

وزارة الجامعات والبحث العلمي  
Ministère aux Universités et de la Recherche Scientifique

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

الخدمة الوطنية المتعددة التقنيات  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique

DEPARTEMENT GENIE D'ENVIRONNEMENT

# PROJET DE FIN D'ETUDES

## SUJET

ÉLIMINATION BIOLOGIQUE DES NITRATES

A L'AIDE DES PROTEINES DU SANG

Proposé par : N. ABDI

Etudié par : A. MEDJAHDI Dirigé par : N. ABDI

PROMOTION Septembre 1992

- DEDICACES -

- A mes parents .

- A mes frères et soeurs .

- A ma nièce Noussaïba .

- A mon neveu Djaber .

- A Nacera et Bouzian .

- A Mokhtar et Kamel .

- A Benyoucef Houhache .

- A Abasse et El Hachemi .

- A Tahar et Marouf .

- A toute l'équipe de nuit .

- A tous mes amis .

- REMERCIEMENTS -

A l'issue de ce travail, je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères à madame N. ABDI pour avoir accepté de m'encadrer et de me diriger tout au long de cette année .

Que messieurs N. MAMERI et A. CHERGUI soient assurés de ma reconnaissance pour les conseils et encouragements qu'ils m'ont toujours prodigués .

Je remercie aussi mesdames MAMERI et F. HADOUUD pour les discussions fructueuses que nous avons eu ensemble .

Mes remerciements vont aussi à D. ABDESMAD, NOUAR, MAHFOUD, FETHI ABD EL HAKIM et KARIM .

Je remercie, également, mesdemoiselles SABAH , LEILA , BOUTRIA et KOUTAI .

## ABREVIATION

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique

$\theta_x$	: Age des boues	( h )
$k_d$	: Coefficient de respiration endogène	( h <sup>-1</sup> )
X	: Concentration de biomasse	( mg/l )
S	: Concentration de substrat	( mg/l )
k	: Constante de vitesse	( mgNO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /gMVS.h )
$K_S$	: Constante de MONOD relative au substrat S	( mg/l )
Q	: Débit	( l/h )
DBO	: Demande biologique en oxygène	( mgO <sub>2</sub> /l )
DCO	: Demande chimique en oxygène	( mgO <sub>2</sub> /l )
MVS	: Matière volatile sèche	( mg/l )
R	: Rendement	( % )
Y	: Rendement de conversion	
T	: Température	( °C )
$\theta_s$	: Temps de séjour	( h )
$\mu$	: Taux de croissance cellulaire	( h <sup>-1</sup> )
D	: Taux de dilution	( h <sup>-1</sup> )
$\tau$	: Taux de recirculation des boues	
r	: Vitesse spécifique de dénitrification	( mgNO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /gMVS.h )
V	: Vitesse de dénitrification	( mgNO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /l.h )
V	: Volume	( l )

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique

SOMMAIRE

---

SOMMAIRE

	page
INTRODUCTION .....	1
CHAPITRE I : POLLUTION AZOTEE .....	3
1-1. LE CYCLE DE L'AZOTE .....	3
1-1.1. INTRODUCTION .....	3
1-1.2. SES PRINCIPALES ETAPES .....	3
1-2. LES DIFFERENTES ORIGINES DES SUBSTANCES AZOTEES .....	5
1-2.1. Origine domestique .....	5
1-2.1. Origine industrielle .....	5
1-2.1. Origine agricole .....	5
1-3. IMPACT DES NITRATES SUR LA SANTE HUMAINE ET SUR L'ENVIRONNEMENT .....	6
1-4. NORMES .....	7
CHAPITRE II : ELIMINATION DES NITRATES .....	11
2-1. INTRODUCTION .....	11
2-2. PROCÉDES PHYCICOCHIMIQUES .....	11
2-2.1. L'échange d'ions .....	11
2-2.2. Electrodialyse et osmose inverse .....	12

2-3.PROCEDE BIOLOGIQUE .....	13
2-3.1.Généralites sur la microbiologie .....	13
2-3.1.1.besoins des microorganismes .....	13
2-3.1.2.les enzymes .....	14
2-3.1.3.métabolismes des microorganismes .....	16
2-3.1.4.croissance bactérienne .....	17
2-3.2.Mécanisme de la dénitrification .....	20
2-3.2.1.réduction assimilative .....	20
2-3.2.2.réduction dessimilative.....	20
2-3.3.Dénitrification autotrophe.....	21
2-3.4.Dénitrification hétérotrophe.....	21
2-3.4.1.paramètres influençant la dénitrification hétérotrophe.....	21
2-3.4.2.inhibition de la dénitrification hétérotrophe.....	24
2-3.5.Technologie de la dénitrification.....	26
2-3.5.1.systemes à boués activées.....	26
2-3.5.2.systemes à bactéries fixées.....	27
CHAPITRE 000 : LES EFFLUENTS D'ABATTOIRS.....	28
3-1.CARACTERISTIQUES.....	28
3-2.TRAITEMENTS.....	28
3-3.COMPOSITON DU SANG.....	30

CHAPITRE IV : ETUDE DE LA DENITRIFICATION EN CONTINU DANS UN BIOREACTEUR A RECIRCULATION DE BIOMASSE ....	35
4-1. INTRODUCTION .....	35
4-2. SELECTION DES BACTERIES DENITRIFIENTES .....	36
4-2.1. Materiels et methodes .....	36
4-2.1.1. prise d'échantillon .....	36
4-2.1.2. composition du milieu de culture .....	36
4-2.1.3. dispositif experimental .....	37
4-2.1.4. analyses .....	37
4-2.2. Resultats .....	38
4-3. INFLUENCES DE LA CHARGE EN NITRATES SUR LE RENDEMENT DE LA DENITRIFICATION .....	39
4-3.1. Materiels et methodes .....	39
4-3.1.1. dispositif experimental .....	39
4-3.1.2. calcul des parametres de fonctionnement du bioreacteur .....	39
4-3.1.3. analyses .....	41
4-3.2. Resultats et discussion .....	41
4-4. DETERMINATION DES PARAMETRES CINETIQUES .....	43
4-4.1. Modele cinetique .....	45
4-4.2. Materiels et methodes .....	45
4-4.2.1. dispositif experimental .....	45
4-4.2.2. composition du milieu .....	46
4-4.2.3. analyses .....	46
4-4.3. Resultats et discussion .....	46
4-5. CONCLUSION .....	48

CHAPITRE V : DENITRIFICATION EN BATCH	
- DETERMINATION DE LA CINETIQUE - .....	62
5-1. INTRODUCTION .....	62
5-2. MODELE CINETIQUE .....	62
5-3. MATERIELS ET METHODES .....	63
5-3.1. Dispositif expérimental .....	63
5-3.1. Composition du milieu .....	64
5-3.2. Analyses .....	64
5-4. RESULTATS ET DISCUSSION .....	64
5-5. CONCLUSION .....	66
CONCLUSION GENERALE .....	76
ANNEXE .....	78
BIBLIOGRPHIE .....	79

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique

INTRODUCTION

---

## INTRODUCTION

De tout temps, l'eau a été utilisée et réutilisée par l'homme. Le cycle de l'eau est lui même une forme de réutilisation.

Les villes et les industries s'approvisionnent et rejettent leurs déchets dans les mêmes cours d'eau, qui alimentent ensuite les usagés situés en aval.

Autrefois, la dilution et l'autoépuration des eaux suffisaient en général à rendre un tel système satisfaisant, mais il est évident qu'aujourd'hui du fait de la croissance démographique et industrielle, de graves nuisances et des répercussions économiques et sanitaires d'une grande portée <sup>peuvent surgir</sup>. Devant cette situation, l'indifférence initiale a fait progressivement place à une vive inquiétude.

Depuis quelques années, les pollutions des eaux, surtout celle causée par les nitrates, sont l'ordre du jour dans tous les pays industrialisés. En effet, les nitrates sont indésirables dans l'eau de boisson à concentration élevée car ils peuvent d'une part provoquer une méthémoglobinémie chez les nourissons, et d'autre part, avoir un effet cancérogène chez les adultes dans certaines conditions. De plus, les nitrates participent à un phénomène qui atteint les rivières et les lacs et qui dégrade leurs caractéristiques esthétiques et organoléptiques : l'eutrophisation.

L'élimination des nitrates peut se faire par plusieurs procédés. Néanmoins, le procédé biologique qui s'appelle la dénitrification s'est avéré le plus économique et le plus fiable.

Dans notre travail, nous nous sommes proposés d'étudier la faisabilité de la dénitrification hétérotrophe par le sang récupéré dans les ateliers d'abattoirs .

Dans un premier temps, nous déterminerons l'influence de la charge massique de nitrates sur le rendement de dénitrification dans un bioréacteur en continu à recirculation de biomasse, ainsi que les paramètres cinétiques de ce système .

Dans un second temps, nous étudierons la cinétique de dénitrification dans un réacteur en batch et nous déterminerons la constante de Monod relative à la matière organique .

CHAPITRE I

---

POLLUTION AZOTEE

## 1-1. LE CYCLE DE L'AZOTE

## 1-1.1. INTRODUCTION

L'azote est un élément omniprésent dans la nature. Sa majeure partie se trouve dans l'atmosphère sous la forme moléculaire.

Dans les sols et les eaux, il est surtout impliqué dans des liaisons chimiques formant des substances azotées minérales et organiques qui évoluent suivant des transformations plus ou moins compliquées. L'ensemble de ces transformations constitue le cycle de l'azote (1) qui peut être schématiquement représenté comme dans la figure 1.1.

## 1-1.2. SES PRINCIPALES ETAPES

## 1-1.2.1. La fixation

C'est la réduction de l'azote moléculaire atmosphérique en une forme assimilable, l'ammoniac, par certaines bactéries et algues (2). Ce processus est représenté par le mécanisme réactionnel suivant:



## 1-1.2.2. L'ammonification

C'est la minéralisation de l'azote organique en azote ammoniacal. Les réactions qui participent à la libération d'ammoniac sont principalement: l'hydrolyse de l'urée et la désamination oxydative et réductive des substances organiques azotées (1)

## 1-1.2.3. L'assimilation

Elle correspond à la transformation des <sup>substances</sup> azotées minérales ou organiques, inertes, en matières vivantes.

Les microorganismes assimilent préférentiellement l'ammoniac au nitrates. Ces derniers ne sont assimilables qu'après leur réduction en ammoniac.

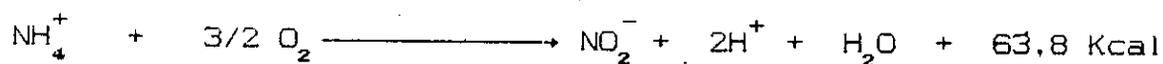
## 1-1.2.4. La nitrification

La nitrification est l'un des phénomènes le mieux connus du cycle de l'azote (2).

Elle est généralement de nature autotrophique et se décompose en deux étapes (2) :

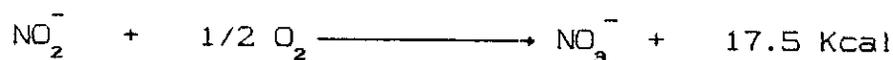
## a- La nitritation :

C'est l'oxydation de l'ion ammonium en ion nitrite par des bactéries nitreuses comme Nitrosococcus et Nitrosomonas (1).



## b- La nitratation

C'est l'oxydation de l'ion nitrite en ion nitrate par les bactéries nitriques du genre Nitrobacter (1).



#### 1-1.2.5. La dénitrification

C'est la réduction de l'azote nitrique à l'état d'azote gazeux par l'intermédiaire des bactéries dénitrifiantes autotrophes ou hétérotrophes (1) .

### 1-2. LES DIFFÉRENTES ORIGINES DES SUBSTANCES AZOTÉES

#### 1-2.1. ORIGINE DOMESTIQUE

Les eaux résiduaires domestiques contiennent comme forme d'azote : l'azote ammoniacal, l'azote nitrique et l'azote organique . Ces formes proviennent surtout des rejets d'urines (1) .

#### 1-1.2. ORIGINE INDUSTRIELLE

Les effluents industriels contribuent énormément à l'augmentation de la pollution azotée dans les cours d'eau . Ceci est confirmé par les chiffres du tableau 1-1 .

#### 1-2.3. ORIGINE AGRICOLE

L'utilisation des engrais azotés et la pratique de l'épandage du fumier dans les cultures intensives font également augmenter la concentration des substances azotées dans les eaux surtout celles des nappes phréatiques (1) .

### 1-3. IMPACT DES NITRATES SUR LA SANTE HUMAINE ET SUR L'ENVIRONNEMENT

#### 1-3.1. IMPACT DES NITRATES SUR LA SANTE HUMAINE

La concentration des nitrates dans les eaux potables est un facteur déterminant de la santé des enfants durant les six premiers mois de leur vie. Les enfants les plus âgés et les adultes ne sont pas concernés (4).

En effet, les nitrates ingérés par les adultes ne sont pas affectés par le transit digestif, alors que chez les nourrissons et à cause de leur hypoacidité gastrique et de leur flore intestinale réductrice, les nitrates sont réduits en nitrites (4). Ces nitrites passent dans le sang et se combinent à l'hémoglobine pour donner la méthémoglobine qui est incapable de fixer l'oxygène (figure 1.2) (5). Il s'ensuit donc, des troubles plus au moins graves comme les cyanoses, les asphyxies musculaires et même la mort (6).

Les nitrites présentent un autre risque plus grave encore :

En présence de certaines amines dans l'intestin, ils peuvent réagir pour former des nitrosamines connues depuis longtemps comme des substances cancérigènes (5).

#### 1-3.2. IMPACT DES NITRATES SUR L'ENVIRONNEMENT

Dans les rivières et les lacs, les nitrates participent au phénomène d'eutrophisation qui est un enrichissement en substances nutritives aboutissant à un développement excessif et anormal de la végétation aquatique (7).

L'eutrophisation est la cause de plusieurs nuisances, parmi lesquelles nous citons les plus importantes :

- dégagement d'odeurs nauséabondes .
- asphyxie des milieux aquatiques .
- mort des poissons .

#### 1-4. NORMES

Pressentant les risques que présentent les nitrates tant sur la santé humaine que sur l'environnement, plusieurs pays et organismes ont établie des normes au-delà desquelles ces substances peuvent être nuisibles .

Pour l'eau potable, nous citons les normes suivantes (5) :

- Norme américaine : 10 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l
- Norme suédoise : 6.6 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l
- Norme de la communauté européenne : 11.6 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/l

TABLEAU.1-1. ( d'après H.ROQUES (3) )

ORIGINE	DBO <sub>5</sub> ( mg/l )	NTK ( mg/l )	$\frac{DBO}{NTK}$
Eaux de lavage des sucreries	1200-1400	21-70	57-66
Eaux de lavage des laiteries	200-1500	10-60	20-25
Eaux de lavage de brasseries	600	160	4
Eaux de lavage d'abattoirs	840	145	5.8
Eaux de lavage de laine	10000	140	71
Effluent de papetrie	200-1000	5-20	10-50
Effluent de teinturerie	100-800	5-20	10-20
Effluent de cokerie	1500-3000	500-3500	1-3
Effluent de fabrique d'engrais	100	150-5000	0.1





## ELIMINATION DES NITRATES

### 2-1. INTRODUCTION

L'élimination des nitrates peut se faire soit par des procédés physico-chimiques soit par des procédés biologiques .

Le choix entre ces procédés dépend de nombreux facteurs parmi lesquels nous citons (8) :

- la charge de nitrates à éliminer .
- l'utilisation finale de l'eau traitée .
- les contraintes techniques et économiques .

### 2-2. PROCÉDES PHYSICO-CHIMIQUES

Ce sont surtout des procédés concentrateurs permettant de retenir les ions nitrates conjointement à d'autres ions, et ils sont au nombre de trois .

#### 2-2.1. L'ECHANGE D'IONS

Il consiste à percoler l'eau à traiter sur un lit de résines anioniques fortes de nature synthétique qui fixent les nitrates et les remplacent stoechiométriquement par des ions chlorures .

Cette méthode présente des rendements très importants allant de 95 à 99 % (1) . Néanmoins, plusieurs inconvénients lui sont associés (8) :

- En présence de matières organiques, les résines sont empoisonnées et perdent progressivement leur capacité d'adsorption.
- Relargage éventuel des nitrosamines qui sont cancérigènes.
- Un traitement des eaux de régénération est obligatoire.

### 2-2.2. L'ELECTRODIALYSE ET L'OSMOSE INVERSE

Ce sont des techniques membranaires où on utilise les propriétés des membranes spécifiques pour séparer une solution et un solvant sous l'effet d'une force extérieure (9).

Dans le cas de l'osmose inverse, il s'agit d'une mise en pression de l'effluent à traiter, tandis que dans le cas de l'électrodialyse il s'agit d'un champ électrique (9).

Ces deux techniques ont des rendements de l'ordre de 50 % et présentent aussi certains inconvénients (8) :

- La présence des matières organiques favorise le développement des microorganismes qui tendent à colmater les membranes et diminuent ainsi le rendement d'épuration.
- Les sels peu solubles tels que le  $\text{CaCO}_3$  ont tendance à déposer des précipités sur les membranes.

## 2-3. PROCÉDE BIOLOGIQUE

L'élimination biologique des nitrates est un processus microbien appelé dénitrification au cours duquel les nitrates sont réduits en azote moléculaire et en faible proportion en oxyde d'azote (1) .

Avant d'aborder la description en détail de cette élimination, nous allons tout d'abord exposer les notions les plus importantes de la microbiologie sur lesquelles se basent tous les traitements biologiques .

### 2-3.1. GENERALITES SUR LA MICROBIOLOGIE

#### 2-3.1.1. Besoins des microorganismes

Comme tous les êtres vivants, les microorganismes ont besoin de trouver dans leur milieu une source énergétique et des substances chimiques indispensables à la synthèse de leurs constituants cellulaires et à leur reproduction (10) .

##### 2-3.1.1.1. source d'énergie

L'énergie utilisée par les microorganismes est essentiellement sous ses formes chimique et lumineuse (11) .

Selon le type de sources, on peut voir deux catégories de microorganismes (12) :

- Les phototrophes : Ce sont ceux qui utilisent la lumière comme source d'énergie .
- Les chimiotrophes : Ce sont ceux qui utilisent les réactions d'oxydo-réduction pour tirer de l'énergie .

