

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université M'hamed Bougara de Boumerdès



FACULTE DES SCIENCES

Département de chimie

Domaine : Science de la matière

Spécialité : Chimie et Environnement

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de MASTER II

Thème

***Dénitrification biologique d'une eau chargée en nitrates en utilisant
les coques d'arachide comme source de carbone.***

Présentées par :

Alioua Chanez .

Boucherit Linda.

Soutenu publiquement le : 22/06/2017.

Les membres de jury :

<i>M^{me} SOUAG Rafika</i>	<i>MCA- FS-UMBB</i>	<i>Présidente.</i>
<i>M^{me} BELOUANAS Ouardia</i>	<i>MCB- FS-UMBB</i>	<i>Promotrice.</i>
<i>M^{lle} KOURI Cherifa</i>	<i>MAA- FS-UMBB</i>	<i>Examinatrice.</i>
<i>M^{lle} BENSADALLAH Lila</i>	<i>MAA- FS-UMBB</i>	<i>Examinatrice.</i>

Année Universitaire : 2016/2017.

REMERCIEMENT

Ce travail a été réalisé au laboratoire de la faculté des sciences département chimie à l'université M'Hamed Bouguara Boumerdés (UMBB).

Avant tout nous tenons à remercier le bon DIEU tout puissant de nous avoir accordé la force, le courage et la patience et la chance d'étude et les moyens à fin de pouvoir accomplir ce modeste travail.

En second lieu, nous tenons à remercier notre promotrice M^{me} O.BELOUANAS, pour ses Précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury : M^{me} Souag.R ,MCA à la faculté des sciences de l'Université de Boumerdés (UMBB) pour avoir accepté de présider ce travail, M^{lle} Kouri.C ,MAA à la faculté des sciences de l'Université de Boumerdés (UMBB) et M^{lle} Bensaadallah.L , MAA à la faculté des sciences de l'Université de Boumerdés (UMBB) pour l'intérêt qu'elles ont portées à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Un grand merci ; au chef de département environnement au centre de recherche et développement (CRD) pour son aide précieuse et de nous avoir accueillie au sein de son laboratoire où une partie de notre travail a été réalisée.

Nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Nous tenons à remercier, tous ceux qui nous enseignés durant toutes notre études.

On n'oublie pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Enfin, nous adressons nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragées au cours de la réalisation de ce mémoire. Merci à tous et à toutes.

Dédicace

On dédie ce modeste travail :

A nos chers parents

Qui nous ont fourni au quotidien un soutien et une confiance sans faille et de ce fait, nous ne saurions exprimer notre gratitude seulement par des mots. Que dieu vous protège et vous garde pour nous.

A nos chers frères

A toutes nos familles

A tous ceux qui nous ont aidées de peu ou de plus ...

A nos collègues de la promotion.

A tous nos amis sans exception.

Et à tous ceux qui nous sont chers.

SOMMAIRE

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale..... 1

Etude bibliographique

Chapitre I : Généralités sur l'eau potable, l'azote et les nitrates

I.1. L'eau potable..... 3

I.1.1.Définition de l'eau potable..... 3

I.1.2.Origine des eaux potables..... 3

 a. Eaux de sources ; eaux minérales..... 3

 b. Eaux brutes..... 4

I.1.3.Critères de potabilité..... 4

I.2. L'azote..... 5

I.2.1.Cycle de l'azote..... 5

I.2.1.1.La fixation..... 6

I.2.1.2.L'assimilation..... 6

I.2.1.3.L'ammonification..... 6

I.2.1.4.La nitrification..... 6

I.2.1.5. La dénitrification..... 6

I.3.Nitrates..... 7

I.3.1. Origine de la pollution par les nitrates..... 7

I.3.2. Conséquences de la consommation excessive des nitrates..... 9

I.3.2.1. Nitrates et santé humaine..... 9

I.3.2.2. Nitrates et l'environnement..... 11

I.4.La réglementation..... 12

Chapitre II : Procédés d'élimination des nitrates

II.1.Traitement des nitrates.....	13
II.1.1.Procédés physico-chimiques.....	13
II.1.1.1. Echange d'ions.....	13
II.1.1.2.Procédé membranaires.....	14
II.1.1.2.1.Osmose inverse.....	14
II.1.1.2.2.L'électrodialyse.....	14
II.1.1.2.3.La nano filtration.....	15
II.1.1.3.Procédés électrochimiques.....	15
II.1.2.Procédés biologiques.....	15
II.1.3.Choix de notre traitement.....	16
II.2. La dénitrification biologique.....	17
II.2.1. La dénitrification hétérotrophe.....	17
II.2.2. La dénitrification autotrophe.....	18
II.2.3.Propriétés de la dénitrification biologique.....	18
II.2.4. Facteurs biologiques de la biodégradation des nitrates.....	19
II.2.4.1. Les organismes dénitrifiant.....	19
II.2.4.2. Les enzymes de la dénitrification.....	19
II.2.5. Métabolisme dénitrifiant.....	19
II.2.6.Facteurs influençant la dénitrification.....	20
II.2.6.1.Le carbone.....	20
II.2.6.2.Le phosphore.....	20
II.2.6.3.L'oxygène.....	20
II.2.6.4.Le pH.....	21
II.2.6.5.La température.....	21
II.2.6.6.Les inhibiteurs potentiels.....	21

Chapitre III : Biofilm et matériaux supports

III.1.Le biofilm.....	22
III.1.1.Définition.....	22
III.1.2.Formation du biofilm.....	22

III.1.2.1.L'adhérence réversible.....	22
III.1.2.2.L'adhérence irréversible.....	23
III.1.2.3.Le développement précoce du biofilm.....	23
III.1.2.4.La maturation du biofilm.....	23
III.1.2.5.Le détachement de bactéries.....	23
III.1.3.Activité du biofilm.....	24
III.1.4.Intérêt des procédés utilisant les biofilms.....	24
III.2. Les arachides.....	25
III.2.1.Définition.....	25
III.2.2.Les produits arachidières.....	25

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV.1.Présentation de lieu de stage.....	26
IV.2. Préparation du végétal (la coque d'arachide)	27
IV.3. Analyse du végétal	27
IV.3.1. Taux d'humidité	27
IV.3.2. Détermination de la teneur en cendres (NF V 05-113)	28
IV.3.3. Analyse par granulométrie à laser.....	29
IV.3.4.Détermination de la composition minérale du végétal par Spectroscopie d'absorption atomique (SAA)	30
IV.3.5.Analyse structurale par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).....	31
IV.3.6. Analyse par microscopie électronique à balayage (MEB).....	32
IV.4.Etude de la dénitrification	33
IV.5.Méthode d'analyse	35
IV.5.1.Dosage des nitrates par colorimétrie (méthode de HACH)	35
IV.5.2. Dosage des nitrites par colorimétrie (méthode de HACH)	36
IV.6. Effet de la variation des paramètres.....	38
IV.6.1.La variation de la concentration initiale des nitrates dans le milieu.....	38
IV.6.2. Effet de la variation du pH dans le milieu sur la dénitrification.....	38
IV.6.3. Effet de la variation de la température dans le milieu sur la dénitrification.....	39

IV.7. La détermination de la demande chimique en oxygène.....	39
IV.8. La détermination de la demande biochimie en oxygène.....	40

Chapitre V : Résultats et discussions

V.1.Résultat d'analyse du végétal (les coques d'arachide).....	41
V.1.1 Composition chimique.....	41
V.2. Etude du réacteur en batch.....	49
V.2.1.Les Nitrates.....	49
V.2.1.1.Variation du taux de la dénitrification en fonction de la concentration initiale des nitrates.....	49
V.2.1.2.Variation du taux de la dénitrification en fonction de la température.....	50
V.2.1.3.Variation du taux de la dénitrification en fonction de pH	51
V.2.2.Les Nitrites.....	53
V.2.2.1.Variation de la concentration des nitrites en fonction de la concentration initiale des nitrates.....	53
V.2.2.2.Variation de la concentration des nitrites en fonction de la température.....	54
V.2.2.3.Variation de la concentration des nitrites en fonction du pH.....	55
V.3. Les Résultats de la DCO et DBO ₅	56
Conclusion.....	57
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Principales origines des NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ dans l'environnement.....	8
Tableau I.2. Influence des activités humaines et impact sur la santé de différents niveaux des nitrates dans l'eau.....	10
Tableau I-3 : Résumé des normes de potabilité concernant les nitrates dans l'eau potable.....	12
Tableau II.1: Avantages et inconvénients des différents procédés d'élimination des nitrates.....	16
Tableau IV.1 : Composition de la solution d'alimentation du réacteur.....	34
Tableau V.1 : Taux d'humidité	41
Tableau V.2 : Taux de cendres.....	41
Tableau V.3 : Teneur en minéraux.....	42
Tableau V.4 : Granulométrie à laser.....	42
Tableau V.5 : Concentration des nitrates et le taux de la dénitrification en fonction de la concentration initiale des nitrates.....	49
Tableau V.6 : La concentration des nitrates et le taux de la dénitrification en fonction de la température.....	50
Tableau V.7 : La concentration des nitrates et le taux de dénitrification en fonction du pH.....	51
Tableau V.8 : Variation de la concentration des nitrites en fonction de la concentration initiale des nitrates.....	53
Tableau V.9 : Variation de la concentration des nitrites en fonction de la température	54
Tableau V.10 : Variation de la concentration des nitrites en fonction du pH.....	55
Tableau V.11: Résultats de la DBO_5 et la DCO.....	56

Liste des figures

Figure I.1 : Schéma représentatif du cycle environnemental de l'azote.....	5
Figure III.1: Représentation schématique des différentes étapes de formation d'un biofilm	24
Figure III.2 : La plante d'arachides	25
Figure IV.1 : Les coques d'arachides avant et après broyage	27
Figure IV.2: Granulométrie à Laser de type LA 950	30
Figure IV.3: Spectromètre d'absorption atomique de marque «ANALYTIK JENA».....	31
Figure IV.4: Spectromètre à transformée de Fourier de type « JASCO IFTR-4100 ».	32
 Figure IV.5 : Microscope électronique à balayage (MEB) de marque QUANTA 650.	33
Figure IV.6: Réacteur en batch.....	34
 Figure IV.7 : Spectrophotomètre de type DR2010.....	35
 Figure IV.8 : Schéma des échantillons de différentes concentrations.....	38
 Figure IV.9: DCO mètre de type DR1900.....	39
 Figure IV. 10: DBO mètre de type Oxitop.....	40
 Figure V.1 : Histogramme de la distribution des différentes phases granulométriques de la poudre des Coques d'arachide.....	43
 Figure V.2 : Spectre infrarouge de la poudre des coques d'arachide avant traitement à la solution NaOH.....	44
 Figure V.3 : Spectre infrarouge de la poudre des coques d'arachide après traitement à la solution NaOH.....	44
 Figure V.4 : Comparaison entre les deux spectres IR de la poudre des coques d'arachide avant et après traitement.....	45

Figure V.5 : Observation au MEB de la poudre des coques d'arachide avant traitement (agrandissement x100, x400, x800, x1600, x3000).....	46
Figure V.6 : Observation au MEB de la poudre des coques d'arachide après traitement (agrandissement x100, x400, x800, x1600, x3000).....	47
Figure V.7 : Taux de la dénitrification en fonction de la concentration initiale des nitrates.....	49
Figure V.8 : Taux de la dénitrification en fonction de la température	50
Figure V.9 : Taux de la dénitrification en fonction du pH.....	51
Figure V.10 : Variation de la concentration des nitrites en fonction de la concentration initiale des nitrates.....	53
Figure V.11 : Variation de la concentration des nitrites en fonction de la température.	54
Figure V.12 : Variation de la concentration des nitrites en fonction du pH.....	55

Liste des abréviations

OMS : Organisation Mondiale de La Santé.

DJA : Dose Journalière Admissible.

DMA : Dose Maximale Admissible.

STEP : Station d'épuration.

NO₃⁻ : Nitrate.

NO₂⁻ : Nitrite.

NH₃ : Ammoniac.

NH₄⁺ : Ammonium.

N₂ : Azote moléculaire.

N₂O : Oxyde nitreux ou peroxyde d'azote.

N-NO₃⁻ : Azote nitrique.

N-NO₂⁻ : Azote nitreux.

NAR : Nitrate réductase.

NIR : Nitrite réductase.

NOR : Oxyde nitrique réductase.

N₂OR : Oxyde nitreux réductase.

INTRODUCTION

L'eau est un besoin vital et l'accès à une eau de bonne qualité nécessite un engagement de notre part pour sa protection [1].

En cas de contamination, elle peut constituer une source d'infections graves, particulièrement pour les patients les plus fragiles. Les principaux risques sanitaires liés à l'utilisation de l'eau dans les établissements de santé doivent donc être identifiés et évalués afin de déterminer les moyens à mettre en œuvre pour maîtriser ces risques [2].

Les ions nitrates constituent aujourd'hui la cause majeure de pollution des eaux qui provient principalement des activités anthropogéniques telles que l'utilisation intensive des engrais pour l'agriculture, des déchets d'animaux produits par les élevages intensifs (lisiers, fumiers), de l'eau résiduaire des collectivités et de certaines industries [3]. En conséquence certains écosystèmes aquatiques sont mis en péril du fait du phénomène de l'eutrophisation et mettent en avant la difficulté de l'approvisionnement en eau potable qui est devenue une préoccupation mondiale [4].

Les nitrates peuvent avoir des effets nocifs non seulement pour l'environnement, mais aussi pour la santé de l'homme. En présence de fortes teneurs en nitrates et en nitrites dans les eaux de consommation leurs effets se résument principalement dans la synthèse des nitrosamines cancérigènes et la formation de la méthémoglobine chez le nourrisson ou syndrome du bébé bleu (perte de la capacité du sang à transporter l'oxygène vers l'organisme) [5]. Face à ces constatations inquiétantes, l'Union Européenne et l'Organisation Mondiale de la Santé ont fixé un taux maximal de 50 mg/L de NO_3^- pour les eaux destinées à la consommation humaine. Au-delà de 100 mg/L en nitrate, l'eau ne doit pas être bue ni utilisée dans la préparation des aliments. Les autorités sanitaires doivent contrôler les concentrations en nitrates afin de répondre aux normes imposées par nos besoins en eau potable et informer les populations en cas de dépassement de ces normes [6].

En Algérie, la pollution des eaux potables par les nitrates est devenue alarmante, et leur concentration s'élève de plus en plus. En effet, des échantillons prélevés de la plaine de Mitidja en 2004 ont révélé que la valeur de 175 mg/L a doublé comparativement avec celles trouvées en 1990 (Agence Nationale des Ressources en Eau). Des études effectuées dans quelques régions en Algérie ont révélé une contamination dépassant la dose admissible recommandée par l'OMS. Sidi Belabes, Birkhadem et Chlef où la concentration a augmenté jusqu'à 260 mg/L depuis 1990 (Agence Nationale des Ressources en Eau) [7].

Il existe plusieurs techniques physicochimiques et biologiques de traitement des Nitrates. Les plus utilisés sont les procédés d'échanges d'ions et l'osmose inverse.

Récemment les processus biologiques se sont avérés les plus Concurrentiels et les mieux adaptés au traitement des nitrates en raison de leur facilité, efficacité et de leur coût modéré. La dénitrification biologique permet la transformation de composés d'oxyde d'azote par des bactéries en azote gazeux [8].

Le but de ce travail est de dénitrifier une eau par voie biologique en utilisant la boue activée prélevée de la station d'épuration de Boumerdès comme source des bactéries et les coques d'arachide comme source de carbone et d'énergie et aussi comme un support des bactéries dans un milieu nutritif approprié où les nitrates jouent le rôle d'un accepteur final d'électrons au lieu de l'oxygène (milieu anaérobie) .

Dans ce travail on a rédigé trois parties :

- une première partie contient trois chapitres qui traitent le contexte d'étude bibliographique.

Le chapitre I portera des généralités sur l'eau potable, l'azote, et les nitrates, leurs sources, leurs effets sur la santé humaine, sur l'environnement, et leur réglementation.

Le chapitre II portera sur les différents procédés de l'élimination des nitrates, en insistant sur le traitement que nous avons utilisé (dénitrification biologique).

On termine l'étude bibliographique par le chapitre III qui parle sur le biofilm et le matériau support (les coques d'arachide).

- une deuxième partie contient le chapitre IV qui expose la méthodologie du travail.
- une troisième partie contient le chapitre V qui aborde les résultats de l'étude, suivi des commentaires ainsi que la conclusion.

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I
GÉNÉRALITÉS SUR L'EAU POTABLE,
L'AZOTE, ET LES NITRATES

I.1. L'eau potable :**I.1.1. Définition de l'eau potable :**

Une eau est dite potable quand elle satisfait à un certain nombre de caractéristiques la rendant propre à la consommation humaine. Elle doit répondre à des normes établies soit au niveau national, ou international. C'est une eau qui ne doit pas porter atteinte à la santé humaine.

La définition de ces eaux destinées à la consommation humaine est fournie par la Directive 98/83 du 3 novembre 1998, traduite en droit français dans le Code de la Santé publique. Ainsi, qu'elle soit distribuée au robinet ou en bouteille, l'eau destinée à la consommation humaine est un aliment, et doit à ce titre :

- Posséder des qualités organoleptiques (goût, odeur) propre à satisfaire le consommateur.
- ne pas porter atteinte à la santé [2].

I.1.2. Origine des eaux potables :**a-Eaux de source, eaux minérales :**

Les eaux dites « de source » sont des eaux naturellement propres à la consommation humaine ; on parle alors d'eau potable. En Europe, les seuls traitements qu'il est permis de leur appliquer sont l'aération, la décantation et la filtration. Aux États-Unis, ces traitements sont acceptés. Les eaux naturellement gazeuses, qui contiennent du dioxyde de carbone dissous, peuvent également être gazéifiées avant d'être embouteillées.

Les eaux minérales naturelles, possèdent des propriétés particulières : elles ont des teneurs en minéraux et en oligo-éléments qui peuvent leur donner des vertus thérapeutiques. Comme les eaux de source, elles ne peuvent être traitées. Une eau ne peut être qualifiée en France de minérale que si elle a été reconnue comme bénéfique pour la santé par l'Académie de médecine et le Ministère de la Santé ; En ce sens, c'est un aliment. Elle est d'origine profonde et de composition physico-chimique constante dans le temps, et satisfait à des exigences microbiologiques plus strictes que les autres eaux destinées à la consommation humaine (à l'émergence).

Certaines eaux très fortement minéralisées dépassent les critères législatifs de minéralisation tolérées pour les eaux brutes. Par extension, et certains composants tels que le

fluor et les sulfates n'étant bénéfiques pour la santé qu'à faibles doses, il arrive qu'elles soient qualifiées de « non-potable ».

b- Eaux brutes :

De la qualité des eaux brutes (ressource en eau avant tout traitement de potabilisation) va dépendre :

- l'autorisation de prélever cette eau pour la rendre potable.
- la filière de potabilisation appropriée.

En application du droit communautaire, les eaux superficielles destinées à la production alimentaire doivent répondre à des exigences de qualité très précises et fixés par des organismes spécialisés [2].

I.1.3. Critères de potabilité :

Pour être consommée, l'eau doit répondre à des critères de qualité très stricts. Fixés par le ministère de la santé, les critères d'une eau "propre à la consommation" sont au nombre de 63, ils portent sur :

- La qualité microbiologique : L'eau ne doit contenir ni parasite, ni virus, ni bactérie pathogène.
 - La qualité chimique : Les substances chimiques autres que les sels minéraux font l'objet de normes très sévères. Ces substances sont dites "indésirables " ou " toxiques"
- Les substances indésirables : Leur présence est tolérée tant qu'elle reste inférieure à un certain seuil (le fluor et les nitrates par exemple)
- Les substances aux effets toxiques : Le plomb et le chrome en font partie. Les teneurs tolérées sont extrêmement faibles
- La qualité physique et gustative : L'eau doit être limpide, claire, aérée et ne doit présenter ni saveur ni odeur désagréable
 - Les eaux adoucies ou déminéralisées : Les eaux traitées par un adoucisseur d'eau doivent contenir une teneur minimale en calcium ou en magnésium, de même qu'en carbonate ou en bicarbonate [9].

