

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET
DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MENTOURI CONSTANTINE
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE CHIMIE

N° d'ordre :

Série :

MEMOIRE DE MAGISTER
EN CHIMIE ANALYTIQUE ET PHYSIQUE

Option : Chimie de l'environnement

Présenté par :

BOUGHERARA Hassina

LA BIODEGRADATION PAR CULTURE MIXTE EN REACTEUR
BATCH

SOUTENUE LE :

Devant le jury :

A. HAOUAM	Professeur	Université de Constantine	Président
B. KEBABI	Professeur	Université de Constantine	Rapporteur
K. BELMOKRE	Professeur	Université de Skikda	Examineur
C MOUATS	M. C	Université de Constantine	Examineur

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction

I.1.1. Généralités sur l'azote

I.1.2. Cycle de l'azote

I.1.2.1. La fixation

I.1.2.2. L'assimilation

I.1.2.3. L'ammonification

I.1.2.4. La nitrification

I.1.2.5. La réduction assimilatrice

I.1.2.6. La dénitrification

I.2. Nitrates

I.2.1. Propriétés physico-chimique

I.2.2. Source de contamination

I.2.3. Origine des nitrates dans les eaux

I.3. Les effets des nitrates

I.3.1. Nitrates et risques sanitaires

I.3.1.1. La méthémoglobinémie

I.3.1.2. Pouvoir cancérigène

I.3.2. Effet sur l'environnement

I.4. La lutte contre la pollution par les nitrates

I.4.1. Les procédés d'élimination des nitrates

I.4.1.1. Les procédés physico-chimiques

I.4.1.1.1. Echange d'ions

I.4.1.1.2. Procédés membranaires

a. Osmose inverse

b. L'électrodialyse

I.4.2. Les procédés biologiques

I.4.2.1. Principes fondamentaux de la biodégradation des polluants organiques dans les milieux aqueux

I.4.2.2. Les facteurs biologiques de la biodégradation

I.4.2.2.1. Les micro-organismes

I.4.2.2.2. Les enzymes

I.4.2.3. Bases théoriques du traitement aérobie

I.4.2.4. La dénitrification

I.4.2.5. Microorganismes dénitrifiants

I.4.2.6. Les caractéristiques Générales de la dénitrification

I.5. Mécanismes biologique de la réduction des nitrates

I.5.1. Réduction assimilatrice

I.5.2. Facteurs influençant la dénitrification

I.5.2.1. La température

I.5.2.2. Le pH

I.5.2.3. L'oxygène

I.5.2.4. Concentration des nitrates

I.5.2.5. La nature de la source de carbone

I.5.2.6. Le rapport C/N

I.5.2.7. Le rôle du potentiel d'oxydo-réduction

I.5.2.8. Substances toxiques

I.6. Biochimie de la dénitrification

I.7. Cinétique du processus de dénitrification

I.7.1. Cinétique de croissance

I.7.2. Vitesse de dénitrification

I.8 Composés organique volatils

I.8.1. Définition des (COV)

I.8.2. Type des COV

I.8.3.1. Impact sur l'environnement

I.8.3.2. impact sur la santé publique

I.8.4. Techniques de traitement des COV

I.8.4.1. Gérer et réduire à la source

I.8.4.2. Traitement biologique des COV

I.8.5. La demande chimique en oxygène

I.8.5.1. Principe de la DCO

I.9. La croissance bactérienne

I.9.1. condition de croissance bactérienne

I.9.1.1. Besoins nutritif

I.9.1.1.1. macroéléments

I.9.1.1.2. Les microéléments

I.9.1.2. Les facteurs environnementaux

I.9.1.2.1. Température

I.9.1.2.2. Oxygène dissous

I.9.1.2.3. pH

I.9.1.2.4. Toxicité

I.9.2. Cinétique de la croissance bactérienne

I.9.3. Schéma de la croissance

I.9.4. Modèles de croissance bactérienne

I.9.5. Les techniques classiques de la mesure de croissance

II MATERIELS ET METHODE

II.1. Matériel

II.1.1. Microorganismes

II.1.2. Source de carbone

II.1.3.1. préparation de la farine de datte et de son extrait

II.1.3.2. Analyse chimique de la farine de dattes

Détermination de l'humidité

II.1.4. pH-métrie

II.1.5. Oxymétrie

II.2. Méthodes analytiques

II.2.1. Dosage des métabolites

II.2.1.1. Dosage des nitrates

II.2.1.2. Mesure de la biomasse

II.2.1.2.1. Spectrophotométrie

II.2.1.2.2. Matière sèche de la biomasse

II.3. Conditions de culture

III RESULTAT ET DISCUSSION

III.1. Etude de l'adaptation d'une culture mixte dans un milieu synthétique :

III.2. Suivi d'une dénitrification avec la farine de datte comme source de carbone

III.3. Contrôle du pH du milieu réactionnel au cours de la dénitrification

III.4. Influence du rapport C/N

III.5. Effet de la concentration initiale de la source de carbone

Conclusion générale

ANNEXES

Annexe 1


Annexe 2

Annexe 3

LISTE DES FIGURE ET DES TABLEAU

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Résumé



INTRODUCTION GENERALE

Introduction Générale

Bien qu'apparemment inépuisable, l'eau est très inégalement répartie dans le monde. Au vu du développement industriel et de la demande de plus en plus croissante, tous les pays auront, à plus ou moins brève échéance, à faire face au problème de son manque. La mobilisation des eaux superficielles a été de tous temps une préoccupation pour l'homme. L'eau est un élément de la vie quotidienne, et elle est si familière, qu'on oublie souvent son rôle, son importance et sa nécessité absolue. Sans l'eau, la terre ne serait qu'un astre mort, et aucune vie humaine, biologique, ou animale, n'existerait. Devant les besoins croissants en eau douce, et l'impossibilité de se contenter des ressources naturelles, l'humanité est conduite à étudier et à développer divers procédés permettant de l'obtenir à partir des eaux de mers, des eaux saumâtres, et des eaux usées dans des conditions admissibles techniquement et économiquement.

Les eaux souterraines destinées à l'alimentation humaine sont souvent sujet à d'innombrables sortes de pollution chimique. L'une des principales pollutions des eaux souterraines par les produits diffusés, d'origine notamment agricole, est la pollution par les nitrates. Ces derniers proviennent essentiellement de l'utilisation intensive des substances chimiques et organiques (engrais, fumiers, lisiers) en agriculture. Les conséquences de leur présence ne constituent certes pas un problème nouveau mais plusieurs conditions d'ordre agronomique économique et sociologique se trouvent réunies aujourd'hui pour que des solutions soient recherchées avec un maximum d'efficacité.

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

L'élimination des nitrates est devenue possible grâce aux différentes techniques à la fois physico-chimiques (échangeurs d'ions, osmose inverse) et biologiques (dénitrification

hétérotrophe ou autotrophe). Les nitrates contenus dans les eaux usées urbaines sont essentiellement traitées 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 au moins poussée [Dupin, 1992].

L'élimination biologique des nitrates est un des moyens les plus économiques et des plus efficace pour réduire les nitrates [Werner, 1991].

La dénitrification est une alternative à la respiration classique de l'oxygène dans les zones peu oxygénée [Torbjorn, 2000]. La source d'oxygène est constituée par les nitrates ou l'un des intermédiaires est utilisé comme accepteurs finals d'électrons transférés le long de la chaîne respiratoire. Dans ce cas la source de carbone pourra être des sucres, des l'alcools ou des acides.

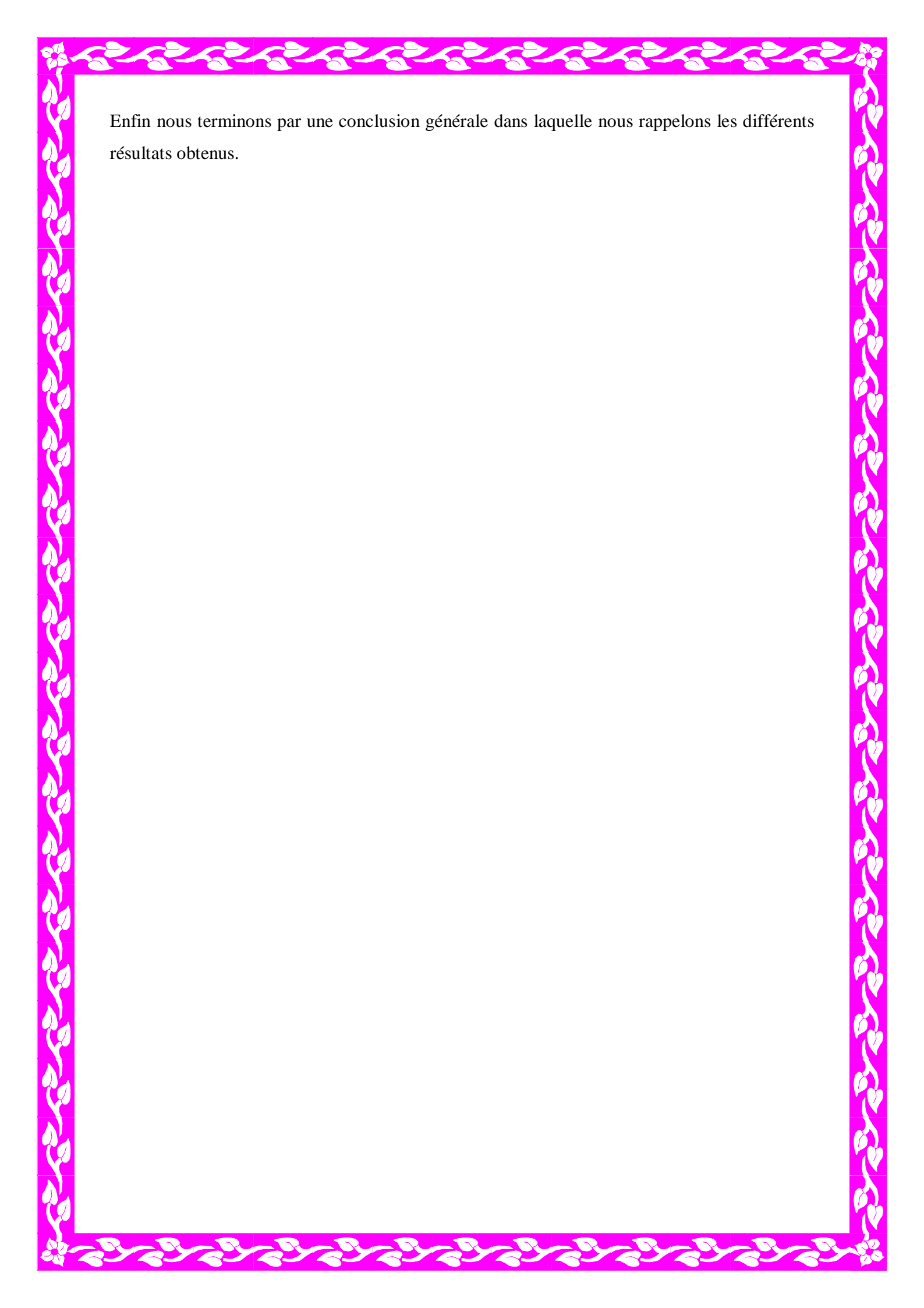
Le travail que nous présentons ici consiste en l'étude de la capacité de dénitrification d'une culture mixte prélevé dans la station d'épuration d'El Menia, Constantine, en utilisant la farine de dattes comme source de carbone et d'énergie.

Le travail est présenté sous forme d'un mémoire composé de quatre parties :


La première partie est une étude bibliographique sur l'importance de l'azote et l'ensemble des systèmes vivants y compris les nitrates, leurs origines dans les eaux et leurs risques sanitaires. Les différents procédés de leurs traitements seront ensuite abordés, en insistant sur ceux actuellement utilisés (dénitrification biologique). Nous terminons cette partie par un aperçu général sur les microorganismes, on rappellera sur leurs dynamismes et la cinétique de leurs croissances.

La seconde partie présente les appareillages et les méthodes spécifiques utilisés lors d'expérimentation.

La troisième partie est consacrée à la dénitrification en présence d'une culture mixte de microorganismes en utilisant la farine de dattes comme source de carbone. Les constantes cinétiques de la croissance bactérienne et l'influence d'un certain nombre de facteurs opératoires sur la vitesse de dénitrification seront examinées.



Enfin nous terminons par une conclusion générale dans laquelle nous rappelons les différents résultats obtenus.



SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

I.1.1. Généralités sur l'azote

L'azote est un élément chimique très répandu dans la nature. L'ensemble des réactions biologiques de croissance requiert la présence de cet élément. La forme azotée la plus abondante et la plus stable (N_2), représentant 79 % de l'atmosphère terrestre [Martin, 1979]. En effet il constitue entre 16 et 23 % de protéines cellulaires et environ 12 % des acides nucléiques [Patureau, 1995].

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

I.1.2. Cycle de l'azote

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

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

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

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

L'azote est soumis à des cycles d'assimilation, minéralisation, oxydation, réduction qui sont le fait d'organisme animaux et végétaux, ainsi que de microorganismes (Heathwaite, 1993).

Les principales étapes du cycle de l'azote sont la fixation, l'assimilation, l'ammonification, la nitrification et la dénitrification (figure 1).

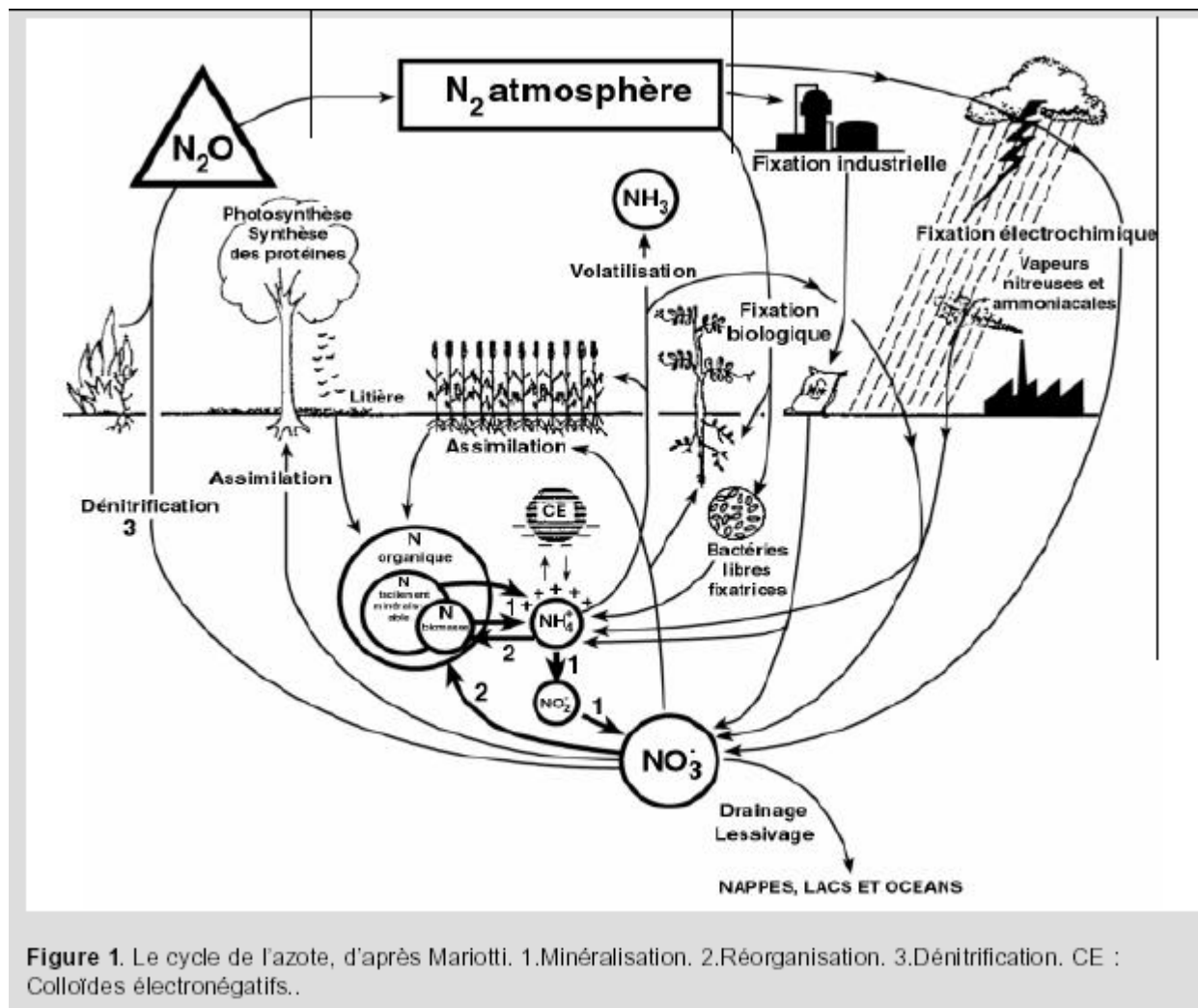
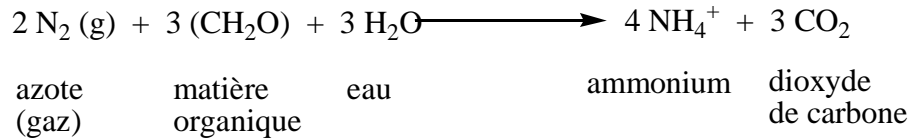


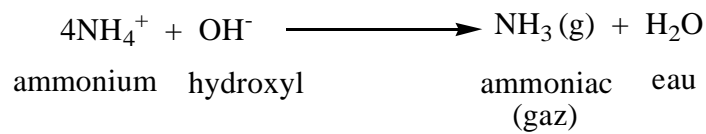
Figure 1. Le cycle de l'azote, d'après Mariotti. 1.Minéralisation. 2.Réorganisation. 3.Dénitrification. CE : Colloïdes électronégatifs..

