

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret
Faculté des Sciences de la nature et de la vie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Ecologie et environnement

Spécialité : Ecologie fondamentale et appliquée

Présenté par :

M^{lle} Gasmi khaldia

M^{lle} Lamali Fatma

M^{lle} Mermeri Fatima Zohra

Thème

***Etude des performances épuratrices de dénitrification
sur un support en céramique***

Soutenu publiquement le 09/07/2018

Jury:

Présidente : M^{lle} N.MEDJBER

MCB U.Tiaret

Encadreur: M^f M.O.BOUSSOUM

MCA U.Tiaret

Examineur: M^{lle} A.OMAR

MCB, U.Tiaret

Année universitaire 2017– 2018

Remerciement

Nous rends tout d'abord grâce à ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à notre directeur de mémoire, le professeur. Mr BOUSSOUM M.O, de nous avoir accueillis et d'avoir accepté de diriger et suivre l'évolution de ce travail avec compétence et dévouement. Ses qualités humaines, sa disponibilité, ces précieux conseils et ses encouragements ont rendu ce travail moins pénible.

Nos remerciements s'adressent également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous tenons à remercier également Mr ABDELLEI MOSTPHA et tous les techniciens de laboratoire qui ont mis les moyens du laboratoire à notre disponibilité.

Nous tenons également à exprimer notre profonde gratitude et nos vifs remerciements à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation.

Nos remerciements sont également destinés à nos chers parents pour nous avoir soutenus durant notre cursus universitaires.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Avant tous je remercie mon dieu qui m'a donnée la volonté de continuer

Mes études et faire ce modeste travail.

Je le dédie à Ma chère maman qui m'a encouragée, et qui m'a entourée

D'amour, que dieu La guide et la protège.

A mon cher père qui grâce à lui j'ai trouvé mon chemin

Comme je dédie aussi ce travail a tous mes chers frères

Yahya, Mehmed, ABK

Et mes sœurs Souad, Fatiha, Amina,

Je le dédie à Sabah, Nawal, Khaled, Amin, Brahim

A mes amies Fatima, Asma, Yasmina,

Djamila, Sara, Nawal

Et à toutes les personnes qui mes connaît.

A tous mes enseignants,

A tous la promotion Ecologie fondamental et applique

Merci pour les bons moments qui ont contribué à rendre ces années inoubliables.

Bonne chance à tous.

fatma

Dédicaces

Avant tous je remercie mon dieu qui m'a donnée la volonté de continuer

Mes études et faire ce modeste travail.

Je le dédie à Ma chère maman qui m'a encouragée, et qui m'a entourée

D'amour, que dieu La guide et la protège.

A mon cher père qui grâce à lui j'ai trouvé mon chemin

*Comme je dédie aussi ce travail a tous mes sœurs Bouchera,
Soumaya, Hiba*

Ma tante et sa famille Chaima, Ikram, Anes, Imad

Je le dédie à mes collègues Rachida, Laila, Malika

Ma tante qui m'a encouragée

A mes amies Fatima, Mokhetar, Abed al Kader

Et à toutes les personnes qui me connaît.

A tous mes enseignants,

A tous la promotion Ecologie fondamentale et appliquée

*Merci pour les bons moments qui ont contribué à rendre ces
années inoubliables.*

Bonne chance à tous.

Fatima



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

***A ce qui m'a encouragé durant toute la période
d'étude, et pour les sacrifices consentis,***

***A ce qui m'a toujours voulu que je sois la meilleure A ma mère et mon père
a ma grande mère***

A mes chères sœurs : Fatiha, Houria, Fatima, Wafaa

***A mes adorables frères : Abd el Kader, Boualem toutes mes tentes,
et mes oncles surtout Hakima qui a été toujours la pour moi, et tous mes
cousins et cousines***

***A tous mes chères amis : Salima ,Fatma ,Kheira , Fatima , Ahlem ,
Houria ,Fatiha, Bouchra , Chahinez , Karima,Asmaa,Ikram et Reem .***

A tous mes collègues de promotion écologie fondamentale et appliquée.

Khalida

Table de matières

Liste des abréviations.....	i
Liste des tableaux.....	ii
Liste des figures.....	iii
Introduction.....	1

Chapitre I : Etude Bibliographique

I.1. Généralité sur l'azote.....	3
I.2. Cycle de l'azote.....	4
I.2.1. Fixation.....	4
I.2.2. Assimilation.....	4
I.2.3. Ammonification.....	5
I.2.4. Nitrification.....	5
I.2.5. Réduction assimilatrice.....	5
I.2.6. Dénitrification.....	5
I.3. Nitrates.....	6
I.3.1. Origine des nitrates dans les eaux.....	6
I.3.2. Effets des nitrates sur la santé	6
I.3.3. Effet sur l'environnement.....	6
I.4. Traitements biologiques des nitrates.....	7
I.4.1 Métabolisme dénitrifiant.....	7
I.4.2 Types de micro-organismes.....	7
I.4.2.1 Bactéries hétérotrophes.....	8
I.4.2.2 Bactéries autotrophes.....	8
I.4.3. Facteurs influençant la dénitrification biologique.....	8
I.4.3. 1. Température	8
I.4.3.2. pH.....	9
I.4.3.3. Concentration en oxygène dissous.....	9
I.4.3.4. Nature de la source de carbone.....	9
I.4.3.5. Rapport C/N.....	10
I.4.4. Technologie de la dénitrification.....	10
I.4.4.1. Procédé à boues activées.....	10
I.4.4.2. Procédé à biomasse fixée.....	10
I.4.5. Mécanisme de fixation (biofilm).....	11
I.4.6. Supports choisis.....	11
I.6. Biofiltration.....	11
I.6.1. Modes de traitement de la biofiltration.....	12
I.6.1.1. Biofiltration classique.....	12
I.6.1.2. Biofiltration par percolation.....	13
I.6.2. Performances épuratoires de la biofiltration.....	13
I.6.2.2. Elimination de la pollution carbonée.....	13
I.6.2.2. Elimination de l'azote ammoniacal : nitrification.....	13
I.6.2.3. Elimination de l'azote nitrique : dénitrification.....	14

I.6.3. Bioréacteurs à biofilm.....	14
---	-----------

Chapitre II : Matériels & méthodes

II.1 Lieu d travail	15
II.2 Objectif.....	15
II.3 Produits et matériels.....	15
II.4 Protocole expérimental.....	16
II.5 Description du dispositif expérimental.....	17
II.6 Caractérisation physico-chimique du support utilisé.....	17
II.6.1 Surface spécifique.....	17
II.6.2 Masse volumique réelle	18
II.6.3 Porosité.....	18
II.7 Sélection des bactéries dénitrifiantes.....	18
II.7.1 Réacteur fermé fonctionnant en discontinu	18
II.8 Alimentation.....	20
II.9 Ensemencement du réacteur	20
II.10 Méthodes d`analyses physicochimiques utilisées.....	21
II.10.1 Paramètres physiques.....	21
II.10.1.1 pH.....	21
II.10.1.2 Température.....	21
II.10.1.3 Conductivité électrique.....	21
II.10.2 Paramètres chimiques.....	22
II.10.2.1 Détermination des Nitrates.....	22
II.10.2.2. Détermination des Nitrites.....	22
II.10.3 Paramètres biologiques.....	22
II.10.3.1 Recherche des <i>Bacillus</i>.....	23
II.10.3.2 Recherche des <i>Pseudomonas</i>.....	23
II.10.3.3 Teste de Mobilité bactérienne.....	24
II.10.3.4. Technique de coloration de Gram.....	25

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Caractéristiques physico-chimiques du support.....	
III.2 Caractérisation du bioréacteur.....	26
III.2.1 Distribution des temps de séjour hydraulique de la colonne.....	26
III.2.1.1 Temps de séjours.....	26
III.2.2. Dynamique de colonisation.....	27
III.2.3 Influence des paramètres physiques	28
III.2.3.1 Température.....	29
III.2.3.2 pH	29
III.2.3.3 Conductivité électrique.....	30
III.2.4 Paramètres chimiques (Suivi de nitrates et de nitrites).....	31
III.2.5. Paramètres bactériologiques (Suivi des bactéries).....	33
Conclusion	34
Références bibliographique	
Annexes	

Liste des Abréviations

CE	Conductivité électrique.
DCO	Demande Chimique en Oxygène.
DO	Densité Optique.
DTS	Distribution de Temps de Séjours.
HRT	Temps de Rétention Hydraulique.
MVS	Matières Volatiles Sèches.
MF	Matière Fraiche (boue activée brute).
N _{org}	Azote organique.
N ₂	Azote moléculaire.
NO	Oxyde Nitrique.
NH ₃	Ammoniac.
NH ₄ ⁺	Ammonium.
N ₂ O	Protoxyde d'azote ou oxyde nitreux.
NO ₂ ⁻	Nitrite.
NO ₃ ⁻	Nitrate.
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PEHD	Polyéthylène Haute Densité.
PEBD	Polyéthylène Basse Densité.
Q ₀	Débit de réacteur.
V ₀	Volume de réacteur.
μS	Micro siemence.

Liste des Tableaux

Tableau II.1 : Caractéristiques physico-chimiques de l'acétate de calcium.....	19
Tableau II.2 : Composition du milieu d'alimentation.....	20
Tableau III.1 : Caractéristiques physico-chimiques du support.....	26
Tableau III.2 : Synthèse des résultats de l'étude hydrodynamique.....	27
Tableau III.3 : Confirmation de la présence/absence des bactéries dénitrifiantes.....	36

Liste des Figures

Figure I.1 : Cycle de l'azote.....	4
Figure .I.2 : Réaction de dénitrification.....	7
Figure I.3 : Biofiltre à courant ascendant.....	12
Figure II.1 : Organigramme du protocole expérimental.....	16
Figure II.2 : Dispositif expérimental.....	17
Figure II.3 : Dispositif de la sélection des bactéries dé nitrifiantes.....	19
Figure II.4 . Formation de biofilm.....	23
Figure II.5 : Ensemencement des <i>Pseudomonas</i>	23
Figure II.6 : Teste de mobilité bactérienne	24
Figure III.1 : Evolution conductivité électrique en fonction du temps.....	26
Figure III.2 : Evolution de la formation du biofilm en fonction du temps.....	27
Figure III.3 : Variations de la température en fonction de temps	28
Figure III.4 : Variations du pH en fonction de temps.....	29
Figure III.5 : Variation de la conductivité électrique en fonction de temps	31
Figure III.6 : Teneurs des nitrates en fonction de temps.....	32
Figure III.7 : Teneurs des nitrites en fonction de temps.....	32
Figure III.8 : Résultats bactériologiques de la confirmation des bactéries dénitrifiantes....	35
Figure III.9 : Identification des bactéries dénitrifiant par coloration de gram.....	36

Introduction Générale

Introduction

Les éléments les plus fréquents dans les eaux usées sont l'azote, le phosphore et parfois le potassium, le zinc, le bore et le soufre. Ces éléments se trouvent en quantités appréciables, mais en proportions très variables que ce soit, dans les eaux usées épurées ou brutes. En outre, la présence de matière organique sous différentes formes dans l'eau usée (solides en suspension, éléments colloïdaux et matières dissoutes) peut, par son effet à long terme sur la fertilité du sol, contribuer également à la stabilité structurale du sol (**FAO, 2003**).

La teneur en nitrates des eaux est en augmentation continue ces dernières années. Des mesures préventives de lutte contre la pollution azotée sont mises en place, en particulier en matière de pollution diffuse agricole. Toutefois, la limitation des apports en surface n'aura un effet sur les teneurs dans les nappes qu'avec un retard correspondant au temps de transfert des nitrates, or celui-ci est souvent long. Des solutions curatives doivent donc être proposées aux populations concernées (**OIE 1992**).

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

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

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

L'élimination biologique des nitrates sont des moyens les plus économique et les plus efficaces pour réduire les nitrates (**Werner, 1991**).

La dénitrification est une alternative à la respiration classique de l'oxygène dans les zones peu oxygénée (**Torbjon, 2000**). Le nitrate joue le rôle d'accepteurs d'électron dans l'oxydation de

Introduction

composés oxydables sous conditions anaérobies. Le produit ultime de la réduction est l'azote gazeux.

Le traitement des eaux usées est de nos jours une composante essentielle de notre société. En effet, les stations d'épurations qui devaient autrefois traiter les eaux domestiques répondant ainsi à un besoin immédiat. Doivent désormais faire face à des problématiques plus poussées. Une des façons de traiter les rejets azotés est l'utilisation des procédés par **biofiltration**.

Le choix du support capable d'abriter les populations bactériennes est l'un des paramètres clés conditionnant la performance du procédé par biofiltration. C'est dans cette optique que ressort la question de savoir si le support en céramique peut réaliser la dénitrification à partir d'une boue prélevée au niveau d'une station de traitement des eaux usées.

L'objectif de ce travail est de tester la possibilité de valoriser les déchets de fabrication de brique à usage de construction bâtiment comme support de bio dénitrification dans un réacteur à lit fixe avec écoulement ascendant. Ainsi de mettre à la disposition des stations d'épurations par biofiltration un nouveau support.

Avant d'aborder les résultats obtenus au cours de ce travail, une étude bibliographique a été menée afin de décrire l'importance de l'azote dans l'ensemble des systèmes vivants y compris les nitrates, leurs sources, leurs effet sur la santé et sur l'environnement, les différents procédés de traitement seront ensuite abordés,

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 d'abord pour l'étude de la dénitrification en utilisant l'acétate de calcium comme source de carbone et d'énergie. Les dosages des nitrates et nitrites, le suivi de pH, de la conductivité, de la température, de l'isolement et l'identification des micro-organismes de la dénitrification ont été effectués.

