu. Au cours de ces processus, des produits peuvent être libérés dans le milieu [Joseph, 1998].

VI.2. La croissance bactérienne

Dans un milieu où les conditions nutritionnelles et physico-chimiques adéquates sont réunies, les bactéries entrent dans un processus de croissance engendré par l'ensemble de leurs activités physiologiques. Ce processus se traduit par l'augmentation coordonnée et

irréversible du matériel cellulaire, suivi de la division cellulaire qui engendre l'accroissement de la population bactérienne.

La croissance est un processus complexe qui se déroule en plusieurs séquences : absorption des nutriments de base requis présents dans le milieu, conversion de ces nutriments en matériel cellulaire et en énergie, réplication du génome et augmentation de la taille avec duplication de l'ensemble des éléments constituant le matériel cellulaire, division en deux cellules filles dotée chacune d'une copie du génome et des autres composants cellulaires.

En fait, la présence des nutriments requis est une condition nécessaire mais non suffisante à la croissance bactérienne qui n'est possible que dans des conditions physico-chimiques favorables du milieu. Et elle n'est optimale, que si ces conditions sont elle-même optimales.

VI.3. Conditions du développement microbien

La croissance nécessite des conditions favorables du milieu : présence d'une source d'énergie utilisable (source de carbone pouvant servir de substrat énergétique dans le cas des hétérotrophes), de sources d'éléments ou oligo-éléments assimilables, des facteurs de croissance éventuellement nécessaires, de bonnes conditions physico-chimiques (pH, température, pression osmotique, aération ou anaérobiose) et d'une absence de prédateurs ou produits inhibiteurs [Larpen, 1997].

VI.3.1. Conditions nutritives

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

La presque totalité 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.).

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.

Chaque microorganisme a des exigences propres. Pour qu'un milieu permette le développement d'un micro-organisme, il doit donc contenir tous les éléments nécessaires à sa nutrition et, de plus, sous une forme utilisable par ce micro-organisme.

Lorsqu'un hétérotrophe ne nécessite la présence que d'une molécule organique énergétique, c'est à-dire qu'il est capable de réaliser la synthèse de toutes les molécules organiques nécessaires à sa croissance, il est dit prototrophe. Dans le cas contraire, il est dit auxotrophe [Bourgeois et Leveau, 1991].

VI.3.2. Conditions physico-chimiques

Outre les exigences nutritives, le développement microbien est sous la dépendance de conditions physico-chimiques dont la nature varie selon l'espèce. Dans chaque cas, certaines conditions sont obligatoires, d'autres sont facultatives. Il faut signaler que certaines fonctions métaboliques (par exemple la toxinogénèse) ont des exigences particulières, plus restrictives que celles permettant la croissance. Tous les facteurs cités ici ont une incidence non seulement sur le développement, mais sur la survie des cellules.

Certains facteurs peuvent ralentir, inhiber ou à l'inverse favoriser la nutrition, la croissance et la multiplication [Scriban, 1993].

- **pH**

Le comportement des micro-organismes par rapport au pH est variable. 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.

- **Température**

Des variations de température affectent tous les processus biologiques. La vitesse de réaction augmente jusqu'à une valeur optimale variable selon les micro-organismes qui se différencient en fonction de leur zone optimale de développement en : psychrophiles (ou psychotrophes) sont capables de se développer en dessous de 15-20⁰C, les mésophiles entre 15 et 45⁰C et les thermophiles au-dessus de 45⁰C.

- **Oxygène**

Le comportement des espèces microbiennes vis-à-vis de ce paramètre est très variable. Certains micro-organismes sont aérobies, d'autres aérobies stricts, d'autres aéro-anaérobies ou anaérobies facultatifs.

On appelle micro-aérophiles des micro-organismes qui ont besoin d'oxygène, mais en faible quantité, sous peine d'inhibition.

- **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].

- **Toxicité**

De nombreuses 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.

Bon nombre de substances minérales et la plupart des métaux sont toxiques tant pour les systèmes biologiques, aérobies qu'anaérobies. Il en est de même pour de nombreux composés organiques.

VI.4. Cinétiques de croissance en batch

Ce mode de croissance est obtenu en culture sur milieu liquide, réalisée en flacons (tube à essais, erlens) ou en bioréacteur (équipement spécifique pour mener des cultures en conditions contrôlées), contenant le milieu de croissance pourvu des nutriments requis et placé dans les conditions convenables d'environnement. Le milieu n'est pas renouvelé et sa capacité d'utilisation se limite donc à ses ressources initiales.

Le milieu estensemencé par un inoculum constitué de 0,5 à 3% (V/V) d'une culture pure préalable de la bactérie considérée. La croissance s'enclenche alors et se poursuit, jusqu'à ce que les conditions de milieu ne répondent plus aux besoins bactériens de croissance.

Toutes les bactéries, cultivées dans ces conditions, développent une même cinétique de croissance, exprimée par une courbe de croissance caractéristique qui rend compte de l'évolution de la concentration cellulaire, exprimée en nombre de cellules ou en masse bactérienne par unité de volume du milieu de culture, en fonction du temps.

VI.4.1. Schéma de la croissance

La culture en batch permet de suivre tout le cycle d'une population bactérienne. Ce cycle est généralement représenté sous forme d'une courbe de croissance correspondant au suivi de la population (densité de population) ou au suivi de la biomasse (densité de biomasse), éventuellement après transformation logarithmique, en fonction du temps [Cornu, 2000].

Le schéma classique de la croissance d'une population bactérienne en milieu non renouvelé a été établi par Buchanan (1918) (Figure 18). Il décompose la cinétique de croissance en sept phases distinctes [Charles-Bajard, 1996] :

1. la phase de latence, qui correspond à une phase de transition entre un état physiologique initial et un état de croissance à proprement parler (phase d'adaptation au nouvel environnement),
 2. la phase d'accélération de la croissance,
 3. la phase de croissance quasi-exponentielle, dite aussi phase de croissance maximale ; cette phase de croissance est considérée en première approximation comme purement exponentielle. La pente de la droite (lorsque la concentration bactérienne est exprimée en coordonnées semi-logarithmiques) correspond à la vitesse (ou taux) de croissance maximale, μ_{\max} (h^{-1}) :
- $$\mu_{\max} = \frac{y_2 - y_1}{t_3 - t_2}$$
4. la phase de décélération ou phase de freinage, qui semble intervenir au fur et à mesure que le substrat s'épuise ou que des produits toxiques s'accumulent,
 5. la phase stationnaire maximale,
 6. la phase d'accélération de la décroissance,
 7. la phase de décroissance exponentielle, qui apparaît lorsque le milieu devient fortement défavorable à la multiplication de cellules bactériennes.

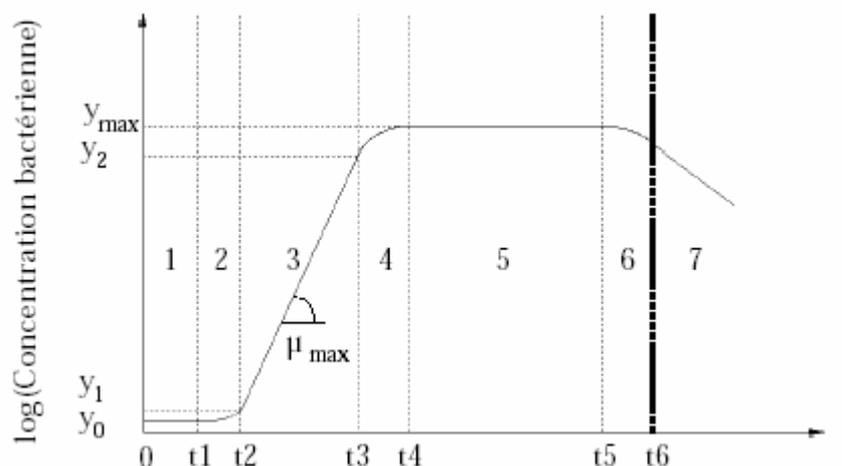


Figure 18 : Différentes phases de la croissance bactérienne en milieu liquide décrites par Buchanan (1918).

VI.4.2. Suivi de la croissance bactérienne en cultures mixtes

La mesure de la croissance bactérienne consiste à estimer, à un moment donné ou en cinétique de temps l'évolution de la population bactérienne (détermination du taux de croissance maximum μ_{\max}) ou sa biomasse. Mais comme ces deux paramètres sont proportionnels, la détermination de l'un permet aussi d'évaluer l'autre par corrélation. Il existe pour cela de nombreuses techniques reposant sur différents types de mesures :

VI.4.2.1. Les mesures directes du nombre de micro-organismes

Elles sont fondées sur les dénombrements sur boîtes de Pétri ou la cytométrie en flux ou sur filtre (par analyse d'image) [Charles-Bajard, 1996].

- **Dénombrements sur boîte de Pétri**

Parmi les techniques directes, le dénombrement sur boîtes de Pétri constitue sans aucun doute la méthode la plus classique. Cette technique permet la mesure de densités de populations comprises entre 10 et 10^9 cellules/mL ou cellules/g de produit. Le principe repose sur l'hypothèse qu'une cellule viable déposée sur le gel nutritif de la boîte se divise jusqu'à l'obtention d'un amas de cellules issues de cette seule cellule mère : une colonie.

En conséquence, le dénombrement des colonies revient au dénombrement des cellules ou groupes de cellules déposés et viables (unités formant colonie ou ufc) à condition que la dilution de la solution ne conduise à aucun chevauchement des colonies (confluence). 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 [Cornu, 2000].

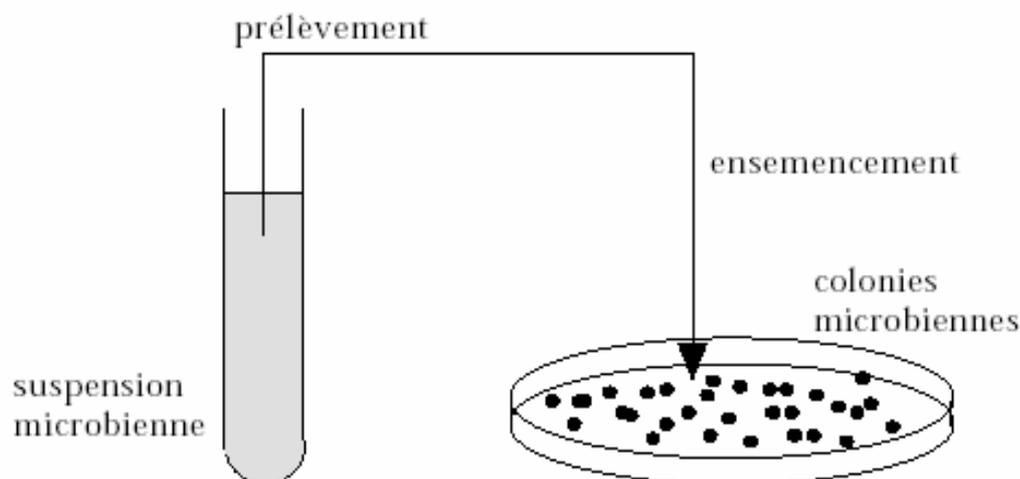


Figure 19 : Technique de dénombrement sur boîte de Pétri (Delignette-Muller, 1995)

- **Comptages au microscope**

Les cellules présentes dans un échantillon liquide peuvent également être dénombrées en microscopie en utilisant du matériel adapté. Un quadrillage gravé à la surface d'une lame de verre (cellule de Neubauer) permet de compter les cellules dans un volume connu d'échantillon.

Les techniques d'épifluorescence fondées sur l'utilisation de fluorochromes permettent un comptage direct plus spécifique en microscopie. Après coloration avec le 3,6-bis chlorure d'acridine (acridine orange) et le 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI), l'identification des bactéries est possible sur la base de leur couleur, de leur forme et de leur taille [Kepner et Pratt, 1994].

Par ailleurs, les cellules peuvent être immobilisées sur une membrane après filtration de l'échantillon ; c'est le principe de la cytométrie sur filtre [Métézeau *et al.*, 1994].

- **Comptages en flux**

Le comptage peut être automatisé par la détection des cellules individuelles entraînées par un flux liquide.

Le compteur de Coulter (*Coulter Counter*), système de comptage automatisé de particules au cours de l'aspiration d'un échantillon liquide, existe depuis 1956. La détection des cellules repose sur les changements brutaux de conductivité lors de leur passage dans un orifice. Les micro-organismes peuvent être distingués à condition que leurs tailles diffèrent suffisamment.

La cytométrie de flux est un système similaire fondé sur l'émission ou la diffusion de photons par les cellules lors de leur passage devant un faisceau laser. La différenciation des bactéries peut reposer sur des fluorochromes (comme en épifluorescence) ou sur les paramètres morphologiques influant sur la diffusion de la lumière [Métézeau *et al.*, 1994].

VI.4.2.2. Les mesures indirectes du nombre de micro-organismes

Elles consistent à évaluer les variations de la densité bactérienne par le dosage de certains composés dont la synthèse est due au métabolisme bactérien (ATPmétrie, dosage du glucose, du CO₂, etc.), ou par la mesure des variations d'une grandeur physique du milieu comme la densité optique (turbidimétrie) [Charles-Bajard, 1996].

- **Estimation des densités de biomasse**

Au lieu de dénombrer les bactéries, il est possible d'estimer la biomasse (masse bactérienne) par unité de volume, c'est-à-dire la densité bactérienne [Meynell, 1970]. La pesée de la masse sèche est peu sensible, peu reproductible, et, par suite, peu utilisée. Mais il existe des méthodes rapides d'estimation de la densité bactérienne.

La turbidimétrie permet de suivre l'évolution de la densité optique, reliée à la densité bactérienne par la loi de Beer-Lambert. Il existe des systèmes de mesure automatisés autorisant des acquisitions très fréquentes au cours d'une culture en microcuves. Ces dispositifs permettent de coupler croissance et mesure en temps réel de la densité bactérienne. Pour toutes les autres méthodes de suivi de croissance, la mesure nécessite en revanche le

prélèvement d'un échantillon de culture et son analyse extemporanée. L'avantage majeur de cette méthode est sa simplicité et sa rapidité [Cornu, 2000].

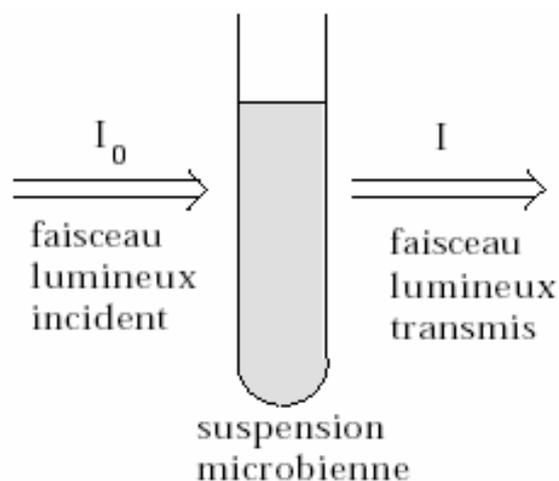


Figure 20 : Technique turbidimétrique de mesure de la biomasse (Delignette-Muller, 1995)

Il faut noter que les métaux sont souvent adsorbés et concentrés dans les boues. Pour certains polluants tels les cyanures et les phénols, la population bactérienne peut s'acclimater à une certaine concentration de ces substances, le plus souvent par formation de souches adaptées.

Matériels et Méthodes

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériel

I.1.1. Micro-organismes

Les microorganismes utilisés lors de nos expériences ont été prélevées du fond du bassin de décantation secondaire de la station d'épuration d'El Menia Constantine (annexe1), car les germes dénitrifiants existent dans les zones où la concentration en oxygène dissous est faible [Stanier.R, 1976]. Ces derniers sont dissous par agitation dans de l'eau distillée. La solution récupérée après filtration est mélangée à une solution contenant le milieu nutritif [Patureau. D, 1995] (tableau 7) et une source de carbone. Le mélange est introduit à 30°C dans un réacteur agité en anoxie contenant une concentration en nitrate de 2g l⁻¹. La croissance bactérienne est suivie par des mesures de la densité optique (à 600 nanomètres) à des intervalles réguliers de temps. Au stade de la croissance exponentielle (3 jours), les microorganismes sont récupérés par centrifugation et sont introduit de nouveau dans une solution contenant le milieu nutritif et les nitrates à la concentration de 2 g l⁻¹ ainsi qu'une source de carbone. Le cycle précédent est repris deux fois avant l'utilisation des microorganismes pour notre étude.