##### 2-3.1.1.2. Source de carbone

Le carbone est le constituant essentiel de la cellule . Selon la forme chimique du carbone utilisé, on distingue deux classes de microorganismes (13) :

- Les autotrophes : Ce sont des microorganismes utilisant le carbone minéral .
- Les hétérotrophes : Ce sont des microorganismes utilisant le carbone organique .

#### 2-3.1.1.3. Source d'azote

Pour synthétiser leurs protéines qui représentent environ 10 % de leur poids sec, les microorganismes ont besoin de substances azotées (13) .

En général, les microorganismes utilisent les formes minérales de l'azote , mais il existe certains qui sont capables de fixer l'azote moléculaire (2) .

#### 2-3.1.1.4. Source de soufre et de phosphore

Le soufre est utilisé par les microorganismes pour synthétiser les acides aminés, tandis que le phosphore est utilisé pour synthétiser les acides nucléiques et d'autres composants cellulaires (13) .

#### 2-3.1.1.5. Source d'oligo-éléments

D'autres éléments chimiques comme le fer , le manganèse , le magnésium et le cobalt et qu'on appelle les oligo-éléments sont indispensables à la croissance des microorganismes à l'état de traces (13) .

#### 2-3.1.2. les enzymes

##### 2-3.1.2.1. introduction

Toutes les activités qu'accomplissent les microorganismes pour se nourrir, ainsi que les réactions qui les accompagnent ne peuvent avoir lieu à des températures élevées parce qu'elles sont incompatibles avec la vie cellulaire . C'est pourquoi, elles nécessitent l'intervention de catalyseurs appelés enzymes pour remédier à l'absence de source d'énergie d'activation (10) .

### 2-3.1.3. Métabolisme des microorganismes

#### 2-3.1.3.1. Définition

Le métabolisme est l'ensemble des réactions chimiques qui se produisent au niveau de la cellule et qui ont pour but la croissance et le maintien de l'intégrité cellulaire ainsi que la reproduction (14) .

Selon que ces réactions interviennent dans le sens de la dégradation ou dans le sens de la synthèse on aura (12) :

- Le catabolisme : C'est la somme des réactions d'oxydation et de dégradation enzymatiques fournissant de l'énergie à la cellule .
- L'anabolisme : C'est la somme des réactions de synthèse grâce aux quelles des éléments simples fournis à la cellule ou résultant de la dégradation sont réunis en constituants cellulaires .

#### 2-3.1.3.2. Métabolisme des autotrophes

On distingue deux catégories d'autotrophes (12) :

- Les chimio-autotrophes : Ce sont des microorganismes utilisant le carbone inorganique pour l'anabolisme et tirent leur énergie de l'oxydation de substances inorganiques . L'oxygène est, en général, l'accepteur final d'électrons .
- Les photo-autotrophes : Ce sont des microorganismes utilisant le dioxyde de carbone comme source de carbone et tirent leur énergie de la lumière solaire .

#### 2-3.1.3.3. Métabolisme des hétérotrophes (12), (13) :

Les hétérotrophes utilisent la même substance organique comme source de carbone et source d'énergie .

Une partie des substances absorbées est oxydée pour en tirer de l'énergie, tandis que l'autre partie est utilisée pour la biosynthèse .

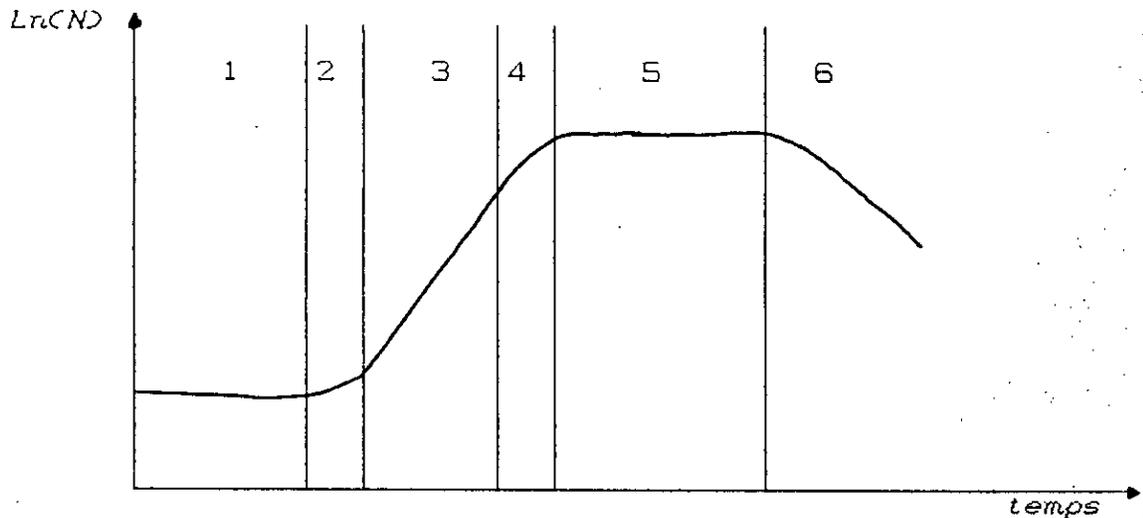


Fig.2-1. Courbe de croissance bactérienne  
( d'après R. SCRIBAN (10) )

#### 2-3.1.4.2. Modélisation de la croissance bactérienne

Le modèle le plus utilisé pour traduire la croissance bactérienne est celui de MONOD (15). Cet auteur, en se basant sur le concept de la réaction maîtresse des mécanismes enzymatiques a représenté l'assimilation bactérienne d'un substrat par une équation analogue à celle de MICHAELIS-MENTEN et cela en remplaçant tout simplement les vitesses  $V$  et  $V_{max}$  par les taux de croissance (11) :

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{S + K_S} \quad (2-2)$$

$\mu$  : taux de croissance des bactéries

$\mu_{max}$  : taux de croissance maximal

$K_S$  : constante de demi-saturation

$S$  : concentration du substrat

La constante  $K_S$  exprime l'affinité des microorganismes pour leur substrat. Plus cette constante est petite et plus l'affinité est grande et inversement (11).

#### 2-3.1.4.3. Les effets des facteurs du milieu sur la croissance

Le milieu dans lequel se trouvent les microorganismes influe énormément sur leur degré de croissance.

Parmi les facteurs qui participent à cette influence, nous citons les plus importants. A savoir la température et le pH.

##### 2-3.1.4.3.1. La température

La température exerce une influence déterminante sur l'ensemble de l'activité microbienne.

Pour tout microorganisme, le taux de croissance atteint sa valeur maximale dans une zone relativement étroite de températures optimales (12).

D'une manière générale, l'effet de la température sur la vitesse de croissance a la même allure que celle de la courbe représentée sur la figure 2-2.

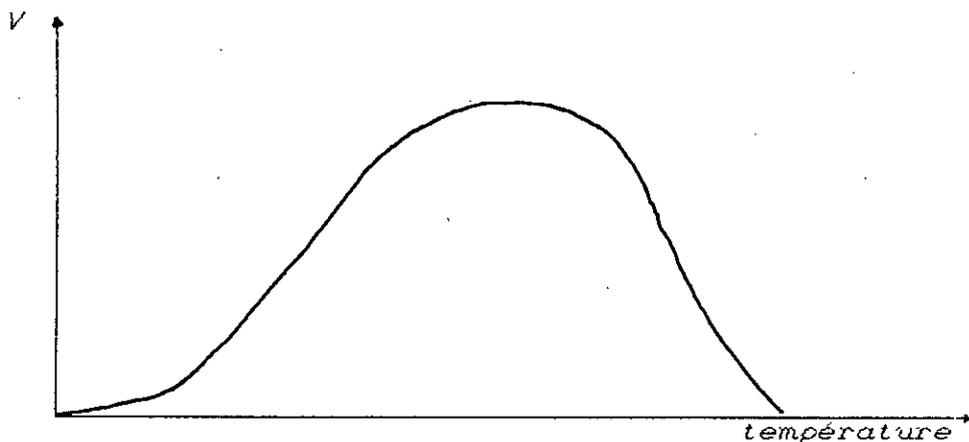


Fig 2-2. Effet de la température sur la vitesse de croissance  
( d'après L.D. BENEFIELD (10) )

## 2-3.1.4.3.2. Le pH

L'effet du pH se traduit par une allure comparable à celle de l'effet de la température .

Pour la plus part des bactéries, le pH optimum se trouve entre 6.5 et 7 (1) .

## 2-3.2. MECANISME DE LA DENITRIFICATION

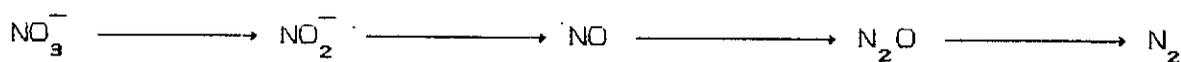
La dénitrification ou la réduction biologique des nitrates se fait suivant deux voies :

## 2-3.2.1. Réduction assimilative

Les nitrates sont réduits par les bactéries en ions ammonium qui leur servent comme source d'azote pour la synthèse des protéines et autre constituants cellulaires (1) .

## 2-3.2.2. Réduction dessimilative

Les nitrates sont utilisés par les bactéries comme accépteurs finaux d'électrons et ils sont réduits à l'état d'azote gazeux par plusieurs réactions successives (1) :



Etant donné que le rendement cellulaire en conditions anoxiques est nettement plus faible qu'en conditions aérobies ., une petite fraction de nitrates seulement est éliminée par assimilation . Par conséquent, la réduction dessimilative ou la dénitrification proprement dite est la principale voie par laquelle les nitrates sont éliminés .

En effet, elle représente 70 à 75 % de l'élimination des nitrates (12).

### 2-3.3.DENITRIFICATION AUTOTROPHE

Elle est réalisée principalement par *Thiobacillus dénitrificans*, une bactérie mobile et anaérobie facultative qui oxyde une large variété de composés soufrés pour réduire les nitrates en azote libre .

Cette bactérie n'assimile pas les nitrates et elle a besoin donc d'une source d'ammonium (16) .

### 2-3.4.DENITRIFICATION HETEROTROPHE

Elle résulte de l'activité métabolique de certaines bactéries hétérotrophes et anaérobies facultatives qui utilisent l'ion nitrate comme accepteur final d'électrons .

Recentment, on est arrivé à identifier plus de 70 genres bactériens différents qui contiennent des espèces dénitrifiantes (9) . Ils sont essentiellement *Achromobacter*, *Bacillus*, *Chromobacter*, etc (17) .

Dans la boue activée, ces bactéries sont très nombreuses et peuvent représenter jusqu'à 45 % de la biomasse (11) .

#### 2-3.4.1.Paramètres influençant la dénitrification hétérotrophe

##### 2-3.4.1.1.concentration en nitrates

Suivant la valeur de la constante de demi-saturation relative aux nitrates, la concentration de ces derniers peut ou ne peut pas avoir une influence sur la dénitrification .

En effet, pour une valeur très faible de cette constante, la cinétique est d'ordre zéro et la concentration n'a aucun effet. Par contre, pour une valeur trop élevée, la cinétique est d'ordre un et la vitesse de dénitrification est directement proportionnelle à la concentration en nitrates .

Pour la majorité des auteurs cette constante est de l'ordre du mg/l (1). Néanmoins, il existe certains auteurs qui l'ont évaluée à des valeurs dépassant de loin les concentrations usuelles de nitrates.

Cette disparité peut s'expliquer tout simplement par des conditions opératoires différentes.

#### 2-3.4.1.2. matière organique

L'influence de la matière organique comme celle de l'azote peut être décrite par l'expression de MICHAELIS-MENTEN :

$$V = k \frac{DCO}{DCO + K_c} \quad (2-3)$$

V : Vitesse de la réaction

k : Constante de vitesse.

DCO : Demande chimique en oxygène

$K_c$  : Constante de demi-saturation

Là aussi, il y a une divergence entre les auteurs en ce qui concerne la valeur de la constante de demi-saturation et par conséquent, l'ordre de la réaction.

En travaillant sur le méthanol comme source de carbone, STENSEL a trouvé un ordre égal à zéro (1) ECKENFELDER, Mc.KINNY et GAID quand à eux ont trouvé un ordre égal à un (8).

Cela peut être aussi expliqué par la différence des conditions opératoires ainsi que par l'utilisation de substrats plus ou moins biodégradables.

Source de carbone	Ordre de la réaction	Auteurs
Méthanol	1	GAID (8)
Glucose	1	GAID (8)
Cellulose	—	BOUSSAID (17)
Xylose	—	BOUSSAID (17)
Effluent de sucrerie	1	GAID (8)

Tableau. 2-1

Plusieurs sources de carbone ont été utilisées dans la dénitrification (Tableau 2-1), mais il faut noter que la source la plus assimilable par les bactéries dénitrifiantes est la matière organique dissoute dans l'eau (18) .

#### 2-3.4.1.3. température

Etant donné que la dénitrification est le fait d'un grand nombre de microorganismes, la plage de températures où s'effectue ce phénomène est très large et varie de 5 à 85 °C (1) . Néanmoins, une température de 27 °C s'est avérée la plus optimale pour la plus part des bactéries dénitrifiantes (3) .

En dessous de cette valeur, une corrélation a été établie entre la vitesse de dénitrification et la température. (17) :

$$V = 3.195 \cdot 10^{11} e^{-\frac{16800}{RT}} \quad (2-4)$$

V : Vitesse de la réaction  
R : Constante des gaz parfaits  
T : Température

#### 2-3.4.1.4. pH

Le pH influe sur la vitesse de dénitrification, sur la nature des produits de la réaction et sur le seuil de tolérance à l'oxygène dissous.

Pour un pH inférieur à 6, la dénitrification est indépendante de la concentration en oxygène dissous. Par contre pour des pH plus élevés, elle est inhibée (1).

Le pH optimum de la dénitrification se situe entre 7 et 8.5 (1).

#### 2-3.4.1.5. oxygène dissous

Les microorganismes dénitrifiants sont des anaérobies facultatifs. Ils respirent préférentiellement l'oxygène dissous à l'oxygène des nitrates

Avec des souches pures, la dénitrification est inhibée à une concentration en oxygène dissous égale à 0.2mg/l (1). Cependant, pour des cultures mixtes floculées cette valeur peut aller jusqu'à 6mg/l et ce grâce à la formation de microclimats anoxiques dans les flocs (1).

#### 2-3.4.2 Inhibition de la dénitrification

##### 2-3.4.2.1. inhibition par l'oxygène dissous

Comme nous l'avons vu plus haut, la dénitrification peut être inhibée par l'oxygène. Ce dernier intervient comme suit (3) :

- Il bloque le processus de formation des enzymes nécessaires à l'utilisation des nitrates.
- Il inhibe les enzymes déjà formés.

## 2-3.4.2.1. inhibition par les métaux lourds

Comme tous les traitements biologiques, la dénitrification est très sensible aux métaux lourds.

La figure 2-3 montre la réponse des microorganismes à l'augmentation de la concentration de ces métaux lourds.

En concentrations faibles, ces métaux servent à stimuler le processus biologique. Malheureusement quand leur concentration augmente, ils deviennent de plus en plus toxiques et finissent par arrêter complètement l'activité biologique (18).

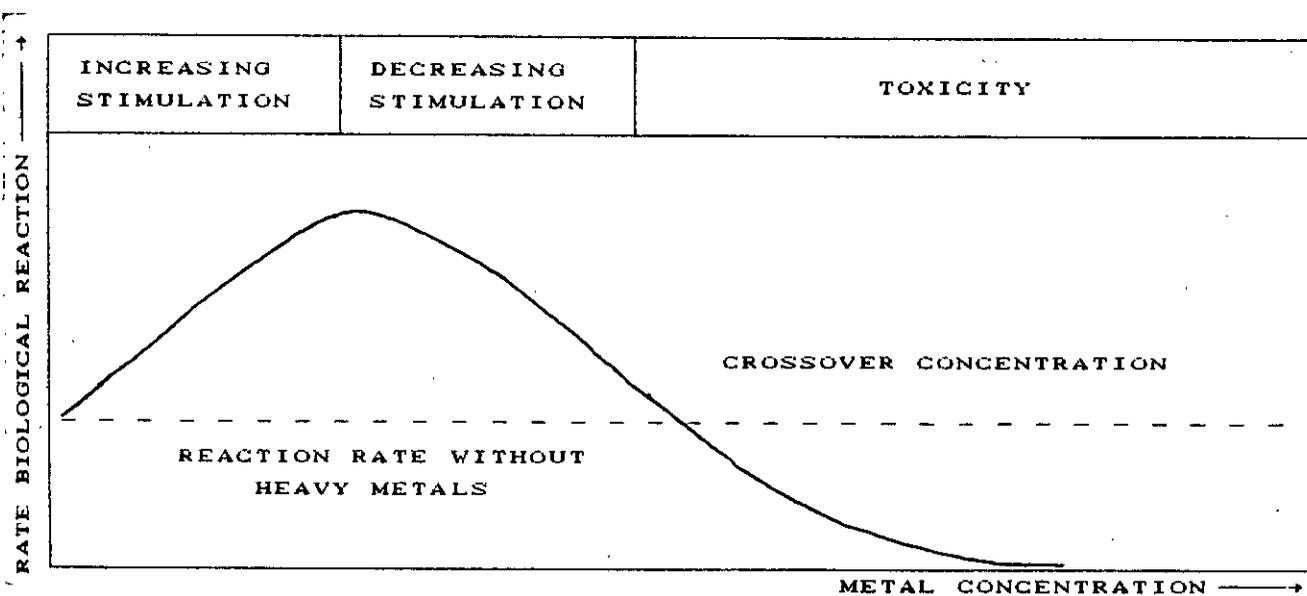


Fig 2-3. General effects of heavy metals on biological reaction.

( d'après M. BAGBY et H. CHERRAR (18) )

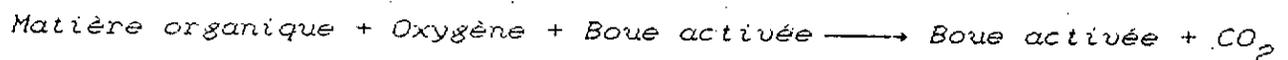
Citons enfin, qu'il existe des composés organiques comme l'acide pyruvique ou l'hydroxylamine qui peuvent aussi inhiber la dénitrification (1).

