

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT: GENIE DE L'ENVIRONNEMENT

BIBLIOTHEQUE — المكتبة
Ecole Nationale Polytechnique

PROJET DE FIN D'ETUDES

SUJET

NITRIFICATION
DENITRIFICATION EN
BACTERIES FIXÉES

Proposé par : Mme
N.ABDI

Etudié par: MM.
F. BOUKERBOUT
H. BELAHMER

Dirigé par: Mme
N.ABDI

PROMOTION: JANVIER 88

DEDICACES

Je dedie ce modeste travail

à

Mon cher père

Ma chère mère

Ma grand-mère

Mes frères

Mes sœurs

À tous mes amis

À toute la famille

HOCINE

Je dedie ce travail à

- Ma mère pour sa patience
- Mon père pour sa compréhension
- Mes frères et sœurs.

Farid BOUKERBOU.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier vivement notre promotrice Mme
N. ABDI-HAIDER, maître assistante à l'école nationale polytechnique
pour l'aide précieuse et les conseils qu'elle nous a prodigués tout
au long du semestre et nous l'assurons de notre profonde
reconnaissance.

Nous tenons à remercier :

M^e A. KERBACHI, Directeur du département de Génie de
l'environnement.

M^r DAHMANE BENKACI

Mr Nourredine de la station d'épuration de Koléa

- Unité ENCC CAROUBIER

Enfin tous ceux qui de près ou de loin nous ont aidés à élaborer
ce travail trouvent en ces quelques lignes l'expression de
nos remerciements les plus sincères.

SOMMAIRE

INTRODUCTION

CHAPITRE 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I - Généralités sur le problème de l'azote dans les eaux

I1 - Le cycle de l'azote

I2 - Les principales sources d'azote

I3 - Les procédés d'élimination de l'azote

I4 - Les procédés biologiques

I5 - Nitrification - Dénitrification

1) La nitrification autotrophe.

1.1 - Cinétique de la nitrification

1.2 - Expression globale de la cinétique de nitrification.

2) Dénitrification hétérotrophe.

1.1 Cinétique de la dénitrification.

CHAPITRE 2

PARTIE EXPERIMENTALE

II Etude en laboratoire de la Nitrification et de la Dénitrification

sur colonne contenant un support non consommable

II1 Matériels et Méthodes

II1.1 Dispositif expérimental

II1.2 Préparation de l'inoculum

II1

II 1.3 Mise en précurseur des boues

II 1.4 Matériau

II 1.5 Alimentation

II 2. Exploitation des résultats

II 2.1 Sélection de la biomasse nitrifiante.

II 2.2 Sélection de la biomasse dénitrifiante

II 2.3 Essai de nitrification en système continu

II 2.4 Essai de dénitrification en système continu

II 3 Essai de nitrification et de dénitrification sur lits
immergés à flux descendant

II 3.1 Essai de nitrification

II 3.2 Essai de dénitrification

III Modèle cinétique en discontinu

III 1 Calcul cinétique

III 2 Conclusion.

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
المكتبة — BIBLIOTHEQUE
Ecole Nationale Polytechnique

CHAPITRE 1

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

La protection des ressources en eau et leur exploitation oblige à se préoccuper des nuisances et de l'élimination des dérivés azotés.

En effet c'est au cours des deux dernières décennies que s'est manifesté un déséquilibre dans le cycle de l'azote entraînant une croissance des taux de nitrates dans les eaux de surface et surtout dans les eaux souterraines.

Le nombre de travaux récents publiés sur ce thème démontrent l'actualité et l'acuité du problème puisqu'au delà d'une teneur de 25 mg/l de NO_3^- environ, l'on peut craindre de provoquer la méthémoglobinémie, affection grave pour les nourrissons.

La présence de tous ces composés azotés dans les eaux souterraines a conduit à l'élaboration par la C.E.E des normes suivantes :

	N. G	C. M. A
NH_4^+ (mg/l)	0,05	0,5
NO_2^- (mg/l)	—	0,1
NO_3^- (mg/l)	25	50

Pour satisfaire ces normes, il devient nécessaire de réaliser

Un traitement spécifique des eaux. Le traitement susceptible d'être utilisé et qui fera l'objet de notre recherche est la nitrification d'une eau riche en azote ammoniacal suivi d'une dénitrification.

Ce procédé pour être optimisé nécessite la connaissance de la loi cinétique de réduction de l'azote ammoniacal.

Dans ce cadre nous nous proposons dans un premier temps d'étudier la nitrification et dénitrification sur colonne contenant un matériau non consommable (gravier) et dans un second temps de faire une étude cinétique en discontinu à partir de laquelle nous observerons l'influence des phosphates sur la nitrification. Nous aurons à déterminer la constante de demi-saturation relative aux PO_4^{3-} à partir d'une loi type Monod.

I Généralités sur le problème de l'azote dans les eaux

I.1. Le cycle de l'azote

La principale source d'azote est l'azote atmosphérique qui se trouve sous forme de N_2 .

La première phase du cycle est la fixation qui correspond à l'aptitude que possèdent certains organismes à fixer l'azote atmosphérique.

Cette fixation s'effectue de deux façons :

- directement : grâce à certaines bactéries rhizobium en symbiose avec les légumineuses et par azotobacter.
- indirectement : par réaction de N_2 sur O_2 sous l'effet de phénomènes particuliers (éclairs) qui conduisent à NO puis NO_2 . En présence d'eau on a formation de HNO_3 .

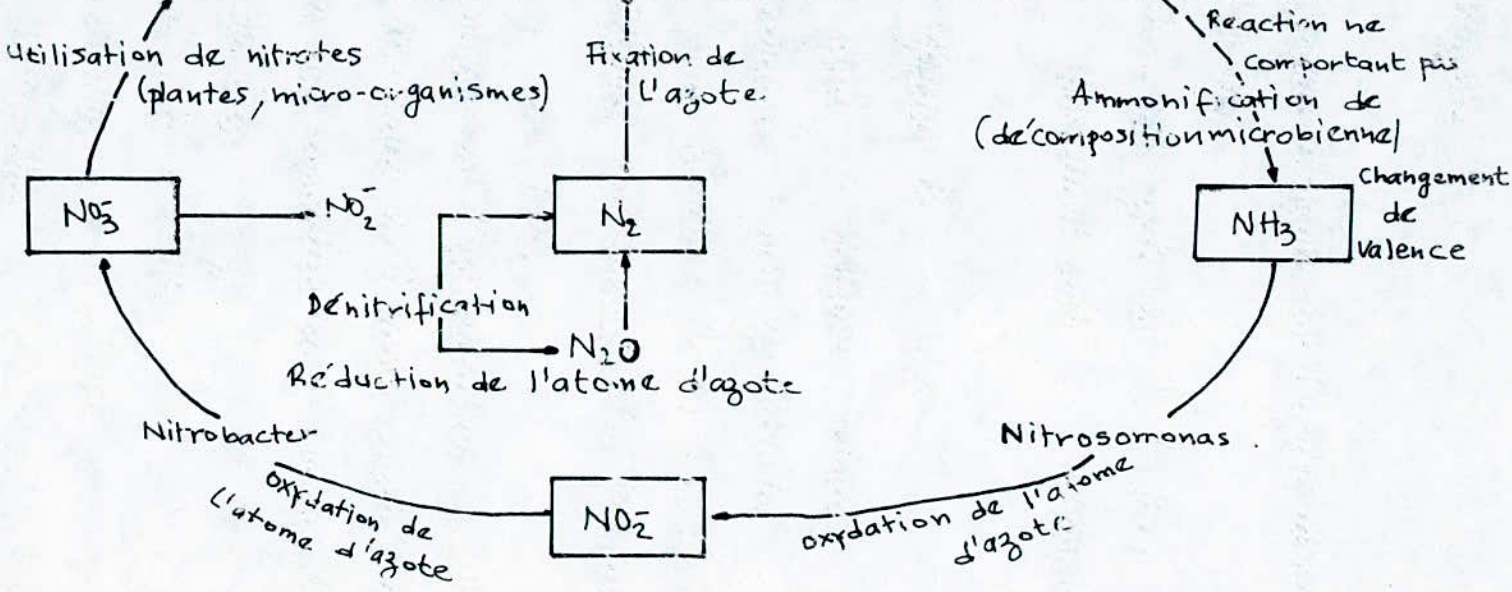
La deuxième phase est l'assimilation. C'est la transformation de matières azotées minérales en composé inerte, en matière vivante.

L'ammonification qui constitue la troisième phase est la transformation de l'azote organique en azote ammoniacal. Ce dernier est oxydé en NO_2^- (la nitrification), NO_2^- est oxydé en NO_3^- (la nitrification)

La forme oxydée NO_3^- est assimilable par de nombreux organismes (en particulier les végétaux). Sous certaines conditions NO_3^- est transformé en N_2 . C'est la dénitrification qui boucle le cycle de l'azote.

Composés organiques azotés dans la matière vivante

Plantes → Animaux → Produits d'excrétion d'origine végétale → micro-organismes



Cycle de l'azote

7-

I.2 Les principales sources d'azote

L'azote est présent dans les eaux essentiellement sous forme organique et sous forme ammoniacal.

L'azote organique est présent sous forme de protéines qui donnent par hydrolyse des acides aminés conduisant eux même par condensation avec peptides et polypeptides. Il se trouve également dans une grande variété d'autres combinaisons organiques.

Comme autres sources d'azote, nous citerons les effluents des fertilisants, les eaux domestiques, les industries du lait, des viandes ainsi que d'autres industries tel que l'affinage des métaux, les industries du fer et de l'acier.

I.3 Les procédés d'élimination de l'azote

Il existe des procédés physico-chimiques et des procédés biologiques.

Parmi les procédés physico-chimiques qui existent on peut citer :

- le stripping à l'air
- l'échange d'ion
- la chloration au Break-point

* Le stripping à l'air : le stripping à l'air est la méthode la plus efficace pour l'élimination de l'ammoniaque de l'eau. Le rendement de cette méthode de traitement est étroitement dépendant du pH

Les valeurs du pH les plus favorables sont comprises entre 10,5 et 11,5
le traitement par air-stripping doit être effectué à des températures
chaudes (de l'ordre de 20 à 25°C) pour être efficace.

Du point de vue économique pour un taux d'élimination de l'ordre de 90%
le traitement par air-stripping est considéré cependant comme étant
d'un coût relativement peu élevé.

* L'échange d'ions : le stripping étant sensible à la température l'échange
d'ions par contre ne semble pas être sensible à ce facteur. Et, de
ce fait présente un avantage certain.

- Il existe des résines sélectives qui permettent l'élimination quasi totale
des nitrates dans l'eau (de 95 à 99%).

- D'importants débits diminuent la capacité des résines. Le coût de
ce type de traitement serait assez important du fait principalement
de l'obligation de régénérer assez fréquemment les résines de manière
à maintenir leur capacité d'élimination des nitrates.

* La chloration au Break-point : la chloration au Break-point est
une méthode de traitement très largement répandue qui permet
l'élimination dans l'eau de l'ammoniaque mais aussi des
composés organiques azotés.

II.4. Les procédés biologiques

Les traitements biologiques consistent à utiliser des micro-organismes pour dégrader des composés généralement organiques dont le rejet est indésirable dans le milieu naturel en leur faisant décrire un cycle de transformation.

Les traitements biologiques ne font que reprendre des processus naturels dérivant de cycle biogéochimique.

Les bactéries par exemple s'adaptent relativement bien à un contexte comportant des substrats divers.

Deux voies sont possibles pour réaliser les transformations :

- voie aérobie si l'oxygène de l'air est associé à ces transformations.

- voie anaérobie si la dégradation se fait à l'abri de l'air en milieu réducteur. L'élimination d'un composé par voie biologique est fonction :

a) du métabolisme des bactéries

b) de la quantité de ces bactéries autrement dit la biomasse. L'épuration biologique doit être employée le plus souvent possible mais cette méthode n'est applicable que si les substrats sont biodégradables et que le milieu est non toxique. Des contraintes de concentration, de température, de pH existent en outre.

I-5 Nitrification - Dénitrification

De tous les traitements applicables à l'élimination des formes azotées dans l'eau, c'est certainement le procédé par nitrification et dénitrification biologique qui est le plus employé. Ce traitement.

Consiste en l'oxydation de l'ammoniaque en nitrates (nitri-fication) suivie de la reduction des nitrates en azote gazeux (dénitri-fication) qui est relaché dans l'atmosphère.

Il existe deux grandes catégories de traitement par nitri-fication-dénitri-fication biologique :

- Les procédés à biomasses flocculées (Boues activées)
- Les procédés à biomasses fixées.

Les procédés à biomasses fixées présentent sur les procédés à biomasses flocculées un certain nombre d'avantages par exemple :

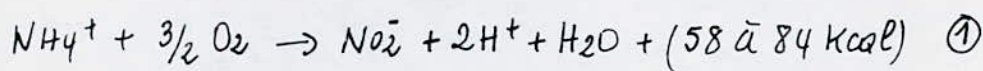
- Suppression des problèmes de flocculation et de séparation
- Installation plus compacte

D'un point de vue économique, le système par nitri-fication-dénitri-fication serait d'un coût relativement peu élevé

1^{er}) La nitri-fication autotrophe.

L'oxydation micro-biologique de l'ammoniaque (NH_3) et des ions ammonium (NH_4^+) s'effectue en deux étapes.

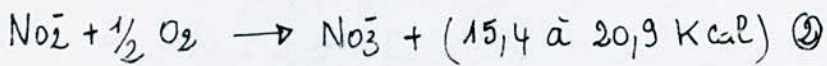
La première étape, la nitrification consiste en l'oxydation de l'ion ammonium (NH_4^+) en nitrite suivant la réaction suivante :



En générale, on considère que les micro-organismes responsables de ce processus sont *Nitrosomonas europaea*, *Monodella* et *Nitrosococcus*.

D'autres micro-organismes tel que *Nitrosospira*, *Nitrosocystis* et.

La deuxième étape (la nitratacion) consiste en l'oxydation des nitrites en nitrates:



Les micro-organismes généralement reconnus comme étant responsables de ce processus sont Nitrobacter Winogradsky et Nitrocystis à côté d'autres micro-organismes tel que Nitrosococcus, Nitrospira, et Nitrobacter agilis. L'existence de Nitrobacter agilis comme espèce distincte de Nitrobacter Winogradsky est aussi sujette à des controverses.

Des équations ① et ②, l'équation globale de nitrification s'écrit comme suit :



Deux importants résultats peuvent être mis en évidence à partir des équations ①, ②, et ③. En premier lieu la nitrification exige une grande quantité d'oxygène, environ 4,5 kg d'O₂ pour 1 kg NH₃-N oxydé.

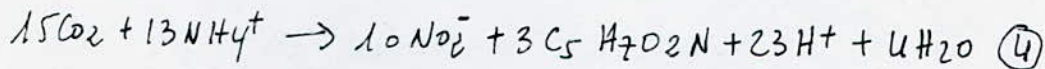
En second lieu, la première étape de la nitrification ① produit des protons (H⁺) qui acidifie le milieu. Par conséquent dans un système non contrôlé contenant suffisamment d'ammoniaque, le pH peut décroître jusqu'à une valeur entraînant l'arrêt de la nitrification.

Pendant la nitrification autotrophe, la source d'énergie est assurée par l'ammoniaque ou le nitrite, l'accepteur d'électrons est l'oxygène, la source d'azote l'ammoniaque et la source de carbone le CO₂ et HCO₃⁻. Le CO₂ provient de l'oxydation hétérotrophe des éléments carbonés, par réaction de l'acide produit lors de la nitrification avec le carbonate ou le bicarbonate présent dans l'eau usée et du CO₂ présent dans l'air utilisé comme apport d'oxygène.

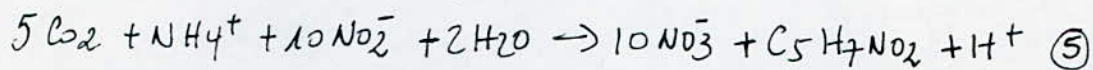
Le CO_2 contenu dans l'air ne représente que 0,05% en poids, ce qui implique que lors du procédé de nitrification s'il y a absence de procédé hétérotrophe, il est nécessaire d'ajouter une autre source de carbone par exemple du carbonate ou bicarbonate dans l'eau usée en prenant soin de contrôler le pH à l'aide du pH-mètre. La nitrification exige 7,14 mg de CaCO_3 / mg N- NH_3 oxydé.

La masse bactérienne ou biomasse peut être représentée approximativement par la formule $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$, formule développée au centre de recherche en eau W.R.C pour décrire la croissance bactérienne par rapport à chaque étape de la nitrification (1971).

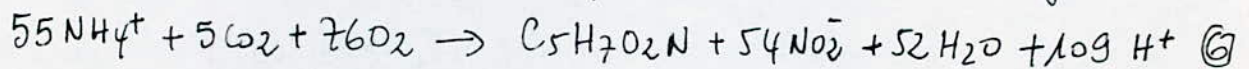
Pour la première étape de la nitrification, on peut écrire la réaction suivante :



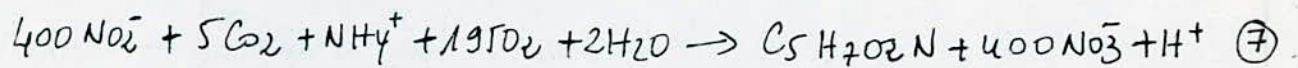
Pour la deuxième étape :



L'équation globale pour la première étape de la nitrification et la synthèse de la biomasse peut être écrite sous la forme :



Pour la deuxième étape on a :



En tenant compte de ces deux équations, l'oxydation autotrophe de 1 kg $\text{NH}_3\text{-N}$ produit environ 150g de biomasse durant la première étape et 20g environ pour la deuxième étape.

La biomasse nitrifiante ne peut utiliser que l'azote minéralisé,

Le principal problème affectant la nitrification biologique est le taux de croissance des micro-organismes autotrophes qui est très long par rapport aux taux de croissance des micro-organismes hétérotrophes engagés dans l'élimination des composés carbonés.

La vitesse de réaction par conséquent est lente. Donc pour maintenir une population de micro-organismes dans un système de croissance, il est nécessaire que le temps de rétention de la biomasse ou des boues soit très long pour éviter l'élimination des micro-organismes nitrifiants du système, ainsi qu'un bon rendement de dénitrification.

Le temps de séjour (ou de contact) entre la biomasse et l'eau usée doit être supérieur au temps de contact exigé.

Les micro-organismes nitrifiants sont susceptibles à de nombreux facteurs environnementaux entraînant l'inhibition de la nitrification aux faibles températures, aux faibles concentrations en oxygène dissous par un grand nombre de substances organiques ou inorganiques.

11. Cinétique de la nitrification

La cinétique de croissance des bactéries nitrifiantes est généralement décrite par la relation de Monod reliant entre le taux de croissance spécifique μ et la concentration

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \quad \text{en substrats}$$

avec K_s , la concentration pour laquelle le taux de croissance

prend la moitié de sa valeur maximale.

De nombreux facteurs présentent une influence sur la nitrification particulièrement l'oxygène dissous, le pH, la température, la présence des composés toxiques, la concentration en substrat, le temps de séjour et l'âge des boues.

* Influence du pH sur la nitrification

Comme tous les processus biologiques, la nitrification est fortement influencée par le pH. Le milieu le plus favorable aux bactéries nitrifiantes est légèrement alcalin. Les ions bicarbonates sont consommés de deux manières :

- pour la synthèse de bactéries nitrifiantes.
- par neutralisation des protons produits pendant la première étape de nitrification.