I.1.2. Milieu de culture

Pour favoriser la croissance des micro-organismes dénitrifiants, nous avons utilisé un milieu de croissance synthétique qui apporte aux micro-organismes tous les éléments nécessaires au développement cellulaire, sa composition pour 1 litre d'eau bidistillée est la suivante :

Tableau 7 : composition du milieu de culture

Composé	Concentration	Composé	Concentration
KH ₂ PO ₄	1,00 g.L ⁻¹	NaCl	1,00 g.L ⁻¹
K ₂ HPO ₄	1,00 g.L ⁻¹	MgSO ₄	0.20 g.L ⁻¹
KNO ₃	1,00 g.L ⁻¹	CaCl ₂	0.02 g.L ⁻¹
Solution TE	1,00 mL.L ⁻¹		

Composition de la solution traces des éléments TE

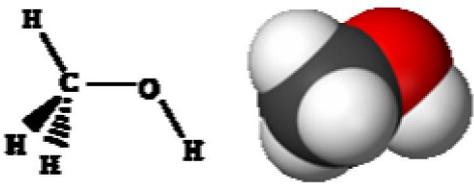
HCl 37%	6,76 mL.L ⁻¹	ZnCl ₂	0,070 g.L ⁻¹
FeCl ₂ . 4H ₂ O	1,50g.L ⁻¹	NiCl ₂ . 6H ₂ O	0,025 g.L ⁻¹
H ₃ BO ₃	0,06 g.L ⁻¹	CuCl ₂ . 2H ₂ O	0,015 g.L ⁻¹
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0,10 g.L ⁻¹	NaMoO ₄ . 2H ₂ O	0,025 g.L ⁻¹
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0.12 g.L ⁻¹	EDTA	5,2 g.L ⁻¹

I.1.3. Source de carbone et d'énergie

L'activité bactérienne nécessite la présence d'une source de carbone [Over.B, 2006], comme l'éthanol [Kapoor.A, 1997], le méthanol [Fogar.L, 2003], l'acide acétique [Bandpi.M, 1996], l'acétate [Huang.H et coll, 2001], les acides gras [Yatong.X, 1996], les granules de polyester synthétique [Margaert.J, 2001, Boley.A, 2003], les pailles de blé [Soares.M, 1998].

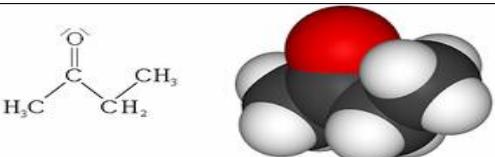
Dans notre étude nous avons utilisé le méthanol, la méthyléthylcétone et un mélange d'acide acétique et d'acétate de sodium comme source de carbone. Ces dernières sont ajoutés séparément dans le milieu de dénitrification ce qui permet leur métabolisme et une production de biomasse, avec le nitrate de potassium (KNO₃) comme source oxydée unique d'azote.

- Caractéristiques physico-chimiques du Méthanol

Général	
Nom IUPAC	Méthanol
Formule développée et vue 3D du méthanol	
Synonymes	alcool méthylique
Apparence	liquide incolore, d'odeur caractéristique.
Propriétés chimiques	
Formule brute	CH ₄ O [Isomères]
Masse molaire	32,041905 g.mol ⁻¹ C 37,48%, H 12,58%, O 49,93%,
Propriétés physiques	
T° fusion	-98 °C

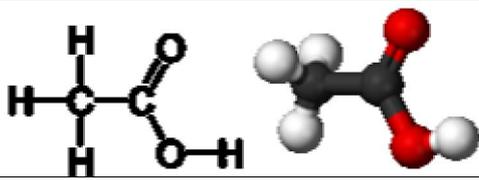
<u>T° ébullition</u>	65 °C
<u>Solubilité</u>	dans l'eau : miscible
<u>Masse volumique</u>	(eau = 1) : 0.79
<u>T° d'auto-inflammation</u>	464 °C
<u>Point d'éclair</u>	12 °C
<u>Limites d'explosivité dans l'air</u>	Inférieure : 5,5 Vol% Kohn-Birett Supérieure : 31 Vol% Kohn-Birett
<u>Pression de vapeur saturante</u>	à 20 °C : 12.3 kPa, 410 mmHg à 50 °C
<u>Viscosité</u>	0,5513 mPa.s à 25 °C
<u>dynamique</u>	(liquide)
<u>Conductivité thermique</u>	190,16 mW m ⁻¹ K ⁻¹ à 25 °C (liquide)
<u>Conductivité électrique</u>	5.10 ⁻⁹ Ω ⁻¹ cm ⁻¹ à 25 °C
Thermochimie	
<u>S_{gaz, 1 bar}⁰</u>	186,9 J/mol.K
<u>S_{liquide, 1 bar}⁰</u>	127,19 J/mol.K
<u>S_{solide}⁰</u>	1,117 J/mol.K
<u>Δ_fH_{gaz}⁰</u>	-201 kJ/mol
<u>Δ_fH_{liquide}⁰</u>	-238 kJ/mol
<u>Δ_fH_{solide}⁰</u>	
<u>C_p</u>	79,5 J/mol.K
Précautions	
<u>Signalisation CE</u>	 T F

- **Caractéristiques physico-chimiques de la méthyléthylcétone**

Général	
Structure de la Butanone	
<u>Nom IUPAC</u>	Butan-2-one
<u>Synonymes</u>	Ethylméthylcétone
<u>Apparence</u>	liquide incolore, d'odeur caractéristique.
Propriétés chimiques	
<u>Formule brute</u>	<u>C₄H₈O</u> [Isomères]
<u>Masse molaire</u>	72,105877 g·mol ⁻¹ C 66,63%, H 11,18%, O 22,19%,
Propriétés physiques	
<u>T° fusion</u>	-86 °C
<u>T° ébullition</u>	80 °C
<u>Solubilité</u>	dans l'eau à 20 °C : 29 g/100 ml
<u>Masse volumique</u>	(eau = 1) : 0.8

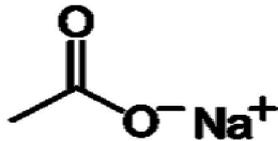
<u>T° d'auto-inflammation</u>	505 °C
<u>Point d'éclair</u>	-9 °C c.f.
<u>Limites d'explosivité dans l'air</u>	en volume % dans l'air : 1.8-11.5
<u>Pression de vapeur saturante</u>	à 20 °C : 10.5 kPa
Précautions	
Danger	 H225, H319, H336, EUH066
<u>Transport</u>	

- **Caractéristiques physico-chimiques de l'acide acétique**

Général	
<u>Nom IUPAC</u>	Acide éthanoïque
Formule développée et représentation 3D de l'acide acétique	
<u>Synonymes</u>	acide éthylique
Apparence	liquide incolore, d'odeur âcre.
Propriétés chimiques	
<u>Formule brute</u>	$C_2H_4O_2$ [Isomères]
<u>Masse molaire</u>	60,052046 g·mol ⁻¹ C 40%, H 6,71%, O 53,29%,
<u>pKa</u>	4,76
<u>Moment dipolaire</u>	1,74 D (gazeux)
Propriétés physiques	
<u>T° fusion</u>	16,7 °C ¹
<u>T° ébullition</u>	118 °C ¹
<u>Solubilité</u>	dans l'eau : miscible, Totalement miscible à l' <u>éthanol</u> , l' <u>acétone</u> , l' <u>hexane</u> , au <u>toluène</u> . Quasi insoluble dans le <u>disulfure de carbone</u>
<u>Masse volumique</u>	(eau = 1) : 1.05 1,266 (solide)
<u>T° d'auto-inflammation</u>	427 °C
<u>Point d'éclair</u>	39 °C c.f.
<u>Limites d'explosivité dans l'air</u>	en volume % dans l'air : 5.4-16
<u>Pression de vapeur saturante</u>	à 20 °C : 1.5 kPa
<u>Viscosité dynamique</u>	1,22 mPa · s à 25 °C
Thermochimie	

$S_{\text{gaz, 1 bar}}^0$	282,8 J/mol·K
$S_{\text{liquide, 1 bar}}^0$	158,0 J/mol·K
$\Delta_f H_{\text{liquide}}^0$	-483,5 kJ/mol
C_p	63,4 J/mol·K (gaz) 123,1 J/mol·K (liquide)
Propriétés optiques	
<u>Indice de réfraction</u>	1.375
Précautions	
<u>Signalisation CE</u>	

- **Caractéristiques physico-chimiques d'acétate de sodium**

Général	
<u>Formule développée</u>	
<u>Nom IUPAC</u>	Éthanoate de sodium
<u>Synonymes</u>	Acétate de soude Sel sodique de l'acide acétique
<u>Apparence</u>	poudre cristalline blanche, hygroscopique.
Propriétés chimiques	
<u>Formule brute</u>	$C_2H_3NaO_2$ [Isomères]
<u>Masse molaire</u>	82,033875 g·mol ⁻¹ C 29,28%, H 3,69%, Na 28,02%, O 39,01%, 136,08 g/mol (trihydrate)
Propriétés physiques	
<u>T° fusion</u>	58 °C (libération de l'eau du trihydrate)
<u>T° ébullition</u>	Décomposition à 324 °C en Na ₂ O
<u>Solubilité</u>	365 g/l (eau, 20 °C)
<u>Masse volumique</u>	1,52 g/cm ³ (anhydre, 20 °C) 1,42 g/cm ³ (trihydrate, 20 °C)
<u>T° d'auto-inflammation</u>	607 °C
<u>Point d'éclair</u>	> 250 °C (anhydre, coupelle fermée)

I.1.4. Conservation des échantillons

Certaines mesures doivent être effectuées in situ (la mesure de la température, du pH) ou aussitôt que possible (Nitrates, Carbone organique). Les échantillons sont prélevés dans des flacons en polyéthylène (paramètres chimiques).

Entre le prélèvement et l'analyse, de nombreuses transformations physiques, chimiques ou microbiologiques, peuvent avoir lieu. Donc pour stabiliser un échantillon ou du moins ralentir les réactions éventuelles, il est recommandé de prendre pour chaque analyses des précautions particulières et parfois ajouter des agents chimiques afin d'éviter certaines transformations ou certaines interférences au moment de l'analyse.

Dans presque tous les cas, il est bon de réfrigérer l'échantillon à 4°C notamment pour limiter l'activité biologique.

I.1.5. pH-mètre

L'évolution du pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre JENWAY instruments 3505, équipé d'une électrode de verre combinée. Le pH-mètre est préalablement étalonné avec des solutions tampons (pH = 4, 7 et 10).

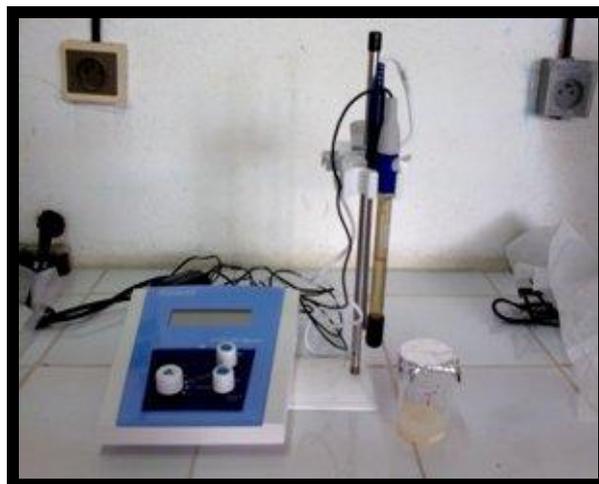


Figure 21 : photographie d'un pH mètre

I.1.6. Centrifugeuse

Les échantillons sont au préalable centrifugés à 7000 rpm par une centrifugeuse de marque « SIGMA 1 - 15 », à température ambiante pendant 10 minutes. Le surnageant récupéré est dilué si nécessaire selon les méthodes de dosage.



Figure 22 : photographie d'une centrifugeuse

I.1.7. Spectrophotomètre

Un spectrophotomètre DR/2000 a été utilisé pour la mesure de la turbidité des échantillons ce qui permet de déterminer la densité de la population bactérienne. Il a également été utilisé pour mesurer l'évolution de la concentration de nitrate et de la matière organique.



Figure 23 : photographie d'un spectrophotomètre

- **Principe de la spectrophotométrie**

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

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

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

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

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

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

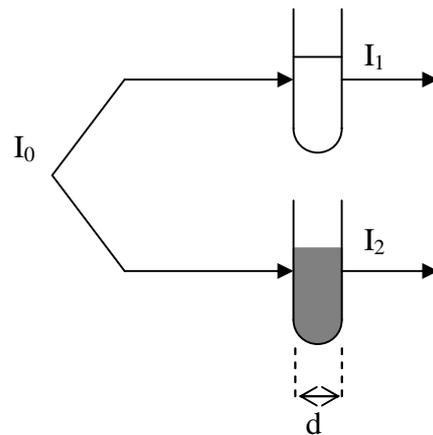


Figure 24 : Schéma pour définir la densité optique du milieu [Lobry. J, 1991].

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

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

L'échantillon est placé dans une cuvette ensuite on place la cuvette dans le spectrophotomètre.

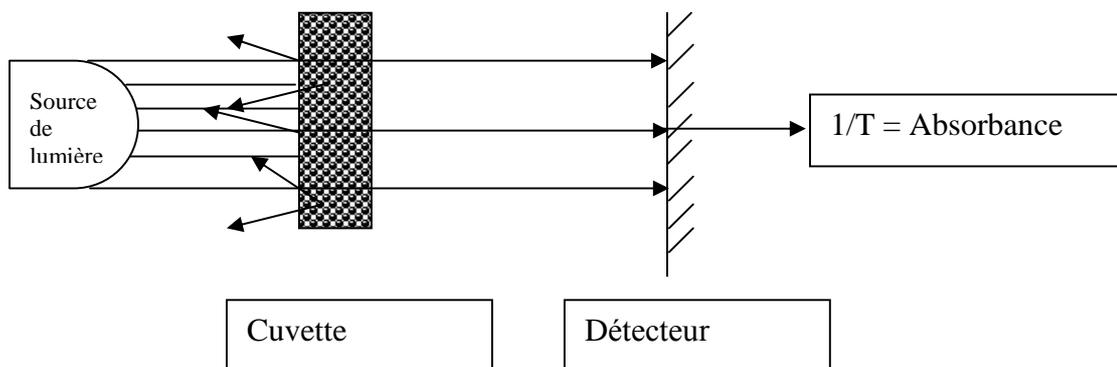


Figure 25 : Schéma de l'absorbance

I.1.8. Réacteur DCO

Un bloc chauffant à 150⁰C, à 16 postes, pouvant être remplacé par tout autre système équivalent capable de recevoir des tubes bouchés avec joint téflon SVL 16 x 100, afin de mesurer l'évolution de la matière organique.



Figure 26 : photographie d'un réacteur DCO

I.1.9. Réacteurs « batch »

Une étuve de marque 'MEMMERT' est utilisée pour l'incubation des échantillons et la vaporisation totale de l'eau contenue dans ces dernières.



Figure 27 : photographie d'un réacteur 'batch'

I.2. Méthodes d'analyse

I.2.1. Dosage de la biomasse

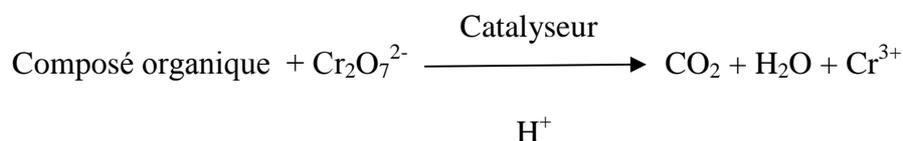
L'augmentation du nombre des microorganismes dans la solution entraîne une augmentation de la turbidité de la solution. Ce nombre est proportionnel à la densité optique de la solution. Les mesures des densités optiques pour la détermination de la concentration des microorganismes sont réalisées à 600 nm. 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 contenu dans les échantillons. Une droite d'étalonnage est réalisée reliant la densité optique de la solution (à 600 nm) à la masse des microorganismes présents dans la solution et sera utilisée pour nos mesures (annexe 2).