Figure1 : le cycle de l'azote

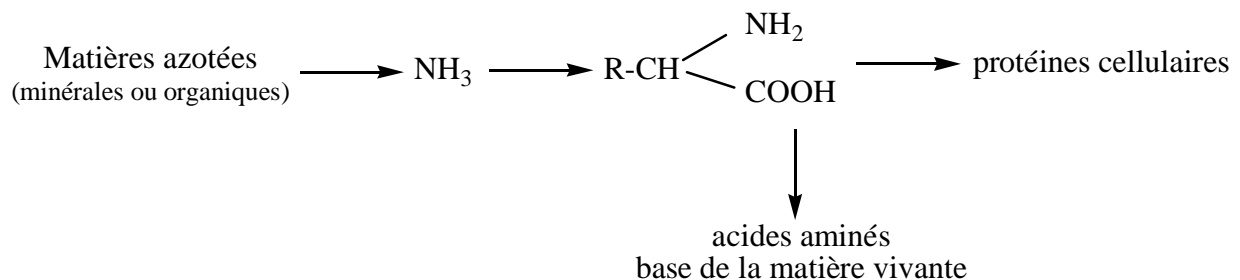
I.1.2.1. La fixation correspond au passage de l'azote atmosphérique (N₂) en azote combiné sous l'action de certains organismes qui consomment cet N₂ par la réaction de réduction :



De plus, si le sol est basique, il y aura formation d'ammoniac :



I.1.2.2. L'assimilation est la transformation de la forme assimilable de l'azote ammoniacal (NH₃) ou organique inerte en matière vivante. Elle est simultanée à celle du carbone et conduit à la synthèse de protéines et d'acide nucléiques [Martin, 1979]

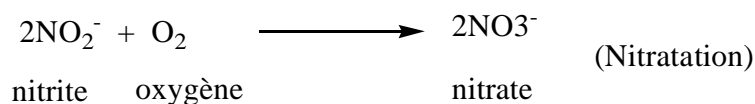
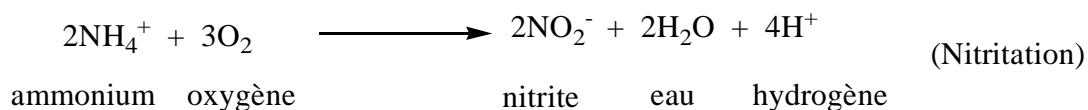


I.1.2.3. L'ammonification est la libération d'ammoniac à partir de matières azotées organiques par des réactions enzymatiques [Mariotti, 1982].



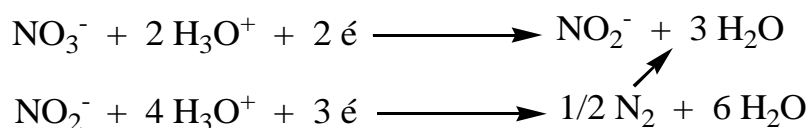
I.1.2.4. La nitrification La nitrification est définie comme étant la conversion de composés azotés réduits (organiques ou inorganiques) en éléments dont l'azote est dans un état plus oxydé

[Alexander *et al*, 1960]. La nitrification est généralement réalisée par des micro-organismes autotrophes qui utilisent l'azote ammoniacal ou le nitrite comme source d'énergie (donneurs d'électrons) et comme source d'azote, le dioxyde de carbone comme source de carbone et l'oxygène comme accepteur final d'électrons. Elle s'opère en deux étapes : la nitritation qui est l'oxydation de l'ammoniac en nitrite, et la nitratisation correspondant à l'oxydation du nitrite en nitrate [Daisy BOUGARD, 2004].



I.1.2.5. La réduction assimilatrice (ou dissimilatrice) qui est la réduction de l'azote nitrique (NO_3^-) en ammoniac (NH_4^+).

I.1.2.6. La dénitrification permet à l'azote de retourner à l'atmosphère sous sa forme peu réactive : N_2 . Il s'agit ici d'une réaction de réduction des nitrates grâce à l'action de bactéries dénitrifiantes qui peuvent transformer la matière organique [Shoun *et al*, 1992].



I.2. Nitrates

I.2.1. Propriétés physico-chimique

Le nitrate (NO_3^-) est un ion naturel présent de façon naturelle dans l'environnement. Il se forme naturellement au cours du cycle de l'azote, notamment lorsque des matières organiques se décomposent, par l'action des bactéries du sol. L'azote organique se transforme par oxydation en composés ammoniacaux puis en nitrates. [Santé Canada, 1992].

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

Les nitrates sont très utilisés comme engrais minéraux. Ils sont également utilisés dans les explosifs, comme agents oxydants dans l'industrie chimique et comme agents de conservation. Dans des conditions anaérobies, le nitrate peut se dénitrifier [Adam, 1980].

I.2.2. Source de contamination

En raison de la stabilité de l'ion nitrate, la plupart des substances azotées de l'environnement ont tendance à se transformer en nitrates, donc elles sont des sources potentielles de ce dernier. Dans l'eau, ces substances peuvent provenir de la décomposition de matières végétales ou animales, d'engrais utilisés en agriculture, du fumier, d'eaux usées domestiques et industrielles et des précipitations ou de formations géologiques renfermant des composés azotés solubles [Adam, 1980 ; Egboka, 1984].

I.2.3. Origine des nitrates dans les eaux

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

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

En France par exemple, chaque année, 2 500 000 tonnes d'engrais azotés sont répondues sur les cultures. Cet apport en masse ne peut être absorbé en totalité par les plantes. Le surplus reste sur les sols et il sera lessivé par les pluies. On fini par retrouver ces engrais dans les eaux superficielles ou dans les eaux souterraines.

A ces engrais azotés, il convient d'ajouter les nitrates d'origine animale. Un porc de moins de six mois et qui pèse 100 Kg évacue une quantité de lisier (mélange d'urine et de matière fécales) correspondant à 1 m³/an, (soit 5,5 Kg d'azote. S'il est mal stocké, il pollue en priorité les eaux de surfaces. A revoir).

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

Les teneurs en nitrates sont en augmentation ces dernières années. La progression dans les eaux souterraines est couramment de 0,5 à 1 mg/l/an et peut atteindre 2 mg. Une situation voisine se rencontre dans les eaux superficielles (Ratel, 2002).

L'augmentation des teneurs des composés azotés traduit une pollution de la ressource liée aux activités humaines (tableau1) et en particulier aux activités de surfaces (tableau2).

Eaux	Composés azotés concernés	Type de pollution	Source de pollution
-------------	----------------------------------	--------------------------	----------------------------

Eaux superficielles des rivières, canaux lacs, étangs	Ammonium Ammoniaque dissoute Azote organique	Ponctuelle	Rejets industriels et domestiques Rejets d'effluent d'élevage
	Nitrates Nitrites	Ponctuelle et diffuse	Alimentation des eaux superficielles par des nappes polluées
Eaux souterraines		Diffuse	«Fuites» des zones industrielles et habitées Activités agricoles et intensives
	NO ₃ ⁻ presque uniquement	Macroponctuelle ou macrodiffuse	Même source que ci-dessus Rejets industriels, domestique de l'agriculture ou des élevages

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

Tableau1 : Principales origines des NO₃⁻, NO₂⁻, NH₄⁺ dans l'environnement [Ratel, 1992].

Teneurs	Activités et occupation des sols
Très élevées et croissantes	Occupation urbaine et industrielle dense et/ou agriculture intensive.

Moyennes	Agriculture traditionnelle moyennement intensive, habitat rural dispersé
Faibles	Forêt et zone d'élevage intensif avec des prairies permanente peu fertilisées

Tableau2 : Teneurs en nitrates et activités ou occupation du sol (source : Ratel, 1992)

I.3. Les effets des nitrates

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

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

I.3.1. Nitrates et risques sanitaires

I.3.1.1. La méthémoglobinémie

L'hémoglobine assure le transport de l'oxygène dans l'organisme grâce à la présence de fer dans la molécule, à condition que celui-ci soit à l'état bivalent (fer ferreux). Dans ce cas, l'hémoglobine au contact de l'oxygène donne à l'oxyhémoglobine qui assure, en quelque, sorte la livraison d'oxygène aux divers tissus de l'organisme. Les nitrites résultant de la réduction des nitrates oxydent le fer ferreux (Fe^{2+}) présent dans l'hémoglobine en fer ferrique (Fe^{3+}). Le nitrite est alors absorbé dans le sang et l'hémoglobine est convertie en méthémoglobine (MetHb) qui ne peut pas transporter l'oxygène [white et al, 1973].

L'approvisionnement réduit de l'oxygène aux tissus essentiels, tels que le cerveau et au-delà d'un certain taux de méthémoglobine, différents symptômes apparaissent d'une cyanose légère à des troubles de conscience pouvant évoluer vers la mort par anoxie cellulaire.

Cette pathologie est surtout observée chez les sujets déficients en G6PD (glucose-6-phosphate-deshydrogénase ou méthémoglobine-réductase) qui ont une impossibilité de régénérer de l'hémoglobine à partir de la méthémoglobine. Les nourrissons moins de six mois contrairement aux adultes boivent plus d'eau relativement à leurs poids, ainsi que leur estomac est faiblement acide et contient une flore bactérienne capable de transformer les nitrates en nitrite, en conséquence l'hémoglobine fatale se transforme assez facilement en méthémoglobine. Aussi des conditions de prédisposition à la méthémoglobinémie ou cyanose du nourrisson semblent exister pour les nourrissons dont la mère a consommé régulièrement des eaux à fortes teneurs en nitrates, c'est pour quoi la norme des nitrates (< 50 mg/l) a été établie en fonction de cette population.

Il semble que, dans leur majorité, les cas de méthémoglobinémie surviennent quand les taux de nitrates dans l'eau de consommation dépassent 100 mg/l [Trancart, 1997].

I.3.1.2. Pouvoir cancérigène

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

Le nitrite est facilement absorbé dans l'estomac et peut réagir avec les composés nitrosables, comme les amides et les amines pour former des nitrosamines. Ces composés de N-nitrosés sont de puissants cancérigènes chez l'animal [Hathcock, 1982 ; Self, 1992].

Chez l'homme, de nombreuses études ont recherché d'éventuelles corrélations entre le taux de nitrates dans l'eau de boisson et la survenue de cancer, digestifs

essentiellement. Leurs résultats ne permettent pas de conclusions définitives [Scholtes, 1991].

Le Conseil Supérieur d'Hygiène publique de France précise en 1985 et en 1995 que, pour les teneurs rencontrées actuellement en France, le risque de cancer pour l'homme n'a pas été démontré, malgré la mobilisation d'efforts de recherche [Marie, 2002].

Les relations entre ces divers composés azotés et les risques qui résultent de leur présence sont présentées dans la figure 2.

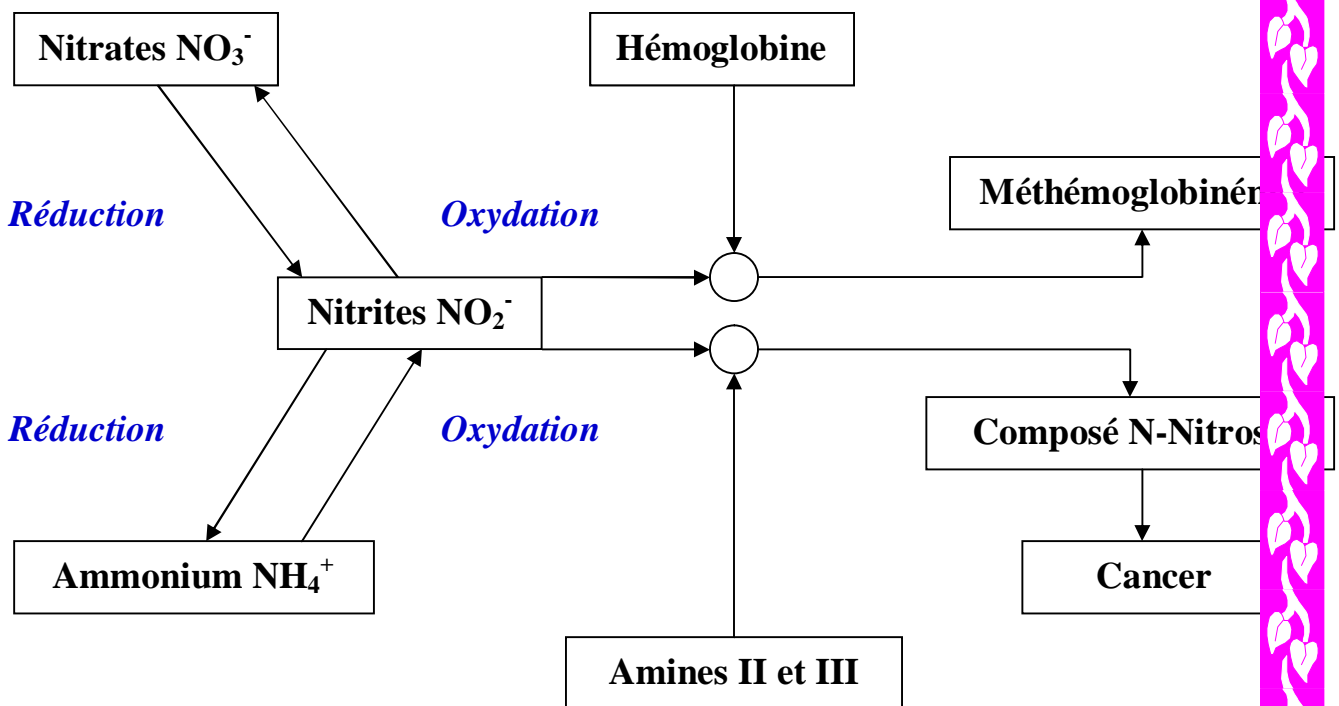


Figure 2: Schéma représentant la relation entre les divers composés azotés et les risques qui résultent de leur présence

I.3.2. Effet sur l'environnement

En ce qui concerne l'environnement, dans les eaux de surface, les nitrates ne sont pas décomposés, car l'eau est en général aérée, sauf dans des circonstances de condition extrême. L'effet majeur des nitrates sur les eaux de surface est de les

conduire à l'eutrophisation. Ce processus se déclenche quand les eaux sont trop chargées en nitrates et en phosphates, ces deux nutriments qui permettent la croissance des algues. Quand ils sont tous les deux en grande quantité dans l'eau, les algues microscopiques (phytoplancton) et les végétaux fixés (macrophytes) se développent de façon excessive.

La matière organique présente dans le fleuve augmente démesurément (la rivière devient parfois verte tellement les algues y pullulent), et quand les algues meurent, cette matière organique se décompose en consommant tout l'oxygène de la colonne d'eau, induisant ainsi l'anoxie, c'est-à-dire l'absence d'oxygène dans l'eau, et donc la mort de tous les poissons et invertébrés du milieu. Cette anoxie ne se produit pas en général dans le réseau fluvial mais dans les estuaires turbides où le transit de l'eau est fortement ralenti et où la décomposition l'emporte sur la production algale. Le phénomène d'eutrophisation fluvial se produit principalement au printemps et en été, quand l'ensoleillement est fort, permettant la photosynthèse par les algues, et la température élevée.

I.4. La lutte contre la pollution par les nitrates

Ces différents problèmes causés par les nitrates, en plus que tous les sels de ces derniers sont très solubles dans l'eau, ont amené les chercheurs à effectuer des recherches concernant la lutte contre la pollution de eaux. Il est possible d'utiliser et de combiner certaines techniques pour que les eaux usées, domestique et urbaines et les eaux usées résiduelles industrielles, ne soit déversées dans le milieu naturel qu'après avoir subi des traitements réduisant la pollution dans des limites acceptables, respectant les exigences biologiques du règne animal, du règne végétal et au-dessus de tout du genre humain.

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

I.4.1. Les procédés d'élimination des nitrates

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

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

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

L'enlèvement des nitrates dans les eaux usées est principalement effectué par nitrification et dénitrification, processus biologiques qui s'avèrent habituellement plus économiques que les traitements physico-chimiques (Metcalf et Eddy, 2003).

I.4.1.1. Les procédés physico-chimiques

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

- ▶ Echange d'ions sur résines
- ▶ Deux procédés membranaires « osmose inverse et électrodialyse ».

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

I.4.1.1.1. Echange d'ions

Le traitement des eaux par échange d'ions est un procédé ancien largement répandu. La première réalisation industrielle de dénitratisation de l'eau par cette voie a été mise en route en 1974, aux Etats-Unis. L'échange ionique consiste à transférer des ions indésirables de l'eau brute sur un support insoluble, appelé échangeur d'ions, qui les capte et libère en contre partie une quantité équivalente d'ions dont la présence n'est pas gênante. Cette technique est très utilisée mais le seul

inconvéniént est élevé surtout pour la régénération d'échangeur d'ion [Simon, 1985]. L'échangeur d'ions possède une capacité limite de stockage sur son support (capacité d'échange) et doit être régulièrement régénéré, par une solution fortement concentré d'ions choisis.

Dans le cas de l'élimination des nitrates, on utilise des résines de type anionique (échangeur d'anions). Comme la plupart des échangeurs, ces résines se présente sous forme de billes de diamètre compris entre 0,4 et 0,8 mm, ce sont des polymères de composés aromatiques comprenant des groupes ionisés de type basique.

Un autre inconvéniént de pose pour cette technique c'est que les anions nitrates ne sont pas les seuls retenus. Il existe même une sélectivité différente suivant l'espèce anionique. Des plus retenus aux moins retenus, l'ordre généralement cité est :



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

I.4.1.1.2. Procédés membranaires

Ces procédés s'étant avérés trop coûteux par rapport aux techniques de dénitratisation par échange d'ions. Dans les procédés membranaires, on utilise les propriétés des

membranes spécifiques afin de séparer une solution et un solvant sous l'effet d'une force extérieure.

a. Osmose inverse

L'osmose inverse est l'application d'une pression supérieure à la pression osmotique de l'eau à traiter riche en nitrates qui permet d'obtenir une eau déminéralisée après avoir traversée d'une membrane semi perméable. Semi perméable signifie dans ce

cas que l'eau peut se diffuser à travers la membrane, tandis que, les minéraux ne peuvent pas la traverser.

Le rendement dépend de la pression appliquée, de la concentration du soluté, et du flux demandé en eau traitée. Il peut varier de 85 à 95 % (pression 30 à 60 bars).