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

Synthèse Bibliographique

I.1. Généralité sur l'azote

L'azote représente la plus grande partie 78% de l'air que nous respirons, l'oxygène n'y figurant que pour 21%, le 1% restant étant constitué de gaz. (Vilaginès, 2010). La présence des nitrates et des nitrites dans l'eau d'une nappe est signe de pollution suite à l'utilisation intensive des engrais chimiques, il se présente sous quatre formes :

- L'azote organique se transformant en azote ammoniacal.
- L'azote ammoniacal (NH_4^+) traduit un processus d'ammonification de la matière organique azotée.
- Les ions ammoniums subissent une nitrification par action des bactéries nitrifiantes.
- L'azote nitreux (NO_2^-) provient d'une oxydation incomplète de l'azote. NH_4^+ et NO_2^- sont parmi les matières indésirables dans l'eau.

Les nitrites proviennent d'une oxydation incomplète des matières organiques. Comme les nitrates, les nitrites sont très répandus dans l'environnement, les uns et les autres se retrouvent dans la plupart des produits alimentaires, dans l'atmosphère et dans une grande partie des eaux. Les fortes teneurs correspondent à la réduction des nitrates en nitrites par les anaérobies sulfite-réducteurs. Elles peuvent également être liées à l'oxydation bactérienne de l'ammoniac

- L'azote nitrique (NO_3^-) est produit par nitrification de l'azote ammoniacal. Il joue un rôle important dans le développement des algues et participe au phénomène d'eutrophisation. La présence des Nitrites dans l'eau en quantité importante dégrade la qualité de l'eau et Pourrait affecter la santé humaine (Belghit, 2009).

L'azote représente la plus grande partie 78% de l'air que nous respirons, l'oxygène n'y figurant que pour 21%, le 1% restant étant constitué de gaz (Vilaginès, 2010).

Les stations d'épuration n'éliminent qu'environ 20 % de l'azote présent dans les eaux usées, par les traitements de nitrification – dénitrification. Pour satisfaire aux normes de rejet en zones sensibles, des procédés physiques et physico-chimiques complémentaires permettent l'élimination de l'azote par : électrodialyse, résines échangeuses d'ions, "strippage" de l'ammoniaque, mais ces traitement ne sont pas utilisés dans le traitement des eaux résiduaires urbaines, pour des raisons de rendement et de coût (Franck, 2002).

I.2. Cycle de l'azote

Les nitrates (comme d'ailleurs l'ammonium) sont des composés omniprésents de l'environnement dans lequel ils subissent un véritable cycle de transformation connu sous le nom de cycle de l'azote résumé dans la figure I.1 (Vilaginès, 2010).

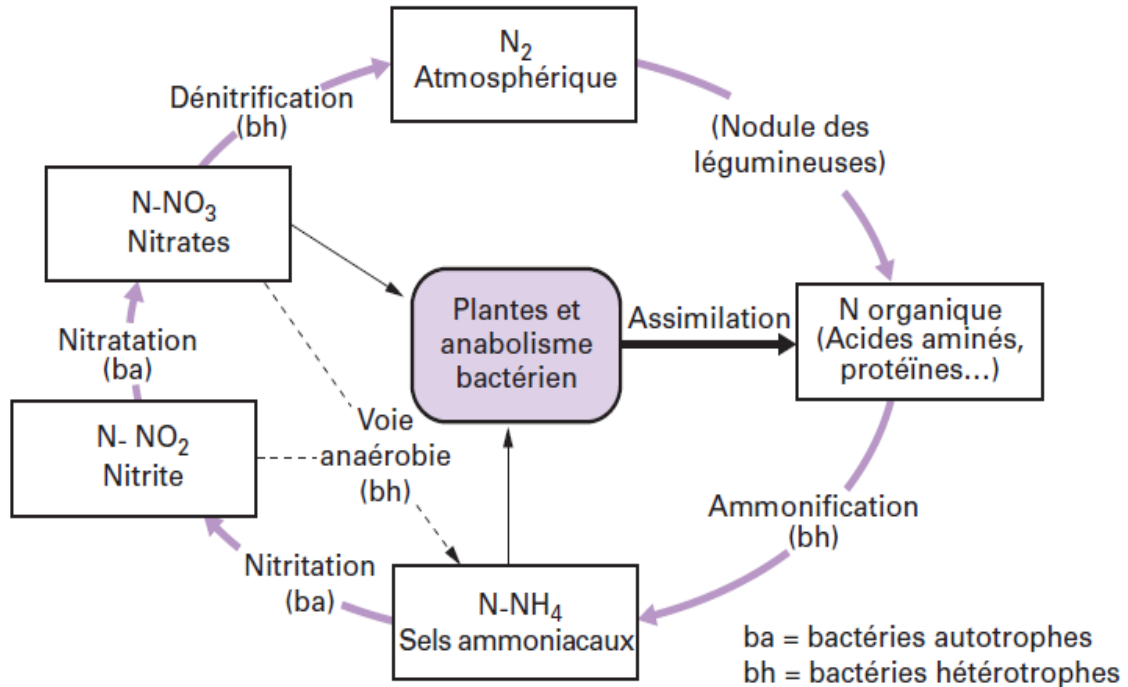
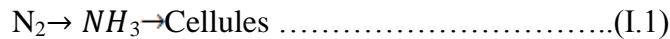


Figure I.1 : cycle de l'azote (Laurent et al, 1952)

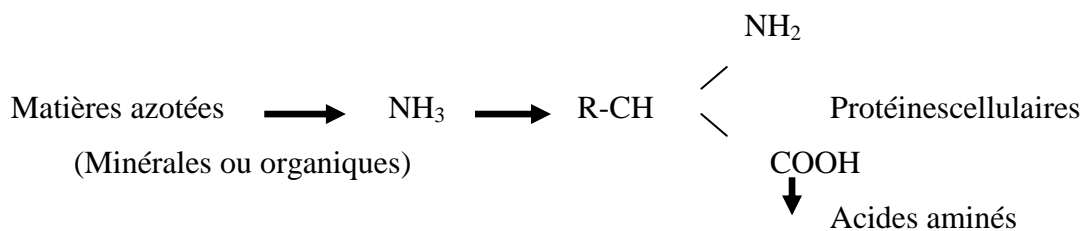
I.2.1. Fixation

Correspond au passage de l'azote atmosphérique (N₂) en azote combiné sous l'action de certains organismes qui consomment ce N₂ par la réaction de réduction :



I.2.2. Assimilation

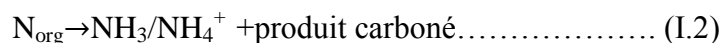
C'est la transformation de matière azotée minérale ou organique inerte en matière vivante.



I.2.3. Ammonification

C'est la transformation de l'azote organique en azote ammoniacal à partir des composés azotés organiques provenant soit :

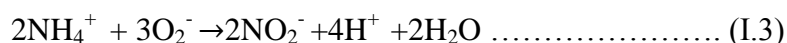
- De l'excrétion de matières azotées par les organismes vivants
- De la mort et la décomposition des cellules vivantes.



I.2.4. Nitrification

La nitrification est un procédé biologique réalisé par des micro-organismes autotrophes spécialisée en deux étapes :

- oxydation de NH_4^+ en nitrites NO_2^- ; c'est l'œuvre essentiellement des bactéries de type *Nitrosomonas* selon la réaction :



-oxydation de NO_2^- en nitrates NO_3^- ; les bactéries responsables de cette deuxième réaction appartiennent principalement au genre *Nitrobacter*



D'où la réaction d'oxydation totale :



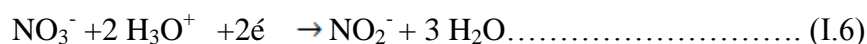
Donc la nitrification est l'oxydation de l'azote ammoniacal en nitrate par l'intermédiaire de bactéries nitrifiantes (**Laurent et al., 1952**).

I.2.5. Réduction assimilatrice

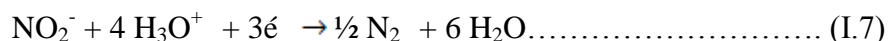
C'est la réduction des composés oxydés (NO_2^- , NO_3^-) en azote ammoniacal (NH_4^+).

I.2.6. Dénitrification

La dénitrification est définie comme étant la réduction du nitrate en azote gazeux par l'intermédiaire de bactéries dénitrifiantes selon les réactions suivantes :



Chapitre I : synthèse bibliographique



I.3.Nitrates

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(Mammeri, 2007).

I.3.1.Origine des nitrates dans les eaux

Les nitrates existent dans les eaux à l'état naturel en absence de pollution. Leur concentration, alors, n'excède pas en générale 3 mg/l à 5 mg/l dans les eaux superficielles et quelques mg/l dans les eaux souterraines. La majorité de la pollution azotée de l'eau provient de l'agriculture, les usages domestiques et l'industrie.

Les engrais azotés épandus sur les sols contiennent des nitrates ou des composés qui seront transformés en nitrates par la faune microbienne du sol. Leurs présence en excès est néfaste car se sont très solubles dans l'eau, donc très mobiles. Il suffit qu'ils soient en excédent par rapport aux besoins des plantes pour qu'ils soient lessivés vers les nappes souterraines ou qu'ils ruissellent vers les cours d'eau.

I.3.2. Effets des nitrates sur la santé

Le risque le plus important pour la santé que l'on associe à l'ingestion du nitrate est la méthémoglobinémie, ou la « maladie bleue ». Le nitrate est converti en nitrite dans l'estomac, puis il est absorbé par la circulation sanguine. C'est là qu'il agit sur la capacité des cellules rouges de transporter l'oxygène.

I.3.3.Effet sur l'environnement

Les ions nitrates, avec les ions phosphates, sont aujourd'hui la cause majeure de la pollution des eaux. Ces ions très solubles dans l'eau sont facilement drainés par les eaux de pluie, de ruissellement et d'infiltration. La pollution par les ions nitrate conduit à une modification de l'équilibre biologique des milieux aquatiques en provoquant des phénomènes d'eutrophisation

des écosystèmes aquatiques, voire dystrophisation, ainsi que des marées vertes qui représentent un type particulier d'eutrophisation marine côtière.

I.4. Traitements biologiques des nitrates

La dénitrification biologique est l'un des procédés les plus efficaces pour l'élimination des nitrates des eaux polluées. Le principe de ce traitement est le même que celui des milieux épurateurs naturels, où les polluants biodégradables sont utilisés comme éléments nutritifs et/ou source énergétique pour les organismes vivants tels que les bactéries et les plantes. Les procédés biologiques sont multiples et de conceptions variées. On peut citer les procédés intensifs à cultures libres, les lits bactériens, les disques biologiques, les procédés de lagunage et la biofiltration (**Burton et al. ,2006**).

I.4.1 Métabolisme dénitrifiant

La dénitrification est un processus biologique au cours duquel les micro-organismes impliqués utilisent les formes oxydées de l'azote comme accepteur final d'électrons dans leur chaîne respiratoire, conduisant ainsi à la réduction du nitrate en azote gazeux via la formation de composés intermédiaires tels que le nitrite (NO_2^-), l'oxyde nitrique (NO) et l'oxyde nitreux (N_2O) en conditions anoxie. Cette réaction est catalysée par différentes enzymes spécifiques appelées réductases (**Pambrun ,2005**).

Chaque étape est catalysée par une enzyme particulière : nitrate réductase (NAR), nitrite réductase (NIR), oxyde nitrique réductase (NOR) et enfin oxyde nitreux réductase (N₂OR)

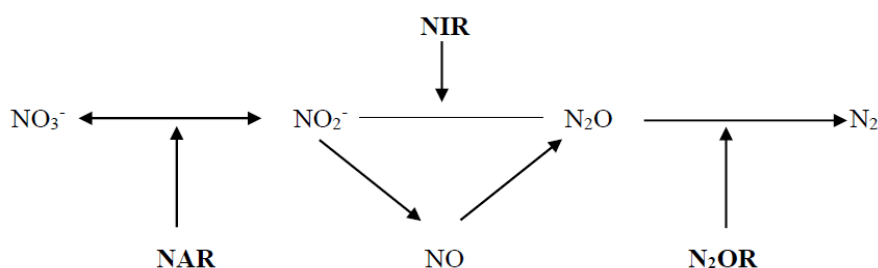


Figure. I.2: Réaction de dénitrification (**Pambrun ,2005**).

I.4.2. Types de micro-organismes

Il existe une très grande diversité de genres bactériens capables de réaliser la dénitrification :

I.2.2.1 Bactéries hétérotrophes

Les bactéries dénitrifiantes sont généralement des micro-organismes hétérotrophes aérobies facultatifs capables de réduire le nitrate et le nitrite en azote gazeux dans des conditions anoxie. La particularité de ces microorganismes réside dans leur faculté à utiliser soit l'oxygène soit les formes oxydées de l'azote comme accepteur final d'électrons dans la chaîne respiratoire. Ces bactéries sont donc dites aérobie/anoxie facultatives. De plus, la réduction des nitrates ou des nitrites consomme de l'énergie et doit donc être couplée à un processus produisant de l'énergie. Ces micro-organismes utilisent ainsi du carbone d'origine organique comme source de carbone.

Dans les boues activées, les organismes susceptibles de conduire à la dénitrification sont très nombreux. Les organismes les plus couramment rencontrés sont *Pseudomonas* et *Alcaligenes* (Payne, 1981 ; Gamble et al., 1977). La réduction biologique des bactéries hétérotrophes des nitrates se fait selon deux :

- ✓ **Réduction assimilative** : les bactéries utilisent les nitrates pour les biosynthèses après réduction en ammoniacque (NH_4^+) (Tribune de cebedeau, 1982).
- ✓ **Réduction dissimulatrice** : la réduction des nitrates en nitrites par respiration des nitrates avec réduction successive en nitrites puis azote gazeux, est effectuée par des bactéries anaérobies possédant une chaîne respiratoire qui peut être couplée à la réduction des nitrates.