I.2.2. Dosage des nitrates

En présence de salicylate de sodium les nitrates prennent une coloration jaune susceptible d'un dosage spectrophotométrique à 415 nm [Rodier.J, 1978]. Cette propriété a été exploitée pour la mesure de la concentration des nitrates durant nos expériences. Lors du dosage des échantillons prélevés dans le réacteur, les microorganismes sont éliminés par centrifugation. Le protocole expérimental est présenté en annexe 3.

I.2.3. Dosage de la source de carbone

Le dosage de la matière organique est effectué par l'intermédiaire d'une oxydation chimique (méthode de DCO). Son principe repose sur l'oxydation à chaud en milieu sulfochromique pendant 2 heures en présence d'ion Ag^+ comme catalyseurs d'oxydation et d'ions Hg^{2+} permettant de complexer les ions chlorures (Norme NF T 90-101). Dans ces conditions, 95 à 97 % des composés organiques sont oxydés. D'une manière simplifiée, on peut décrire cela par la réaction :



Le protocole expérimental est présenté en annexe 4.

II. Les conditions opératoires

Les expériences sont réalisées dans des réacteurs fermés hermétiquement à température fixe (30°C) contenant le milieu nutritif (tableau 7). La vitesse de dénitrification et de dégradation des sources de carbone par les microorganismes augmente généralement avec la concentration de la biomasse active et l'efficacité de transfert de l'oxygène [Chin.H, 2000]. Le réacteur est agité en permanence afin d'améliorer le transfert d'oxygène de la phase gazeuse à la phase liquide et d'homogénéiser le milieu réactionnel. Il a été procédé dans toutes nos expériences à une inoculation dans les mêmes conditions par une même quantité de microorganismes initiale. L'anaérobie est réalisée par barbotage d'azote jusqu'à désoxygénation totale de la solution. Le réacteur est muni d'une ouverture permettant les prélèvements sans perturbation du milieu réactionnel.

Résultats et Discussion

I. Etude de la méthyléthylcétone comme source de carbone

I.1. Effet de la concentration initiale de la méthyléthylcétone

Les boues prélevées dans la station d'épuration d'El Menia sont dissoutes par agitation dans l'eau distillée. La solution récupérée après filtration est mélangée à une solution contenant le milieu nutritif et le MEK. Le mélange est maintenu à 30°C dans réacteur fermé. La croissance bactérienne est suivit par des mesures de la densité optique (à 600 nanomètre) à des intervalles réguliers de temps.

Durant nos expériences, nous avons mesuré en concomitance la croissance bactérienne en fonction du temps et le déclin de la concentration du MEK. Les expériences ont été réalisées avec les concentrations initiales en MEK de 500, 1000, 1500 et 2000 ppm. Les résultats obtenus sont représentés sur les figures 28, 29, 30, 41.

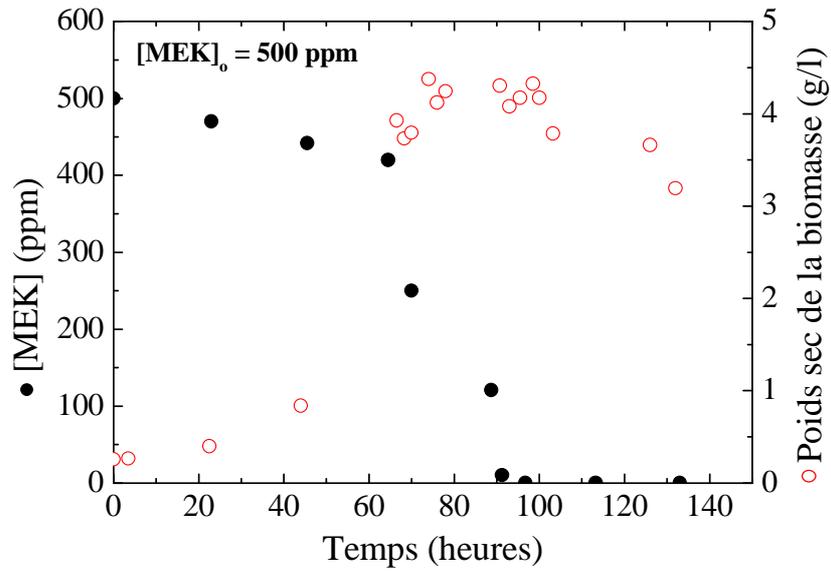


Figure 28 : Déclin de la concentration de la méthyléthylcétone et croissance bactérienne en fonction du temps $[MEK]_0 = 500\text{ppm}$

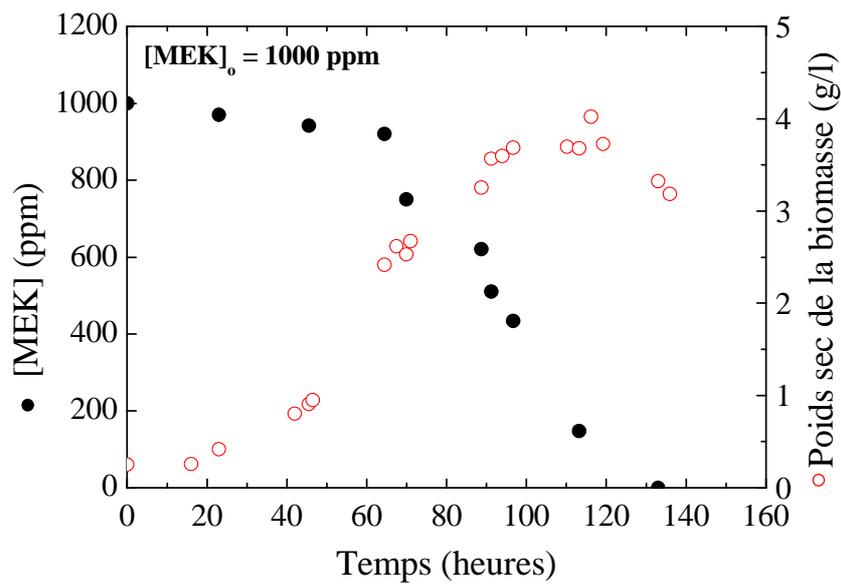


Figure 29 : Déclin de la concentration de la méthyléthylcétone et croissance bactérienne en fonction du temps $[MEK]_0 = 1000\text{ppm}$

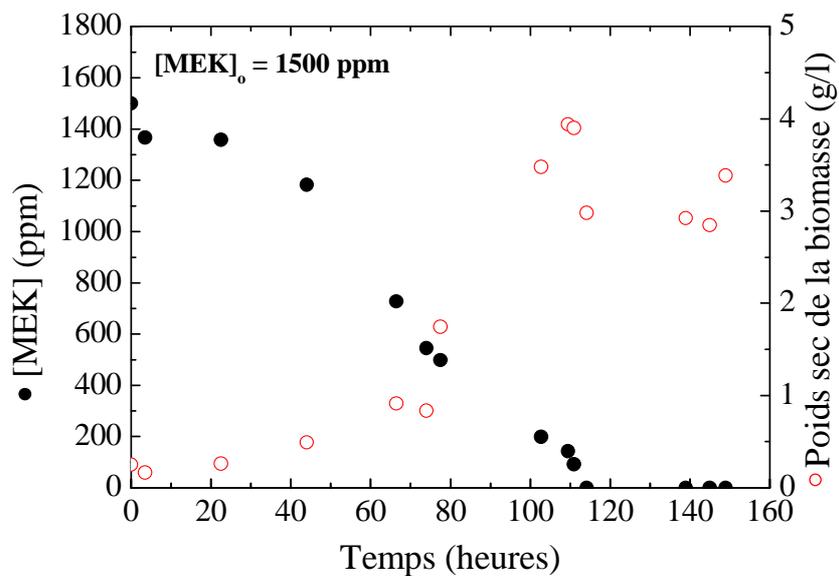


Figure 30 : Déclin de la concentration de la méthyléthylcétone et croissance bactérienne en fonction du temps $[MEK]_0=1500\text{ppm}$

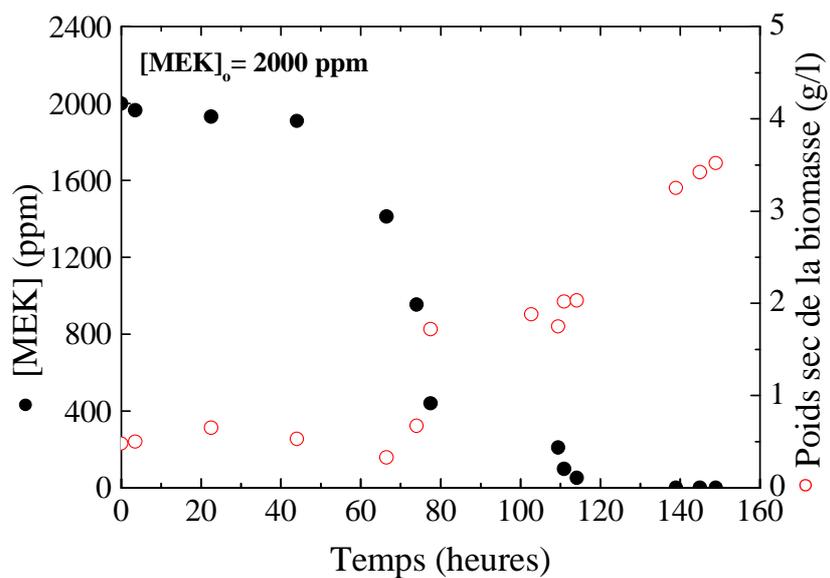


Figure 31 : Déclin de la concentration de la méthyléthylcétone et croissance bactérienne en fonction du temps $[MEK]_0=2000\text{ppm}$

Dans notre étude nous avons montré que les microorganismes prélevés de la station d'épuration d'El Menia Constantine sont capables de dégrader la MEK. Au début de l'expérience, on a une phase de latence, elle correspond à une période où les bactéries s'adaptent à leur environnement et synthétisent les enzymes nécessaires à la métabolisation du MEK, suivie avant stagnation, une phase de croissance exponentielle du nombre de microorganismes responsables de la dégradation de la source de carbone. Après la consommation de pratiquement toute la MEK, on atteint une phase d'autooxydation des microorganismes, elle signifie qu'à ce moment, les bactéries utilisent les réserves accumulées précédemment. D'après les courbes de les figures 28, 29, 30, 31, on remarque que l'augmentation de la concentration initiale de la MEK entraîne une augmentation du temps de latence et une diminution de la concentration finale des microorganismes. A partir de 2000 ppm, la distribution des microorganismes n'est plus uniforme et leurs performances de dégradation sont diminuées.

Un spectre RMN du proton de la phase aqueuse est pris au début de l'expérience (figure 32). Il présente un triplet à 0,9 ppm, un singulet à 2,2 ppm et un quadruplet à 2,5 ppm. Ceci montre la présence de la MEK dans notre échantillon. Le spectre présente également une large bande entre 4,5 et 5 ppm due à l'excès d'eau dans l'échantillon.

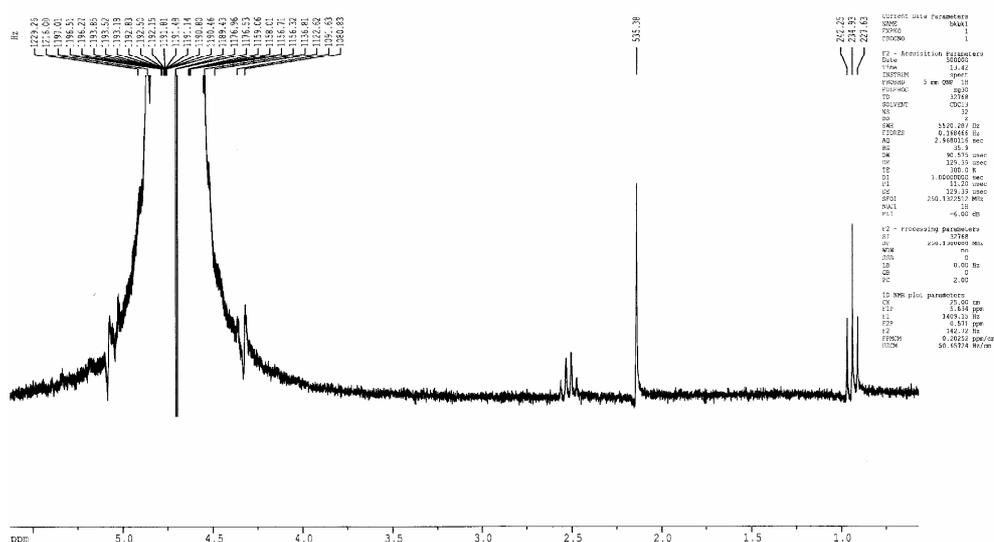
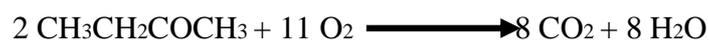


Figure 32. Spectre RMN du proton de la phase aqueuse avant le début de la dégradation pour une concentration initiale de MEK de 1000 ppm

L'analyse RMN de la phase aqueuse à la fin de l'expérience montre l'absence de produits organiques. Ceci prouve l'absence de produits intermédiaires lors de la réaction de dégradation de la MEK. La réaction de dégradation de la MEK ne peut donc être que la suivante :



I.2. Influence de l'oxygène

Afin de déterminer le rôle de l'oxygène sur la croissance bactérienne et la vitesse de la dénitrification et la dégradation du MEK. Deux types de cultures ont été utilisés (culture anoxique, culture aérobie).

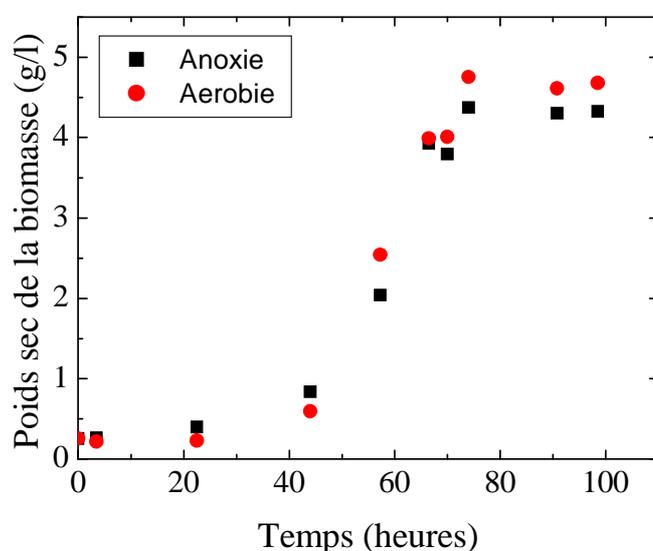


Figure 33: Effet de l'oxygène sur la croissance bactérienne en fonction du temps

La figure 33 montre clairement que le taux de croissance et le rendement en biomasse en présence d'oxygène et de nitrate est supérieur à celui observé avec le nitrate seul. Ceci s'explique que l'utilisation des nitrates seuls produisant moins d'énergie que la consommation conjointe d'oxygène et des nitrates.

Anoxie : $\mu_{\max} = 0,028 \text{ h}^{-1}$, $Y = 8,6496$

Aérobie : $\mu_{\max} = 0,029 \text{ h}^{-1}$, $Y = 9,358$

On conclure que la dénitrification produit beaucoup moins d'énergie que la respiration de l'oxygène.