Le taux de nitrification décroît avec le pH.

* Influence de l'oxygène dissous

L'oxygène joue un rôle essentiel dans le métabolisme aérobie producteur d'énergie.

Aux faibles concentrations, la nitrification est significativement influencée. Des chercheurs ont trouvé que la nitrification est inhibée pour des concentrations en oxygène dissous de plus de 60 g/cm^3 . Steunstrom et Podusheva (1989) suggèrent que ces variations dans le rapport concernant les effets de l'oxygène dissous pourraient être dues à des effets combinés de l'oxygène

et la limite du substrat azoté

on a la relation suivante

$$(\mu - b) = \frac{1}{G} = \mu_m \frac{S}{K_S + S} \cdot \frac{C}{K_C + C} - b$$

Quand les concentrations en substrat azoté et en oxygène sont limités, $(\mu - b)$ peut être sérieusement réduit et un âge de boue élevé est nécessaire pour achever la nitrification.

* Influence des substrats

Comme pour toutes les réactions biologiques, l'influence de la concentration peut être traduite par une loi de Monod

$$\frac{dx}{dt} = (\mu - b)x \quad \text{et} \quad \frac{ds_i}{dt} = -\frac{\mu}{Y}x \quad (a)$$

$$\text{avec } \mu = \mu_m \pi_i \frac{S_i}{K_i + S_i} \quad (b)$$

S_i étant le substrat (DBO, N-NH₃, TAC, MVS etc...)

Pour N-NH₃, l'équation (b) s'écrit :

$$\frac{-d(N-NH_3)}{dt} = \frac{\mu_m}{Y} \cdot \frac{N-NH_3}{K_{N-NH_3} + N-NH_3} \cdot \frac{C}{K_C + C}$$

Avec un taux de croissance maximale exprimé en jour⁻¹

La concentration optimale du phosphore varie beaucoup selon les auteurs entre 350 mg/l et 5 mg/l. Pour l'eau potable 0,1 mg/l est suffisante

* Influence de l'âge des boues

Les autotrophes ayant un taux de croissance beaucoup plus faible que les hétérotrophes, il y'aura un âge de boue critique au dessous

duquel les bactéries nitrifiantes seront chassées plus vite qu'elle ne se multiplient.

L'âge des boues est égal à $G = \frac{1}{\mu - b}$, μ étant le taux de croissance global de la boue.

- si $\frac{1}{G} < \mu - b$: les bactéries nitrifiantes seront retenues dans le réacteur et la nitrification se produira.
- si $\frac{1}{G} = \mu - b$: c'est l'âge critique pour lequel la croissance des bactéries équilibre celles éliminées.
- si $\frac{1}{G} > \mu - b$: les bactéries nitrifiantes produites sont en nombre inférieures à celles éliminées. Le taux de nitrification est alors très faible.

On a l'influence de l'âge des boues sur le rendement de nitrification (voir la courbe N°1)

12. Expression globale de la cinétique de nitrification

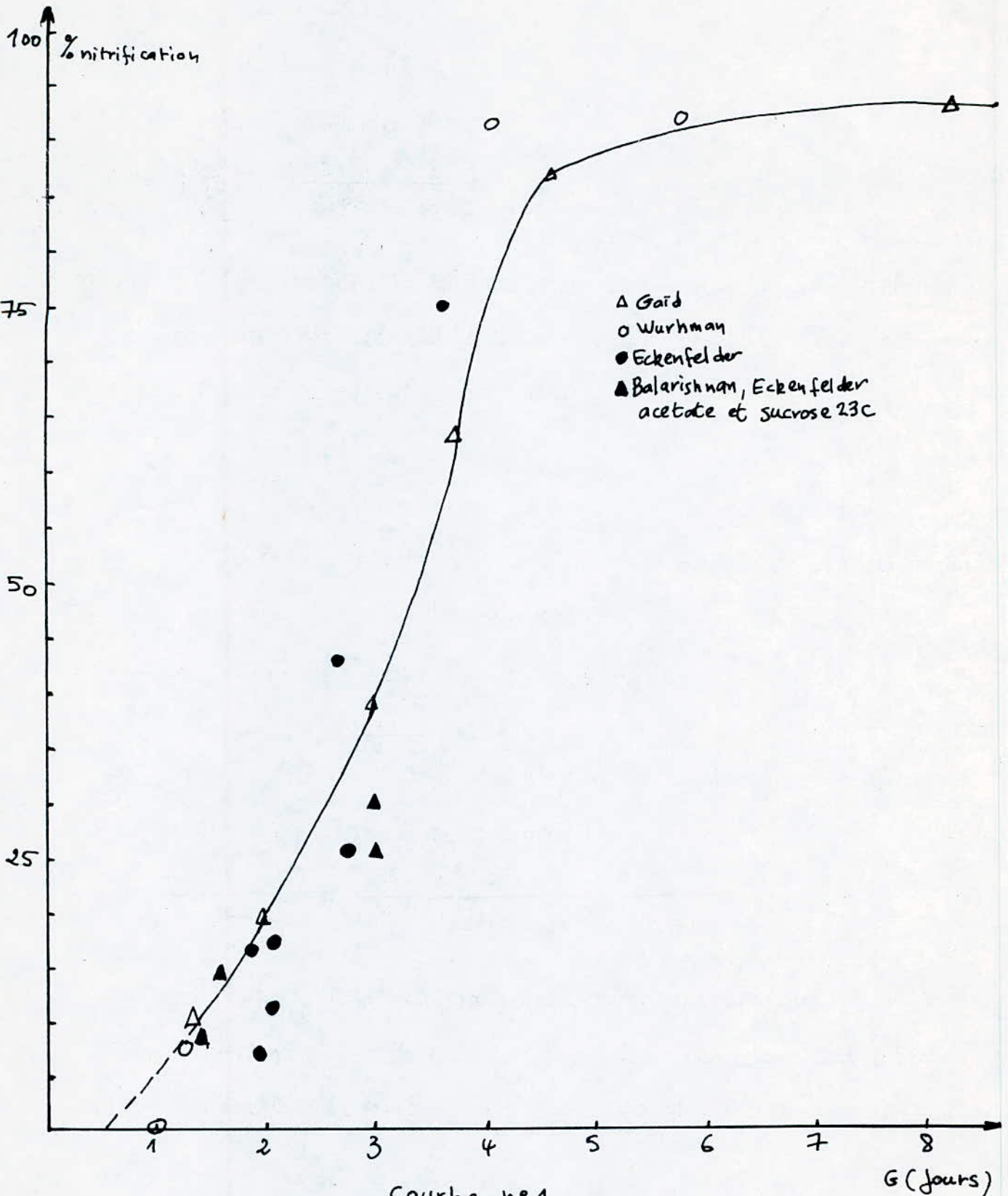
Le taux de croissance dépend au moins de tous les facteurs examinés. Le taux de croissance de Nitrobacter étant plus élevé que celui des Nitrosomonas. C'est ce dernier qui fixe la cinétique de nitrification

$$\mu = \mu_m \frac{N - NH_3}{K_{N-NH_3} + N - NH_3} \cdot \frac{C}{K_C + C}$$

Les influences de la température et du pH peuvent être ajoutées on obtient ainsi pour Nitrosomonas en 8 et 30° et pour un pH < 7,2

$$\mu = 0,28 (1 - 0,833(7,2 - \text{pH})) \frac{N - NH_3}{10^{(0,05T - 1,158)} + N - NH_3} \cdot \frac{C}{1,3 + C} \exp\{0,098(T - 10)\}$$

(MARTIN. 1979)



Courbe n°1
 Variation de la nitrification en
 fonction de l'âge des boues.

La vitesse de nitrification depend du nombre de micro-organismes nitrifiants presents dans le systeme.

La vitesse de nitrification est independante de la teneur en oxygene. La proportion de bacteries developpees dans les boues depend de la quantite de matieres carbonées et azotées

Le rapport entre les heterotrophes et les bacteries nitrifiantes developpees dans les boues est donnee approximativement par la relation :

$$\frac{\text{heterotrophes}}{\text{nitrifiantes}} = \frac{Y(\text{het})}{Y(\text{nit})} \times (\text{DBO}/\text{TKN})$$

ou Y_i est le coefficient de rendement cellulaire approprié.

La fraction de bacteries nitrifiantes f_x dans les boues est donnee par la relation

$$\frac{1}{f_x} = 1 + \frac{Y(\text{het})}{Y(\text{nit})} (\text{DBO}/\text{TKN})$$

en prenant $Y(\text{het}) = 0,55 \text{ kg boue/kg DBO}$

$Y(\text{nit}) = 0,15 \text{ kg boue/kg TKN}$

2e) Dénitrification hétérotrophe

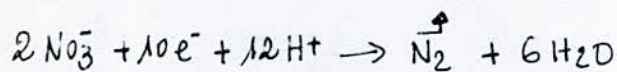
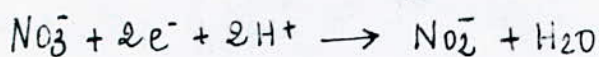
La dénitrification est le nom donne aux procedes par lesquels les nitrites et les nitrates sont reduits sous la forme d'azote gazeux N_2 et, en plus faibles proportions en oxyde nitreux NO_2 .

La population des micro-organismes dénitrifiants dont la plupart sont heterotrophes, est composee de plusieurs especes :

Pseudomonas, Achromobacter, Bacillus et Micrococcus etc....

Cette grande variété complique l'étude de la cinétique.

Les réactions mises en jeu dans la dénitrification sont les suivantes :



Le nitrate se comporte comme un accepteur d'électrons.

Les micro-organismes hétérotrophes exigent pour leur développement une source de carbone organique.

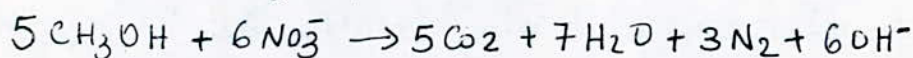
Plusieurs substrats oxydables peuvent être utilisés par les micro-organismes parmi lesquels : les carbohydrates, les acides organiques, le méthanol, le glucose.

Le méthanol est la source la plus fréquemment utilisée pour le traitement des eaux usées mais l'addition d'un tel composé pour le traitement des eaux potables est à proscrire car le méthanol est toxique pour l'homme.

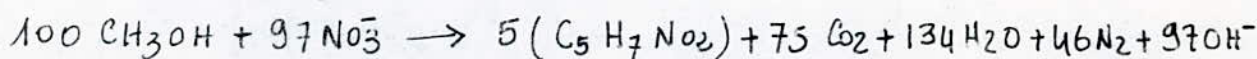
Les travaux de Gaid (1974) sur la dénitrification hétérotrophe conduisent aux équations suivantes, dans lesquelles il ne tient pas compte de la formation d'oxydes d'azote.

Le méthanol.

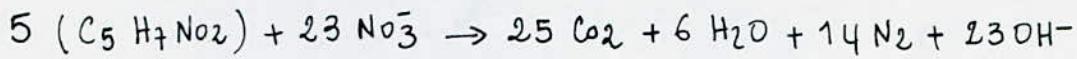
a) Besoins énergétiques :



b) Synthèse cellulaire :

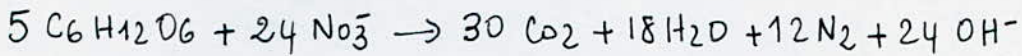


c) Respiration endogène



Glucose

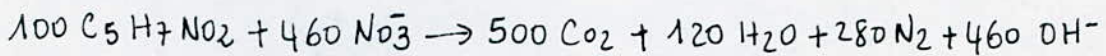
a) Besoins énergétiques :



b) Synthèse cellulaire :

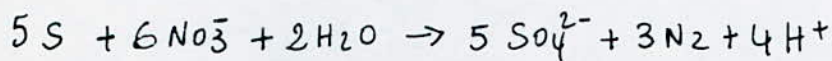


c) Respiration endogène

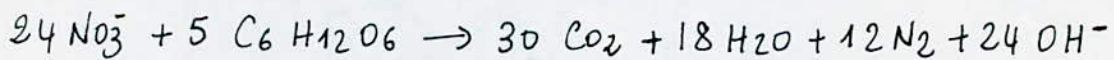


La dénitrification peut aussi s'effectuer avec quelques substrats inorganiques

Par exemple oxydation anaérobie du soufre par *Thiobacillus* dénitrifiants :



La production d'énergie pendant la dénitrification est élevée néanmoins plus petite que celle produite par la nitrification. La présence de glucose, la réaction est la suivante :



Il est à signaler qu'une augmentation importante de glucose (400 à 500 mg/l) dans le milieu provoque une diminution du taux de croissance du fait de la forte pression osmotique du milieu.

Cinétique de la dénitrification

La cinétique de la dénitrification peut être représentée par le modèle de Monod tenant compte des deux substrats :

$$M = \mu_m \frac{S}{K_S + S} \cdot \frac{N_t}{K_{N_t} + N_t}$$

ou S et N_t sont les concentrations des substrats organiques et azotés
 K_S et K_{N_t} les coefficients de demi-saturations respectives.

Le coefficient de saturation pour les nitrates est très faible de l'ordre de $0,1 \text{ g NO}_3\text{-N/m}^3$ (Christensen et Harremoes 1977)

C'est pour cela qu'on considère que la dénitrification est généralement indépendante de la concentration en nitrates.

La vitesse de dénitrification dépend énormément de la nature du substrat organique et de sa concentration.

Le rapport (carbone/azote) donne les quantités de substrat qui doivent être présentes ou ajoutées pour éliminer la quantité de nitrate voulue.

La cinétique de dénitrification dépend aussi des facteurs physiques du milieu tel que la température, le pH, l'oxygène dissous.

* Influence de la température

La dénitrification biologique est très sensible à la température. L'effet de la température est donné par l'équation :

$$\mu_m (T^\circ\text{C}) = \mu_m (20^\circ\text{C}) M_T^{(T-20)}$$

$\mu_m (T^\circ\text{C})$ est le taux de croissance spécifique maximal à $T^\circ\text{C}$

$\mu_m (20^\circ\text{C})$ est le taux de croissance spécifique maximal à 20°C

M_T = Coefficient de température, pour les systèmes fixés

$$M_T = 1,07$$

Il y a cessation du phénomène de dénitrification à 3°C

Au températures élevées, il semble que la dénitrification puisse s'effectuer jusqu'à 65 - 75°C et cesse à 85°C.

* Influence du pH

Le pH optimale pour la dénitrification varie avec le type de micro-organismes présents. La dénitrification a lieu pour des valeurs de pH comprises entre 4 et 9,5.

À pH acide, il y a formation d'oxyde nitreux (NO) en grande proportion.

À pH = 7 on a formation de N₂O mais il est réabsorbé et réduit en N₂ gazeux (DELWICHE et Brgant, 1976)

* Influence de l'oxygène dissous

Du point de vue biochimique, la dénitrification s'effectue en anoxie.

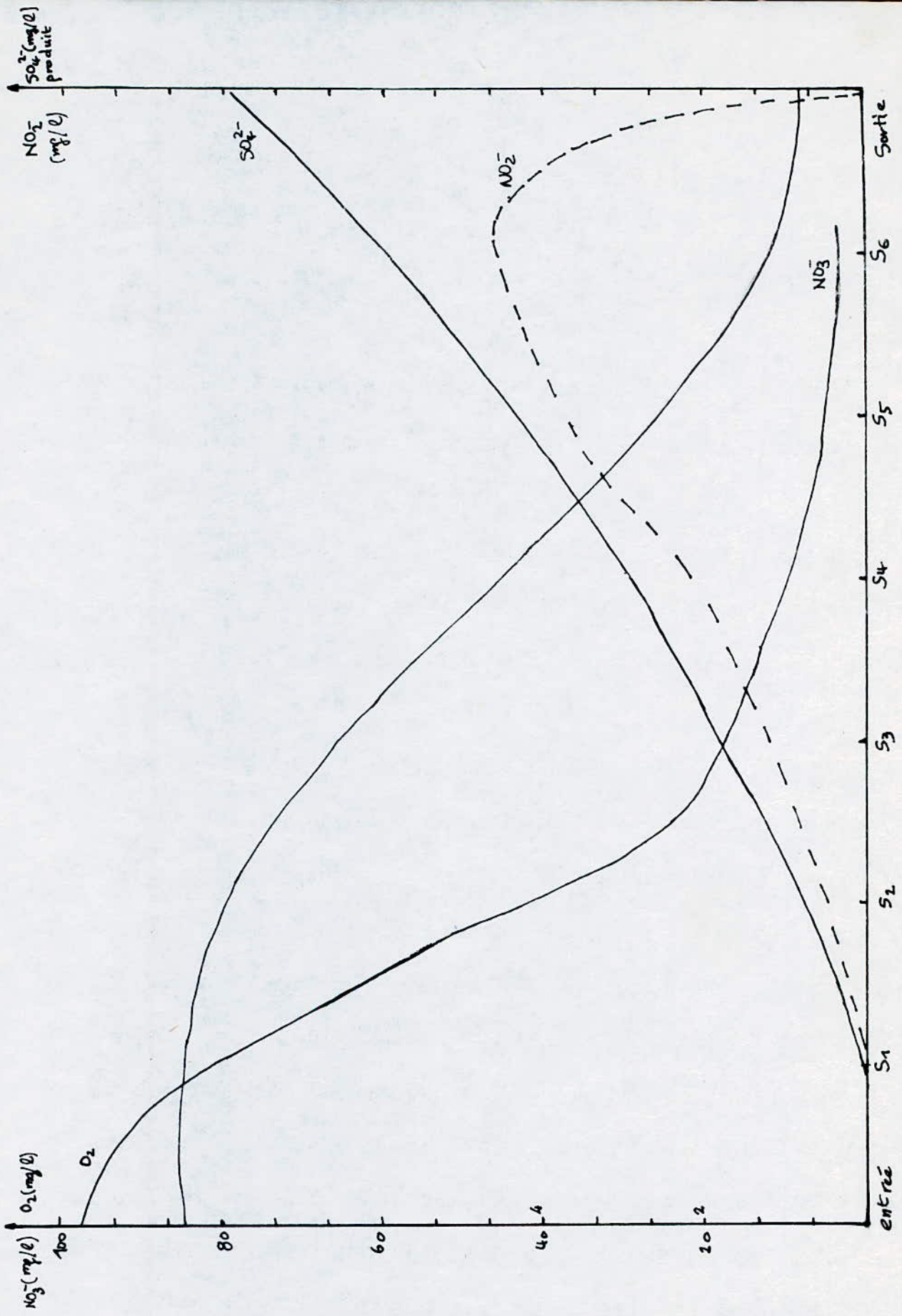
Des auteurs ont observé une réaction à condition que la concentration en oxygène dissous soit inférieure à 6 mg/l.