I.2. Généralité sur l'azote :

L'azote représente 78% de l'atmosphère, il constitue entre 16 à 23% des protéines cellulaires et environ 12% des acides nucléiques. L'ensemble des réactions biologiques de croissance requiert la présence de l'élément azote [10].

Longtemps négligé, le traitement de l'azote est aujourd'hui un aspect important dans les procédés de dépollution des eaux usées et de traitement des eaux potables. L'azote est considéré comme le second polluant des eaux après le carbone et avant le phosphore. On retrouve l'azote dans de nombreux types d'eaux usées. Il est dissous sous la forme d'ammoniac, de nitrite ou de nitrate et présent dans les molécules organiques comme les acides aminés et les particules organiques en suspension [11].

I.2.1. Cycle de l'azote :

L'azote est un élément chimique très répandu dans la nature. Il est indispensable à la vie de l'homme. 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 [12].

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

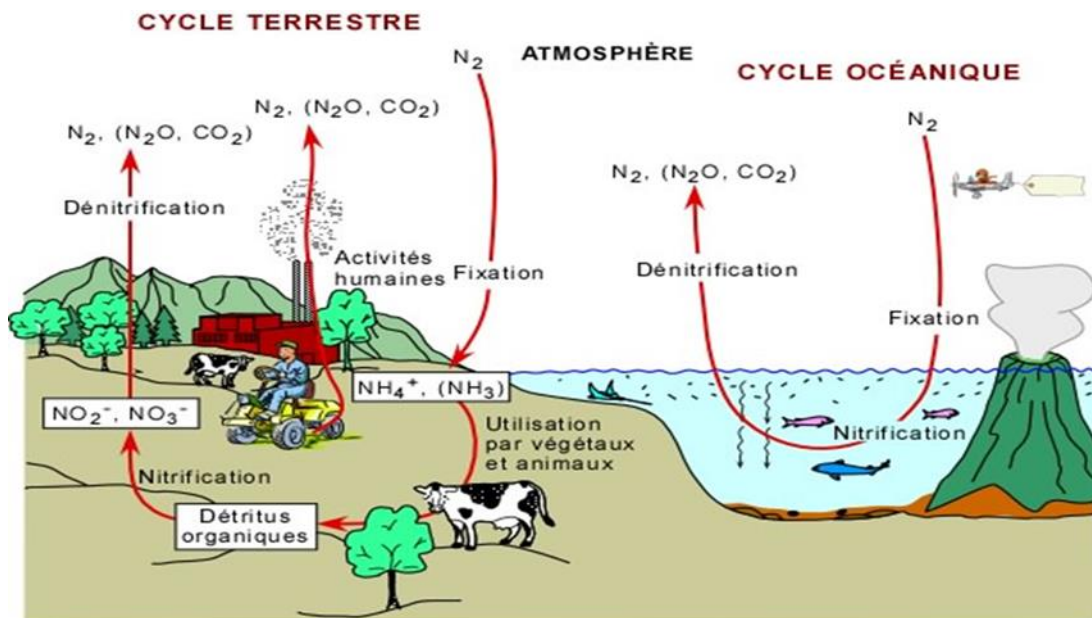
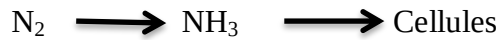
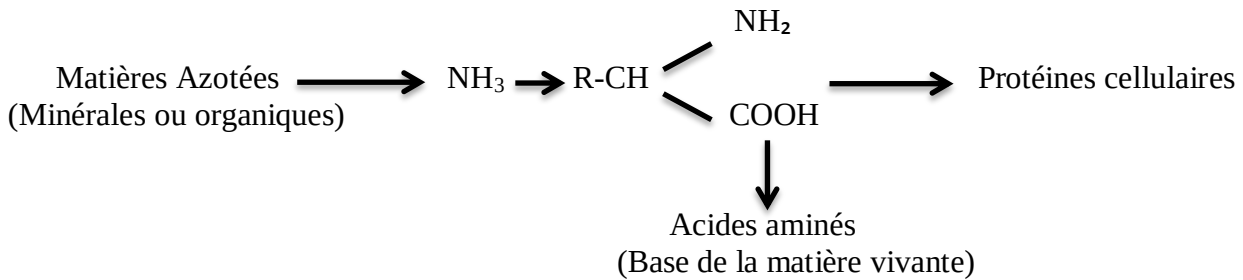


Figure I.1 : Schéma représentatif du cycle environnemental de l'azote.

I.2.1.1.La fixation : correspond au passage de l'azote atmosphérique (N_2) en azote combiné sous l'action de certains organismes.



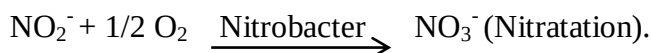
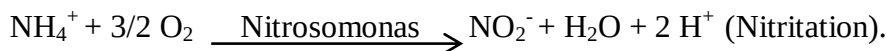
I.2.1.2.L'assimilation : est la transformation de matière azotée minérale ou organique inerte en matière vivante.



I.2.1.3.L'ammonification : est la libération d'ammoniac à partir des matières azotées organiques.



I.2.1.4.La nitrification : est l'oxydation de l'azote ammoniacal en nitrate par l'intermédiaire de bactéries nitrifiantes.

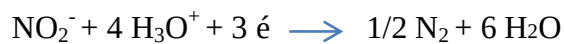
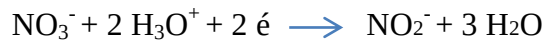


I.2.1.5.La dénitrification : est la réduction des nitrates en azote gazeux par l'intermédiaire des bactéries dénitrifiantes.

Les nitrates présentent certaines caractéristiques qui permettent de mieux comprendre l'évolution des teneurs dans les nappes qui sont observées ces dernières années :

- Les nitrates sont très stables et très solubles dans l'eau.
- La pénétration dans les sols est lente. La vitesse de migration serait environ de 1 m par an.

La teneur en nitrate dans les nappes est donc influencée par les variations des apports avec un retard correspondant au temps de transfert [13].



I.3. Nitrates :

Les nitrates sont des sels de l'acide nitrique. Ce sont des composés azotés naturels de formule chimique NO_3^- (ion nitrate), présents dans tous les écosystèmes. Ils sont essentiels à la croissance des végétaux qui les puisent dans le sol, mais peuvent devenir néfastes pour les plantes et les animaux s'ils sont trop abondants. Ils entrent dans la composition des engrais chimiques et naturels (fumiers). Ce sont des composés facilement entraînés par les eaux de pluie, de drainage, de ruissellement ou d'infiltration [14].

I.3.1. Origine de la pollution par les nitrates :

Présents naturellement dans l'environnement, les ions nitrate et nitrite sont tous les deux des produits de l'oxydation de l'azote. Mais, l'ion nitrate étant relativement stable, la majorité des substances azotées de l'environnement ont tendance à se transformer en NO_3^- [1], et leur concentration dans les eaux souterraines et dans les eaux de surfaces (rivières, lacs, retenues d'eau) a brusquement augmentée depuis une trentaine d'années [15]. Cette pollution provient principalement de l'agriculture (55%), suite à l'épandage de doses massives d'engrais azotés et des déjections animales qui sont très riches en nitrate, et des eaux résiduaires des collectivités territoriales (35%). Les 10% restants sont attribués aux activités industrielles avec notamment l'industrie alimentaire qui utilise les nitrites comme agents antimicrobiens dans les produits de salaison (viandes et saucisses) pour prévenir du botulisme [1].

Tableau I-1 : Principales origines des NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ dans l'environnement [16].

Eaux	Composées azotés concernés	Type de pollution	Source de pollution
Eaux superficielles des rivières, lacs, canaux, étangs.	Ammonium, Ammoniaque dissoute, Azote organique.	Ponctuelle	Rejet industriels et domestiques, Rejet d'effluent d'élevage.
	Nitrates, Nitrites	Ponctuelle et diffuse	Alimentation des eaux superficielles par des nappes polluées.
Eaux souterraine		Diffuse	Fuites des zones industrielles et habitées, activités agricoles et intensive.
	NO_3^- Presque uniquement.	Macro-ponctuelle ou macro-diffuse	Même source que ci-dessus, Rejet industriel domestique de l'agriculture ou des élevages.

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

I.3.2. Conséquences de la consommation excessives des nitrates :

La présence des nitrates dans les effluents aqueux déversés dans l'environnement peut conduire à des problèmes de contamination des eaux superficielles et souterraines [17]. Une augmentation significative de la concentration des nitrates (NO_3^-) dans les eaux souterraines a été observée dans beaucoup de pays européens, avec des niveaux qui dépassent 100 mg/L [18].

Pour éviter les intoxications, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), créée par les Nations Unies, a fixé la dose de nitrates journalière admissible (DJA) à 3,65 mg / kg de poids corporel (soit 255 mg pour un homme de 70 kg). En tenant compte de l'ensemble des apports (aliments + boissons), les normes et recommandations pour les eaux d'alimentations sont :

- une eau contenant moins de 50 mg / l peut être consommée sans restriction et ne doit pas être consommée par les femmes enceintes et les nourrissons si elle est très proche ou égale 50 mg/l ;
- plus de 100 mg / l, l'eau doit être considérée comme non potable pour l'ensemble de la population [19].

I.3.2.1.Nitrates et santé humaine :

La consommation de légumes et de fruits, qui contiennent toujours des nitrates quel que soit leur mode de culture, entraîne une ingestion chez l'adulte. Chez les nourrissons, c'est la consommation d'eau qui est la principale source de nitrates.

La teneur en nitrates de l'eau du robinet est sensiblement plus élevée que celle des eaux minérales et des eaux de source (entre 15 et 48 mg/L pour l'eau du robinet, moins de 10 mg/L pour les autres).

Il ne faut pas oublier que l'estomac produit lui-même des nitrates qui se transforment en nitrites [19].

La concentration de nitrates dans l'eau potable peut être classée selon quatre catégories : inférieure à 0,2 mg-N/l (aucune influence humaine), entre 0,21 et 3,0 mg-N/l, (influence possible des activités humaines), entre 3,1 et 10 mg-N/l, (influence très nette des activités humaines mais sans impact apparent sur la santé), supérieure à 10 mg-N/l (impact majeur des activités humaines et effets possibles sur la santé) [20].

Tableau I.2 : Influence des activités humaines et impact sur la santé de différents niveaux des nitrates dans l'eau.

Concentration des nitrates dans l'eau potable mg -N/L	< 0,2	0,21 - 3	3,1 - 10	> 10
Influence des activités humaines	Non	Possible mais impact mineur	Certaine mais avec impact modéré	Certaine avec impact majeur
Impact sur la santé	Non	Non	Non démontré	Possible

L'exposition de la population aux nitrates et aux nitrites se fait principalement par les aliments et occasionnellement par l'eau de consommation. Chez l'adulte, la principale source de nitrates et de nitrites provient des légumes tels que la betterave, le céleri et l'épinard qui sont particulièrement riches en nitrates. La cuisson à l'eau a toutefois pour effet de réduire leur teneur en nitrates [21]. L'apport quotidien en nitrates provenant des aliments varie selon le régime alimentaire (standard ou végétarien).

Dans le cas des enfants nourris avec du lait maternisé, l'eau utilisée pour la préparation du lait est la seule source de nitrates. Elle peut ainsi devenir une source importante d'exposition lorsque l'eau est contaminée par les nitrates.

Environ 20% des nitrates sont transformés par la flore buccale en nitrites. Ces derniers sont considérés néfastes et toxiques en présence dans l'organisme humain à des teneurs élevées, mais la toxicité des nitrates reste toujours à discuter. Il n'y a toutefois aucune certitude à ce sujet et à ce jour, que les interactions entre le nitrite et les amides et amines susceptibles de former des composés azotés cancérigènes.

- Contrairement, certains scientifiques avancent les effets bénéfiques des nitrates, notamment contre les infections, les carcinomes et les maladies cardio-vasculaires.
- Les nitrates (NO_3^-) ne sont pas toxiques pour l'homme. Le problème provient de leur transformation en nitrites (NO_2^-), dont l'estomac contient encore des bactéries actives, les nitrates peuvent réagir avec les amines secondaires apportés par l'alimentation pour former des nitrosamines [19]. Dans l'intestin des adultes, On suspecte les nitrates de favoriser ainsi l'accroissement des cas de cancers du côlon causés par la

présence de fortes teneurs de nitrites qui réagissent avec les matières organiques formant ainsi des nitrosamines qui ont le caractère cancérigène.

- Dans le sang : les nitrates peuvent transformer l'hémoglobine en méthémoglobine non fonctionnelle par des bactéries présentes dans le tube digestif. Tout particulièrement pour les nouveaux nés ce qui les rendent vulnérables à une forme d'anémie qui bloque le transfert d'oxygène : c'est la méthémoglobine qui touche essentiellement les nourrissons ce qu'on l'appelle (syndrome du bébé bleu) [22].

I.3.2.2. Nitrates et l'environnement :

Après les phosphates, les ions nitrates représentent la deuxième cause d'eutrophisation des plans d'eau, qui peut mener à un développement incontrôlé des plantes et des microorganismes aquatiques et par suite, à l'étouffement de l'écosystème aquatique [23]. En Asie, en Europe, et en Amérique, plus de 40 % des lacs sont déjà eutrophes.

L'eutrophisation, est liée principalement aux niveaux excessifs des nitrates et du phosphore dans ces eaux, elle se manifeste par une prolifération massive d'algues vertes et des cyanobactéries potentiellement toxiques, ce qui engendre une augmentation de la charge de l'écosystème en matière organique à dégrader. La décomposition de ces algues par les bactéries consommatrices de dioxygène conduit à une diminution du taux de dioxygène dans l'eau. Parallèlement, les matières organiques non dégradées s'accumulent dans les sédiments. Un déséquilibre se produit entre les eaux profondes où le développement des organismes est limité et les eaux de surface oxygénées par photosynthèse et aération [24]. En résumé, l'eutrophisation résulte de l'enrichissement de l'eau en sels minéraux (nitrates et phosphates) entraînant des déséquilibres écologiques tels que l'appauvrissement du milieu en oxygène et la prolifération de la végétation aquatique [15]. Schématiquement l'eutrophisation commence par une prolifération anormale d'algues vertes et se termine par l'asphyxie et la destruction de l'ensemble de l'écosystème.

L'eutrophisation entraîne les nuisances suivantes :

- Toxicité et risques chroniques ou intermittents pour la santé par la production des cyanotoxines.
- Détérioration de la qualité de l'eau avec déstabilisation des chaînes trophiques.
- Diminution de la valeur commerciale de l'aquaculture et de la pêche.
- Diminution de la valeur esthétique et récréative des eaux affectées [24].

I.4. La réglementation :

Les normes de qualité de l'eau potable sont très rigoureuses. C'est la garantie d'une eau de qualité. Les normes s'appuient en général sur les travaux médicaux établissant les doses maximales admissibles (DMA), c'est-à-dire la quantité de telle ou telle substance qu'un individu peut absorber sans danger quotidiennement tout au long de sa vie.

La norme concernant la concentration de nitrates dans l'eau potable est basée sur la prévention du risque de méthémoglobinémie. Bien que le risque à long terme dû au potentiel cancérigène des nitrates via la formation de nitrosamines ne soit pas pris en compte pour la détermination de la norme de nitrates dans l'eau potable, on considère prudent de minimiser l'exposition à ces composés pour l'ensemble de la population [25].

La norme de concentration maximale en nitrates de l'eau potable admise par l'Organisation Mondiale de la Santé est de 50 mg de nitrates par litre d'eau.

L'Europe recommande une norme guide à 25 mg de NO_3^-/l d'après le Programme Interdisciplinaire de Recherche 2009 sur l'Environnement. Selon l'institut National de normalisation la norme Algérienne de potabilité des eaux de consommation est de 50 mg/l (Norme homologuée NA6360). Qui est proche aux normes américaines et canadiennes qui sont respectivement 45mg/l et 44,5mg/l.

Les nitrates ne sont pas les seuls polluants résultant des pratiques de l'agriculture industrielle, mais on les considère comme étant un bon indicateur, d'ailleurs le plus facile à doser et à surveiller, des autres polluants qui affectent la qualité de l'eau, c'est un bon corrélateur des pollution causées par les pesticides.

Tableau I.3 : Résumé des normes de potabilité concernant les nitrates dans l'eau potable [26].

Norme de potabilité pour les nitrates				
Algérienne	OMS	Européenne	Française	Américaine
JORA. 2011	OMS. 2008	2000/ CE	98/8CE	USEPA.1991
50 mg/l	50 mg/l	50 mg/l	50mg/l	45mg/l

Selon le tableau I.3, la valeur maximale admissible en nitrates dans les eaux de consommation a été fixée à 50 mg/l par l'ensemble des normes internationales sauf les normes américaines qui fixent 45 mg/l comme valeur maximale admissible.

CHAPITRE II

PROCÉDÉS D'ÉLIMINATION DES

NITRATES

II.1.Traitement des nitrates :

Actuellement l'élimination des nitrates peut être classée en deux catégories :

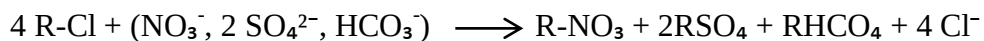
- Les procédés physico-chimiques : échange d'ions, procédés membranaires, procédés électrochimiques.
- Les procédés biologiques : dénitrification hétérotrophe ou autotrophe.

II.1.1.Les procédés physicochimiques :

On utilise le terme dénitratisation par opposition de la dénitrification qui correspond à une transformation biologique.

II.1.1.1.Echange d'ions :

Le traitement des eaux par échange d'ions est un procédé ancien largement répandu. Le principe de cette technique repose sur l'échange ionique entre les ions indésirables présents dans l'eau avec les ions chlorures contenus dans une résine en quantité équivalente selon la réaction suivante :



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

Les caractéristiques des résines jouent un rôle très important dans l'affinité entre les différents anions, car il existe des résines plus ou moins sélectives aux ions nitrates dont l'ordre est le suivant :



L'inconvénient de cette technique est que les résines possèdent une capacité d'échange limitée et doit être régulièrement régénérées par une solution fortement concentrée d'ions choisis. Ainsi selon l'ordre d'affinité ci-dessus, une eau chargée par les sulfates pourra être gênante dans l'élimination des nitrates. Par cette technique, les nitrates sont donc déplacés mais pas éliminés, actuellement après régénération des résines les éluas sont rejetés en station d'épuration des eaux usées [27].

II.1.1.2.Les procédés membranaires

Les procédés membranaires sont des procédés de traitement où on fait passer l'eau à purifier par une membrane poreuse spécifique afin d'arrêter le passage des molécules dont la taille est supérieure à celle des pores de la membrane. Les membranes utilisées pour le traitement des nitrates sont des nano filtres. L'osmose inverse est aussi connue pour le fait de pouvoir séparer les ions des sels dissous du solvant [27].

II.1.1.2.1.Osmose inverse

L'osmose inverse est l'application d'une pression supérieure à la pression osmotique de l'eau à traiter, riche en nitrates, en utilisant un film semi-perméable de faible épaisseur [28]. Sous l'action d'une certaine pression, la membrane laisse passer l'eau et s'oppose au passage des solutés.

Cette technique est bien développée pour le dessalement de l'eau de mer et reste limitée pour la dénitratisation [29].

II.1.1.2.2.L'électrodialyse

L'électrodialyse est une technique électro-membranaire qui désigne le transfert des sels dissous d'une eau à travers une membrane, sous l'effet d'un champ électrique. Le principe de l'électrodialyse est l'application d'un courant continu entre les électrodes d'une cellule constituée de succession de cellules à compartiment de membranes semi-perméables alternativement anioniques et cationiques. Lors de l'action du champ électrique, la membrane anionique autorise le passage des anions et la membrane cationique laisse passer les cations. Les cations sortant du premier compartiment, en franchissant la membrane cationique, sont bloqués dans le deuxième compartiment par la membrane anionique. Les anions sortant aussi du premier compartiment en migrant à travers la membrane anionique sont bloqués par la membrane cationique. Dans le cas des nitrates on a un compartiment sur deux riches en nitrates. La mise en œuvre de cette technique nécessite l'utilisation de membranes sélectives (à base de benzyl-4-pyridinium) qui permettent de retenir les nitrates. Le rendement obtenu pour l'élimination des nitrates peut atteindre 40 à 60%.