Les différentes constantes cinétiques citées précédemment sont calculées comme suit :

ΔX : Quantité de biomasse produite $\Delta X = X_f - X_i$

μ_{\max} : Taux de croissance $\mu_{\max} = \ln X_{\max} - \ln X_0 / t_{\max} - t_0$

Y : rendement en biomasse Y = extrait sec de biomasse produite/substrat consommé

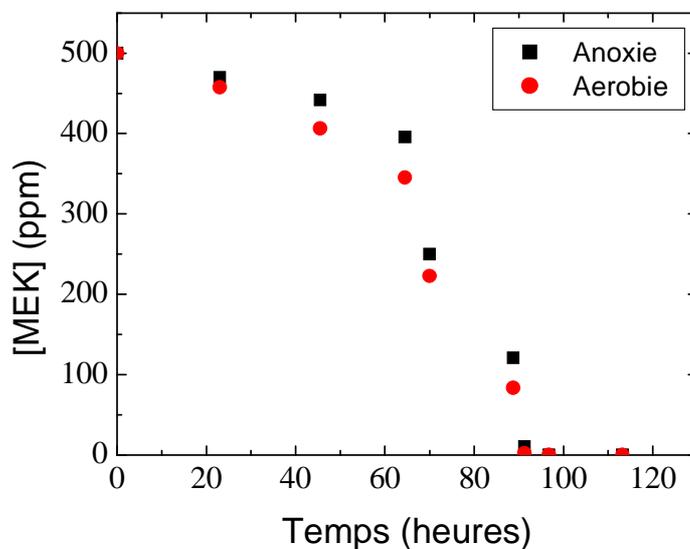


Figure 34 : Effet de la présence d'oxygène sur la dégradation du MEK

Une dégradation complète de la MEK a été observée pour les deux cultures (figure 34). Mais la dégradation de la MEK en aérobie est légèrement rapide même après l'inhibition des nitrates par rapport en anoxie.

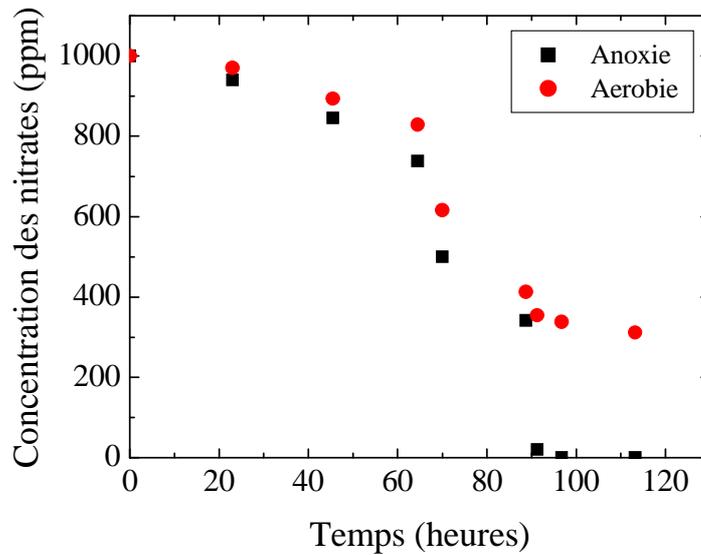


Figure 35 : Dénitrification aérobie et anoxie en fonction du temps de traitement

Après un temps de latence, correspond vraisemblablement à la synthèse des enzymes pour les deux cultures, la dénitrification se met en place (figure 35). En anoxie, après 85 heures d'expérience, une consommation totale des nitrates avec une vitesse moyenne égale $0,022 \text{ g l}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Par contre en aérobie, une réduction partielle des nitrates jusqu'à un taux égale à 68,86 %. Donc la présence d'oxygène traduit par une diminution de l'activité dénitrifiant.

Ceci montre que la dénitrification est un procédé anaérobique, qui utilise l'oxygène des nitrates pour oxyder la matière organique [Schawartzbrod.J, 1985].

I.3. Influence de la concentration initiale des nitrates

Nous avons réalisé différentes cultures avec différentes concentrations initiales des nitrates, afin de déterminer l'effet des nitrates sur la croissance bactérienne et la dégradation du MEK et la vitesse de la dénitrification.

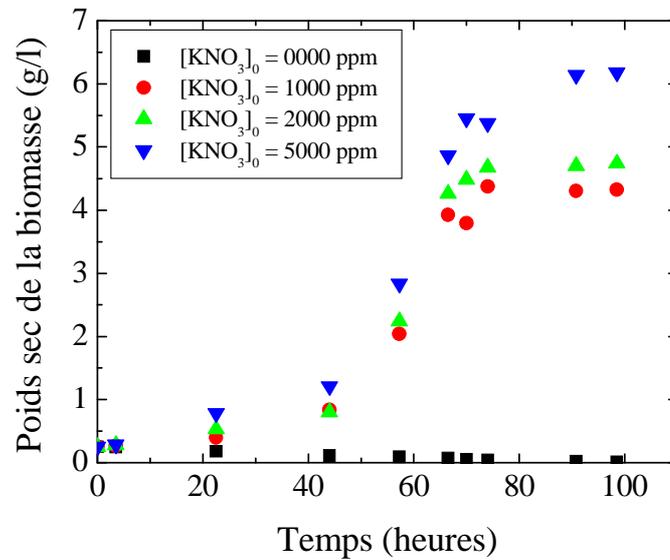


Figure 36 : Evolution de la croissance bactérienne avec la concentration initiale de nitrate en fonction du temps

La figure 36 montre que la croissance bactérienne augmente avec l'augmentation de la concentration initiale des nitrates. Le plus grand taux de croissance correspond à la plus grande concentration initiale des nitrates 5000 ppm ($\mu = 0,032 \text{ h}^{-1}$). Cependant, l'absence des nitrates n'a entraîné aucune croissance ou synthèse des cellules.

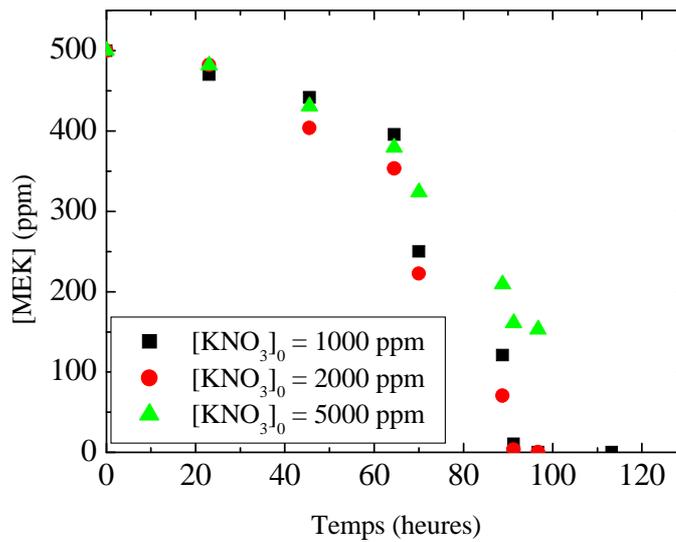


Figure 37 : Effet de la concentration initiale des nitrates sur la dégradation du MEK en fonction du temps

La dégradation du MEK avec $[KNO_3]_0 = 2000$ ppm est plus rapide par rapport à $[KNO_3]_0 = 1000$ ppm, mais elle conduit à la disparition complète du substrat carboné pour les deux cas (figure 37). Pour $[KNO_3]_0 = 5000$ ppm une dégradation partielle qui a été observée jusqu'à 69,38 %.

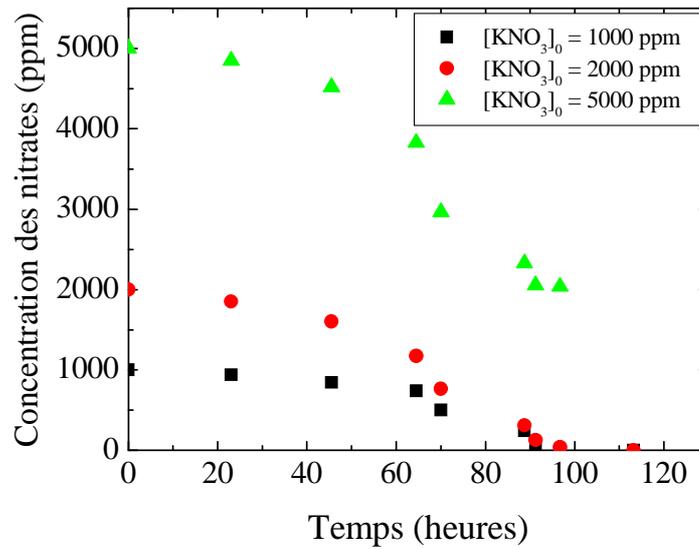


Figure 38 : Effet la concentration initiale des nitrates sur la dénitrification

Après le temps de latence, une réduction totale des nitrates a été observée pour $[\text{KNO}_3]_0 = 1000, 2000$ ppm. Comme on a observé que la vitesse de réduction des nitrates pour $[\text{KNO}_3]_0 = 2000$ ppm est plus importante par rapport a $[\text{KNO}_3]_0 = 1000$ ppm ($V_{\text{moy}} = 0,035, 0,025 \text{ g l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ Respectivement). Une élimination partielle des nitrates a été notée pour $[\text{KNO}_3]_0 = 5000$ ppm (59,27 %) (figure 38).

II. Etude du Méthanol comme source de carbone

II.1. Effet de la concentration initiale du Méthanol

Nous avons refait les expériences précédentes on utilisant le méthanol comme source de carbone, on a obtenus les résultats suivants :

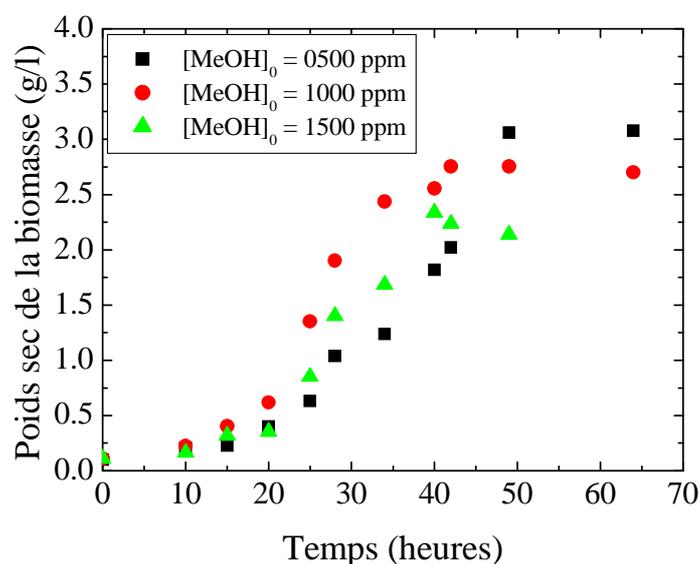


Figure 39 : Evolution de la croissance bactérienne avec la concentration initiale du Méthanol

Concernant la croissance bactérienne (figure 39), on a une phase de latence, après commence une phase de croissance exponentielle du nombre de microorganismes responsables de la dégradation et en fin une stagnation. L'augmentation de la concentration initiale du méthanol entraîne une diminution de la concentration finale des microorganismes. Les performances de dégradation des microorganismes ainsi que l'homogénéité de la solution diminuent rapidement à partir d'une concentration en méthanol de 1500 ppm.

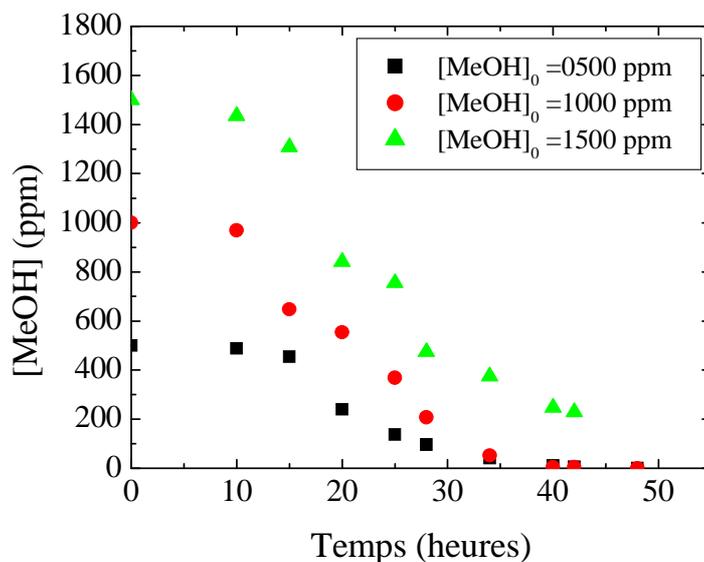


Figure 40 : Effet de la concentration initiale du Méthanol sur sa dégradation

La croissance bactérienne est accompagnée d'une dégradation proportionnelle du méthanol (figure 40). Pour toutes les concentrations testées, on a observé une variation linéaire de la concentration en méthanol après le temps de latence avec des vitesses moyennes de dégradation $0,018$, $0,038$, $0,044 \text{ g l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ pour les concentrations 500, 1000, 1500 ppm respectivement, puis les vitesses diminuent jusqu'à la disparition totale du méthanol pour $[\text{MeOH}]_0 = 500, 1000 \text{ ppm}$.

II.2. Influence de l'oxygène

Pour évaluer le rôle de l'oxygène dans le mécanisme de la dégradation du méthanol et de la capacité de dénitrification des microorganismes, deux types de cultures ont été utilisés. Dans le premier cas, nous avons obtenus une culture anoxie par bullage des milieux avec de l'azote. Dans le second cas, un simple barbotage avec l'oxygène nous a permis d'obtenir une culture aérobie.

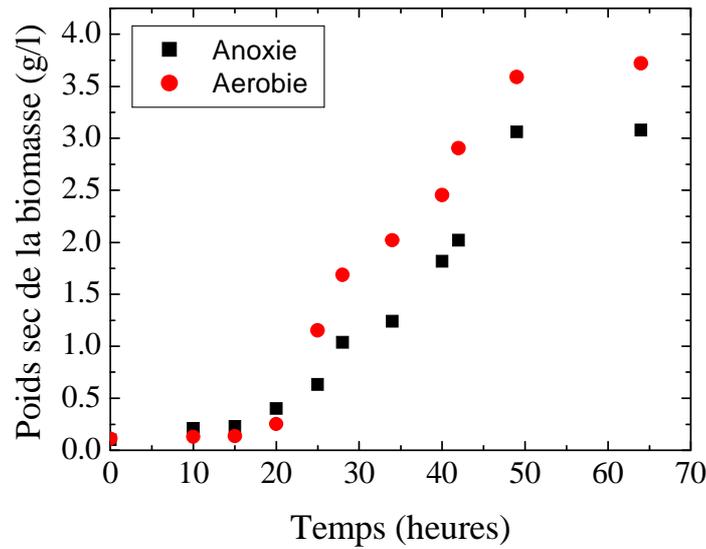


Figure 41 : L'effet de l'oxygène sur la croissance bactérienne en fonction du temps

La figure 41 montre l'évolution de la masse bactérienne pendant les cultures anoxiques et aérobiques avec le méthanol comme source de carbone. Durant la phase de latence, on observe que la concentration bactérienne pendant la culture en aérobie est inférieure à celle de l'anoxie, ceci s'explique par le fait que les cellules anoxiques s'adaptent à leur nouvel environnement (présence d'oxygène), une fois les enzymes aérobiques sont synthétisés, le taux de croissance et le rendement en biomasse en présence d'oxygène et de nitrate est supérieur à celui observé avec le nitrate seul (anoxie).

$$\text{Aérobie : } \Delta X = 3,6102 \text{ g/l} \quad \mu_{\max} = 0,055 \text{ h}^{-1} \quad Y = 7,4404$$

$$\text{Anoxie : } \Delta X = 2,976 \text{ g/l} \quad \mu_{\max} = 0,053 \text{ h}^{-1} \quad Y = 6,1532$$

Ces observations permettent de suggérer que la consommation de l'oxygène et de nitrate beaucoup plus d'énergie que la consommation de nitrate seul pour une même quantité de carbone oxydé [Stouthamer. A, 1988].

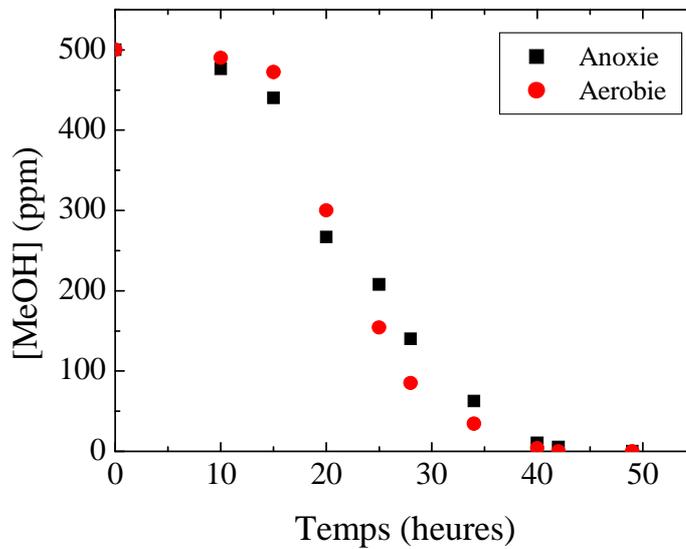


Figure 42 : Effet de l'oxygène sur la dégradation du Méthanol en fonction du temps

Les essais réalisés en milieu saturé en oxygène et en milieu désoxygène ont montré une importance secondaire de la présence de l'oxygène sur la dégradation du méthanol. Une dégradation totale du méthanol a été observée pour chaque cas de culture au bout de 40 heures. Cependant la dégradation du Méthanol en milieu aerobique est plus rapide ($v_{\text{moy}} = 0,026 \text{ g l}^{-1} \text{ h}^{-1}$) par rapport a celle en anoxie ($v_{\text{moy}} = 0,015 \text{ g l}^{-1} \text{ h}^{-1}$) figure 42.