Des essais de laboratoire sur la réduction des nitrates en présence de soufre par *Thiobacillus denitrificans*, ont permis de mettre

en évidence le rôle inhibiteur de l'oxygène dissous (Voir courbe 2)

La réduction des NO₃ ne semble pas commencer tant que l'oxygène est présent dans le milieu. Il devient l'accepteur final d'électrons et

la respiration des nitrates ne se fait pas. Dans le cas d'une dénitrification sur lit fixe composé de soufre, la présence de l'oxygène dissous dans l'eau conduit à une pénalisation dans l'efficacité du lit qui se traduit par une réduction de la hauteur



Courbe n° 2

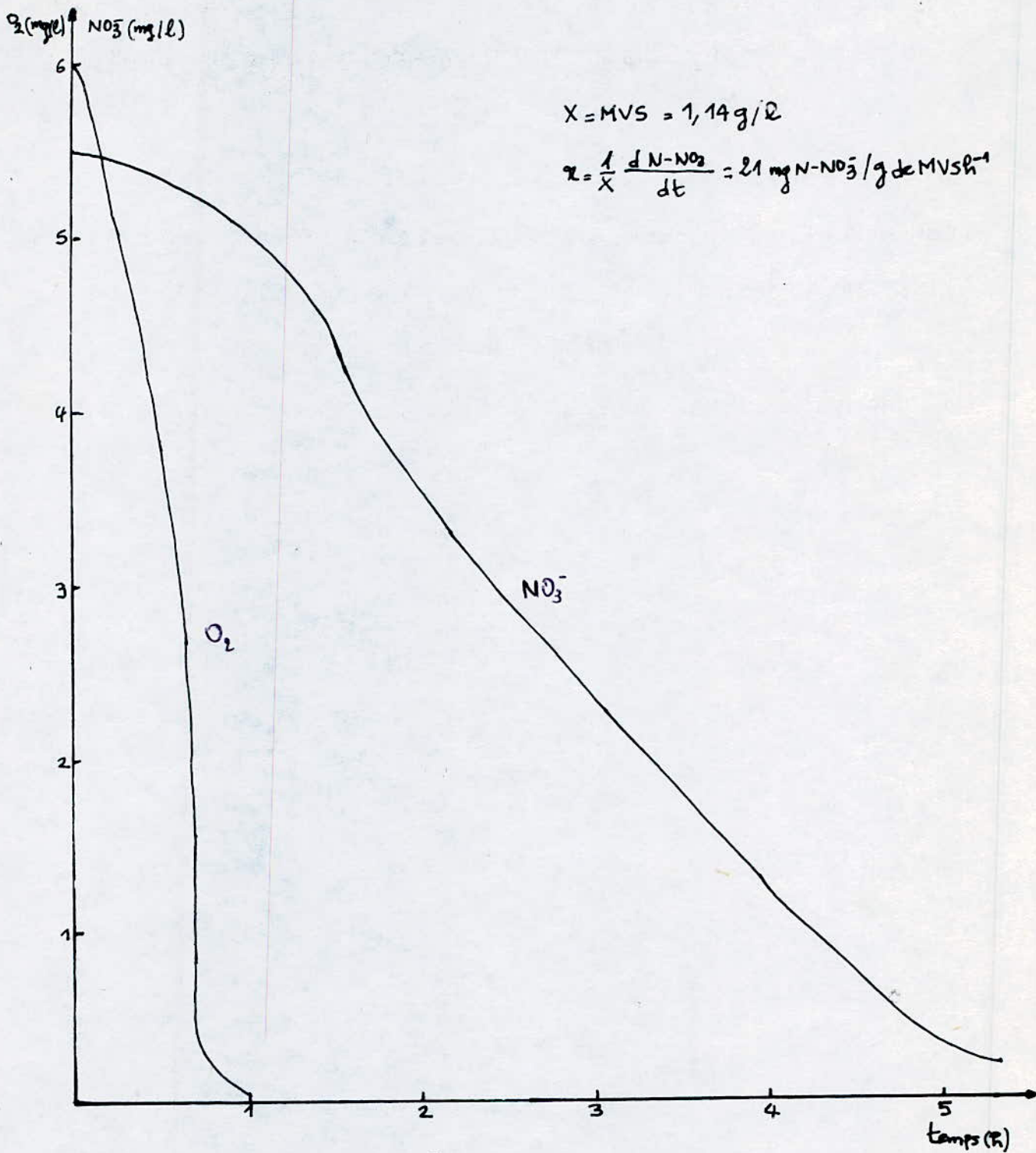
Profil colonne fonctionnant en dénitrification par *thiobacillus dénitrificans* sur lit à base de soufre.

du matériau. Ainsi dans la colonne, les trente premiers centimètres sont peu efficaces au niveau de la dénitrification. Ils servent à éliminer l'oxygène dissous (voir courbe 3)

À côté de l'oxygène dissous, des valeurs de pH extrêmes et des hautes températures, plusieurs substrats inhibent la dénitrification.

D'après (Francis et Menche, 1981) de fortes concentrations en NH_3 et $0,5 \text{ g/m}^3$ de Nickel inhibent la dénitrification

Le méthanol n'est pas inhibiteur jusqu'à des concentrations de l'ordre de 15 kg/m^3 .



Courbe n°3
 Influence de l'Oxygène dissous lors de la
 dénitrification autotrophe par
 Thiobacillus Dénitrifiants
 (N. HAIDER, Rapport DEA, Rennes 1983).

CHAPITRE 2

PARTIE

EXPERIMENTALE

II. Étude en laboratoire de la nitrification et de la dénitrification sur colonne contenant un support non consommable.

Ce travail se propose l'étude de la mise en œuvre sur maquettes de laboratoire du phénomène de nitrification d'une part et de dénitrification d'autre part.

II.1 Matériels et Méthodes

II.1.1 Dispositif expérimental

Pour la mise en œuvre de la nitrification suivi de la dénitrification, les essais sont réalisés sur des colonnes immergées à flux descendant.

Les caractéristiques des colonnes sont :

Nitrification :

Hauteur du support :	0,90 m
Section :	$0,78 \text{ m}^2$
Volume :	7 l

Dénitrification :

Hauteur du support :	0,90 m
Section :	$0,78 \text{ m}^2$
Volume :	7 l

II.1.2 Préparation de l'innoculum

Le démarrage des colonnes en système biologique a nécessité une mise en pré-culture de celles-ci.

Le dispositif expérimental est constitué de deux bassins ① et ② fonctionnant en semi-continue et permettant de sélectionner les bactéries de la nitrification autotrophe d'une part et de la dénitrification hétérotrophe d'autre part.

Les caractéristiques des boues sont les suivantes :

Nitrification :

- Âge des boues : 15 j
- pH : 8
- Oxygène dissous : 4 mg/l

Dénitrification :

- Âge des boues : 7 j
- pH : 7,5
- Oxygène dissous : 3,5 mg/l

Les boues proviennent de la station d'épuration d'eaux usées urbaines de KOLEA. Elles ont été prélevées au niveau du bassin d'aération et ont été exploitées 2h après leur prélèvement. La population bactérienne y est très diversifiée. Elles sont alimentées par un milieu spécifique aux bactéries de la nitrification autotrophe dans le bassin ① et par un milieu spécifique aux bactéries de la dénitrification hétérotrophe dans le bassin ②.

Un apport d'oxygène dans le milieu nitrifiant est obligatoire.

L'aération est effectuée au moyen d'un compresseur.

Un suivi des concentrations de l'ammonium et des nitrates dans les deux bassins est effectué. Quand elles deviennent insuffisantes nous renouvelons le milieu en prenant soin d'effectuer deux à trois lavages des boues de manière à éliminer l'accumulation des nitrites intermédiaires de la nitrification et également de la dénitrification.

En fin de phase de culture, nous avons une consommation de la totalité du substrat (ions ammoniums pour la nitrification et ions nitrates pour la dénitrification) en approximativement 24 heures. Nous pouvons donc déterminer la consommation moyenne et, de ce fait, estimer le débit lorsque nous passons au dispositif en continu.

En nitrification, la consommation totale en ions ammoniums est de 900 mg/l de NH_4^+ en 24 heures. Soit pour un taux de MVS de 2 g/l , une consommation de l'ordre de $19 \text{ mg de NH}_4^+ / \text{g MVS} \cdot \text{h}$. Pour une alimentation contenant 30 mg de NH_4^+ et une consommation moyenne de $38 \text{ mg de NH}_4^+ / \text{h}$, le débit d'alimentation est estimé à $1,3 \text{ l/h}$.

Le volume dans le bassin étant $V = 5 \text{ l}$, le temps de séjour t_s sera égal à 4 h .

En dénitrification, la consommation totale en ions nitrates est de 1200 mg/l de NO_3^- en 24 heures. Soit pour un taux de MVS de $2,5 \text{ g/l}$, une consommation de $50 \text{ mg de NO}_3^- / \text{h}$ ou $20 \text{ mg de NO}_3^- / \text{g de MVS} \cdot \text{h}$. Pour une alimentation contenant 100 mg/l de NO_3^- , et une consommation

moyenne de $50 \text{ mg de NO}_3/\text{h}$, le débit d'alimentation en dénitrification est estimé à $0,5 \text{ l/h}$

Le volume du bassin étant égal à 5 l/h , le temps de séjour sera égal à 10 h

Les deux bassins séparés fonctionnant en continu, permettant le développement de la population bactérienne spécifique aux deux fonctions (nitrification et dénitrification). Ils contiennent respectivement les boues provenant des bassins semi-continu nitrifiants et dénitrifiants. Un agitateur mécanique permet le mélange intime des constituants. Un tube permet l'évacuation vers un decanteur du mélange eau et boues. Le recyclage des boues est effectué manuellement. Nous effectuons 2 à 4 purges/jour. Un dosage en entrée et en sortie du pilote, nous renseigne sur le pourcentage de production de nitrates d'une part et de leur élimination d'autre part.

II 1.3 Mise en pré-culture des colonnes.

Les colonnes ont nécessité une mise en pré-culture avant passage en régime continu. nous introduisons dans les colonnes nitrifiantes et dénitrifiantes respectivement 200 à 250 ml d'inoculum préalablement préparé selon le processus cité au paragraphe précédent. La colonne fonctionne en système fermé. Le milieu est renouvelé toutes les 24h. La population de micro-organismes se développe et se fixe peu à peu à la surface des grains de gravier. En système continu, l'état d'équilibre

est atteint au bout d'une semaine à 15 jours.

II 1.4. Matériau.

Le support utilisé est un matériau non consommable composé de gravier. La granulométrie moyenne est de 2 à 5 mm.

II 1.5 Alimentation

Les alimentations sont de deux types :

- minéral pour la nitrification autotrophe. Pour un litre d'eau du réseau de distribution de la ville d'Alger, nous avons la composition suivante :

Alimentation Continu		Alimentation discontinu (selection autotrophe)	
Constituants	Concentrations (en mg/l)	Constituants	Concentrations (en mg/l)
NaHCO_3	500	NH_4Cl	500
KH_2PO_4	1,5	$\text{MgCl}_2, 6\text{H}_2\text{O}$	500
$(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$	80	KH_2PO_4	2000
		$(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$	2000
		$\text{FeSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$	10
		NaHCO_3	1000
		pH	7-8

- * Les oligo-éléments sont apportés par l'eau du réseau de distribution
- * Le pH est ajusté avec de l'hydroxyde de sodium
- Pour la dénitrification hétérotrophe, la composition pour un litre d'eau d'alimentation de la ville d'Alger est la suivante:

Alimentation continu		Alimentation discontinue (Sélection hétérotrophe)	
Constituants	Concentrations (mg/l)	Constituants	Concentrations (en mg/l)
KNO_3	163	NH_4Cl	500
KH_2PO_4	1,5	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	500
Glucose	1000	KH_2PO_4	2000
		KNO_3	1000
		$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	10
		Glucose	1000

- * Les oligo-éléments sont apportés par l'eau du réseau de distribution

II.2. Exploitations des résultats

II.2.1 Sélection de la biomasse nitrifiante

Le bassin ① contient un mélange de 3l de boues et 2l d'alimentation

discontinue (selection autotrophe). Le schéma du dispositif expérimental est représenté sur la figure 1.

L'expérience a duré 14 jours. Plusieurs paramètres intervenant dans le mécanisme n'ont pu être contrôlés tels que la concentration en oxygène dissous et la température.

L'évolution du pH, des nitrites, des nitrates et de l'ammonium a été suivie durant toute la phase expérimentale. Les différentes mesures effectuées sont reportées sur le tableau 1. L'évolution en fonction du temps de NH_4^+ , NO_2^- , et NO_3^- est représentée sur la figure 2.

Interpretation des résultats

À partir des courbes de la figure 2, on remarque que les 3 premiers jours l'ammonium forme un palier, l'apparition des nitrites est très faible. Ces 3 jours correspondent à une phase d'adaptation des micro-organismes au milieu de culture. À partir du 3^e jour, on peut observer un abaissement en ammonium qui atteint environ 411 mg/l. Le dernier jour les nitrites apparaissent en grande quantité stimulant ainsi la nitrification.

Des chutes de pH sont aussi observées durant le processus. Il est ajusté avec du NaOH 0,1 N à raison de 10 ml/l de mélange.

Nous sommes donc en présence de bactéries nitrifiantes entre autres Nitrosomonas et Nitrobacter.

II.2.2 Selection de la biomasse dénitrifiante.

Dispositif (après)

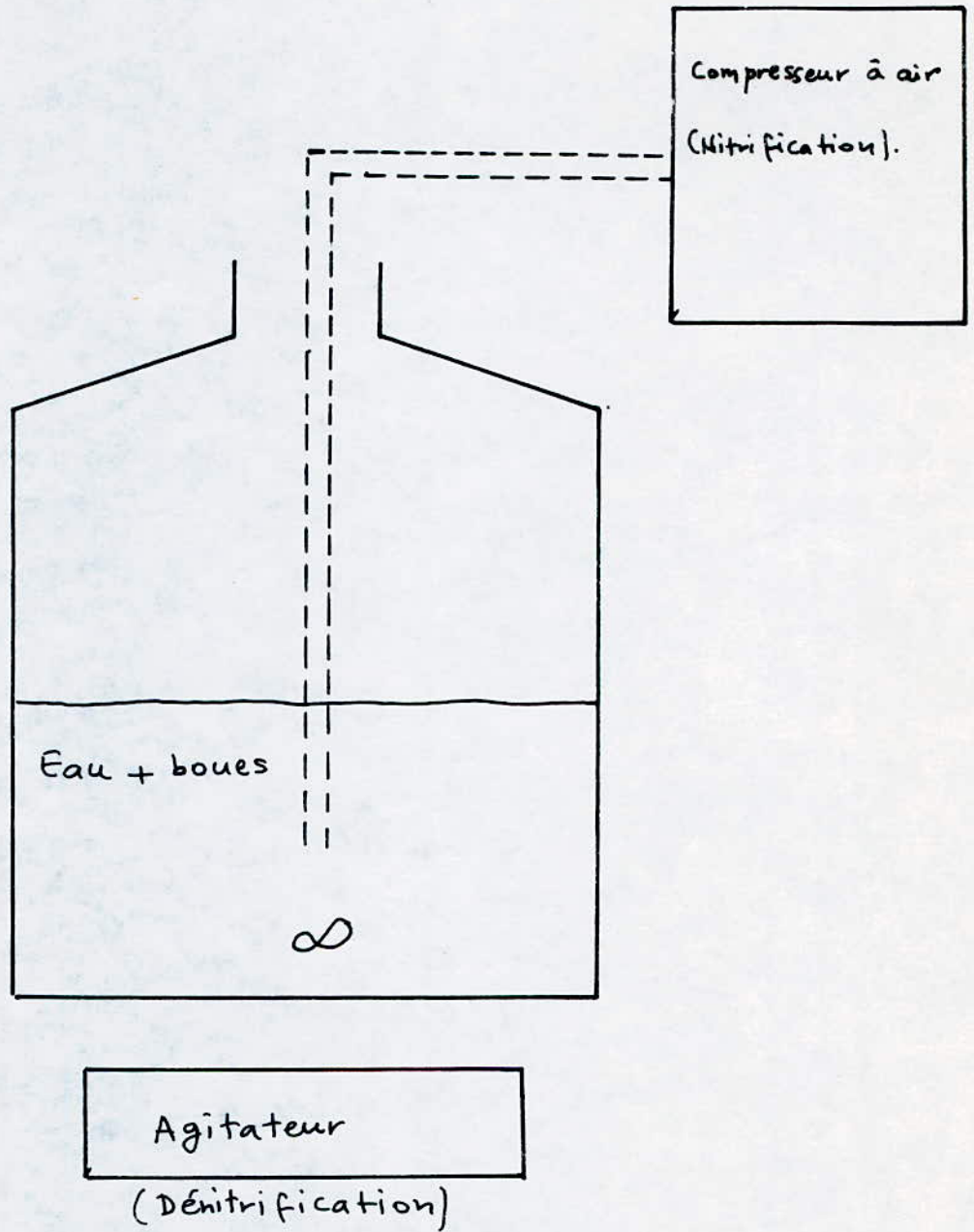


Fig. 1. Dispositif expérimental en système discontinu.

Jours	NH_4^+ (mg/l)	NO_2^- (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	pH
1	905,350	0,400	0,096	8,0
2	896,563	1,225	1,435	7,9
3	886,607	5,470	2,706	7,5
4	850,115	15,000	5,060	7,0
5	792,005	32,300	14,935	6,4
6	721,605	47,210	23,921	6,2
7	679,715	77,103	35,015	7,4
8	636,605	135,000	42,155	6,7
9	602,051	210,000	51,562	7,0
10	572,560	265,600	59,935	6,4
11	540,000	297,500	67,505	7,5
12	521,756	340,000	72,165	6,2
13	508,920	369,750	79,935	7,4
14	493,705	394,855	91,632	7,1

Tableau 1. Evolution en discontinu des entités

NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , pH.

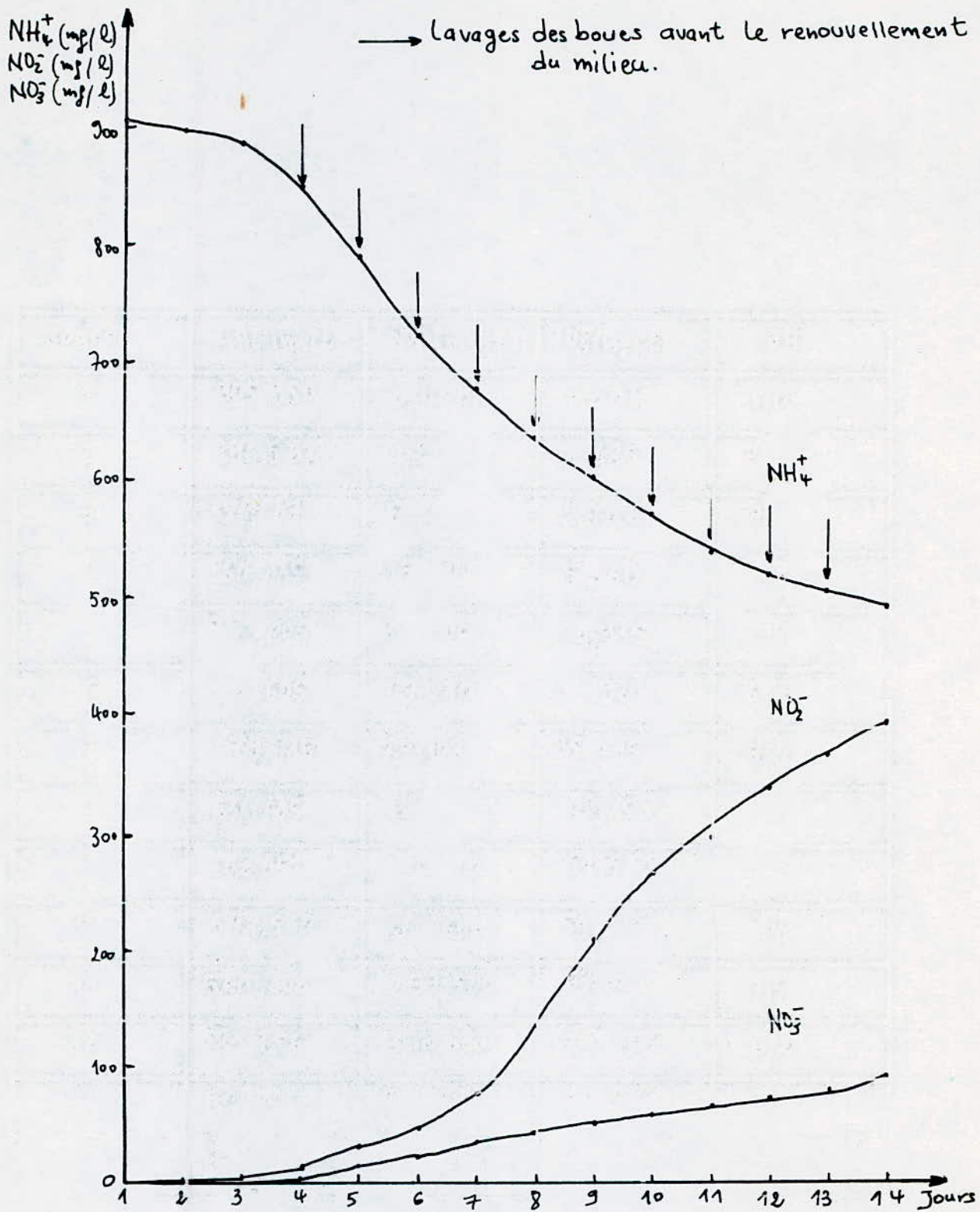


Fig2. Evolution des nitrites, nitrates et ammoniums en fonction du temps.