Les avantages du procédé sont liés à l'absence de régénération. Par ailleurs, ce procédé pourra peut être se développer avec l'introduction de nouvelles membranes plus spécifiques. Cette technique, bien développée pour le dessalement des eaux de mer ou saumâtre, reste limitée pour la dénitrification [Balducchi, 1994].

b. L'électrodialyse

C'est un procédé qui consiste à éliminer les sels dissous d'une eau, par migration à travers des membranes sélectives sous l'action d'un champ électrique [Eckenfelder, 1982].

Le principe de l'électrodialyse est l'application d'un courant continu entre les électrodes d'une cellule, constituée par un empilage de membranes semi-perméables et alimentées en eau riche en nitrates. On obtient dans certains compartiments un rejet concentré en nitrates et dans d'autre de l'eau déminéralisée. La mise en œuvre nécessite l'utilisation de membranes sélectives (à base de benzyl-4-pyridinium) qui permettent de retenir les nitrates. Les rendements obtenus pour l'élimination des nitrates peuvent atteindre 40 à 60 %. Ils dépendent de la teneur en sulfate.

I.4.2. Les procédés biologiques

Les traitements biologiques occupent une place importante parmi les procédés mis en place pour éliminer les nitrates. En France et à l'étranger, les eaux résiduaires urbaines sont majoritairement traitées par voie biologique. Le coût du traitement des nitrates par voie biologique en couplant la nitrification et la dénitrification est estimé à 2,3 à 4,5 € / kg N contre 4,5 à 11,3 pour un traitement physico-chimique [Van Dongen et al, 2001].

I.4.2.1. Principes fondamentaux de la biodégradation des polluants organiques dans les milieux aqueux

Le mot biodégradation (ou dégradation biologique) désigne un phénomène naturel, général dans le monde, tendant à transformer et minéraliser les déchets organiques, grâce à l'action des microorganismes, notamment des bactéries [Vaillant, 1973]. L'homme peut aussi accélérer artificiellement ce processus en favorisant le développement des bactéries, dans des stations d'épuration d'eau usées et d'effluents gazeux.

I.4.2.2. Les facteurs biologiques de la biodégradation

I.4.2.2.1. Les micro-organismes

Le terme « micro-organismes » couvre un groupe hétérogène d'être vivant de taille microscopique et pour la plupart unicellulaire. Les micro-organismes appartiennent à deux principaux groupes :

- Les procaryotes qui n'ont pas de noyau. Ils comprennent les eu bactéries et archéobactéries.
- Les eucaryotes dont l'ADN est contenu dans un noyau délimité par une double membrane. Ils comprennent les protozoaires, les algues, les algues unies.

Les champignons et les bactéries ont évolué durant des millions d'années et ont développé la capacité à dégrader toutes sortes de composés chimiques après une période d'adaptation.

I.4.2.2.2. Les enzymes

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques. Elles induisent des augmentations très importantes des vitesses de réaction dans un environnement qui, sans elles, ne serait pas favorable à ces réactions biochimiques. Elles sont produites par les cellules (animales, végétales ou microbiennes).

D'un point de vue structural, toutes les enzymes sont des protéines spécialisées de structure tridimensionnelle et dont les masses moléculaires varient entre 10^3 et 10^6 Da.

Les enzymes sont classés en six groupes, selon leur activité : hydrolases, estérases, isomérases, réductases, lyases et ligases [Durant et al, 1982 ; Lenz, 1993]. Elles donnent lieu à différents mécanismes catalytiques.

I.4.2.3. Bases théoriques du traitement aérobie

En présence de nourriture abondante, les microorganismes vont se développer rapidement et auront tendance à former des masses floconneuses plus au moins compactes. Le floc bactérien ainsi défini, permettra l'oxydation des matières biodégradables. En fait, le phénomène est plus complexe, puisqu'une partie des matières organiques est assimilée et transformée en matériel cellulaire, une autre portion est dégradée par oxydation dont l'énergie et récupérée sert à la synthèse cellulaire.

Lorsque la nourriture est abondante, il y a alors un phénomène de stockage par les cellules qui l'utiliseront au fur et à mesure à leurs besoins (figure3) [GAID, 1984].

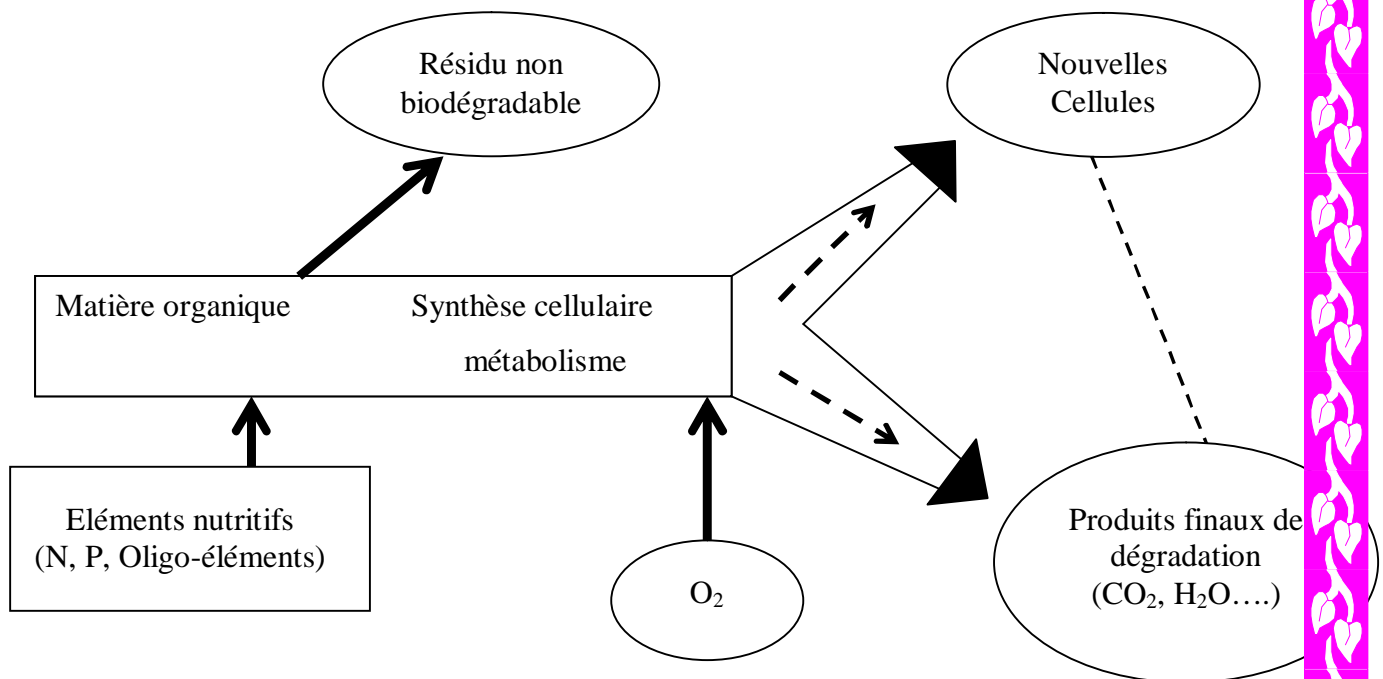


Figure 3 : Schéma de principe d'utilisation de la matière organique

I.4.2.4. La dénitrification

La dénitrification est un processus biologique anoxique [Kargi, 2000] par lesquels certains micro-organismes convertissent le nitrate NO_3^- en azote gazeux N_2 pour produire l'énergie nécessaire à la croissance cellulaire. La plupart des microorganismes dénitrifiants sont facultatifs et utilisent donc préférentiellement l'oxygène comme accepteur final d'électrons dans la chaîne respiratoire. C'est pourquoi la dénitrification requiert des conditions anaérobies, ou plus exactement anoxie. Une concentration de 0,2 mg O₂ L⁻¹ serait suffisante pour inhiber la dénitrification dans un procédé par boues activées traitant des eaux usées domestiques [Metcalf et Eddy, 2003].

La réduction des nitrates se fait en deux étapes. La première étape est la conversion des nitrates en nitrites.



Les nitrites sont ensuite réduits en azote gazeux avec pour intermédiaire le monoxyde d'azote et l'oxyde nitreux [Firestone et al., 1979 ; Ye et al., 1994 ; Yoshimatsu, 2000].

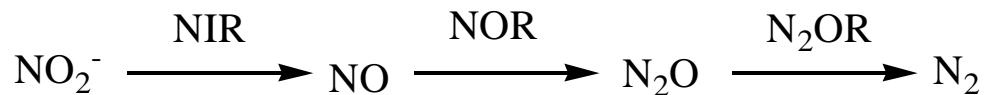


Figure 4 : Etapes de la dénitrification, intermédiaires et enzymes (NAR = nitrate réductase, NIR = nitrite réductase, NOR = oxyde nitrique réductase, N₂OR = oxyde nitreux réductase).

1.4.2.5. Microorganismes dénitrifiants

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

Il est à noter que certains micro-organismes ne peuvent réduire que le nitrite ou s'arrêtent au protoxyde d'azote comme [Kuenen et Robertson, 1987].

1.4.2.6. Les caractéristiques Générales de la dénitrification

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 ammoniacale

I.5. Mécanismes biologique de la réduction des nitrates

Les trois voies de réduction du nitrate sont présentées en figure X

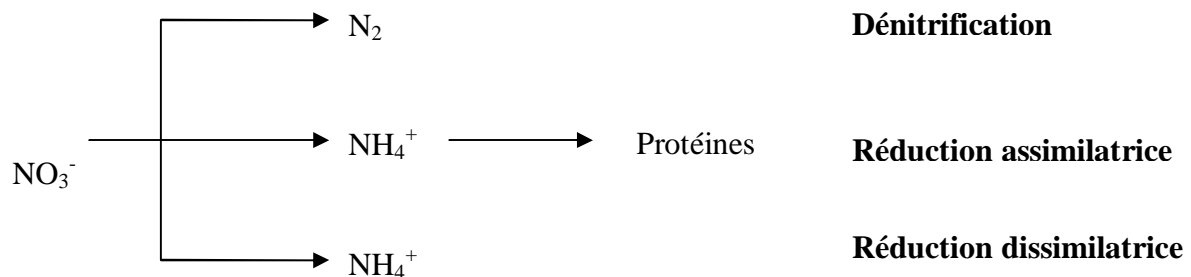


Figure 4 : Les voies de la réduction des nitrates.

I.5.1. Réduction assimilatrice

En absence de l'azote ammoniacal dans le milieu, le nitrate ou le nitrite peuvent être utilisés comme source d'azote. Cette réduction du nitrite 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 *Azobacter* ou des *Pseudomonas* [Tiedje, 1988 ; Martin, 1979].

1.5.2. Facteurs influençant la dénitrification

Parmi les facteurs influençant la dénitrification, on trouve notamment la température, le pH, la concentration en oxygène dissous, les concentrations en substrats et celles des produits de la réaction ainsi que quelques substances.

1.5.2.1. La température

La dénitrification étant l'œuvre d'un grand nombre d'espèces bactériennes, les conditions optimales de température sont très variables et on rapporte dans la littérature des gammes de tolérance étendues de 5°C à plus de 75°C [Martin, 1979]. De 35 à 60°C la dénitrification augmente avec la température, avec essentiellement

accumulation de protoxyde d'azote, alors qu'à des températures supérieures à 60°C, elle décroît [Knowles, 1982]. Aux basses températures, les vitesses de dénitrification sont faibles mais mesurables jusqu'à 3°C [Sutton et al., 1975]. La température agit aussi sur la dénitrification à travers son rôle dans la solubilité et la diffusion de l'oxygène.

1.5.2.2. Le pH

En général, le pH optimum se situe entre 7 et 8,5. Il varie toutefois selon les microorganismes et la concentration en nitrate et ces variations peuvent affecter les produits de la réaction. [Knowles, 1982]. A pH acide ($\text{pH} < 5$), la réduction de l'azote est incomplète et il y a accumulation d'oxyde nitreux (N_2O) et l'oxyde nitrique (NO) [Knowles, 1982]. La réaction de dénitrification 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 le nitrite.

1.5.2.3. 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 [Rittmann et Langeland 1985]. Cependant, il existe quelques micro-organismes qui sont capables de dénitrifier en aérobiose.

1.5.2.4. Concentration des nitrates

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

1.5.2.5. La 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 essentielle 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 ; Isaacs *et al.*, 1994 ; Louzeiro *et al.*, 2002 ; Nyberg *et al.*, 1992 ; Tam *et al.*, 1992 a et b].

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.

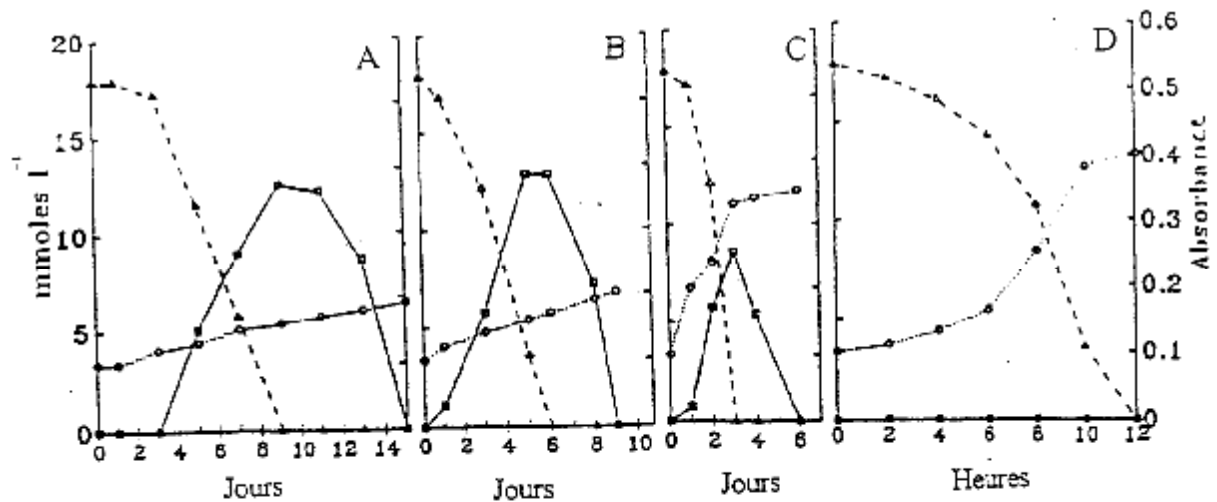


Figure 5 : comparaison de la dénitrification de *paracoccus denitrificans* en présence de différentes sources de carbone (Blasczyk, 1993). A : méthanol, B = acétate, C = éthanol, D = milieu riche (Δ = nitrate \square = nitrite, \circ = absorbance).

1.5.2.6. Le rapport C/N

Quelle que soit la source de carbone utilisée, la détermination d'une concentration en carbone à fournir par rapport à la concentration en nitrate à éliminer (rapport C/N) est une étape préliminaire obligatoire à toute optimisation de traitement biologique par dénitrification. Le rapport DCO/N pour une dénitrification complète est égal à 2,86 pour le nitrate et 1,71 pour le nitrite sans tenir compte de la croissance cellulaire. De nombreux auteurs [Skrinde et Bhagat, 1982 ; Nyberg *et al.*, 1992 ; Tam *et al.*, 1992 a et b] soulignent qu'indépendamment de la source de carbone utilisée, le rapport DCO/N doit être compris entre 3 et 6 pour avoir de bonnes performances de dénitrification biologique. Des études sur la dénitrification [Bernet *et al.*, 1996] montrent que le rapport

C/N minimal pour une réduction totale du nitrate en N_2 est de 3,4 et pour une dénitrification totale du nitrite est de 1,08.

1.5.2.7. Le rôle du potentiel d'oxydo-réduction

Les réactions de respiration ou de dénitrification étant composées d'une succession de réactions d'oxydo-réduction, le potentiel d'oxydo-réduction global et de chaque intermédiaire est un facteur important. La vitesse de dénitrification augmente lorsque le potentiel d'oxydo-réduction décroît [Lie et Wellander, 1994]. Kucera et al. [1983] ont montré que le nitrite et le protoxyde d'azote produits lors de la dénitrification ou ajouté au milieu, diminuaient le taux de réduction de nitrate en oxydant la chaîne respiratoire via les nitrites et l'oxyde nitreux réductases.

1.5.2.8. Substances toxiques

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

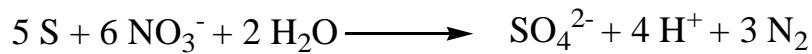
- Les cyanures et le dinitrophénol qui inhibent la chaîne respiratoire des microorganismes.
- Les ions sulfures qui inhibent NOR et N₂OR.
- L'acétylène qui inhibe N₂OR.

I.6. Biochimie de la dénitrification

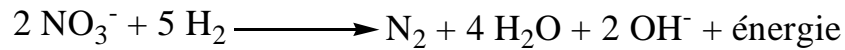
La réduction des nitrates est couplée à l'oxydation soit de composés minéraux comme le soufre ou l'hydrogène soit de composés carbonés organiques [Patureau, 1995].

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

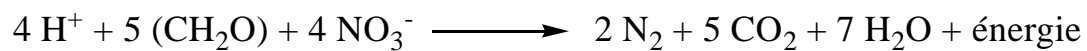
Dénitrification autotrophe : Certaines bactéries autotrophes sont capables d'assurer leurs besoins énergétiques en utilisant des composés minéraux (soufre, hydrogène ou le fer métallique) [Bock et al., 1995], comme donneurs d'électrons de la respiration du nitrate selon :



Elle est réalisée par des bactéries de type *Thiobacillus denitrificans* qui ont la capacité de réduire les nitrates en oxydant de nombreux composés soufrés comme S_2^- , S, $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, SO_3^{2-} et même H_2S .



Dénitrification hétérotrophe : de même en absence de l'oxygène, des changements s'opèrent dans le métabolisme énergétique de certaines bactéries hétérotrophe. Ces bactéries utilisent des composés organiques comme donneurs d'électrons de la respiration du nitrate, pour assurer leurs besoins énergétiques [Kermarrec, 1999].



5 (CH_2O) est un substrat organique

Les composés organiques carbonés, sont aussi variés que les bactéries qui les utilisent.