I.4.2.2 Bactéries autotrophes

Les bactéries hétérotrophes ne sont pas les seules à pouvoir réaliser la dénitrification, il existe également des micro-organismes autotrophes capables de réduire les formes oxydées de l'azote en utilisant du dioxyde de carbone ou des bicarbonates. *Paracoccus* ou encore *Thiobacillus*, utilisent respectivement le di-hydrogène et des composés sulfurés réduits comme donneurs d'électrons (Pambrun, 2005).

I.4.3. Facteurs influençant la dénitrification biologique

Parmi les facteurs influençant la dénitrification, on trouve :

I.4.3. 1. Température :

En règle générale, la réaction semble être réalisée par des micro-organismes mésophiles. Mais il n'existe pas de conditions optimales de température pour réaliser la dénitrification.

Chapitre I : synthèse bibliographique

Bien que la dénitrification semble possible entre 5°C et 75°C du fait de la grande diversité des germes dénitrifiants, la température constitue néanmoins une variable majeure affectant la vitesse de la réaction biologique. Par ailleurs, l'augmentation de la température est favorable à la réaction puisqu'elle entraîne une diminution de la concentration saturante donc du transfert en oxygène dissous, paramètre limitant la vitesse de dénitrification (**Martin, 1979**).

I.4.3.2.pH

Contrairement aux micro-organismes nitrifiants, les micro-organismes réalisant la dénitrification sont beaucoup moins sensibles aux fluctuations de pH. Le pH optimum semble se situer entre 7 et 8,7. La réaction de dénitrification entraîne une élévation de pH qui doit être contrôlé puisqu'il peut y avoir inhibition de la réaction au-delà de pH 9 (**Pambrun, 2005**).

I.4.3.3. Concentration en oxygène dissous

Les micro-organismes dénitrifiants sont des bactéries aérobies facultatives qui tirent leur énergie de celle libérée lors du transfert des électrons des composés organiques vers l'oxygène, le nitrite ou le nitrate. Le choix de l'accepteur final se fait en faveur de celui qui donnera la plus grande quantité d'énergie par unité de matière organique oxydée. Il a été montré que l'utilisation de l'oxygène comme accepteur d'électrons, plutôt que le nitrite ou le nitrate, permet de produire d'avantage d'énergie. De ce fait, la réaction de dénitrification est inhibée en présence d'oxygène, les rendements de dénitrification étant affectés (**Wisjnuprpto, 1981**).

I.4.3.4.Nature de la source de carbone

Le substrat carboné est l'un des facteurs de contrôle les plus importants pour la dénitrification hétérotrophe. En effet la disponibilité en carbone organique est essentiel à l'activité des bactéries dénitrifiantes 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. Le méthanol et l'acétate sont les principaux substrats carbonés synthétiques ayant été utilisés dans le domaine de la dénitrification des eaux résiduaires (**Foglar et Briski, 2003**). Le carbone organique favorise également le processus de dénitrification en accélérant la respiration aérobie (**Davidsson et Leonardson, 1996**).

I.4.3.5. 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. C/N minimal pour une réduction totale du nitrate en N₂ est de 3,4 et pour une dénitrification totale du nitrite est de 1,08 (**Bougherara, 2003**).

I.4.4. Technologie de la dénitrification

La dénitrification peut se faire soit par des systèmes à boues activées, soit par des systèmes à bactéries fixées.

I.4.4.1. Procédé à boues activées

Le procédé dit « à boues activées » fait appel aux mécanismes de l'épuration biologique pour le traitement des eaux usées. Les boues activées sont composées essentiellement de micro-organismes hétérotrophes, qui dégradent les matières organiques, y compris les matières azotées devenues nitrates. L'introduction d'oxygène via un système d'aération est indispensable à leur action. Les micro-organismes sont maintenus en mélange avec l'eau usée à traiter. Ils entrent ainsi constamment en contact avec les polluants organiques des eaux résiduaires.

La dégradation éventuelle du nitrate en diazote peut être provoquée en plaçant les boues en conditions anoxiques, c'est-à-dire en absence d'oxygène, soit par phase dans le bassin d'aération (on interrompt l'aération de manière momentanée), soit dans une partie séparée du traitement. Cette dégradation du nitrate est faite par des bactéries spécifiques (**Berland, 2012**) Par ailleurs, pour une bonne dénitrification, il est nécessaire de disposer d'une quantité suffisante de carbone biodégradable, qu'elle provienne de l'effluent à traiter et/ou d'un ajout supplémentaire (**Pambrun, 2005**).

I.4.4.2. Procédé à biomasse fixée

Il existe un grand nombre de réacteurs à biomasse fixée, tels que le lit bactérien, les biofiltres et les réacteurs à lit mobile. Le principe repose sur les capacités naturelles des micro-organismes à se fixer et à coloniser une surface solide (biofilm). Les procédés à biomasses fixées possèdent des avantages par rapport aux procédés à cultures libres (boues activées). L'hétérogénéité structurelle du biofilm lui confère la possibilité d'abriter différents types de

Chapitre I : synthèse bibliographique

microorganismes dans différentes niches écologiques. Ainsi, ce système fournit une surface volumique élevée pour le développement des microorganismes (**Yala, 2011**).

I-4-5. Mécanisme de fixation (biofilm)

Un biofilm consiste en une communauté de micro-organismes, d'espèces diverses, qui se développe et croît sur une surface immergée en milieu aqueux. La fixation des bactéries sur un support approprié dépend de l'hétérogénéité des surfaces. Malgré une phase de colonisation parfois lente, les procédés à biofilm permettent une excellente rétention de biomasse et une concentration en biomasse élevée. Par ailleurs, des études ont montré une sensibilité moindre aux faibles températures et aux agents inhibiteurs (**Pambrun, 2005 ; Strathmann, 1981; Guillemot et al., 2007**).

I-4-6. Supports choisis

Le choix de support est assez vaste. On peut citer le charbon actif, les tiges de datte concassées, et il existe aussi des supports plastiques tel que : PVC, PEHD, PEBD. Il est important de signaler que plus la granulométrie du matériau est fine, plus grande sera la surface spécifique disponible pour l'accrochage bactérien (**Yala, 2011**).

Nous nous intéresserons à présent sur le procédé de biofiltration et les autres procédés ne seront pas développés dans ce présent travail.

I-6. Biofiltration

Les procédés techniques de biofiltration, développés par les différents constructeurs, se distinguent par leurs modes de fonctionnement. Ainsi, le système d'alimentation en eau peut être placé en bas ou en haut du biofiltre; les flux d'eau étant alors ascendants ou descendants. Cependant, dans le domaine de l'eau, il y a principalement des biofiltres à **courants ascendants (Rocher et al., 2008)**. Le schéma de la figure I.2 présente le fonctionnement d'un biofiltre à courant ascendant.

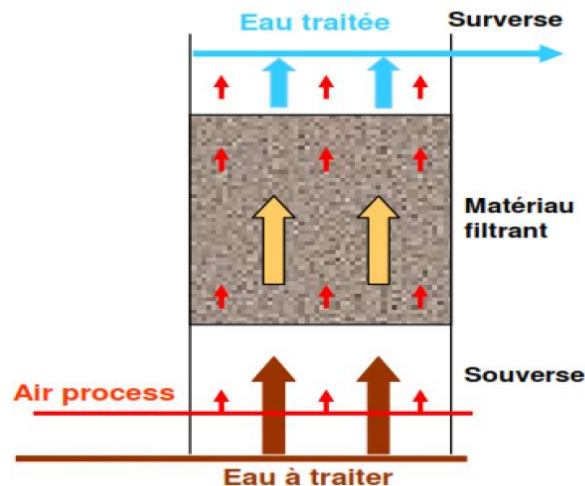


Figure I.2 : Biofiltre à courant ascendant(Vigne, 2007).

Lorsqu'une aération est nécessaire, elle s'effectue par l'intermédiaire de diffuseurs situés dans le bas de l'ouvrage. On parle alors de biofiltre de type co-courant lorsque les flux d'eau et d'air sont dirigés dans le même sens, et de type contre-courant dans le cas contraire (Guillaume,2009).

Un biofiltre se présente comme un filtre garni en matériaux de granulométrie suffisamment faible pour obtenir un effet de filtration efficace. Le matériau sert simultanément de support à la biomasse de type fixé que l'on maintient dans des conditions aérobies dans le filtre. Dans un tel système, l'accroissement de la biomasse et les matières en suspension de l'effluent à traiter, retenues dans le matériau, vont colmater progressivement le lit (Boeglin, 1998).

I-6-1. Modes de traitement de la biofiltration

I-6-1-1. Biofiltration classique

La biofiltration classique est en fait lorsque l'opération du biofiltre se fait en mode «batch». Le lit garni est alimenté par l'affluent à traiter de façon discontinue. Des biofiltres classiques ont été largement implantés au cours des dernières années pour le traitement des eaux usées puisqu'ils sont facilement exploitables et qu'ils requièrent moins d'espace par rapport aux systèmes de boues activées. De plus, ce type de système est en mesure d'opérer dans une gamme assez large de charge organique (Zidane *et al.*, 2006).

I-6-1-2. Biofiltration par percolation

Un biofiltre percolateur est essentiellement la même chose qu'un biofiltre classique à l'exception que le lit garni est mouillé continuellement. Le lit filtrant doit également être

composé de biomasse fixe sauf qu'il est constamment arrosé par une phase liquide mobile contenant également de la biomasse. L'eau à traiter s'écoule de façon descendante à travers un mince biofilm en conditions aérobies où les substrats dissous dans l'eau (tels que l'azote, la matière organique et le phosphore) diffusent dans le biofilm. En même temps que l'eau à traiter percole, elle est oxygénée de façon continue. Il y a alors formation de CO₂ et autres produits dans le biofiltre (**Zidane et al., 2006**).

La percolation dans ce cas vient du fait que le lit filtrant est continuellement arrosé desolution nutritive, ce qui procure aux microorganismes les nutriments nécessaires à leur croissance. La solution arrosée de manière continue garde de plus le lit humidifié correctement afin de donner aux microorganismes les meilleures conditions pour leur développement. La percolation, soit l'arrosage continu du biofiltre, contrôle de plusquelques paramètres d'opération telle que le pH et le contenu en biomasse dans le lit garni (**Zidane et al., 2006**).

I-6-2. Performances épuratoires de la biofiltration

I-6-2-2. Elimination de la pollution carbonée

La 1^{ere} étape de la biofiltration constate la rétention de 70% des MES ; charge éliminée $\approx 0.8 \text{ kg.m}^{-3} \text{ j}^{-1}$. Les étapes suivantes de biofiltration n'ayant qu'un rôle mineur dans la filtration des MES (**Rocher et al., 2006**). 85% de la DBO₅ admise sur la filière de traitement biologique est consommée par la biomasse épuratrice (charge éliminée = $1.5 - 2 \text{ kg DBO}_5. \text{ m}^{-3}. \text{ J}^{-1}$) et le rapport DCO/DBO₅, indicateur de la biodégradabilité d'une eau, est déjà de l'ordre de 4 à la sortie de la 1^{ere} étape du traitement biologique (**Rocher et al., 2008**).

I-6-2-2. Elimination de l'azote ammoniacal : nitrification

L'étude du fonctionnement des installations industrielles a montré que la nitrification est performante jusqu'à des charges appliquées en NH₄⁺ de $0.8 - 1 \text{ kg N.m}^{-3} \text{ j}^{-1}$. Les rendements de nitrification peuvent être supérieurs à 90 % pour des charges en NH₄⁺ atteignant $1.2 \text{ kg N.m}^{-3} \text{ j}^{-1}$. Lors des expérimentations menées sur les prototypes, des charges ammoniacales plus élevées ont été appliquées sur les biofiltres. Les résultats obtenus ont montrés que l'accroissement des charges appliquées en NH₄⁺ induit une augmentation des charges éliminées.

I-6-2-3. Elimination de l'azote nitrique : dénitrification

La charge en azote nitrique éliminée par un mètre cube de matériau augmente d'environ 130 % lorsque la charge appliquée augmente de 2 à 5 kg N.m⁻³.j⁻¹. Pour les eaux présentant des températures supérieures à 18 °C, les rendements de dénitrification restent de l'ordre de 75 - 95 % pour des charges appliquées atteignant 7 kg N.m⁻³.j⁻¹.

I-6-3. Bioréacteurs à biofilm

Les micro-organismes, comme la grande majorité des êtres vivants, ont tendance à vivre dans les communautés et former leurs propres habitats spécifiques. Le réacteur à biofilm est un réacteur biologique à biomasse fixe. Il est généralement rempli avec des particules d'un matériau de support où le biofilm est attaché. Si les particules sont poreuses, le biofilm se forme, non seulement en surface mais aussi dans leurs pores.

Le biofilm est un film biologique adhérent à une surface, constitué de cellules microbiennes, d'exopolymères, et d'eau. Le biofilm peut donc être considéré comme un gel de polymères adhérent à l'intérieur duquel se trouve des microorganismes. Il présente une structure poreuse et très adsorbant.

Matériels et méthodes

Chapitre II : Matériels et Méthodes

Dans ce chapitre, nous exposons les différentes techniques adoptées ainsi que le matériel utilisé, permettant d'exploiter les propriétés remarquables d'un sous-produit issu de la fabrication de la brique à usage de construction bâtiment et de l'utiliser comme support de fixation des bactéries dénitrifiantes en réacteur à lit fixe à biomasse hétérotrophe, afin de mettre à la disposition des stations d'épuration un nouveau support, dans le processus de dénitrification des eaux usées.

II-1. Lieu et durée de travail

Les analyses de notre travail ont été effectuées au niveau du laboratoire de recherche Hygiène et Pathologie des Animaux (EX-ITMA). La durée de 13/03/2018 à 30/05/2018.