Le bassin (1) contient 2 p de boues et 9 p d'alimentation dissoute
 (solution nutritive).

Le dispositif utilisé est similaire à celui de la nitrification autotrophe (figure 1) dans lequel on supprime l'apport d' O_2 fournit par le compresseur. L'expérience a duré 7 jours.

Le tableau 2 représente les résultats de l'évolution des nitrates, nitrites, ions ammoniacaux et du pH au cours de l'expérience. La figure 3 représente l'évolution de ces paramètres en fonction du temps.

Interprétation des résultats.

Sur la figure 3 la concentration en NO_3^- diminue en fonction du temps. Le premier jour celle-ci est de l'ordre de 320 mg/l, le 7^e jour elle atteint 120 mg/l soit un abattement d'environ 200 mg/l.

Une faible production de nitrites est observée les deux premiers jours et semble augmenter les jours suivants.

Une faible consommation d'azote ammoniacal laisse supposer que les bactéries en présence l'utilisent comme source d'azote les premiers jours. Cette consommation n'étant plus visible les jours suivants étant donné le renouvellement du milieu effectué chaque jour. On assiste à une accumulation de cette entité d'où la forte augmentation observée les jours suivants. Le pH pendant toute la durée de l'expérience n'a pas beaucoup varié, il est resté de l'ordre de 7.

Jours	NH_4^+ (mg/l)	NO_2^- (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	pH
1	23,20	0,572	320,00	7,00
2	50,30	0,630	270,00	7,05
3	47,20	0,822	250,25	7,15
4	72,50	0,592	232,50	7,00
5	46,70	0,824	192,62	7,00
6	52,20	0,782	151,35	7,00
7	45,30	1,460	120,00	7,20

Tab 2. Evolution des entités NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , pH en discontinu.

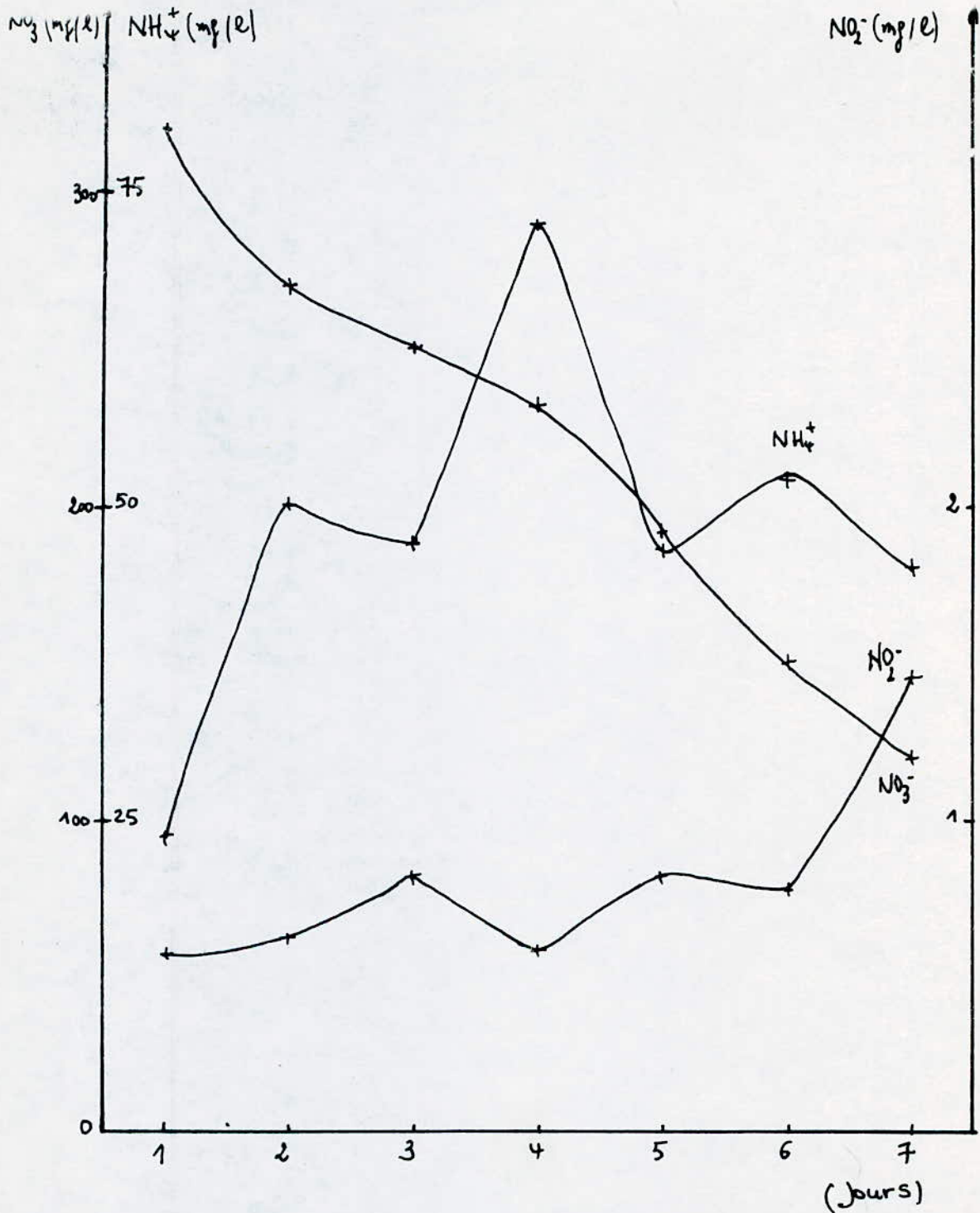


Fig3. Evolution des nitrates, nitrites et ammoniums en fonction du temps.

Le schéma du dispositif expérimental est représenté sur la figure 4.
Le bassin ① contient 5ℓ de mélange composé de 2,5ℓ de boues provenant de la culture en discontinu et 2,5ℓ d'alimentation continu.
La faible capacité de l'alimentation (10ℓ) nous a obligé à fixer le débit à 0,5ℓ/h correspondant à un temps de séjour de 9h. Durant les week-end, le débit est réglé à 0,238ℓ/h, soit un temps de séjour correspondant à 18h. La quantité de boues recirculée quotidiennement est de 500ml en moyenne.
L'expérience s'est déroulée dans des conditions climatiques très instables. On a observé des variations de température de 27°C à 5°C.
L'expérience s'est déroulée sur 22 jours et des dosages ont été effectués quotidiennement. Les résultats sont rassemblés sur le tableau 3.
La figure 5 représente l'évolution de la nitrification en fonction du temps.
La figure 6 représente la quantité de phosphates consommée par les micro-organismes.

Interpretation des résultats.

On observe à partir des courbes de la figure 5 que la quantité d'ammonium consommée croît chaque jour pour se stabiliser plus ou moins à partir du 14^e jour. Les baisses de température observées pendant ces jours peuvent expliquer ce ralentissement de l'activité des

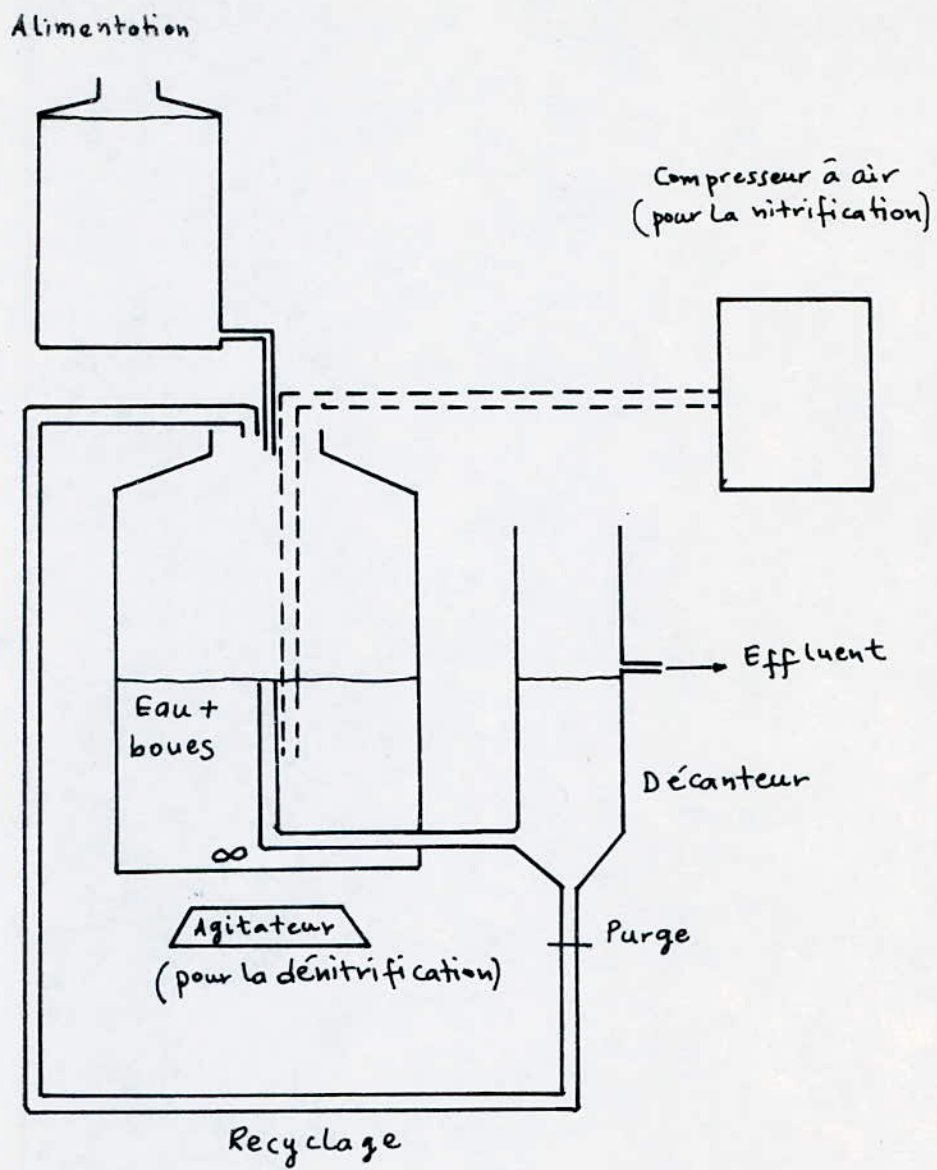


Fig 4. Dispositif expérimental pour la préparation de l'inoculum.

Entrée: Concentrations en mg/l					Sortie: Concentration en mg/l			
JOURS	NH ₄ ⁺	PO ₄ ³⁻	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	PO ₄ ³⁻	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁻
1	26,750	0,860	0,022	0,230	16,320	0,225	3,400	0,600
2	26,200	1,100	0,035	0,610	16,210	0,362	4,411	0,785
3	27,000	0,800	0,070	0,910	17,120	0,290	3,765	0,930
4	27,325	1,125	0,025	0,700	19,000	0,420	3,020	0,780
5	27,230	1,215	0,030	0,875	18,993	0,530	3,380	1,250
6	26,525	1,016	0,022	0,900	17,696	0,305	4,160	2,450
7	26,320	0,925	0,055	1,135	16,750	0,409	5,380	3,100
8	27,800	1,170	0,086	0,930	19,750	0,468	3,490	3,150
9	26,561	0,645	0,096	0,680	14,450	0,323	4,180	3,533
10	28,275	1,700	0,030	1,150	13,290	0,782	5,760	5,235
11	27,921	0,974	0,076	0,300	12,536	0,549	9,580	6,142
12	26,500	0,880	0,062	1,290	10,977	0,400	7,360	7,570
13	25,551	0,715	0,050	0,880	9,837	0,320	6,800	9,850
14	26,325	1,125	0,020	0,871	10,535	0,456	4,720	10,100
15	27,000	0,890	0,022	1,033	11,070	0,320	5,800	11,210
16	25,8000	0,836	0,045	0,500	10,191	0,328	3,000	9,230
17	26,000	1,006	0,030	1,290	10,365	0,370	3,780	9,812
18	26,625	0,912	0,026	1,350	10,619	0,314	3,172	10,354
19	27,375	1,080	0,040	0,530	10,540	0,440	1,460	10,721
20	26,250	1,796	0,035	1,130	10,506	0,815	0,672	9,213
21	25,350	0,710	0,096	0,460	9,633	0,200	1,420	9,420
22	27,139	0,889	0,036	1,050	10,856	0,339	1,000	9,020

Tab 3. Evolution en continu des entités NH₄⁺; NO₂⁻; PO₄³⁻; NO₃⁻.

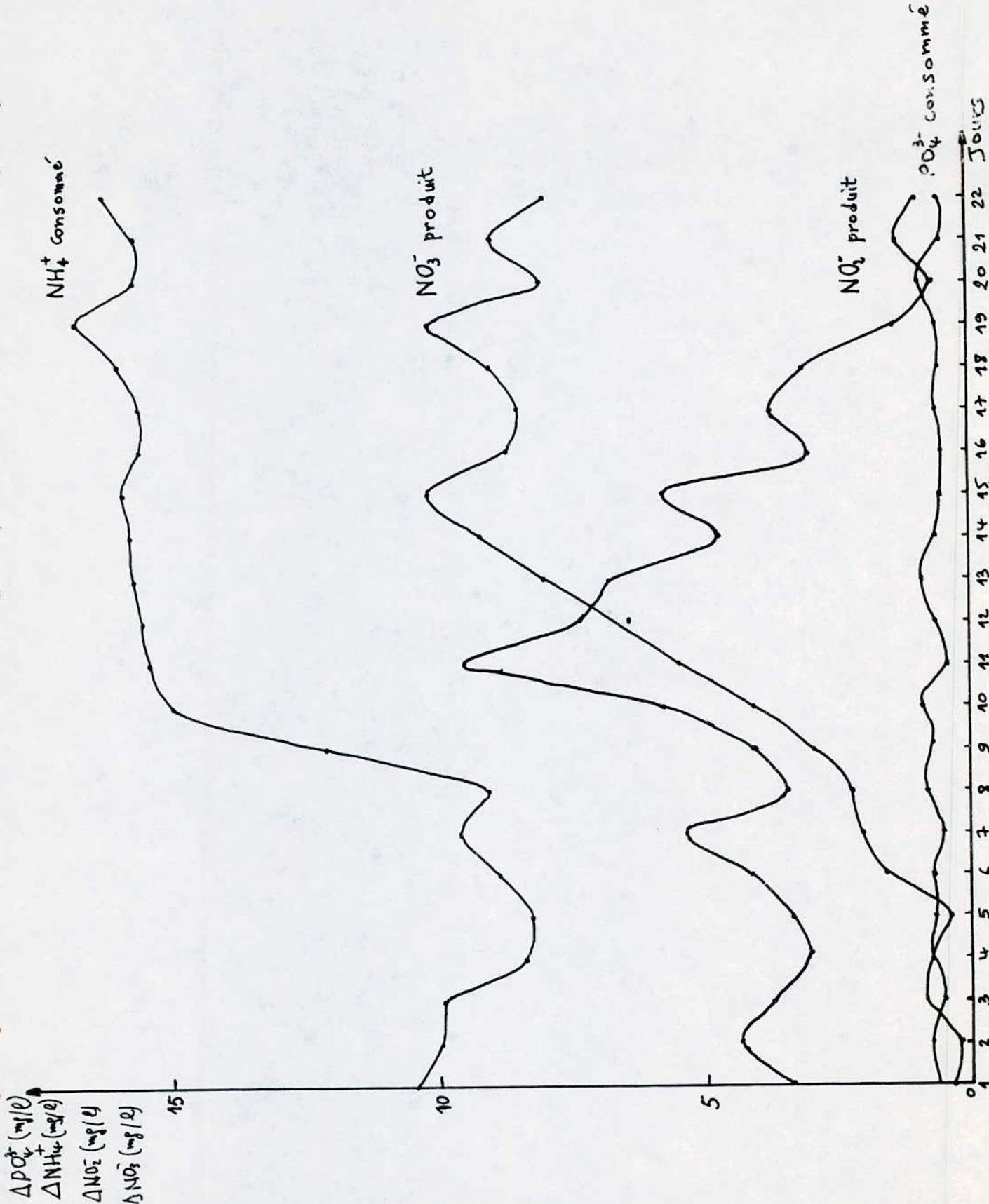


Fig 5. Evolution de la nitrification en fonction du temps.

bactéries responsables de la nitrification. Les nitrites passe par un maximum avant de commencer à disparaître. La concentration en nitrites le premier jour devrait être nulle, mais sur le graphique on voit qu'elle est d'environ 3,4 mg/l. Ceci est peut être due à une accumulation des nitrites dans la biomasse, conséquence d'un mauvais lavage de boues à la fin de la culture en discontinu. L'apparition des nitrites en grandes quantités stimule l'activité des bactéries responsables de la nitrification. La quantité de nitrates présente les 5 premiers jours, est inférieure à 1 mg/l et à partir du 6^e jour cette quantité commence à croître pour se stabiliser la dernière semaine aux alentours de 10 mg/l. Ceci est une conséquence directe de la stabilisation de la consommation d'ammonium. On observe une consommation moyenne en phosphate de de 0,6 mg/l. Le 11^e jour, on observe une consommation plus faible d'environ 0,4 mg/l qui est directement liée à l'apparition maximale des nitrites.

II.2.4 Essai de dénitrification en système discontinu.

Cette expérience a duré 12 jours. Le schéma du dispositif est représenté sur la figure 4.