1.7. Cinétique du processus de dénitrification

1.7.1. Cinétique de croissance

La croissance bactérienne suit une cinétique de Monod [Lobry, 1991 ; Kargi, 2000] vis-à-vis du substrat. On écrit alors la vitesse spécifique de croissance comme suit :

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

Où : μ_D est le taux de croissance des bactéries dénitrifiantes [j^{-1}],

μ_{\max} est le taux maximal de croissance [j^{-1}],

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

K_D est la constante de demi-saturation [$\text{mg NO}_3^-/\text{l}$].

1.7.2. Vitesse de dénitrification

La vitesse de dénitrification R_D [$\text{mg NO}_3^- \text{ oxydé}/\text{j}$] est définie comme le produit de la vitesse spécifique d'absorption du substrat et la concentration de biomasse dans le réacteur.

$$R_D = - (\mu_{\max} / Y_D) ([\text{NO}_3^-] / (K_D + [\text{NO}_3^-])) X_D$$

Où : X_D est la concentration de biomasse dénitrifiante dans le réacteur [$\text{g cellules}/\text{m}^3$].

Y_D est le rendement théorique du processus [$\text{mg MVS}/\text{mg NO}_3^- \text{ éliminé}$].

(MVS : Matière Volatiles en suspension).

I.8 Composés organique volatils

I.8.1. Définition des (COV)

Les composés organiques sont présents dans l'environnement sous de multiples formes [Doussin, 1998]. Le terme générique de «composés organique volatils» ou «COV» regroupe les composés organiques dont la pression de vapeur est au minimum de 0,1 mbar à 20° C ou dont le point d'ébullition se situe au maximum à 240° C pour une

pression de 1013.25 mbar [C.F.S., 2002] et qui participent aux réactions photochimique qui forment l'ozone, à l'exception d'une liste de composés considéré par certaines organisations environnementales telles que l' USEPA comme présentant une réactivité atmosphérique négligeable dont font partie le chlorure de méthylène et l'acétone [M.D.E.Q.,1995].

I.8.2. Type des COV

On divise les COV en deux types, les polaires (acétone, formaldéhyde,...) et les non polaires (propane, benzène, toluène,...)

I.8.3.1. Impact sur l'environnement

Les COV figurent parmi les espèces chimiques responsables des phénomènes perturbateurs des équilibres de l'atmosphère [Deseveaux, 1995]. Ces hydrocarbures réactifs participent dans la troposphère à des réactions photochimiques en présence d'oxyde d'azote NO_x et de lumière. Ils permettent ainsi la formation de O_3 qui est corrélée à la température de l'air. Des principaux polluants de l'air, l'ozone reste le plus important, l'oxydant photochimique le plus répandu et un important composant du «smog». Il a un impact significatif sur la santé humaine et sur les écosystèmes. L'exposition à l'ozone induit des dommages aux récoltes et aux forêts, ainsi qu'à certains matériaux tels que les caoutchoucs et les peintures. Certains COV survivent à l'oxydation et aux processus de transformation, aboutissant ainsi à leur accumulation et à leur persistance dans l'environnement [Mester et Harrison, 1995]. Le temps de demi-vie des COV dans la troposphère varie, plus il est long plus le transport de ces composés loin de leurs sources d'émissions est possible. Comparé à l'éthanol avec un temps de demi-vie T de 3.4 jours, le méthanol a un temps de demi-vie T assez long de 12.7 jours [Picquet et al, 1998].

Les émissions biogéniques de COV affectent la formation d'ozone troposphérique. Leur importante influence sur la pollution photochimique a été sous estimée compte tenu du fait qu'elles ont toujours été considérées comme négligeables par rapport à celle des émissions anthropogéniques faute d'étude approfondies sur le sujet. Les émissions de certains COV biogéniques même à de faibles concentrations peuvent avoir des effets significatifs sur la production et le transport de l'ozone, vu leur réactivité élevée [OTF2, 2000].

I.8.3.2. impact sur la santé publique

Si les émissions des COV sont à l'origine de vives préoccupations environnementales, il en découle aussi des préoccupations d'ordre sanitaire. Dans tout environnement intérieur ou extérieur, il y'a une variété de sources d'émission des COV qui affectent le confort, la santé et la productivité humaine [Xu et Zhang, 2004]. De nombreuses études ont montré que la majeure partie des effets néfastes observés sur la santé suite à une exposition aux COV surviennent dans un environnement clos. Cela est dû au fait que les sources d'émissions des COV dans cet environnement sont multiples [Guo et al, 2004].

Les COV peuvent être absorbés par inhalation, par ingestion ou par contact dermique (cutanée) [Churchill, 2001]. Les effets sont très divers selon les COV, ils vont de la simple gêne olfactive à une irritation, à une diminution de la capacité respiratoire jusqu'à des risques d'effets mutagènes ou cancérogènes.

L'appareil respiratoire constitue une voie d'exposition privilégiée pour les COV, qui peuvent avoir des effets nocifs apparaissant à court ou à long terme. Une corrélation entre l'exposition aux COV et les symptômes liés aux voies respiratoires chez l'enfant est démontrée [Lehmann, 2002]. L'asthme est l'affection pulmonaire la plus communément associée aux polluants présents dans un environnement clos. Une enquête sur les relations possible entre l'asthme et les émissions des surfaces intérieures nouvellement peintes a été entreprise et l'information recueillie a été comparée aux résultats obtenus suite à l'exposition au formaldéhyde et à certains COV. Les résultats

indiquent que l'exposition aux émissions chimiques de la peinture est liée à l'asthme, et qu'un certain nombre de COV émis peut causer des réactions inflammatoires dans les voies aériennes.

Une étude suggère que l'exposition de la femme enceinte aux COV peut avoir une influence sur le statut immunitaire du nouveau-né [Lehmann, 2002]. La contamination hydrique par les COV contribue, en particulier chez la femme enceinte, à l'apparition de certains effets néfastes sur la santé du nouveau-né principalement en période de

gestation tels que des malformations du système nerveux central, des malformations du tube neural, des malformations cardiaques, une masse pondérale à la naissance inférieure à la normale ainsi qu'une réelle implication dans l'apparition de la leucémie chez l'enfant [Churchil, 2001].

Vu l'utilisation massive de différents solvants organiques simultanément ou successivement dans les différents secteurs industriels, des problèmes de santé apparaissent chez les ouvriers fortement exposés. Des études épidémiologiques ont suggéré que l'exposition aux solvants peut être un facteur de risque atteinte par les maladies neurologiques telles que la maladie de parkinson, les scléroses multiples et l'atteinte neuronal moteur. Les symptômes résumés dans des déficits visuels des couleurs jaune et bleue, de forts tremblements et plus précisément au niveau des jambes, des altérations cognitives, constituent un syndrome lié à l'exposition des peintres aux solvants (Dick et al, 2000). Des problèmes cardiovasculaires dus à l'exposition professionnelle aux solvants organiques ont été démontrés. Des ouvriers exposés à des concentrations élevées de benzène et de xylène ont présenté une augmentation de l'hypertension artérielle et des changements pathologiques électrocardiographiques [Churchil, 2001]. De sévères maux de tête ont été aussi associés à l'exposition aux solvants «stoddart» connus sous le nom d'«esprit de sel» [Prince et dpengler, 2001]. Certains COV présent dans l'atmosphère ambiante sont suspectés d'avoir le potentiel d'induire le cancer chez l'homme. Des plus importants COV appartenant à cette catégorie, on cite le formaldéhyde (méthanal) qui est un

cancérogène nasal potentiel et les hydrocarbures aromatiques polynucleaires qui sont des agents inducteurs potentiel du cancer des poumons [Mester et harrisson, 1995].

L'association entre l'exposition aux COV et les effets spécifiques observés sur la santé s'est avérée difficile suite à la gêne occasionnée par deux facteurs biologiques importants : un court temps de demi-vie des COV dans le sang et une présence fréquente et naturelle des COV dans le sang chez la majorité des individus (à cause de leur omniprésence dans l'environnement) [Churchill, 2001].

I.8.4. Techniques de traitement des COV

I.8.4.1. Gérer et réduire à la source

Pour lutter contre la pollution par les COV, il faut premièrement essayer de réduire leurs utilisations dans les procédés industrielles [ghadha, 1993].

La méthode préventive consiste soit à éliminer l'utilisation des solvants ou COV (décapage par billes de glace, par exemple) soit à remplacer les produits habituels par des produits à faible teneur en solvant ou sans solvants du tout (peintures, encres, vernis à base aqueuse...)

I.8.4.2. Traitement biologique des COV

Une recherche permanente est devenue nécessaire pour la réduction, la valorisation et l'élimination des déchets ainsi que le traitement des effluents gazeux, liquides et solides par des voies physiques, chimiques, physico-chimiques et biologiques [scriban, 1993]. On distingue les techniques de récupération qui permettent de valoriser les solvants en tant que matière première et les techniques de destruction qui permettent parfois de valoriser les solvants sous forme énergétique. Les techniques de destruction sont utilisées généralement pour le traitement de mélanges de composés ou la récupération serait complexe ou coûteuse. Les deux familles de techniques par destruction sont l'oxydation thermique et le traitement biologique [Bourinet et Venot, 1999].

En raison des implications économiques et environnementales significatives induites par l'utilisation et l'émission de COV lors des processus industriels, un intérêt grandissant est porté sur les techniques de traitement les plus rentables [Dunn et al, 1996].

De part le monde, les systèmes microbiens sont utilisés pour traiter les sols, les eaux et l'air contaminés par les COV [Villaverde et Fernandez-Polanco, 1999]. Dans l'état actuel des techniques de traitement, les procédés biologiques ont pour eux l'avantage des prix de revient les plus faibles [Roques, 1980] avec une capacité de dégrader un éventail de COV, sans produire de polluants secondaires [Biowise, 2000]. Le traitement biologique se distingue aussi par son objectif qui n'est pas la

maximalisation de la production de telle biomasse spécifique ou tels métabolites, mais plutôt de restituer, au milieu naturel le vecteur du substrat dépourvu de composantes polluantes [Scriban, 1993]. La biotechnologie exploite donc la capacité des microorganismes et plus précisément des bactéries à oxyder aérobiquement les polluants [Deshusses, 1994]. Ils sont utilisés comme source de carbone pour leur propre biosynthèse (Anabolisme) et comme source d'énergie indispensable à leur dégradation (catabolisme) [Le Cloirec et al. 1991]. Le résultat d'une attaque microbienne d'un substrat par une souche pure ou par une population mixte peut conduire à sa transformation en biomasse, sa minéralisation, sa polymérisation ou sa biotransformation [Scriban, 1993].

Flore microbienne	Phase aqueuse	
	Mobile	stationnaire
En suspension	Biolaveur	/
Immobilisée	Biolaveur à cellules fixées (trickling filter)	biofiltre

Tableau 3. Les différents procédés biologiques

L'étude des biofiltres montrent qu'ils excellent dans deux domaines majeurs : Le traitement des composés odorants et l'élimination des COV, en particulier les solvants, de l'air contaminé.

Une étude a permis de faire subir aux vapeurs de méthyle éthyle cétone (MEK) et l'iso butyle méthyle cétone (MIBK) une biodégradation aérobie par des cultures mixtes dans des biofiltres.

Dans ce cas, la capacité maximale d'élimination du biofiltre a été de $120\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ pour MEK et de $30\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ pour MIBK, capacité réduite à respectivement 40 et $18\text{g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$ lors du traitement de mélange de MEK et de MIBK à concentration égales

[Deshusses, 1994]. Dans une autre étude, près de 46Kg de méthanol ont pu être dégradés par mètre cube de DTB (Dry Tubular bioreactor) et par jour et ce avec un rendement d'élimination proche de 100% [Vandermesse, 1996]. L'efficacité de la biofiltration a aussi été testée pour le traitement de l'air contaminé par des vapeurs d'éthanol, en utilisant différents matériaux de garnissage (remplissage). Le charbon actif granulaire (CAG) est le matériel le plus performant avec le taux d'élimination le plus élevé de 50 à 219 $\text{gm}^{-3}\text{h}^{-1}$ [Hodge et Devigny, 1994].

I.8.5. La demande chimique en oxygène

I.8.5. Principe de la DCO

Les conditions d'oxydation de la matière organique ont été renforcées par le choix :

- D'un oxydant plus puissant ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en milieu sulfurique concentré).
- D'un catalyseur d'oxydation, le sulfate d'argent (Ag_2SO_4).
- D'une réaction conduite à chaud sous reflux pendant 2h.

Cette oxydation énergique permet une dégradation plus poussée de la matière organique, suivant un protocole d'oxydation plus reproductible car beaucoup plus énergique : la réaction n'évolue pas en général au bout de 2 heures.

L'oxygène nécessaire à la dégradation de la pollution initiale est apporté par l'oxydant qui voit donc sa concentration diminuer pendant la réaction.

I.9. La croissance bactérienne

La croissance bactérienne est un processus complexe qui se déroule en plusieurs séquences : absorption de 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 fille dotée chacune d'une copie du génome et des autres composants cellulaires.

La présence des nutriments est une condition nécessaire mais non suffisante pour la croissance bactérienne qui n'est possible que dans des conditions physico-chimiques et en présence de certains facteurs environnementaux.

I.9.1. condition de croissance bactérienne

I.9.1.1. Besoins nutritif

Les besoins nutritifs requis par les cellules peuvent être classés en deux catégories : ***les macroéléments et les microéléments***

I.9.1.1.1. macroéléments

Les besoins des microorganismes en macroéléments sont de concentrations supérieures à 10^{-4} M.

- Le carbone C est le constituant majeur de la cellule bactérienne, représentant approximativement 50% du poids sec. Les hétérotrophes ont besoin du carbone sous forme de composés organiques réduits, relativement complexes comme le glucose.

- L'azote N constitue 10 à 14% du poids sec. Les sources d'azote les plus communément utilisées sont l'ammoniac, les sels d'ammonium (NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3), les protéines, les peptides et les acides aminés.

- Le phosphore P constitue 3% du poids sec. Les sels inorganiques de phosphate tels que KH_2PO_4 et K_2HPO_4 , sont les plus utilisés comme source d'azote.

- Le soufre S constitue approximativement 1% du poids sec. Les sels de sulfate tels que $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, sont les principales sources de soufre.

- Le potassium K est le cofacteur de quelques enzymes et participe dans le métabolisme des hydrocarbures. Les cellules tendent activement à utiliser K^+ et Mg^{2+} et à exclure Na^+ et Ca^{2+} . Les sels de potassium les plus communément utilisés sont K_2HPO_4 , KH_2PO_4 et K_3PO_4 .

- Le magnésium est habituellement fourni sous forme de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ou MgCl_2 .

I.9.1.1.2. Les microéléments

Les éléments traces sont essentiels à la nutrition bactérienne. Les plus utilisés sont le fer Fe, le zinc Zn et le manganèse Mn. Certains ions tels que Mg^{2+} , Fe^{3+} et PO_4^{3-} peuvent précipiter dans le milieu nutritif et devenir inutilisables par les cellules. Des agents chimiques permettent la formation des composés solubles avec les ions précipités. L'acide citrique, l'EDTA, les polyphosphates, l'histidine, la tyrosine et la cystéine sont les agents les plus utilisés (Schuler et Kargi, 1992). La croissance dépendra parfois de la présence dans le milieu de composés organiques dont la synthèse est impossible : il y a *auxotrophie* et les molécules incriminées telles que les vitamines, les acides aminés, les acides gras et les nucléotides sont appelées *facteur de croissance* (Scriban, 1993).

I.9.1.2. Les facteurs environnementaux

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

I.9.1.2.1. Température

La température exerce une influence déterminante sur l'ensemble de l'activité cellulaire bactérienne et joue un rôle essentiel dans la croissance. Propriété commune à toutes les réactions chimiques et enzymatique la croissance est accélérée par une augmentation de la température et on peut considérer globalement que la vitesse de croissance double lorsque la température s'élève de 10°C . Toute fois, à partir d'une certaine température, certains constituants (enzymes, acides nucléiques) ou structures cellulaires peuvent subir une altération ou dénaturation. Donc la destruction thermique emportera sur la croissance cellulaire.

Selon la zone de température optimale de développement on distingue trois catégories principales de microorganismes (Scriban, 1993).

Les psychrophiles de 10 à 20°C.

Les mésophiles de 25 à 35°C.

Les thermophiles de 50 à 60°C.

I.9.1.2.2. Oxygène dissous

Les microorganismes peuvent croître en présence et ou absence de l'oxygène et comme l'oxygène est toujours présent sous forme liée à divers composés du milieu ou au sein de bactéries : eau, hydroxyles, carbonyles, carboxyles donc sa présence peut être indispensable ou au contraire toxique, car revenant à sa fonction réductrice ; l'oxygène permet la formation de produits toxiques tels que le super oxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou les radicaux hydroxyles. Cependant les cellules produisent des enzymes (catalase, peroxydase, superoxyde dismutase) pour les désactiver (Billon, 1994).

Selon leurs besoins de l'oxygène on peut distinguer trois classes de microorganismes : *les aérobies stricts, les anaérobies facultatifs et les anaérobies stricts*

Les microorganismes aérobies utilisent l'oxygène comme accepteur terminal d'électrons dans la respiration. Les anaérobies en contre partie, utilisent d'autres accepteurs d'électrons tels que les sulfates, les nitrates ou le CO_2 .

I.9.1.2.3. pH

Le pH mesure l'activité de l'ion $[H^+]$. Il est particulièrement important comme paramètre de la croissance bactérienne ainsi que l'ionisation des composés chimiques. Il joue aussi un rôle dans le transport des nutriments et des substances toxiques dans la cellule (Billon, 1994).

Les limites de pH pour la croissance et la reproduction bactérienne ont été étudiées par de nombreux auteurs en particulier, Baas-Becking et col, 1996 (Jean Claude, TI).

Les pH alcalins sont d'une façon générale préjudiciable aux microorganismes avec une limite de leur développement se situant pour des valeurs de l'ordre de 9 à 9.5. Pour les valeurs comprises entre 0 et 8, on observe différents types de comportement liés à leur aptitude à tolérer et (ou) métaboliser les acides organiques (minéraux) présent dans le milieu. Ainsi les bactéries sont, en règle générale, *neutrophiles* et présentent une meilleure croissance pour les pH voisin de 7. Lorsque le pH tombe à 5, elles sont inhibées. Certaines d'entre elles a métabolisme acidogène sont cependant capable de se reproduire pour des valeurs inférieures [Scriban, 1993].