II-2. Objectif

La présente étude a pour objectifs :

- De tester la possibilité de valoriser les déchets de fabrication de la brique à usage de construction dans un réacteur à lit fixe avec un écoulement ascendant.
- De mettre à la disposition des stations d'épurations par biofiltration un nouveau support.

II-3. Produits et matériels

✓ Produits

- Nitrate NO_3^-
- Nitrite NO_2^-
- Acétate de calcium

✓ Matériels

- Spectrophotomètre UV visible
- Support en céramique

II -4. Protocole expérimental

Le protocole expérimental utilisé dans notre étude est illustré dans la figure II.1.

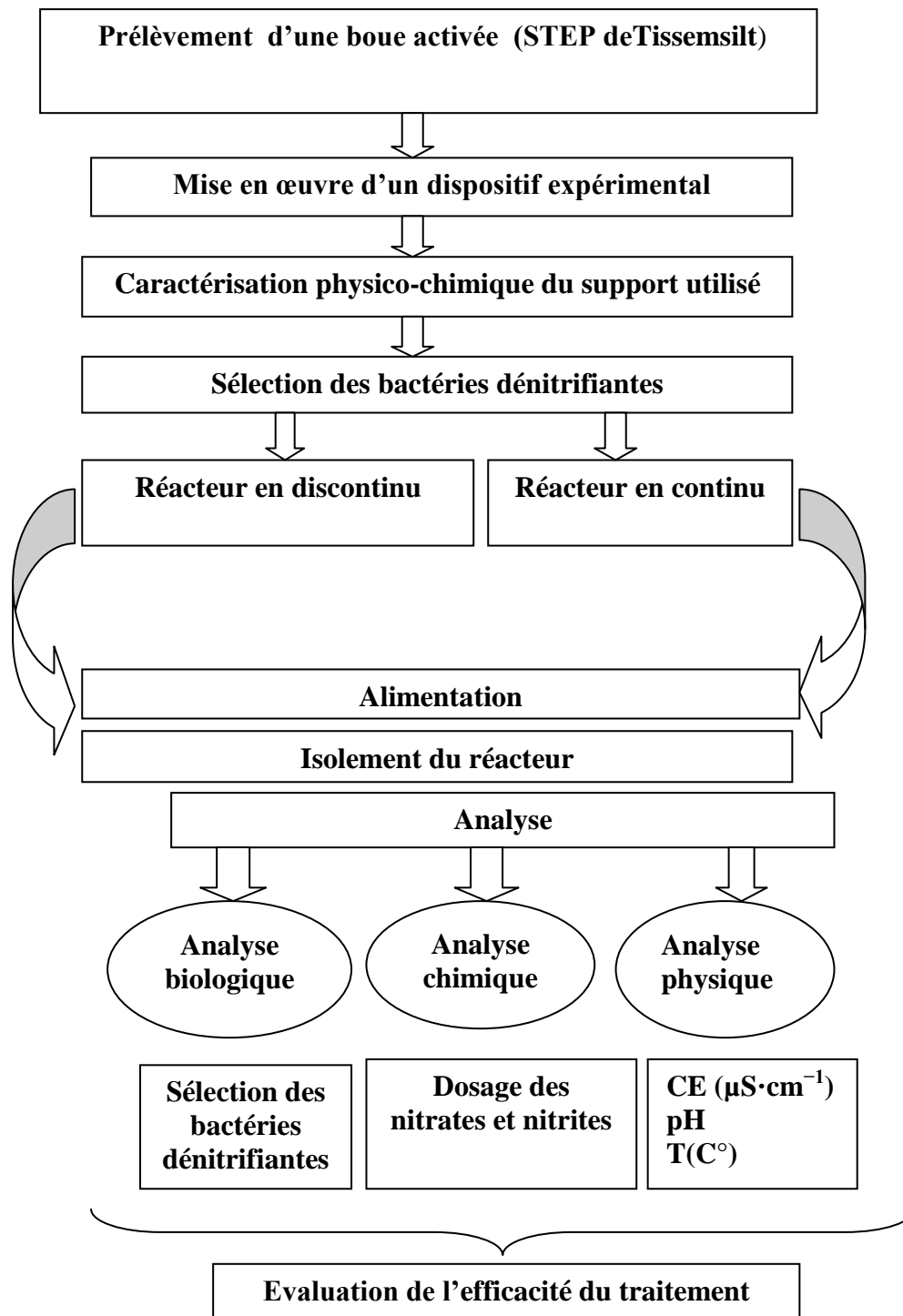


Figure II.1. Organigramme du protocole expérimental

II.5. Description du dispositif expérimental

Les expériences sont réalisées dans une colonne en verre d'une hauteur de 30cm, d'un diamètre interne de 2.5cm, ainsi $L/D=12$. L'unité opère à température ambiante et consiste en un lit fixe des granulats de brique de 2 à 5 mm de diamètre complètement immergée. Une pompe péristaltique assure l'acheminement en continu de l'alimentation vers la colonne avec un écoulement ascendant. La colonne demeure par conséquent saturée pendant toute la durée de l'expérience et fonctionne ainsi en absence d'oxygène.

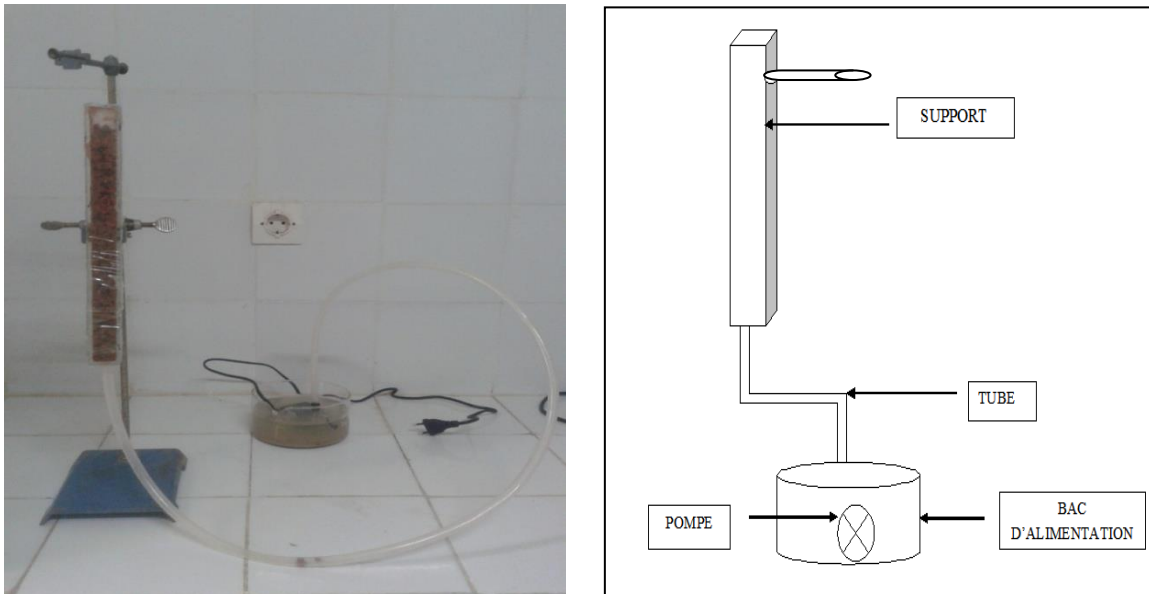


Figure II.2: Dispositif expérimental

II.6. Caractérisation physico-chimique du support utilisé

Le matériau granulaire sujet à une étude de biofiltration est un sous-produit de la fabrication de la brique à usage de construction bâtiment broyé et tamisé avec une granulométrie de 2 à 5 mm de diamètre. Les caractéristiques physico-chimiques du support portent essentiellement sur la masse volumique vraie, la surface spécifique, et la porosité.

II.6.1. Surface spécifique

Par définition, la surface spécifique du support est une surface par unité de masse. Elle constitue une donnée essentielle de la caractérisation des solides et des matériaux poreux exprimée en (m^2/g).

II.6.2. Masse volumique réelle

Exprimée en g/cm^3 , elle est déterminée selon la norme **ISO-567**, (1995). C'est la masse du volume d'un corps ou seul le volume du solide est inclus dans les calculs.

Nous avons déterminé la masse volumique vraie en introduisant 3g du support (P) dans un bécher et en versant dessus de l'eau distillée. L'air est chassé en les faisant bouillir et en agitant constamment pendant 5 minutes. Après refroidissement faire couler l'eau, la pesée du matériau mouillé est P. nous introduisant ensuite dans une éprouvette de 5 ml contenant 2 ml d'eau, soit V le volume lu sur l'éprouvette. La masse volumique vraie est donnée par:

$$\rho = [3 / (V - P + 1)] (\text{g/cm}^3).$$

II.6.3. Porosité

La porosité est le rapport du volume des vides au volume du matériau

$$P (\%) = V_1 / V_0 \text{ où :}$$

P : Porosité exprimée en %

V_0 : Volume de matériau (ml)

V_1 : Volume du vide (ml)

II.7. Sélection des bactéries dénitrifiantes

Le développement intensif d'une culture bactérienne dénitrifiante à partir d'une boue activée prélevée au niveau de la station d'épuration de Tissemsilt, nécessite des étapes précises pour pouvoir procéder à la sélection et à la fixation de ces bactéries dénitrifiantes.

II.7.1. Réacteur fermé fonctionnant en discontinu

Nous avons introduit dans un récipient fermé (Erlenmeyer) (Figure II.2) une quantité de boue alimentée avec un milieu riche en nitrates (tableau II.2) afin de favoriser le développement de la biomasse dénitrifiante. La sélection était réalisée dans les conditions d'anoxie à la température ambiante avec des quantités suffisantes d'acétate de calcium comme source de carbone ainsi qu'une agitation pour homogénéiser le milieu.



Figure II.3: Dispositif de la sélection des bactéries dénitrifiantes

Comme il est déjà mentionné dans la première partie, la dénitrification est réalisée par des bactéries hétérotrophes, qui ont besoin d'un apport de carbone organique pour leur métabolisme. L'acétate de calcium est le sel de calcium de l'acide acétique, compte tenu de sa solubilité dans l'eau, les caractéristiques physico-chimiques de l'acétate de calcium sont présentées dans le tableau II.1.

Tableau II.1: Caractéristiques physico-chimiques de l'acétate de calcium (Laboratoire MAT,2014).

Source de carbone	Acétate de calcium
Formule chimique	$(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2\text{Ca}\cdot\text{H}_2\text{O}$
Poids moléculaire	176.19
Concentration (%)	99
Solubilité	Soluble dans l'eau. Peu soluble dans l'alcool.
pH	Solution aqueuse 0.2 M = pH 7.6
Masse volumique	$1.5 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$
Etat physique	Solide
Apparence et odeur	Poudre granuleuse blanche.

Un suivi de la concentration en nitrates et nitrites est effectué régulièrement et la solution d'alimentation est renouvelée quand la concentration en nitrates diminue considérablement. Une fois que la consommation des nitrates est réalisée au bout d'un temps relativement court

Chapitre II : Matériels et Méthodes

(10heures), nous estimons que les boues sont aptes à dénitrifier. Elles seront transférées dans un système en continu qui permettra le développement et le maintien de notre biomasse dénitrifiante.

II.8. Alimentation

La composition des solutions d'alimentations est représentée dans le tableau II.2 il est à signaler que l'effluent synthétique est préparé avec de l'eau de robinet contenant de l'acétate et des nitrates de sodium avec un rapport C/N=6 (Martin *et al.*, 2009). Toutes les expériences ont été effectuées à une température ambiante (température de laboratoire).

Tableau II.2: Composition du milieu d'alimentation

Composés	Alimentation en contenus	Alimentation discontinus
NaNO ₃	137 mg/l ↔ 100 mg de NO ₃ ⁻	1615 mg/l ↔ 1200 mg de NO ₃ ⁻
KH ₂ PO ₄	2.25 mg/l ↔ 0.5 mg /l	2 g/l
FeSO ₄	Des traces	10mg/l
Mg Cl	Des traces	25 mg /l
Acétate de calcium	445 mg/l ↔ 135g de c	5446mg/l ↔ 120mg/l de ca

II.9. Ensemencement du réacteur

L'inoculation du réacteur a été réalisée par passage en circuit fermé d'une solution contenant des boues sélectionnées représentant 5 mg de MVS/ g du support. Ensuite, la colonne a été alimentée avec la solution décrite ci-dessus (tableau II.2) et les mesures de la masse du biofilm formé ont été effectuées régulièrement chaque 24 heures et exprimée en MVS/g du support.

La détermination des matières volatile en suspension est réalisée par pesée et séchage des échantillons (boues activé), selon la méthode normalisée **NFT 90 105**.

Pour déterminer la teneur en matière volatile en suspension, une masse de 1g d'échantillon est introduit dans un creuset en porcelaine, préalablement sèche. Le creuset est placé à l'étuve à 105°C pendant 24h de sorte que l'eau s'évapore entièrement. Le creuset est pesé après refroidissement dans un dessiccateur (M₁). Ensuite il est placé dans un four à moufle à 550°C pendant 4h de sorte que les matières organiques se consomment. Le creuset est pesé puis refroidir au dessiccateur (M₂).

II.10. Méthodes d'analyses physicochimiques utilisées

II.10.1. Paramètres physiques

Sont pris en compte les paramètres physiques susceptibles d'influencer la réduction des nitrates lors du processus de dénitrification. Il s'agit du pH, de la température et de la conductivité :

II.10.1.1. pH

Le premier paramètre auquel nous nous sommes intéressés lors de notre expérimentation est le pH. En effet il revêt une importance primordiale dans tous les processus impliquant des mécanismes biologiques ; il est donc nécessaire de s'y intéresser et de voir son influence.

Le suivi du pH a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre (HANNA instrument) à électrode, étalonné régulièrement à l'aide de deux solutions tampons respectivement neutre (pH=7) et acide (pH=4.01).