Le bassin ② contient un mélange de 2,3 l de boues provenant de la culture discontinu avec 2,7 l d'alimentation, soit un total de 5 l

La quantité de boue recirculée chaque jour est d'environ 500 ml

Les mêmes raisons que pour l'essai de nitrification nous ont contraint

ENTRÉE : Concentration en mg/l				SORTIE : Concentration en mg/l				
Jours	NO_3^-	PO_4^{3-}	DCO	NO_2^-	NO_3^-	PO_4^{3-}	DCO	NO_2^-
1	98,59	1,10	680	13,40	65,75	0,40	420	5,20
2	98,24	1,02	672	13,65	58,30	0,54	382	7,80
3	98,67	1,01	654	15,82	47,60	0,72	328	8,92
4	99,03	0,99	661	12,59	35,10	0,58	354	4,95
5	97,78	0,10	650	10,82	31,21	0,34	327	4,32
6	97,76	0,96	622	10,98	29,93	0,41	283	4,19
7	98,49	0,99	594	10,39	26,73	0,42	242	3,60
8	98,99	0,99	573	10,45	24,32	0,38	204	3,23
9	98,56	0,98	545	10,42	23,69	0,34	185	3,19
10	97,28	1,10	522	10,38	23,20	0,39	164	2,82
11	97,86	0,98	506	9,76	22,80	0,41	105	2,01
12	96,08	0,97	490	9,62	18,32	0,38	106	1,81

Tab 4. Resultats des mesures en continu .

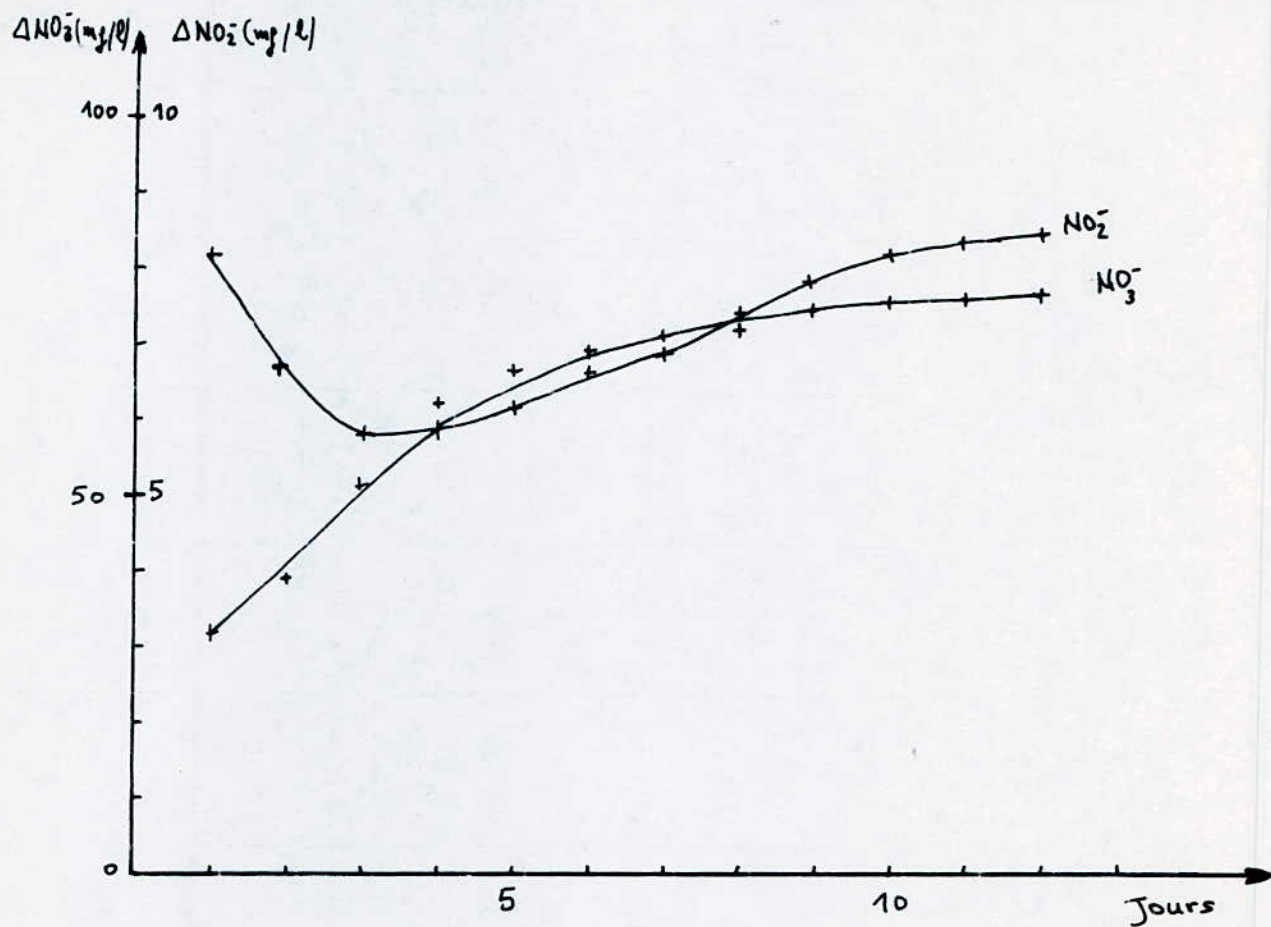


Fig 7a. Evolution de la dénitrification en fonction du temps.

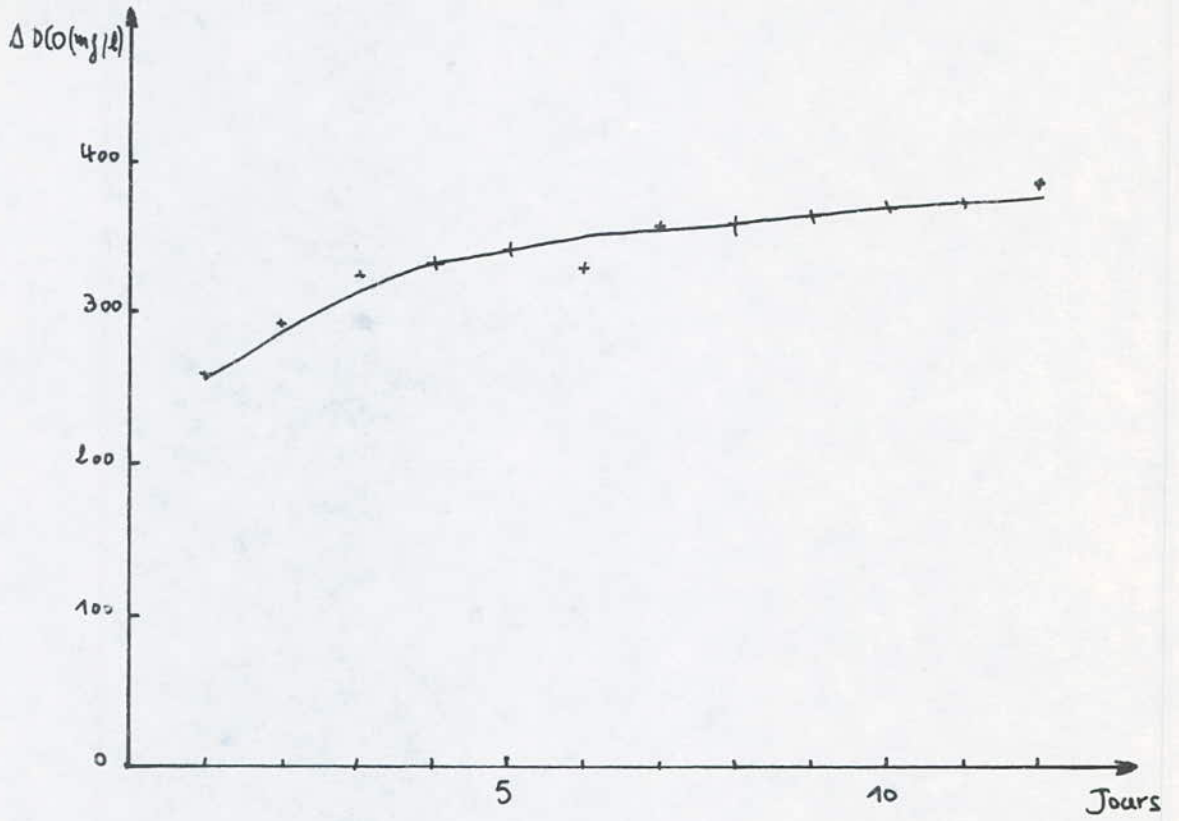


Fig 7b. Evolution de la $D(O)$ en fonction du temps.

à fixer le débit à $0,5 \text{ l/R}$, soit un temps de séjour $t_s = 9 \text{ h}$. Le week-end il est fixé à $0,238 \text{ l/R}$ soit un temps de séjour de 18 h . L'évolution des nitrates, nitrites, orthophosphates et de la DCO a pu être observée chaque jour. Les résultats de ces mesures sont rassemblés sur le tableau 4. L'évolution de la dénitrification en fonction du temps est représentée sur la figure 7a. La figure 7b représente l'évolution de la consommation de DCO en fonction du temps.

Interpretation des résultats

Le suivi de l'évolution des teneurs en NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-} et DCO dans le bassin fonctionnant en continu, nous permet de tirer les conclusions suivantes.

- L'abattement en nitrates augmente de jour en jour alors qu'au 1^{er} jour il est d'environ 32 mg . Le 3^e jour, il atteint 75 mg environ. Les bactéries consomment les nitrates.
- La production en NO_2^- (intermédiaire de la dénitrification) atteint un maximum de 15 mg/l le 3^e jour puis diminue et semble se stabiliser autour de 9 mg/l .

Une augmentation du temps de séjour serait peut-être plus efficace pour arriver à écarter la présence de NO_2^- en sortie.

- Pour les phosphates, les bactéries utilisent dans un premier temps les réserves cellulaires, au lieu des phosphates présents dans l'alimentation. Les mesures effectuées montrent des concentrations en phosphate en sortie inférieures à celles en entrée : les bactéries consomment le phosphate.

- Pour la DCO, on remarque une diminution de la DCO, les bactéries utilisent donc le glucose pour assurer la respiration des NO_3^- .

II 3. Essais de nitrification et de dénitrification sur lits immergés à flux descendant.

Lors de cette expérience, les essais de nitrification et de dénitrification ont été faits séparément à cause de la faible production de nitrates à la sortie de nitrification.

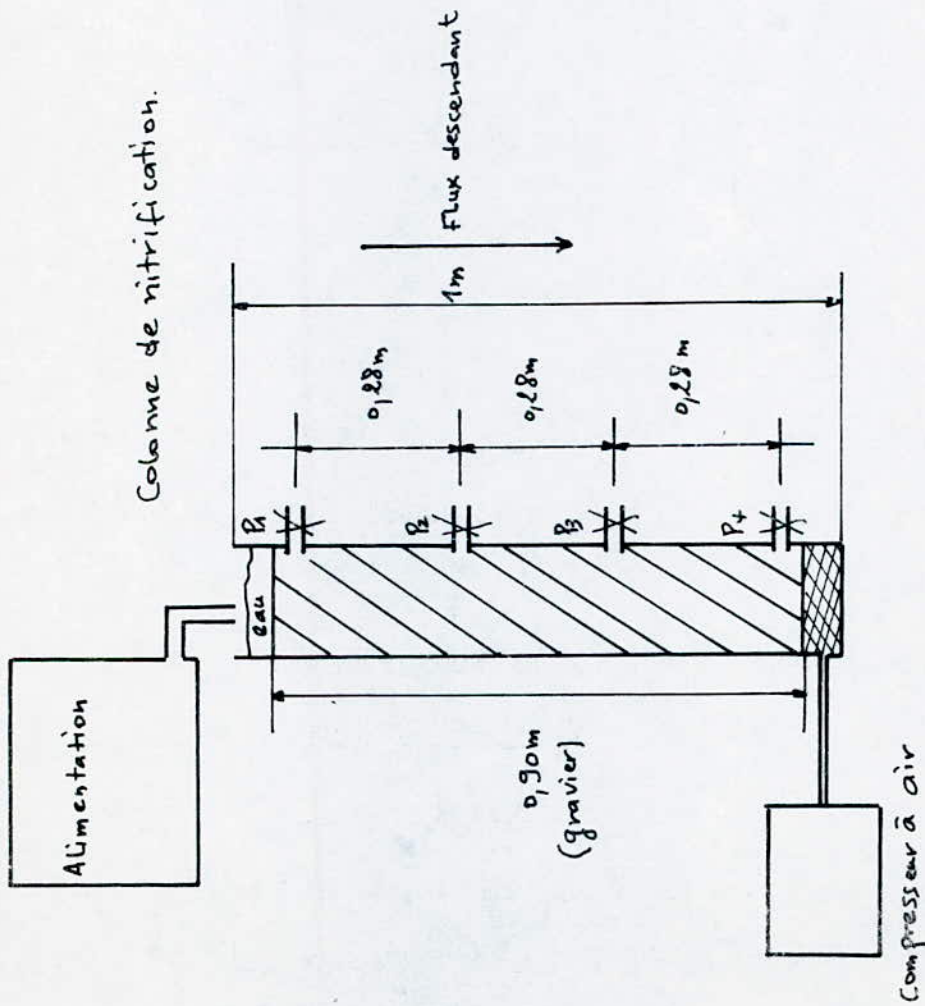
Dans ce qui va suivre on abordera les expériences relatives successivement à la nitrification et à la dénitrification.

II 3.1 Essai de nitrification.

La durée de cette expérience s'est étalée sur 18 jours. Les 3 premiers jours consistent en l'ensemencement de la colonne. Les 2 jours suivants la colonne est remplie avec de l'alimentation continue et laissée sous aération. Le 6^e jour, on a procédé au travail en continu.

Le schéma du dispositif est représenté sur la figure 8. Des dosages de nitrites, nitrates et ammoniums sont effectués quotidiennement au niveau des 4 piquages. Le tracé du profil colonne au 13^e jour en continu est représenté sur la figure 9.

Les différents prélèvements au niveau des piquages sont effectués à l'aide d'une seringue. Le débit d'alimentation est de 1 l/h.



Colonne de dénitrification.

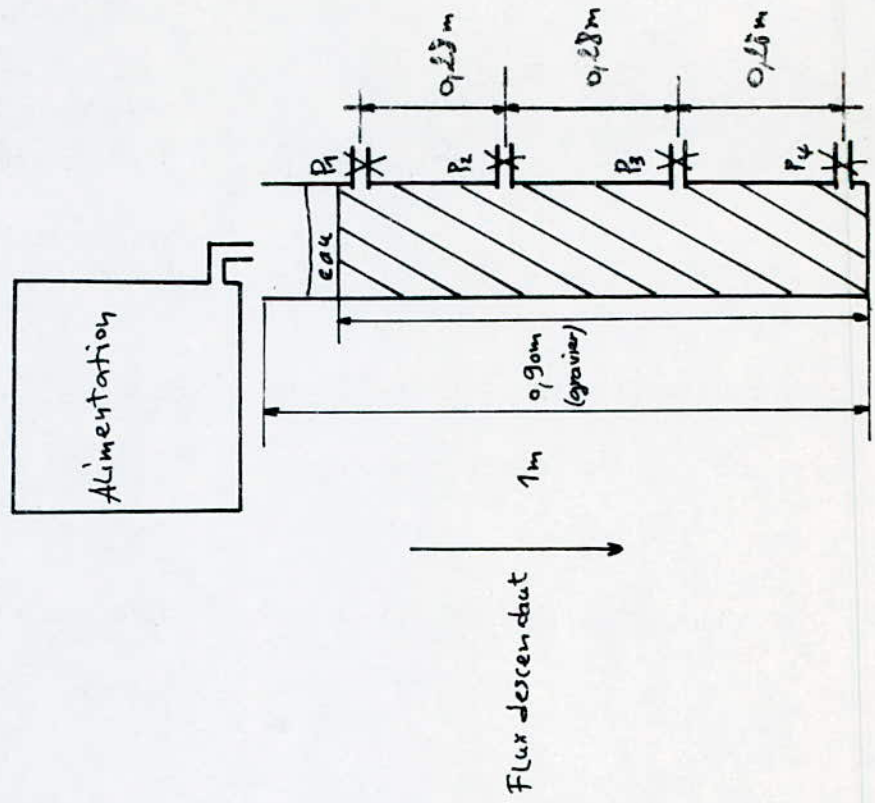


Fig 8. Dispositif expérimental:

Lits immergés à flux descendant

soit une vitesse de passage de 13.10^4 m/h. Les différentes mesures sont résumées sur le tableau 5a

Interpretation des résultats.

On observe sur la figure 9 un abattement en azote ammoniacal de l'ordre de 17,3 mg suivi d'une production en nitrites et nitrates. Au dernier jour de l'expérience, la production de nitrates est de 12 mg. Les jours précédents, la quantité de nitrates produite en sortie de la nitrification était très faible. On remarque qu'il y a une certaine accumulation de biomasse à la partie inférieure du lit cela peut être expliqué par la présence d'une quantité d'air suffisante tandis qu'au niveau supérieur le phénomène observé laisse penser qu'on est en présence d'une mauvaise diffusion. Il est à noter aussi que la hauteur du lit nitrifiant est de 0,90 m. Une hauteur plus importante aurait conduit à un abattement plus important en azote ammoniacal, à la resorption de la teneur en nitrates et enfin une production plus importante en nitrates.

II.3.2 Essai de dénitrification.

Pour cet essai, on a procédé de la même manière que pour l'essai de nitrification soit 2 jours d'ensemencement, 2 jours de stabilisation de la colonne. Le travail en continu a duré 12 jours

-50-

Jours	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
NH_4^+ (mg/l)	28,362	28,195	27,860	28,010	28,321	28,540	27,060	27,110	28,520	28,730	26,111	26,862	27,382	entrée
NO_2^- (mg/l)	0,043	0,073	0,069	0,049	0,062	0,061	0,036	0,048	0,059	0,076	0,036	0,052	0,047	
NO_3^- (mg/l)	0,101	0,097	0,121	0,206	0,137	0,142	0,137	0,119	0,123	0,100	0,111	0,107	0,103	
NH_4^+ (mg/l)	27,640	27,201	26,534	26,875	27,211	27,621	27,000	26,043	27,360	27,655	25,100	25,987	26,741	piquage P1
NO_2^- (mg/l)	0,134	0,143	0,157	0,161	0,167	0,170	0,173	0,136	0,148	0,153	0,177	0,171	0,182	
NO_3^- (mg/l)	0,129	0,117	0,138	0,226	0,142	0,144	0,128	0,142	0,139	0,128	0,147	0,152	0,157	
NH_4^+ (mg/l)	26,071	26,097	25,113	25,627	26,109	26,279	25,938	25,102	26,201	26,534	24,099	25,000	25,850	piquage P2
NO_2^- (mg/l)	0,197	0,201	0,226	0,237	0,232	0,245	0,257	0,235	0,260	0,271	0,262	0,264	0,268	
NO_3^- (mg/l)	0,136	0,124	0,149	0,151	0,128	0,145	0,139	0,158	0,160	0,152	0,162	0,155	0,163	
NH_4^+ (mg/l)	25,862	25,547	24,902	24,397	23,886	23,545	22,997	23,026	22,701	21,807	21,332	20,983	20,710	piquage P3
NO_2^- (mg/l)	1,245	1,987	2,937	2,158	3,801	3,047	4,927	4,630	4,135	5,871	5,629	5,301	5,262	
NO_3^- (mg/l)	0,540	0,627	0,981	1,125	1,543	1,987	2,036	2,096	2,112	2,235	2,362	2,401	2,425	
NH_4^+ (mg/l)	17,328	16,732	15,954	15,123	14,365	13,987	13,056	12,501	11,738	11,111	10,962	10,403	10,204	piquage P4
NO_2^- (mg/l)	13,021	13,112	13,571	14,027	14,793	15,207	15,911	16,327	16,984	17,735	18,109	18,971	19,496	
NO_3^- (mg/l)	6,101	6,856	7,217	7,847	8,127	8,775	9,026	9,857	10,125	10,910	11,368	11,958	12,265	

Tab 5a. Resultats des mesures essai de nitrification sur colonne .