I.9.1.2.4. Toxicité

De nombreuses substances ont un effet toxique sur l'activité des microorganismes. Il peut y avoir inhibition partielle ou totale de l'épuration selon la nature de la substance incriminée ou sa concentration.

On appelle concentration bactéricide celle qui tue les bactérie, et concentration bactériostatique celle qui immobilise temporairement le développement bactérien.

La plupart des métaux sont toxiques tans pour les systèmes biologiques, aérobies qu'anaérobie, même chose pour de nombreux composés organiques.

I.9.2. Cinétique de la croissance bactrienne

L'étude de la croissance bactérienne en présence d'un mélange de substrats est un des domaines les plus riche de la biologie expérimentale. Ce phénomène présente aussi un grand intérêt écologique et technologique. Dans la nature ou dans plusieurs environnements engendrés par les activités humaines tels que les systèmes de traitement des eaux usées et les fermenteurs commerciaux, les microorganismes se développent en présence de divers mélanges de substrat [Narang et al, 1997].

Pour pouvoir suivre la cinétique de croissance il fallu à l'origine de modéliser cette croissance dans un milieu non renouvelé, ce qui correspond à l'analyse «des cultures en batch» [Lobry, 1991]. Ce mode de croissance est obtenu en culture sur

milieu liquide, réalisée en flacon (tube à essais, erlens,...) ou en bioréacteur pour mener des cultures en conditions contrôlées. Le milieu n'est pas renouvelé et sa capacité d'utilisation se limite à ses ressources initiales.

Toutes les bactéries cultivées se développent d'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.

I.9.3. Schéma de la croissance

Comme on a dit précédemment, la culture en batch permet de suivre tout le cycle d'une population bactérienne. Ce cycle est également représenté sous forme d'une courbe de croissance correspondant au suivi de la population (densité de population N) ou au suivi

de la biomasse (densité de la biomasse X), éventuellement après transformation logarithmique, en fonction du temps.

D'après Buchanan (1918), la cinétique de croissance d'une population bactérienne est décomposée en sept phases (figure I.1.) (Bréand, 1998 ; Cornu, 2000).

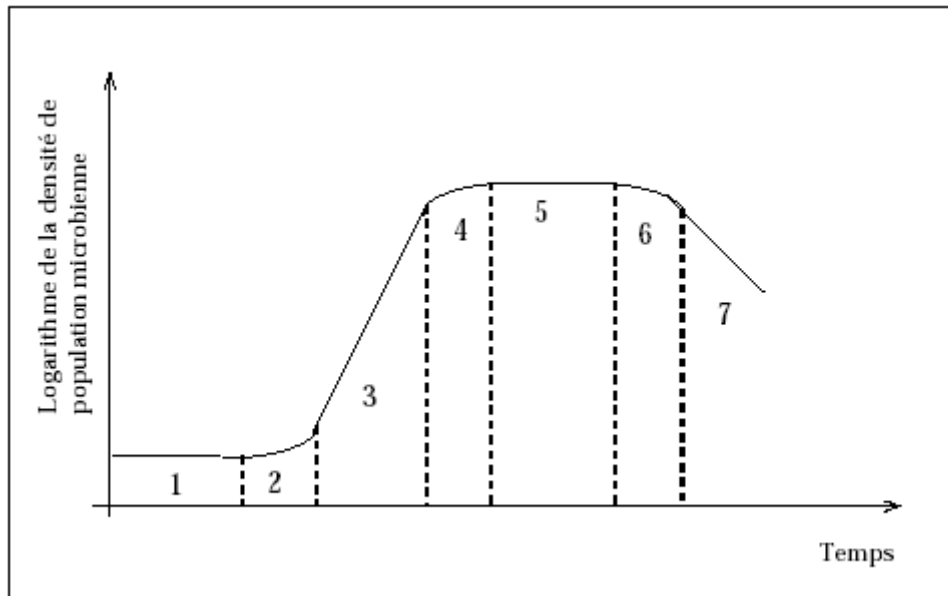


Figure 6: les phases de croissance établies par Buchanan (1918).

1. La phase de latence

Il s'agit d'une période d'adaptation au cours de laquelle la cellule synthétise en particulier les enzymes qui lui sont nécessaires pour métaboliser le substrat présent [Reatz et Bauer, 2001]. Au cours de cette phase, il n'y a pas de reproduction cellulaire :

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

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

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

La vitesse de croissance ($dX/dt = X \mu$) exprimée en $\text{g.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$ (ou en nombre de cellules par unité de volume et unité de temps) est nulle.

μ : étant le taux de croissance.

2. La phase d'accélération de croissance

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

3. La phase exponentielle de croissance

Pendant cette phase, les microorganismes se divisent et doublent leur nombre a intervalle de temps régulier d'où la population est presque uniforme en termes de propriétés chimiques et physiologiques. Au cours de cette phase, la vitesse de croissance dX/dt augmente, et ce proportionnellement à X . D'où l'allure logarithmique (ou exponentielle) du phénomène. En coordonnées semi-logarithmique, ($\log X = f(t)$), cette phase a l'allure d'une droite.

$$dX/dt = \mu X$$

On peut modéliser simplement la phase exponentielle de croissance par :

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

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

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

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

Pour cette phase :

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

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

4. La phase de ralentissement

La vitesse de taux de croissance régresse. Il y a un épuisement du milieu de culture du fait de la disparition de un ou plusieurs composés nécessaires à la croissance et à

une accumulation des produits inhibiteurs résultants du métabolisme bactérien. Il existe un début d'autolyse des bactéries.

5. La phase stationnaire

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

6. Phase de mort accélérer

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

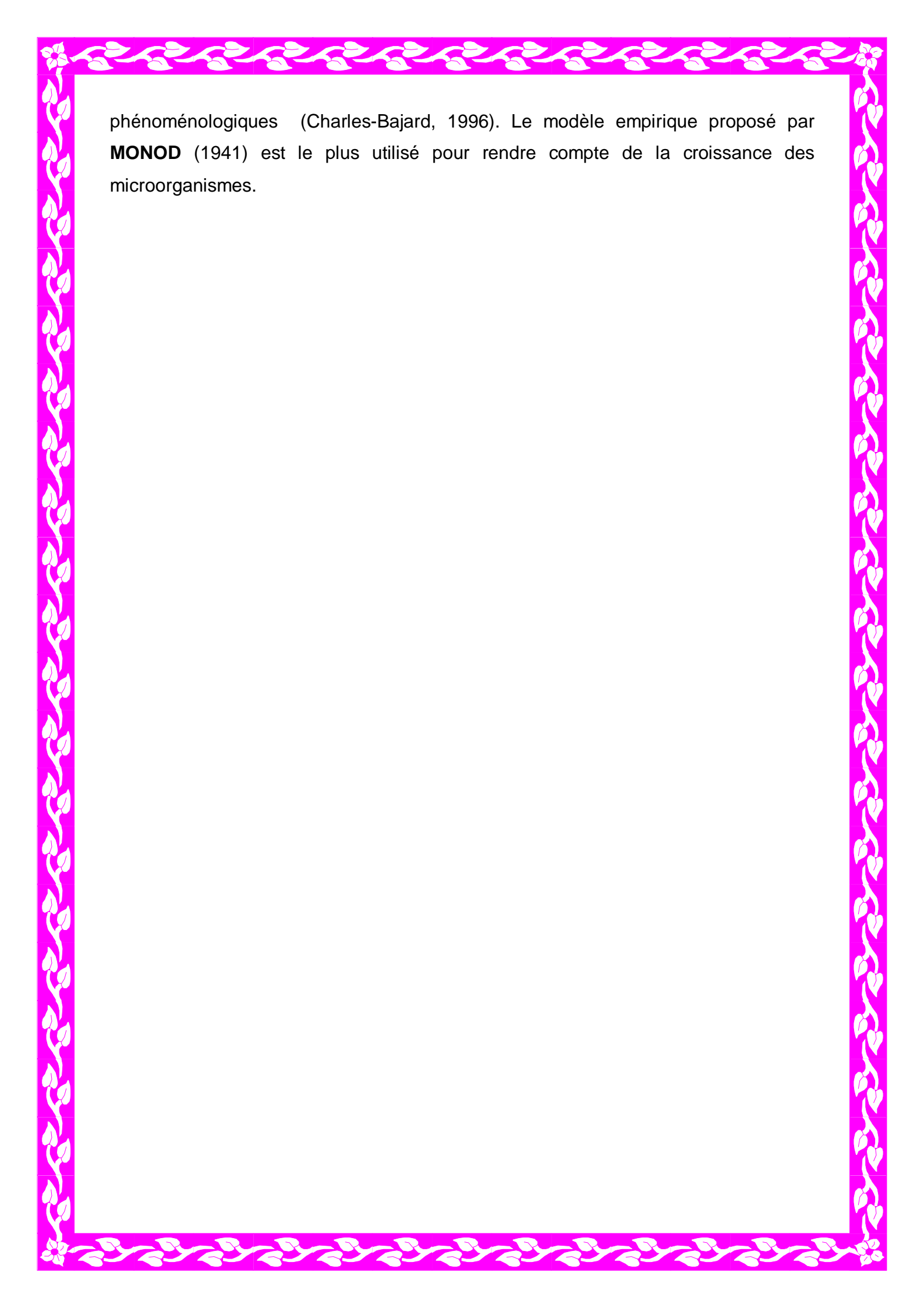
7. la phase de déclin (décroissance)

Un changement nuisible de l'environnement comme la carence en nutriment et l'accumulation de déchets toxiques conduisent à la diminution du nombre de cellules viables et une lyse cellulaire sous l'action des enzymes protéolytiques endogènes,

caractéristique de la phase de mortalité. La mort d'une population bactérienne, comme sa croissance durant la phase exponentielle, est habituellement logarithmique.

I.8.4. Modèles de croissance bactérienne

Les modèles publiés décrivant la croissance des microorganismes sont pour la plupart des modèles empiriques, c'est-à-dire qu'ils sont développés à partir d'observations de faits expérimentaux. Il existe également des modèles dits mécanistes qui sont construits à partir de théories sur le comportement des microorganismes ; ces modèles mécanistes sont basés sur les phénomènes biologiques et leur compréhension, et sont parfois appelés modèles



phénoménologiques (Charles-Bajard, 1996). Le modèle empirique proposé par **MONOD** (1941) est le plus utilisé pour rendre compte de la croissance des microorganismes.

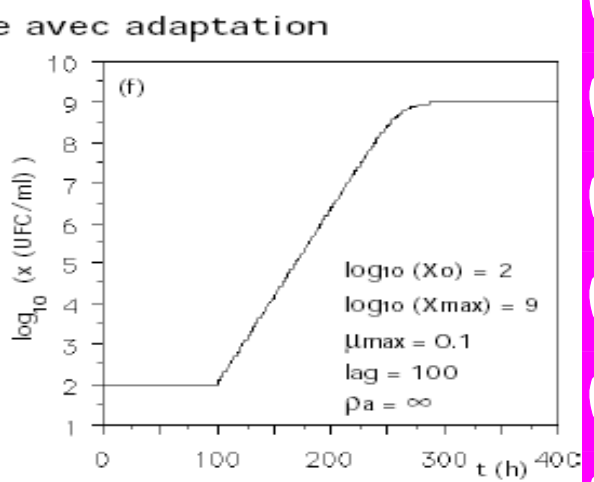
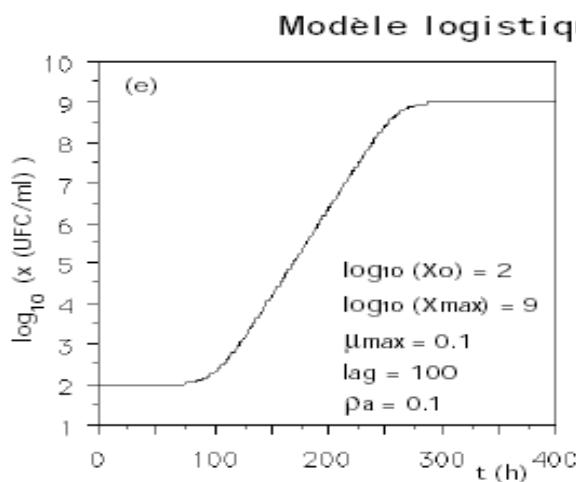
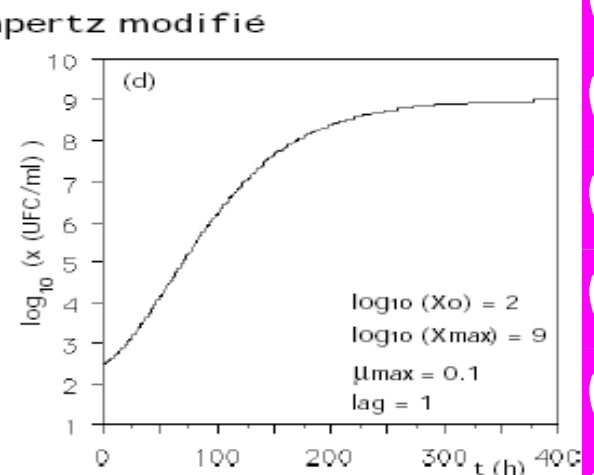
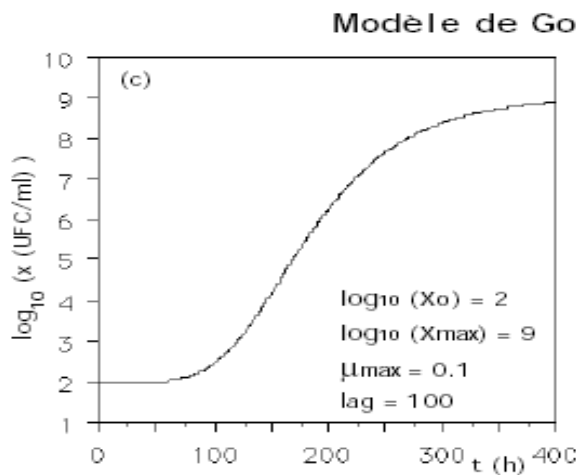
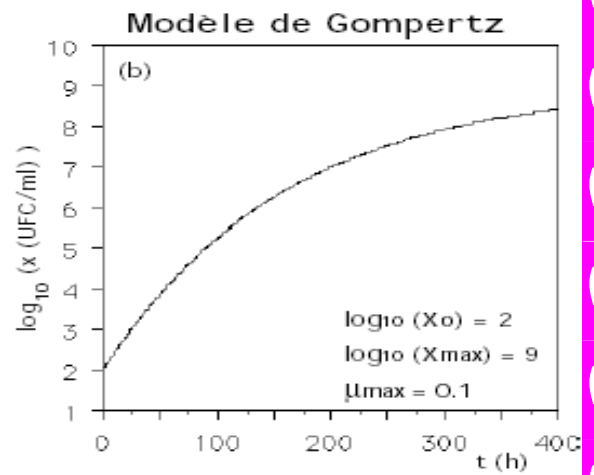
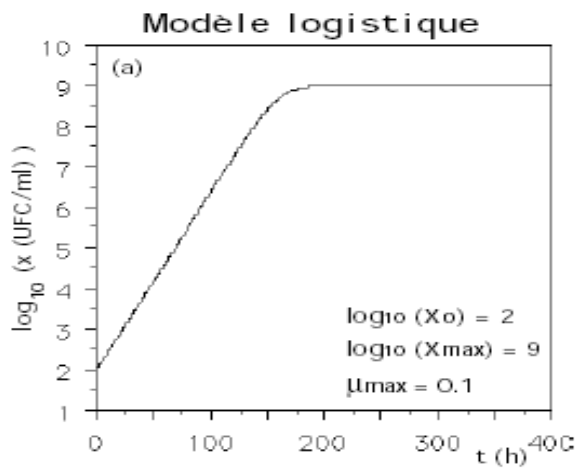


Figure 7: Modèles de croissance

I.9.5. Les techniques classiques de la mesure de croissance

Les deux méthodes de mesure de la croissance d'une population de microorganismes les plus couramment utilisées sont [Brock et Madignan, 1991, Mc Meeking et al, 1993] :

- Le dénombrement de cellules viables sur boîte de pétrie.
- La mesure de la biomasse par turbidimétrie. [Delignette-Muller, 1995]

La première technique nécessite l'ensemencement par un échantillon de la suspension bactérienne d'une boîte de pétrie et une culture au terme de laquelle sont comptées les colonies (figure 8.). Cette technique suppose qu'à un microorganisme déposé au départ de pétrie correspond après culture exactement une colonie. La croissance est ainsi mesurée en **unités formant colonie (UFC)**.

La méthode est très simple mais peut être coûteuse en temps et en matériel et peut conduire à l'obtention de cinétiques constituées d'un nombre limité de points expérimentaux.

La deuxième technique ne consiste pas à compter directement les cellules mais à mesurer la biomasse bactérienne. C'est-à-dire la masse cellulaire sèche totale [Meynell et Meynell, 1970]. L'augmentation de la biomasse bactérienne accompagnant la croissance d'une population de microorganismes entraîne l'opacification du milieu de culture, les techniques turbidimétriques permettent de suivre l'évolution de la biomasse bactérienne par la mesure de la **densité optique (DO)**. Cette variable définie comme logarithme du rapport entre l'intensité I_0 du faisceau incident et l'intensité I du faisceau transmis, caractérise l'opacité d'un milieu (figure 9.).

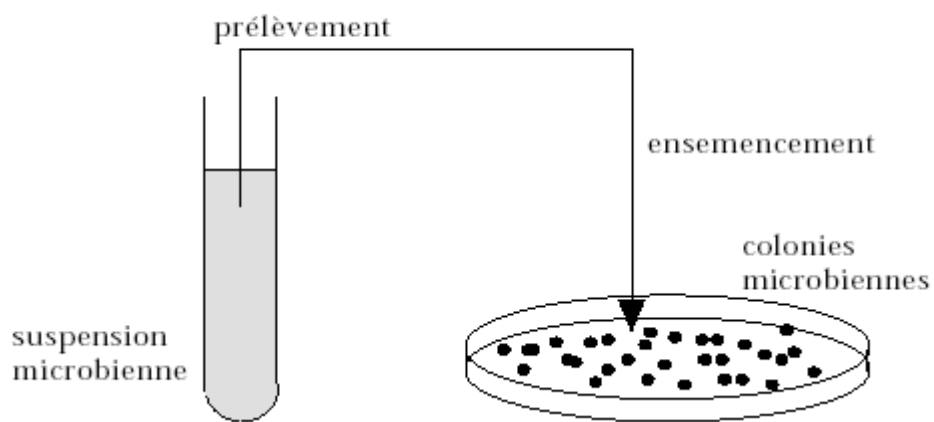


Figure 8 : technique de traitement sur boîte de pétri.