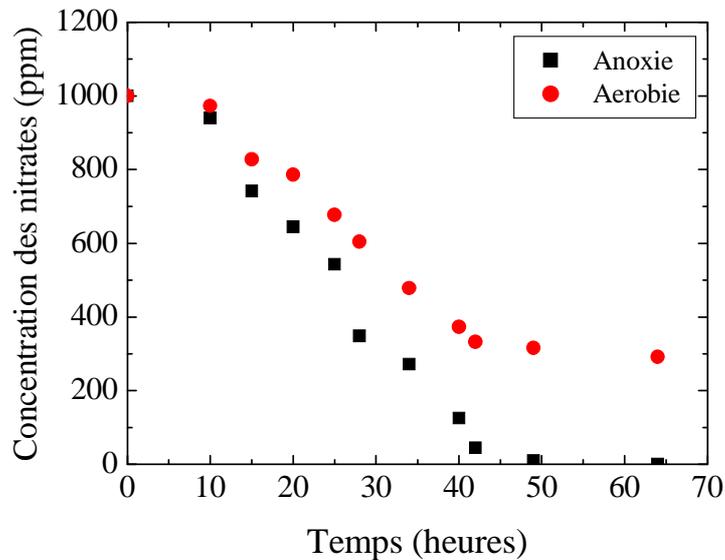


Figure 43 : Dénitrification aérobie et anoxie en fonction du temps de traitement

Les processus biologiques de la dénitrification hétérotrophe, mettent en jeu des réactions d'oxydoréduction : réduction des nitrates en azote gazeux et oxydation du substrat organique. La présence d'oxygène ne semble pas inhiber la dénitrification. Cependant la dénitrification anaérobie plus efficace et conduite à la disparition complète de nitrate par rapport à la dénitrification aérobie (figure 43).

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].

II.3. Influence de la concentration initiale des nitrates

Afin de déterminer l'effet de l'accepteur d'électrons sur la croissance bactérienne et la vitesse de la réaction de la dénitrification et la dégradation du méthanol, les bactéries ont été inoculées et cultivées dans des milieux de cultures contenant différentes concentrations initiales de nitrates.

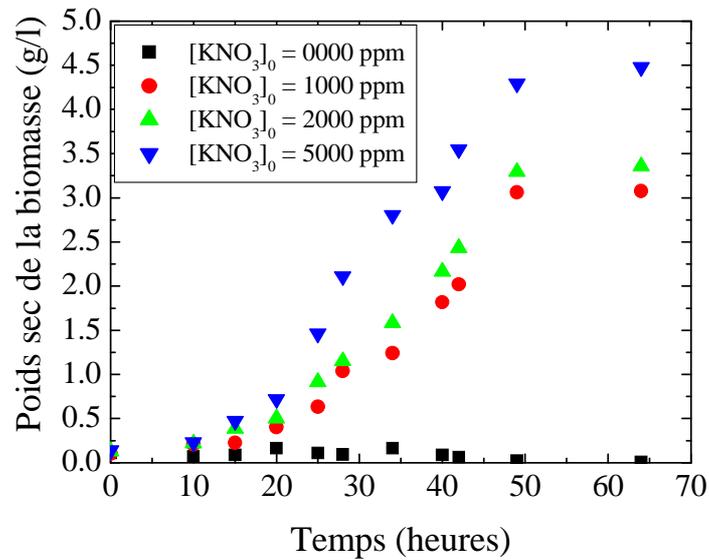


Figure 44 : Evolution de la croissance bactérienne avec la concentration initiale des nitrates

La figure 44 montre avec toutes les concentrations initiales testées des nitrates que la croissance bactérienne évolue dans des étapes similaires. L'augmentation de la concentration initiale de nitrate entraîne une augmentation de la concentration finale des microorganismes. Cependant, l'absence des nitrates n'a entraîné aucune croissance bactérienne.

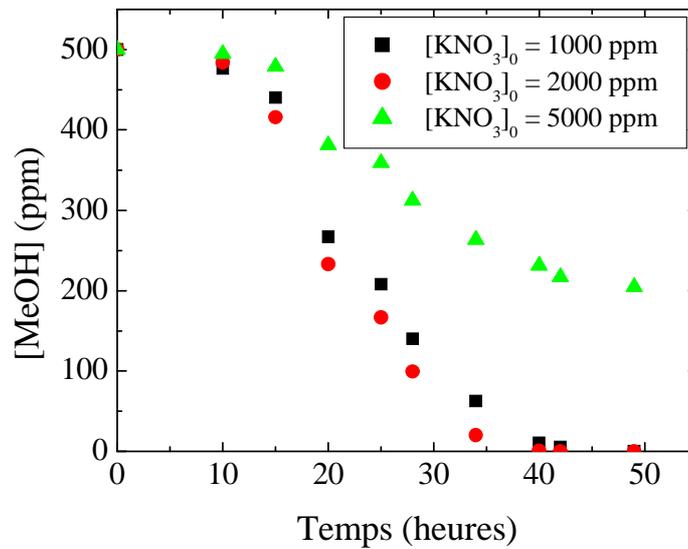


Figure 45 : Effet de la concentration initiale de nitrate sur la dégradation du méthanol

La figure 45 montre une dégradation linéaire du Méthanol pour toutes les concentrations initiales de nitrate testées. Cependant, la dégradation du Méthanol avec $[KNO_3]_0 = 2000$ ppm est plus rapide ($v_{moy} = 0,020 \text{ g l}^{-1} \text{ h}^{-1}$) par rapport a $[KNO_3]_0 = 1000$ ppm ($v_{moy} = 0,018 \text{ g l}^{-1} \text{ h}^{-1}$), mais elle conduite a la disparition complète du substrat carbone pour les deux cas. Pour $[KNO_3]_0 = 5000$ ppm une dégradation partielle a été observée jusqu'à 59,04%.

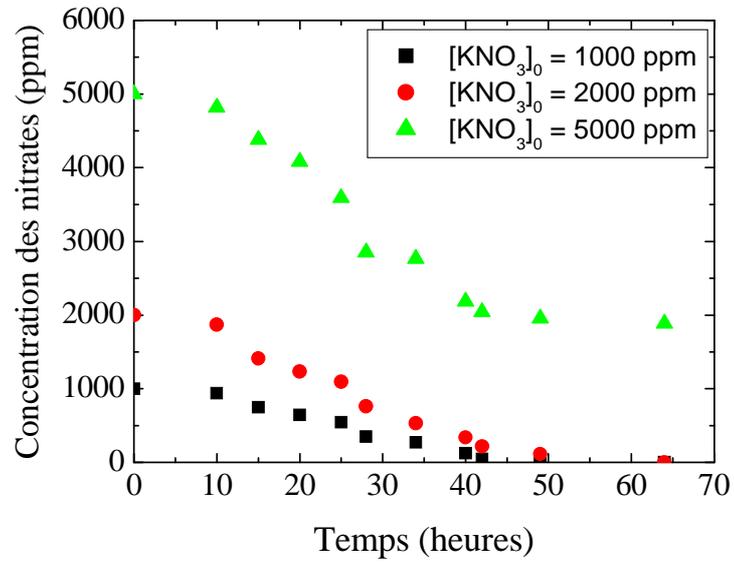


Figure 46 : Effet de la concentration initiale des nitrates sur la dénitrification

La figure 46 où est représenté l'évolution de la concentration des nitrates en fonction du temps de traitement montre une réduction complète et rapide de nitrate avec $v_{\text{moy}} = 0,025 \text{ g l}^{-1} \text{ h}^{-1}$, $0,046 \text{ g l}^{-1} \text{ h}^{-1}$ pour $[\text{KNO}_3]_0 = 1000, 2000 \text{ ppm}$ respectivement au bout de 49 heures. Pour $[\text{KNO}_3]_0 = 5000 \text{ ppm}$, la dénitrification s'arrête après 50 heures de traitement. La concentration des nitrates est alors de 1885,5 ppm. Ce qui donne un taux de dénitrification de 62,29%.

III. Etude d'un mélange tampon d'acide acétique et d'acétate de sodium comme source de carbone

III.1. Effet de la concentration initiale d'un mélange tampon d'acide acétique et d'acétate de sodium

Le pH optimal pour une réaction de dénitrification est généralement compris entre 7 et 8 [Casey.T.J, 1997]. Afin d'éviter l'évolution du pH de notre milieu réactionnel nous avons utilisé un mélange tampon d'acide acétique et d'acétate de sodium comme source de carbone. Ceci eu pour effet l'augmentation du rendement de la réaction de dénitrification.

Pour le test de la source de carbone, nous avons fait varier la concentration initiale du mélange d'acide acétique et d'acétate de sodium de 500, 1000, 1500 ppm.

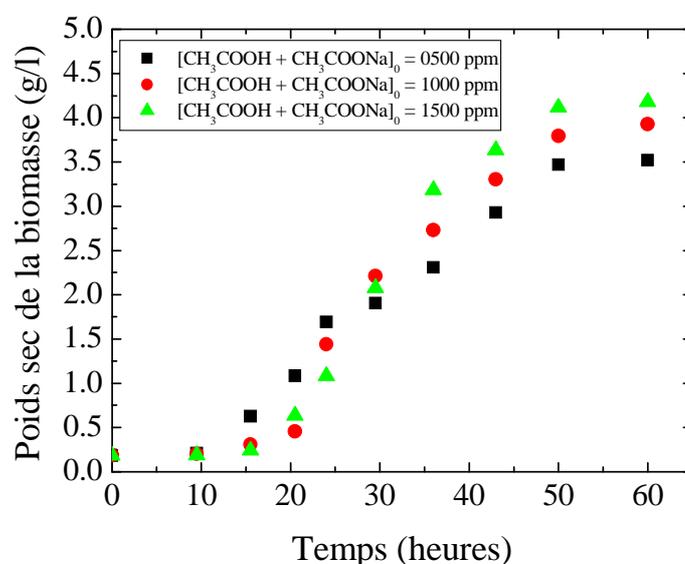


Figure 47 : Evolution de la croissance bactérienne avec la concentration initiale du mélange d'acide acétique et d'acétate de sodium

Avec toutes les concentrations, une quantité de la biomasse produite a été observé, ceci s'explique par la capacité des microorganismes à métaboliser le substrat carboné et aussi le pouvoir de réduire le nitrate avec un temps de séjour différent. Pour une concentration initiale

du mélange d'acide acétique et d'acétate de sodium égale 1500 ppm au bout de 60 heures on a observé une quantité plus importante de biomasse par rapport aux autres concentrations (figure 47).

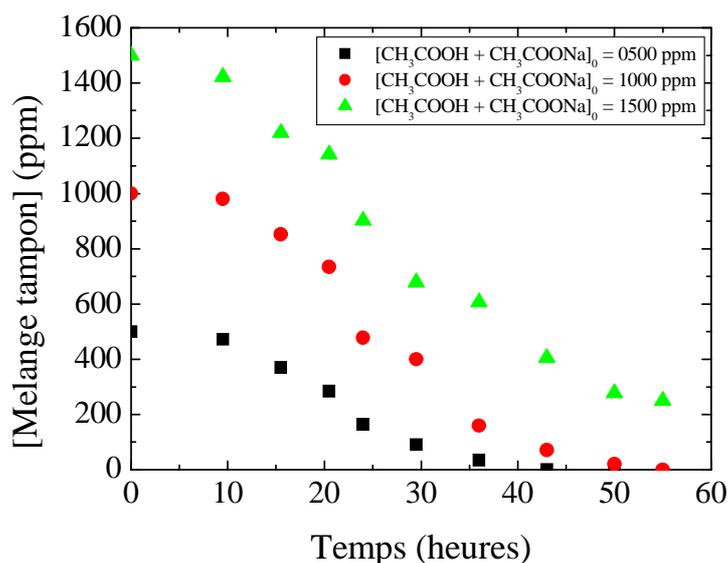


Figure 48 : déclin de la concentration du mélange d'acide acétique et d'acétate de sodium en fonction du temps

La croissance bactérienne est accompagnée d'une dégradation proportionnelle du mélange d'acide acétique et d'acétate de sodium (figure 48). Une dégradation totale de la source de carbone pour les concentrations 500 et 1000 ppm avec des vitesses moyennes 0,020 et 0.032 g l⁻¹h⁻¹ respectivement. Pour 1500 ppm de la source de carbone, on a observée une dégradation partielle jusqu'à 83,36 %.

III.2. Influence de l'oxygène

Deux types de cultures ont été utilisés (anoxique, aérobie) pour tester l'effet de l'oxygène sur l'évolution de la croissance bactérienne et la cinétique de dénitrification et la dégradation de la source de carbone.

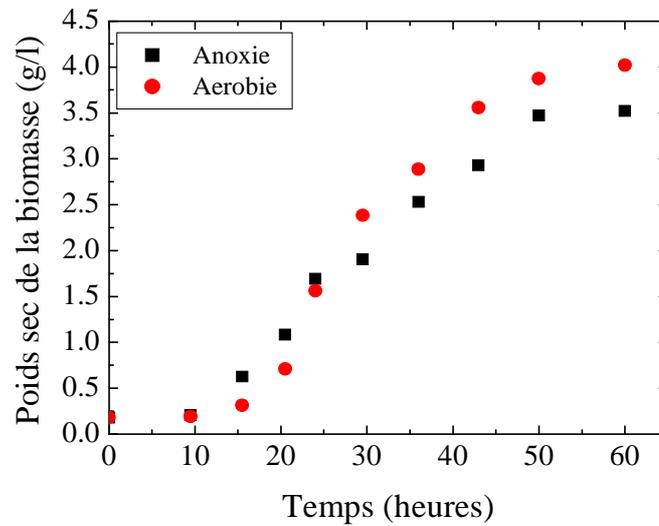


Figure 49 : Effet de l'oxygène sur la croissance bactérienne en fonction du temps

La figure 49 montre que le taux de croissance et le rendement en biomasse en présence d'oxygène et de nitrate ($\mu = 0,071 \text{ h}^{-1}$, $y = 8,04$) est supérieur a celui observe avec le nitrate seul ($\mu = 0,044 \text{ h}^{-1}$, $y = 7,04$)

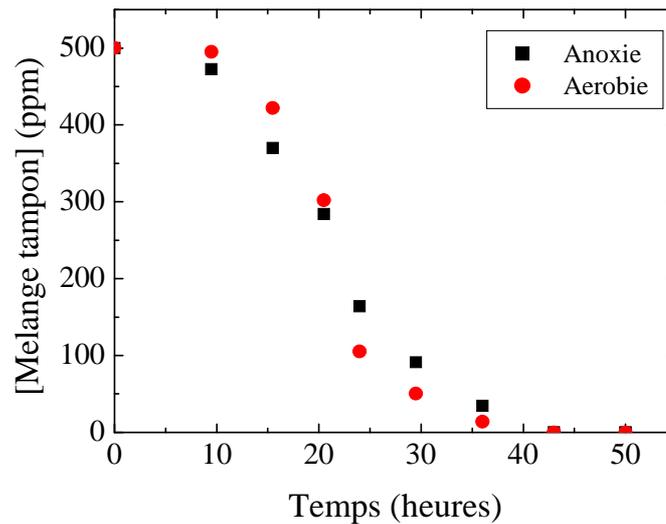


Figure 50 : Effet de l'oxygène sur la dégradation du mélange d'acide acétique et d'acétate de sodium en fonction du temps

Une dégradation complète de la source de carbone a été observée pour les deux cas de culture (figure 50). Dans l'aérobiose, la source de carbone continue à disparaître même après l'inhibition des nitrates avec une vitesse moyenne ($v_{\text{moy}} = 0,028 \text{ g l}^{-1}\text{h}^{-1}$) supérieure par rapport en anaérobiose ($v_{\text{moy}} = 0,021 \text{ g l}^{-1}\text{h}^{-1}$).