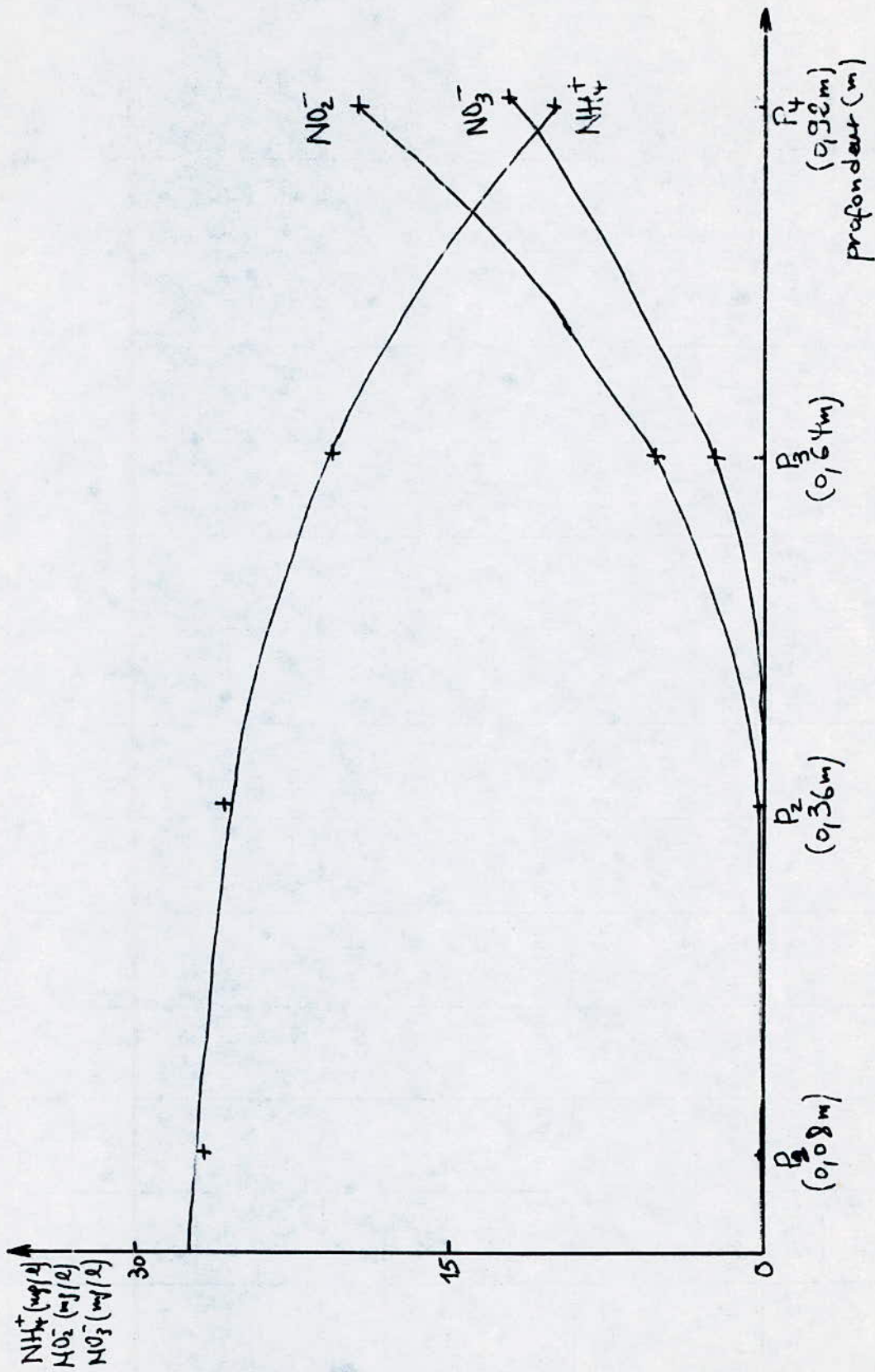


Fig 9. Profil Colonne nitrification . $t = 13$ jours .

Le tableau 5b représente les mesures des différents dosages effectués en continu. Les figures 10a, 10b, et 10c représentent successivement l'évolution des profils colonnes le 1^{er}, 4^{ème} et le 8^{ème} jour. Le schéma du dispositif est représenté sur la figure 8. Les concentrations d'entrée du réacteur de dénitrification étant de 500 mg/l de NO_3^- , 1,5 mg/l de PO_4^{3-} et 600 mg/l en DCO (glucose).

Interpretation des résultats.

En supposant les profils colonnes correspondant à $t=1j$, $t=4j$ et $t=8j$, on observe une nette diminution de la production de nitrites. L'évolution de la colonne vers un état d'équilibre s'accompagne d'une atténuation de l'intensité en nitrites.

Jours	1	2	3	4	5	6	7	8	
NO_3^- (mg/l)	49,27	48,36	49,52	48,77	49,01	48,96	49,33	49,52	Entrée
NO_2^- (mg/l)	0,112	0,167	0,138	0,129	0,156	0,178	0,123	0,143	
NO_3^- (mg/l)	25,00	24,86	24,71	24,6	24,24	23,77	23,14	22,50	Piquage P1
NO_2^- (mg/l)	0,400	0,320	0,230	0,120	0,114	0,112	0,109	0,100	
NO_3^- (mg/l)	24,05	23,96	23,82	23,70	23,60	23,45	22,83	22,05	Piquage P2
NO_2^- (mg/l)	0,370	0,290	0,140	0,100	0,092	0,089	0,079	0,075	
NO_3^- (mg/l)	20,00	19,06	18,47	17,80	17,11	16,24	15,28	14,70	Piquage P3
NO_2^- (mg/l)	0,300	0,226	0,112	0,091	0,086	0,080	0,074	0,063	
NO_3^- (mg/l)	16,65	16,36	15,98	14,75	13,21	12,34	10,59	9,05	Piquage P4
NO_2^- (mg/l)	0,250	0,118	0,103	0,077	0,071	0,063	0,053	0,050	

Tab 56. Resultats des mesures essai de dénitrification .

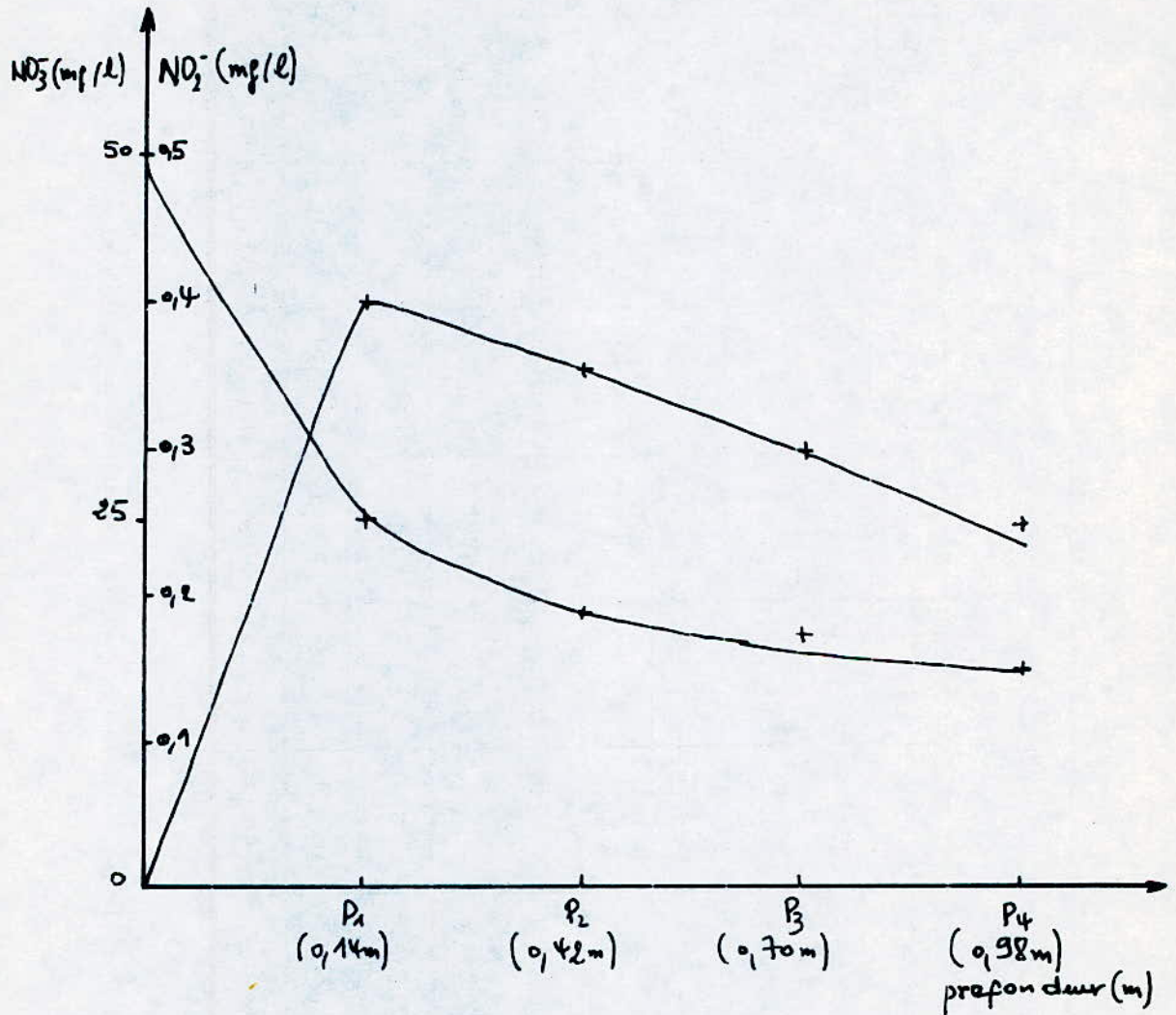


Fig 10a. Profil colonne dénitrification. $t = 1\text{j}$.

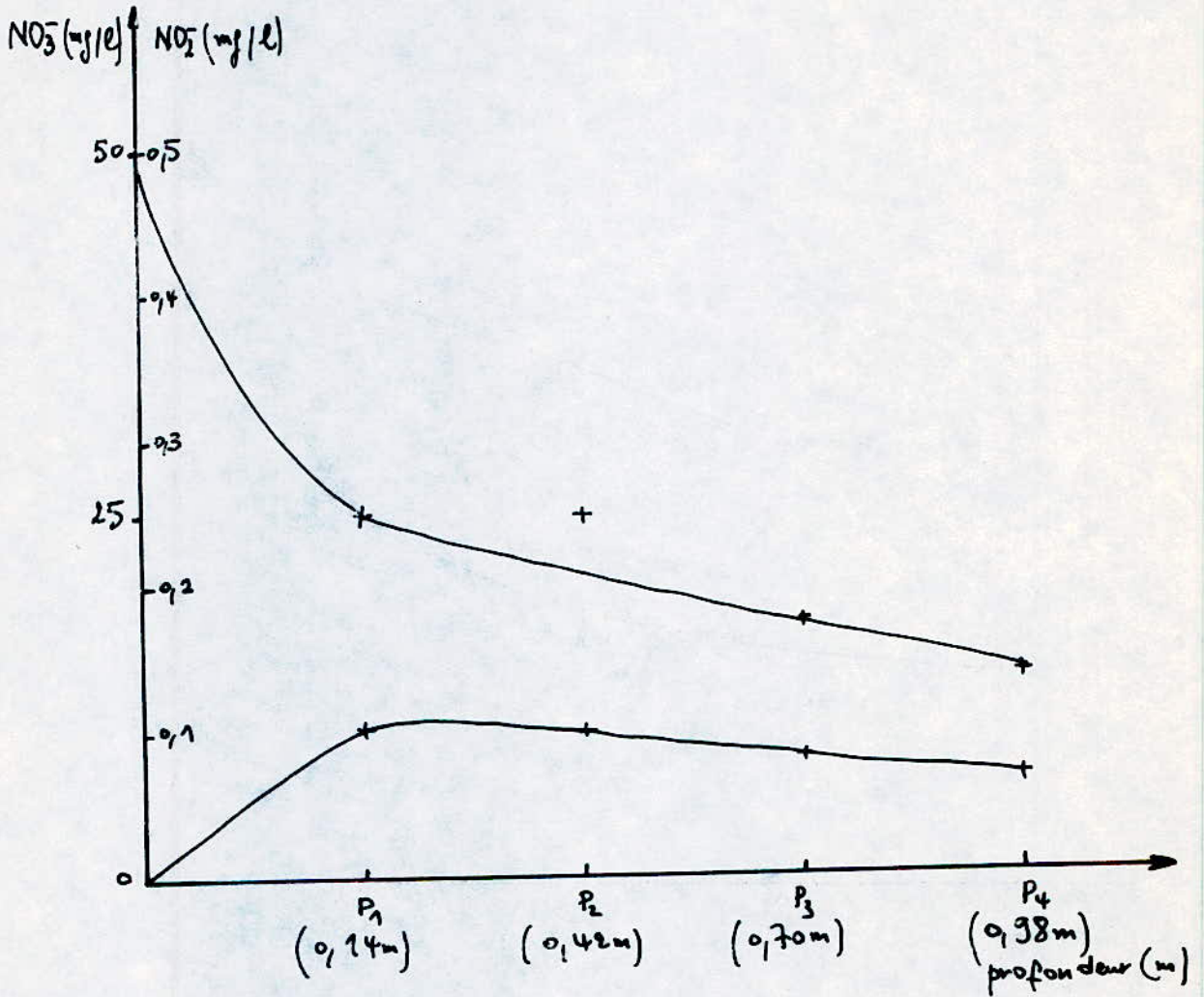


Fig 10b. Profil colonne dénitrification. $t=4j$.

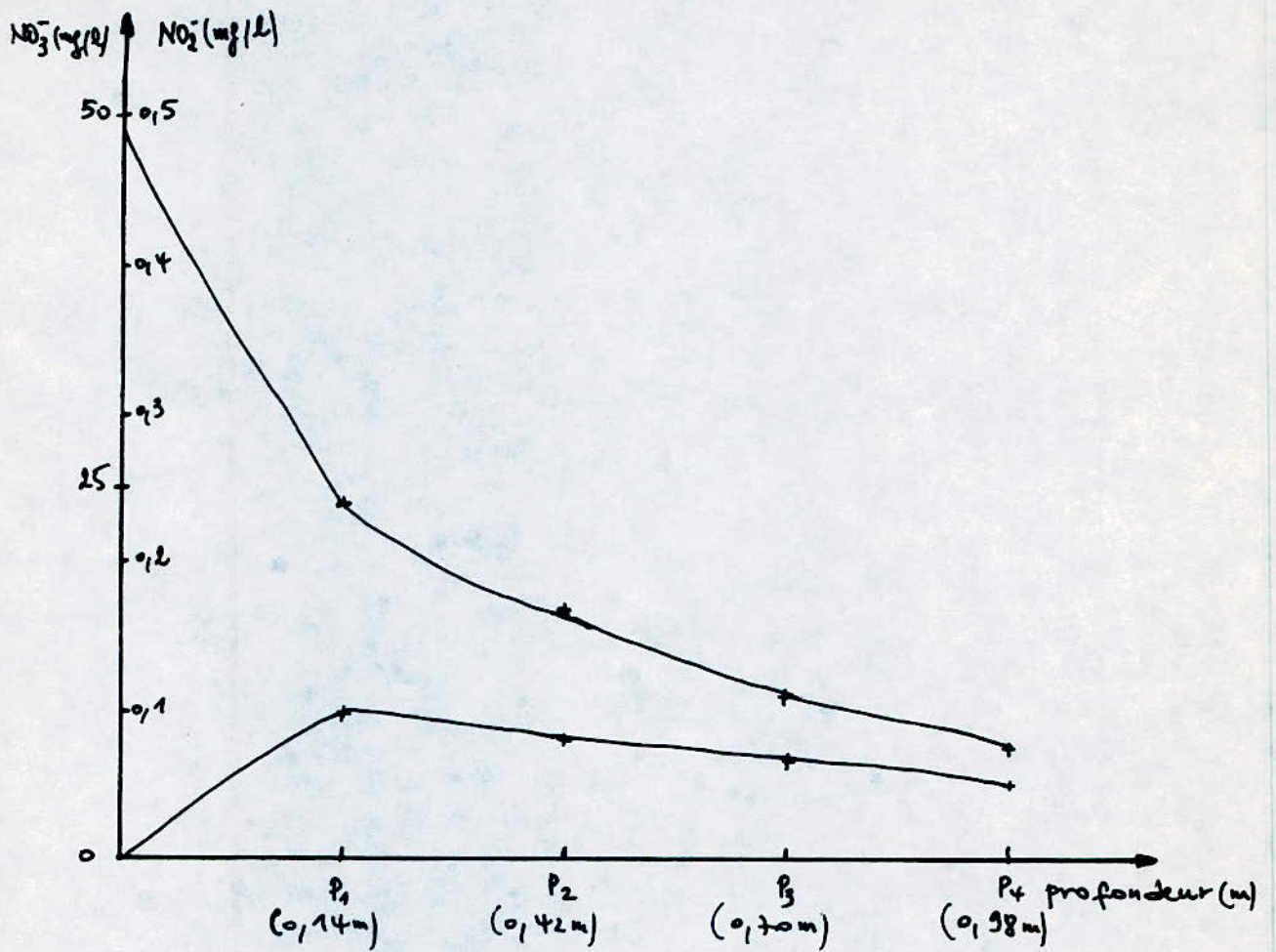


Fig 10c. Profil colonne dénitrification $t=8j$.

III Modèle cinétique en discontinu.

Les boues en présence, préparées selon la méthode indiquée au paragraphe II.1.2, étant aptes à nitrifier, nous nous proposons d'aborder des essais de cinétique en discontinu. Nous préciserons l'influence des phosphates sur la nitrification et nous déterminerons la constante de saturation relative aux PO_4^{3-} . Le schéma du dispositif est représenté sur la figure 11.

Rôle des phosphates dans la nitrification.

Le phosphate intervenant dans le métabolisme bactérien, il est évident qu'il doit être présent dans le milieu pour que la nitrification puisse se faire dans les meilleures conditions et aboutir au stade final des nitrates.

La détermination de la constante de demi-saturation relative aux phosphates nous permettra de fixer la dose en dessous de laquelle le phosphate sera considéré comme facteur limitant de la nitrification.

Nos essais seront effectués dans des erlenmeyer de 1 litre contenant une alimentation composée de $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ à raison de 213 mg/l, NaHCO_3 à raison de 450 mg/l.

Les consommations en phosphates seront variables dans l'essai.