L'inconvénient majeur de cette technique est efficace pour les eaux fortement concentrées (environ 5000 ppm) et reste peu efficace pour les eaux de faibles concentrations, ainsi les nitrates sont extraits de l'eau et non éliminés. Ils se retrouveront donc sous forme de déchets.

II.1.1.2.3. La nano-filtration :

La nano-filtration est une technique membranaire récente qui couvre un domaine de séparation intermédiaire entre l'ultrafiltration et l'osmose inverse, dans la famille des procédés membranaires sous pression [30]. Elle est basée sur l'utilisation d'une membrane à pores nanométriques ($< 2 \text{ nm}$) porteuse de charges ioniques superficielles. La membrane peut être composée d'un matériau organique ou minéral.

La nano filtration permet de retenir les molécules de masses moléculaires allant de 200 à 2000 g/mol) par effet physique et les ions sont retenus par effet électrostatique. Elle est donc utilisée principalement dans le domaine de la pharmacie, pour la séparation de petites molécules à forte valeur ajoutée (antibiotiques). Dans le cas des nitrates, la présence des sels a un effet marqué sur la rétention des nitrates. [Garcia et al, 2006] ont étudié l'influence de divers ions dans la solution de nitrates, et ont montré que la présence des ions sulfates divalents provoque une diminution de la rétention des nitrates à cause de leur taille et des répulsions électrostatiques (la membrane étant chargée négativement), les nitrates traversent alors la membrane pour assurer l'électro neutralité du per méat [31].

II.1.1.3. Procédés électrochimiques

Cette méthode a été largement étudiée pendant les dernières années [32].

Elle consiste à appliquer une tension sur une électrode de Pt (ou Pd) activée avec du germanium [33]. Les électrons libérés conduisent à la réduction des nitrates et engendrent des espèces intermédiaires NO_2^- ; NH_3^- .

L'inconvénient de cette technique est le fait que l'eau obtenue contient des concentrations assez élevées en métal dissous tel que l'étain Sn_2^+ qui n'est pas admis pour la consommation humaine [34].

II.1.2. Les procédés biologiques

Les traitements biologiques occupent une place importante parmi les procédés mis en place pour éliminer les nitrates. La dénitrification biologique est un processus anoxique au cours duquel les bactéries hétérotrophes vont modifier leurs métabolismes pour utiliser les nitrates (NO_3^-) comme accepteur final d'électrons au lieu de l'oxygène moléculaire. La réduction biologique du nitrate au cours de la dénitrification mènera à la production finale de N_2 (produit gazeux inerte). En France et à l'étranger, les eaux usées sont majoritairement traitées par voie biologique qui s'avère plus économique que par voie physico-chimique [35].

II.1.3.Choix de notre traitement

Tableau II.1: Avantages et inconvénients des différents procédés d'élimination des nitrates.

procédés	Avantages	Inconvénients
biologique	-Rejets exempts de nitrates, -probabilité faible de formation De sous-produits toxiques, -spécifique des nitrates, -faible concentration	-Rendement acceptable dans un domaine de température Entre 5°C à 75°C. -Surveillance suivi.
Résines échangeuses d'ions	-faible en toutes circonstances, -Adaptable à un fonctionnement automatique peu sensible aux basses températures.	-Complexité du cycle CO₂ Dépend de la qualité de l'eau brute. -Non spécificité des espèces retenues (SO₂⁻, Cl⁻). -Nécessité d'une régénération de résine. -L'eau traitée peut être corrosive. -Rejets très concentrés en nitrate.
Osmose inverse	-Procédé bien maîtrisé fiable en toutes circonstances. -Peut fonctionner en automatique. -La composition de l'eau brute a peu d'importance.	-Modifie la qualité de l'eau initiale (l'eau traitée peut être corrosive). -Traitement non spécifique. Coût élevé. -Problème d'évacuation des éluas riches en nitrates. -Durée de service des membranes.
Electrodialyse sélective	Ne nécessite pas de régénération.	- Spécificité moyenne pour des rendements limités. -Nécessité d'un prétraitement. -Ponctualité de rejets Concentrés.

Le Tableau II.1 ci-dessus résume les principaux avantages et inconvénients des méthodes utilisées pour l'élimination des nitrates de l'eau potable. On voit que chaque procédé physicochimique présente des difficultés, soit sur le plan technique, soit sur le plan

économique contrairement aux processus biologiques qui ont l'avantage de ne régénérer aucun déchet secondaire.

Vu la facilité, l'efficacité et le coût modéré de la dénitrification biologique elle semble donc être la mieux adaptée aux moyens de l'Algérie [27].

II.2. la dénitrification biologique

La dénitrification par les micro-organismes résulte, soit de l'utilisation des nitrates pour la synthèse de composés cellulaires azotés (assimilation), soit de la réduction des nitrates en azote moléculaire (dissimilation). L'utilisation de la dénitrification à l'échelle industrielle repose essentiellement sur ce dernier mécanisme. Dans ce cas, la dénitrification est accomplie par des micro-organismes qui utilisent les ions nitrates et nitrites comme accepteur d'électrons dans les conditions anoxiques. Les ions nitrates et nitrites sont réduits en azote moléculaire mais ne constituent pas un substrat pour les micro-organismes.

Cizinska et al. (1992) ont signalé que la réduction biologique du nitrate est actuellement la principale méthode pour l'élimination des nitrates.

Quatre éléments de base sont nécessaires à la dénitrification. Il s'agit de donneur d'électrons, accepteur d'électrons, les bactéries actives, et l'état d'anoxie. La dénitrification biologique est effectuée soit par dénitrification hétérotrophe ou par dénitrification autotrophe. Le processus hétérotrophe est mené par des micro-organismes qui exigent un substrat organique pour la source de carbone. Le processus autotrophe est mené par des micro-organismes qui exigent du carbone inorganique pour la source de carbone [36].

II.2.1. La dénitrification hétérotrophe

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



La plupart des bactéries permettant la dénitrification sont hétérotrophes. Parmi les plus connues on trouve les *Pseudomonas* et *Bacillus*. En absence d'oxygène, ces bactéries dénitrifiantes, souvent anaérobies facultatives, vont utiliser l'oxygène des nitrates comme accepteur final d'électrons. Certaines de ces bactéries ne peuvent accomplir qu'une ou deux étapes de la dénitrification. La dénitrification hétérotrophe requiert un donneur d'électrons d'un composé organique (glucose, méthanol, éthanol,...).

II.2.2. La dénitrification autotrophe

La dénitrification autotrophe permet de réduire les nitrates en azote gazeux dans des conditions anoxiques par l'utilisation d'une source d'énergie inorganique. L'une des substances inorganiques utilisées est le soufre, ce qui donne son nom au procédé « procédé soufre/Chaux » ; le soufre jouant le rôle de donneur d'électrons la chaux servant à maintenir le pH.



Cette réaction est catalysée par des bactéries autotrophes anaérobies du genre *Thiobacillus* qui ont la capacité de réduire les nitrates en oxydant de nombreux composés soufrés comme S_2^- , S , S_2O_3^- , $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$, SO_3^{2-} et même H_2S . La dénitrification autotrophe se situe en profondeur souvent plus de 10 m sous la surface du sol, c'est pour cela qu'elle est rencontrée parfois d'une manière spontanée dans les eaux souterraines et elle est pratiquement absente dans les eaux de surfaces où la matière organique est dominante. En absence des composés soufrés les *Thiobacillus* peuvent utiliser la pyrite comme source d'énergie [37].



II.2.3. Propriétés de la dénitrification biologique :

Brock et *al.* (1994) ont signalé cinq propriétés de la dénitrification biologique ; Ce sont :

(1) dans la plupart des conditions, le produit final de la réduction dissimilative du nitrate est le N_2 ou N_2O .

(2) le premier produit de la réduction des nitrates est le nitrite et la nitrate réductase est une enzyme qui catalyse la réaction.

(3) le nitrite réductase est responsable de la prochaine étape pour réduire les ions nitrites en azote gazeux.

(4) En général, le nitrate réductase de la voie assimilative est réprimé par l'ammoniac, tandis que le nitrate réductase dissimilative est réprimé par la présence de l'oxygène et synthétisée dans des conditions anoxiques.

(5) le processus de dénitrification est strictement anaérobie/ anoxique, alors que la réduction du nitrate par voie assimilative peut bien se produire dans des conditions totalement aérobies [38].

II.2.4. Facteurs biologiques de la biodégradation des nitrates :

II.2.4.1. les organismes dénitrifiant

Dans deux cas, les micro-organismes peuvent obtenir de l'énergie par la réduction des nitrates et l'oxydation du substrat approprié. De nombreuses bactéries peuvent réduire les oxydes d'azote en azote gazeux inoffensif dans un environnement anoxique. Les bactéries dénitrifiantes les plus courantes sont hétérotrophes telle que diverses espèces de *Pseudomonas* et *Bacillus* (Brezonik, 1977) [39]. Davies (1973) a isolé bactéries dénitrifiantes provenant des eaux usées installées, en utilisant le méthane comme seule source de carbone et le nitrate comme accepteur final d'électrons. Les germes identifiés incluent : *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Methanomonas* et *Pseudomonas*.

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 [40].

II.2.4.2. Les enzymes de la dénitrification

Chacune des étapes de la chaîne de dénitrification est catalysée par une enzyme spécifique. Certains micro-organismes ne possèdent pas la totalité des enzymes et par conséquent, ils ne peuvent réaliser qu'une seule partie de la chaîne de dénitrification.

Deux principaux types de nitrate réductase ont été distinguées : la nitrate réductase assimilatrice et dissimilatrice. Plusieurs nitrate réductases dissimilatrices ont été mises en évidence: deux sont des enzymes membranaires et sont inhibées par l'oxygène, une autre est péri plasmique et peut fonctionner en présence d'oxygène dès qu'il y a du NO_3^- .

La synthèse de NO_3^- réductase est régulée par des protéines qui ont pour rôle de réguler certaines fonctions bactériennes en fonction de la pression partielle en oxygène.

La N_2O réductase (N_2OR) est une enzyme périplasmique soluble, sa complexité peut être due à la possibilité d'une compétition entre NO_3^- et N_2O comme accepteurs d'électrons [27].

II.2.5.Métabolisme dénitrifiant :

La dénitrification est un processus biologique au cours duquel les micro-organismes impliqués utilisent les formes oxydées de l'azote comme accepteur finaux d'électrons dans leur chaîne respiratoire, conduisant ainsi à la réduction du nitrate en azote gazeux via la formation de composés intermédiaires qui sont le nitrite, l'oxyde nitrique et l'oxyde nitreux

(ou protoxyde d'azote). Comme illustre la réaction suivante qui est catalysée par différentes enzymes spécifiques appelées 'réductase'.

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

Les micro-organismes dénitrifiants ont besoin d'une source de carbone externe pour la biosynthèse et pour la génération d'énergie [41].



II.2.6. Facteurs influençant la dénitrification :

II.2.6.1. le carbone :

Le rendement de dénitrification est très fortement dépendant de la nature du substrat carboné. Les meilleurs taux étant obtenus avec les formes les plus facilement dégradables [42]. Dans les eaux, le carbone est présents sous forme minérale : dioxyde de carbone dissous (CO₂ dissous), hydrogénocarbonates (HCO₃⁻) et carbonates (CO₃²⁻) ; ces composés sont libres ou forment des associations plus ou moins labiles.

II.2.6.2. Le phosphore

Le phosphore, au même titre que le carbone et l'azote, est un constituant essentiel de la matière vivante. Le phosphore entre dans la composition des acides nucléiques des nucléotides impliqués dans les phénomènes de phosphorylation, des métabolites et protéines phosphoryles, dans le stockage des poly phosphates ou la synthèse de polymères de réserve énergétique (glycogène et poly hydroxybutyrate). Il représente 1.5 à 2 % du poids sec de biomasse [43].

II.2.6.3. L'oxygène

La dénitrification étant pour l'essentiel un procédé qui ne se produit qu'en anaérobiose ou du moins lorsque la pression en oxygène est réduite, il existe un seuil au-dessus duquel aucune réduction des nitrates n'est observée. L'oxygène étant en compétition avec les nitrates en tant qu'accepteur d'électrons lors du métabolisme énergétique des cellules, il est donc un important inhibiteur de la réaction de dénitrification [44].

II.2.6.4. Le pH

Les bactéries dénitrifiantes sont, pour la plupart, très légèrement basophiles avec un optimum de pH compris entre 7.5 et 8.5, mais la dénitratation est possible pour des pH variant de 4 à 11 [45]. Bradley *et al*, (1992b) rapport que les taux de dénitratation et de dénitrification diminuent avec le pH.

II.2.6.5. La température

La gamme des températures où s'effectue la dénitrification, de + 5°C [46] à +75°C, reflète la grande variété des micro-organismes capables d'effectuer la dénitrification. La température optimale n'est pas clairement définie mais il n'y a pas de dénitrification possible au-dessous de 3°C et au-dessus de 85°C. La température a une influence sur les taux de dénitratation et de dénitrification puisqu'ils augmentent entre 5 et 30°C [43].

II.2.6.6. Les inhibiteurs potentiels

Si le principal inhibiteur de la dénitrification reste la concentration en oxygène, d'autres substrats sont connues pour les effets inhibiteurs qu'elles exercent sur la réduction des nitrates. Les plus importants sont les composés sulfurés. Knowles (1982) a mis en évidence l'action inhibitrice de l'acétylène sur la réaction N_2O/N_2 . Cette inhibition a donné naissance à une méthode ("the C_2H_2 block technique") permettant de quantifier l'activité dénitrifiante en dosant l'oxyde nitreux, N_2O , accumulé [47].

CHAPITRE III
BIOFILM ET MATÉRIAU SUPPORT

III.1.Le biofilm

III.1.1.Définition :

Les bactéries peuvent adopter deux modes de vie différents : elles sont soit libres et isolées dans un milieu (état planctonique), soit attachées à une surface ou elles vivent en communauté au sein d'un biofilm (état sessile). Claude E. Zobell a été l'un des premiers chercheurs à observer des biofilms en 1943, mais le terme biofilm a été utilisé pour la première fois par Costerton en 1978 [48].

Le biofilm est une communauté structurée de micro-organismes, se fixant à une surface inerte ou vivante et réunis au sein d'une matrice d'exo-polysaccharides adhésive et protectrice qu'ils secrètent. C'est une structure vivante en perpétuel remaniement.

Il constitue le mode de vie majoritaire des micro-organismes, par opposition à l'état planctonique, libre et isolé dans l'environnement [49]. Un biofilm peut être constitué d'une ou plusieurs espèces de microorganismes [50].

Les biofilms utilisés pour le traitement des eaux sont très complexes. Ils sont considérés comme une surface d'accumulation qui n'est pas nécessairement uniforme dans le temps ou dans l'espace [51]. Sa structure est généralement adsorbant et poreuse et dépendante des conditions environnementales parmi lesquelles on retrouve l'âge du biofilm, l'intensité des forces de cisaillement et la charge nutritive [52].

III.1.2.Formation du biofilm

Les bactéries semblent initier la formation d'un biofilm en réponse à une pression environnementale, telle que le manque d'oxygène et de nutriments ou la présence d'un traitement.

Les biofilms peuvent se développer sur une grande variété de surfaces incluant les tissus vivants, les dispositifs médicaux, ou tout autre support retrouvé dans le sol ou dans les milieux aquatiques. On distingue généralement cinq étapes de formation de biofilm.

III.1.2.1.L'adhérence réversible :

En milieu liquide ou exposé à l'humidité, les bactéries planctoniques s'approchent d'une surface solide par mouvement brownien, par sédimentation ou par mobilité active (présence de flagelles). Elles s'y attachent de manière réversible des interactions non spécifiques, électrostatiques et électrodynamiques. Cette étape est influencée par des

conditions environnementales impliquant le pH, l'osmolarité, la température, la concentration en oxygène et en nutriments et l'hydrodynamique de fluide.

L'adhérence des bactéries est également influencée par la nature de la surface, notamment sa rugosité et son hydrophobicité. Les bactéries adhèrent facilement sur une surface rugueuse, hydrophobe et non polaire [53].

III.1.2.2.L'adhérence irréversible :

La fixation à la surface solide devient irréversible en raison de la production d'exopolysaccharides par les bactéries et surtout grâce à des structures d'adhérence variables selon les espèces bactériennes, par exemple les fimbriaes et les curli pour *E. coli*, qui interagissent avec des récepteurs spécifiques présents sur la surface [54].

III.1.2.3.Le développement précoce du biofilm :

Les bactéries se multiplient lentement et continuent de produire des exopolysaccharides. Elles s'agrègent entre elles et forment des microcolonies, qui sont protégées par la matrice exopolysaccharidique [55].

III.1.2.4.La maturation du biofilm :

L'architecture complexe du biofilm se met en place avec la formation de canaux aqueux et de pores entre les microcolonies [56], permettant l'acheminement d'oxygène et de nutriments nécessaires à la croissance de micro-organismes, ainsi que l'élimination des déchets [57]. La production et la sécrétion d'enzymes ou de toxines provoque la dégradation des résidus présents dans les surfaces environnantes et permet ainsi la libération de nutriments [55].

III.1.2.5.Le détachement de bactéries :

La densité bactérienne sur une surface peut atteindre 10^7 cellules/cm³ [58]. Des bactéries se détachent du biofilm et se dispersent dans le milieu environnant après un retour à l'état planctonique. Traditionnellement ; le détachement de bactéries est considéré comme un phénomène passif, dépendant notamment des forces des flux du milieu dans lequel le biofilm se trouve. Cependant, le détachement de bactéries peut aussi être une stratégie active, initiée par les bactéries elles-mêmes, leur permettant de coloniser de nouvelles surfaces et de survivre lorsque l'espace et les nutriments deviennent limités. Les bactéries peuvent se détacher seules ou par petits ou gros amas selon les mécanismes impliqués [59]. Comme pour

les autres étapes, le détachement de bactéries est un processus complexe qui implique des signaux environnementaux et une communication entre les bactéries.

Ainsi, un biofilm établi constitue un réservoir de bactéries viables, capables d'aller coloniser d'autres surfaces [54].

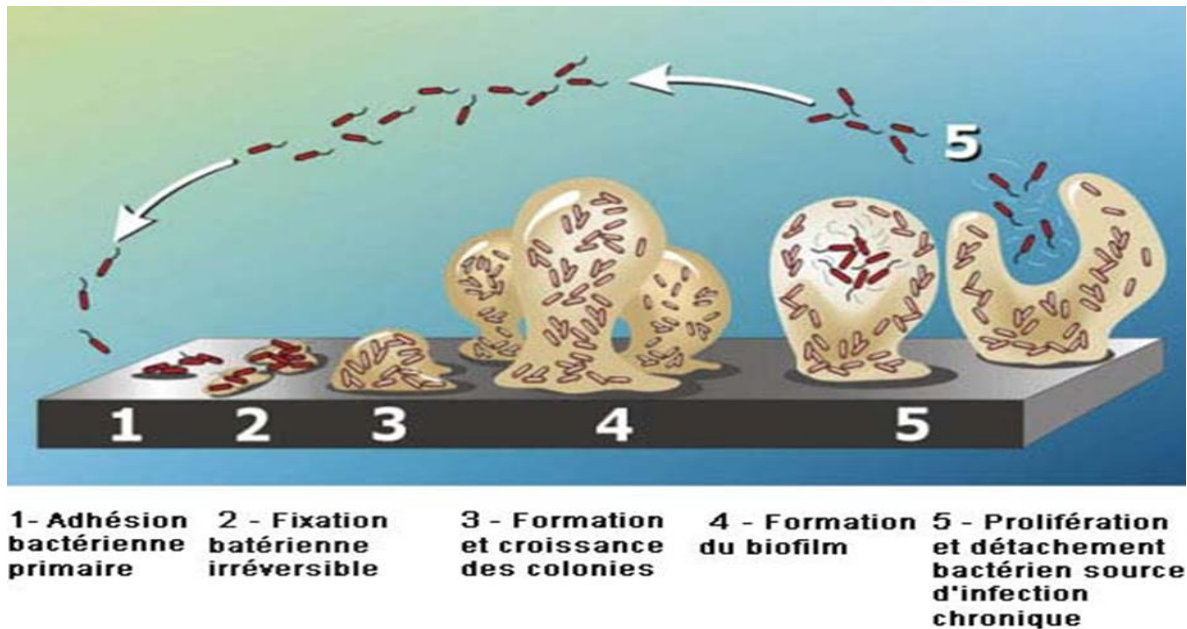


Figure III.1: Représentation schématique des différentes étapes de formation d'un biofilm [54].