### 2-3.4.3. Technologie de la dénitrification

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

#### 2-3.4.3.1. Systèmes à boues activées

La boue activée est une culture biologique hétérogène constituée principalement de bactéries qui flottent librement dans l'eau sous forme de floccs avec laquelle ils sont en contact et assurent ainsi son épuration suivant le schéma réactionnel ci-après (3) :



Le réacteur à boues activées, où s'effectue la dénitrification, est généralement couvert pour minimiser l'absorption microbienne de l'oxygène atmosphérique. Toutefois, des petits orifices doivent être laissés pour l'évacuation du gaz carbonique et de l'azote gazeux formés (12).

Une bonne agitation de la liqueur est obligatoire pour avoir un bon contact entre les microorganismes et les nutriments et de là une meilleure épuration.

Malgré leur simplicité et leur fiabilité, les systèmes à boues activées présentent certains inconvénients (19) :

- Ils tolèrent difficilement les brusques variations de débit et de charge.
- Ils nécessitent des grandes surfaces.
- Ils présentent des risques de mauvaise décantation des boues et par conséquent une mauvaise épuration.

### 2-3.4.3.2. Systèmes à bactéries fixées

Ces systèmes consistent à faire passer de l'eau à travers un garnissage sur lequel est fixée une culture bactérienne accomplissant l'épuration de cette eau (12).

Il existe plusieurs variétés de ces systèmes, mais les plus utilisés sont les lits bactériens et les disques biologiques (12).

Ces systèmes, contrairement à ceux des boues activées, n'exigent pas des ouvrages de surface importante. Cependant, ils demandent des grandes quantités d'eau de lavage et une main-d'oeuvre qualifiée (19).

CHAPITRE III

---

## LES EFFLUENTS D'ABBATOIRS

### 3-1. CARACTERISTIQUES

Parmi les rejets des industries agroalimentaires, ceux des abattoirs ont été classés les plus nuisibles à l'environnement. En effet, ces rejets présentent des grandes concentrations de matières organiques putrescibles, un taux élevé de matières en suspension, une couleur sombre, une odeur très offensive et des germes pathogènes (15).

Le tableau 3-1 résume les différentes caractéristiques de ces rejets et montre qu'ils sont très riches en azote.

D'après des études statistiques, la forme organique représente généralement au moins 85 % de l'azote total et le reste est sous forme ammoniacale (20).

Cet azote provient surtout du sang et du lisier comme le montre le tableau 3-2.

### 3-2. TRAITEMENTS

Les traitements des effluents d'abattoirs se font suivant deux optiques :

La première qui les considère seulement comme des effluents polluants, consiste à les jeter complètement dans la station d'épuration.

La seconde, par contre, et qui est très ingénieuse, les considère comme une véritable ressource de protéines qui doivent être récupérées et valorisées.

Comme conséquence très économique à cette dernière optique, la charge polluante est fortement diminuée dès l'origine.

Pour les effluents qui sont rejetés après récupération ou non des protéines, le traitement le plus utilisé est sans doute la nitrification-dénitrification biologique qui présente l'avantage d'éliminer simultanément la pollution carbonée et azotée (21).

Etant donné que la dénitrification nécessite l'apport d'un substrat carboné, nous avons choisi dans notre étude d'utiliser le sang récupéré des ateliers d'abattoirs et cela vu sa grande abondance et sa richesse en nutriments.

Ce choix nous conduit à apporter quelques informations sur la composition du sang.

### 3-3.COMPOSITION DU SANG

Le sang est un produit organique constitué de 60 à 65 % d'un liquide jaune ambré appelé plasma au sein duquel se trouvent des cellules en suspension encore dénomées éléments figurés (22). Ces éléments comprennent :

- Les hématies ou globules rouges .
- Les globules blancs .
- Les plaquettes sanguines .

Le fractionnement du sang est illustré dans la figure 3-1 , tandis que sa composition est résumée dans le tableau 3-3 .

La plus part des protéines du sang sont solubles dans l'eau et contiennent un grand pourcentage de glucides (24) .C'est donc un milieu de culture idéal pour les microorganismes qui le contaminent, d'autant plus que sa température initiale est élevée et du fait de sa stérilité dans l'animal vivant, les contaminants ne sont pas soumis à la compétition des germes préexistants (25) .

Notons enfin que le sang coagule rapidement au contact de l'air . Ainsi, sa conservation sous forme liquide nécessite (22) :

- Un emploi d'anticoagulant comme les citrates, les polyphosphates ou l'EDTA .
- Une agitation mécanique .

TABLEAU.3-1  
( d'après G.SACHON (20) )

PARAMETRE		METHODE D'ANALYSE	UNITE	RESULTAT (moyenne et intervalle au seuil de 0.05)		
				Bovins et polyvalents	Porcins	Ensemble abattoirs de bétail
pH	Potentiel hydrogène	méthode électrochimique	$\mu S \times cm^{-1}$ °C	-	-	7.41 ± 0.21
Conductivité		méthode électrochimique		-	-	1844 ± 526
Température		thermomètre à mercure		-	-	entre 20 et 30
MES	matières en suspension	norme AFNOR T 90-105	mg/l g/kg	1774 ± 357 11,8 ± 2,5	1460 ± 693 9,3 ± 3,4	1735 ± 328 11,1 ± 4,1
MVS (des MES)	matières volatiles	calcination à 550 °C	mg/l	1499 ± 284	-	1536 ± 310
DCO	demande chimique en oxygène	norme AFNOR T 90-101	mg/l g/kg	5133 ± 1036 32,4 ± 5,2	4118 ± 1409 27,3 ± 9,0	4843 ± 814 31,0 ± 4,2
DBO <sub>5</sub>	demande biochimique en oxygène en 5 j	norme AFNOR T 90-103	mg/l g/kg	2105 ± 453 13,2 ± 2,2	1982 ± 661 13,2 ± 4,3	2069 ± 816 13,2 ± 1,8
SEC	substances extractibles au chloroforme = graisses	méthode gravimétrique après extraction au chloroforme à pH = 4 et évaporation du solvant	mg/l g/kg	897 ± 376 5,2 ± 1,5	- -	- -
N total	azote total en N	norme AFNOR T90-110 azote Kjeldahl	mg/l g/kg	247,6 ± 44,7 1,6 ± 0,28	261 ± 107 1,6 ± 0,51	248 ± 45 1,6 ± 0,2
PO <sub>4</sub> (P)	orthophosphates	norme AFNOR T 90-023	mg/l	22,1 ± 4,5	42,0 ± 19,4	27,5 ± 7,1
K	potassium en K	photométrie de flamme	mg/l	-	-	66,9
Ca	calcium en Ca	potentiométrie	mg/l	-	-	48,2
Mg	magnésium en Mg	potentiométrie	mg/l	-	-	6,3
Na	sodium en Na	photométrie de flamme	mg/l	-	-	177,2
Cl	chlorures en Cl	potentiométrie	mg/l	-	-	302,9

g/kg de carcasses = g/kg  
mg/l eaux résiduaires = mg/l.

TABLEAU 3-2 ( d'après SACHON (20) )

PRODUIT	DCO ( mg/l )	N ( mg/l )	SOURCE
PURIN	60	2	CEMAGREF-GIDA
LISIER	80	5	CEMAGREF-GIDA
SANG	320	25	CEMAGREF
MUCUS ( d'intestin grele de porc )	200	-	CEMAGREF

TABLEAU. 3-3

Constituants	Sang entier		Sérum = 66 % du sang entier		Plasma = 60 % du sang entier		Cruor = 34 % du sang entier	
<u>Constituants non protéiques</u>	83	(11,5)	92,5		92,1		64,9	
Eau	80,8		91,2		90,8		60,8	
Sels minéraux	0,9	( 4,7)	0,8		0,8		1,1	
Lipides	0,2	( 1)	0,1		0,1		0,4	
Autres substances	1,1	( 5,7)	0,4		0,4		2,6	
<u>Constituants protéiques</u>	17 (88)	100 %	7,5	100 %	7,9	100 %	35,1	100 %
Globulines	2,2	13 %	3,3	44 %	3,3	42 %		
Fibrinogène	0,3	1,7 %			0,4	5,1 %		
Albumines	2,8	16,5 %	4,2	56 %	4,2	53 %		
Stroma	1,7	10 %					5,1	14,5 %
Hémoglobine	10,0	59 %					30,0	85,5 %

(Les chiffres entre parenthèses représentent les proportions pondérales par rapport à la matière sèche).

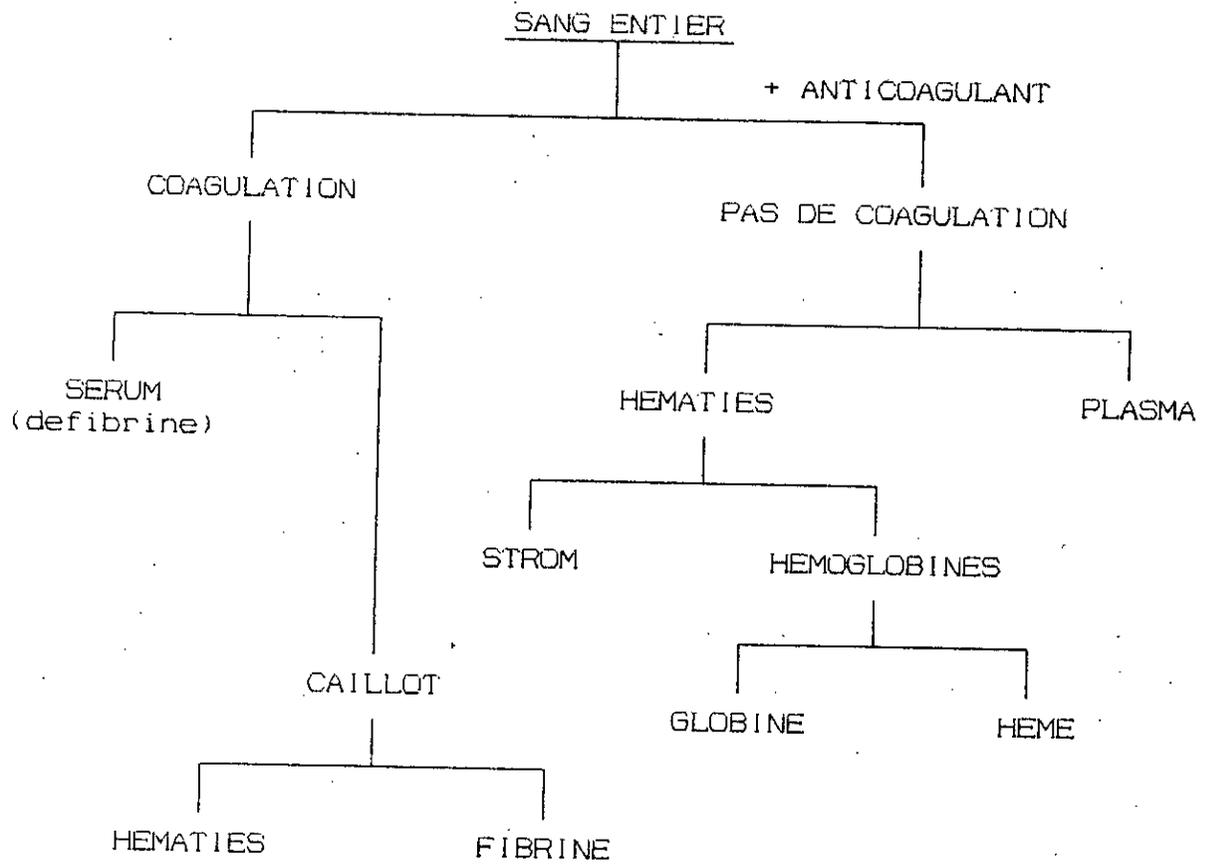


FIG 3.1 SCHEMA DE FRACTIONNEMENT DU SANG  
 ( d'après CHEFTEL (23) )



ETUDE DE LA DENITRIFICATION EN CONTINU  
DANS UN BIOREACTEUR A  
RECIRCULATION DE BIOMASSE

#### 4-1. INTRODUCTION

*Dans cette étude, nous avons supposé que les effluents d'abattoirs ont déjà subis une oxydation biologique complète de la matière organique et des ions ammonium et que la totalité de l'azote se trouve sous forme de nitrates .*

*Pour pouvoir faire notre étude et obtenir des résultats qui soient reproductibles et interprétables, nous avons utilisé une eau synthétique contenant en proportions variables des espèces censées représenter celles obtenues dans une eau réelle plus complexe .*

*En première partie de ce travail, nous avons sélectionné des bactéries dénitrifiantes en réacteur semi-continu .*

*En deuxième partie, nous avons étudié l'influence de la charge en nitrates sur le rendement de dénitrification en continu .*

*En dernière partie nous avons déterminé les paramètres cinétiques de cette dénitrification .*

## 4-2 SELECTION DES BACTERIES DENITRIFIANTES

### 4-2.1. MATERIELS ET METHODES

Le problème le plus couramment rencontré dans l'exploitation des installations de dénitrification utilisant les boues activées est leur mise en route. En effet, cette dernière est très lente et peut durer plusieurs semaines.

Pour résoudre ce problème et en se basant sur l'idée que dans une boue activée quelconque il y a un grand pourcentage de microorganismes capables de dénitrifier, nous avons fait une préculture qui nous a permis de sélectionner ces microorganismes.

#### 4-2.1.1. Prise d'échantillon

La prise d'échantillon de boues activées a été faite à la station d'épuration des eaux usées de la ville de BARAKI.

Les boues ont été prélevées au niveau du bassin d'aération puis tamisées sur place afin d'éliminer les grosses particules susceptibles de boucher les tuyaux que nous avons utilisés ultérieurement.

Pour avoir une grande concentration de biomasse, nous avons procédé à des décantations successives en jetant chaque fois le surnageant.

Notons, enfin, que ces boues ont été exploitées 20 minutes après leur prélèvement.

#### 4-2.1.2. Composition du milieu de culture

Les boues dénitrifiantes ont été sélectionnées dans un milieu de culture spécifique qui est composé de coprs chimiques simples dissous dans l'eau de robinet qui a un pH égal à 7.2.

Concentration de $\text{KNO}_3$	= 2 g/l
Concentration de $\text{KH}_2\text{PO}_4$	= 2 g/l
Concentration de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	= 10 mg/l
Concentration de $\text{MgCl}_2$	= 25 mg/l
Concentration de sang	= 12.5 ml/l

Au début de la préculture, le milieu est renouvelé chaque 24 heures après deux lavages de la biomasse et cela pour éviter tout risque d'inhibition de la dénitrification par les produits du métabolisme microbien .

Vers la fin de cette phase, le milieu est renouvelé après chaque 12 heures et cela à cause de son épuisement très rapide .

#### 4-2.1.3. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental ( schéma 4-1 ) comprend une bombonne en verre de 10 litres de volume, contenant 2.5 litres de boues activées concentrées et complétée à 5 litres avec le milieu de culture .

L'homogénéisation de la liqueur est assurée par une agitation mécanique .

Pour garder la température constante à 25 °C , la bombonne est placée dans un bain thermostaté .

#### 4-2.1.4. Analyses

Les paramètres que nous avons suivi dans le temps sont :

- L'abattement des nitrates : Après l'arrêt de l'agitation, nous laissons la liqueur décanter , puis nous prenons un échantillon du surnageant et nous lui faisons une préfiltration sur papier filtre puis une filtration sur papier Watman . Le filtrat est analysé .

- MVS : Le taux de MVS n'est déterminé que de temps en temps et cela parcequ'il n'oscille que légèrement autour de 5 g/l .
- La température : Le suivi de la température permet de voir sa constance .

Les méthodes employées sont citées dans l'annexe .

#### 4-2.2.RESULTATS :

La consommation de 1226 mg/l de nitrates, après 47 jours, est devenue possible en 12 heures avec un taux de MVS de 5 g/l .

La charge maximale en nitrates que peuvent éliminer les bactéries sélectionnées est donc :

$$C_{max} = 20.44 \text{ mg NO}_3^- / \text{gMVS.h}$$

### 4-3. INFLUENCE DE LA CHARGE EN NITRATES SUR LE RENDEMENT DE LA DENITRIFICATION :

#### 4-3.1. MATERIELS ET METHODES :

##### 4-3.1.1. Dispositif expérimental :

Le dispositif expérimental (schéma 4-2) comprend un bioréacteur en acier inoxydable de 2.65 litres de volume raccordé à un décandeur cylindroconique en plexiglas et une pompe péristaltique (modèle ) à débit variable et à deux têtes permettant la distribution de l'alimentation de l'eau synthétique et la recirculation des boues à travers des tuyaux de type Technicon .

L'apport de la source de carbone ( sang ) est réalisé par un compte-gouttes à partir d'un réservoir en plexiglas .

##### 4-3.1.2. Calcul des paramètres de fonctionnement du bioréacteur :

###### 4-3.1.2.1. Temps de séjour

Comme nous l'avons vu précédemment, la charge maximale de nitrates que peuvent éliminer les bactéries sélectionnées est :

$$C_{max} = 20.44 \text{ mg NO}_3^- / \text{gMVS.h}$$

Donc, pour une concentration de nitrates de 150 mg/l, le temps de séjour  $\theta_s$  est voisin de 3 heures .

###### 4-3.1.2.2. Débits :

Pour avoir une concentration de matière organique égale à 1g/l en  $\text{DBO}_5$ , le débit d'alimentation de la source de carbone est fixé à :

$$Q_c = 0.09 \text{ l/h}$$

D'après le schéma simplifié du dispositif expérimental (schéma 4-3) le taux de dilution dans le bioréacteur est donné par :

$$D = \frac{Q + rQ + Q_c}{V} \quad (4-1)$$

D : Taux de dilution

Q : Débit d'alimentation d'eau synthétique

Q<sub>c</sub> : Débit d'alimentation du sang

r : Taux de recirculation des boues

V : Volume du bioréacteur

Le débit d'alimentation d'eau synthétique et celui de la recirculation des boues sont égaux. Donc, le taux de recirculation des boues est :  $r = 1$ .