Après étalonnage de l'appareil, l'électrode est plongée dans 5ml d'un échantillon prélevé à cet effet.

II.10.1.2. Température

Mis à part le pH, l'un des paramètres qu'il faut indéniablement étudier quand il s'agit de processus faisant appel à des microorganismes est la température. Il est important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision. Elle est essentielle pour les réactions physico-chimiques et biologiques et joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz (**Rodier et al., 2005**). Des relevés de température ont été effectués pendant toute la durée de notre traitement.

II.10.1.3. Conductivité électrique

La conductivité électrique (CE) d'une eau est la conductance d'une colonne d'eau comprise en deux électrodes métallique de 1cm^2 de surface séparées l'une de l'autre de 1 Cm. La mesure de la conductivité électrique d'une colonne d'eau est déterminée par deux électrodes en platine. Ceci se fait à l'aide d'une conductimètre. (**Rodier et al., 2005**).

II.10.2. Paramètres chimiques

Nous nous sommes limités à l'analyse des paramètres chimiques qui sont indispensables pour comprendre et interpréter le changement dans les teneurs en nitrate et en nitrites de l'eau au cours de notre processus de dénitrification.

Ce sont les nitrites et les nitrates. Les mesures ont été effectuées à l'aide du spectrophotomètre de marque (Pharmacia biotech type : novaspe) (figure II.3) fonctionnant dans les domaines de l'UV-visible.

II.10.2.1. Détermination des nitrates

Le dosage des nitrites a été réalisé par la méthode au réactif de sulfophénique (NORME AFNOR **NFT 90 102**) dont le mode opératoire est :

- Prendre 5ml de l'échantillon à analyser
- Evaporer à sec au bain marie ou à l'étuve 75-88°C.
- Ajouter 2ml de réactif de sulfophénique (la composition dans annexe 2) et laisser au repos 10 minutes.
- Ajouter 15ml d'eau distillée et 10 à 15ml d'ammoniac.
- Compléter à 50 ml avec l'eau déminéralisée
- Effectuer la lecture à la longueur d'onde de 440nm.

II.10.2.2. Dosage des nitrites

Le dosage des nitrites a été réalisé par la méthode au réactif de diazotation (NORME AFNOR **NFT 90 013**) dont le mode opératoire est :

- Prélever 50ml d'eau à analyser et ajouter 1ml de réactif de diazotation (la composition du réactif est décrite en (annexe 4).
- Agiter et laisser au repos 10 minutes
- Effectuer la lecture à la longueur d'onde de 537nm.

II.10.3. Paramètres biologiques

L'objectif de l'analyse bactériologique est confirmé par la présence ou l'absence des bactéries dénitrifiantes après la formation d'un biofilm (figure II.4) dans le support vierge ou dans le support colonisé.

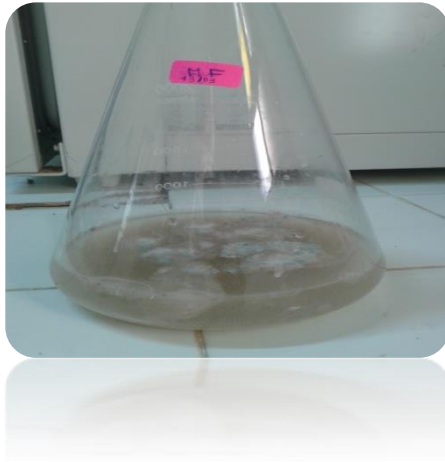


Figure II.4. Formation de biofilm

II.10.3.1. Recherche des *Pseudomonas*

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, 1ml de chaque échantillon est prélevé et ensemencé dans 3 boîtes de pétri stériles, qui contiennent la gélose King B dont la composition est mentionnée dans l'annexe 6. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures. Le résultat est déterminé par comptage des colonies, les *Pseudomonas* sous forme de petites colonies vertes (figure II.5).

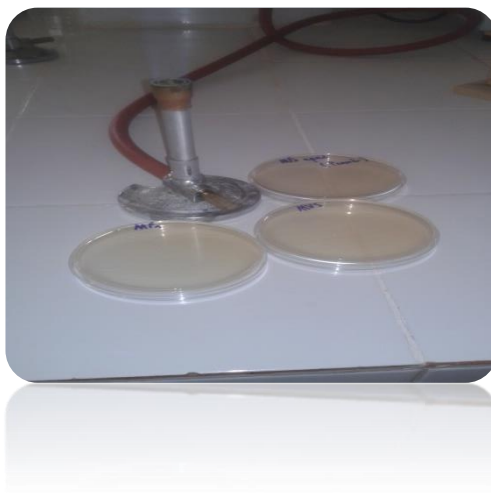


Figure II.5. Ensemencement des *Pseudomonas*

II.10.3.2. Test de mobilité bactérienne

D'abord on coule les 4 tubes stériles par la gélose Mannitol-Mobilité dont la composition est mentionnée dans l'annexe 6.

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, 1ml de chaque échantillon est prélevé et ensemencé dans les tubes par piqure centrale à l'aide d'un fil droit. L'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures. Le résultat est déterminé par de la mobilité bactérienne et caractère mannitol (milieu jaune mannitol+, milieu rouge mannitol-) (figure II.6).



Figure II.6.Teste de mobilité bactérienne

II.10.3.4. Technique de coloration de Gram (Joffin et Leyral, 2006)

La coloration de Gram est une technique pour observer la flore bactérienne présente en fonction de leur réaction coloration de Gram les résultats sont présent dans le tableau (annexe 6).

Résultats et Discussion

III.1. Caractéristiques physico-chimiques du support

Il est important de s'intéresser à la caractérisation physico-chimique du support dans le but de réussir l'attachement des microorganismes et supporter la croissance microbienne.

Afin d'éviter les problèmes relatifs au contournement de la zone de traitement (zones mortes), il est important que le Biofiltres présente de bonnes propriétés mécaniques. Ainsi, le milieu filtrant utilisé devrait être caractérisé par une porosité élevée. Ceci favorisera le passage de l'effluent à travers la zone de biofiltration. De plus, il est crucial que le milieu utilisé pour la dénitrification biologique ne soit pas sujet à des problèmes de compaction ou de colmatage. La surface d'échange doit être maximale, pour l'attachement de la biomasse, la rétention de la MES et pour faciliter la circulation du fluide. Les valeurs calculées sont représentées dans le tableau III.1.

Tableau III.1Caractéristiques physico-chimiques du support

Paramètres	Unités	Valeurs calculées
Masse volumique réelle	(g/cm ³)	1.20
Porosité	/	0.54
Surface spécifique	(cm ² /g)	0.27

III.2 Caractérisation du bioréacteur

L'objectif de cette partie du travail est de caractériser le comportement du réacteur en utilisant la détermination de la distribution des temps de séjours (DTS) avant et après colonisation pour le même débit, et étudier l'influence du biofilm sur l'hydrodynamique de la colonne.

Par ailleurs, une étude comparative a été réalisée en comparant les paramètres agissant sur le compartiment des MVS (matières volatiles sèches) et MF (matière fraîche = boue activée brute) du support.

III.2.1 Distribution des temps de séjour hydraulique de la colonne

Rappelons que l'analyse de la DTS permet, pour un réacteur donné, de déterminer son comportement hydraulique et également de mettre en évidence son dysfonctionnement tel que les courts circuits et les zones mortes.

III.2.1.1 Temps de séjours

En exploitant les résultats obtenus (tableau III.2), nous comparons le temps de séjour moyen et du rapport V_0 / Q_0 permet de déterminer la présence de courts-circuits ou des zones mortes selon les différentes conditions expérimentales.

Tableau III.2 : Synthèse des résultats de l'étude hydrodynamique

Réacteur	Volume du réacteur (cm ³)	Temps de passage à vide (min)	Temps de séjour avant colonisation (min)	Temps de séjour après colonisation (min)
Q ₀ = 2 mL/min	187.5	3	10	5

La figure III.1 illustre la variation de la conductivité électrique en fonction de temps.

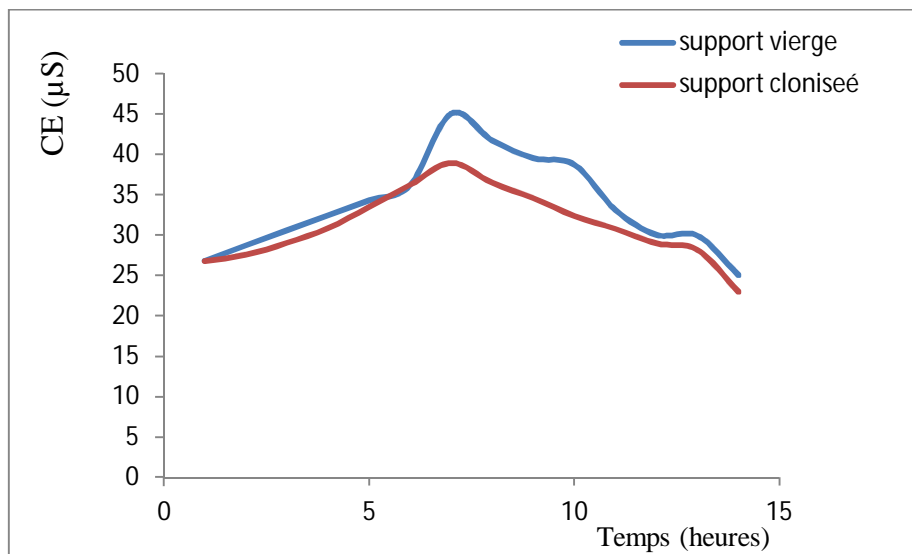


Figure III.1. : Evolution de conductivité électrique en fonction du temps

A partir de la forme des courbes obtenues (Figure III.1), on peut noter qu'il existe des zones mortes (inaccessibles au fluides) du réacteur pour le même débit. Les résultats du tableau III.2 montrent la présence de zones mortes dû au fait que le biofilm tapisserait la microporosité du support; ce qui suggérerait l'hypothèse de passages préférentiels de l'eau dans les réacteurs (Moisan et al., 2001).

III.2.2. Dynamique de colonisation

L'efficacité des procédés de biofiltration est basée sur la capacité des micro-organismes se développer sur une surface. Les bactéries se fixent au matériau filtrant et forment ce qui est appelé un biofilm.

Nous avons suivi l'évolution des MVS en fonction du temps dont les résultats obtenus sont présentés dans la figure III.2.

Dans la présente étude, le bioréacteur fonctionne en mode continu avec un temps de rétention hydraulique constant (**HRT= 5,14 jours**). Le but est de déterminer la capacité de colonisation du support en mesurant la matière volatile en suspension chaque 24 heures du fonctionnement du biofiltre.

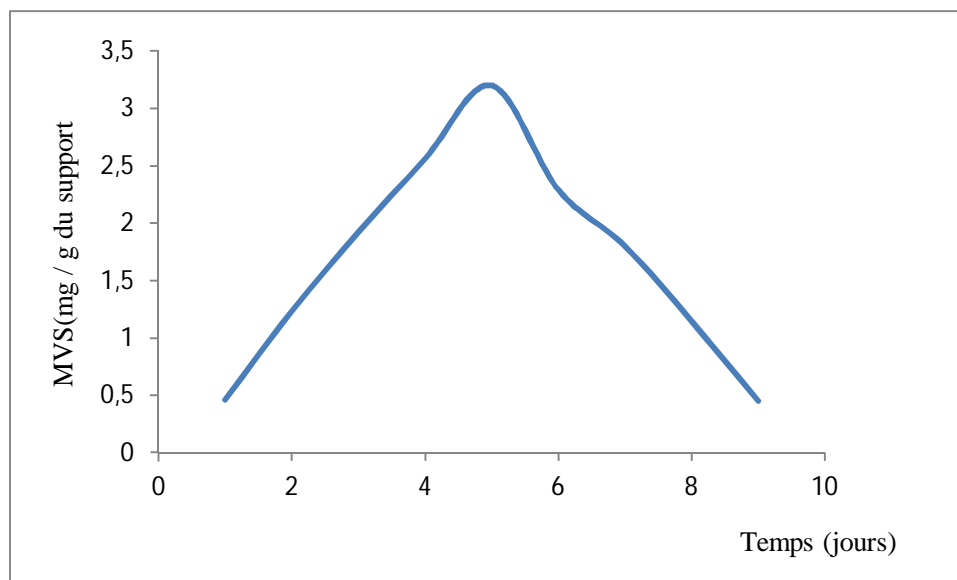


Figure III.2 : Evolution de la formation du biofilm en fonction du temps

L'allure montre que le biofiltre supporte une charge cellulaire croissante entre le premier et le cinquième jour avec un maximum de 3.20mg de MVS/g du support. La formation du biofilm était lente entre le premier et le troisième jour alors qu'une croissance exponentielle a été enregistrée entre le troisième et le cinquième jour. Au sixième jour de fonctionnement du biofiltre un détachement important du biofilm a été enregistré et la quantité de biomasse encore attachée au support était de 0.45mg de MVS/ g du support.

Après le détachement du biofilm (par Abrasion) la quantité de biofilm est restée constante du sixième jour jusqu'à l'arrêt du biofiltre (neuvième jour) ceci s'explique par le fait que le taux de détachement des agrégats est supérieur à la production de biomasse.

III.2.3. Influence des paramètres physiques

Nous avons déterminé les paramètres physiques tels que la température, le pH et la conductivité électrique

III.2.3.1. Température

La température constitue le principal facteur physique pouvant influencer le suivi et la multiplication des bactéries (**Schmidt et al., 1990**). Pour cela, les suivis journaliers de la température ont été réalisés pendant notre travail. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure III.3.