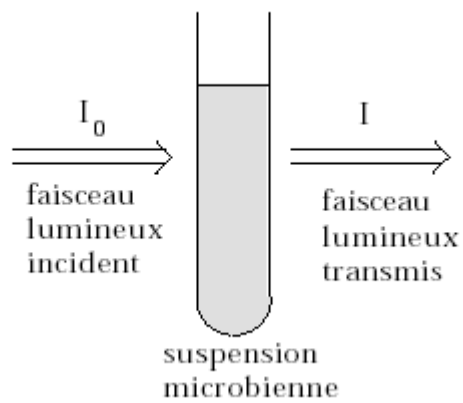


Figure 9 : technique turbidimétrique de mesure de la biomasse.



MATERIELS

ET

METHODES

II.1. Matériel

II.1.1. Microorganismes

Les bactéries utilisées pour ce travail ont été obtenues à partir d'un réacteur anoxique de dénitrification de la station d'épuration d'El Menia (Constantine). Elles ont été par la suite utilisées pour l'inoculation du réacteur et cultivées dans une culture en discontinu (batch) en conditions anoxiques.

II.1.2. Milieu de culture

Le milieu de culture (milieu de dénitrification) utilisé bien en aérobie qu'en anoxie, recouvre les exigences minérales et organique des microorganismes. Sa composition pour un litre d'eau distillée et la suivante :

KH_2PO_4	1.00 g/l
K_2HPO_4	1.00 g/l
KNO_3	1.00 g/l
NaCl	1.00
MgSO_4	0.20 g/l
CaCl_2	0.02 g/l
Solution TE	1.00 ml/l
pH	ajusté à 4.2 par ajout de NaOH

Tableau 4 : Composition du milieu de culture

La composition de la solution d'éléments trace (TE) est donnée en *Annexe 1*.

II.1.3.1. Source de carbone

La Méthyléthylcétone (MEK) sous forme liquide, et la farine de datte, unique source de carbone et d'énergie, sont ajoutés séparément dans le milieu de dénitrification ce qui permet leur métabolisme et une production de biomasse, avec le nitrate de potassium (KNO_3) comme source oxydée unique d'azote.

MEK : COV très utilisée dans les industries de fabrication de produits chimiques. Compte tenu de sa biodégradabilité rapide, de son potentiel de volatilisation, de sa faible toxicité pour les organismes aquatiques, de sa forte solubilité, la substance peut poser un problème pour l'environnement uniquement de façon ponctuelle et localisée. Le tableau (5) regroupe les caractéristiques chimiques, physiques et écologiques du MEK

Formule chimique	C ₄ H ₈ O
Poids moléculaire (g mol ⁻¹)	72,11
Densité relative (à 20°C)	0,8
Point d'ébullition °C	79
Concentration de saturation (gm ⁻³)	310
DCO (g O ₂ /g matière)	2,44
Mobilité	COV : 100%
Synonymes	2-butanone

Tableau 5 : Les caractéristiques physico-chimique de la MEK

Préparation de la farine de datte et de son extrait

Dattes déclassées (var. Mech-Degla, en provenance de la région de Biskra) Dénoyautées séchées à 45-50° C pendant 4 jours dans une étuve hermétiquement fermée en présence de gel de Silice granulé pour absorbé l'excès de l'humidité. Ecrasé, broyée et tamisée (Φ de 50 % de la farine est < 1 mm), la farine ainsi préparée est conservée dans des flacons hermétiquement fermés pour limiter au maximum les réaction d'hydrolyse enzymatique. Pour la préparation de l'extrait soluble de farine de datte ; différentes concentration (g/l) de farine sont préparées dans de l'eau distillée dans des flacons fermés et agités à la température ambiante pendant 3heures ; la solution est ensuite centrifugée pendant 1 heure à 7297g. Le surnageant forme l'extrait soluble de farine de dattes (ESFD).

II.1.3.2. Analyse chimique de la farine de dattes

Détermination de l'humidité

5 g de la farine de dattes sont pesés dans un récipient taré muni de couvercle et repartis uniformément. Ils sont ensuite étuvés à 130° C, sans couvercle pendant 2 heures à partir du moment où l'étuve a atteint la température de 130° C. Le récipient est retiré de l'étuve après remise du couvercle et refroidit (40 min dans le dessiccateur) puis pesé. La teneur en humidité (*h*) en pourcentage de l'échantillon est donnée par la formule suivante :

$$h (\%) = (E-m) \cdot 100/E$$

Où **E** est la masse initiale en gramme de la prise d'essai, et **m** est la masse en gramme de la prise d'essai sèche.

II.1.3.3. Préparation des solutions

L'eau utilisée pour la préparation des solutions et pour les dilutions est de l'eau distillée.

II.1.5. pH-métrie

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

II.1.6. Oxymétrie

Pour évaluer le rôle de l'oxygène dans le processus biologique de la dénitrification, les milieux de culture ont été désoxygénés par barbotage d'azote ($O_2 < 0,5$ mg/l). L'oxymètre utilisé est « WTW portable OXI ».

II.2. Méthodes analytiques

II.2.1. Mesure de la biomasse

Spectrophotométrie

La densité optique d'une culture cellulaire est mesurée par l'absorbance à une longueur d'onde de 600 nm (Jianlong, 1999 ; Olsson, 2000) avec un spectrophotomètre « Safas monaco ».

Extrait sec

La matière sèche de la biomasse est déterminée par filtration d'un volume précis (10ml) sur membrane microfiltration 0.2µm [Patureau, 1995]. Le filtre est lavé deux à trois fois à l'eau distillée et séché dans l'étuve jusqu'à poids constant pendant 24heures à 105° C [Roca, 2000]. La matière sèche (MS) Correspond à la différence de masse entre le filtre seul et le filtre avec biomasse (refroidi 1 heure dans un dessiccateur).

Relation entre la densité optique et l'extrait sec

L'extrait sec de biomasse produite a été corrélé avec la densité optique ($DO_{600\text{ nm}}$), d'où l'équation de la courbe d'étalonnage est donné en *Annexe 2*.

II.2.2. Dosage des métabolites

Les échantillons sont au préalable centrifugés à 7000 rpm (SIGMA 1-15). Le surnageants récupéré est dilué si nécessaire selon les méthodes de dosage.

II.2.1.1. Dosage des nitrates

Les nitrates sont dosés par colorimétrie : méthode par le salicylate de sodium (Rodier, 1978). Le protocole expérimental est présenté en *Annexe 3*.

II.2.1.2. Suivi de la concentration de MEK

Le dosage de la source de carbone est effectué par l'intermédiaire d'une oxydation chimique (méthode de DCO), le protocole expérimental est présenté en *Annexe 4*.

II.3. Conditions de culture

Les cultures sont réalisées en réacteurs de 500 ml contenant 200 ml de notre milieu qui est chargé avec différentes concentrations du MEK ou de la farine de datte comme source de carbone et d'énergie. Elles ont été par la suite inoculées par 5 ml de boues activées. Rappelons que l'inoculation a été effectuée grâce à une préculture adaptée à nos sources de carbone et au nitrate afin de réduire le temps de latence.

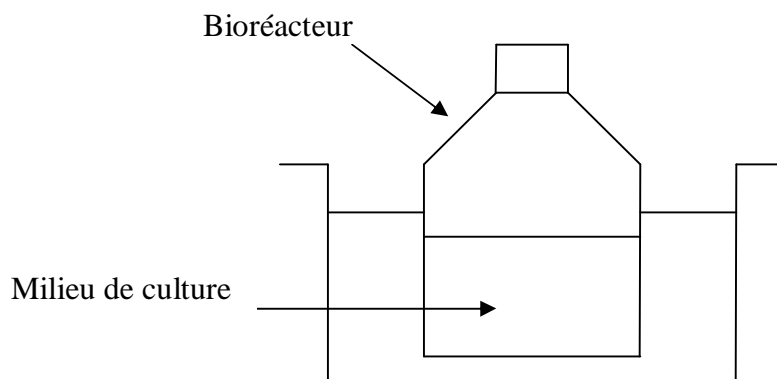


Figure 10 : Dispositif expérimental



RESULTATS ET DISCUSSIONS

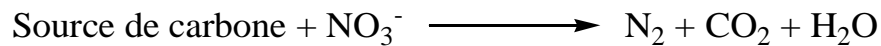
III.1. Etude de l'adaptation d'une culture mixte dans un milieu synthétique :

Initialement nous avons utilisé la farine de dattes comme source de carbone à une concentration de 1 g/l, afin d'étudier l'adaptation physiologique d'une culture mixte incubée dans un milieu synthétique.

Cette étude comporte la mesure de l'évolution de la masse bactérienne.

Au cours d'incubation nous avons observé :

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



Les résultats sont illustrés sur le graphique suivant :

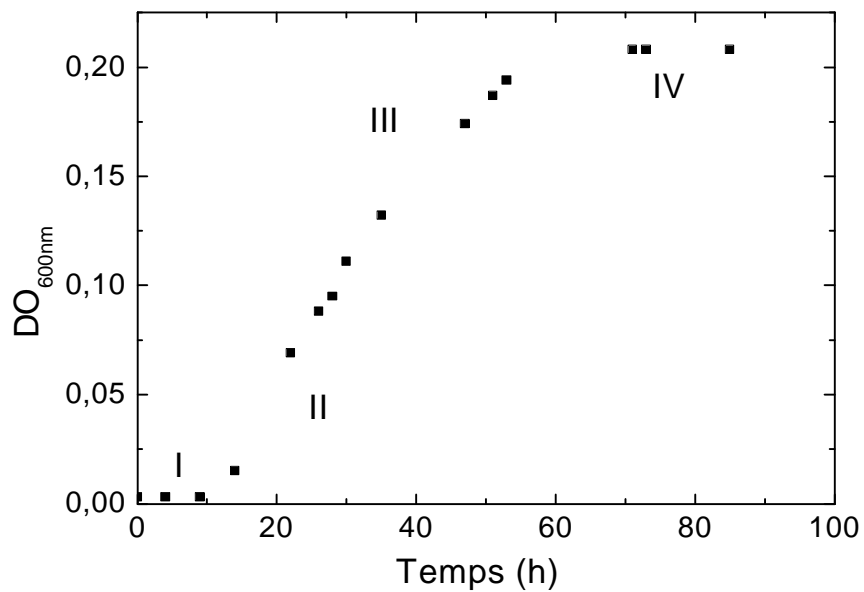


Figure 11 : Cinétique de la croissance bactérienne.

La figure x montre que la cinétique de croissance suit quatre phases principales

La première phase qui est la phase de latence, correspond à, une période où les bactéries inoculées dans le milieu s'adaptent à leurs environnement et synthétisent les enzymes nécessaires.

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

La vitesse de croissance dX / dt est également nulle.

Au cours de la seconde phase (phase exponentielle), la croissance est maximale et constante. Le nombre de cellules en culture et leur masse augmentent proportionnellement au temps, selon une progression géométrique ; c'est-à-dire exponentiellement. D'où l'allure logarithmique du phénomène.

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

La quatrième phase correspond à une phase stationnaire. Elle signifie qu'à ce moment, les bactéries utilisent les réserves accumulées précédemment.

III.2. Suivre d'une dénitrification avec la farine de datte comme source de carbone

Dans cette partie, nous avons jugé utile de montrer la capacité de dénitrification de nos microorganismes (boues activées), à notre milieu

Pour cela nous avons suivi l'évolution de la concentration des nitrates et la production de la biomasse en fonction du temps en choisissant 1g/l de la farine de datte avec le nitrate comme accepteur final d'électron ($\text{N-NO}_3^- = 608 \text{ mg/l}$). Le bioréacteur est maintenu à 35° C.

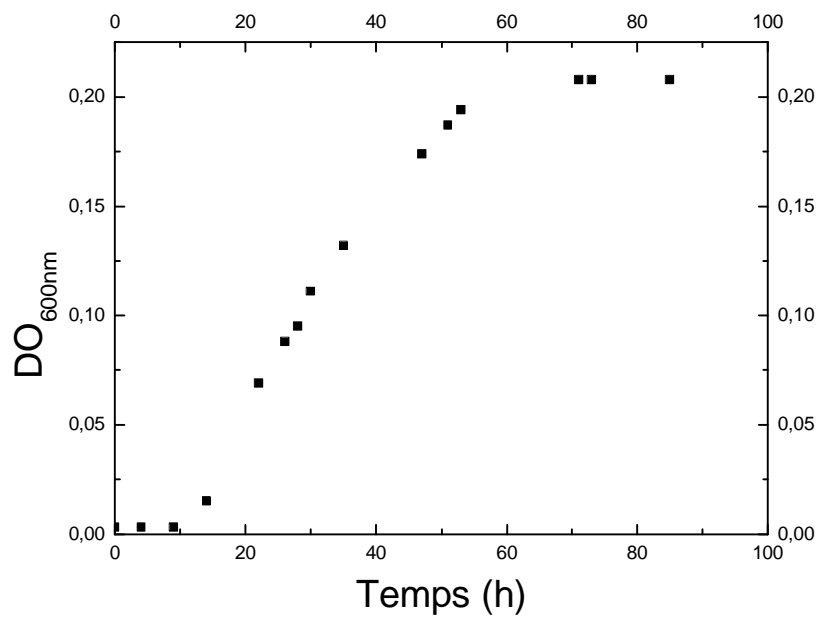


Figure 12 : l'évolution de la croissance bactérienne au cours de la dénitrification avec la farine de dattes comme source de carbone

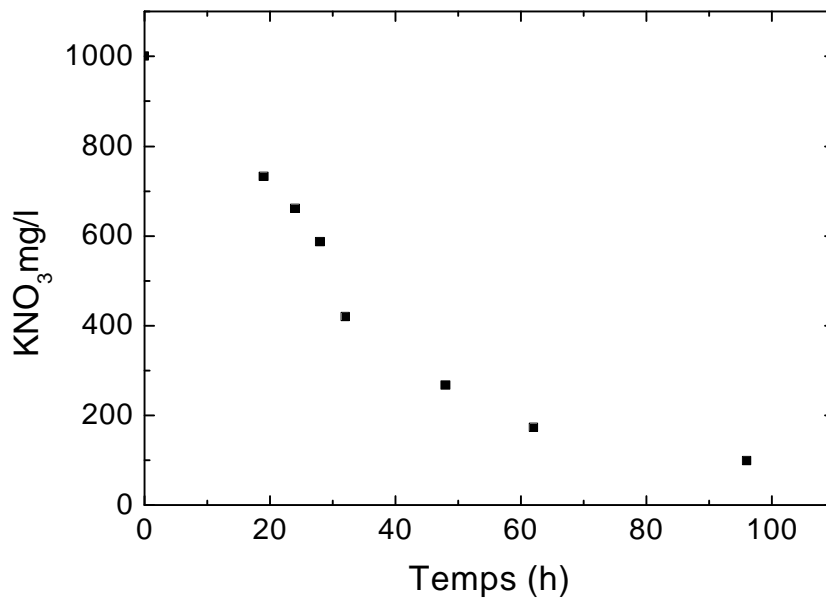


Figure 13 : cinétique de la réduction des nitrates

Les nitrates 608 (mg/l) peuvent être complètement éliminés par les bactéries dénitrifiantes en moins de 100 heures (figure x) et cette élimination a été accompagnée d'une croissance bactérienne proportionnelle (figure x).

III.3. Contrôle du pH du milieu réactionnel au cours de la dénitrification

En travaillant avec notre milieu sans ajout de tampon on remarque que le pH du milieu baisse jusqu'à des valeurs près de 5 dont il peut être toxique pour les microorganismes. Comme le pH optimal pour la dénitrification est compris entre 7 et 8 [Mouchet, 1982], nous avons ajouté (1g/l de KH_2PO_4 , 1g/l de K_2HPO_4) pour utiliser un milieu suffisamment tamponné, qui pourra éventuellement augmenter le rendement de la dénitrification.

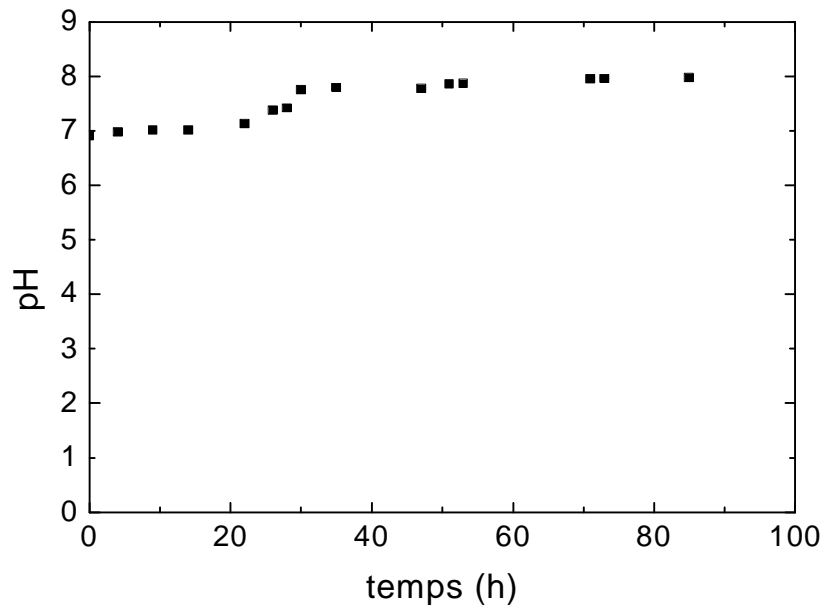


Figure 14 : variation du pH au cours de la réaction de dénitrification

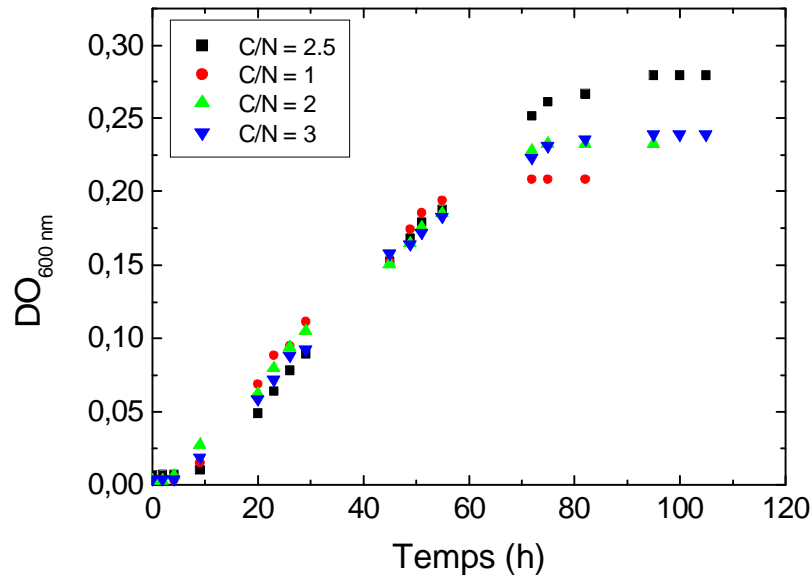
Dans un second temps, nous avons étudié les facteurs physico-chimiques ayant une influence sur la dénitrification (C/N, concentration de la source de carbone,...) et le suivie de quelques paramètres de contrôle de la dénitrification.