Par conséquent, l'expression du taux de dilution devient :

$$D = \frac{2Q + Q_c}{V}$$

Comme :

$$D = \frac{1}{\theta_s} \quad (4-2)$$

D : Taux de dilution

$\theta_s$  : Temps de séjour

En remplaçant le taux de dilution par son expression précédente, On aboutit à :

$$Q = \frac{V + \theta_s Q_c}{2\theta_s}$$

$$Q = 0.5 \text{ l/h}$$

## 4-3.1.3. Analyses :

Nous gardons le temps de séjour ainsi que la  $DBO_5$  introduite constants, 3 heures et 1 g/l respectivement et nous faisons des essais de dénitrification en continu qui s'étalent sur 10 jours avec des charges en nitrates de 150, 200, et 250 mg/l .

L'évacuation des boues en excès est faite manuellement .

Les paramètres que nous suivons chaque jour sont :

- La concentration de nitrates et la  $DBO_5$  à l'entrée du bioréacteur et la sortie du décanteur .

- La température et le pH dans le bioréacteur .

Les méthodes d'analyse employées sont citées dans l'annexe .

## 4-3.2. RESULTATS ET DISCUSSION :

Les différents résultats de ces trois essais sont rapportés dans les tableaux 4-1, 4-2, 4-3 .

Les variations en fonction du temps de la matière organique éliminée ( $DBO_5$ ) et du rendement de dénitrification ( $R_N$ ) sont représentées dans les figures 4-1, 4-2 et 4-3 . Elles correspondent respectivement aux charges : 150, 200, 250  $mgNO_3^-/l$  .

Nous remarquons de ces figures que la  $DBO_5$  éliminée évolue, dans la plus part du temps, de la même façon que le rendement de dénitrification . Cela nous amène à dire que l'élimination des nitrates est due au métabolisme de la matière organique . L'élévation du pH de l'eau confirme cette idée ( le pH initial de l'eau est 7.2 ) .

Les grandes valeurs de la  $DBO_5$  éliminée enregistrées de temps en temps sont dues à l'accumulation des boues dans le bioréacteur à la suite de l'obstruction partielle du tuyau reliant le décanteur et le bioréacteur .

Ces grandes valeurs n'ont aucune influence sur le rendement de dénitrification . C'est pourquoi, nous pensons qu'une partie de la matière organique éliminée n'est pas oxydée mais elle est adsorbée directement sur les floccs des boues activées .

De façon générale, en changeant la charge en nitrates, le rendement d'élimination de la matière organique ne varie que légèrement, par contre le rendement de dénitrification varie beaucoup ( tableau 4-1 ) . Cela peut être expliqué par le temps de séjour qui est gardé constant .

La figure 4-4 qui représente la variation du rendement de dénitrification moyen en fonction du rapport de la  $DBO_5$  introduite et de la charge en nitrates montre que ces deux grandeurs évoluent de la même manière et que l'augmentation du rendement de dénitrification peut se faire de deux façons . Soit par la diminution de la charge en nitrates . Soit par l'augmentation de la  $DBO_5$  introduite .

## 4-4. DETERMINATION DES PARAMETRES CINETIQUES

## 4-4.1. MODELE CINETIQUE

Dans un réacteur biologique à recirculation de biomasse :

- La concentration de la matière organique  $S$  présente dans l'effluent traité est donnée par :

$$S = \frac{K_s (1 + k_d \theta_x)}{\theta_x (\mu_{\max} - k_d) - 1} \quad (4-3)$$

$S$  : Concentration du substrat ( matière organique ) .

$K_s$  : Constante de demi-saturation .

$k_d$  : Coefficient de respiration endogène .

$\theta_x$  : Age des boues .

$\mu_{\max}$  : Taux de croissance maximal .

- La concentration de la biomasse dans le bioréacteur est donnée par :

$$X = Y \frac{\theta_x (S_o - S)}{\theta_s (1 + k_d \theta_x)} \quad (4-4)$$

$X$  : Concentration de la biomasse .

$Y$  : Rendement de conversion .

$S_o$  : Concentration du substrat à l'entrée du bioréacteur .

$S$  : Concentration du substrat à la sortie du bioréacteur .

$\theta_x$  : Age des boues .

$\theta_s$  : Temps de séjour .

$k_d$  : Coefficient de respiration endogène .

- L'âge des boues ou le temps de rétention de la biomasse est donné par :

$$\theta_x = \frac{VX}{Q_w X + (Q - Q_w) X_e} \quad (4-5)$$

$\theta_x$  : Age des boues

$X$  : Concentration de la biomasse dans le bioréacteur

$X_e$  : Concentration de la biomasse dans l'effluent traité

$Q$  : Débit d'alimentation d'eau synthétique

$Q_w$  : Débit d'élimination des boues en excès

$V$  : Volume du bioréacteur

Ces trois équations ont été établies et discutées par BENEFIELD (12), et plusieurs auteurs ont démontré et confirmé leur applicabilité (15), les formes linéarisées des équations 4-3 et 4-4 permettent de déterminer les paramètres cinétiques :

$\mu_{max}$ ,  $K_s$ ,  $Y$  et  $k_d$ .

$$\frac{S_o - S}{X\theta_s} = \frac{1}{Y\theta_x} + \frac{k_d}{Y} \quad (4-6)$$

$$\frac{1}{S} = \frac{\mu_{max} \theta_x}{K_s (1 + \theta_x k_d)} - \frac{1}{K_s} \quad (4-7)$$

$Y$  et  $k_d$  sont déterminés, respectivement, à partir de la pente et l'ordonnée à l'origine de la droite représentant  $(S_o - S) / X\theta_s$  en fonction de  $1 / \theta_x$  (équation 4-6).

$\mu_{\max}$  et  $K_S$  sont déterminés, respectivement, à partir de la pente et l'ordonnée à l'origine de la droite représentant  $1/S$  en fonction de  $\theta_x / (1 + \theta_x k_d)$  (équation 4-7).

#### 4-4.2. MATERIELS ET METHODES

##### 4-4.2.1. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est le même que celui utilisé dans la partie précédente (schéma 4-1).

L'élimination des boues en excès n'est pas effectuée manuellement mais avec une pompe péristaltique à débit variable.

Le temps de séjour  $\theta_S$  est gardé constant à 3 heures.

La bonne décantation des boues, nous laisse supposer que le taux de MVS ( $X_E$ ) dans l'effluent traité est nul. Par conséquent, l'expression de l'âge des boues devient :

$$\theta_x = \frac{V}{Q_w} \quad (4-8)$$

$\theta_x$  : Age des boues

$V$  : Volume du bioréacteur

$Q_w$  : Débit d'élimination des bous en excès

Nous pouvons, donc, varier l'âge des boues en variant tout simplement le débit d'élimination des boues en excès.

## 4-4.2.2. Composition du milieu

Concentration de $\text{NO}_3^-$	= 150 mg/l
Concentration de $\text{MgCl}_2$	= 25 mg/l
Concentration de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	= 10 mg/l
DCO	= 1 g/l

## 4-4.2.3. Analyse

Quand le régime stationnaire est atteint, après chaque variation de l'âge des boues, nous enregistrons la DCO et la concentration de nitrates dans l'effluent traité et le taux de MVS dans le bioréacteur.

Les méthodes employées sont dans l'annexe.

## 4-4.3. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de cet essai sont rassemblés dans le tableau 4-4. D'après ce tableau nous remarquons que les rendements de dénitrification et d'élimination de la matière organique sont plus grands que ceux enregistrés précédemment. Nous pensons que cela est dû à l'ajout des oligo-éléments dans l'alimentation.

A partir des données du tableau 4-5, nous représentons la variation de  $(S_0 - S) / X\theta_S$  en fonction de  $1/\theta_X$  (figure 4-5) et nous tirons :

$$Y = 0.473$$

$$k_d = 0.006 \text{ h}^{-1}$$

Par ailleurs, la variation de  $1/S$  en fonction de  $\theta_x / (1 + k_d \theta_x)$  représentée sur la figure 4-5 d'après les données du tableau 4-6 nous permet de tirer :

$$\mu_{\max} = 0.196 \text{ h}^{-1}$$

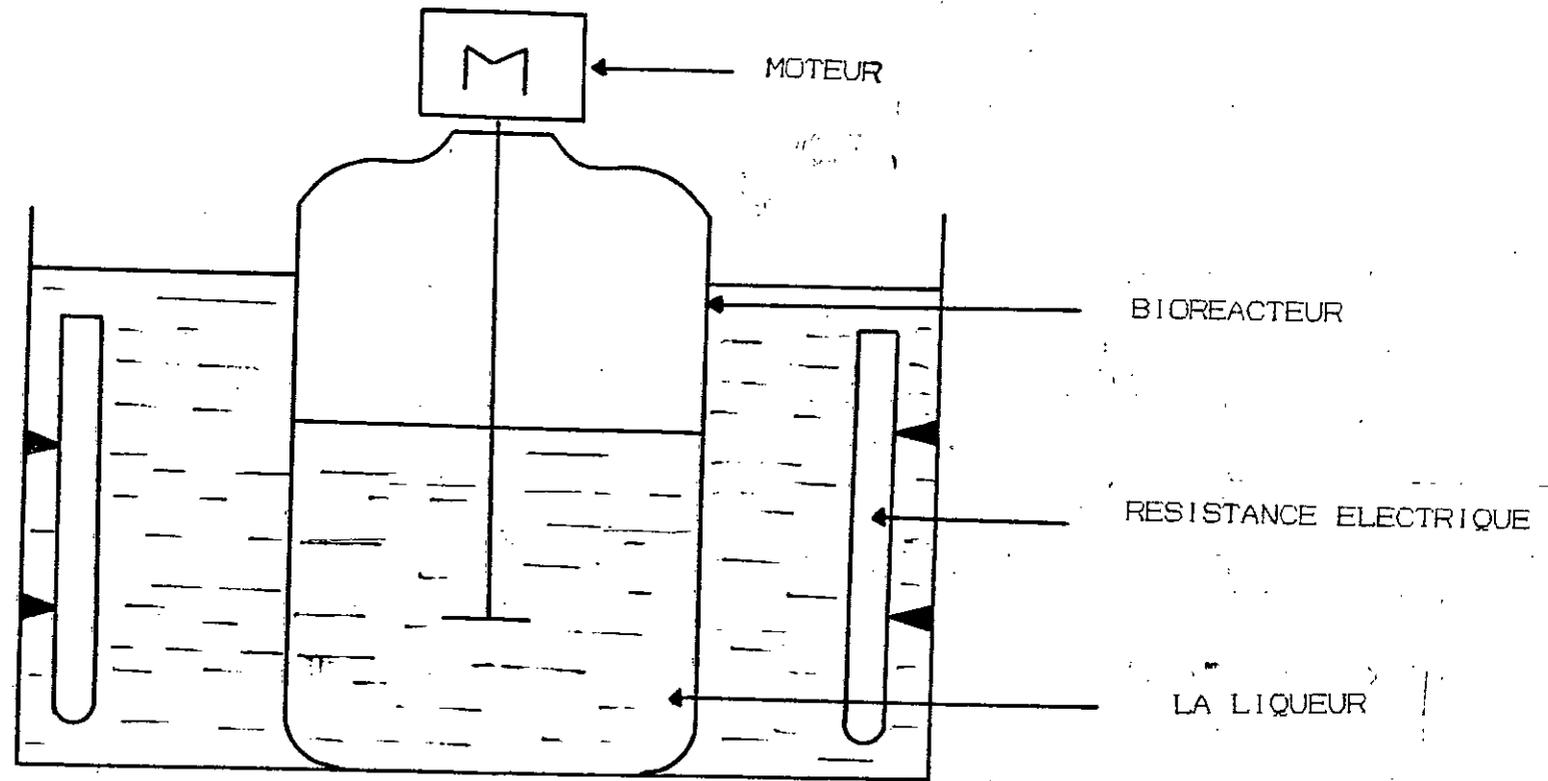
$$K_C = 78.6 \text{ mg/l}$$

La grande valeur du rendement de conversion de la matière organique en biomasse  $Y$ , ainsi que la faible valeur du coefficient de respiration endogène  $k_d$  explique la grande production de biomasse, tandis que la faible valeur de  $K_S$  traduisant l'affinité des bactéries pour leur substrat explique les rendements élevés de l'élimination de la matière organique.

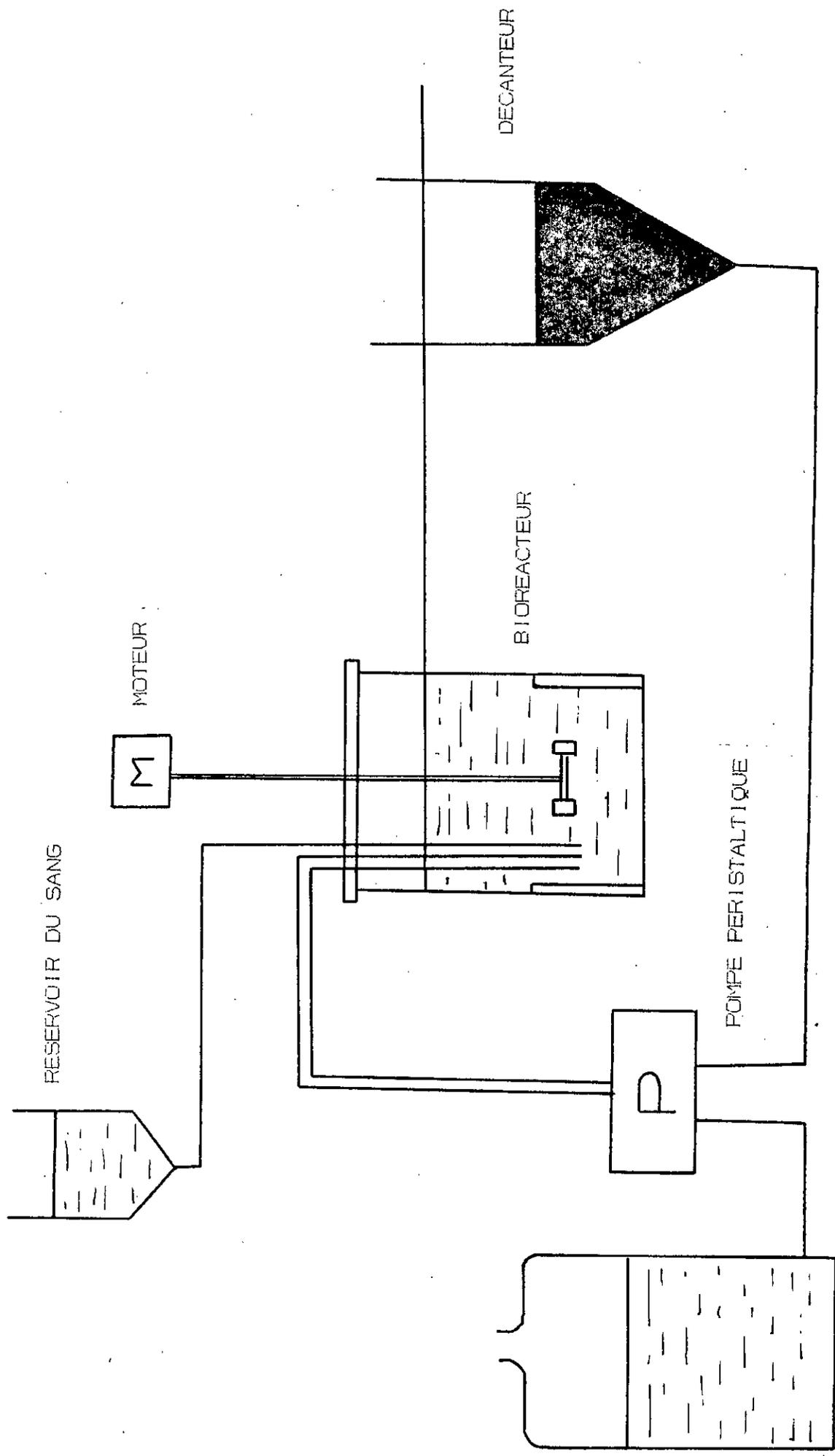
#### 4.4. CONCLUSION

Nous avons constaté, dans ce chapitre, que le rendement de dénitrification croît avec le rapport de la DBO<sub>5</sub> introduite et la charge en nitrates, et que l'ajout des oligo-éléments dans l'alimentation augmente ce rendement ainsi que celui de l'élimination de la matière organique.

Par ailleurs, les valeurs des constantes cinétiques déterminées montrent que les microorganismes dénitrifiants sélectionnés ont une bonne affinité pour la matière organique du sang et une grande vitesse de reproduction.