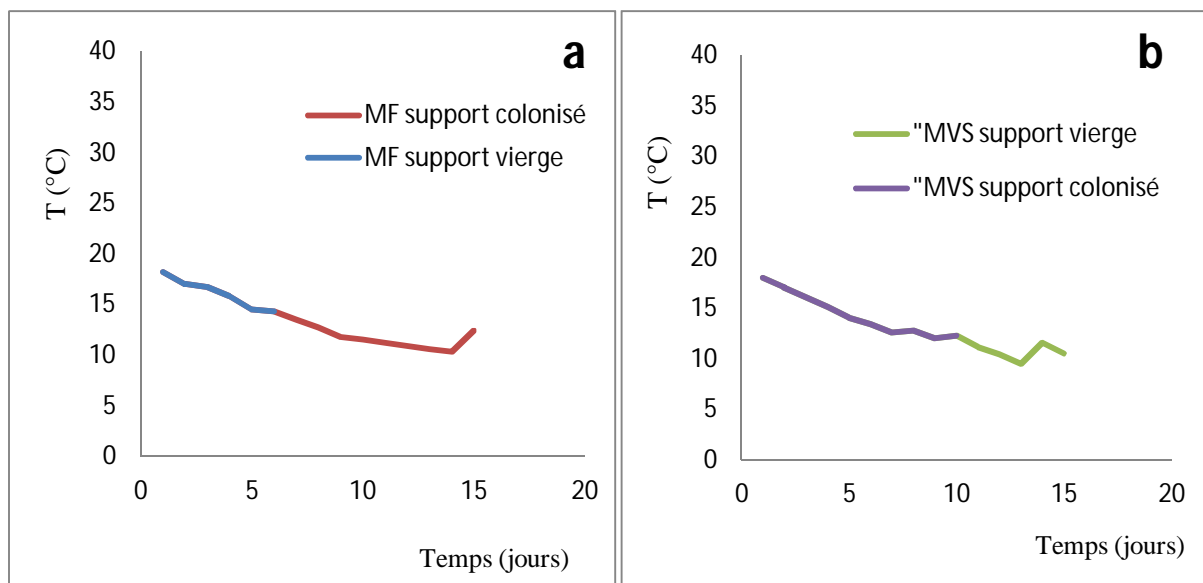


Figure III.3 : Variations de la température en fonction de temps

- a : MF
- b : MVS

A noter que le suivi de la variation de température a été réalisé sur les matières volatiles sèches (MVS), ainsi que pour la matière fraîche (MF : boue activée brute). De plus, l'influence de

température a été testée dans les deux cas du support, à savoir, le support vierge et celui colonisé.

D'après, les courbes (a et b) de la figure III.2, on constate que l'évolution de la température en fonction du temps indique une diminution pendant les 16 jours qui se situe dans la fourchette allant de 14 à 20°C qui suit la température de l'air (T° ambiante) qui sont des température relativement faibles qui permettront un suivi des souches et la multiplication des bactéries *Pseudomonas* (Schmidt et al., 1990). De plus, cette fourchette permet d'assurer le processus de dénitrification qui correspondrait selon (Misra et al., 2005) au minimum à partir de la quelle les microorganismes mésophiles commencent à avoir une activité optimale.

III.2.3.2. pH

Le pH est l'un des paramètres qui influe sur le bon déroulement de la dénitrification, le suivi de ce paramètre est illustré dans la figure III.4.

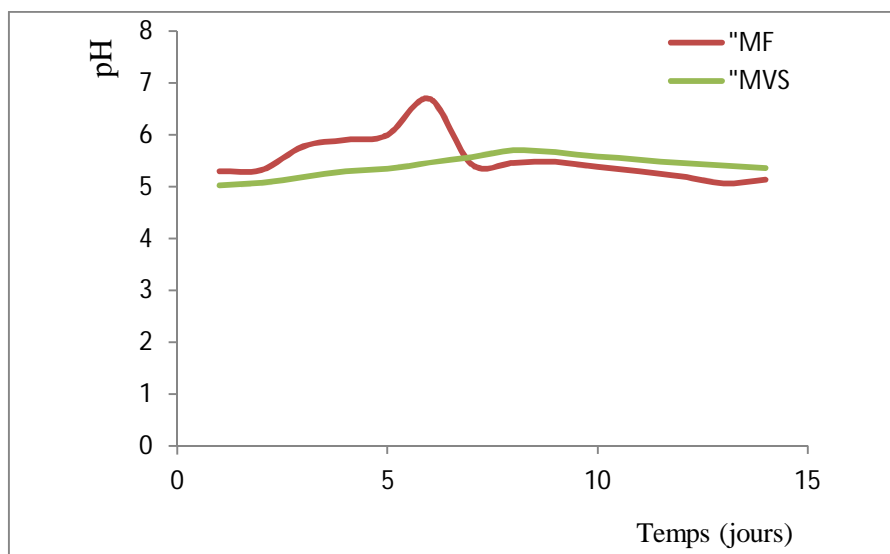


Figure III.4 : Variations du pH en fonction de temps

L'analyse de la figure III.4 montre que le pH dans la boue brute (matière fraîche) et dans les matières volatiles sèches se maintient dans une fourchette de 5,46 à 6,70. Les valeurs de ce potentiel hydrogène dévoilent un léger gradient croissant de l'amont vers l'aval de réacteur. Au cours de cette fourchette une formation du biofilm a été observé. La valeur du pH décroît légèrement dans la fourchette de 5,48 jusqu'à 5,13 mais connaît de nouveau une évolution où sa valeur atteint 5,38 puis une stabilisation vers 5,13. Par ailleurs, la courbe des MVS montre une légère augmentation vers le 8^{ème} jour de colonisation (5,57) puis une régression au bout

de dixième jour (5.66). La baisse du pH pourrait donc être attribuée à la diminution des concentrations de nitrates et de nitrites dans la colonne. Par contre son augmentation pourrait être due au pouvoir tampon (7.6) de la solution d'alimentation utilisée (Acétate de calcium), connue pour son pH alcalin.

Le pH optimal supportant la dénitrification se situe entre 7,0 et 8,0 selon l'espèce ou la communauté microbienne (**Shahabi et Naeimpoor, 2014 ; Napier et Bustamante, 1988**) ont démontré dans une étude portant sur le traitement d'un étang hautement contaminé en nitrate que la dénitrification par un système de boues activées qui est opéré en mode continu dans un bioréacteur est affectée négativement lorsque le pH descend sous 6,8. Les pH acides inhibent les réductases impliquées dans la dénitrification, ce qui diminue le taux de dénitrification et engendre l'accumulation d'intermédiaire, particulièrement l'oxyde nitreux, un gaz à effet de serre puissant, car l'oxyde nitreux réductase est l'enzyme la plus affectée par les pH faibles (**Knowles, 1982 et Pan et al., 2012**).

La dénitrification peut se réaliser dans une gamme de pH comprise entre 4 et 11. Pourtant dans la plupart des cas : Les *Pseudomonas* sont capables de survivre et de se multiplier dans des eaux dont le pH est compris entre 6 et 8.

La valeur du pH obtenu dans notre étude est comprise dans la fourchette définie par les normes algériennes et celles de l'OMS (6,5-9,5). Elle peut donc être considérée comme répondant aux processus de dénitrification.

III.2.3.3. Conductivité électrique

Selon la définition de (**Helfferich, 1962**), l'échange d'ions est un procédé dans le quel les ions d'une certaine charge contenus dans une solution sont éliminés de cette solution par adsorption sur un matériau solide (l'échangeur d'ions), pour être remplacés par une quantité équivalente d'autres ions de même charge émis par le solide. En outre, en échange d'ions, les ions retirés de la phase liquide sont remplacés par des ions de la phase solide. Ainsi, il se produit effectivement un échange d'ions et non seulement une élimination dans le dernier procédé. L'évolution de l'évaluation de la conductivité électrique (CE) est présentée dans la figure ci-dessous :

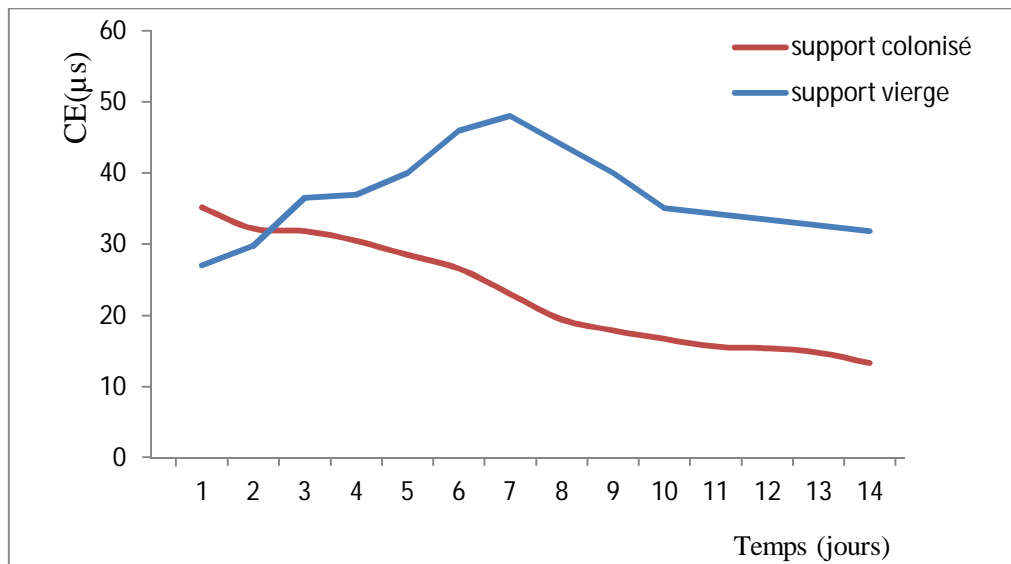


Figure III.5 : Variation de la conductivité électrique en fonction de temps

On remarque à partir de la **Figure III.5** que pour le débit la formation du biofilm dans le réacteur semble avoir une influence significative sur l'allure des courbes de la DTS notamment sur la position du pic et sur la traînée. En effet, la présence du biofilm rend différent le comportement hydrodynamique du support, en créant des passages préférentiels.

Dans une étude portant sur l'influence du garnissage sur l'hydrodynamique d'un réacteur cascade, (**Tizghadam, 2007**) a montré qu'à faible volume du garnissage, la formation du biofilm est de faible influence sur le comportement hydrodynamique du réacteur d'où la relation entre le volume du garnissage, la formation du biofilm et les caractéristiques hydrodynamiques.

La courbe du support vierge montre une variation de la CE, qui montre initialement une augmentation remarquable depuis le 1^{ers} jour jusqu' à l'obtention d'une valeur max de 48 μS avec la formation de biofilm au cours de 7^{ème} jour. Contrairement, la valeur de conductivité sera diminuée entre le 7^{ème} et le 10^{ème} jour jusqu'à la valeur minimale de 35 μS, puis une stabilisation des valeurs de la conductivité de 10^{ème} jusqu'à 14^{ème} jour. De plus, dans le cas du support colonisé la conductivité électrique a une valeur moins importante que celle obtenue dans le support vierge, et continué de diminuer jusqu' à une valeur 14 μS.

III.2.4 Paramètres chimiques (Suivi de nitrates et de nitrites)

Nous avons synthétisé les résultats obtenus lors de nos essais, en premier lieu la dénitrification sur un support puis l'élimination des nitrates et des nitrates par voie biologique. Nous avons effectué une variation de la concentration initiale en nitrates et en nitrite, respectivement, dans le réacteur d'alimentation à savoir de 0 à 2500 mg/L pour les nitrates et de 0 à 1400mg/L pour les nitrites et cela pour un même débit fixé à 2mL/min et une période 5 jours. Les résultats sont reportés sur les figures III.6 et III.7.

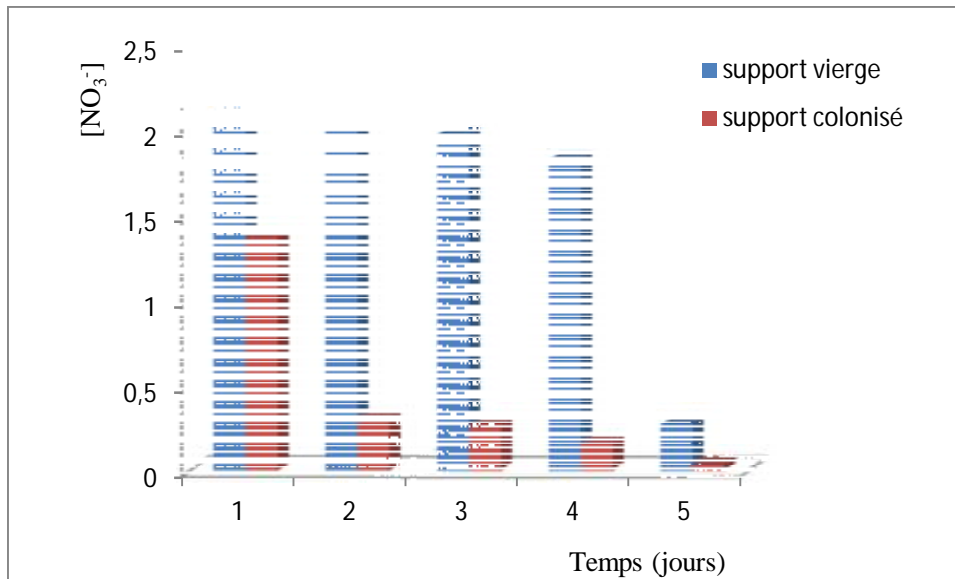


Figure III.6 : Teneurs des nitrates en fonction de temps

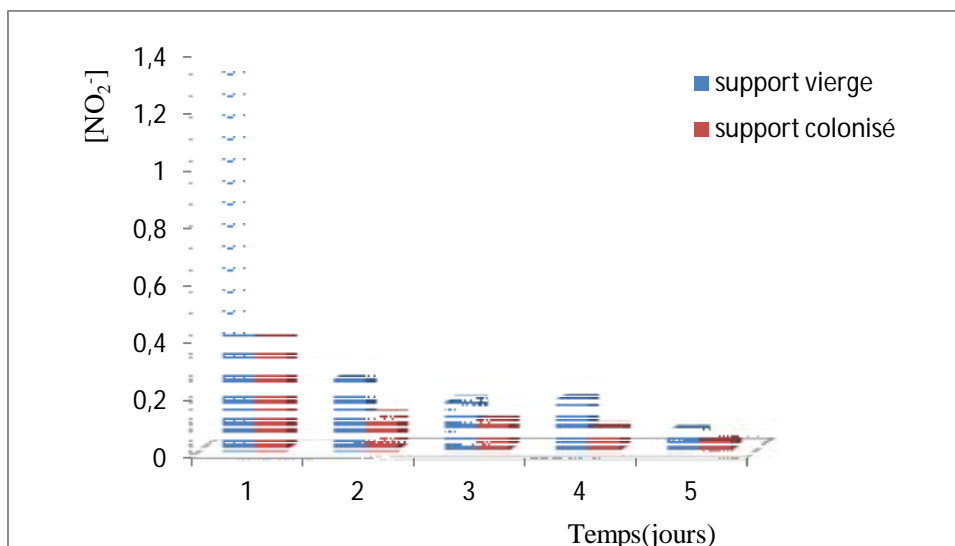


Figure III.7 : Teneurs des nitrites en fonction de temps

D'après les deux précédentes figures, nous pouvons constater que la concentration en nitrate et en nitrites durant les cinq jours de prélèvement décroît plus rapidement avec l'augmentation de temps de séjours. Celle-ci est attribuée à une adsorption des nitrates et des nitrites sur le support. Par ailleurs, nous remarquons que l'augmentation des deux concentrations dans le *Diluât* conduit à un temps de dénitrification plus long. De plus, la concentration des ions (nitrates et nitrites) dans le *Diluât* influe sur le taux d'élimination dans le *Concentrât*. En effet, nous avons une cinétique d'élimination qui décroît avec l'augmentation de la concentration dans le *Diluât*.