III.1.3. Activité du biofilm

La proportion active de la biomasse présente dépend de l'épaisseur du film, de la façon dont les particules de support occupent l'espace liquide et des propriétés de diffusion des différentes substances formant le substrat. Evidemment, les organismes qui ne sont pas exposés au substrat parce qu'ils se retrouvent dans les couches profondes du film ne peuvent pas participer à sa transformation. Les limitations à la diffusion ou au transfert de masse dues à l'accumulation de biofilm peuvent être réduites en augmentant la surface de contact film-liquide [52].

III.1.4. Intérêt des procédés utilisant les biofilms :

Les procédés à cultures fixées possèdent des avantages par rapport aux procédés à cultures libres. Le glycocalyx qui entoure les microorganismes les protège des substances toxiques [60]. L'hétérogénéité structurelle du biofilm lui confère la possibilité d'abriter

différents types de microorganismes dans différentes niches écologiques. Ainsi, une grande diversité d'organisme est permise et des bactéries non compétitives mais possédant des facultés spécifiques peuvent se développer [52].

III.2. Les arachides :

III.2.1.Définition :

L'arachide (*Arachis hypogaea* L) est l'une des plus importantes oléagineuses cultivées dans le monde, notamment dans les régions arides et semi-arides de l'Afrique, son succès réside dans le fait que c'est une oléoprotéagineuse aux nombreuses utilisations alimentaires et fourragères (graine huile, tourteaux, fanes, et coques). Sa culture prend de l'ampleur en Algérie, où elle est cultivée dans plusieurs wilayas El Taraf, Skikda, Adrar, Ghardaïa, et El Oued [61].

III.2.2.Les produits arachidières

- **Utilisation médicinale** : L'huile cosmétique d'arachide est extraite par première pression à froid. Elle possède des propriétés désintoxiquantes, Riche en vitamine A et E elle est efficace contre les brûlures et nourrit les peaux irritées.
- **Utilisation alimentaire** : L'huile d'arachide est utilisée comme huile de table .On utilise également l'huile pour la confection de la pâte d'arachide. - La farine d'arachide est utilisée dans l'industrie agro-alimentaire pour la fabrication de biscuits.
- **Utilisation matérielle** : L'huile d'arachide de deuxième pression est utilisée dans l'industrie de la savonnerie [62].



Figure III.2 : La plante d'arachide [63].

PARTIE

EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE IV
MATÉRIEL ET MÉTHODES

IV.1.Présentation de lieu de stage :

Notre stage a été effectué au niveau de CRD (Centre de Recherche et Développement de SONATRACH ; division Boumerdès au département « environnement »).

La division technologie et développement assure la réalisation des études, synthèse, prestation d'analyse expérimentation et travaux de recherche se rapportant notamment aux besoins d'exploration, de production, de transport, et de valorisation des hydrocarbures. Tout comme elle se donne pour mission d'introduire et de développer des nouvelles techniques, méthodes d'analyse et interprétations, elle s'attelle également à promouvoir et à développer l'expertise sur les problématiques précisés en collaboration avec les institutions scientifiques nationales et internationale.

Pour ce faire la technologie et développement s'est inscrit dans une démarche d'accréditations selon le référentiel 17025, norme sur le principe de management et de fiabilité des résultats pour donner aux essais réalisés label qualité.

Dans cette optique la division technologique et développement, s'est investie, après agrément des autorités publiques dans le domaine de l'environnement par réalisation d'études d'impact.

- **Diapositives scientifiques et ressource humaine :**

- Un personnel scientifique de haut niveau composé de 190 ingénieurs dont 39 post-gradués.
- Des équipements de pointe répartis sur une trentaine de laboratoires.
- Des capacités d'encadrement à haut niveau.

Outres les structures de soutien et d'appui, la division technologies et développement est substantiellement organisée en cinq structures opérationnelles :

- Géologie.
- Gisement.
- Assistant aux unités industriel.
- Recherche.
- Laboratoire et cartothèque centrale.

IV.2. Préparation du végétal (les coques d'arachide) :

Pour les essais en batch, nous avons broyé les coques d'arachide ensuite on la tamisée avec un tamis de (0,5 mm) pour obtenir une poudre fine et homogène.



Figure IV.1 : les coques d'arachide avant et après broyage.

IV.3. Analyse du végétal :

IV.3.1. Taux d'humidité :

Le taux d'humidité est déterminé selon la norme AFNOR B.51004, on prend trois échantillons du végétal pour lesquels les poids humides sont déterminés. Les sécher à l'étuve à une température de 105°C jusqu'à un poids constant, les retirer de l'étuve et les peser sur une balance installée à proximité de l'étuve.

➤ Mode opératoire :

- Rincer trois creuset avec l'eau distillé, puis les sécher vides ;
- Peser dans chaque creuset préalablement sèche 1g d'échantillon ;
- Placer les trois échantillons dans une étuve à 105° C pendant 3 heures jusqu'à un poids constant ;
- Après séchage, mettre les trois échantillons dans le dessiccateur ;
- Peser les masses de creuset après séchage.

➤ **Expression des résultats :**

Le taux d'humidité est obtenu par différence de masse entre le matériau avant et après séchage à l'étuve.

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

$$\% \text{ H} = 100 \times (M_1 - M_2) / P$$

%H : pourcentage de l'humidité.

M₁ : masse de creuset + la poudre avant séchage(g).

M₂ : masse de creuset + la poudre après séchage (g).

P : masse de la prise d'essai (g).

IV.3.2.Détermination de la teneur en cendres (NF V 05-113) :

Pour l'incinération, 2g de la poudre de coque d'Arachides sont mis dans un creuset puis incinérés dans un four à moufle à environ 550°C pendant 1 h jusqu'à l'obtention d'une couleur grise claire ou blanchâtre. Le taux de cendres est exprimé en pourcentage de la matière sèche, trois échantillons sont incinérés simultanément.

➤ **Mode opératoire :**

- Préparer trois creusets préalablement séchés dans l'étuve quelques minutes et peser à l'aide d'une balance analytique.
- Ajouter à chacun de creuset une quantité égale à 2g de la poudre des (coques d'arachides).
- Placer les échantillons dans le four pendant une période de 60 min à une température de 550°C.
- Retirer les échantillons du four après calcination les mettre dans le dessiccateur.
- Peser les masses du creuset.

Le taux de cendres (Cd) est calculé par l'équation suivante :

$$\text{Cd}\% = 100 * (\text{M}_2 - \text{M}_0) / \text{P}$$

Cd % : le taux de cendre.

M₂ : masse de creuset + cendre (g).

M₀ : masse de creuset vide (g).

P : masse de la prise d'essai (g).

Le pourcentage de la matière organique est déterminé par l'équation suivante :

$$\% \text{ MO} = 100 - \% \text{ Cd}$$

% MO : Le pourcentage de la matière organique.

% Cd : le taux de cendre.

IV.3.3. Analyse par granulométrie à laser :

La granulométrie à laser est une technique basée sur la diffraction de la lumière. Elle permet d'une part la mesure de la taille des particules (ou leurs rayons) et d'autre part la détermination de la fréquence statistique en fonction de leur taille.

➤ Généralités sur l'équipement utilisé :

L'analyse des échantillons a été réalisée à l'aide d'une granulométrie à Laser de type **LA 950** au niveau de CRD (qui est un kit composé des éléments suivants) :

- 1 – Un analyseur, comprenant principalement un générateur de source laser, deux possibilités d'analyses (voie humide et voie sèche), une façade de convergence de lumière, 87 détecteurs (capteurs) et une carte électronique d'interface.
- 2 – Deux échantillonneurs (voie humide et voie sèche)
 - La voie liquide avec une gamme granulométrique de 0.01 microns jusqu'à 3000 microns.
 - La voie sèche avec une gamme granulométrique de 0.1 microns jusqu'à 3000 microns.
- 3 – Un logiciel de calcul de conception OPEXCEL.

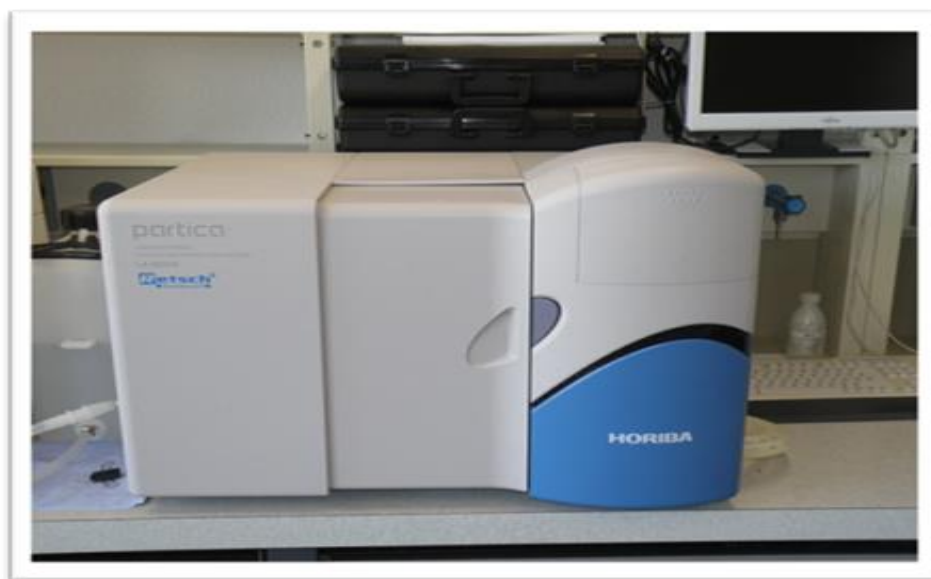


Figure IV.2: Granulométrie à Laser de type LA 950.

IV.3.4. Détermination de la composition minérale du végétal par Spectroscopie d'absorption atomique (SAA) :

La SAA est une méthode d'analyse élémentaire, qui utilise la propriété des atomes d'être excités par un apport d'énergie externe sous forme de photons, de fréquence bien définie.

D'une manière générale, l'analyse de la composition minérale d'un composé passe par deux étapes : la minéralisation et le dosage proprement dit. Pour cela nous avons utilisé un spectromètre d'absorption atomique de marque « ANALYTIK JENA ».

➤ Mode opératoire :

La préparation d'échantillons à analyser :

- Dissoudre les cendres obtenues dans un 1 ml d'acide chlorhydrique, puis ajouter avec précaution 10 ml d'eau distillée,
- Chauffer quelques minutes au bain- marie bouillant jusqu'à dissolution complète des cendres,
- Verser quantitativement la solution dans une fiole jaugée de 100 ml, puis compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée ;

A partir de cette solution nous avons effectués le dosage des éléments minéraux suivants : le Zinc, le Fer, le Plomb, le Cadmium, le Magnésium et le Calcium.



Figure IV.3: Spectromètre d'absorption atomique de marque «ANALYTIK JENA».

IV.3.5. Analyse structurale par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) :

La spectroscopie IR est l'une des méthodes spectrales qui permet l'identification des groupements fonctionnels. Les analyses de spectroscopie IR ont été effectuées au niveau de la faculté des sciences au département de chimie à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier de type « JASCO IFTR-4100 » couplé à un ordinateur digital permettant le tracé des spectres entre $[4000 \text{ et } 400 \text{ cm}^{-1}]$.

➤ Technique de préparation de l'échantillon solide (Pastille) :

- Pulvériser 5 à 7mg de substance (la poudre de coque d'arachides) avec environ 300 mg de KBr dans un mortier en agate.
- bien mélanger et broyer jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène.
- Remplir le moule de poudre, placer le piston et tourner quelque fois pour que la poudre soit bien répartie.
- Avant le pressage, évacuer le moule sous vide à environ 2 mbar (éliminer les bulles d'air), puis presser sous vide à haute pression.
- Interrompre le vide, aérer le moule, lâcher la pression et sortir la pastille du moule à l'aide du piston

- Pour l'analyse, attacher la pastille au fixateur de l'appareil et la faire passer sous le faisceau.



Figure IV.4 : Spectromètre à transformée de Fourier de type « JASCO IFTR-4100 ».

➤ **Préparation de la solution de NaOH (après traitement) :**

On mélange 2g de poudre des coques d'arachide avec 100ml de la solution NaOH dans une fiole jaugée puis on agite la solution et on laisse reposer pendant 2h, et après on filtre la solution et on la sèche à l'aide d'une étuve à 60°C.

IV.3.6. Analyse par microscopie électronique à balayage (MEB) :

La porosité est l'un des paramètres les plus importants intervenant dans le phénomène de l'adsorption. En ce qui concerne notre étude, la détermination de la porosité de notre support consommable a été réalisée par le microscope électronique à balayage (MEB) de marque QUANTA 650 au niveau du CRD pour voir la forme des pores et leurs diamètres respectifs.

Le MEB est une technique microscopique qui donne la microstructure d'un matériau en trois dimensions.

L'échantillon métallisé placé dans un plot est bombardé par un flux d'électrons qui restituent les détails de la structure des pores à divers grossissements allant jusqu'à 50 000 fois.

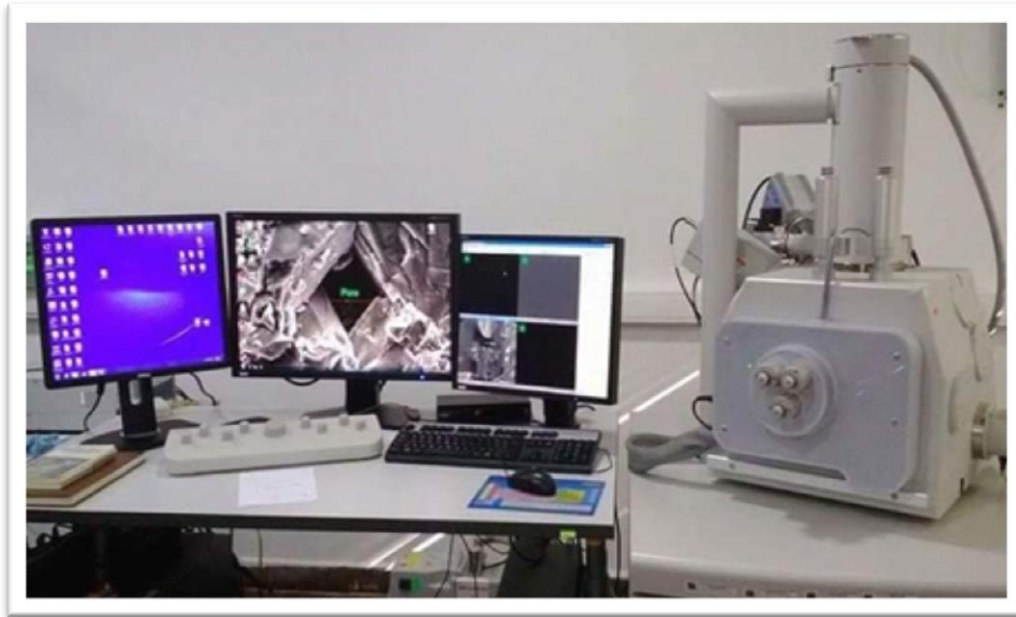


Figure IV.5 : Microscope électronique à balayage (MEB) de marque QUANTA 650.

IV.4. Etude de la dénitrification :

Une étude préliminaire sur la dénitrification hétérotrophe a été réalisée dans un réacteur en batch.

Les boues activées utilisées ont été ramenées de la Station d'épuration des eaux usées de Boumerdès (STEP) et ont été introduites pour la semence. La culture des bactéries a été développée par l'ajout de 100 ml de boues activées et 1 g de la poudre des coques d'arachide à 1L de la solution d'alimentation à 50 mg/l de N-NO_3^- puis en commençant l'agitation.

Les analyses réalisées sont : NO_3^- , NO_2^- , la température T (°C) et le pH.

Les solutions sont préparées avec de l'eau distillée, pour simuler la pollution par les nitrates, nous avons utilisé l'eau de synthèse préparée avec une solution de KNO_3^-

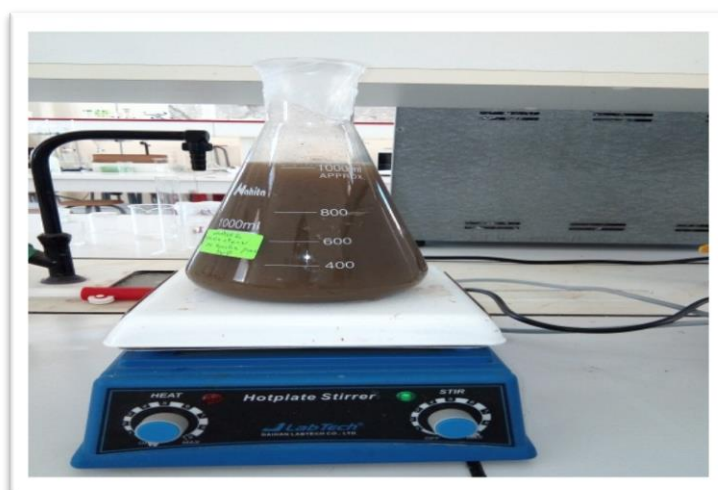


Figure IV.6: Réacteur en batch.

Tableau IV.1 : Composition de la solution d'alimentation du réacteur (Sierget et al, 2005 ; Ovez, 2006 ; Saliling et al., 2007 ; Elenter et al., 2007 ; Robinson, 2009)

Constituant	Concentration (mg/L)	Constituant ionique élémentaire
KNO ₃	50 - 130	N-NO ₃ ⁻
CaCl ₂ .2H ₂ O	1,32	Ca ²⁺
CoCl ₂ . 2H ₂ O	0,01	Co ²⁺
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,02	Cu ²⁺
FeCl ₃	0,12	Fe ³⁺
KH ₂ PO ₄	5	P-PO ₄ ³⁻
MgSO ₄ .7H ₂ O	2	Mg ²⁺
MnCl ₂ .4H ₂ O	0,023	Mn ²⁺
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,01	Mo ⁺⁶
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,1	Zn ²⁺
NiSO ₄ .6H ₂ O	0,01	Ni ²⁺
H ₃ BO ₃	0,005	BO ³⁻
NH ₄ Cl	1	NH ₄ ⁺

IV.5.Méthodes d'analyse :

IV.5.1.Dosage des nitrates par colorimétrie (méthode de HACH) :

IV.5.1.1.Objet de domaine d'application :

Ce document décrit deux méthodes colorimétriques pour la détermination des nitrates pour des gammes moyennes comprises entre (0 et 4,5 mg/l) et forte comprise entre (0 et 30 mg/l) .elles s'appliquent aux eaux de surface, eaux usées et eaux de mer.

IV.5.1.2. Principe :

Le cadmium métallique contenu dans des gélules de réactifs réduit les nitrates présents dans l'échantillon en nitrites. Les nitrates réagissent en milieu acide avec l'acide sulfanilique pour former un sel de diazonium. Ce sel réagit avec l'acide gentisique pour former un complexe coloré ambre. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en nitrates.