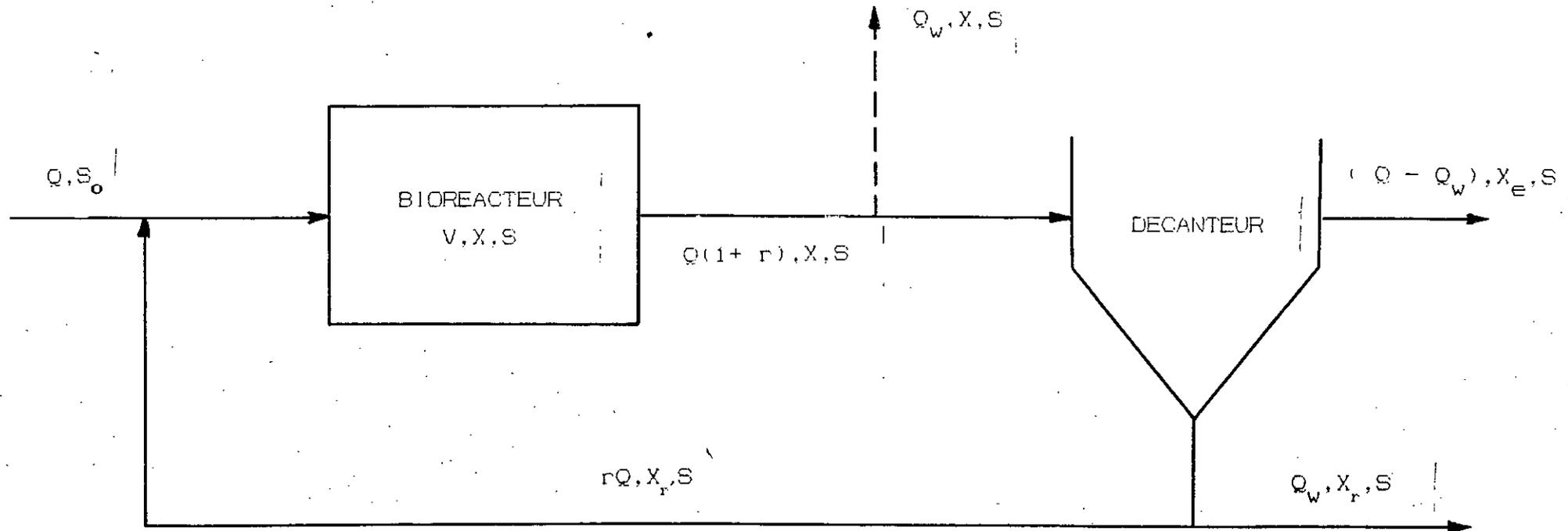


SCHEMA.4-1. DISPOSITIF EXPERIMENTAL



RESERVOIR D'ALIMENTATION  
D'EAU SYNTHETIQUE

SCHEMA 4-2. DISPOSITIF EXPERIMENTAL



SCHEMA.4-3 SCHEMA DE BASE D'UN BIOREACTEUR EN CONTINU  
 A RECIRCULATION DE BIOMASSE

TABLEAU.4-1  
 (  $[\text{NO}_3^-]_0 = 150 \text{ mg/l}$  )

Temps (j)	MVS (mg/l)	$[\text{NO}_3^-]_e$ (mg/l)	$\text{DBO}_e$ (mg/l)	pH	T (°C)	$R_C$ (%)	$R_N$ (%)
1	2960	128	880	8.40	24	88	83
2	2622	120	795	8.07	24	79.5	81
3	2613	123	750	8.13	22	75	81
4	2657	119	800	7.59	22	80	79
5	2973	128	990	8.39	23	91	82
6	2632	128	820	7.86	25	82	80
7	2592	119	760	8.01	24	76	78
8	2631	118	795	8.18	24	79.5	78
9	2645	121	830	7.92	24	83	82
10	3204	123	940	7.79	25	94	81

$[\text{NO}_3^-]_e$  :  $[\text{NO}_3^-]$  éliminée  
 $\text{DBO}_e$  : DBO éliminée

$R_C$  : rendement d'élimination de la DBO  
 $R_N$  : rendement d'élimination de  $\text{NO}_3^-$

TABLEAU.4-2  
 (  $[NO_3^-]_0 = 20 \text{ mg/l}$  )

Temps (j)	MVS (mg/l)	$[NO_3^-]_e$ (mg/l)	$DBO_e$ (mg/l)	pH	T (°C)	$R_C$ (%)	$R_N$ (%)
1	2610	153	890	8.23	25	89	74
2	2832	150	910	8.41	25	91	76
3	2549	151	830	7.90	24	83	75
4	2607	150	860	8.06	26	86	73
5	2813	154	915	8.17	26	91.5	76
6	2941	146	930	8.44	25	93	73
7	2518	161	840	7.79	26	84	77
8	2504	152	840	8.15	26	84	76
9	2554	151	845	8.28	27	84.5	74
10	2582	154	855	8.03	26	85.5	76

$[NO_3^-]_e$  :  $[NO_3^-]$  éliminée

$DBO_e$  : DBO - éliminée

$R_C$  : rendement d'élimination de la DBO

$R_N$  : rendement d'élimination de  $NO_3^-$

TABLEAU. 4-3  
 (  $[NO_3^-]_o = 250 \text{ mg/L}$  )

Temps (j)	MVS (mg/l)	$[NO_3^-]_e$ (mg/l)	DBO <sub>e</sub> (mg/l)	pH	T (°C)	R <sub>C</sub> (%)	R <sub>N</sub> (%)
1	2539	162	840	8.13	26	84	65
2	2480	156	800	8.41	23	80	62
3	2611	174	900	8.02	26	90	70
4	2574	170	880	7.75	25	88	67
5	2558	162	830	8.17	25	83	65
6	2503	162	825	7.85	26	82.5	64
7	2890	174	930	8.43	26	83	68
8	2512	157	840	7.90	25	84	64
9	2619	170	885	8.10	25	88.5	67
10	2570	166	875	8.00	24	87.5	66

$[NO_3^-]_e$  :  $[NO_3^-]$  éliminée

DBO<sub>e</sub> : DBO éliminée

R<sub>C</sub> : rendement d'élimination de la DBO

R<sub>N</sub> : rendement d'élimination de  $NO_3^-$

TABLEAU.4-4

$Q_w$ (l/h)	$\theta_x$ ( h )	$1/\theta_x$ (h <sup>-1</sup> )	X (mg/l)	S (mg/l)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/l)	R <sub>S</sub> ( % )	R <sub>N</sub> ( % )
0.265	10	0.1	1362	81	16.5	92	89
0.177	15	0.067	2140	49	13.5	95	91
0.1325	20	0.05	2611	32	15	97	90
0.106	25	0.04	3443	23	13.5	98	91

TABLEAU.4-5

$\frac{S_0 - S}{X\theta_s}$ ( h <sup>-1</sup> )	0.2249	0.1480	0.1237	0.0947
$\frac{1}{\theta_x}$ ( h <sup>-1</sup> )	0.1	0.065	0.05	0.04

TABLEAU.4-6

$\frac{\theta_x}{1 + k_d\theta_x}$ ( h )	9.434	13.760	17.857	21.740
$\frac{1}{S}$ ( l/mg )	0.0123	0.0204	0.0312	0.0432

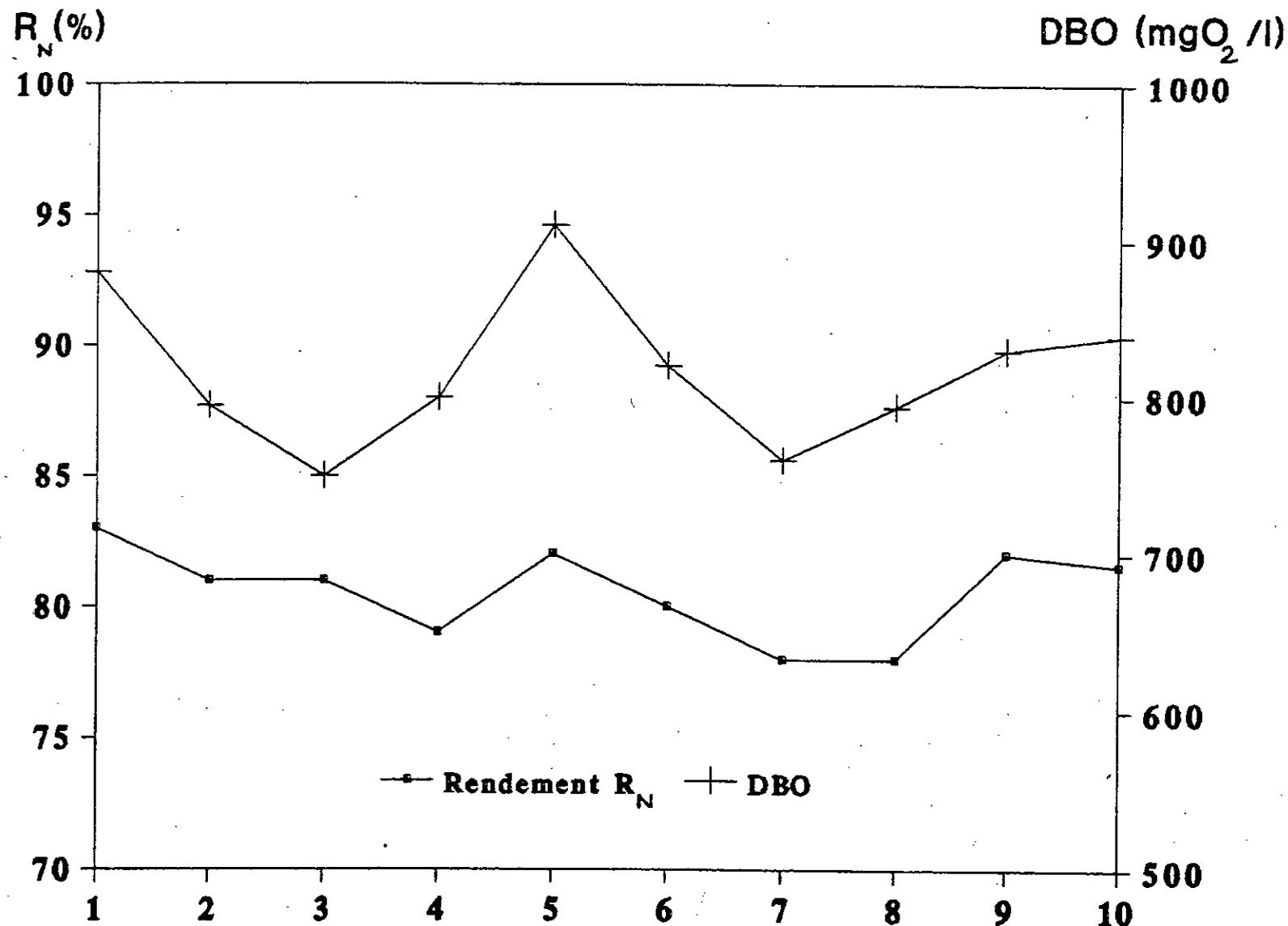


FIG (4-1) Variation de  $R_N$  et de la DBO en fonction du temps Temps (j)

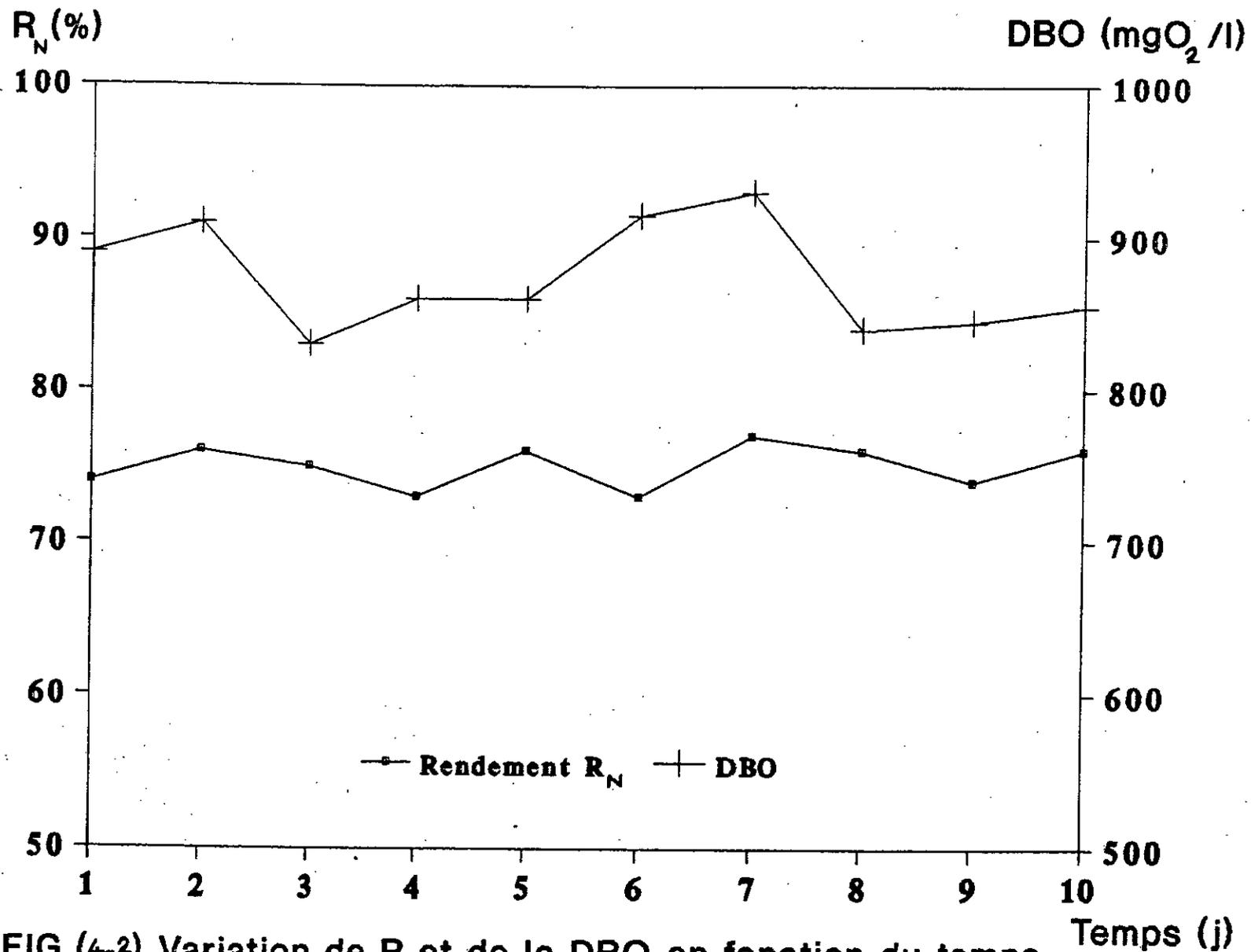


FIG (4-2) Variation de  $R_N$  et de la DBO en fonction du temps

( $[\text{NO}^-] = 200 \text{ mg/l}$ )

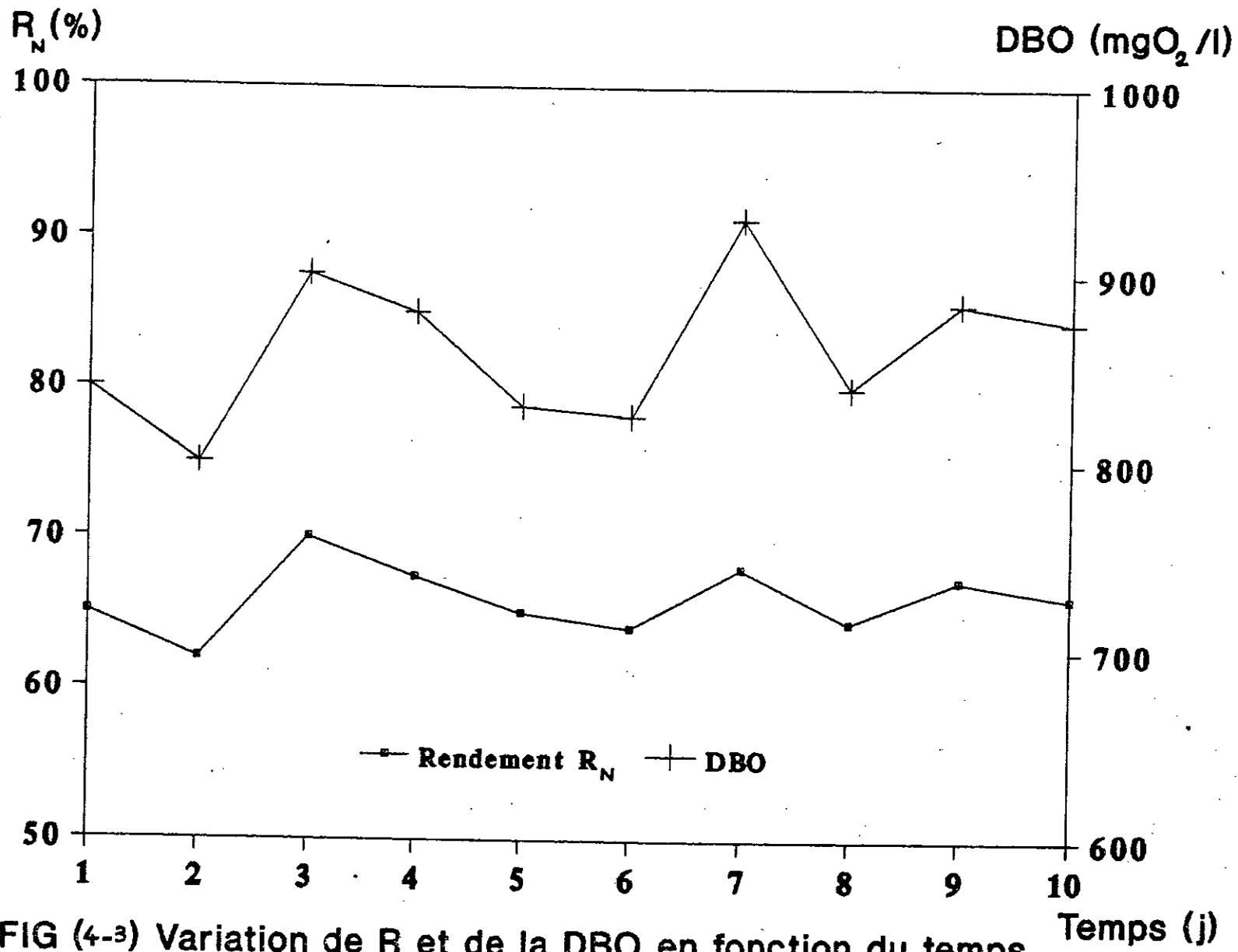


FIG (4-3) Variation de  $R_N$  et de la DBO en fonction du temps  
 ( $[\text{NO}_3^-]_0 = 250 \text{ mg/l}$ )