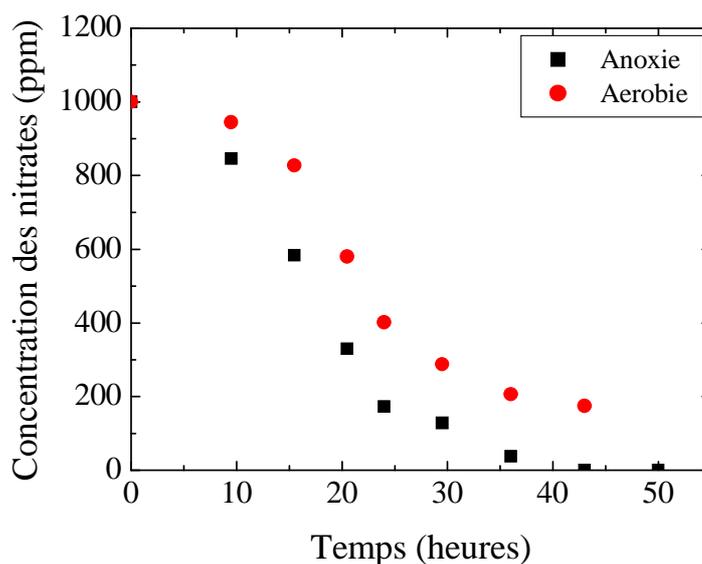


Figure 51 : Evolution de la dénitrification en présence de l'oxygène en fonction du temps de traitement

Une diminution linéaire des nitrates et aboutissant à leur consommation totale en anoxie (figure 51). Par contre, en aérobiose la vitesse de réduction des nitrates augmente faiblement jusqu'à l'inhibition avec un taux de réduction des nitrates égale à 82,56 %.

On conclut que la vitesse spécifique de consommation du nitrate diminue avec l'aération et que le taux de dénitrification est toujours supérieur en anaérobiose par rapport à l'aérobiose. L'oxygène réprime partiellement l'activité ou la synthèse des enzymes dénitrifiants.

III.3. Influence de la concentration initiale des nitrates

Des milieux de cultures contenant différentes concentrations initiales des nitrates 0, 1000, 2000, 5000 ppm ont été inoculées avec une culture mixte.

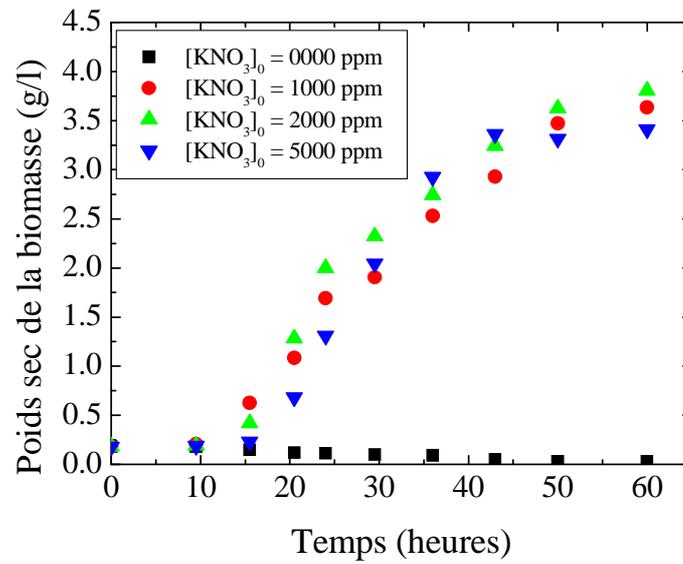


Figure 52 : Evolution de la croissance bactérienne avec la concentration initiale de nitrate en fonction du temps de traitement

L'augmentation de la concentration initiale des nitrates entraîne une légère augmentation de la biomasse sauf pour $[KNO_3]_0 = 5000$ ppm ou semble peu convenable (figure 52). L'absence des nitrates n'a entraîné aucune croissance bactérienne.

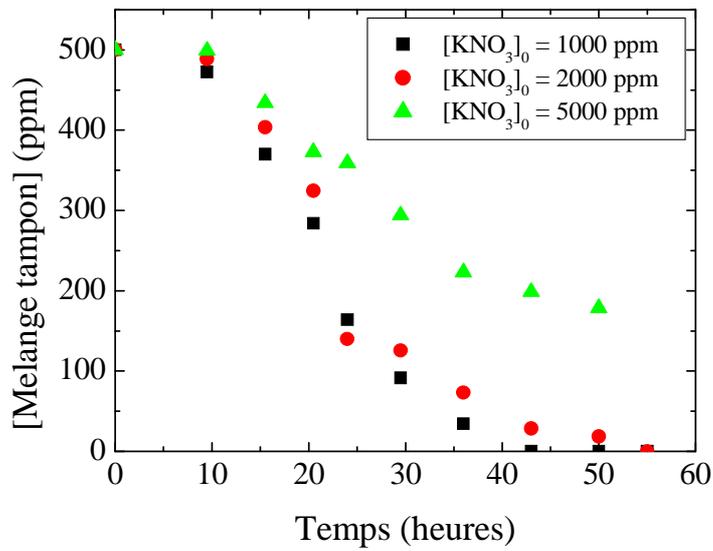


Figure 53 : déclin de la concentration du mélange d'acide acétique et d'acétate de sodium en fonction du temps

Avec toutes les concentrations initiales des nitrates, la dégradation de la source de carbone évolue presque de façon identique. Pour $[\text{KNO}_3]_0 = 1000, 2000$ ppm une disparition complète du substrat carbone. Cependant, pour $[\text{KNO}_3]_0 = 5000$ ppm une dégradation partielle qui a été observée jusqu'à 64,3 % (figure 53).

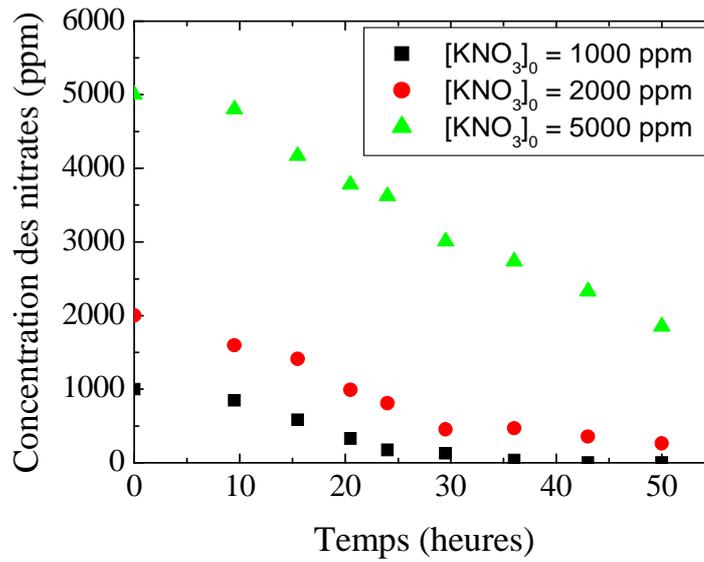


Figure 54 : Effet de la concentration initiale des nitrates sur la dénitrification

Une élimination complète des nitrates a été observée pour $[KNO_3]_0 = 1000$ ppm (figure 54). Le petit taux de dénitrification a été noté avec $[KNO_3]_0 = 5000$ ppm (64,16 %) par rapport $[KNO_3]_0 = 2000$ ppm 92,47 %.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La pollution de l'eau par les nitrates en Algérie et dans le monde, a été favorisée par la mise en place de méthodes de production agricole intensives, qui s'est traduite par une utilisation accrue des engrais chimiques. L'essentiel de cette pollution est dû à la différence entre les apports en nitrates sous formes d'engrais par rapport à ce qui est réellement consommé par les plantes. Le long des années la concentration des nitrates augmente dans les eaux exposées à ce type de pollution. Une des conséquences de cette augmentation est l'eutrophisation.

Les polluants chimiques, comme les composés organiques volatils posent de graves problèmes de salubrité des eaux, leur élimination est toujours difficile. Les techniques de traitement des COV utilisées jusqu'à maintenant tel que la photodégradation, la combustion, l'évaporation, la destruction par oxydation catalytique, le traitement par absorption sur charbon actif et la séparation par l'utilisation de membranes sélectives demandent une grande technicité et un coup d'exploitation assez important.

Les procédés biologiques, de plus en plus utilisés pour l'épuration des eaux usées, n'ont été pris au sérieux que récemment pour le traitement des composés azotés et carbonés. Ces procédés présentent l'avantage de la simplicité de leurs installations ainsi que leurs coût d'exploitation réduit.

Notre travail a porté à la fois sur l'étude de la dénitrification et la biodégradation des composés organiques par l'utilisation d'une culture mixte prélevées dans la station d'épuration d'El Menia Constantine en réacteur batch. Par ailleurs, nous avons étudié l'influence de quelques paramètres physico-chimiques qui peuvent avoir un effet accélérateur ou inhibiteur sur la réaction de dénitrification.

Les expériences que nous avons réalisées ont mit en évidence les points suivants :

- La dénitrification hétérotrophe élimine non seulement les nitrates mais permet également d'éliminer la source de carbone utilisée lors de ce traitement.

- La cinétique de croissance commence par une phase de latence suivie d'une phase de croissance exponentielle et se termine par une stagnation après la disparition du polluant.
- La capacité des microorganismes (culture mixte prélevée dans la station d'épuration d'El Menia Constantine) a métabolisé le substrat carboné (Méthanol, MEK, mélange d'acide acétique et d'acétate de sodium) et a le pouvoir de réduire les nitrates.
- La vitesse de dénitrification varie avec la nature de la source de carbone et la capacité des microorganismes. Cette vitesse a métabolisé cette source de carbone avec une plus grande efficacité d'élimination des nitrates.
- L'augmentation de la concentration initiale de la source de carbone a eu une influence sur le temps de latence.
- L'augmentation de la concentration initiale de la MEK et du MeOH entraîne une augmentation du temps de latence et une diminution de la concentration finale des microorganismes. A partir de 2000 ppm, respectivement de 1500 ppm, de la MEK, respectivement du MeOH, la distribution des microorganismes n'est plus uniforme et leurs performances de dégradation sont diminuées.
- Le méthanol, la méthyléthylcétone et le mélange d'acide acétique et d'acétate de sodium sont des sources de carbone assimilables par les microorganismes (biodégradation). Cependant, le mélange d'acide acétique et d'acétate de sodium est consommé préférentiellement par rapport au méthyléthylcétone et au méthanol pour réduire les nitrates.
- Les microorganismes utilisés présentent des capacités de dénitrification et peuvent croître en présence ou en absence d'oxygène.
- L'utilisation simultanée de l'oxygène et du nitrate augmente le rendement en biomasse par rapport en anoxie. En effet les cellules anoxiques ont un temps de latence plus ou moins long pour qu'elles s'adaptent à l'environnement aérobie, une fois les enzymes aérobiques sont synthétisés le rendement en biomasse augmente rapidement.
- L'utilisation des nitrates seuls produit moins d'énergie que l'utilisation conjointe d'oxygène et des nitrates.

- L'oxygène joue un rôle important dans le comportement de la biodégradation de la source de carbone (Le méthanol, la méthyléthylcétone et le mélange d'acide acétique et d'acétate de sodium).
- La dégradation de la source de carbone en aérobie est plus rapide par rapport en anoxie même après l'inhibition de réduction des nitrates.
- La vitesse de dénitrification était plus importante en milieu anoxie qu'en milieu aérobie, car l'oxygène réprime partiellement l'activité ou la synthèse des enzymes dénitrifiant.
- Une réduction complète des nitrates en milieu anoxique avec les trois sources de carbone. Cela confirme que la dénitrification est un procédé anaérobie, qui utilise l'oxygène des nitrates pour oxyder la matière organique.
- On conclut 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.
- L'augmentation de la concentration initiale des nitrates augmente le rendement de la biomasse avec les trois sources de carbones testés.
- La vitesse de dénitrification et de la biodégradation augmente avec l'augmentation de la concentration initiale des nitrates et conduit à la disparition totale des nitrates et du substrat carboné. Cependant, au-delà $[KNO_3]_0 = 2000$ ppm, une dénitrification et biodégradation partielle qui a été notée.

A la fin de notre travail nous proposons les recommandations suivantes pour une bonne préservation du milieu récepteur aquatique :

- protéger et sauvegarder les ressources en eau avant qu'elles ne soient contaminées. En effet, les techniques de décontamination des nappes polluées sont longues, coûteuses et ne permettent pas de restaurer une bonne potabilité des eaux.
- supposer l'existence des stations d'épuration à côté des barrages. Le traitement biologique des eaux polluées se fait dans ces dernières, les bactéries et les boues produites seront décomptées dans les stations et seule l'eau traitée retournera dans les barrages.

- Des interventions s'imposent pour remédier à la pollution des eaux, par l'établissement de normes nationales et l'installation des stations de traitement des eaux pour toutes les zones industrielles.
- Contrôler l'utilisation des engrais pour l'agriculture.
- La mise en place d'actions efficaces d'ici 2009 pour atteindre le bon état écologique en 2015. Car la pollution actuelle des nappes souterraines provient d'une vingtaine d'années d'épandage d'engrais.
- Une régulation et une réduction de l'émission des COV dans l'atmosphère, soit à la source par une approche 'procédés propres' en réduisant l'utilisation des COV dans les procédés industriels, soit à l'émission par la mise en œuvre de procédés curatifs.

Références Bibliographiques

Abdelbaki. C. et F. Boukli Hacène. (2007). Etude du phénomène de dégradation des eaux souterraines du groupement urbain de Tlemcen. *Revue des Energies Renouvelables* Vol. 10 N°2. 257 – 263.

Afnor. 1995. Association française de normalisation. Recueil des normes françaises. Eaux-Méthodes d'essais. 6^e édition. Paris

Bannoud .A. H. (2001). Elimination de la dureté et des sulfates contenus dans les eaux par nanofiltration. *Desalination*, 137(1-3): p. 133-139.

Bandpi. M.A, Elliott. D.J. (1996). Nitrate removal from groundwater using an anoxic-aerobic rotating biological contactor, *Water Sci Technol* 34 (1-2), pp. 323-330.

Bencer. S. (2005). Etat actuel des ressources hydriques de la plaine de Ain Djacer et estimation de la qualité chimique des eaux souterraines. Batna-Algérie. Mém. Magis. Univ. Batna.

Benmani. K et coll. (1995). Pollution des eaux par les nitrates en Algérie. 2^{ème} colloque national climat et environnement. Oran.

Berland. J.-M and Juery. C.(2002). les procédés membranaires pour le traitement de l'eau. ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et des affaires rurales, http://www.fndae.fr/documentation/numero_14.htm.

Billaut C.; 1989, le rôle épurateur du sol, tome 2, l'évolution des polluants dans le sol, Afee (Association française pour l'étude des eaux), étude de synthèse.

Boley.A, Mergaert.J, Müller.C, Lebrez. H, Cnockaert. M.C. and Müller.W.R.et al.(2003). Denitrification and pesticide elimination in drinking water treatment with the biodegradable polymer poly(epsilon-caprolactone) PCL, *Acta Hydrochim Hydrobiol* 31 (3), pp. 195-203.

Boudoukha. A, Bencer.S, Lahbari. N, Tiri. A, Bouguerne. A. (2006). Caractérisation de la pollution urbaine et industrielle et interaction eau de surface-eau souterraine dans un sous bassin versant de l'est Algérien (cas de la région de Batna). Projet de recherche, code : F : 0501/11/2006. Laboratoire de recherche en hydraulique appliqué. Université de Batna. Algérie.

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.

Boutin. P. (1986). Eléments pour une histoire des procédés de traitement des eaux résiduaires, *Trib. Cebedeau*, 511-512, 39, p.3-18

Bouziati. M.(2000). L'eau de la pénurie aux maladies. Editions IBN-KHALDOUN. ISBN : 9961-71-071-1.