Les oligo-éléments sont apportés par l'eau du robinet. On introduit également des boues provenant du bassin de culture

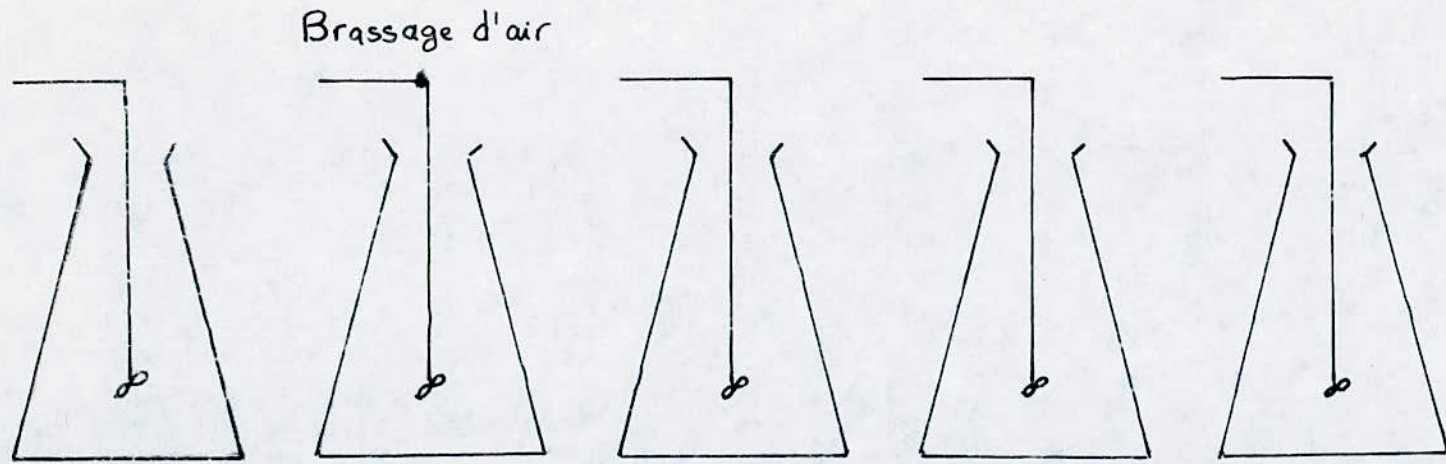


Fig 11 : Modele cinetique en discontinu

en continu. Un barbotage d'air est nécessaire pour maintenir une concentration en oxygène proche de la saturation, soit 8 mg/l et ainsi assurer les meilleures conditions de nitrification. Toutes les heures, un prélèvement d'échantillon (50 ml) permet de suivre l'évolution de la nitrification.

Protocole expérimental.

Nous introduisons dans nos erlens de 1 litre contenant du $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (213 mg), NaHCO_3 (450 mg) des doses variables de phosphate et des boues (250 ml) prélevés dans le bassin de culture en continu.

Les boues sont préalablement rincées avant d'être introduites dans les erlens, pour éliminer les phosphates susceptibles de s'adsorber sur les parois cellulaires. Des prélèvements effectués toutes les demi-heures, ensuite toutes les heures nous permettent de suivre l'évolution des nitrates, nitrites, orthophosphates.

Le but du lavage étant d'essayer d'obtenir une teneur initiale en PO_4^{3-} de 0 mg/l. En fait l'injection initiale en PO_4^{3-} est non nulle. Celle-ci proviendrait d'un rechargement au niveau de la paroi cellulaire.

La teneur en entrée est évaluée à 0,5 mg/l.

L'évolution des entités NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} et TAC est représentée sur les courbes 11a, 11b, 11c, 11d, 11e.

Les différents dosages effectués sont représentés sur les tableaux Tab 6a, Tab 6b, Tab 6c, Tab 6d, Tab 6e.

t (h)	NH_4^+ (mg/l)	NO_2^- (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	TAC (°F)
0	79,325	0,036	0,101	0,495	12,69
0,5	75,805	0,601	0,153	0,448	12,40
1	71,898	1,316	0,490	0,405	12,06
1,5	68,409	2,256	0,877	0,364	11,73
2	65,486	5,437	1,216	0,315	11,18
3	62,09	8,676	2,871	0,217	10,66
4	60,849	13,715	4,511	0,128	10,13
5	59,112	18,617	8,115	0,029	9,57

Tab 6a. Resultats erlen omg/l de PO_4^{3-} .

NH_4^+ (mg/l)	NO_2^- (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	TAC °F	t (h)
77,724	0,047	0,147	2,124	12,87	0
74,809	0,923	0,162	2,041	12,48	0,5
72,130	1,721	0,512	2,048	12,22	1
70,635	2,489	0,873	1,955	11,78	1,5
67,600	4,666	1,494	1,919	11,18	2
62,041	9,060	3,381	1,783	10,43	3
57,903	14,107	6,782	1,681	9,78	4
54,106	19,156	8,726	1,613	9,10	5

Tab 6b. Resultats erlen 2mg/l d. PO_4^{3-} .

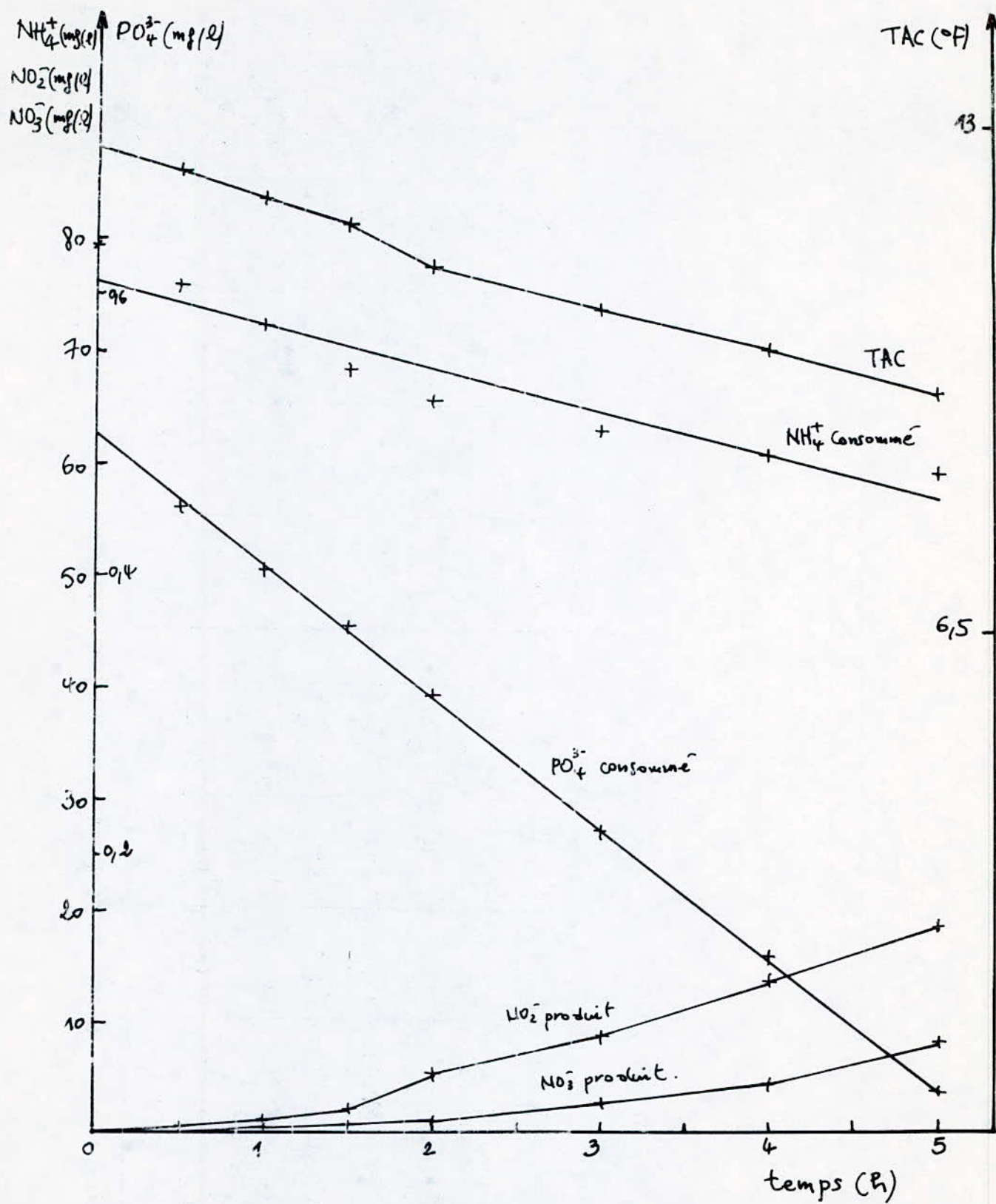


Fig 11a. Evolution de NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , TAC en fonction du temps. PO_4^{3-} : 0 mg/l.

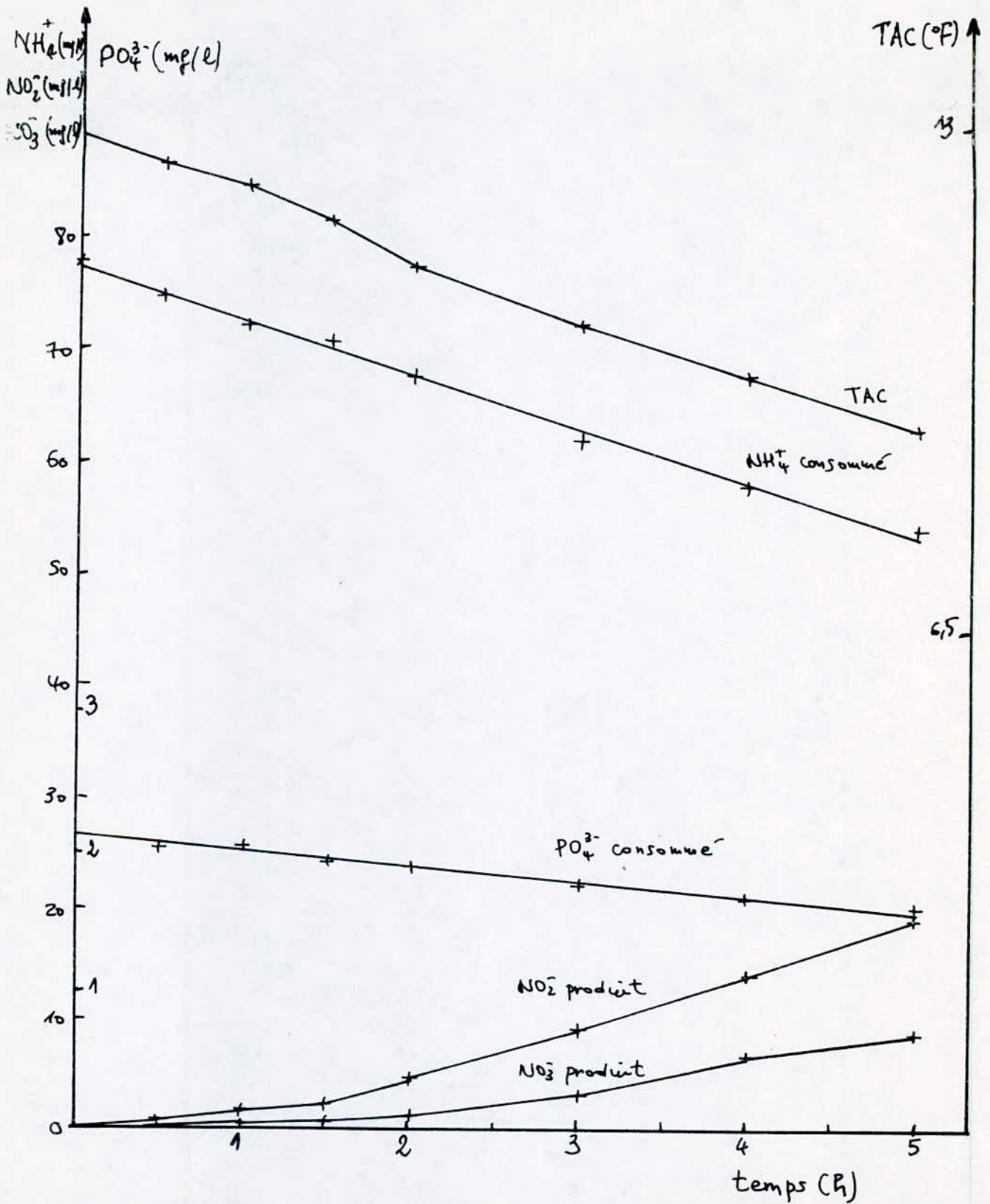


Fig 11b. Evolution de NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , TAC en fonction du temps. PO_4^{3-} , 2 mg/l.

t (h)	NH ₄ ⁺ (mg/l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	PO ₄ ³⁻ (mg/l)	TAC (°F)
0	77,827	0,044	0,127	4,088	12,95
0,5	72,809	1,525	0,183	3,998	12,48
1	70,000	1,439	0,512	3,920	12,19
1,5	68,049	2,728	0,771	3,830	11,44
2	64,786	6,066	1,437	3,880	10,86
3	57,950	10,716	4,162	3,663	10,11
4	53,062	17,118	10,439	3,457	9,75
5	48,413	24,223	15,663	3,464	8,99

Tab 6c. Resultats erlen 4 mg/l de PO₄³⁻

t (h)	NH ₄ ⁺ (mg/l)	NO ₂ ⁻ (mg/l)	NO ₃ ⁻ (mg/l)	PO ₄ ³⁻ (mg/l)	TAC (°F)
0	79,230	0,039	0,145	6,109	12,74
0,5	74,531	1,810	0,493	5,970	12,22
1	69,549	3,721	0,756	5,878	11,73
1,5	66,528	5,228	1,499	5,880	11,39
2	61,802	8,812	3,557	5,891	10,92
3	54,183	13,751	8,161	5,694	10,14
4	46,801	19,616	12,551	5,523	9,18
5	40,929	27,632	17,605	5,238	8,32

Tab 6d. Resultats erlen 6 mg/l de PO₄³⁻

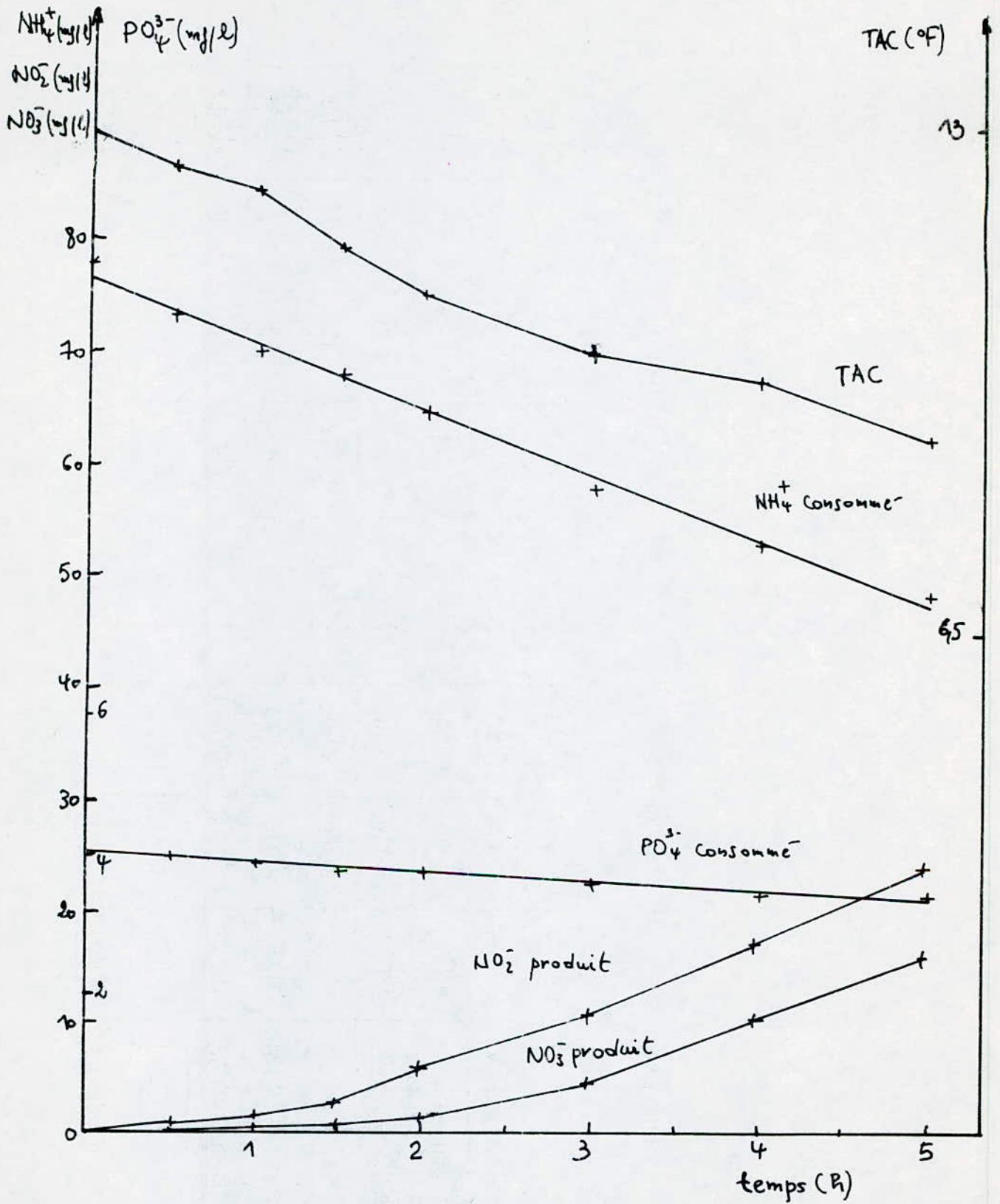


Fig 11c. Evolution de NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , TAC en fonction du temps. PO_4^{3-} : 4 mg/l.