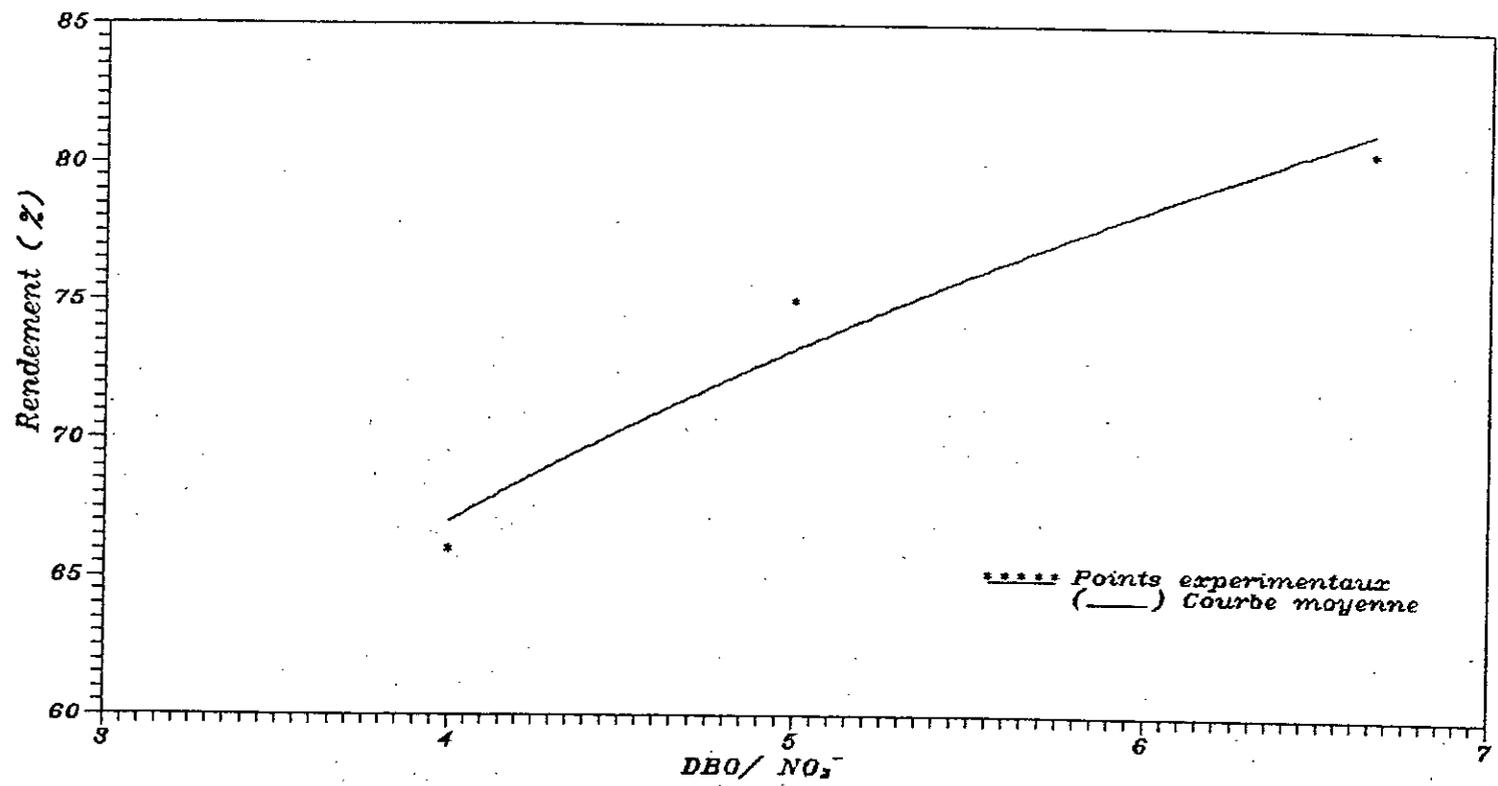


FIG (4-4) Variation du rendement en fonction du rapport DBO/ NO<sub>3</sub><sup>-</sup>

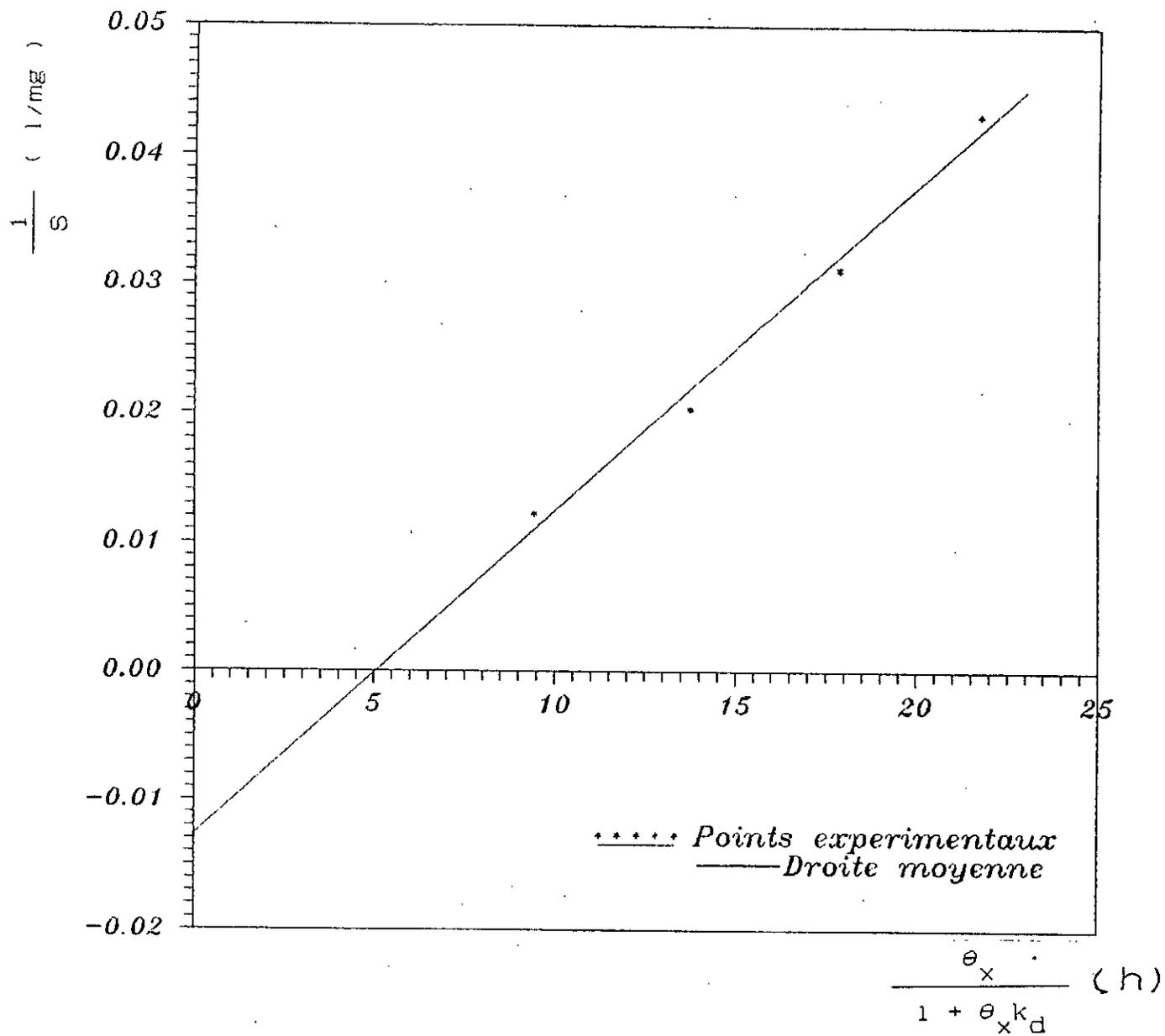


FIG.4-6. VARIATION DE  $\frac{1}{S}$  EN FONCTION DE  $\frac{\theta_x}{1 + \theta_x k_d}$

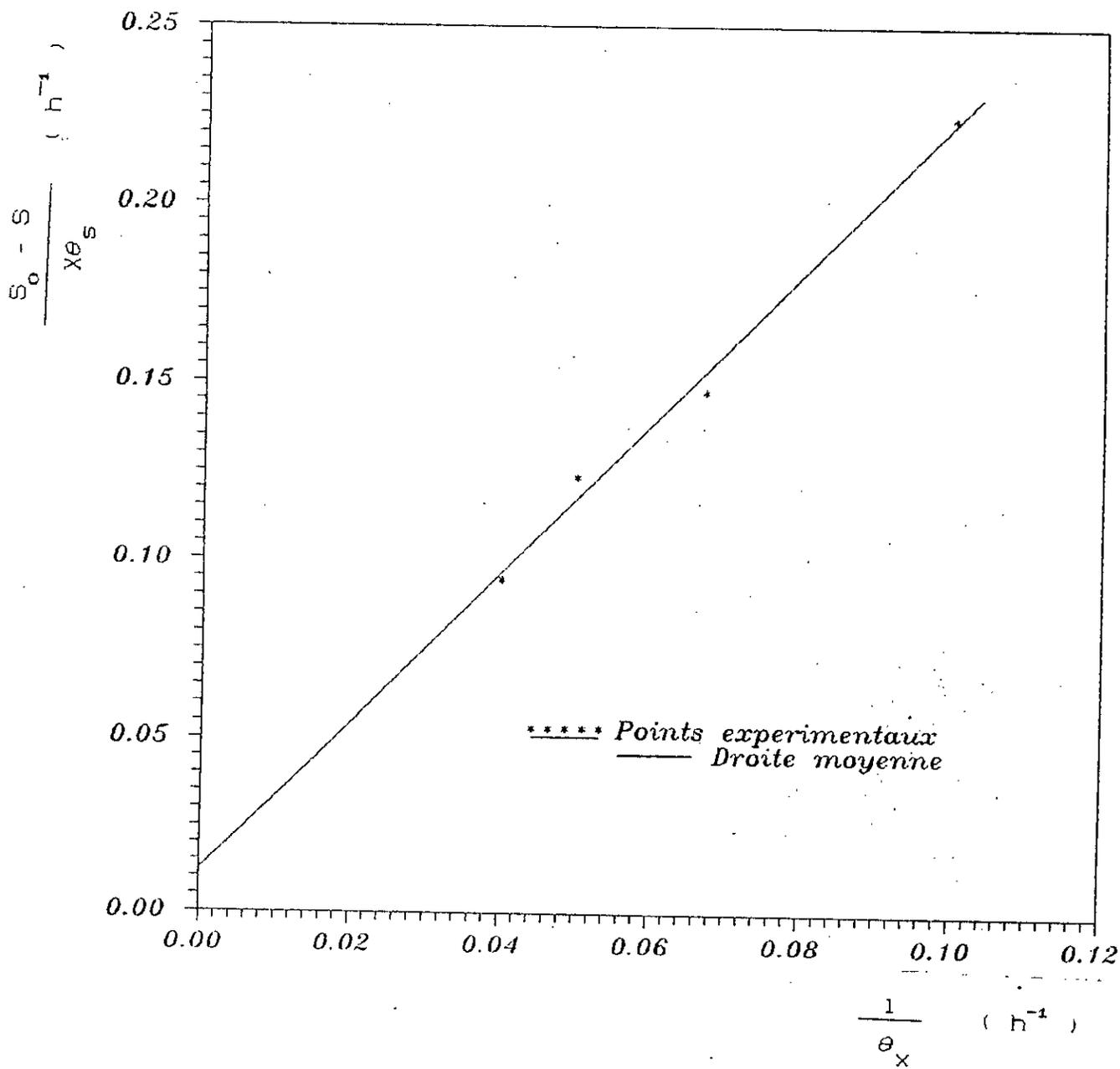


FIG.4-5. VARIATION DE  $\frac{S_0 - S}{X\theta_s}$  EN FONCTION DE  $\frac{1}{\theta_x}$

CHAPITRE V

---

DENITRIFICATION EN BATCH  
- DETERMINATION DES PARAMETRES CINETIQUES -

## 5-1. INTRODUCTION

Ce travail se propose de déterminer l'influence de la matière organique sur la dénitrification en batch et la constante de MONOD relative à la DCO.

## 5-2. MODELE CINETIQUE

Le modèle cinétique que nous utilisons dans cette étude est celui de MONOD.

La vitesse de dénitrification est donnée par l'expression suivante :

$$V = k \frac{NO_3^-}{NO_3^- + K_N} \times \frac{DCO}{DCO + K_C} \times \frac{PO_4^{-3}}{PO_4^{-3} + K_P} \times X \quad (5-1)$$

V : Vitesse de dénitrification

k : Constante de vitesse

$NO_3^-$  : Concentration de nitrates

$K_N$  : Constante de MONOD relative au nitrates

DCO : Demande chimique en oxygène

$K_C$  : Constante de MONOD relative à la DCO

$PO_4^{-3}$  : Concentration des phosphates

$K_P$  : Constante de MONOD relative au phosphates

X : Concentration de la biomasse

En divisant les deux membres de l'équation 5-1 par X, nous obtenons l'expression de la vitesse spécifique de dénitrification r :

$$r = k \frac{\text{NO}_3^-}{\text{NO}_3^- + K_N} \times \frac{\text{DCO}}{\text{DCO} + K_C} \times \frac{\text{PO}_4^{3-}}{\text{PO}_4^{3-} + K_P} \quad (5-2)$$

Si la matière organique est le seul élément limitant de la dénitrification, c'est à dire les nitrates et les phosphates se trouvent en excès, l'expression de la vitesse spécifique deviendra :

$$r = k \frac{\text{DCO}}{\text{DCO} + K_C} \quad (5-3)$$

- r : Vitesse spécifique de dénitrification  
 DCO : Demande chimique en oxygène  
 k : Constante de vitesse de dénitrification  
 K<sub>C</sub> : Constante de MONOD relative à la DCO

### 5-3. MATERIELS ET METHODES

#### 5-3.1. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

Le dispositif expérimental ( schéma 5-1 ) est composé de cinq ballons en verre de 1 litre de volume, équipés, chacun, d'un système de prélèvement et d'un système permettant de maintenir l'anaérobiose par circulation d'azote .

L'omogénéisation de la liqueur dans chaque ballon est assurée par une agitation magnétique .

### 5-3.2.COMPOSITION DU MILIEU

La composition du milieu dans chaque ballon est la suivante :

Concentration de $\text{NO}_3^-$	= 550 mg/l
Concentration de $\text{MgCl}_2$	= 25 mg/l
Concentration de $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	= 10 mg/l
Concentration de $\text{PO}_4^{3-}$	= 100 mg/l
MVS	= 850 mg/l

La DCO croit d'un ballon à un autre tout en restant le seul élément limitant .

Les boues activées utilisées dans cet essai sont prélevées du bioréacteur de dénitrification en continu, puis lavées avec de l'eau pour éliminer la matière organique éventuellement adsorbée sur les floccs..

### 5-3.3.ANALYSES

Des prélèvements d'échantillons de 20 ml de volume chacun permettent de suivre dans le temps la DCO et la concentration des nitrates dans chaque ballons .

Les méthodes d'analyses utilisées sont citées dans l'annexe .

### 5-4.RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de cet essai sont répertoriés dans le tableau 5-1 . Les figures 5-6 et 5-7 résument l'évolution de la DCO et la concentration des nitrates dans le temps pour toutes les DCO introduites .

Ces deux figures nous font remarquer que la matière organique évolue de la même façon que la concentration des nitrates et que son élimination est rapide au début puis devient de plus en plus lente :

Ceci nous permet de dire que l'activité métaboliques de ces bactéries dénitrifiantes est très élevées en milieux riches en nutriments par contre elle est faible en milieux pauvres .

Le tableau 5-2 rassemble les valeurs des vitesses de dénitrification calculées à partir des pentes des droites représentant les variations de la concentration des nitrates en fonction du temps .

La figure 5-8 montre que la DCO introduite n'a qu'un léger effet sur la vitesse de dénitrification .

La figure 5-9 " REPRESENTATION DE LINEWEAVER-BURK " (11) représentant l'inverse de la vitesse spécifique de dénitrification en fonction de l'inverse de la DCO , permet de tirer la valeur de la constante de vitesse ( k ) et la constante de MONOD relative à la DCO (  $K_C$  ) :

$$k = 23.6 \text{ mgNO}_3^-/\text{gMVS.h}$$

$$K_C = 74 \text{ mgO}_2/\text{l}$$

La cinétique de dénitrification en batch sera donc :

$$r = 23.6 \frac{\text{DCO}}{\text{DCO} + 74} \quad ( 5-4 )$$

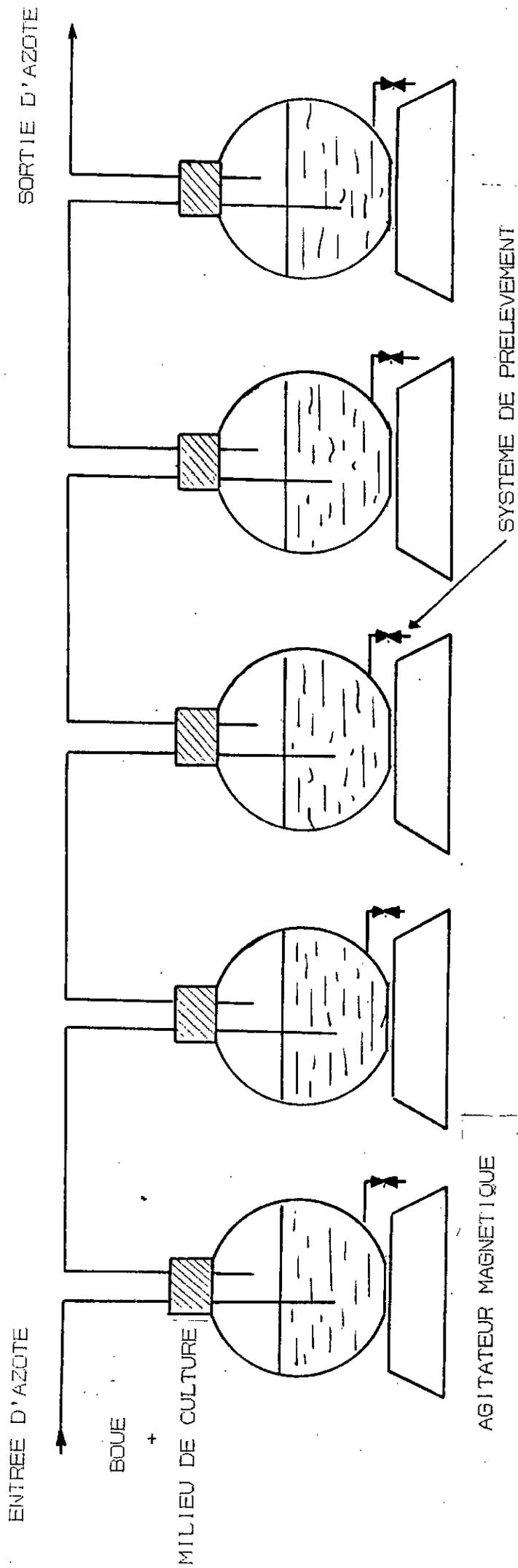
r : vitesse spécifique de dénitrification

DCO : demande chimique en oxygène

## 5-5. CONCLUSION

Les résultats, obtenus de l'étude expérimentale présentée, laissent apparaître une faible influence de la charge en matière organique sur la vitesse de dénitrification.

Par ailleurs, la valeur de la constante de MONOD relative à la DCO ( $K_C = 74 \text{ mgO}_2/\text{l}$ ) est du même ordre que celle calculée à partir de la cinétique de dénitrification en continu ( $K_S = 78.6 \text{ mgO}_2/\text{l}$ ).