Braida W. and Ong. S. K., (2000). Modeling of air sparging of VOC-contaminated soil ins, *Journal of Contaminant Hydrology*, 41, (3-4), 385-402.

Canler J.P., Perret J.M. (1993) La biofiltration : évaluation du procédé sur 12 installations, *Conf. Spec. sur les réacteurs à culture fixée*, Paris, p.187-195

Canler J.P., Durand C., Perret J.M. (1996) Efficacité des biofiltres vis-à-vis de l'azote, *Colloque Traitement de l'Azote*, Cemagref, Lyon, Pollutec 96, p.39-52

Casella. I. G and Gatta. M. (2004). Electrochemical reduction of NO_3^- and NO_2^- on a composite copper thallium electrode in alkaline solutions. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 568: p. 183-188.

Casellas M, Dagot C, 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.

Casey.T.J.(1997). Unit Treatment Processes in Water and Wastewater Engineering, John Wiley & Sons, Chichester (1997) pp. 166-170.

Centeno, M.A. et al. (2005). Catalytic combustion of volatile organic compounds on gold/titanium oxynitride catalysts, *Applied Catalysis B: Environmental*, , 61 (3-4), 177-183

Chabour. N. (1993). Contribution à l'étude hydrodynamique des aquifères karstiques de la région de Ain Djacer. Batna. Algérie. Mém. Magis. Univ. Batna.

Chen, F. et al. (2002). Kinetics and mechanisms of UV-photodegradation of chlorinated organics in the gas phase, *Water Research* , 36 (17), 4203-4214

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

Coleman KJ, Cornish-Bowden A, Cole JA.(1978). Purification and properties of nitrite reductase from *Escherichia Colis* K 12. *Biochemical Journal*. 175, 483-493.

Cooper AB, (1994). Coupling wetland treatment to land treatment - An innovative method for nitrogen stripping. *Water Science and Technology*. 29(4):141-149.

Cooper. CM. (1993). Biological effects of agriculturally derived surface water pollutants on aquatic systems. A review. *J Environ Qual*; 22: 402-8.

Dégé, P. et al.(2001). Catalytic oxidation of volatile organic compounds (VOCs). Oxidation of *o*-xylene over Pd and Pt/HFAU catalysts, *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series IIC - Chemistry*, 4 (1), 41-47

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.

Derradji. F, Bousnoubra. H, Kherici. N, Romeo. M, Caruba. R. (2007). Impact de la pollution organique sur la qualité des eaux superficielles dans le Nord-Est algérien. *Science et changements planétaires / Sécheresse*. Vol. 18, N°1. 23-7.

Derradji. F, Khérici. N, Roméo. M, Caruba. R. (2004). Aptitude des eaux de la vallée de la Seybouse à l'irrigation (Nord-Est algérien). *Sécheresse* ; 15 : 353-60.

Djabri L. (1996). Mécanisme de la pollution et vulnérabilité des eaux de la Sybouse. Origines géologiques, industrielles, agricoles et urbaines. Thèse de doctorat d'État, université d'Annaba, : 128–32.

Dubray, A. et al. (2004). Mass transfer phenomena during sorption of hydrophilic volatile organic compounds into aqueous suspensions of activated carbon, *Separation and Purification Technology*, 38 (3), 215-223

Dupain.S. (1992). Dénitrification biologique hétérotrophe appliquée au traitement des eaux d'alimentation: conditions de fonctionnement et mise au point d'un procédé. Thèse de doctorat d'Ecologie Microbienne de l'Université Claude Bernard, Lyon I,p281.

Edouard, D. et al. (2005). Control of a reverse flow reactor for VOC combustion, *Chemical Engineering Science*, 60 (6), 1661-1672

Edwards F. G. and Nirmalakhandan N., (1996). Biological treatment of airstreams contaminated with VOCs: an overview, *Water Science and Technology*, 34, (3- 4), 565- 571.

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

Foo S. C., (1991). Benzene pollution from gasoline usage, *The Sci. Total Environ.*, 181, 5993-6002.

Frarès .N. B, Taha .S and Dorange .G.(2005). Influence of the operating conditions on the elimination of zinc ions by nanofiltration. *Desalination*, 185(1-3): p. 245-253.

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

Gee CS, Kim JS. Nitrite accumulation followed by denitrification using sequencing batch reactor. *Water Science and Technology*. 2004; 49(5-6):47-55.

Germonpre .R (1983) Etude des divers possibilités d'élimination des nitrates dans les eaux de surface . *La Technique de l'eau et l'assainissement* N⁰ 440/441 P7–24

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

Goudot. S and Tap. J. les nitrates. IUP biotechnologique et bio-industrie spécialité sécurité alimentaire et contrôle qualité. mémoire bibliographique.

http://www.cnrs.fr/cw/dossiers/doseau/decouv/degradation/07_pollution.htm.

Gouy J.L, Berge P, Labroue L. (1984). “Gallionella ferruginea”, Facteur de dénitrification dans les eaux pauvres en matières organiques, *C. R. Acad. Sci. Paris*, 298, III, 6, pp. 153-156.

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

Heymes F., (2004), Traitement d'air chargé en COV hydrophobes par un procédé hybride: absorption - pervaporation. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II.

Huang.H.K and Tseng.S.K. (2001). Nitrate reduction by *Citrobacter diversus* under aerobic environment. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55 , pp. 90-94.

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

Jorio H. and M. Heitz. (1999), Traitement de l'air par biofiltration, *Can. J. Eng.*, 26, (4), 402-424.

Kapoor. A, Viraraghavan. T. (1997). Nitrate removal from drinking – review, *J Environ Eng* 123 (4), pp. 371-380.

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*, 52(3): p. 1329-1338.

Kim. Y.S., Nakano. K., Lee .T.J, Kanchanatawee. S and Matsumura. M. (2002). On-site nitrate removal of groundwater by an immobilized psychrophilic denitrifier using soluble starch as a carbon source. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 93(3): p. 303-308.

Lalanne.F. (2006). Etude des potentialités du lavage biologique pour le traitement d'un mélange complexe de composés organiques volatils. Thèse de Doctorat. Université de Pau et des Pays de l'Adour. P316.

Lauwerys R., (1992). Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles. 3^{ème} édition, Masson, Paris.

Le Cloirec P., (2004). COV (composés organiques volatils), <http://www.techniquesingenieur.fr/affichage>.

Lee, S.C., Wang, B. (2006). Characteristics of emissions of air pollutants from mosquito coils and candles burning in a large environmental chamber, *Atmospheric Environment*, , 40 (12) , 2128-2138

Levesques L, (1982). Elimination des nitrates des eaux potables. Mise à jour de l'étude de synthèse AFEE, 266 p.

Levesque L., (1976). Elimination des nitrates des eaux potables. Rapport de synthèse AFEE, 156 P.

Li. H, Parent LE, Karam A, Tremblay C., (2003), Efficiency of soil and fertilizer nitrogen in a humid, cool, and acid sod– potato system. *Plant Soil* ;251:23– 36.

Lind A.M. (1977) Nitrate reduction in the subsoil, *Progr.Wat. Techn.*, 8, pp. 119-128.

Liu MC, Peck HD, (1981). The isolation of a hexaheme cytochrome from *Desulfovibrio desulfuricans* and its identification of a new type of nitrite reductase. *Journal of Biological Chemistry*. 1981; 256, 13159-13164.

Liu, Y.-J. et al. (2006). Separation of gasoline vapor from nitrogen by hollow fiber composite membranes for VOC emission control, *Journal of Membrane Science*, 271 (1-2), 114-124

Louzeiro NR, Mavinic DS, Oldham WK, Meisen A, Gardner IS. (2002). Methanol-induced biological nutrient removal kinetics in a full-scale sequencing batch reactor. *Water Research*; 36(11):2721-2732.

Mansell. B. O and Schroeder. E. D. (1999). Biological denitrification in a continuous flow membrane reactor. *Water Research*, 33(8): p. 1845-1850.

Marie Odile RATEL (2002). Elimination des nitrates des eaux potables.

- Martin, G. (1979).** Le problème de l'azote dans les eaux (Techniques et Documentation ed.)
- Maurel. A.** Osmose inverse et ultrafiltration, considérations théoriques. Techniques de l'ingénieur. J 2 790: p. 1-19.
- Mayet. J. (1994).** La pratique de l'eau. Traitements aux points d'utilisation. Paris.
- Mergaert. J, Boley.A, Cnockaert. M.C, Müller. W.R.and Swings. J. (2001).** Identity and potential functions of heterotrophic bacterial isolates from a continuous- upflow fixed-bed reactor for denitrification of drinking water with bacterial polyester as source of carbon and electron donor System, Appl Microbiol 24 (2), pp. 303-310.
- Metcalf, Eddy. (2003).** Wastewater Engineering. McGraw-Hill, New-York.
- M.O. Ratel,** Elimination des nitrates des eaux potables. Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et des affaires rurales,
www.fndae.fr/documentation/PDF/fndaehs04bis.PDF.
- Moser-Engeler R, Udert KM, Wild D, Siegrist H. (1998).** Products from primary sludge fermentation and their suitability for nutrient removal. *Water Science and Technology*.; 38(1):265-273
- Okeke O., (1995),** Critical assessment of conventional and emerging VOC abatement technologies, dans: Proceeding Conference VOC's in the Environment, London, 3 -10.
- OMS. (1993).** Organization mondiale de la santé. Directives de qualité pour l'eau de boisson. Recommandations. 2^e édition, Geneve.
- Over. B, Ozgen. S, Yuksel. M. (2006).** Biological denitrification in drinking water using *Glycyrrhiza glabra* and *Arunda donax* as the carbon source. *Process Biochemistry*. 41 (7), pp. 1539-1544.
- Patureau. D. (1995).** Etude cinétique et physiologique d'une bactérie dénitrifiante en conditions aérobies. Suivi en réacteur aéré, parfaitement mélangé, en culture pure et en culture mixte associée à une flore nitrifiante. Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat, université de toulouse.
- Paugam. L, Taha. S, Cabon. J and Dorange. G.(2003).** Elimination of nitrate ions in drinking waters by nanofiltration. *Desalination*, 152(1-3): p. 271-274.

Portejoie 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.*, 15, 151-160.

Pujol R. (1991). L'épuration par biofiltration. Premiers constats, *Etude Inter Agences*, N°2, Cemagref, Paris, Lyon, 51 p.

Rodier. J. (1978). L'analyse de l'eau, sixième édition, © BORDAS, Paris 061 878 0212 ISBN 2-04-010037-7.

Rouabhia. A. (2001). Vulnérabilité des eaux souterraines d'une région semi-aride d'Algérie. Cas de la plaine d'El Ma El Abiod. Thèse de magister, université d'Annaba, 150 p.

Rouabhia. A, Baali. F, Kherici. N, Djabri. L. (2004). Vulnérabilité et risque de pollution des eaux souterraines de la nappe des sables miocènes de la plaine d'El Ma El Abiod (Algérie). *Science et changements planétaires / Sécheresse*. Vol 15, N 4. 347-52.

Schwartzbrod. J, & Martin. G. (1985). Les microorganismes, agents biogéochimiques, In : point sur l'épuration et le traitement des effluents. Tec . & doc. Lavoisier Ed., Paris, France, Vol. 2-1, pp. 1-45.

Seguret.F.M.(1998). Etude de l'hydrodynamique des procédés de traitement des eaux usées a biomasse fixée. Application aux lits bactériens et aux biofiltre. Université BordeauxI. N°1922. p 144.

Silvan N, Regina K, Kitunen V, Vasander H, Laine J., 2002, Gaseous nitrogen loss from a restored peatland buffer zone. *Soil Biol Biochem*; 34:721– 8.

Soares. M.I.M, A. Abeliovich. (1998). Wheat straw as substrate for water denitrification, *Water Res* 32 (12), pp. 379-385

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

Stouthamer, AH. (1988). Dissimilatory reduction of oxidized nitrogen compounds. In A. J. B. Zehnder (Eds.), *Biology of anaerobic Microorganisms* (pp. 245-303). New-York, John Wiley and sons.

Sutton PM, Murphy KL, Dawson RN. (1975). Low-temperature Biological denitrification of wastewater. *Journal of the Water Pollution Control Federation.*; 47 (1), 122-134.

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): p. 303-309.

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.

Van der Hoek K, W. (1998). Nitrogen efficiency in global animal production. *Environmental Pollution.*; 102, 127-132.

Wang .D.X, Su. M, Yu .Z, Wang .X, M. Ando and T. Shintani. (2005). Separation performance of a nanofiltration membrane influenced by species and concentration of ions. *Desalination*, 175(2): p. 219-225.

Wehbe.N. (2008). Denitrification de l'eau potable en reacteur catalytique membranaire et photocatalytique. These de doctorat. Universite Claude Bernard Lyon1. N°200-2008. P211.

Yapo O. B, Mambo V, Meledje Djedjess E. J-C, 2009. Searching for parameters optimising the biological denitrification of nitrate-and ammonium-rich well waters by private slow sand filtration reactors. *European journal of scientific research issn 1450-216x vol.26 no.4 (2009)*, pp.565-576

Yatong. X.(1996). Volatile fatty acids carbon source for biological denitrification, *J Environ Sci* 8 (3), pp. 257-269.

Zhu ZL. (2000), Loss of fertilizer N from plants –soil system and the strategies and techniques for its reduction. *Soil Environ*;9:1– 6 [in Chinese].

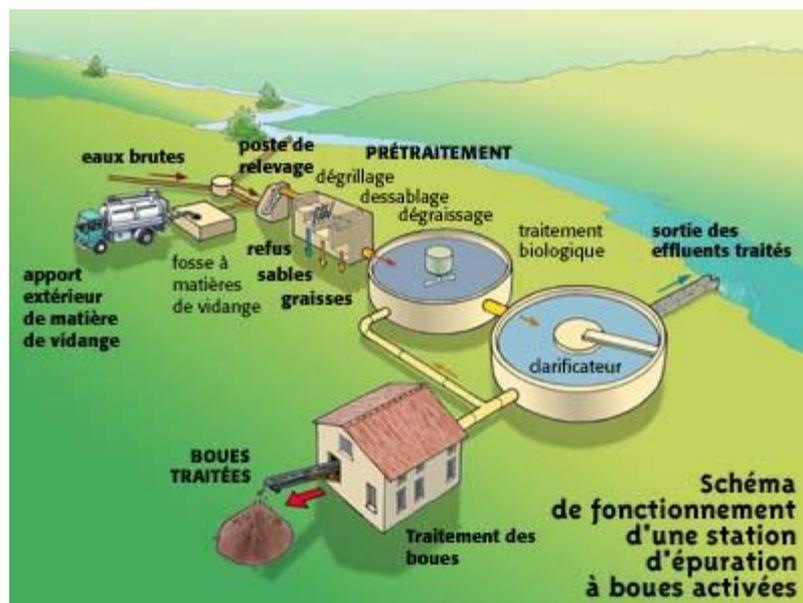
Zuo, G.-M. et al. (2006). Study on photocatalytic degradation of several volatile organic compounds, *Journal of Hazardous Materials*, , 128 (2-3), 158-163

Annexes

ANNEXE 1 : La station d'épuration d'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