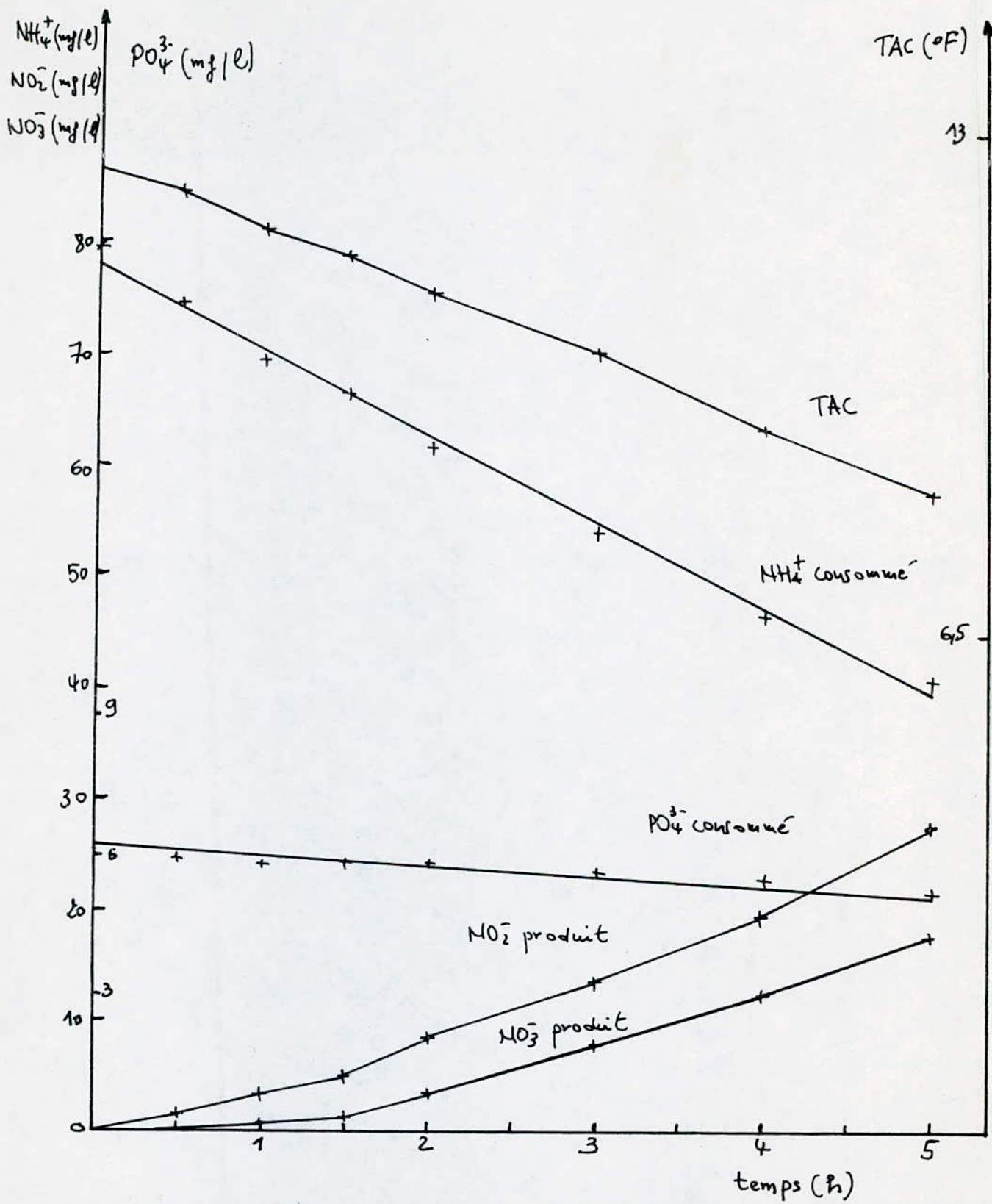


Fig 11d. Evolution de NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , TAC en fonction du temps. PO_4^{3-} : 6 mg/l.

t(h)	NH_4^+ (mg/l)	NO_2^- (mg/l)	NO_3^- (mg/l)	PO_4^{3-} (mg/l)	TAC °F
0	78,741	0,059	0,132	8,003	12,48
0,5	72,982	1,012	0,475	7,840	11,99
1	70,542	2,618	0,997	7,681	11,65
1,5	64,493	4,56	1,371	7,683	11,18
2	61,456	7,666	3,273	7,411	10,24
3	56,530	16,161	9,394	7,092	9,39
4	47,681	23,161	16,301	7,037	8,58
5	40,494	29,256	18,608	6,703	7,67

Tab 6e. Resultats erlen 8 mg/l de PO_4^{3-}

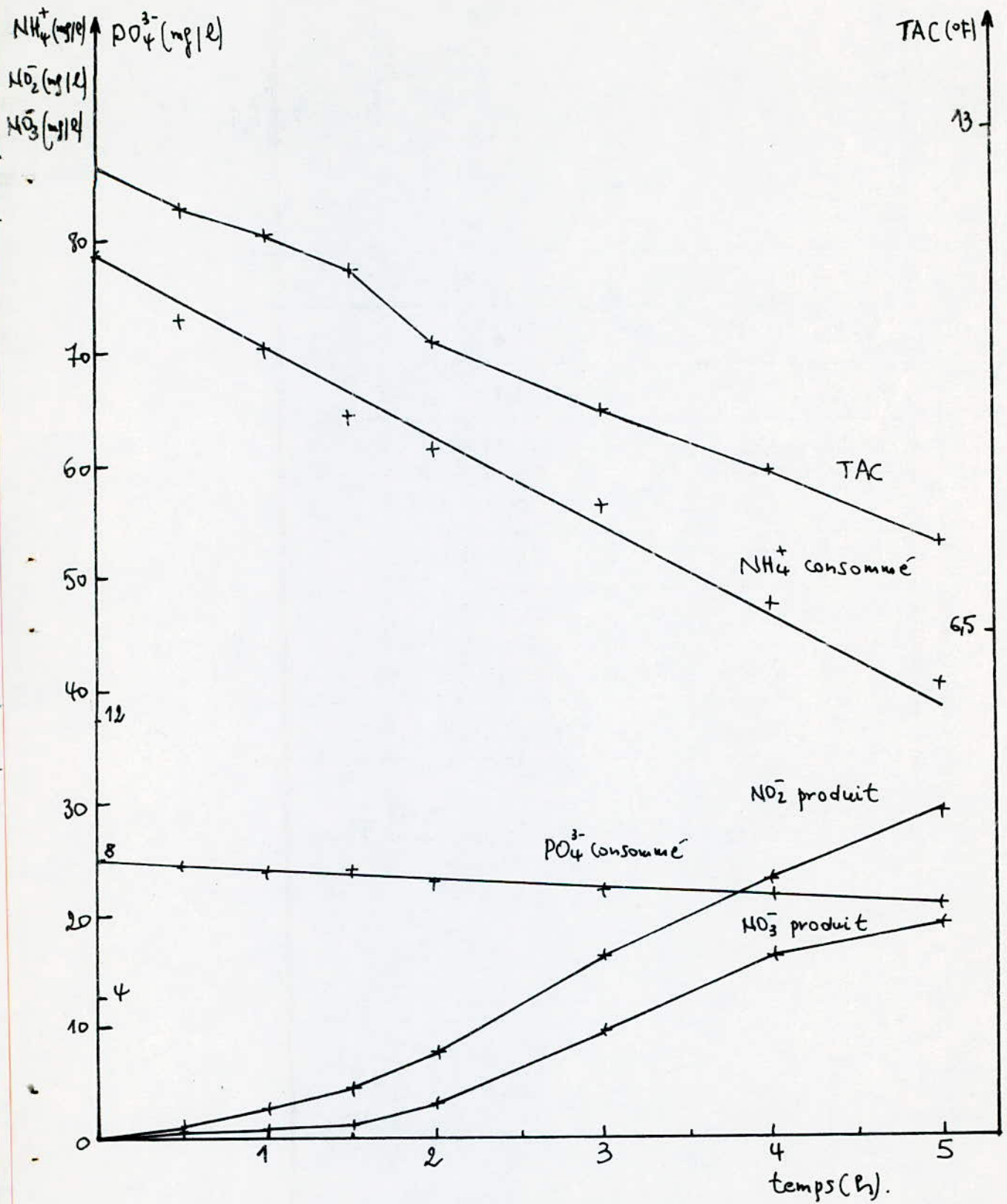


Fig 11e. Evolution de NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻, TAC en fonction du temps. PO₄³⁻: 8mg/l.

Interpretation des resultats

L'observation des courbes des fig 11 montre que la quantité d'ammoniums consommée est liée à la quantité de phosphates.

La fig 11a montre que la consommation en ammoniums est faible alors que la consommation en phosphates est presque totale, on pourra supposer que la nitrification n'aboutira pas jusqu'au stade final soit une concentration en ammonium à la sortie de l'ordre zero.

Sur les courbes 11b, 11c, 11d, 11e, on peut voir que la consommation des phosphates est variable mais reste dans un domaine compris entre 0,5 et 1,2 mg.

Calcul cinétique.

Notre travail a pour objectif la détermination de la constante de Monod relative aux phosphates. Pour ce calcul nous nous baserons sur l'hypothèse suivante:

« La vitesse de disparition de l'azote ammoniacal ou d'apparition des nitrates suit une loi de type Monod »

Nous exprimons cette vitesse sous la forme :

$$R = - \frac{dN-NH_4^+}{dt} = \frac{dN-NO_3^-}{dt} = k_x \frac{NH_4^+}{K_{NH_4^+} + NH_4^+} \cdot \frac{PO_4^{3-}}{K_{PO_4^{3-}} + PO_4^{3-}} \cdot \frac{TAC}{K_{TAC} + TAC}$$

Au cours de notre cinétique nous considérons les bicarbonates et l'ammoniaque largement en excès. Dans ce cas, la vitesse de réduction

de l'azote ammoniacal s'exprime sous la forme :

$$R = - \frac{dN-NH_4^+}{dt} = k \times \frac{P_{O_4^{3-}}}{K_{P_{O_4^{3-}}} + P_{O_4^{3-}}} \quad \text{soit}$$

$$r = - \frac{1}{x} \frac{dN-NH_4^+}{dt} = k \frac{P_{O_4^{3-}}}{K_{P_{O_4^{3-}}} + P_{O_4^{3-}}}$$

La concentration en NH_4^+ étant forte, la réaction de nitrification est d'ordre zéro. Si nous considérons $1/r$, la constante $K_{P_{O_4^{3-}}}$ sera mesurée par la pente de la droite $1/r = f(1/P_{O_4^{3-}})$. La constante k étant l'inverse de l'ordonnée à l'origine de la droite $1/r = f(1/P_{O_4^{3-}})$. Les valeurs de r et $P_{O_4^{3-}}$ sont déterminées à partir des pentes des droites de régression tracées précédemment.

$P_{O_4^{3-}}$ (mg/l.h)	0,495	2,124	4,100	6,100	8,000
r (mg NH_4^+ /g mvsh)	4,756	5,998	7,417	9,506	9,840

$1/P_{O_4^{3-}}$	2,020	0,470	0,243	0,163	0,125
$1/r$	0,210	0,167	0,135	0,105	0,102

Le graphe $1/r = f(1/P_{O_4^{3-}})$ est représenté sur la figure 12.

$$1/r = f(1/P_{O_4^{3-}}) \text{ est une droite de pente } - \frac{K_{P_{O_4^{3-}}}}{k} = 0,067$$

et d'ordonnée à l'origine $\frac{1}{k} = 0,1$ soit $k = 10$ mg/g mvsh

d'où $K_{P_{O_4^{3-}}} = 0,67$ mg/l.

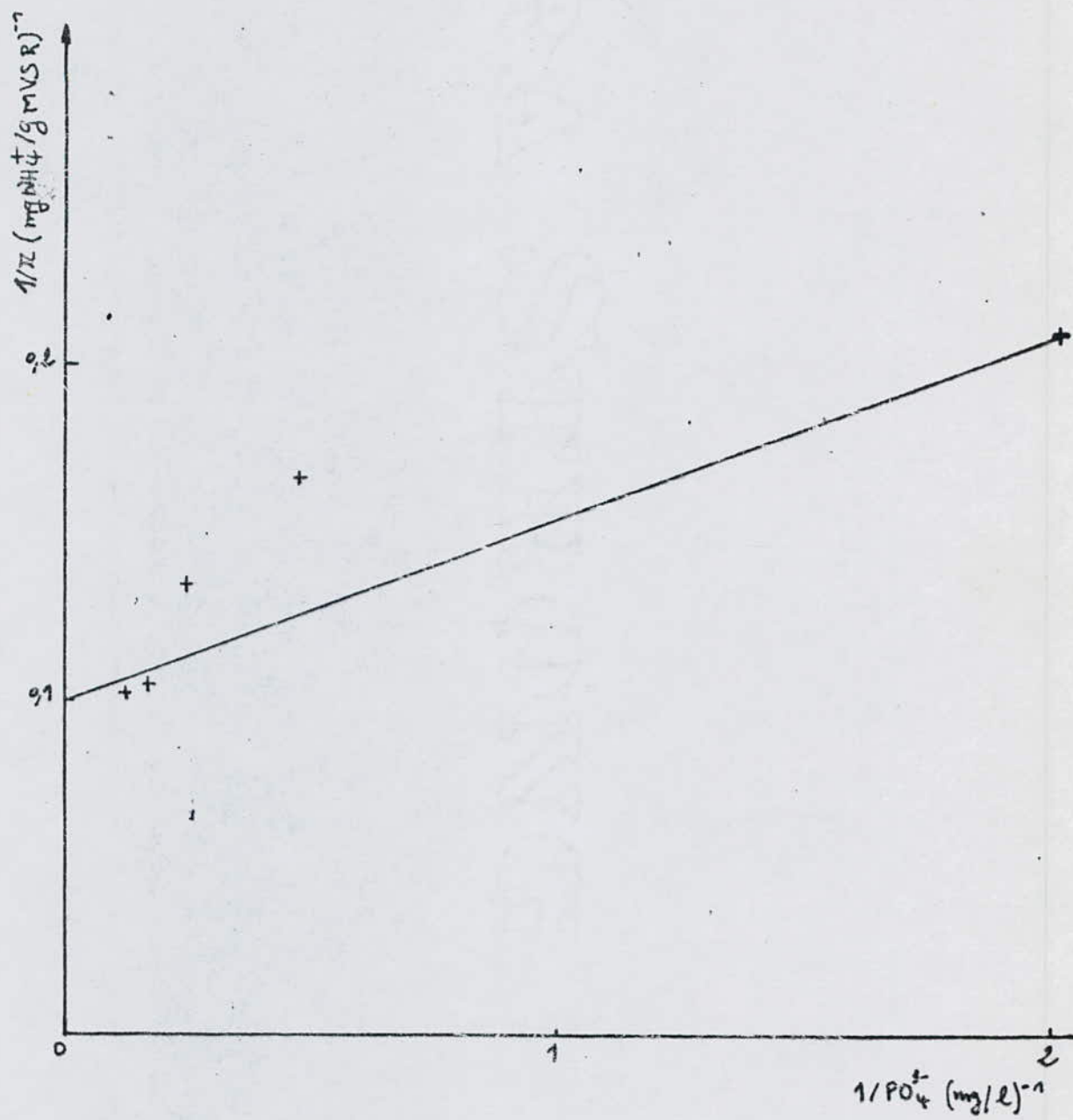


Fig 12. Evolution de $1/R$ en fonction de $1/PO_4^{3-}$

Conclusion :

Dans le cas de la nitrification autotrophe, la constante de Monod relative aux PO_4^{3-} est de l'ordre de 0,417 mg/l.

En dessous de cette quantité, le phosphore sera considéré comme facteur limitant de la nitrification.

CONCLUSION

GENERALE

Conclusion generale

Il ressort de notre etude de laboratoire que :

- La vitesse de nitrification suit une loi du type Monod

$$r = - \frac{d\text{NH}_4^+}{dt} = \frac{d\text{NO}_3^-}{dt} = k \times \frac{\text{NH}_4^+}{K_{\text{NH}_4^+} + \text{NH}_4^+} \cdot \frac{\text{PO}_4^{3-}}{K_{\text{PO}_4^{3-}} + \text{PO}_4^{3-}} \cdot \frac{\text{TAC}}{K_{\text{TAC}} + \text{TAC}}$$

- La reaction d'oxydation est d'ordre zero par rapport à l'ammonium.
- La constante de Monod relative aux phosphates est de l'ordre de 0,67 mg/l.

En ce qui concerne l'etude de la nitrification sur colonne, il semblerait qu'une hauteur de lit plus importante attenuerait le taux de NO_2^- en sortie et conduirait au stade final de la nitrification.

- ANNEXES -

ANNEXE

Determination de la DCO

oxydation par un excès de dichromate de potassium en milieu acide à ébullition, des matières oxydables dans des conditions de l'essai, contenues dans l'eau en présence de sulfate d'argent et de sulfate de mercure. Une fois la réaction terminée, on dose le bichromate résiduel par addition de sulfate ferreux, sous forme de sulfate ferreux d'ammonium de normalité connue. L'indicateur utilisé est la ferroïne.

$$DCO = 8000 \times \frac{(V_0 - V_1)}{V} \cdot T$$

T = titre, en normalité de SFA.

V_0 = Volume, en ml, de solution SFA (essai à blanc)

V_1 = Volume, en ml, de solution SFA (nécessaire au dosage)

V = Volume, en ml, de la prise d'essai

Determination de M.E.S

La détermination du M.E.S est faite par filtration. L'eau est filtrée et le poids des matières retenues par le filtre est déterminé par pesée différentielle.

Determination des orthophosphates

L'orthophosphate donne avec le molybdate en milieu acide, un acide phosphomolybdique qui réduit $(SnCl_2)$, donne une coloration bleue avec un large maximum d'absorption entre 500 et 750 nm.

Dosage des nitrites (NFT90-013)

Diazotation de la sulfanilamide par les nitrites en présence de dichloramine de N-(1-naphthyle)-éthylène-diamine

Mesure à une longueur d'onde voisine de 537 nm de la coloration du complexe rose

Dosage de l'azote ammoniacal (NFT90-015)

Addition de l'échantillon de tartrate double de sodium et de potassium qui a principalement, pour rôle d'entrer en réaction en présence d'hydroxyde de potassium ou de sodium entre le réactif de Nessler et les ions NH_4^+ avec formation d'un composé de coloration variable du rouge au brun. Mesure à 420 nm

Dosage des nitrates (NFT90-012)

BIBLIOGRAPHIE

- 1^e Guy MARTIN Le probleme de l'azote dans les eaux,
Technique et documentation, 1979
- 2 R.Y. STANIER Microbiologie Générale, Masson et C^{ie} éditeurs
1966
- 3 Michael WINKLER Biological Treatment of Waste-Water
Ellis Horwood Ltd Publishers, 1981
4. F. KERLAN Y SENELIER, La pollution des eaux par les composés
de l'azote et du phosphore. Les moyens de lutte,
Techniques et Sciences Municipales, 289, Juin 1985
5. L'EAU, L'INDUSTRIE ET LES NUISANCES, Contrôle de l'activité
bactérienne de la biomasse N° 97, Janvier 1986
6. N. HAIDER, Influence de l'oxygène dissous lors de la
denitrification par *thiobacillus denitrificans*
Rapport DEA, Rennes 1983.
- 7 AbdeRader GAIO, Epuration biologique des eaux usées urbaines
Tome I et II OPU Alger 1984
- 8- René Scriban, Biotechnologie, Technique et documentation
LAVOISIER, 1982
9. L. LEVESQUE, ELIMINATION DES NITRATES des eaux potables
Association Française pour l'étude des eaux, Paris 1976
10. WATER Research Vol 18 N°1, Page 103, 1984
11. WATER Research Vol 21 N°2, Page 191 à 193, 1977

12. Water quality international Number 1, page 24, 30, 1987
13. La tribune du CEBEDEAU Volume 40, N° 522, Pages 37 à 39
Mai 1987
14. Guy MARTIN, Point sur l'épuration et le traitement des effluents. Eau. Air, Volume 1
Technique et documentation (Lavoisier), 1982
15. Roger, Y. STANIER, Edward. A. ADELBERG, John INGRAHAM
The microbial world, fourth edition. Prentice-Hall Inc
ENGLEWOOD CLIFFS, NEW-JERSEY, 1976
16. F. EDELINE, L'épuration biologique des eaux résiduaires
Théorie et technologie, Technique et documentation
Paris 1980 CEBEDOC Liege.
17. W.W. ECKENFELDER, Gestion des eaux usées urbaines et
industrielles, Technique et documentation LAVOISIER 1982
18. L'eau, L'Industrie, Les nuisances N° 93, Juin-Juillet 1985
Nitrification - Denitrification par bactéries fixées.
19. L'eau, L'industrie, Les nuisances N° 106, Décembre 1986
un nouveau réacteur anaérobie à biomasse immobilisée
20. Denitrification d'eau potable par cultures fixées
use of fixed biomass for water and waste water treatment
37th Int. Conf. CEBEDEAU. LIEGE from 23-25 May 1984
J. PARTOS Y. RICHARD
21. TARDEY - HENRY avec la collaboration de J.P. BEAURY
« CHIMIE DES EAUX » Edition Griffon d'Argile 1984