III.4. Influence du rapport C/N

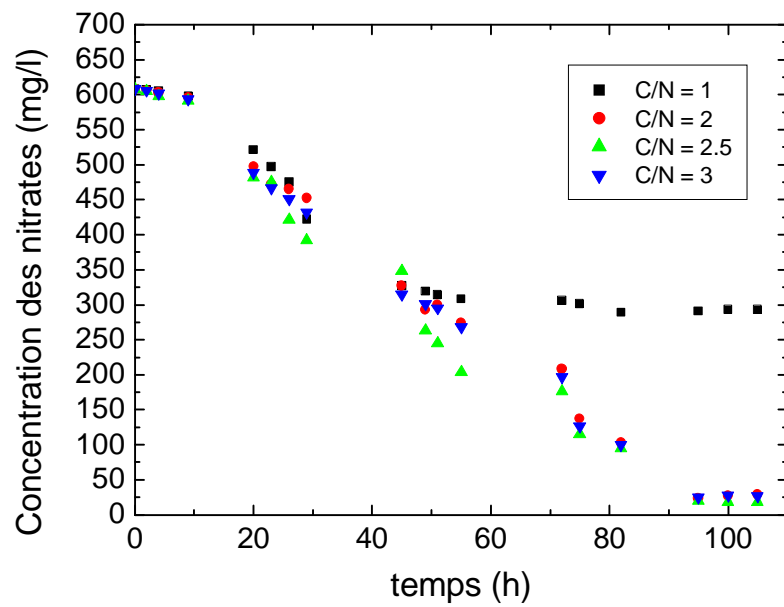
Pour le test des différents valeurs de C/N, nous avons fait varier le rapport (Substrat_{entré} / Nitrate_{entré}) : la quantité du carbone est ajustée en fonction de celle de N-NO₃⁻ = 608 mg/l (tableau 4).

C/N	La farine de datte (mg/l)
1	0,608
2	1,216
2.5	1,520
3	1,824

Tableau 6 : Les concentration testées les différent valeurs du C/N



(a)



(b)

Figure 15 : influence du rapport C/N sur la croissance bactérienne (a) et la réduction des nitrates (b).

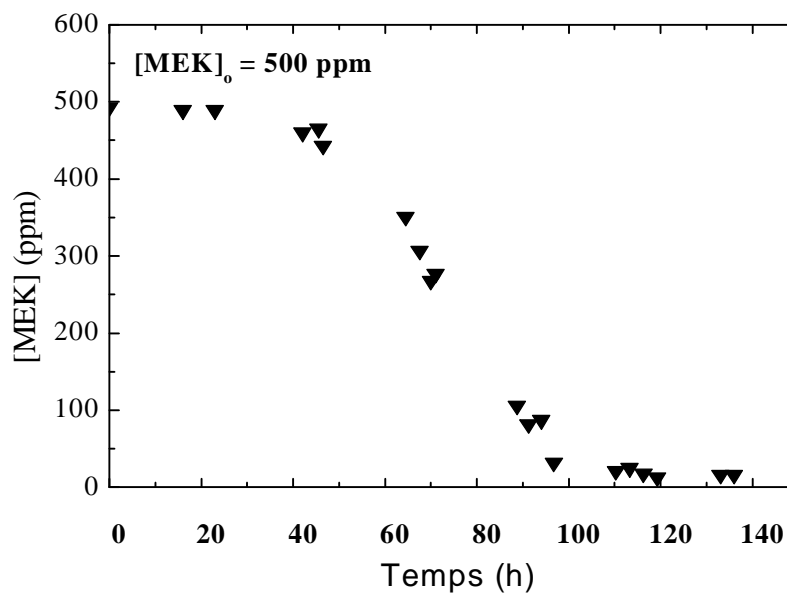
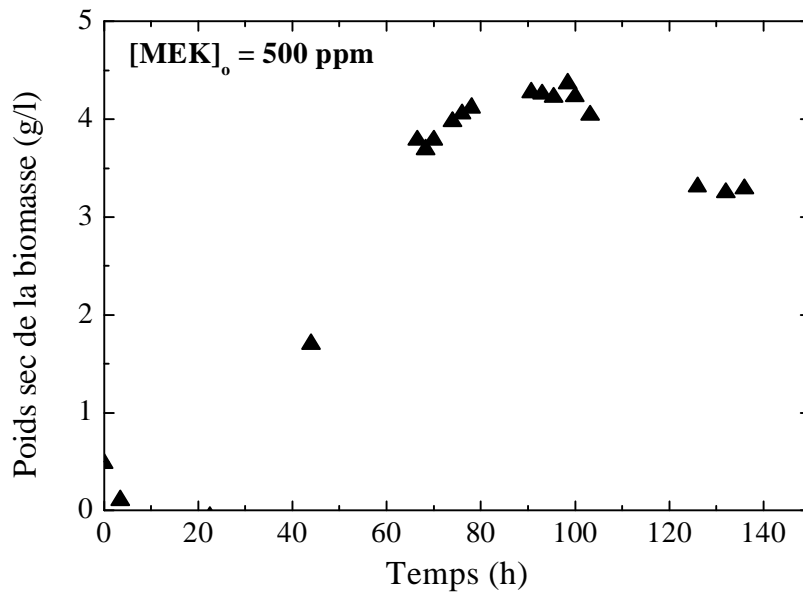
Pour les différentes valeurs du C/N, on a observé des cinétiques de croissances et de dénitrification différentes (une bonne linéarité des courbes de dénitrification).

En effet, et avec tous les rapports testés, la quantité de la biomasse produite à été observé, ceci s'explique par la capacité des microorganismes à métaboliser le substrat utilisé, et aussi le pouvoir de réduire le nitrate avec un temps d'élimination différent.

Avec un rapport C/N = 2,5, on a observé au bout de 97 heures une quantité élevée de biomasse suivie d'une élimination presque totale avec une vitesse moyenne de réduction des nitrates égale à 0.0132 grammes de nitrate disparus par heure et par litre de milieu de culture ($\text{g.l}^{-1}.\text{h}^{-1}$).

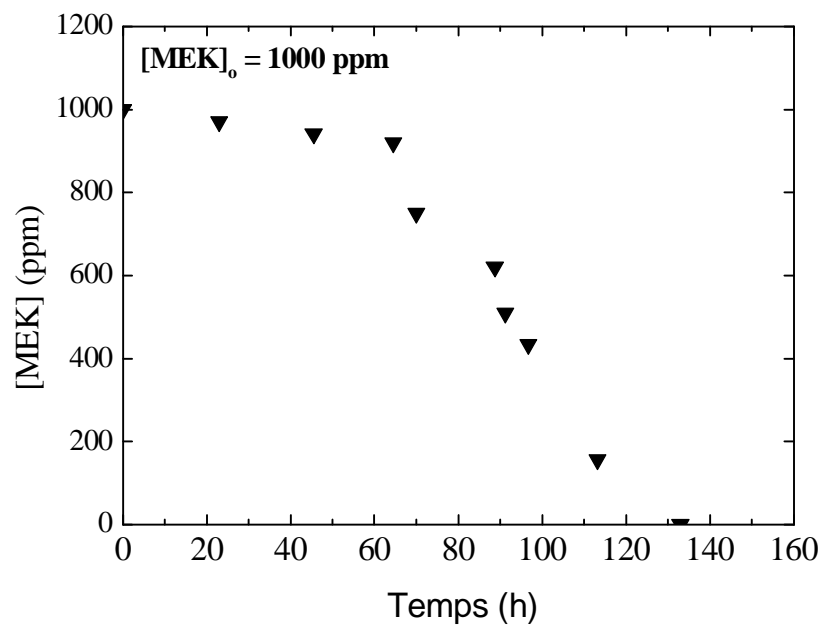
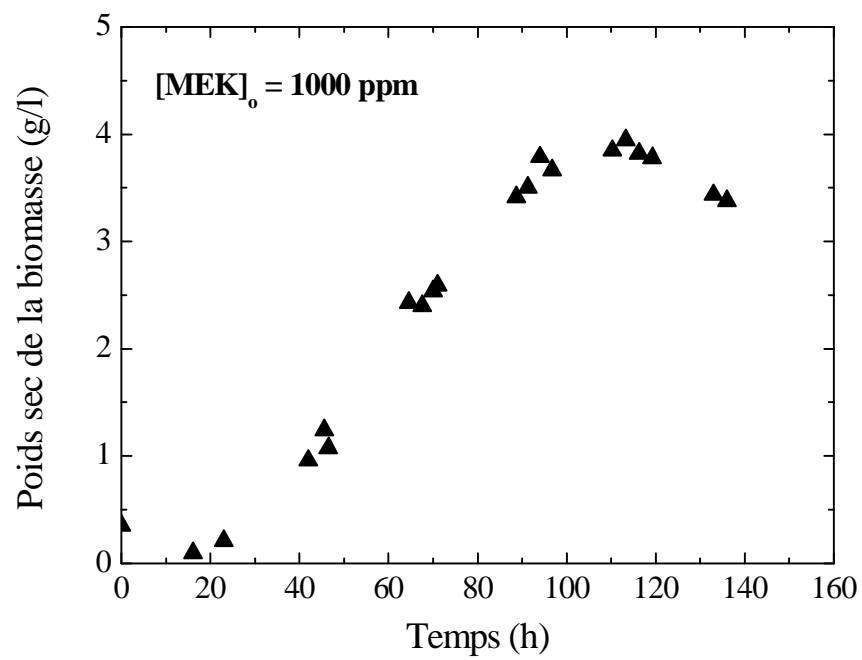
III.5. Effet de la concentration initiale se la source de carbone

Durant nos expériences, nous avons mesuré en concomitance le déclin de la concentration de la MEK et la croissance bactérienne en fonction du temps. Les expériences ont été réalisées avec les concentrations initiales en MEK de 500, 1000, 1500 et 2000 ppm. Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 4.



Au début de l'expérience, on a une phase de latence, suivie avant une stagnation, d'une phase de croissance exponentielle. Après la consommation de pratiquement toute la MEK, on atteint une phase d'autooxydation des microorganismes. D'après les courbes de la figure 4, 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



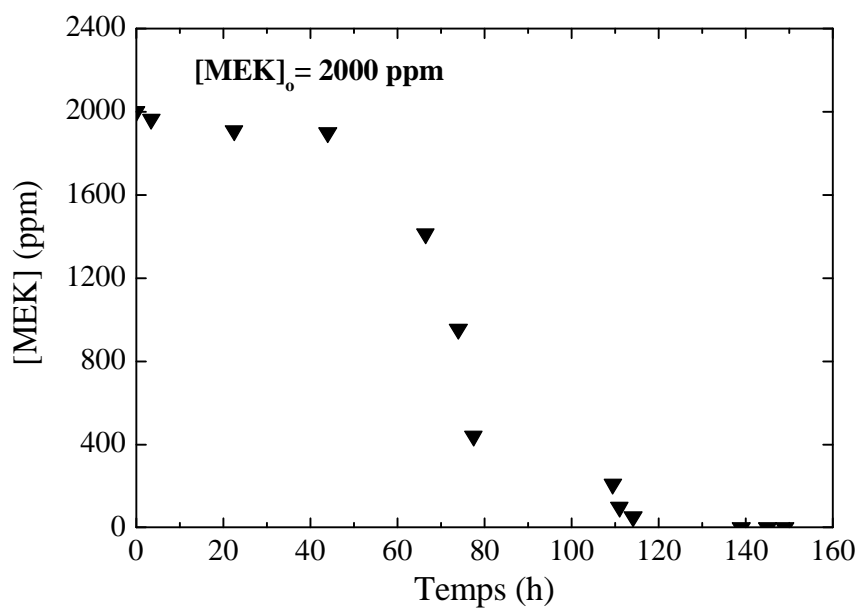
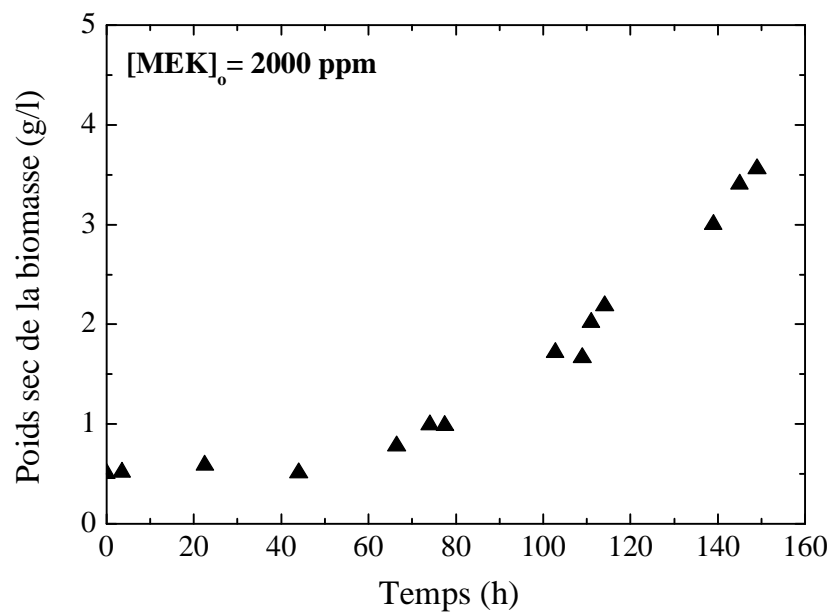
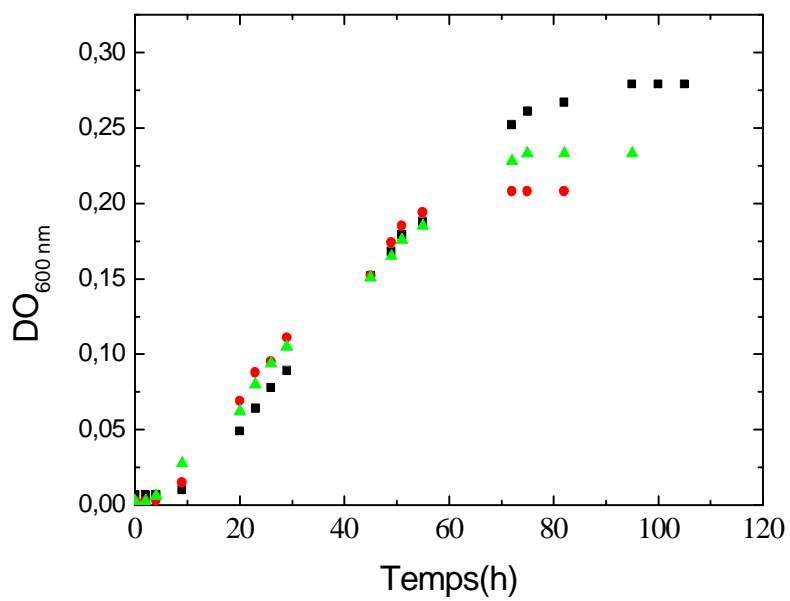


Figure 16 : déclin de la concentration de la méthyléthylcétone (▼) et croissance bactérienne (▲) en fonction du temps

Pour différentes concentrations de la farine de datte les résultats sont présentés dans la figure 17.



ANNEXES

Annexe 1 : La composition de la solution de traces éléments.

HCl 37%	6.76	ml/l
FeCl ₂ 4H ₂ O	1.5	g/l
H ₃ BO ₃	0.06	g/l
MnCl ₂ 4H ₂ O	0.1	g/l
CoCl ₂ 6H ₂ O	0.12	g/l
ZnCl ₂	0.07	g/l
NiCl ₂ 6H ₂ O	0.025	g/l
CuCl ₂ 2H ₂ O	0.015	g/l
NaMoO ₄ 2H ₂ O	0.025	g/l
EDTA	5.2	g/l

Annexe 2 : La mesure de la demande chimique en oxygène

MODE OPERATOIRE

Principe

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

Appareillage

- bloc chauffant à 150°C à 25 postes, capable de recevoir des tubes à vis.
- spectromètre double faisceau et cuve.