Ce qui permet de dire que ces supports présentaient en outre une très grande efficacité quant à la diminution de nitrates et nitrites, cette diminution varie d'un groupe à un autre. Mais d'une manière générale, un tel traitement peut participer à l'élimination d'une quantité importante des microorganismes.

L'accomplissement des réactions des différents accepteurs d'électrons (nitrate ou nitrite), nécessite un donneur d'électrons (notamment du substrat carboné). Dans la pratique, l'apport de ce dernier peut se faire de plusieurs manières.

Lorsque l'apport est externe, on parle de dénitrification exogène par rapport à la dénitrification endogène où seules les réserves cellulaires constituent la source d'approvisionnement en substrat organique. D'habitude, la dénitrification exogène est plus pratiquée car plus compétitive vis-à-vis de la dénitrification endogène, qui, bien que ne produisant pas de biomasse, est lente (**Edeline, 1988**).

Un biofilm consiste en une communauté de micro-organismes, d'espèces diverses, qui se développe et croît sur une surface immergée en milieu aqueux. La fixation des bactéries sur un support approprié dépend de l'hétérogénéité des surfaces. Malgré une phase de colonisation parfois lente, les procédés à biofilm permettent une excellente rétention de biomasse et une concentration en biomasse élevée. Par ailleurs, des études ont montré une sensibilité moindre aux faibles températures et aux agents inhibiteurs (**Pambrun, 2005; Guillemot et al., 2007**)

III.2.5. Paramètres bactériologiques (Suivi des bactéries)

L'activité biologique est considérée comme la vitesse à laquelle les biofilms métabolisent des substrats et des nutriments. Fondamentalement, cela dépend de la nature et de la concentration des espèces microbiennes présentes dans le biofilm, sur la composition chimique et les

propriétés de transfert de masse du fluide environnant et sur la structure physique de la biomasse fixée. La distribution et l'état métabolique des microorganismes dans un biofilm est un aspect le plus sensible en termes de sa performance (**Melo et Oleveira, 2005**).

De plus, le support a un rôle important, tant par sa mouillabilité que par sa rugosité et sa polarité. Les bactéries étant principalement chargées négativement (sur leur surface), l'adhésion sera plus aisée sur des supports chargés positivement. Il est à noter que des méthodes permettent de rendre les supports plus propices à l'adhésion bactérienne (oxydation physique ou procédés chimique).

Enfin, la température et le pH sont des composants qui influencent également l'adhésion bactérienne ainsi que la concentration initiale en bactéries. Le taux d'adhésion est proportionnel à la concentration en bactéries jusqu'à une teneur limite à partir de laquelle celle-ci devient constante.

Les micro-organismes les plus fréquemment rencontrés dans le processus de la dénitrification sont des bactéries qui appartiennent au genre des *Pseudomonas* et des *Alcaligenes*. Parmi les *Pseudomonas*, l'espèce dominante est *Pseudomonas fluorescens*. Cependant, des bactéries d'autres genres peuvent aussi intervenir *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Paracoccus* . (**Knowles, 1982**).

Après avoir appliqué le protocole expérimental en amont et en aval du support décrit dans la partie de méthodologie (II.10.3.1 et II.10.3.2), nous nous sommes abouti aux résultats illustrés dans le tableau III.3.

Tableau III.3 : Résultats bactériologiques de la confirmation des bactéries dénitrifiantes

Milieux de culture	Support vierge		Support colonisé	
	Mannitol-Mobilité-Nitrate	King B	Mannitol-Mobilité-Nitrate	King B
Bactérie dénitrifiantes <i>Pseudomonas</i>	(+++)	(+++)	(+)	(+)

(+++): Présence des bactéries très élevée

(+): présence faible des bactéries



Figure III.8 : Résultats bactériologiques de la confirmation des bactéries dénitrifiantes

De ce tableau, il ressort :

Dans le cas de prélèvement sur le support vierge, on remarque d'une part, la présence des souches le long de la piqûre sous forme de souche mobile, ce qui signifie que les bactéries peuvent se déplacer dans la gélose (mobilité+); et le milieu devient jaune mannitol + (Annexe 3), et d'autre part, au niveau du support colonisé, nous avons remarqué une absence de culture le long de la piqûre souche immobile (mobilité -); et le milieu reste rouge mannitol - (Annexe 3), ce qui se traduit par une diminution des souches.

Milieu de King B : ce milieu permet de différencier entre les différentes espèces du genre *Pseudomonas*, par la mise en évidence de la production de pigments spécifiques.

L'élaboration des pigments est influencée par la composition du milieu.

Pour les prélèvements à partir support vierge on remarque une culture de couleur jaune sur le milieu; par contre pour support colonisé on a remarqué une culture de couleur jaune mais avec densité très faible.

Par ailleurs, un test de coloration du Gram pour confirmer la présence des bactéries (*Pseudomonas*) à partir des milieux déjà étudiés a été effectué. Les résultats sont représentés dans la Figure III.8.



Pseudomonas (Gram-)

Figure III.9 : Identification des bactéries dénitrifiantes par coloration de Gram

*Conclusion Générale et
Perspectives*

Conclusion

Au cours de ce travail, l'étude qui a été fixée est la **biofiltration** effectuée sur un support en céramique basée sur l'utilisation de certains micro-organismes obtenus à partir d'une boue activée prélevée au niveau de la station d'épuration de Tissemsilt et avec l'utilisation de l'acétate de calcium comme source de carbone.

Au cours de la première partie de notre étude, nous avons entamé cette partie par une caractérisation du support utilisé ou nous avons fixé le débit d'alimentation à 2mL/min permettant d'obtenir un temps de dénitrification et une consommation d'énergie moyenne. Nous avons également étudié l'influence de quelques paramètres physico-chimiques tels que la température, le pH et la conductivité électrique.

La deuxième partie a été consacrée à étudier les performances de la dénitrification par procédé biologique où nous avons étudié la dénitrification pour différentes concentrations en nitrates et nitrites présents dans l'eau.

La dernière partie de notre travail a été consacrée à l'étude des paramètres bactériologiques où nous avons confirmé la présence ou l'absence des microorganismes dans notre système de biofiltration.

Les expériences réalisées ont prouvé que :

- Le support utilisé devrait être caractérisé par une porosité élevée, et une surface spécifique maximale pour réussir l'attachement des microorganismes, et la rétention des MES. De plus, il est important que le support présente de bonnes propriétés mécaniques pour éviter les zones mortes et favoriser le passage de l'effluent à travers la zone de biofiltration.
- Le biofiltre est utilisé pour la dénitrification, il supporte une charge cellulaire maximale de 3.20 mg de MVS/g du support à partir du cinquième jour de fonctionnement.
- Au sixième jour de fonctionnement un détachement du biofilm de type Abrasion a été enregistré et la quantité de biomasse encore attachée au support était de 0.46 mg de MVS/g du support.
- La température influe peu sur la vitesse de dénitrification lorsque ses variations sont progressives et que le substrat carboné rapidement assimilable est peu abondant.
- Le pH est un composant qui influence l'adhésion bactérienne ainsi que la concentration initiale en bactéries.

Conclusion

- La CE influe le processus de dénitrification et provoque la formation du biofilm.
- Les micro-organismes présentent des capacités de dénitrification et peuvent croître en présence d'oxygène.
- Le support a permis de réduire les concentrations des nitrates et nitrites, ce qui montre l'efficacité de notre procédé de biofiltration.
- Le support favorise le passage de l'effluent à travers la zone de biofiltration.

En perspective de ce travail, il est important de tester d'autres supports capables d'abriter les populations bactériennes et faire une comparaison avec les résultats obtenus dans ce travail. Ceci, afin de trouver un support qui présente des meilleures performances pour les procédés de la biofiltration.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Belghit, M. (2009).** « Etude de la qualité physico-chimique et bactériologique des eaux souterraines de la nappe plio- quaternaire dans la région de MEKNES MAROC », Thèse doctorat.
- Blecon G., Gillet M., Martin G., (1997).** Procédé de dénitrification biologique autotrophe par Thiobacillus denitrificans sur soufre-maërl. Rev. Fr, Sci. Eau, 2, 3, 267-279. (66/43735).
- BOUWER E.J., CROWE P.B., 1988. Biological processes in drinking water treatment. JAWWA, 9, 82-93. (66/63020).
- Berland, J.M. (2012).** Techniques et gestion de l'assainissement non collectif - Filières de traitement, Techniques de l'Ingénieur, C3843.
- Boeglin, JC. (1998).** « Traitements biologiques des eaux résiduaires », Technique de l'ingénieur.
- Boughrara, H. (2003).** La biodégradation par culture mixte en réacteur batch. Mémoire de magister, Université Mentouri Constantine, Algérie.
- Bougard, D. (2004).** « Traitement biologique d'effluents azotes avec arrêt de la nitrification au stade nitrite », Thèse de doctorat, École Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier.
- Burton, C. Jaouen, V. Martinez, J. (2006).** « Traitement des effluents d'élevage des petites et moyennes exploitations»: Guide technique à l'usage des concepteurs, bureaux d'études et exploitants. Edition Quae.
- Davidsson, T.E. et Leonardson, L.G. (1996),** "Effects of nitrate and organic carbon additions on denitrification in two artificially flooded soils", Ecological Engineering. 7 (2). PP 139-149.
- Dupin, S. (1992).** Dénitrification biologique hétérotrophe appliquée au traitement des eaux d'alimentation : condition et fonctionnement et mise au point d'un procédé. Thèse de doctorat de Microbiologie de l'Université de Claude Bernard, Lyon I, p281.
- Edeline, F. (1979).** L'épuration biologique des eaux résiduaires. Théorie et technologie. Cebedoc/Liège rue A. Stavart B 4000 liège.
- FAO, (2003).** L'irrigation avec des eaux usées traitées : Manuel d'utilisation.
- Foglar, L. Briski, F. (2003).** Wastewater denitrification process-the influence of methanol and kinetic analysis. Process Biochemistry. 39 (1): 95-103.
- Franck.R. (2002).** Analyse des eaux, Aspects réglementaires et techniques. Edition Scérén CRDP AQUITAINE.

Références bibliographiques

- **Gamble, T.N. Betlach , R. Tiedje, J.M. (1977).** Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils, *Applied and Environmental Microbiology* 33 [4], 926-939.
- Guillemot, G. Schmitz, M. Raynaud, P. Despax, B.(2007).** Prévention de l'adhésion des micro-organismes par plasma, *Techniques de l'Ingénieur*, RE83.
- Guillaume, S. (2009).** Modélisation d'une station par biofiltration, Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval dans le cadre du programme de maîtrise en Génie Civil pour l'obtention du grade de maître es sciences.
- Helfferich, F. (1962).** Ion Exchange, New York: McGraw-Hill Book, 624 p. MAISSA BOUGUERRA.
- Joffin, N.J. Leyral, G. (2006).**Microbiologie Technique Tome1, Dictionnaire des techniques conidin de Biologie Technique, Ed. Canopé- CRDP d'Aquitaine-Bordeaux, PP: 102, 226, 239, 257.
- Jordan T.E. and Weller D.E, (2006).** Contribution to terrestrial nitrogen flux: assessing the sources and dates of anthropogenic fixed nitrogen *Bioscience*, n° 46.
- Knowles G, (1982).** Determination of kinetic constants for nitrifying bacteria in mixed culture, with the aid of an electronic computer. *Journal of General Microbiology*.
- Laboratoire MAT INC. (2014).** Décline toute responsabilité pour toute perte ou tout dommage de quelque nature, « Acétate de calcium » Fiche signalétique.
- Laurent, A. (1952).** Degrémont, " Mémento technique de l'eau ", Ed. Technique et documentation ; 1972, Paris.
- La Tribune du Cebedeau, (1982).**Centre belge d'étude et de documentation des eaux, Centre belge d'étude et de documentation des eaux, p207.
- **Martin, G. (1979).** Le problème de l'azote dans les eaux. Ed. Tech & Doc, Lavoisier, Paris, France, 48, 835-852.
- Mammeri Lamia, (2007).** « L'utilisation du succinate de sodium comme source de carbone ».
- Melo; Oliveira (2005)** Extraction of exopolymères.
- Meyer A., Deiana J., Bernard A, (2004).** Cour microbiologie générale. 2^{ème} Ed. DoinEditeurs, France. PP 134-135.
- Misra, (2005)** Covenant University Ota Ogun State, Nigeria, Ota with ... (Software Engineering), **Ph. D** (Information Engineering).
- Moisan P, Ghosh A, Stauffer SH, Borst L, Suyemoto M, Zurek L, Gookin JL, (2001).** Associated enterococci from *Enterococcus hirae* to **biofilm**-formin. Identification of virulence attributes of gastrointestinal *Escherichia coli* isolates.