IV.5.1.3.Réactifs :

- Gélules de nitra ver5.

IV.5.1.4.Appareillages :

- Cellules en verre de 10 ml de capacité.
- Spectrophotomètre de type DR2010.



Figure IV.7 : Spectrophotomètre de type DR2010.

IV.5.1.5/Mode opératoire :**Forte gamme (0 à 30 mg/l) :**

- Mettre en marche le DR2010 en appuyant sur la touche POWER.
- Introduire le numéro de programme mémorisé pour le dosage des nitrates forte concentration. Presser : 355 READ/ENTER, l'affichage indique : REGLER nm à 500. Tourner alors le bouton de réglage des longueurs d'ondes jusqu'à ce que l'affichage indique : 500 nm. Presser alors : READ/ENTER, l'affichage indique : mg/l N-NO₃⁻.
- Prendre deux cellules en verre et remplir chacune d'elle de 10 ml d'échantillon.
- Verser le contenu d'une gélule de nitra ver5 dans un des flacons, celui-ci constituera l'échantillon préparé le second servira le blanc.
- Presser SHIFT TIMER puis agiter pendant une minute le flacon lorsque le minuteur sonne pressé à nouveau SHIFT TIMER, un temps de réaction de 5 minutes commence.
- Lorsque le minuteur sonne, l'affichage indique mg/l N-NO₃⁻ placer alors la cellule qui contient le blanc et fermer le capot.
- Presser ZERO, l'affichage indique : ATTENDRE puis : 0,0 mg/l N-NO₃-H.
- Effectuer alors la lecture, pour cela retirer d'abord le bouchon de l'échantillon préparé, puis le placer dans le puits de mesure et fermer le capot.
- Presser READ ENTER, l'affichage indique : ATTENDRE puis le résultat en mg/l d'azote s'affiche.

IV. 5.2. Dosage des nitrites par colorimétrie (méthode de HACH) :**IV.5.2.1. Objet et domaine d'application :**

Ce document décrit deux méthodes pour la détermination des faibles teneurs comprises entre (0 et 0,3 mg/l N) et de faibles teneurs comprises entre (0 et 15 mg/l N-NO₃⁻) pour les eaux douces ; eaux résiduaires et eaux de mer.

IV.5.2.2.Principe :

- Pour les faibles teneurs , le principe consiste en la réaction des nitrites présents dans l'échantillon avec l'acide sulfanilique, pour former un sel de diazonium qui réagit avec l'acide chromo tropique pour produire un complexe coloré rose dont la coloration est proportionnelle à la quantité des nitrites présents.
- Pour les faibles concentrations, la méthode utilise le sulfate ferreux en milieu acide pour réduire les nitrites en oxyde nitreux. L'ion ferreux se combine avec l'oxyde nitreux pour former un complexe brun-verdâtre dont la coloration est proportionnelle aux nitrites présent.

IV.5.2.3.Réactifs :

- Gélules de nitri ver3.

IV.5.2.4.Appareillages :

- Cellules en verre de 10 ml de capacité.
- Spectrophotomètre de type DR2010.

IV.5.2.5/Mode opératoire :**Faible gamme (0 à 0,3 mg/l) :**

- Mettre en marche le DR2010 en appuyant sur la touche POWER.
- Introduire le numéro de programme mémorisé pour le dosage des nitrates forte concentration. Presser : 371 READ/ENTER, l'affichage indique : REGLER nm à 507. Tourner alors le bouton de réglage des longueurs d'ondes jusqu'à ce que l'affichage indique : 500 nm. Presser alors : READ/ENTER, l'affichage indique : mg/l N-NO₂⁻L.
- Prendre deux cellules en verre et remplir chacune d'elle de 10 ml d'eau à analyser ; ajouter le contenu d'une gélule de Nitri Ver 3 dans l'un des flacons, celui-ci constituera l'échantillon préparé le second servira le blanc.
- Presser SHIFT TIMER puis agiter pendant une minute le flacon lorsque le minuteur sonne pressé à nouveau SHIFT TIMER, de un temps de réaction 15 minutes commencent.

- Lorsque le minuteur sonne, l'affichage indique mg/l N-NO₂⁻ L placer alors la cellule qui contient le blanc et fermer le capot.
- Presser ZERO, l'affichage indique : ATTENDRE puis le résultat en mg/l d'azote s'affiche.
- Effectuer alors la lecture, pour cela retirer d'abord le bouchon de l'échantillon préparé, puis le placer dans le puits de mesure et fermer le capot.
- Presser READ ENTER, l'affichage indique : ATTENDRE puis le résultat en mg/l d'azote s'affiche.

IV.6. Effet de la variation des paramètres :

IV.6.1. la variation de la concentration initiale des nitrates dans le milieu :

On a analysée les concentrations des nitrates et nitrites de différente concentration initiale des nitrates : 50, 100, 150, 200 (mg/l) avec des conditions normales. (pH neutre et température ambiante).

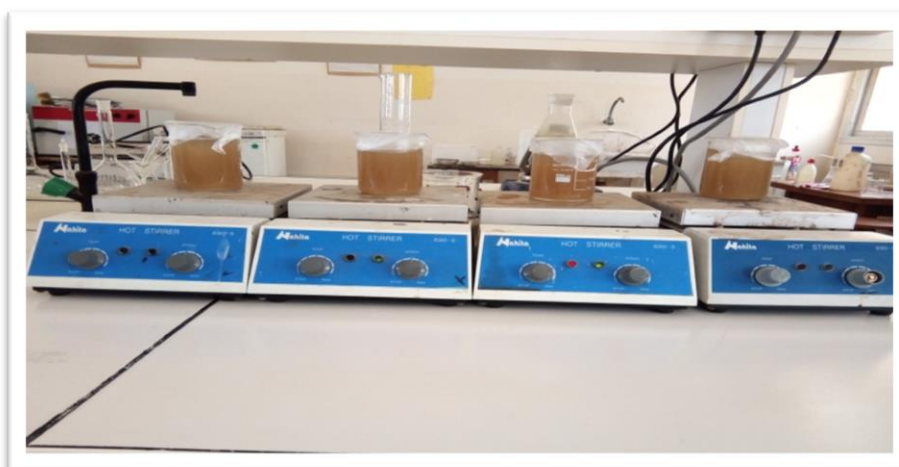


Figure IV.8 : Schéma des échantillons de différentes concentrations.

IV.6.2. Effet de la variation du pH dans le milieu sur la dénitrification :

Le pH est un paramètre important affectant le processus de dénitrification.

Le phénomène de dénitrification a été suivi par rapport au pH initial. Cela a été réalisé en ajoutant des quantités de KH₂PO₄ pour varier l'acidité et Na₂HPO₄ pour la basicité.

IV.6.3. Effet de la variation de la température dans le milieu sur la dénitrification :

La température est un facteur écologique important du milieu, Le phénomène de dénitrification a été suivi par rapport à la température initiale.

IV.7. détermination de la demande chimique en oxygène:

La demande chimique en oxygène (DCO) est la quantité d'oxygène exprimée en mg qui est consommé par les matières oxydables continues dans un litre d'eau.

IV.7.1.Principe :

Le teste de la DCO consiste en la mesure de l'oxygène équivalent à la quantité de matière organique oxydable par le dichromate de potassium K_2CrO_7 , dans une solution d'acide sulfurique à 50%, un composé à base d'argent est ajouté comme catalyseur. Un composé mercurique est ajouté pour réduire les interférences dues à l'oxydation des ions chlorures par le dichromate.

L'oxydation s'effectue à une température de 150 °C, pendant deux heures, la lecture se fait par colorimétrie.



Figure IV.9: DCO mètre de type DR1900.

IV.8. Détermination de la demande biologique en oxygène :

La «Demande Biochimique en Oxygène» dans l'eau (ex : eaux usées, eaux de surface) est la quantité en oxygène consommée durant la dégradation des matières organiques un procédé biochimique.

IV.8.1.Principe de la demande biochimique en oxygène :

En fonction de la valeur de DCO mesurée et de la valeur de DBO suspectée, il est introduit une quantité connue d'eau dans un flacon de mesure qui est relié au système manométrique. L'oxygène qui est absorbé par les micro-organismes pour dégrader la matière organique, est remplacé par l'air au-dessus de l'échantillon dans le flacon. Le CO₂ produit est absorbé par la soude.

La différence de pression est directement affichée à l'échelle manométrique en mg/l de DBO.



Figure IV. 10: DBO mètre de type Oxitop.

CHAPITRE V
RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

V.1.Résultat d'analyse du végétal (les coques d'arachide) :

V.1.1 Composition chimique

La composition principale des coques d'arachide a été déterminée et représentée sur les tableaux V.1, V.2, V.3, et V.4.

Tableau V.1 : Taux d'humidité

H₁%	H₂%	H₃%	H% Moyen
5,65	5,54	5,45	5,55

Tableau V.2 : Taux de cendres

Cd₁%	Cd₂%	Cd₃%	Cd% Moyen
5,46	6,91	6,54	6,30

La teneur en eau est un critère de qualité utilisé essentiellement pour estimer le degré d'humidité des coques d'arachide et elle renseigne sur la stabilité du produit contre les risques d'altération durant la conservation.

Le taux d'humidité des coques d'arachide est de 5.55 % (Tableau V.1) donc elles sont pauvres en eau et riche en matière sèche qui représente plus que 94 % dans la poudre des coques d'arachide.

La variation constatée dans le taux d'humidité des coques d'arachide peut être due à la différence de la variété étudiée ou simplement à l'intensité de leur séchage.

D'après les résultats obtenus (Tableau V.2) la poudre des coques d'arachide présente 6.30% de teneur en cendre donc elle est pauvre en matière minérale par rapport à la matière organique 94.7% qui est utilisé comme source d'énergie et de carbone pour la croissance et le développement des bactéries dénitrifiantes .

D'après les études antérieures la coque d'arachide présente une teneur élevée en Cellulose, soit 69,42 % [64]. Cependant, la coque d'arachide affiche une meilleure disponibilité en

carbone initial que les substrats ligneux, ce qui laisse présager une meilleure aptitude à la dégradation, pour peu que la composition nutritionnelle du milieu soit suffisamment riche [65].

Tableau V.3 : Teneur en minéraux

Elément	Zn	Mg	Ca	Pb	Fe	Cd
Concentration (mg/l)	1,10	92,43	244,7	0,9642	0,07627	0,01492

Pour la teneur en éléments minéraux des coques d'arachide, déterminée par spectroscopie d'absorption atomique, les concentrations des différents éléments sont déduites par absorption de la lumière par les atomes de l'élément restés à l'état fondamentale lorsqu'ils sont éclairés par une source lumineuse convenable. La mesure de l'intensité lumineuse est faite à une longueur d'onde spécifique à l'élément à doser. Le tableau V.3 résume la composition en minéraux des coques d'arachide. On remarque la présence d'éléments nutritifs en quantités considérables par rapport aux besoins des bactéries dénitrifiantes. Ces éléments sont le Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} et le Fe^{2+} . L'analyse des résultats représentés sur le tableau V.3 fait ressortir un point très important qui nécessite d'être étudié : puisque les coques d'arachide sont riches en oligo-éléments, il est possible d'envisager l'élimination de ces éléments de la solution d'alimentation et voir la possibilité des bactéries dénitrifiantes à se développer d'une manière importante en consommant les minéraux présents naturellement dans le support organique. Par conséquent, ce dernier va constituer en plus de la source de carbone, du support bactérien, une source importante d'oligoéléments.

Tableau V.4 : Granulométrie à laser

Échantillon	Largeur de gamme granulométrique (µm)	Percentiles			Ø Moyen (µm)	Span
		Fines particules à 10% (µm)	Particules médianes à 50% (µm)	Grosses particules à 90% (µm)		
Coque d'arachide	7,69-262,37	28,92	381,74	1212,03	526,95	3,09

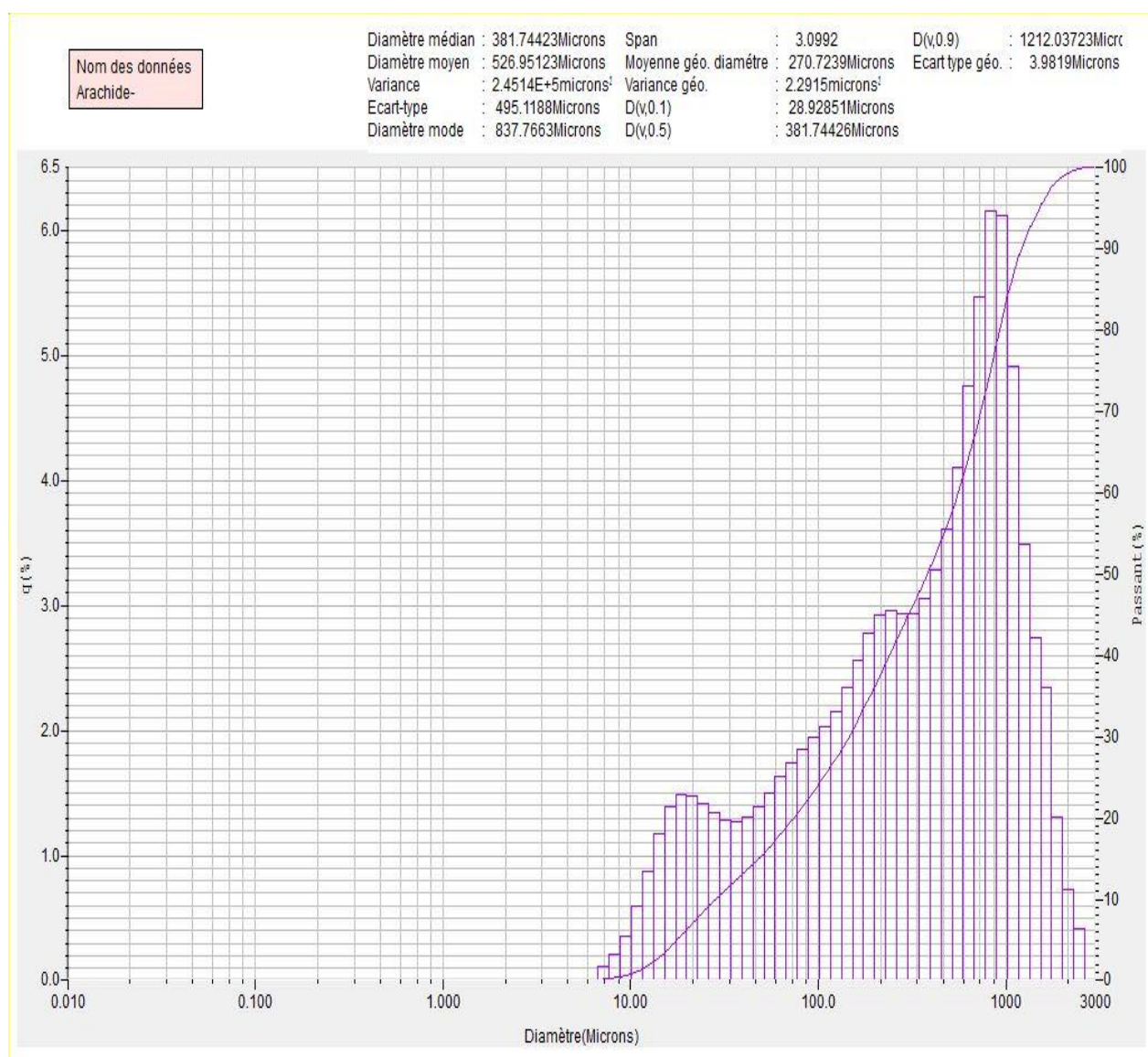


Figure V.1 : Histogramme de la distribution des différentes phases granulométriques de la poudre des Coques d'arachide.

A l'issue de l'analyse granulométrique à laser on peut conclure que l'échantillon homogène de coque d'arachide analysé présente une gamme granulométrique qui varie entre 7.69 μ m et 262.37 μ m avec une taille médiane 381.74 μ m (Figure V.1) ; Cette homogénéité permet une bonne dispersion des coques d'arachides dans la solution à traiter et donc une adhésion homogène des microorganismes dénitrifiants et donc une bonne élimination des nitrates.

D (v, 0.5) : 381,74 μ m
D (v, 0.1) : 28,92 μ m
D (v, 0.9) : 1212,03 μ m

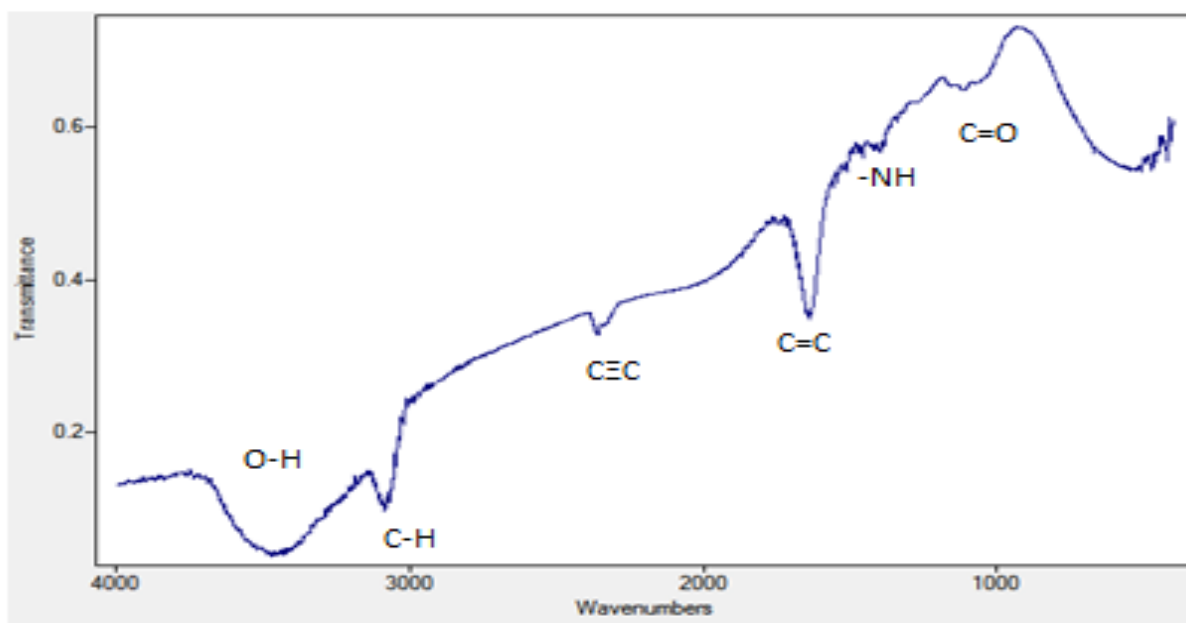
Analyse structurale par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier IRTF :

Figure V.2 : Spectre infrarouge de la poudre des coques d'arachide avant traitement à la solution NaOH