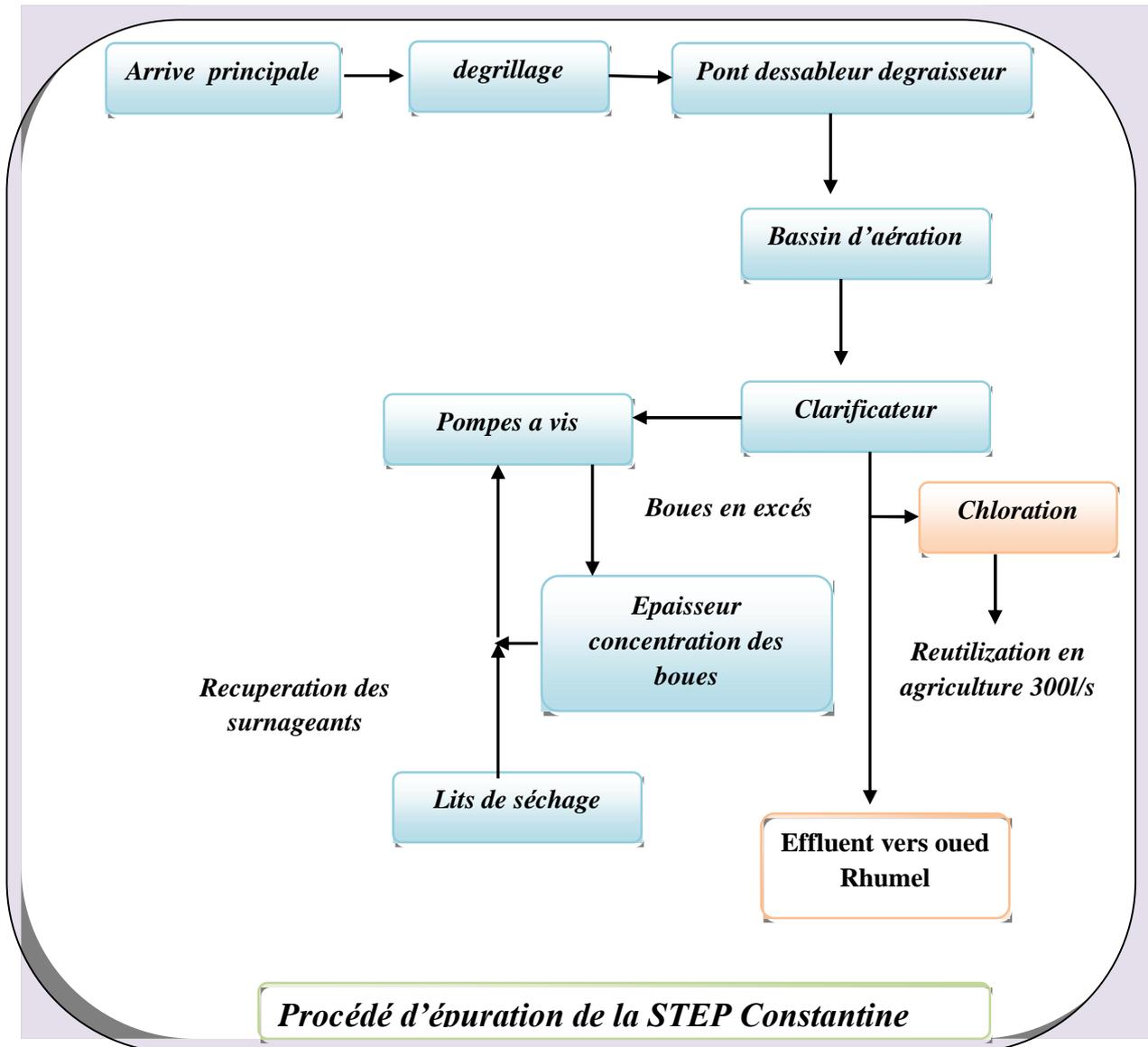
La station d'épuration des eaux usées de Constantine est située à 12 Km de la ville, dans la daïra de Hamma Bouziane, sur la route de Mila. Elle s'étend sur une superficie de 12 Hectares.

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 à l'aide de cribles à barreaux mécaniques.
2. Des canaux à 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 à 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

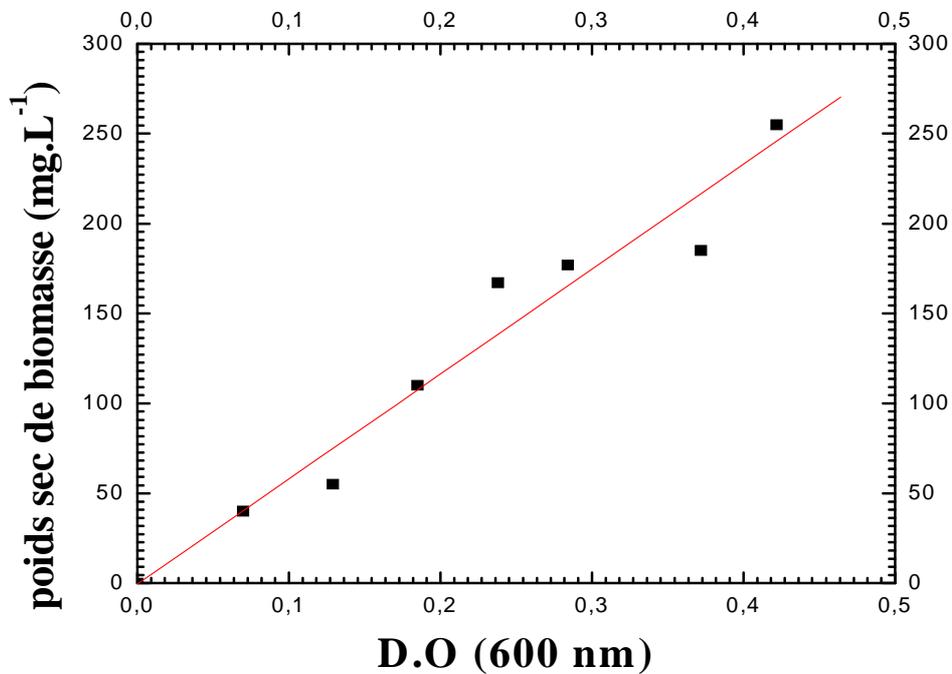


Annexe 2 : Relation entre la densité optique et l'extrait sec

La relation linéaire entre la D.O_(600 nm) et le poids sec correspondant de la biomasse suspendue :

$$\text{Poids sec (mg.L}^{-1}\text{)} = 0,00482 + 590.51879 \text{ D.O}_{(600 \text{ nm})}$$

Coefficient de corrélation R = 0.97731



Droite d'étalonnage de la biomasse

Annexe 3 : protocole de dosage des nitrates par colorimétrie

Méthode au salicylate de sodium

Principe

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosalicylate 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.....	<i>q.s.p.</i>	1000 mL

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

A conserver dans un flacon en polyéthylène.

- solution mère étalon d'azote nitrique à $0,1 \text{ g.L}^{-1}$:

nitrate de potassium anhydre.....	0,722	g
eau distillée.....	<i>q.s.p.</i>	1000 mL
chloroforme (pour conserver).....	1	mL

- Solution fille étalon d'azote nitrique à $0,005 \text{ g.L}^{-1}$.

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 des capsules	T	I	II	II	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 ⁻¹ d'azote nitrique	0	0,5	1	2,5	5
Solution de salicylate de sodium (mL)	1	1	1	1	1

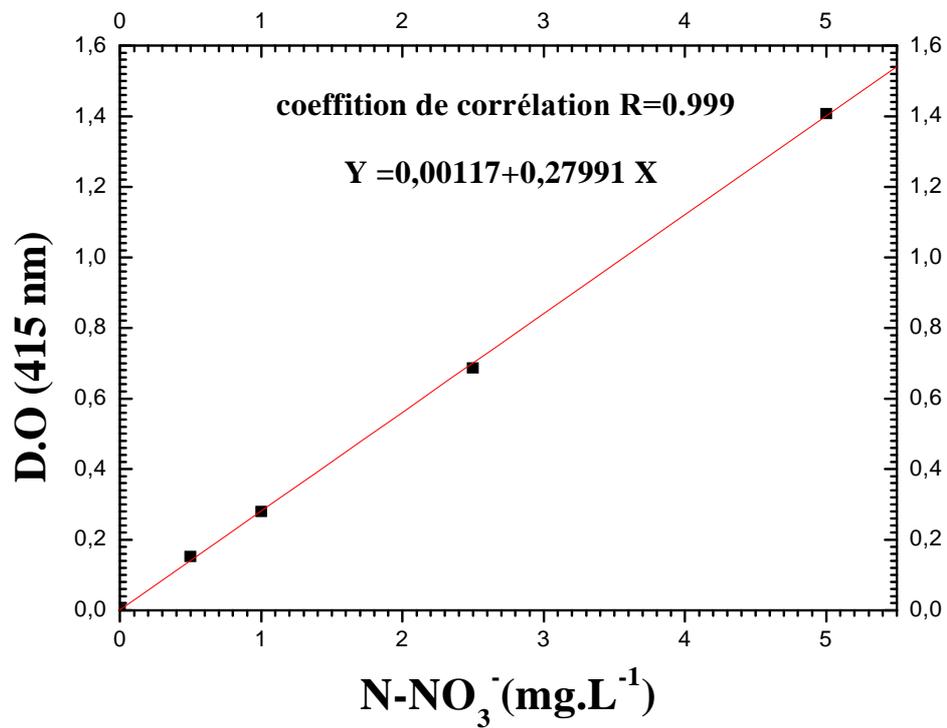
Evaporer à sec au bain-marie ou dans une étuve portée à 75-80°C (ne pas surchauffer, ni chauffer trop longtemps). Laisser refroidir. Reprendre le résidu par 2 mL d'acide sulfurique concentré en ayant soin de l'humecter complètement. Attendre 10 minutes, ajouter 15 mL d'eau bidistillée puis 15 mL de la solution d'hydroxyde de sodium et de 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 supérieurs à 10 mg.L⁻¹, opérer une dilution). Alcaliniser faiblement avec la solution d'hydroxyde de sodium. Ajouter 1 mL de solution de salicylate de sodium puis poursuivre le dosage comme pour 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.

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 10 mL, la courbe donne directement la teneur en azote nitrique exprimée en milligrammes par litre d'eau. Pour obtenir la teneur en nitrate (NO_3^-), multiplier ce résultat par 4,43.



Droite d'étalonnage du dosage des nitrates

Annexe 4 : La mesure de la demande chimique en oxygène

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 concentrés des matières organiques de l'échantillon et sur le dosage du chrome hexavalent résiduel.

L'intérêt de la DCO réside dans la facilité de mise en œuvre de la méthode, dans sa normalisation (AFNOR T90-101) et surtout dans l'échec relatif des méthodes instrumentales de substitution comme la demande totale en oxygène et le Carbone organique total.

Mode opératoire

Principe

Les méthodes proposées sur l'oxydation énergétique en milieu sulfochromique, avec une modification de la concentration en dichromate de potassium est un dosage spectrophotométrique de l'oxydant résiduel en fonction des caractéristiques spectrales des solutions.

Appareillage

- bloc chauffant à 150°C, à 16 postes, pouvant être remplacé par tout autre système équivalent capable de recevoir des tubes bouchés avec joint téflon

SVL 16 x 100.

- spectrophotomètre

- Pipette ou distributeurs de précision (reproductibilité < 0,2%), volumes 3, 2 et 1ml.

Réactifs

- H₂SO₄ R.P. Normapur concentré (d = 1,83) contenant Ag₂SO₄ R.P. Normapur (6,6 g.l⁻¹).
- HgSO₄ purifié en poudre.
- K₂Cr₂O₇ R.P Normapur 8,33.10⁻³ mol.l⁻¹ (2,4518 g.l⁻¹).

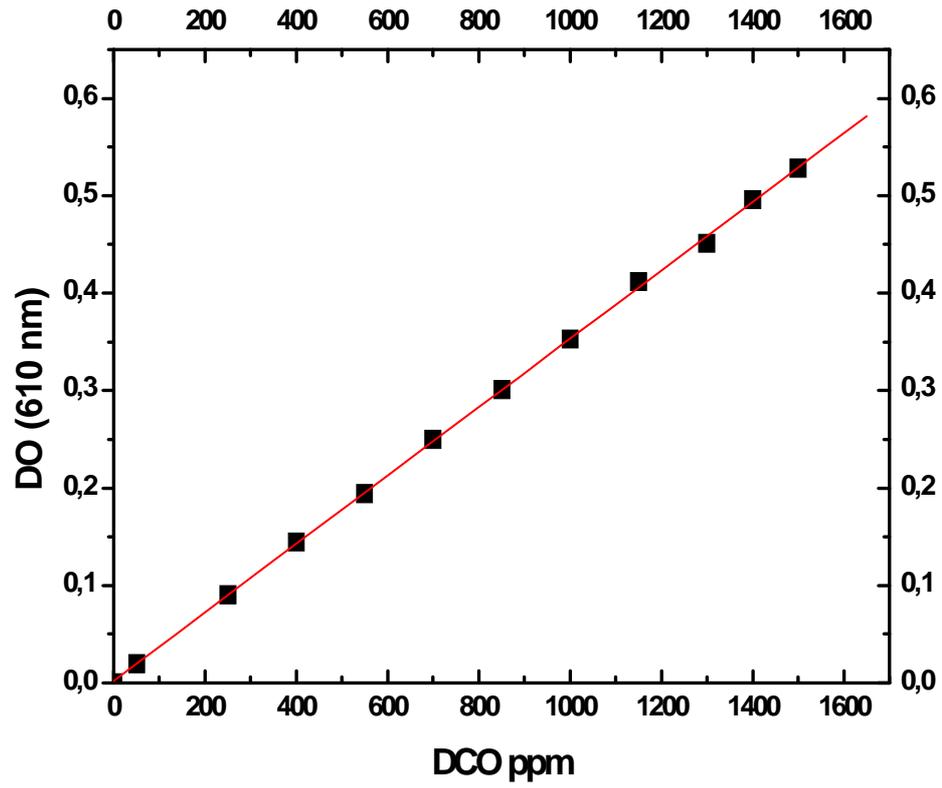
Protocole

Introduire dans un tube, 3 ml de la solution acide, 0,1g de sulfate de mercure, 2ml d'échantillon (ou d'eau distillée pour le blanc) et 1ml de dichromate de potassium. 8,33 10⁻³ mol.l⁻¹. Après fermeture hermétique et homogénéisation, le tube est placé dans le réacteur pendant 2 heures.

Le dosage final de l'oxydant résiduel se fait par mesure de l'absorbance, par rapport à l'eau distillée, du mélange réactionnel refroidi (T = 20⁰C) à 610 nm suivant la concentration en oxydant choisie. 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 R.P. Normapur (183 mg.l⁻¹ pour une DCO de 360 mg.l⁻¹) : La DCO des différentes dilutions a été traitées suivant le protocole établi, à permis la construction de la droite d'étalonnage DO = f(DCO).



Courbe d'étalonnage de DCO

ملخص:

تعدد طرق الإنتاج الزراعي و الزيادة في إستخدام الأسمدة الكيميائية أدت إلى تلوث المياه بالنترات. وهذا التلوث راجع إلى الفرق بين كمية الأسمدة المستعملة و الكمية التي تمتصه النباتات. لهذا الغرض قمنا بعمل يتركز على خفض تركيز النترات في المياه السطحية مثل السدود و المياه الجوفية من أجل تفادي الآثار الضارة للتلوث. وقد تحقق ذلك عن طريق المعالجة البيولوجية، وهي طريقة اقتصادية و فعالة في خفض نسبة النترات في المياه.

الدراسة التي أجريتها أظهرت القدرة على الحد من تركيز النترات و تحليل المواد العضوية (ميتا نول، مثيل، إيثيل سيتون، محلول موقى مكون من حمض الأستيك وأسيتات البوتاسيوم) باستخدام كائنات مجهرية مختلفة و التي أخذت من محطة تصفية المياه القدرة بالمنية قسنطينة.

نواتج عملية إزالة النترات و التحلل هم الأزوت الجزئي، ثاني أكسيد الكربون، الماء. الدراسة المنجزة كانت عند الدرجة 30°م حيث تركيز منبع الكربون يكون ما بين 500-2000 جزء من المليون، وقد لاحظنا أن هناك إرتباط بين زمن التأقلم مع الوسط و الزيادة في تركيز المادة الكربونية. كما لوحظ أن تحليل المواد العضوية ينقص إبتداءً من 2000 و1500 جزء من المليون بالنسبة لمثيل إيثيل سيتون و الميثانول على الترتيب.

سرعة إزالة النترات تتغير مع طبيعة منبع الكربون و قدرة الكائنات المجهرية على استهلاك هذا المنبع الكربوني و مع فعالية إزالة النترات. بينما الخليط الموقى لحمض الأستيك و أسيتات الصوديوم كمنبع للكربون يستهلك أحسن من اجل الإنقاص من النترات بالمقارنة مع الميثانول و المثيل إيثيل سيتون. استعمال النترات وحدها تعطي طاقة أقل بالمقارنة مع استهلاك النترات و الأوكسجين معا.

كلمات مفتاحية :

النترات، إزالة النترات، التحلل البيولوجي، كائنات مجهرية مختلفة.