Références bibliographiques

- Napier, J. M. et Bustamante, R. B. (1988).**In-Situ Bio dénitrification of the S-3 Ponds. Environmental Progress, 7, 13-16.
- Norme AFNOR NFT 90 102, (1990).** «Méthode dosage des nitrates au réactifsulfophénique ».
- Norme AFNOR NFT 90 013, (1990).** « Méthode dosage des nitrites au réactif diazotation ».
- Office International de l'Eau (1992).** Elimination des nitrates des eaux potables Direction de l'Espace Rural et de la Forêt Document Technique Rédigé par MARIE-ODILE RATEL Mis à jour par CELINE DEBRIEU.
- Patris T., Bourbigot M.M., Claudot M., Jacq E., 1994.** La dénitrification biologique des eaux de surface. ... 145-151 Yentresque G et al, 1997.
- Pambrun,V. (2005).**Analyse et modélisation de la nitrification partielle et de la précipitation concomitante du phosphore dans un réacteur à alimentation séquencée, Thèse de Docteur ingénieur, L'Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse.
- Payne, W.J. (1981).**Reduction of nitrogenous oxides by microorganisms Bacteriol. Rev. 37, 409-452.
- Rocher V., Paffoni, C., Gonçalves, A., Azimi, S et Michel. (2008).** La biofiltration des eaux résiduaires urbaines : retour d'expérience du SIAAP Gousailles Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science, vol. 21, n° 4, p. 475-485
- Rodier, J. Bazin. C, Broutin, P. Champsaur. H, Rodi .L, (2005).** « L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer », 8ème édition. DUNOD. Paris
- Rodier, J. (1978)** L'analyse de l'eau, sixième édition, ©BORDAS, Paris 0618780212 ISBN 2-04-010037-7.
- Santé Canada, (1992).** « Le nitrate et le nitrite ». Recommandation pour la qualité de l'eau potable au Canada. Documentation à l'appui,«www.hesc.gc.ca/catalogue/dpcpubs/repcoc» appui Nitrate .PDF.
- Shahabi, Z. et Naeimpoor, F. (2014).**Enhanced Heterotrophic Denitrification: Effect of Dairy Industry Sludge Acclimatization and Operating Conditions. Applied Biochemistry and Biotechnology, 173, 741-752.
- Schmidt,M Schmitt M(1),Schuler-Schmid .U, Lorenz.W,(1990).**Temperature limits of growth, TNase and enterotoxin production of Staphylococcus .
- Strathmann, H. (1981).** Membrane SeparationProcesses, Journal of Membrane Science, 9 121-189.

Références bibliographiques

- Tizghadam, A. Leon-Garcia, (2007).**Connected Vehicles and Smart Transportation .Intelligent Transportation Systems Conference, ITSC.
- Torbjon M, Vuitton V, Molettat R. (2000).** Le procédé SBR : une solution efficace et économique pour dépolluer les eaux usées des petites fromageries du massif jurassien. In : nuisances Adpdtdeed, Poitiers ESDId, ses. 14^{èmes} journées Information Eaux (JIE 2000). Poitiers, 13-15 septembre ; 2000 : 45-1 à 11 (communication orale, texte intégral).
- Vigne, E. 2007,** Modélisation dynamique du comportement d'un procédé par biofiltration en nitrification tertiaire, (rapport de thèse).
- Werner, D.N (1991).** Reviewofnatural and artificial dénitrification of groundwater Dater Reseach. 25(9). PP.1099-1111.
- Wisjnuprpto, (1981).** Mise au point d'un procédé biologique compact de dépollution (Etude de l'élimination du carbone de l'azote et du phosphore), Thèse de doctorat en Chimie Industrielle. INSA de Toulouse.
- **Yala, A.(2011).** « Dénitrification d'un concentrât d'électrodialyse par une biomasse fixée sur trois supports en plastique », Thèse de Magister, Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, Alger.
- Zidane, F. Berrada, B. Lekhlif, B. Lounes, M. et Blais, J. (2006).** « Performance of abiofilter with plastic packing to treat effluents highly contaminated with phenol, cadmium, and chromium”. *Journalof Environmental Engineering and Science*, volume5, numé 4, p. 317-327.

Annexe

Annexe

Annexe A1 : Photos des matériels utilisés au laboratoire



Balance analytique



Conductimètre



Agitateur magnétique



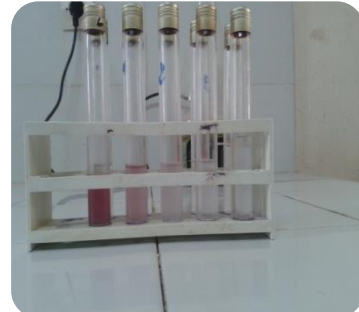
Bain marie



Spectrophotomètre UV visible



Etuve



Délutions

Annexe



Préparation des réactifs

Annexe

Annexe A2 : Composition du réactif sulfophénique

Réactifs

- Acide sulfonique
- phénol

Préparation

- Dissoudre 12 g de phénol dans 144 ml d'acide sulfonique
- Laisser 2 h dans un bain marie

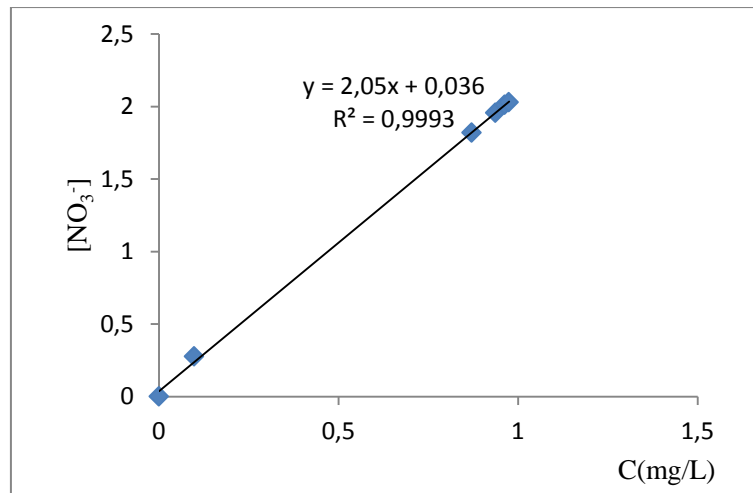


Figure1 : Courbe d'étalonnage de nitrates

Annexe A3 : Composition de réactif du diazotation

Réactifs

- Acide ortho phosphorique H_3PO_4
- sulfanilamide $C_6H_8O_2N_2S$
- dichlorure de N-(1- naphthyle) éthylène diamine
- Nitrite de potassium $NaNO_2$ en poudre

Préparation

- Prendre 30ml d'eau distillée.
- Ajouter 5ml de H_3PO_4
- Ajoute 2g de $C_6H_8O_2N_2S$
- Après dissolution, ajouter 0.1g de dichlorure de N-(1- naphthyle) éthylène diamine
- Mélange et compléter à 250ml avec d'eau distillée
- conserver à $4^\circ C$ dans un flacon brun

Annexe

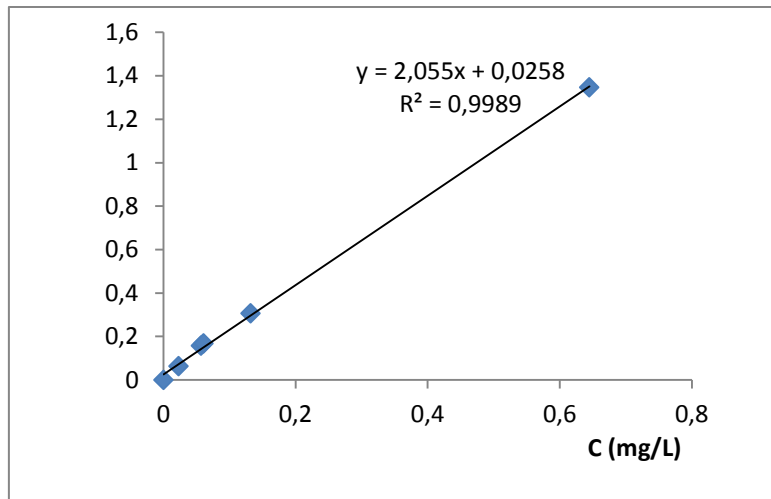


Figure2 : Courbe d'étalonnage de nitrites

AnnexeA4: Milieux de culture

Composition King B

Peptone "B"	20,0 g
Glycérol	10,0 g
Hydrogéo- phosphate de potassium	1,5 g
Sulfate de magnésium heptahydraté.....	1,5 g
agar purifié	12,0 g
pH = 7,2	

Technique

A partir d'une culture sur gélose (faire une suspension en eau distillée) ou dans un bouillon, ensemercer le milieu en faisant une strie à la surface de la gélose avec l'anse (ou en déposant une goutte de suspension).

- L'incubation est réalisée en aérobiose.

Composition Mannitol-Mobilité-Nitrate

Ce milieu permet l'étude de la dégradation du mannitol qui est un produit de dégradation du mannose

* Les bactéries très mobiles peuvent se déplacer dans la gélose molle : étude de la mobilité.

* Les nitrates du milieu peuvent être réduits en nitrites puis en N₂ : test nitrate réductase.

Hydrolysats tryptique de caséine:.....10,0 g

Annexe

Mannitol:.....7,5 g
Rouge de phénol:.....0,04 g
Nitrate de potassium:.....1,0 g
Agar:.....3,5 g
pH = 7,6

Préparation

22 g par litre. Stérilisation classique

Technique

Ensemencer par piqûre centrale à l'aide d'un fil droit.

Incuber 24 h à T° optimale.

R : ce milieu est utilisable uniquement pour les bactéries fermentatives.

Lecture

Résultats possibles

*Milieu jaune : mannitol +

*Milieu rouge : mannitol –

Ensemencement en piqure centrale.

*Trouble diffus dans la gélose molle mobilité +

*Trouble persiste près de la piqure mobilité -

Pour une bactérie aérobie stricte, la culture sur toute la hauteur accompagnée éventuellement de bulles montre une respiration nitrate. La réduction des nitrates pourra être visualisée par addition des réactifs habituels. Leur acidité entraîne un virage progressif au jaune d'un milieu rouge.

*Le nitrate réductase est capable de réduire les nitrates jusqu'au stade nitrites.

*Le nitrate réductase est capable de réduire les nitrates jusqu'au stade diazote (gazeux)

Tableau II.3 :Technique de coloration de Gram

Coloration de Gram	
Technique	Résultats
<ul style="list-style-type: none">-Réaliser le frottis et le fixer.-Colorer au violet de gentiane (cristal) phénol durant environ 1min.-Laver à l'eau distillée(ou de robinet).-Faire agir la solution de lugol durant environ 1 min.-Laver à l'eau distillée(ou de robinet).-Faire agir l'éthanol à 0.95 durant 10 secondes ou faire couler l'éthanol sur la lame jusqu'à décoloration.-Laver à l'eau distillée(ou de robinet).-Colorer à la fuchsine phénol de quelques secondes à 1 min selon sa concentration.-Laver à l'eau distillée(ou du robinet).	Les bactéries à Gram positif apparaissent violettes et les bactéries Gram négatif sont roses.

Annexe

<p>-Observer après séchage à l'immersion (objectif x100) et à pleine lumière.</p>	
---	--

Résumé

La présente étude s'intègre dans le cadre du développement de la technologie de traitement des eaux par biofiltration, qui repose essentiellement sur l'utilisation d'un support granulaire sur lequel se fixe les populations bactériennes qui dégradent la pollution. L'objectif principal de ce travail est de tester la possibilité de valoriser les déchets de fabrication de la brique à usage de construction bâtiment comme support de biodénitrification dans un réacteur à lit fixe avec un écoulement ascendant.

Les résultats obtenus montrent que le support peut supporter une charge cellulaire de l'ordre de 3.20 mg de MVS/g du support à partir du cinquième jour de fonctionnement. Le support permet de réduire les concentrations des nitrates et nitrites, ce qui montre l'efficacité de notre procédé de biofiltration.

Mots clés: Biofiltration; support ; biofilm ; boues activées, nitrates, nitrites

ملخص

هذه الدراسة تدخل في إطار تطوير تكنولوجيا تصفية المياه بطريقة طبيعية ، و التي تعتمد على داعم الذي يحتوي على جزيئات التي تقوم بتثبيت البكتيريا التي بالتصفية. الهدف أساسي من هذا العمل هو محاولة استغلال مخلفات البناء كالأجر كداعم لإزالة النترات وذلك باستعماله في حوض ثابت مع تدفق صاعد.

النتائج توضح بان الداعم قادر على استيعاب 3.20مغ من مادة الجافة و ذلك ابتداء من اليوم الخامس من العمل الداعم يسمح بتقليص تركيز النترات و النيتريت وذلك بثبت فعالية نظرتنا في التصفية.

الكلمات الدلالية : تصفية ، داعم السيراميك، بيوفيلم ، الحمأة المنشطة، النترات، النيتريت .