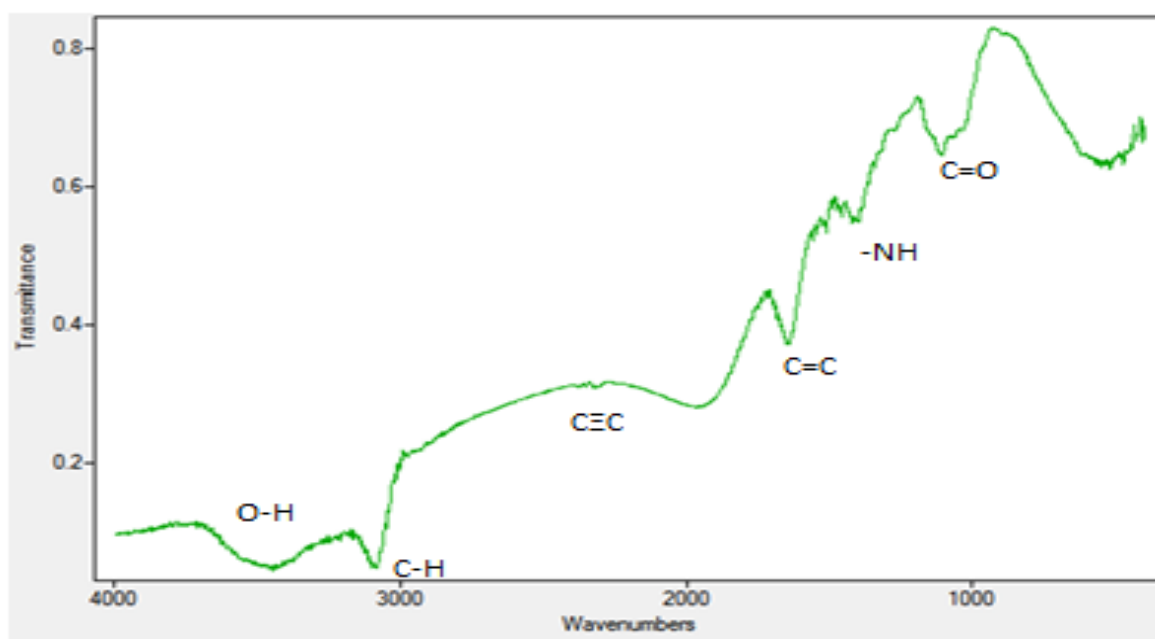


Figure V.3 : Spectre infrarouge de la poudre des coques d'arachide après traitement à la solution NaOH

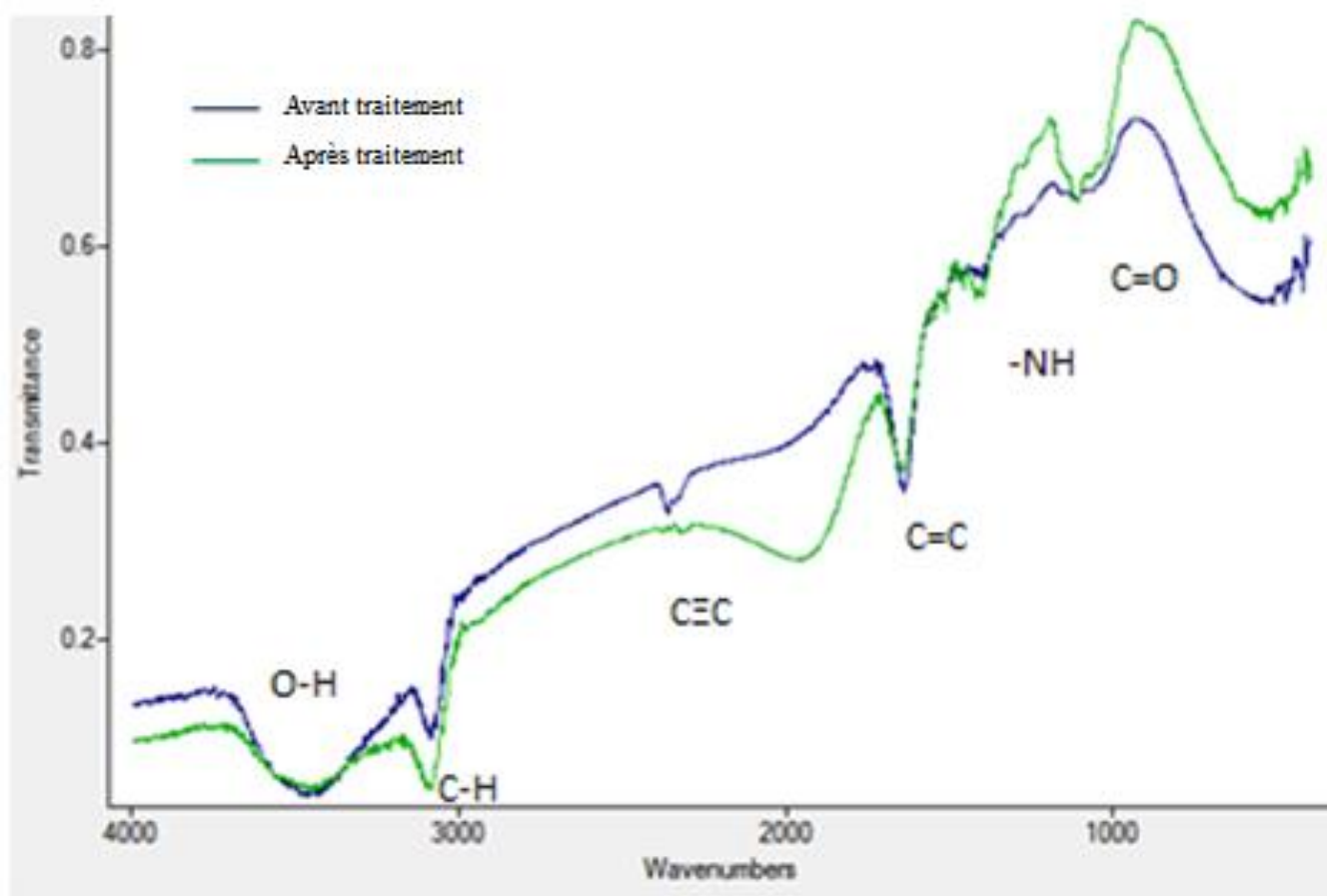


Figure V.4 : Comparaison entre les deux spectres IR de la poudre des coques d’arachide avant et après traitement

Les résultats d’analyse par IRTF des coques d’arachides avant et après leur traitement par NaOH sont représentés sur la figure V.4. Ces spectres montrent des bandes d’absorbance caractéristiques de différentes liaisons chimiques telles que :

La liaison (O-H) aux environs de $3467,94\text{ cm}^{-1}$, la liaison (C-H) à la longueur d’onde de $3079,91\text{ cm}^{-1}$, la liaison (C≡C) à la longueur d’onde de $2362,35\text{ cm}^{-1}$, la liaison (C=C) à $1644,85\text{ cm}^{-1}$, et la liaison (-NH) à $1410,19\text{ cm}^{-1}$ et la liaison (C=O) à $1107,85\text{ cm}^{-1}$ [66]. D’après Song et *al.* La diminution de l’intensité des bandes spectroscopiques reflète la rupture des liaisons par l’action de NaOH.

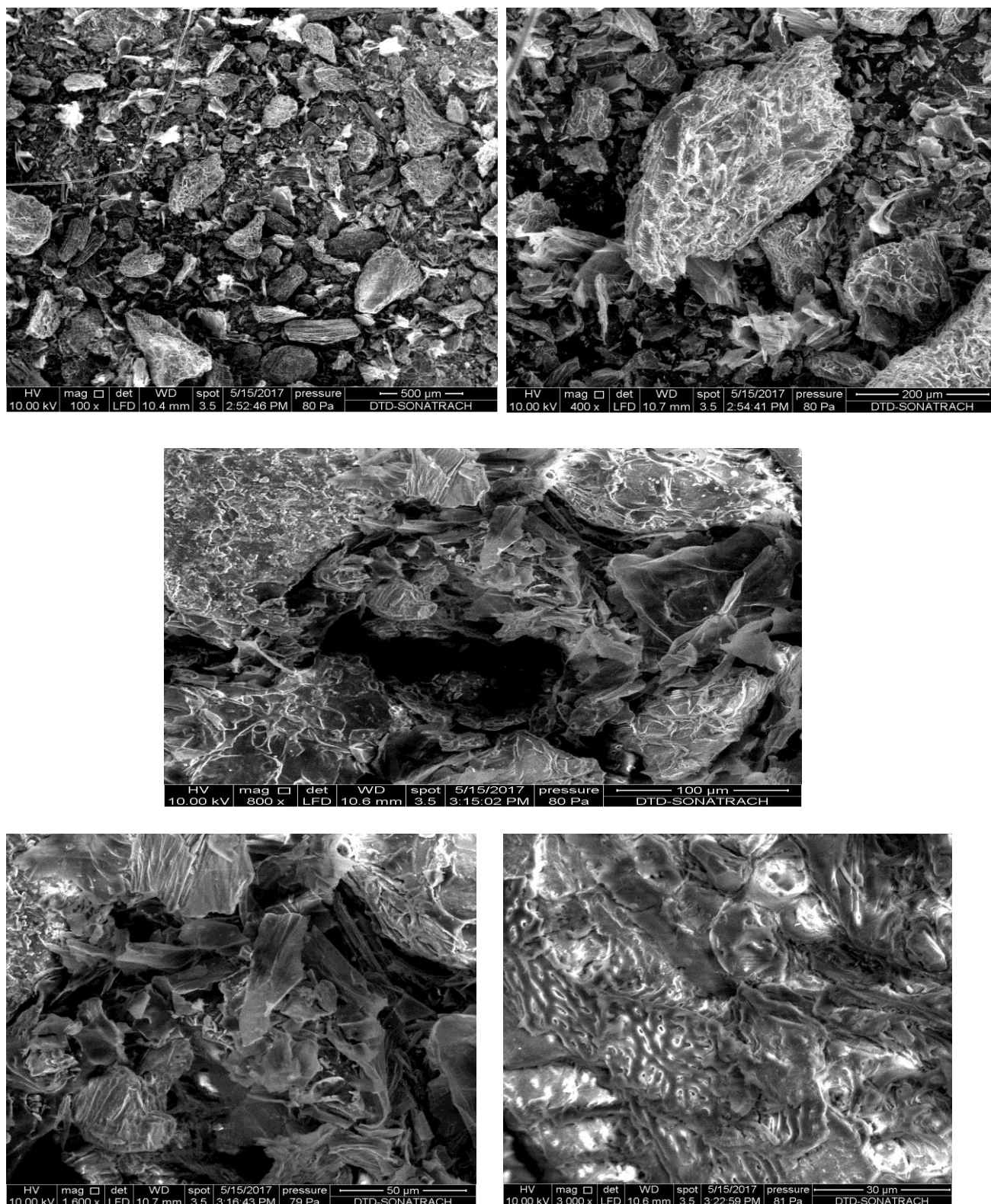
Analyse par microscopie électronique à balayage (MEB) :

Figure V.5 : Observation au MEB de la poudre des coques d'arachide avant traitement (agrandissement x100, x400, x800, x1600, x3000).

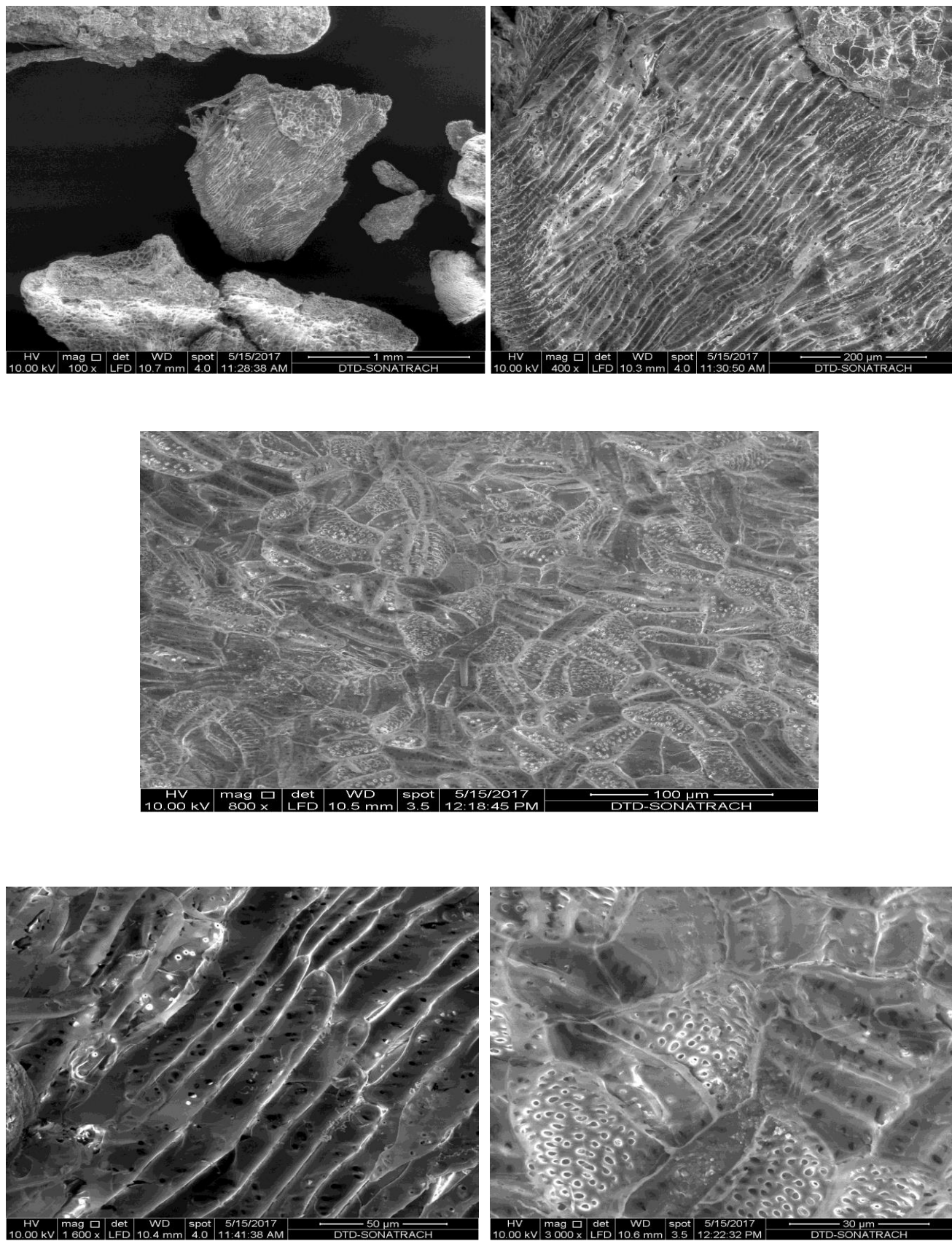


Figure V.6 : Observation au MEB de la poudre des coques d'arachide après traitement (agrandissement x100, x400, x800, x1600, x3000).

Les différentes images des coques d'arachide obtenues au microscope électronique à balayage (MEB) sont représentées sur la figure V.5. Pour les coques d'arachides natives, on remarque la présence des pores très importants qui favorisent l'adhésion des micro-organismes. Par contre, on voit clairement le développement du biofilm sur la figure V.6 qui représente les coques d'arachide qui ont servi comme support des bactéries dénitrifiantes.

Les photographies montrent les différents états de la porosité, elle est de formes et de diamètres variés constituée essentiellement de micropores et de mésopores. Cette porosité permet aux cellules bactériennes de s'attacher fermement à la surface immergée dans un environnement aqueux. La croissance de cellules fixées comprend la multiplication des cellules et la production de polymères (exopolysaccharides). Ces derniers s'étendent à partir de la cellule et forme une matrice, l'ensemble des cellules et des polymères attachés s'appelle le biofilm [60].

V.2. Etude de réacteur en batch :

V.2.1. Les Nitrates :

V.2.1.1. Variation du taux de la dénitrification en fonction de la concentration initiale des nitrates :

Pour la variation de la concentration on a fixé les paramètres (température 25°C et pH neutre), Pendant une agitation de 15 jours.

Tableau V.5 : Concentration des nitrates et le taux de la dénitrification en fonction de la concentration initiale des nitrates :

Concentration initiale des nitrates (mg/l)	$[\text{NO}_3^-]_f$ (mg/l)	Taux de la dénitrification (%)
50	8,2	83,6
100	9,3	90,7
150	23,3	84,5
200	32	84

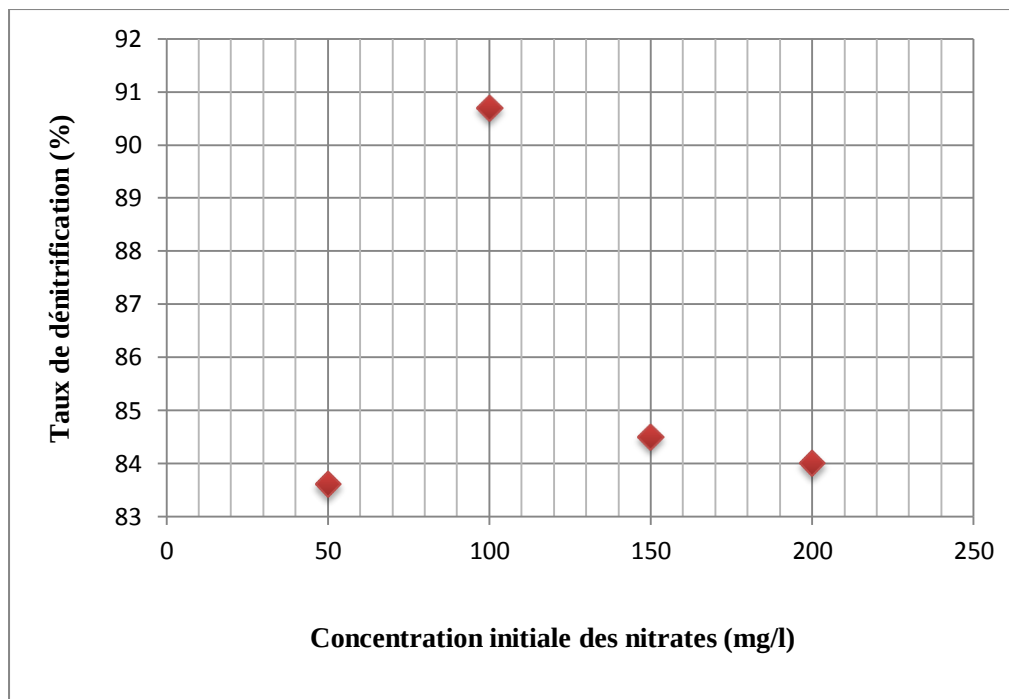


Figure V.7 : Taux de la dénitrification en fonction de la concentration initiale des nitrates.

V.2.1.2. Variation du taux de la dénitrification en fonction de la température :

Pour la variation de la température on a fixé les autres paramètres ($[\text{NO}_3^-] = 100 \text{ mg/l}$ et pH neutre).

Tableau V.6 : la concentration des nitrates et le taux de la dénitrification en fonction de la température

Température (C°)	$[\text{NO}_3^-]_f$ (mg/l)	Taux de la dénitrification (%)
5	4,3	95,7
25	3,1	96,9
40	4,5	95,5
60	6,9	93,1

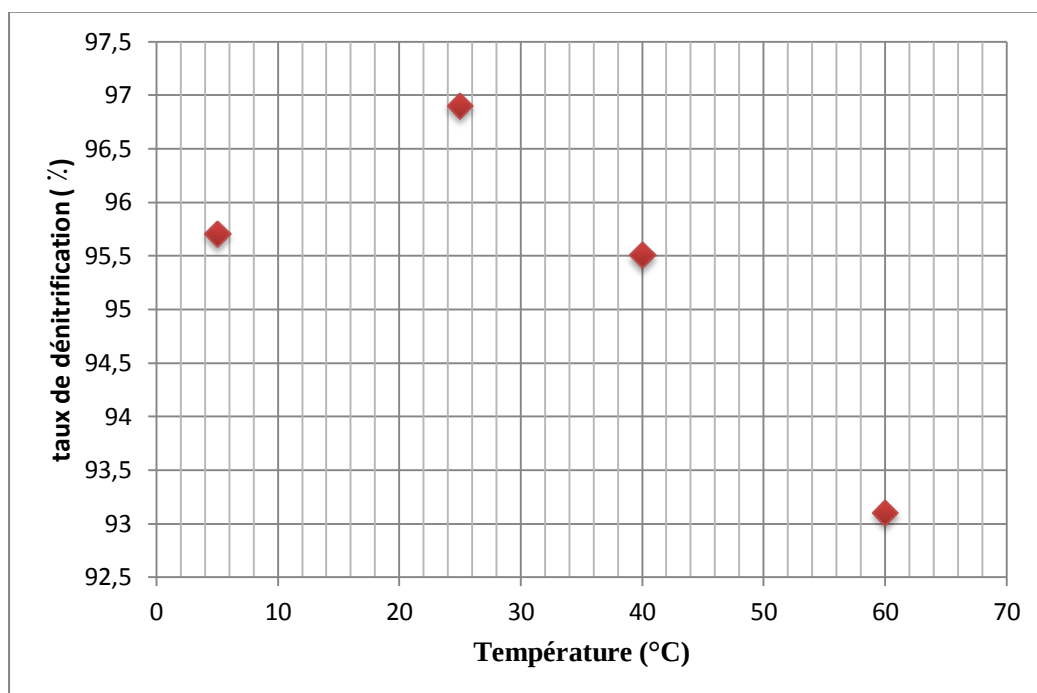


Figure V.8 : Taux de la dénitrification en fonction de la température

V.2.1.3. Variation du taux de la dénitrification en fonction de pH :

Pour la variation de pH on a fixé la température (25°C) et la concentration ($[\text{NO}_3^-]=100\text{mg/l}$).