SCHEMA 5-1. DISPOSITIF EXPERIMENTAL

TABLEAU.5-1

DCO introduite (mg/l)	Temps ( h )	0.5	1	2	3	4	5
129	DCO (mg/l)	97	65	37	22	11	7
	$[\text{NO}_3^-]$ (mg/l)	538	535	516	—	491	470
206	DCO (mg/l)	186	171	127	78	56	22
	$[\text{NO}_3^-]$ (mg/l)	535	531	523	503	480	460
347	DCO (mg/l)	289	221	175	98	49	14
	$[\text{NO}_3^-]$ (mg/l)	522	499	490	—	445	431
417	DCO (mg/l)	371	302	234	144	91	20
	$[\text{NO}_3^-]$ (mg/l)	541	528	510	—	471	452
489	DCO (mg/l)	409	332	283	156	154	35
	$[\text{NO}_3^-]$ (mg/l)	536	530	507	—	468	441

TABLEAU.5-2

DCO introduite ( mg/l )	129	206	347	417	489
$\frac{1}{\text{DCO}}$ ( l/mg )	0.00775	0.00485	0.0288	0.0240	0.00204
V (mgNO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /l.h)	15.100	16.904	19.500	19.500	21.067
r (mgNO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /gMVS.h)	15.100	16.904	19.500	19.500	21.067
$\frac{1}{r}$ (gMVS.h/mgNO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	0.0662	0.0592	0.0513	0.0513	0.0475

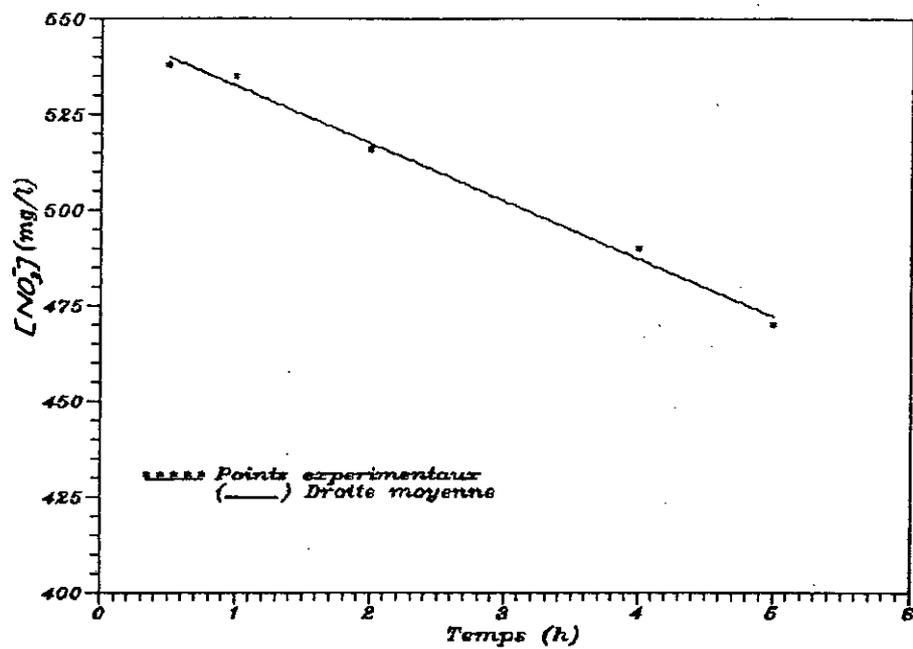


FIG (5.1.a) Variation de  $[NO_3^-]$  en fonction du temps  
( $DCO_0 = 129 \text{ mgO}_2/\text{l}$ )

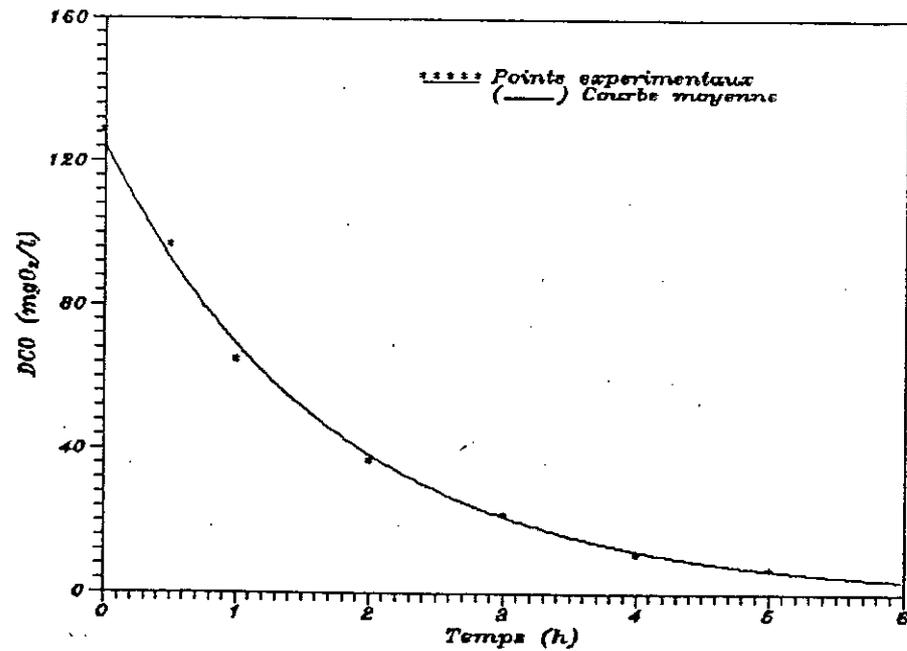


FIG (5.1.b) Variation de la DCO en fonction du temps  
( $DCO_0 = 129 \text{ mgO}_2/\text{l}$ )

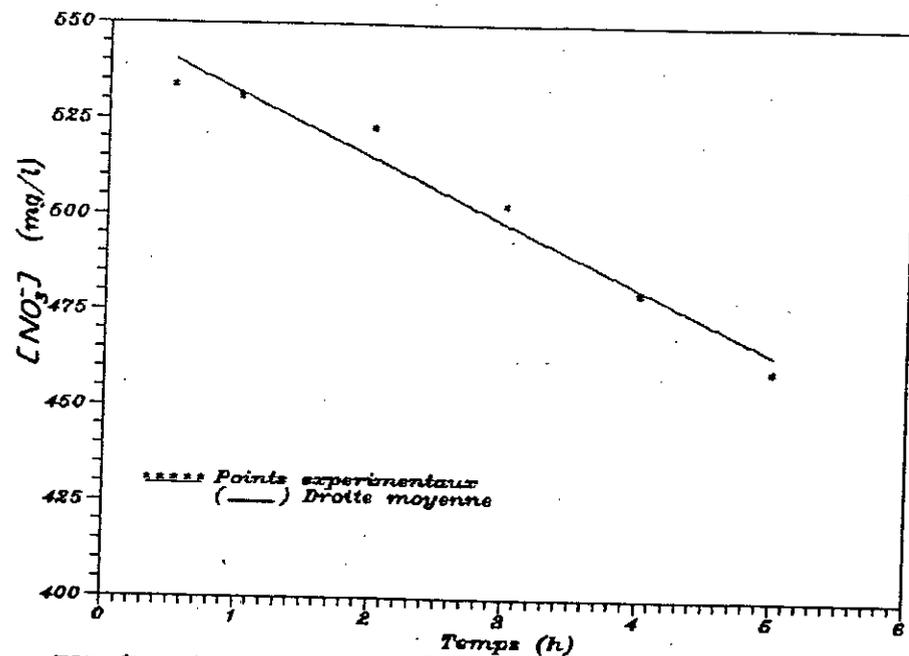


FIG (52.a) Variation de  $[NO_3^-]$  en fonction du temps  
( $DCO_0 = 206 \text{ mgO}_2/\text{l}$ )

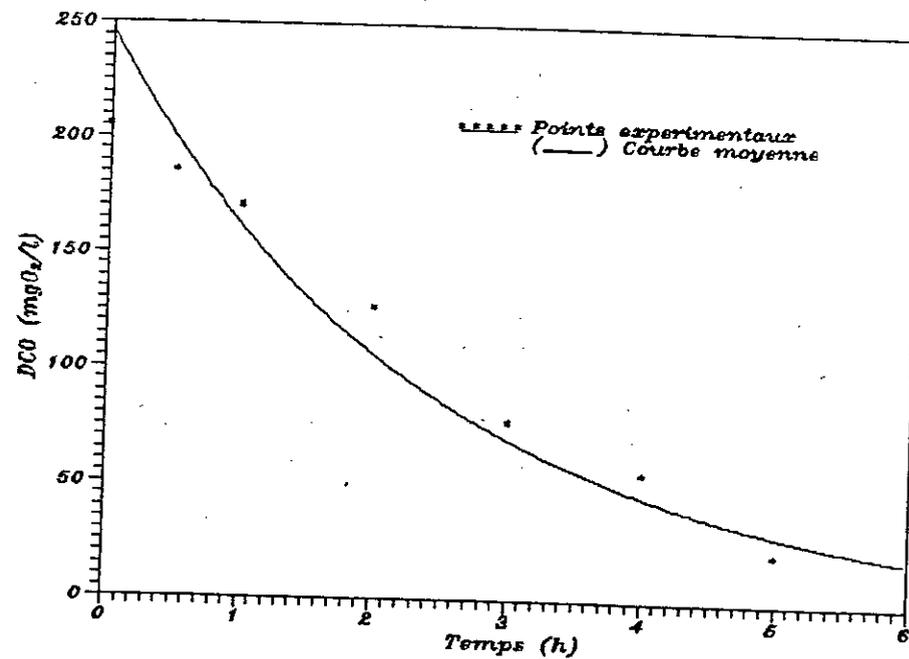


FIG (52.b) Variation de la DCO en fonction du temps  
( $DCO_0 = 206 \text{ mgO}_2/\text{l}$ )

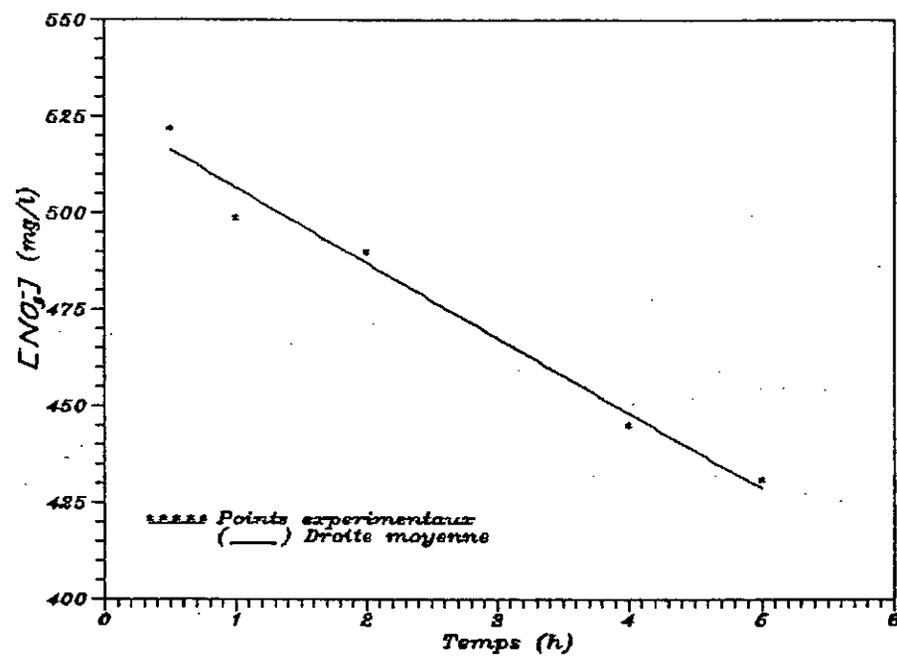


FIG (5.3.a) Variation de  $[NO_3^-]$  en fonction du temps  
( $DCO_0 = 347 \text{ mgO}_2/\text{l}$ )

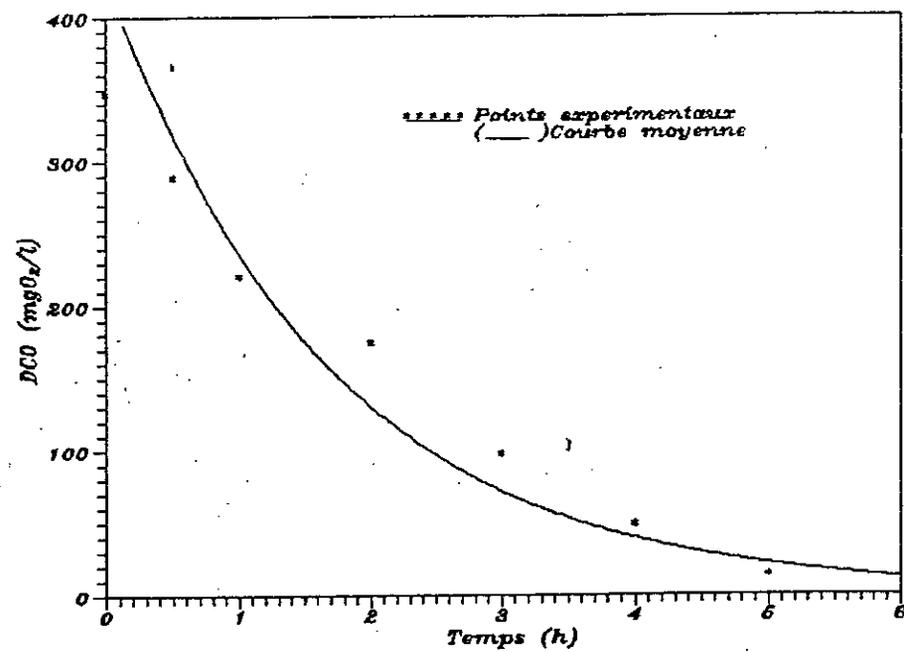


FIG (5.3.b) Variation de la DCO en fonction du temps  
( $DCO_0 = 347 \text{ mgO}_2/\text{l}$ )

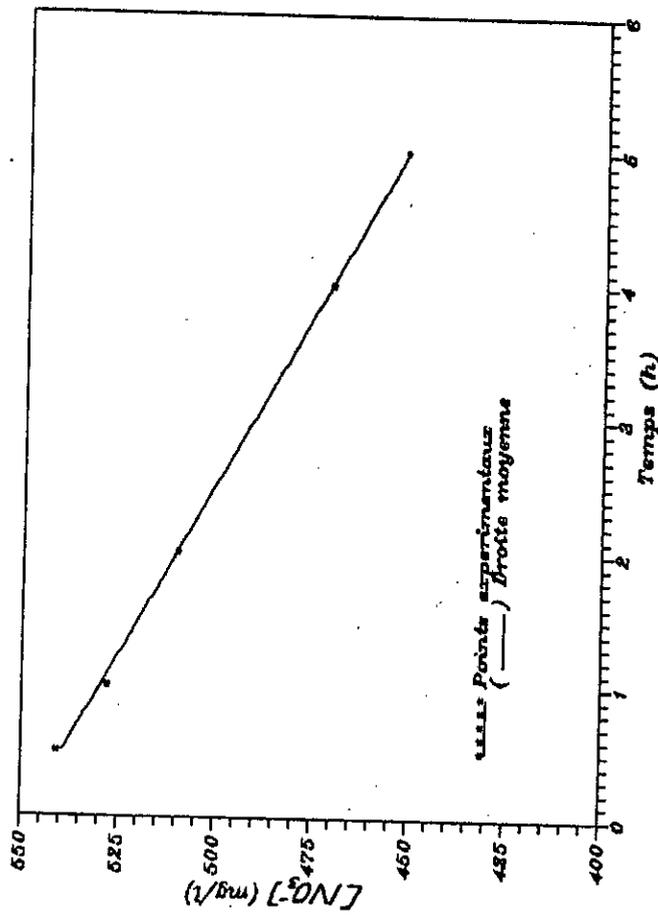


FIG (5.4.a) Variation de  $[NO_3^-]$  en fonction du temps  
( $DCO_0 = 417 \text{ mgO}_2/\text{l}$ )

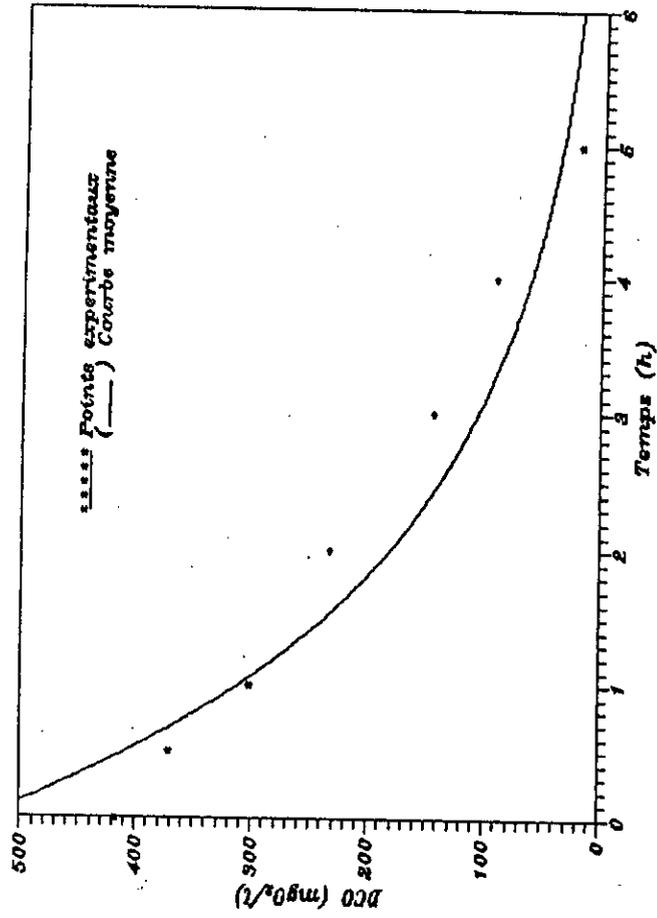


FIG (5.4.b) Variation de la DCO en fonction du temps  
( $DCO_0 = 417 \text{ mgO}_2/\text{l}$ )