Réactifs

- H₂SO₄ R.P. Normapur concentré (d=1.83) contenant AgSO₄R.P. Normapur (6.6g/l)
- HgSO₄ purifié en poudre.
- K₂Cr₂O₇ R.P. Normapur 4.167.10⁻² mol/l (12.259 g/l), 8,333 10⁻³ mol/l (2,4518 g/l)

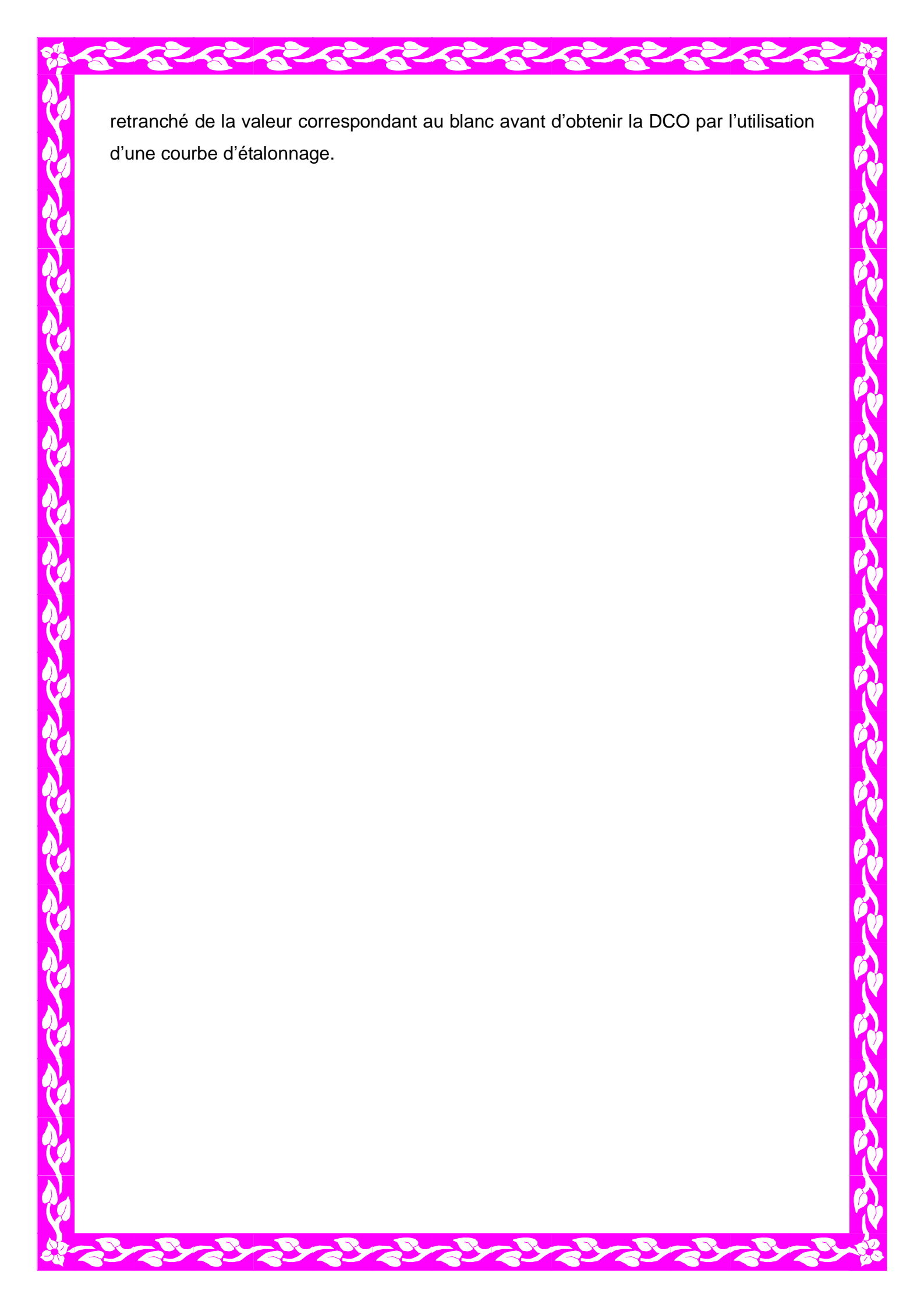
Protocole

Introduire dans un tube, 3 ml de la solution acide, 0.1g de sulfate de mercure, 2 ml d'échantillon (ou d'eau distillée pour le blanc) et un ml de la solution de dichromate de potassium.

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

Méthode 50-800 mg/l

La concentration en dichromate de potassium est de 4,167.10⁻² mol/l, le dosage final se fait par absorptiométrie à 610 nm : cette longueur d'onde correspond au "pic" d'apparition de la forme réduite Cr³⁺ (annexe x). La concentration mesurée doit être



retranché de la valeur correspondant au blanc avant d'obtenir la DCO par l'utilisation d'une courbe d'étalonnage.

Annexe 3 : Protocole de dosage des nitrates par la 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.....q.s.p. 1000 ml

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

A conserver dans un flacon en polyéthylène.

-Solution mère étalon d'azote nitrique à 0.1 g/l :

Nitrate de potassium anhydre.....0.722 g

Eau distillée.....q.s.p. 1000 ml

Chloroforme (pour conserver)1 ml

-solution fille étalon d'azote nitrique à 0.005 g/l.

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

Etablissement de la courbe d'étalonnage

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

Numéro de capsules	T	I	II	III	IV
Solution étalon d'azote nitrique à 0.005 g/l (ml)	0	1	2	5	10
Eau distillée (ml)	10	9	8	5	0
Correspondance en mg/l 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 se tartrate double de sodium et de potassium qui développe la couleur jaune.

Effectuer les lectures au spectromètre à la longueur d'onde de 420 nm. Soustraire des densités optiques lues pour les étalons, la valeur relevée pour le témoin. Construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire

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

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

Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 10 ml, la courbe donne directement la teneur en azote nitrique exprimé en milligrammes par litre d'eau. Pour obtenir la teneur en nitrate (NO_3^-), (KNO_3), multiplier ce résultat par 4.43 et 7.22 respectivement.

Droite d'étalonnage du dosage des nitrates

$$Y = 0.00624 + 0.25353 X$$

Coefficient de corrélation R = 9998

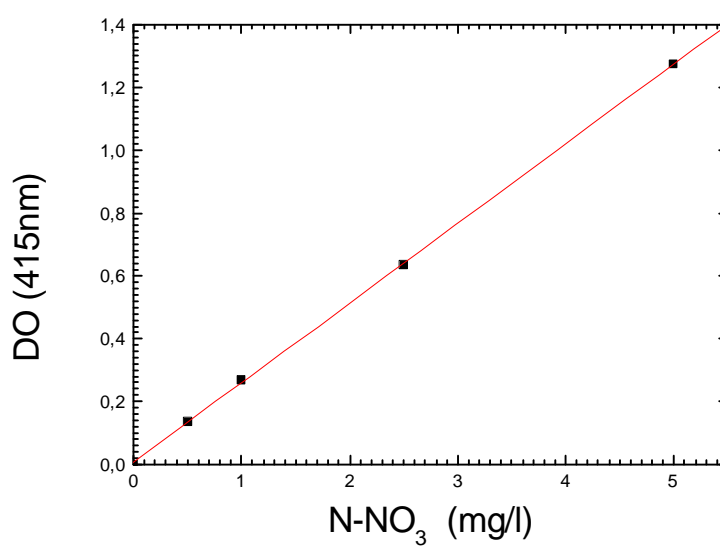


Figure 17 : droite d'étalonnage de nitrate



REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

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

Alexander, M., Marshall, K. C. et Hirsch, P. (1960) Autotrophy and heterotrophy in nitrification. In *Trans. Int. Congr. Soil., Sci.*, 7th, (pp. 586-591). Madison, Wisconsin.

Bernet N, Delgenèse N, Moletta R (1996) Denitrification by anaerobic sludge in piggery wastewater. *Environmental Technology*. 17 (3): 293-300.

Billon, G. (1994) *Wastewater microbiology*. Edition Wiley-Liss, Inc.

Biowise. (2000) VOC and odour abatement. A review of biological abatement technology. DTI (Department of trade and industry). England.

Bourinet, C, Venot S. (1999) Comment utiliser au mieux vos solvants ? Réduire les émanations dans l'atmosphère : quelle solutions techniques. SOCREMATIC.

Bréand, S. (1998) Etude biométrique de la réponse d'une population bactérienne à une variation défavorable de température ou de pH. Application en microbiologie prévisionnelle alimentaire. Thèse de doctorat. Université de Claude Bernard-LYON I.

Casellas, M., Dagot, C. et Baudi, M. (2002) Stratégie d'élimination de l'azote d'un effluent urbain dans un réacteur discontinu séquentiel (SBR). *Revue des sciences de l'eau*, 749-765.

Charles-Bajard, S. (1996) Modélisation à visée prévisionnelle de la cinétique de croissance d'une population de *Listeria monocytogenes*. Thèse de doctorat en Génétique et Biologie des Populations. Laboratoire de Biométrie. Université Claude Bernard LYON I.

Churchill J.E. (2001) Recent chemical exposures and blood volatile organic compound levels in a large population based sample. Archives on Environmental Health.

Cornu, M. (2000) Dynamique des populations bactériennes en cultures mixtes. Thèse présentée devant l'Université Claude Bernard-Lyon I.

Dellignette Kuller, M. L. Rosso, L. et Flandrois, J. P. (1995) Accuracy of microbial growth prediction with square root and polynomial models. International Journal of Food Microbiology. 27, 139-146.

Deseveaux, S. (1998) Etude du comportement d'un biofilm et de sa capacité à biodégrader la méthyléthylcétone dans un réacteur essentiellement à phase gazeuse. Mémoire d'ingénieur en chimie et en industrie agricole. Faculté des sciences agronomiques, Unité de génie biologique, Université catholique de Louvain.

Deshusses, M.A. (1994) Biodegradation of mixtures of ketone vapours in biofilters for the treatment of waste air. Thèse de doctorat en sciences techniques. Institut de technologie fédérale Suisse, Zurich.

Doussin, J.F. (1998) Etudes cinétiques et mécaniques des processus d'oxydation de composés organiques volatils d'importance troposphérique induits par le radical nitrate en atmosphère simulée. Thèse de doctorat en sciences.

Dunn, R.F. et El-Halwagi M.M. (1996) Design of cost-effective VOC-recovery systems. USA.

Dupin, S. (1992) Dénitrification biologique hétérotrophe appliqué 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.

Durant, G., Monsan, P. (1982) Les enzymes. Production et utilisations industrielles. Bordas, Paris.

Egboka, B. C. E. (1984) Nitrate contamination of shallow ground waters in Ontario, Canada. *Sci. Total Environ*, 35: 53.

Firestone, M. Firestone R. et Tiedje J. (1979) Nitric oxide as an intermediate in denitrification: evidence from nitrogen-13 isotope exchange. *Biochemical and Biophysical research Communications*, 91: 10-16.

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

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

Gamble TN, Beltach R, Tiedje JM (1977) Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. *Applied and environmental microbiology*. 33 (4): 926-939.

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

Hénin, S. (1977) Cours du physique de sol-L'eau et le sol.II.O.e EDIEST. Paris. 222 pp.

Hénin, S. (1981) Le cycle d'azote, les problèmes de fertilisation et de pollution. C.R. des séances de l'Acad. D'Agr. de France.

Hodge, D.S. et Devinny J.S. (1994) Biofilter treatment of ethanol vapors. *Environ. Prog.*13, 167-173.

Isaacs SH, Henze M, Soeberg H, Kummel M (1994) External carbon source addition as a means to control an activated sludge nutrient removal process. *Water Reserch.*28 (3): 511-520.

Jean Claude Boeglin, Traitements biologiques des eaux résiduaires. Technique de l'ingénieur, J 3942.

Kargi F., Dinçer, R. (2000) Kinetics of sequential nitrification and denitrification processes. *Enzyme and Microbial Technology* 27: 37-42.

Knowles, R. (1982) Denitrification. Microbiological reviews, 46(1), 43-70.

Kucera, I., Dadak, V. et Dobry , R. (1983) the distribution of redox equivalents in the anaerobic respiratory chain of paracoccus denitrificans. European.

Kuenen, JG, Robertson LA (1987) Ecology of nitrification and denitrification. In: Ferguson JACaS, ed. The Nitrogen and Sulphur Cycles. Cambridge: Cambridge University Press: 161-218.

Lehmann I.; Thielke A.; Rehwagen M.; Rolle-Kampezyk U.; Schultz R.; Borte M.; Diez U.; Herbarth O. (2002) The influence of maternal exposure to volatile organic compounds on the cytokine secretion profile of neonatal T cells. Environmental Toxicity, 17 (3), 203-210.

Lenz, R.W. (1993) Biodegradable polymers. Advances in polymer science. 107: p 1-40.

Lie, E. et Wellander, T. (1994) Influence of dissolved oxygen and oxidation-reduction potential on the denitrification rate of activated sludge. Water science and technology, 30(6), 91-100.

Lobry, J. R. (1991) Ré-évaluation du modèle de croissance de **MONOD**. Effet des antibiotiques sur l'énergie de maintenance. Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard, LYON I. 177pp.

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.

Mariotti. A. (1982) Apport de la géochimie isotopique à la connaissance du cycle de l'azote. Thèse, Paris, Univ. P. et M. Curie, 510 P. (G 8938).

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

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

Mester R.E., Harrison R.M. (1995) Volatile organic compounds in the atmosphere. Ed. Royal Society of Chemistry.

Metcalf et Eddy. INC.(2003) Wastewater engineering: treatment and reuse 4^e ed, revise par G. Tchobanoglous, F.L. Burton et H.D. Stensel, McGraw-Hill INC., New-York, pp. 62, 569, 928, 969.

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

Narang, A.;Konopka A.; Ramkrishna D. (1997 a) Dynamic analysis of the cybernetic model for diauxic growth. Chemical Engineering Science. 52 (15), 2567-2578.

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

Nyberg U, Aspegren H, Andersson B, la Cour Jansen J, Villadsen IS. (1992) Full-scale application of nitrogen removal with methanol as carbon source. Water Science and Technology; 26 (5/6): 1077-1086.

Prince, T.S, ; Spengler S.E. (2001)Severe headache associated with occupational exposure to Stodard solvent. Occp. Med. 51(2), 136-138.

Ratel, M. (2002) Rapport sur l'élimination des nitrates des eaux potables. Document Technique FNDAE & SNIDE.

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

Rittmann et Langeland W.E. (1985) Simultaneous denitrification with nitrification in single-channel oxidation ditches. J water pollut control fed , 57, 300.

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

Roques, H. (1980) Fondements théoriques du traitement biologique des eaux, Vol.2.

Santé Canada (1992) Le nitrate et le nitrite. Recommandation pour la qualité de l'eau potable au Canada. Documentation à l'appui, Accessible à «www.health-sc.gc.ca/catalogue/dpcpubs/repcoc» [appui Nitrate .pdf](#). Consulté en Mai 2002.

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

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

Shoun, H, Kim D.H, Uchiyama H et Sugiyama J (1992) Denitrification by fungi. FEMS Microbiology letters, 94,277-282.

Skrind, JR, Bhagat SK (1982) Industrial wastes as carbon sources in biological denitrification. Journal of the Water Pollution Control Federation.54 (4): 370-377.

Sutton, P.M.,Murphy,K.L. et Dawson, R.N. (1975) Low-temperature biological denitrification of wastewater.journal of the Water Pollution Control Federation, 47 (1), 122-134.

Tam NFY, Wong YS, Leung G (1992a) Effect of exogenous carbon sources on removal of inorganic nutrient by the nitrification-denitrification process. Water Research; 26 (9): 1229-1236.

Tam NFY, Wong YS, Leung G (1992b) Significance of external carbon sources on simultaneous removal of nutrients from wastewater. *Water Science and Technology*: 26 (5-6): 1047-1055.

Tiedje, J. M. (1988) Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In A. J. B. Zehnder (Eds), *Biologie of Anaerobic Microorganisms* (pp. 179-244). New York, John Wiley and sons.

Trancart. J.L (1997) Teneur en nitrates des eaux destinées à la consommation humaine en 1985-1986-1987. Paris, Minist. Snté. 150 P (G 10625).

Vaillant, J.R. (1973) *Protection de la qualité des eaux et maîtrise de la pollution.*, éditions Eyrolles.

Vandermesse, F. (1996) Capacité d'une communauté microbienne mixte à dégrader la MEK en réacteur batch en vue de l'optimisation d'un bioréacteur. Mémoire pour l'obtention du diplôme d'études en sciences naturelles appliquées. Option Biotechnologie industrielle. Université catholique de Louvain.

Van Diest, A. (1994) *Agricultural Sustainability and Soil Nutrient Cycling, With Emphasis on Tropical Soils.* International Society of Soil Science, 4b: 48-61.

Van Dongen, LGJM, Jetten MSM, Van Loosdrecht MCM (2001 a) The combined Sharon/Anammox process. A sustainable method for N-removal from sludge water. 1^{ère} ed London: STOWA. (STOWA, ed. *Water and wastewater Practitioner Series*).

Van Dongen U, Jetten MSM, Van Loosdrecht MCM (2001 b) The SHARON-anammox process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Science and Technology*. 44 (1): 153-160.

Villarde S. et Fernandez-Polanco. (1999) Spatial distribution of respiratory activity in *Pseudomonas Putida*54G biofilms degrading volatile organic compounds (VOC). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51, 382-387.

Xu Y. et Zhang Y. (2004) A general model for analyzing single surface VOC emission characteristics from building materials and its application. *Atmospheric Environment.* 38, 113-119.

Ye, R., Averill B. et Tiedje J. (1994) Denitrification: production and consumption of nitric oxide. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 1053-1058.

Yoshimatsu, K., Sakurai, T. et Fujiwara, T. (2000) Purification and characterization of dissimilatory nitrate reductase from a denitrifying halophilic archaeon, *Haloarcula marismortu*. 470: 216-220.

Résumé

Le but de ce travail est l'étude de la dénitrification par une culture mixte prélevée dans la station d'épuration d'El Menia Constantine. Pour cela nous avons testé à 35°C dans un milieu approprié, la farine de datte et le Méthyléthylcétone (MEK), comme source de carbone et d'énergie. Nos expériences ont montré des cinétiques de croissance et de dénitrification différente selon la nature de la source de carbone. En effet, la vitesse de dénitrification variait avec la concentration de la source de carbone et la capacité des microorganismes à métaboliser cette source avec une efficacité d'élimination des nitrates. En outre, les microorganismes présentaient des capacités de dénitrification en présence et en absence d'oxygène. En ce qui concerne la croissance bactérienne, cette dernière est proportionnelle à la consommation de la source de carbone et est plus importante en aérobiose qu'en anaérobiose. La réaction de dénitrification étant consommatrice d'ion H^+ , d'où une élévation du pH du milieu.

Mots clés :

Dénitrification, farine de datte, Méthyléthylcétone, Nitrate, Culture mixte, Oxygène.