Tableau V.7 : la concentration des nitrates et le taux de dénitrification en fonction du pH :

pH	$[\text{NO}_3^-]_f$ (mg/l)	Taux de la dénitrification (%)
5	7,3	92,7
7	1,2	98,8
9	2	98

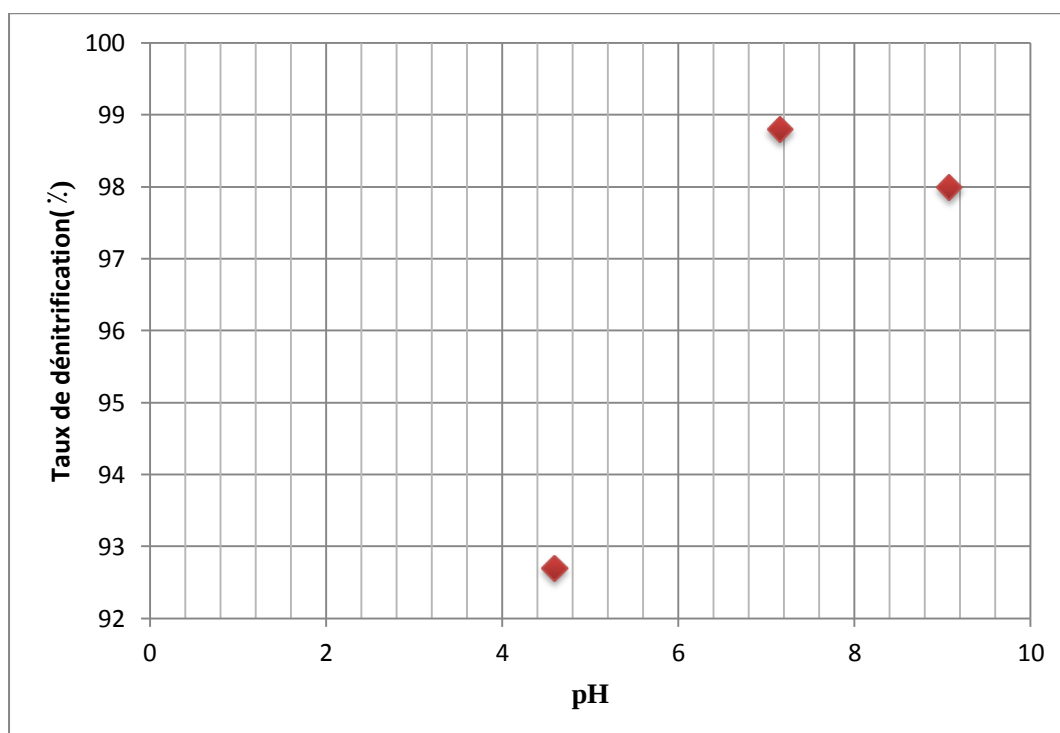


Figure V.9 : Taux de la dénitrification en fonction du pH

D'après la figure V.7 ; on remarque que lorsqu'on augmente la concentration initiale des nitrates de 50mg/l à 200 mg/l ; le taux de dénitrification est instable et la valeur de 100 mg/l donne le meilleur taux de dénitrification et pour cela nous avons pris cette valeur pour le reste des expériences.

D'après la figure V.8 ; on remarque que les concentrations ont diminué avec toutes les températures ; Qu'en augmentant la température de 5°C à 60°C ; le taux de dénitrification augmente à la température 25°C puis il diminue avec l'augmentation de la température car les températures élevées (40 et 60°C) affectent négativement sur les bactéries. Et aussi pour la température basse (5°C) qui nous donne une diminution de taux de dénitrification donc on déduit que la température idéale pour la dénitrification est 25°C.

Comme le montre la Figure V.9 : la réduction des nitrates augmente dans le milieu neutre et diminue dans les deux autres milieux acide et base, donc on déduit que la dénitrification est plus efficace dans le milieu neutre.

Le taux maximum de dénitrification est généralement dans la zone neutre de pH [67]. Pour notre étude pour pH de valeur 7, le taux de dénitrification est supérieur à 90%. Ce phénomène est expliqué par le fait que plusieurs enzymes possèdent des groupements basiques ou acides faibles qui sont impliqués dans les réactions catalytiques [67].

V.2.2.Les Nitrites :

V.2.2.1.Variation de la concentration des nitrites en fonction de la concentration initiale des nitrates :

Tableau V.8 : variation de la concentration des nitrites en fonction de la concentration initiale des nitrates.

Concentration initiale des nitrates (mg/l)	[NO ₂ ⁻] (mg/l)
50	0,009
100	0,062
150	0,026
200	0,047

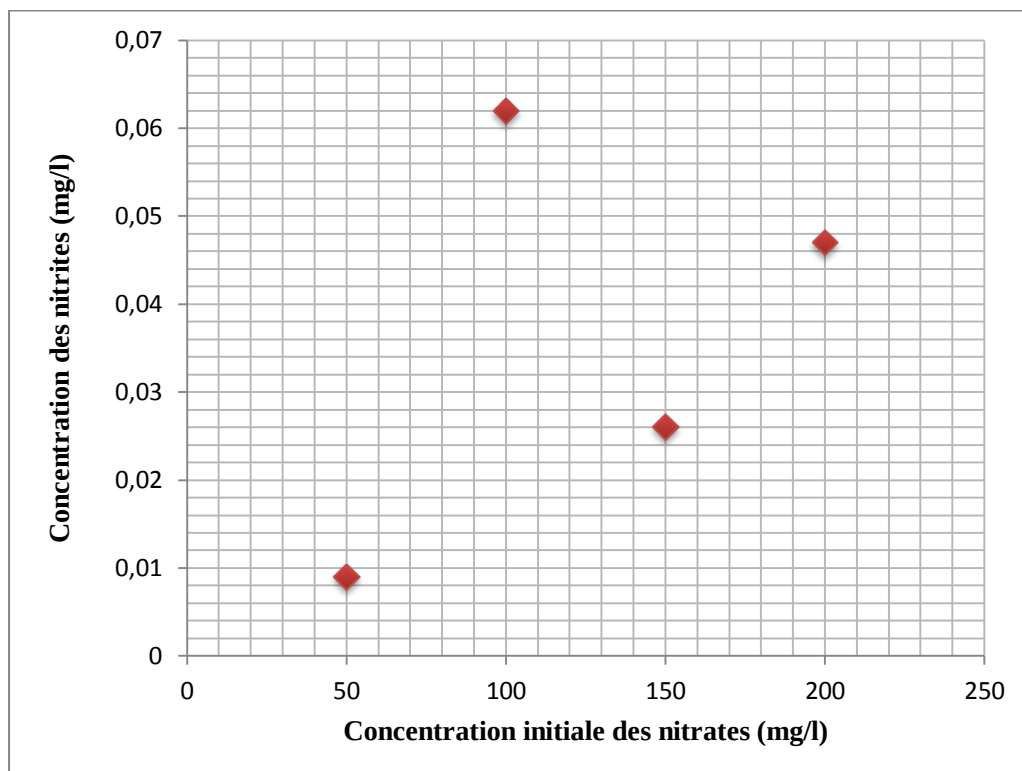
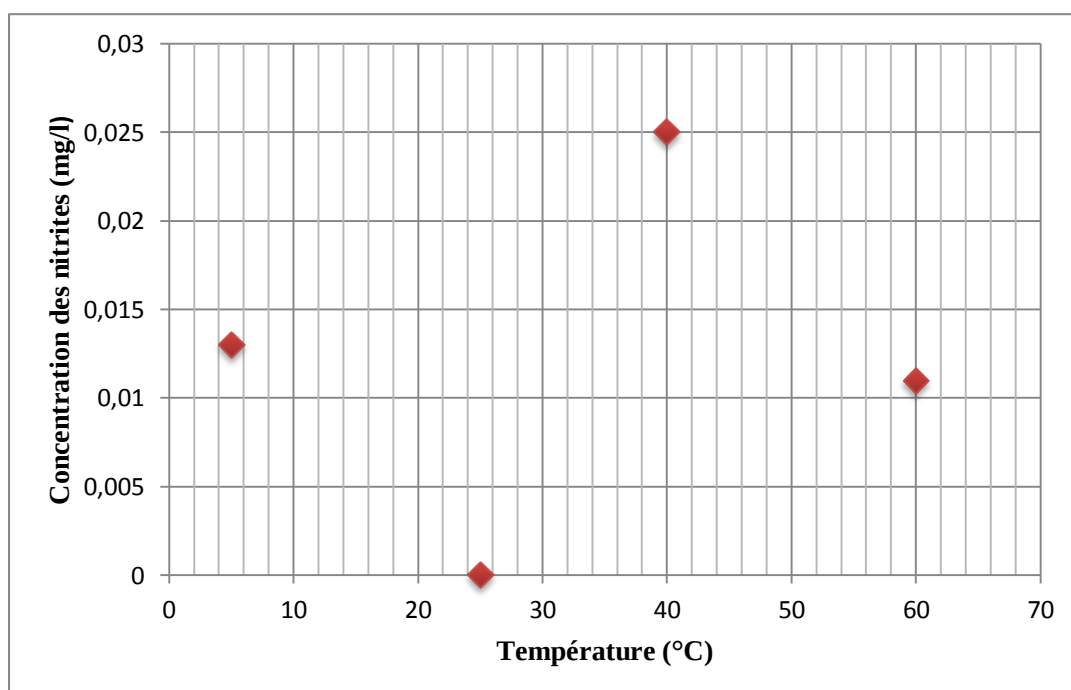


Figure V.10 : variation de la concentration des nitrites en fonction de la concentration initiale des nitrates.

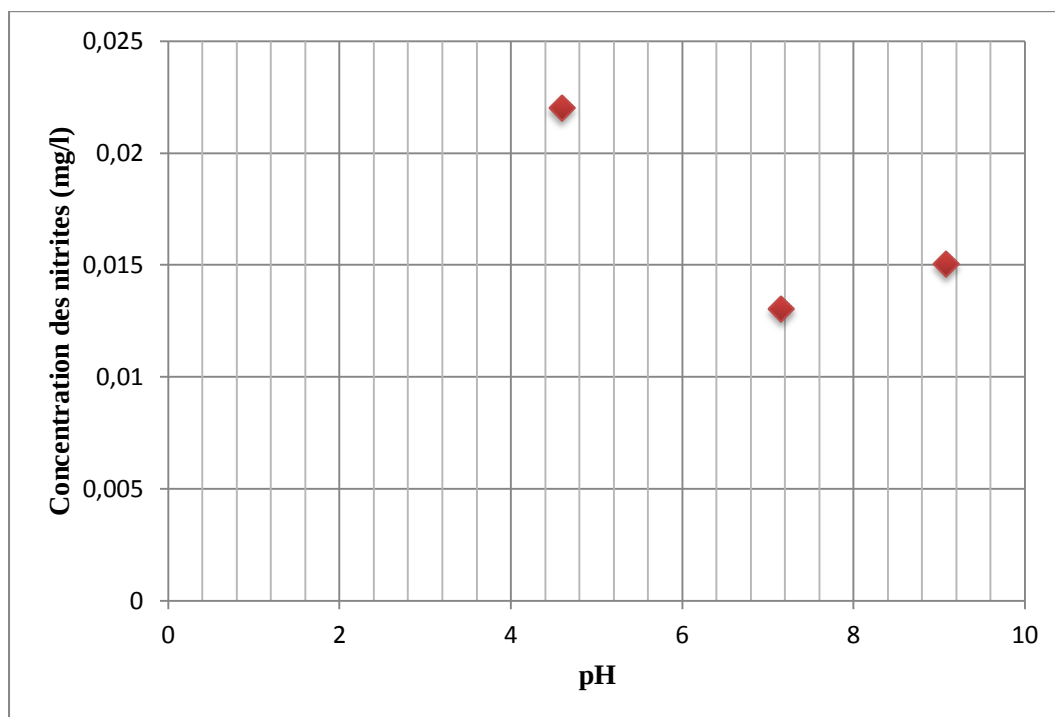
V.2.2.2. Variation de la concentration des nitrites en fonction de la température :**Tableau V.9 :** variation de la concentration des nitrites en fonction de la température

Température (C°)	[NO ₂ ⁻] (mg/l)
5	0,013
25	–
40	0,025
60	0,011

**Figure V.11 :** variation de la concentration des nitrites en fonction de la température

V.2.2.3. Variation de la concentration des nitrites en fonction du pH :**Tableau V.10** : variation de la concentration des nitrites en fonction du pH

pH	[NO ₂ ⁻] (mg/l)
5	0,022
7	0,013
9	0,015

**Figure V.12** : variation de la concentration des nitrites en fonction du pH

D'après la Figure V.10 : on remarque qu'en augmentant la concentration initiale des nitrates de 50 à 200 mg/l que la concentration des nitrites est instable ; elle diminue à la concentration 50 mg/l et elle augmente à 100 mg/l ; puis elle diminue encore à la concentration de 150 mg/l ensuite elle augmente à la concentration de 200 mg/l.

Aussi Pour la variation du pH et la température la concentration des nitrites est instable ; pour le pH on a une meilleur diminution dans la zone neutre (figure V.11) ; et ce qui concerne la température on a absence des nitrites à la température 25°C (figure V.12).

L'instabilité de concentration des nitrites due à l'activité des enzymes réductases.

On constate que la dénitrification est efficace dans les températures de (5 à 60°C) et dans les zones du pH (5; 7; 9), mais elle sera beaucoup mieux dans un milieu neutre de pH et température ambiante.

V.3. Les Résultats de la DCO et DBO₅ :

Tableau V.11 : Résultats de la DBO₅ et la DCO

DCO (mg O ₂ /l)	84
DBO ₅ (mg O ₂ /l)	56
DCO/DBO ₅	1,5

La DCO et DBO sont des paramètres complémentaires, la DCO renseigne sur la totalité des matières oxydables mais ne donne aucun renseignement sur leur biodégradabilité.

La DBO indique la quantité de matières biodégradables d'un effluent.

Le rapport DCO/DBO₅ donne une première estimation de la biodégradabilité de la matière organique d'un effluent donné ; on convient généralement des limites suivantes :

- DCO/DBO₅ < 2 : l'effluent est facilement biodégradable.
- 2 < DCO/DBO₅ < 3 : l'effluent est biodégradable avec des souches sélectionnées.
- DCO/DBO₅ > 3 : l'effluent n'est pas biodégradable.

D'après les résultats le rapport DCO/DBO₅=1,5 donc l'effluent est biodégradable [68].

CONCLUSION GENERALE

Conclusion

Sur la base des résultats d'une recherche bibliographique approfondie et un programme expérimental avec un réacteur en batch, emballée de coques d'arachide, on a conclu que la dénitrification hétérotrophe est un processus viable pour l'élimination des nitrates à partir des eaux souterraines contaminées. Ce processus offre un net avantage puisqu'on utilise une source de carbone naturelle qui est inerte vis-à-vis de la santé humaine. En vertu de ce programme de recherche, de nombreuses conclusions spécifiques ont été établies et sont résumées ci-dessous :

- ✓ Les résultats de notre travail montrent la diminution de la concentration des nitrates et nitrites au-dessous de la norme :

Selon l'OMS les normes des nitrates et nitrites sont respectivement : 50mg/l et 3mg/l, donc le traitement biologique est efficace.

- ✓ Les microorganismes présentent des capacités de dénitrification en absence d'oxygène.
- ✓ Les nitrates NO_3^- dans la solution d'alimentation ont été réduits en nitrites NO_2^- puis en azote gazeuse N_2 .
- ✓ Le taux de dénitrification varie avec la concentration initiale de nitrate, il est entre 83 et 98%.
- ✓ les coques d'arachide sont riches en oligo-éléments, elles vont constituer en plus de la source de carbone, de support bactérien, une source importante d'oligoéléments.

Nous avons également étudié l'influence de quelques paramètres physico-chimiques qui peuvent avoir un effet accélérateur ou inhibiteur sur la réaction de dénitrification.

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

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]: WEHBE .N « Dénitrification de l'eau potable en réacteur catalytique membranaire et photo catalytique » ; thèse de l'université de Lyon ; 2008.
- [2]: SARKI.K «Contrôle de la qualité de l'eau de la station d'hémodialyse De l'EHU 1^{er} Novembre» ; mémoire de l'université des sciences et de la technologie d'Oran ; 2014.
- [3]: L.J. Puckett, Identifying the major sources of nutrient water pollution, Environ. Sci. Technol. 29. 408–414 ; 1995.
- [4]: I. Bogardi, R.D. Kuzelka, W.G. Ennenga, Nitrate contamination: exposure, consequence, and control, NATO ASI Ser. Ser. G Ecol. Sci. USA ; 1991 .
- [5]: S.S. Mirvish, The significance for human health of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds, in: Nitrate Contam., Springer : pp. 253–266 ; 1991.
- [6]: Christophe, Jennifer « Etude de l'électro activité du cuivre pour la réduction du dioxyde de carbone et pour la réduction de l'ion nitrate», Thèse de la Faculté des sciences de Bruxelles ; 2007.
- [7]: Rapport de l'Algérienne des eaux ADE Alger ; 2009.
- [8]: Goodrich A, Lykins W, Klark M « Drinking water from agriculturally contaminated ground water ». J Environ Qual ; 20:707–17 ; 1991.
- [9]: fiche ressources N3 - les différentes étapes de traitement de l'eau ; 2008.
- [10]: Cole J. « Controlling environmental nitrogen through microbial metabolism ; Trends in Biotechnology» ; 11(8), 368-372 ; 1993.
- [11]: Challis, B. « Rapid Nitrosation of Phenols and its Implications for Health Hazards from Dietary Nitrites , Nature » 244 (5416), p. 466 ; 1973.
- [12]: Celine Debrieu «élimination des nitrates des eaux potables » document technique FNDAE ; 1992.
- [13]: Addiscott TM ; Whitmore AP ; Powlson DS « Farming ; Fertilizers and the Nitrate Problem » C.International.Wallingford ; UK.170 pp ; 1991.
- [14]: Le Clech , B « Environnement et agriculture» ; Synthèse Agricole.290 pp ; 1995.
- [15]: L. Paugam, S. Taha, J. Cabon, N. Gondrexon, G. Dorange « Nanofiltration de solutions de nitrate d'ammonium » ; Étude des paramètres influents, Rev. Sci. Eau. 14-511–523 ; 2001.
- [16]: RATEL. M « Elimination des nitrates des eaux potables » ; Document technique du fond national pour le développement des adductions d'eau. Office international de l'eau. Limoge. France ; 1992.

- [17]: L.J. Puckett « Identifying the major sources of nutrient water pollution » ; Environ. Sci. Technol. 29-408–414 ; 1995.
- [18]: E. McAdam, S. Judd « A review of membrane bioreactor potential for nitrate removal from drinking water » ; Desalination. 196 -135–148 ; 2006.
- [19]: Hadi .A « Géostatique et SIG pour la modélisation spatialisée de la pollution nitratée dans la plaine du Haut-Chéliff » ; thèse de doctorat en sciences ; Université Hassiba Ben Bouali-Chéliff ; 2016.
- [20]: Madison, R. J. et Brunett, J. D « Overview of the occurrences of nitrate in groundwater of the United States » ; US Geological Survey, Water Supply Paper, 275, 93-105; 1985.
- [21]: Fletcher, J. R., Law, S. J. et Walters, A. H « Effect of cooking on the nitrate levels in vegetables » , Nutr Health, 5 (1-2), 61-63 ; 1987.
- [22]: EEC : Engineering Environement Consulte « Bulletin International de l'eau de l'environnement ; 2001.
- [23]: A. Bhatnagar, M. Sillanpää « A review of emerging adsorbents for nitrate removal from water » , Chem. Eng. J. 168-493-504 ; 2011.
- [24]: L. Idrissi « Etude et développement de nouvelles méthodes électrochimiques pour la détermination des ions orthophosphate, nitrite, nitrate et ammonium », Université Mohammed V- Agdal, Faculté des Sciences, Rabat ; 2006.
- [25]: SANTE CANADA « Le nitrate et le nitrite » ; Recommandations pour la qualité de l'eau potable ; document technique ; 1992.
- [26]: KHELIEL. O « Etude du pouvoir adsorbant du charbon actif pour la dénitrification des eaux souterraines » Mémoire de Magister en hydraulique, Université MOHAMMED KHIDER Biskra ; 2014.
- [27]: Bougherara .H « La dénitrification par l'utilisation d'une culture mixte » ; Thèse de doctorat ; Université Mentouri Constantine ; 2010.
- [28]: Maurel A. « Osmose inverse et ultrafiltration », considérations théoriques. Techniques de l'ingénieur. J 2 790. pp 1-19 ; 2006.
- [29]: Balducchi F.(dir.Lacroix A) « Le traitement des nitrates dans l'eau potable » Bilan technico-économique. INRA R&A, Grenoble, 31 pages ; 1994.
- [30]: Santafé-Moros A., Gozávez-Zafrilla J.M. and Lora-García J. « Performance of commercial nanofiltration membranes in the removal of nitrate ions ». Desalination,185 (1-3). pp 281-287 ; 2005.

- [31]: Garcia F., Ciceron D., Saboni A. and Alexandrova S. « Nitrate ions elimination from drinking water by nanofiltration: Membrane choice » . Separation and Purification technology, 52(1). pp 196-200 ; 2006.
- [32]: Tada K. and Shimazu K. « Kinetic studies of reduction of nitrate ions at Sn-modified Pt electrodes using a quartz crystal microbalance » ; Journal of Electroanalytical Chemistry, 577(2). pp 303-309 ; 2005.
- [33]: Gootzen J. F. E., Peeters P. G. J. M., Dukers J. M. B., Lefferts L., Visscher W. and van Veen J.A.R. « The electrocatalytic reduction of NO₃⁻ on Pt, Pd and Pt +Pd electrodes activated with Ge » . Journal of Electroanalytical Chemistry. 434(1-2). pp. 171-183 ; 1997.
- [34]: Katsounaros I., Ipsakis D., Polatides C. and Kyriacou G « Efficient electrochemical reduction of nitrate to nitrogen on tin cathode at very high cathodic potentials ». Electrochimica Acta, 52 (3) pp 1329-1338 ; 2006.
- [35]: Van Dongen U., Jetten M. S. M. and Van Loostrecht M. C. M « The sharon-anammox process for treatment of ammonium rich wastewater » . Water Science and Technology. 44 (1). PP 153-160 ; 2001.
- [36]: Cizinska, S., V. Mateju, J. Krejci, T. Janoch and E. Kyslikova « Water Denitrification by an Immobilized Biocatalyst » , Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 55, (1), 33-38 ; 1992.
- [37]: Paynes, W. J. « Diversity of denitrifiers and their enzymes » In H. L. Golterman (Ed.) Denitrification in the nitrogen cycle . Plenum Press, New York. pp 47-65 ; 1985.
- [38]: Brock, T. D., M. T. Madigan, J. Martinko, and J. Parker « Biology of Microorganisms » , Prentice Hall International Editions , Seventh Edition, Englewood Cliffs, New Jersey ; 1994.
- [39]: Brezonik, P. L « Denitrification in Natural Waters» ; Progress in Water Technology, 8, (4-5), 373-392 ; 1977.
- [40]: Gamble TN, Betlach R, Tiedje JM « Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils »; Applied and Environmental Microbiolog ; 33(4), 926-939; 1977.
- [41]: Kargi F , Dinçer, R « Kinetics of sequential nitrification and denitrification processes » ; Enzyme and Microbial Technology 27: 37-42; 2000.
- [42]: Isaacs, S.H, et Henze, M « Controlled carbon source addition to an alternating nitrification- denitrification »; water treatment process including biological P removal. Wat Res. 29:77-89 ; 1995.

- [43]: Degrémont « Memento technique de l'eau. Technique et Documentation » ; la voisier (eds), Paris, 1459p ; 1989.
- [44]: Mitsutoshi, N., Hayamisu, T., et Nishimura, N « Effects of oxygen concentrations on the rates of denitrification and denitrification in the sediments of an eutrophic lake » ; Wat. Res. 8: 213-219 ; 1984.
- [45]: Gee CS, Kim JS « Nitrite accumulation followed by denitrification using sequencing batch reactor » ; Water Science and Technology ; 49 (5-6), 47-55; 2004.
- [46]: Dawson, R, et Murphy, K « the temperature dependency of biological denitrification » ; Wat.Res , 6, 71-83 ; 1972.
- [47]: Knowles R « Denitrification. Microbiological Reviews » ; 46 (1), 43-70; 1982.
- [48]: Donlan, R. M. And Costerton, J.W « Biofilms : survival mechanisms of clinically relevant microorganisms» ; Clin Microbiol Rev 15, 167-193 ; 2002.
- [49]: Espinasse,f., Page,B. & Cottard-Bouelle,B.(2010).Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs.Revue Francophone des Laboratoires 426,51-63.
- [50]: Behlou,I.& Gilmore, M. S « Microbiol biofilms in ophthalmologie and infectious Diseases » Arch Ophthalmol 126,1572-1581 ; 2008.
- [51]: Eberl, H.J., Picioreanu, C., Heijnen, J.J., Van Loosdrecht, M.C.M « A three-dimensional numerical study on the correlation of spatial structure, hydrodynamic conditions, and mass transfer and conversion in biofilms » ; Chem.Eng.Sci., 55 (24), 6209-6222; 2000.
- [52]: Julie A et serge P « Functional diversity in the biofilm » ; Microbial Ecology ; Vol.63N4(21012,); pp 726-735 ; 2012.
- [53]: Beloin,C. Roux,A.& Svanborg,C « Echerichia coli, biofilms » ; Curr Top Microbiol Immunol ; 322,249-289 ; 2005.
- [54]: Van Houdt, R. And Michiels, C. W « Role of bacterial cell surface structures in Escherichia Coli biofilm formation » ; Res Microbiol 156, 626-633 ; 2005.
- [55]: Jacobsen,S.M., Stickler,D.J. Mobley,M.L. & shitiliff,M.E «Complicated Catheterassociated urinary tract infectious due to Echerichia coli and Proteus mirabilis » ; Clin Microbiol Rev 21,26-59 ; 2008.

- [56]: Folkesson,A Haagensen, J.A.J Zampaloni,C Sternberg, C. and Molin, S « Biofilm induced tolerance towards antimicrobial peptides » ; Public Library of Science, Vol. 3 No. 4, pp. 1-11 ; 2008.
- [57]: Tenke,P. Kovacs,B. Jackel,M. & Nagy,E « The role of biofilm infection in Urology » ; World J Urol 24,13-20 ; 2006.
- [58]: Hall-Stoodley L., Costerton J.W., Stoodley P « Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases » ; Nat. Rev. Microbiol. 2(2): 95-108 ; 2004.
- [59]: Kaplan, J. B « Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses » ; J Dent Res 89, 205-218 ; 2010.
- [60]: Filloux et valkex « biofilm set up and organization of bacterial community » ; Med.Sci.paris ; 19:77-83 ; 2003.
- [61]: Amri.T « Etude de la symbiose à rhizobium chez l'arachide (*Arachis hypogaea*L.) » ; Institut National Agronomique- el Harrach- Alger ; 2008.
- [62] : Ingrédients relevés sur un paquet de marque « Bien Vu ! » ; juin 2014.
- [63]: Encyclopédie « Arachide.Un article de Wikipédia » ; l'encyclopédie libre ; 2006.
- [64]: Boudergues,R Calvet, H « Note sur la digestibilité des coques d'arachides utilisées en alimentation animale » ; Revue D'élevage et de Médecine Vétérinaire Des Pays Tropicaux 23 ; 2000.
- [65]: Misra, R.V Roy, R.N Hiraoka,H « Méthodes de compostage au niveau de l'exploitation agricole » ; 2005.
- [66]: Salem,Z, Lebik. H, W.K. Cherafa, K. Allia «Valorisation of olive pits using biological denitrification » Dessalination, 204, 72-78; 2007.
- [67]: Yongkang L et feilong niu « Isolation of nitrification denitrification fungus for removal of ammonium nitrogen » ; Asian journal of chemistry ; vol.26,N 21-7207-72013 ; 2014.
- [68]: YAHIAATENE. S et TAHIRIM El Tiadj « Réflexion sur la caractérisation physico-chimique des effluents liquides rejetés dans la grande sebkha d'Oran» ; Memoire Online Université d'Oran - Licence batiment ; 2010.

ANNEXES

➤ Analyse microscope électronique à balayage (MEB) :

Un faisceau très fin d'électrons, monocinétique, balaie la surface d'un échantillon où se produisent des interactions détectées par un capteur qui contrôle la brillance d'un oscilloscope cathodique dont le balayage est synchronisé avec celui du faisceau d'électrons ; on peut ainsi comparer le MEB à un système de télévision en circuit fermé.

Un microscope électronique à balayage peut avoir plusieurs modes de fonctionnement suivant

Un microscope électronique à balayage peut avoir plusieurs modes de fonctionnement suivant les particules analysées :

- **Imagerie en électrons secondaires :**

Dans le mode le plus courant, un détecteur d'électrons transcrit le flux d'électrons en une luminosité sur un écran. En balayant la surface, on relève les variations de contraste qui donnent une image de la surface avec un effet de relief. La couleur (noir et blanc) sur la micrographie obtenue est une reconstruction par un système électronique et n'a rien à voir avec la couleur de l'objet.

- **Imagerie chimique élémentaire par spectrométrie de rayons X :**

L'énergie des rayons X émis lors de la désexcitation des atomes dépend de leur nature chimique (ce sont les raies caractéristiques). En analysant le spectre des rayons X, on peut avoir une analyse élémentaire, c'est-à-dire savoir quels types d'atomes sont présents. Le faisceau balayant l'écran, on peut même dresser une cartographie chimique.

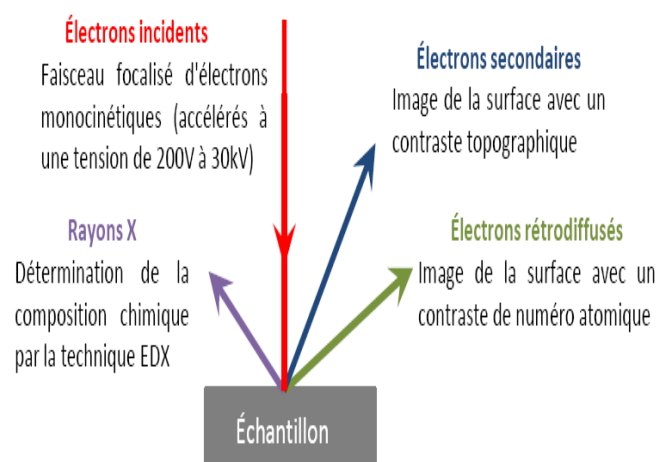


Schéma explicatif du principe physique de la microscopie électronique à balayage.

➤ Variation du pH :

• Principe :

La différence de potentiel existant entre une électrode de verre et électrode de référence (Calomel-KCL saturé), plongeant dans une même solution, est une fonction linéaire du pH de celle-ci. Le potentiel de l'électrode est lié à l'activité des ions H^+ .

• Mode opératoire :

- Allumer le pH mètre.
- Rincer l'électrode avec de l'eau distillée.
- Prendre environ 100 ml d'eau à analyser.
- Mettre un agitateur avec une faible agitation.
- Tremper l'électrode dans le bêcher.
- Laisser stabiliser un moment avec une faible vitesse d'agitation puis noter le pH.



PH mètre

➤ **La demande chimique en oxygène :**

• **Mode opératoire :**

On introduit 2ml de l'échantillon à analyser dans une cuve d'un réactif (65% d'acide sulfurique, sulfate de mercure ,bichromate de potassium) puis on agite le mélange et on le met dans un réacteur (HT200S) à 170°C pendant 15 min. Le refroidissement de l'échantillon se fait automatiquement dans le thermo réacteur pendant 15 min, jusqu' à une température de 44°C, puis on le met à l'abri de la lumière pendant quelque minute et on mesure la DCO avec un DCO mètre (DR 1900).

➤ **La demande biologique en oxygène (DBO₅) :**

• **Mode opératoire :**

La valeur de la prise d'essai est déterminée en fonction des résultats attendus et en fonction de la valeur de la DCO.

Tableau : Volumes des prises d'essai d'eau à analyser pour différentes marges de DCO Marge de DCO

Marge de DCO (mg/l)	Volume d'eau (ml)	Coefficient de conversion
0-40	432	1
0-60	365	2
0-200	250	5
0-400	164	10
0-800	97	20
0-2000	43,5	50
0-4000	22,7	100

- Sur la base de la valeur de la DCO, on prélève un volume bien déterminé de la prise d'essai et l'introduire dans un flacon brun, Introduire un barreau aimanté dans le flacon,
- Placer dans le col de la bouteille, un support en caoutchouc qui contient une à deux pastilles de NaOH,
- Mettre le bouchon sans le serrer,
- Agiter le mélange pendant 1 heure tout en équilibrant la température à 20°C,
- Fermer les bouchons du flacon et du réservoir à mercure,
- Ajuster l'échelle au niveau du mercure dans le capillaire,
- Noter la date et l'heure de mise en marche,
- Lire quotidiennement les valeurs indiquées sur l'échelle,

Après le cinquième jour, lire le résultat sur l'échelle et le multiplier par le coefficient de conversion. Le résultat à la consommation d'oxygène est en mg/l.

- la granulométrie à laser :
- Coque d'arachide

L'analyse granulométrique a mis en évidence la présence de population de grains variant entre 7.69µm et 262.37µm avec une taille médiane de 381.74µm (Tableau 1).

Numéro	Diamètre(Microns)	Passant q(%)	Cumul Passant(%)
48	6,72	0	0
49	7,697	0,106	0,106
50	8,816	0,2	0,306
51	10,097	0,349	0,654
52	11,565	0,58	1,234
53	13,246	0,867	2,101
54	15,172	1,159	3,26
55	17,377	1,378	4,638
56	19,904	1,477	6,115
57	22,797	1,469	7,584
58	26,111	1,408	8,992
59	29,907	1,335	10,327
60	34,255	1,278	11,605
61	39,234	1,259	12,865
62	44,938	1,302	14,166
63	51,471	1,38	15,547
64	58,953	1,489	17,035
65	67,523	1,616	18,652
66	77,34	1,733	20,384
67	88,583	1,841	22,225
68	101,46	1,935	24,16
69	116,21	2,021	26,181
70	133,103	2,146	28,327
71	152,453	2,334	30,661
72	174,616	2,552	33,213
73	200	2,764	35,978
74	229,075	2,911	38,888
75	262,376	2,952	41,84
76	300,518	2,92	44,759
77	344,206	2,922	47,681
78	394,244	3,041	50,722
79	451,556	3,278	54

**Tableau 1 : Résultats de mesure granulométrique à laser de
La Coque d'arachide.**

Numéro	Diamètre(Microns)	Passant q(%)	Cumul Passant(%)
80	517,2	3,603	57,602
81	592,387	4,094	61,696
82	678,504	4,744	66,44
83	777,141	5,455	71,896
84	890,116	6,142	78,037
85	1019,515	6,112	84,149
86	1167,725	4,896	89,045
87	1337,481	3,479	92,525
88	1531,914	2,734	95,259
89	1754,613	2,329	97,588
90	2009,687	1,294	98,882
91	2301,841	0,719	99,601
92	2636,467	0,399	100
93	3000	0	100

**Tableau 1 : Résultats de mesure granulométrique à laser
La Coque d'arachide (suite et fin).**

Méthodologie :

Les statistiques de la distribution sont calculées d'après les résultats, en utilisant les dérivés $D[m,n]$:

$D(v,0.1)$, $D(v,0.5)$ et $D(v,0.9)$ sont des mesures standards de percentiles de l'analyse.

$D(v,0.5)$: est la taille de particules pour laquelle 50% de l'échantillon à une taille inférieure et 50% de l'échantillon à une taille supérieure à cette taille et également connue sous le nom de MMD (*Mass Median Diameter*).

$D(v,0.1)$: est la taille de particules pour laquelle 10% de l'échantillon se trouve en dessous de cette dimension.

$D(v,0.9)$: est la taille de particules pour laquelle 90% de l'échantillon se trouve en dessous de cette dimension.

Le span : est la mesure de la largeur de la distribution, plus cette valeur est faible plus la distribution est étroite. La largeur se calcule par la formule suivante:

$$\frac{D(0.9) - D(0.1)}{D(0.5)}$$

Résumé

L'objectif de cette étude consiste à dénitrifier une eau par utilisation d'un matériau support poudre des coques d'arachide constituant une source de carbone et de donneur d'électrons et la boue activée constituant une source des bactéries ramenées de la station d'épuration des eaux usées de BOUMERDES (STEP). Des conditions anoxiques et d'anaérobie ont été maintenues dans le réacteur avec addition de micronutriments. Le pH de travail a été fixé entre 6 et 9 à une température ambiante de 25°C. Différents essais expérimentaux ont été réalisés dans un réacteur discontinu.

Les coques d'arachide sont très riches en matières organiques donc une très bonne source de carbone pour l'utiliser dans la dénitrification biologique.

Les micro-organismes ont présentés des capacités pour la dénitrification en absence d'oxygène (ils consomment les nitrates au lieu de l'oxygène).

Mots clés : Traitement biologique, nitrates, dénitrification hétérotrophe, support naturel, coques d'arachide.

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو محاولة ازالة النيترات المتواجدة في المياه و ذلك باستعمال مادة داعمة المتمثلة في مسحوق قشور الفول السوداني الذي يعتبر مصدرا هاما للكربون وباستعمال الوحل النشط الذي يتميز بغناه بالبكتيريا و المستخرج من مركز معالجة المياه القذرة ببومرداس مع تطبيق الحالة اللاهوائية داخل المفاعل وقد تم تحقيق هذا العمل في وسط معتدل (درجة الحموضة بين 6 و 9) وفي درجة حرارة تقارب 25 درجة مئوية. تتميز قشور الفول السوداني بغناها بالمواد العضوية مما يجعلها مصدرا مهما للكربون المستعمل في عملية ازالة النترات . الخليط البكتيري يمتلك القدرة على ازالة النيترات في غياب الاكسجين من خلال استهلاكه للنيترات قصد تعويض الاكسجين.

الكلمات الدالة : النيترات . ازالة النيترات . عضوي التغذية . مادة داعمة . قشور الفول السوداني .

Abstract

The objective of this study is to denitrify water by using a ground support material of the peanut shells constituting a source of carbon and electron donor and the activated sludge constituting a source of the bacteria brought back from the docking station, Wastewater treatment plant in BOUMERDES (STEP). Anoxic and anaerobic conditions were maintained in the reactor with the addition of micronutrients. The working pH was set between 6 and 9 at an ambient temperature of 25 °C; various experimental tests were carried out in a batch reactor.

Peanut shells are very rich in organic matter therefore a very good source of carbon for the use in biological denitrification.

The microorganisms have shown capacities for denitrification in the absence of oxygen (they consume nitrates instead of oxygen).

Key words: Biological treatment, nitrate, heterotrophic denitrification, natural support, Peanut shells.