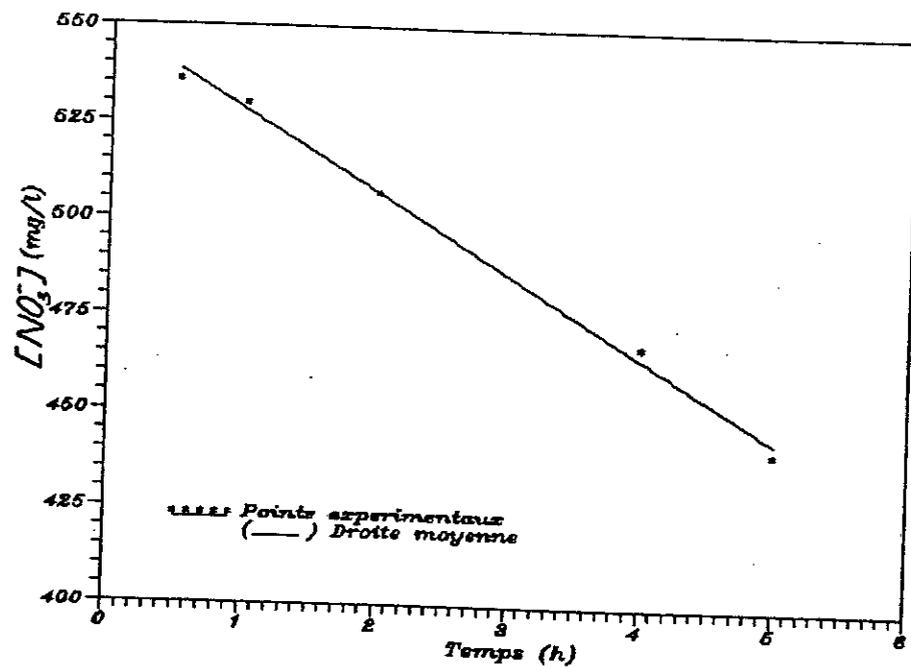


FIG (s.5.a) Variation de  $[NO_3^-]$  en fonction du temps  
( $DCO_0 = 489 \text{ mgO}_2/\text{l}$ )

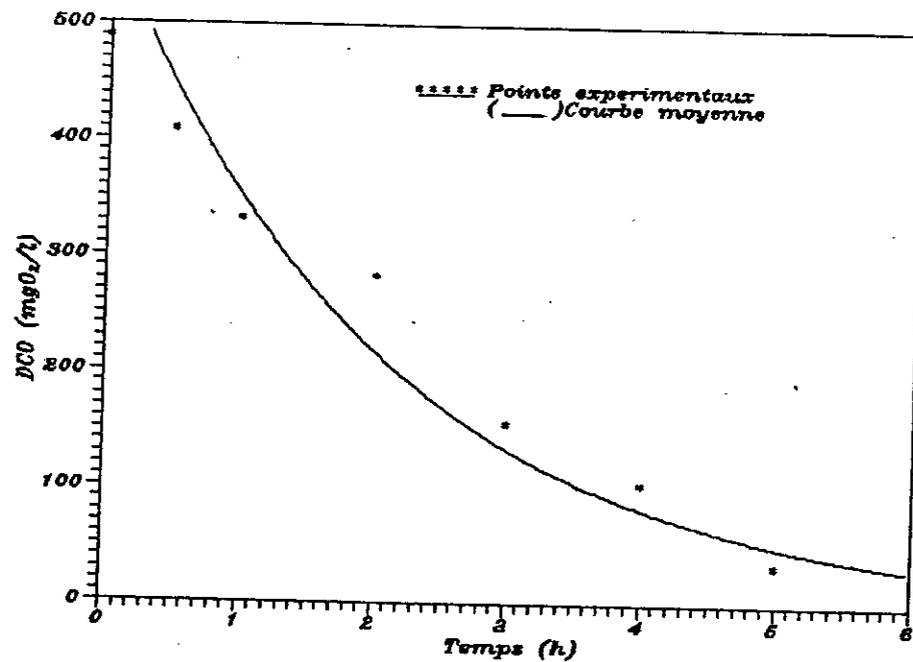


FIG (s.5.b) Variation de la DCO en fonction du temps  
( $DCO_0 = 489 \text{ mgO}_2/\text{l}$ )

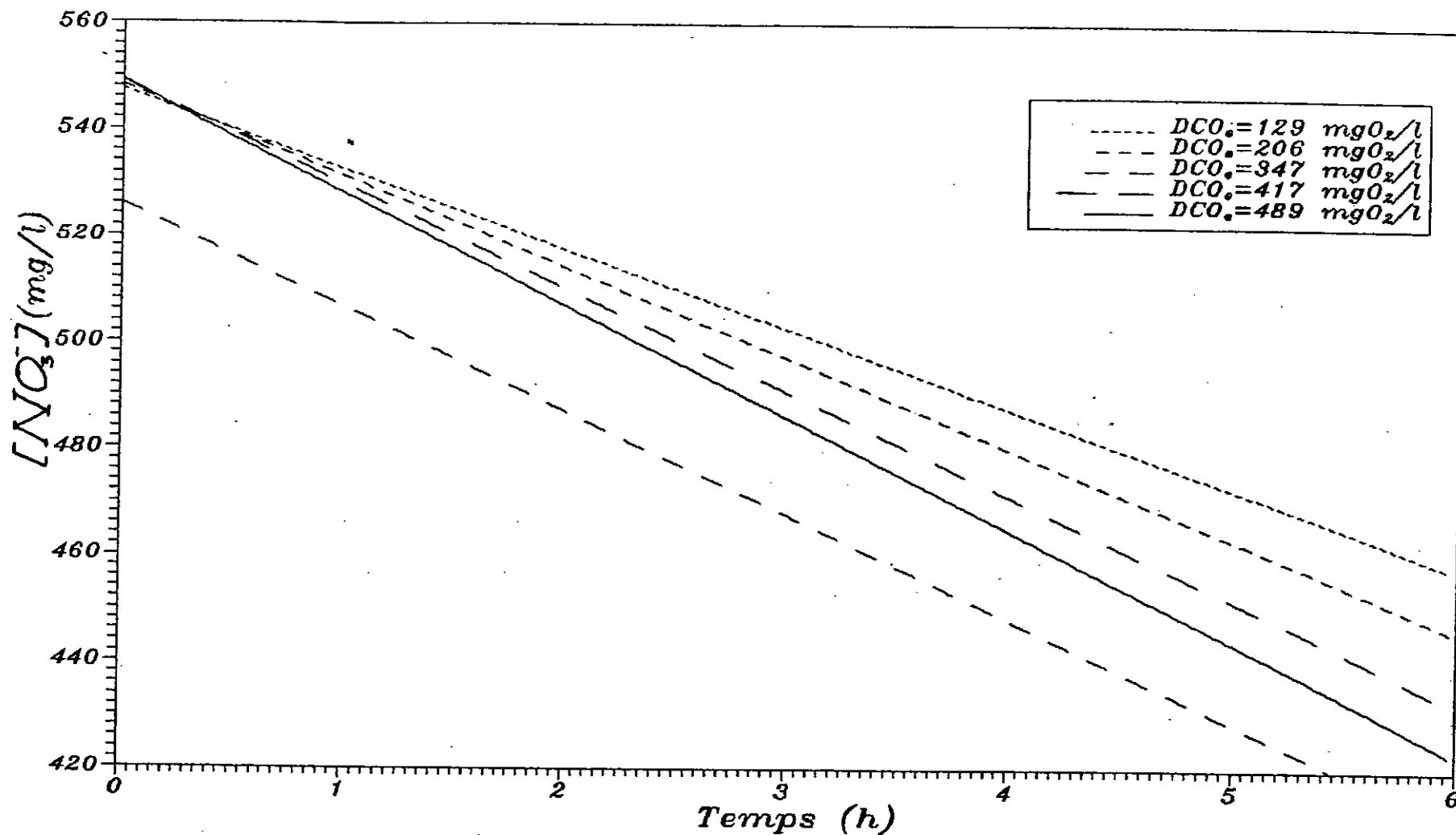


FIG (5-7) Variation de  $[\text{NO}_3^-]$  en fonction du temps

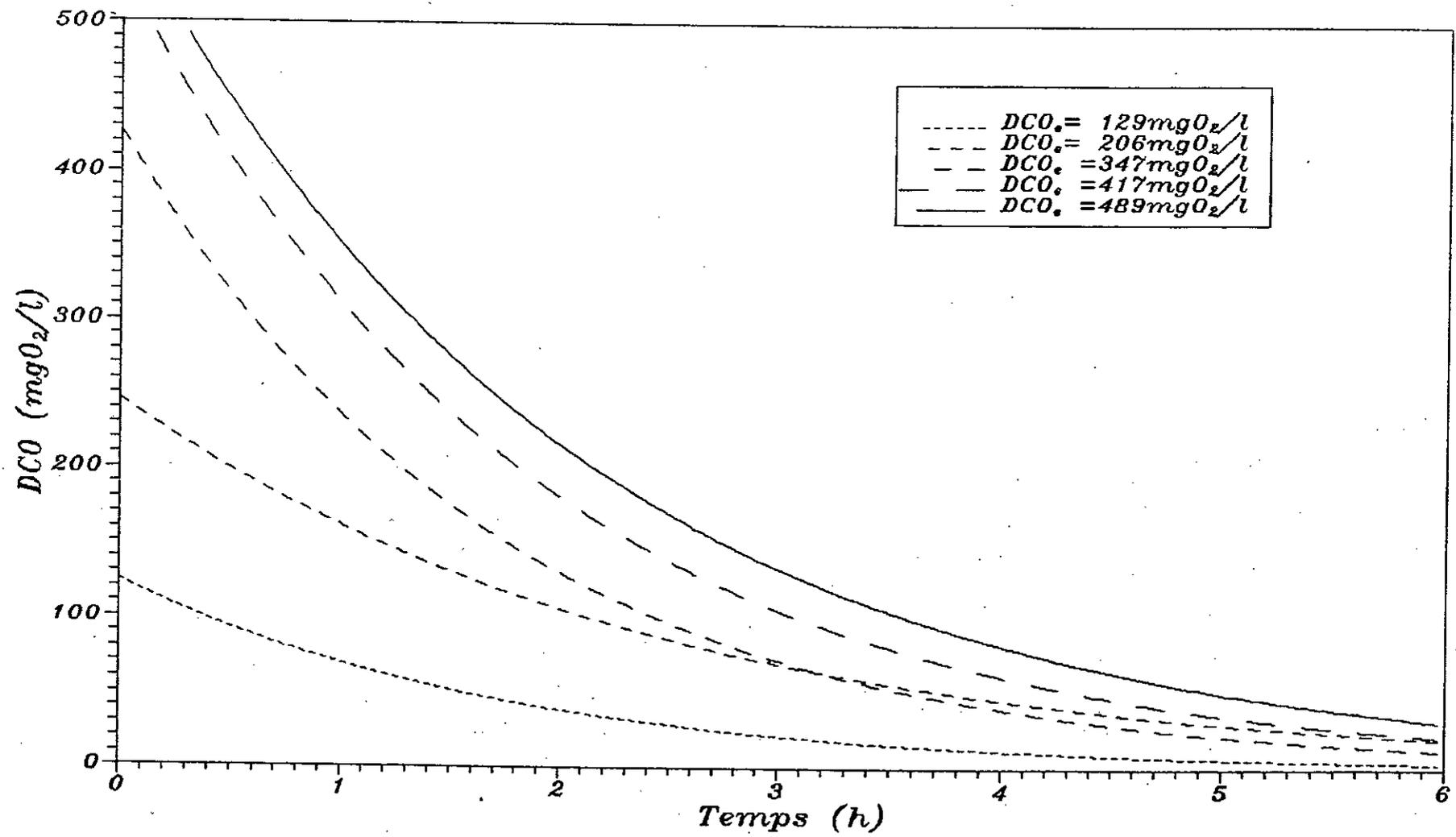


FIG (5.6) Variation des DCO en fonction du temps

CONCLUSION GENERALE

Ce travail, dont l'objet était la sélection des bactéries dénitrifiantes et l'étude de l'influence de la charge en nitrates ainsi que celle en matières organiques contenues dans le sang sur la vitesse et le rendement de dénitrification hétérotrophe par boues activées dans un bioréacteur en continu et à recirculation de biomasse, a permis de mettre en évidence les points suivants :

- Les bactéries sélectionnées ont une bonne affinité pour la matière organique contenue dans le sang et une reproduction très élevée .
- Les rendements de dénitrification utilisant le sang comme source de carbone sont très importants surtout en présence d'oligo-éléments . Ils diminuent avec l'augmentation de la charge en nitrates .
- La charge en matière organique n'a qu'un léger effet sur la vitesse de dénitrification .

Par ailleurs, la cinétique de dénitrification en continu a donné les résultats suivants :

$$\begin{aligned}K_c &= 78.6 \text{ mgO}_2/\text{l} \\Y &= 0.473 \\ \mu_{\max} &= 0.196 \text{ h}^{-1} \\ k_d &= 0.006 \text{ h}^{-1}\end{aligned}$$

La constante de MONOD relative à la DCO a été déterminée et la vitesse de dénitrification avec un excès de nitrates peut s'écrire :

$$r = 23.6 \frac{\text{DCO}}{74 + \text{DCO}}$$

En fin de ce travail, nous recommandons une étude physico-chimique et microbiologique, très approfondie, des boues produites pour leur utilisation éventuelle dans l'agriculture, et cela, parceque nous pensons que ces boues sont très riches en nutriments .

ANNEXE

---

## ANNEXE

DOSAGE DE LA DCO : NFT 90-018

DOSAGE DES MVS : NFT 90-105

pH : MESURE A L'ELECTRODE

TEMPERATURE : MESURE AU THERMOMETRE

DOSAGE DE LA DBO : METHODE RESPIROMETRIQUE

*Elle consiste à faire une culture en batch et en atmosphère close avec fixation du gaz carbonique libéré sur de la potasse .*

*La consommation d'oxygène est évaluée par la variation de pression dans le mélange gazeux surmontant la culture .*

DOSAGE DES NITRATES : METHODE AU REACTIF SULFOPHENIQUE

*Reactifs :- acide sulfurique*

*- ammoniac*

*- phénol*

*Préparation du réactif sulfophénique :*

*Dissoudre 12 grammes de phénol dans 140 ml d'acide sulfurique dans un bain-marie .*

*Mode opératoire :*

*Prélever 5 ml d'échantillon, faire évaporer à sec .*

*Laisser refroidir et ajouter 2 ml de réactif sulfophénique .*

*Attendre 10 minutes , puis ajouter 15 ml d'eau distillée et 10 - 15 ml d'ammoniac qui développe la couleur jaune .*

*Compléter à 50 ml avec de l'eau distillée .*

*Effectuer les lectures au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 440 nm .*

## BIBLIOGRAPHIE

---

- (1) G. MARTIN (1979)  
" *Problème de l'azote dans les eaux* "  
Technique et documentation, Paris
- (2) D. CHAMPIAT et J. P. LARPENT (1988)  
" *Biologie des eaux* "  
Masson, Paris
- (3) H. ROQUES (1980)  
" *Fondements théoriques du traitement biologique des eaux* "  
Technique et documentation, Paris
- (4) H. RITTER (1989)  
" *Nitrate leaching under irrigation in the USA* "  
*Journal of environmental science and health* , 6 ,  
1670-1677
- (5) J. DUCHEMIN et J. DUFIS (1988)  
" *Nitrates et eaux d'alimentation* "  
*TSM-eau* , 4 , 243-205
- (6) M. GARNIER et V. DLAMAR (1985)  
" *Dictionnaire des termes techniques de médecine* "  
Maloine, Paris
- (7) D. BALLAY (1992)  
" *L'élimination des nutriments dans les stations d'épuration* "  
*TSM-eau* , 4 , 165-170

- (8) A. GAID (1974)  
" Contribution à l'étude de l'élimination  
biologique de l'azote contenu dans les eaux  
résiduelles "  
Thèse Docteur ingénieur, ENSCR Rennes, Série B,  
n°ordre 42
- (9) F. HANUS et C. BERNAR (1988)  
" Dénitrification des eaux potables dans un réacteur  
biologique à élimination continue de biomasse en  
excès "  
TSM-eau , 4, 243-246
- (10) R. SCRIBAN (1982)  
" Biotéchnologie "  
Technique et documentation, Paris
- (11) F. EDELINE (1988)  
" L'épuration biologique des eaux résiduelles "  
Cebedoc Editeur , Liège
- (12) L. D. BENEFIELD et C. W. RANDALL (1980)  
" Biological process design for wastewater treatment "  
Prentice Hall, Englewood-Cliffs
- (13) A. MAYER (1984)  
" Cours de microbiologie générale "  
Doin éditeur, Paris
- (14) R. THOMAZEAU (1981)  
" Station d'épuration "  
Technique et documentation, Paris

- (15) D. COUILLARD (1989)  
" Slaughterhouse effluent treatment by thermophilic aerobic process "  
*Water Research* ,23, 573-579
- (16) N. ABDI-HAIDER (1986)  
" Etude du rôle des sulfures et pyrite de fer dans la dénitrification en sous sol "  
Thèse Docteur ingénieur, ENSCR Rennes, Série B, n°ordre 212
- (17) F. BOUSSAID (1987)  
" Etude de la dénitrification in situ à l'aide de substrats cellulosiques "  
Thèse Docteur, ENSCR Rennes, n°ordre 157
- (18) M. BAGBY et H. CHERRAR (1981)  
" Combined effects of cadmium and nickel on the activated sludge process "  
*Journal of the Water pollution Control Federation*,  
53, 1609-1619
- (19) P. DAUTHUILE (1992)  
" Association de réacteur à cultures fixées pour l'élimination de la pollution carbonée et azotée "  
*TSM-eau* ,4, 177-185
- (20) G. SACHON (1986)  
" Les eaux résiduaires des abattoirs de bétail - Gestion et traitement - "  
*Tribune Cebedeau* ,516, 27-45

- (21) L. J. WARREN et E. SCHROEDER (1990)  
" Denitrification in a batch wastewater treatment  
systeme using sequestred organique substances "  
*Journal of the Water Pollution Control Federation*,  
62, 259-267
- (22) J. P. TESSIER et V. LOUVEAU (1978)  
" Concentration du sang de boeuf défibré "  
*Rapport du ministère de la culture et de l'environnement*, Paris
- (23) A. CHEFTEL, J. CUQ et D. LORIENT (1985)  
" Protéines du sang "  
CDIUP, n°199505 , *Technique et documentation*, Paris
- (24) A. DOMART et J. BOURNEUF (1986)  
" Nouveau Larousse médical "  
*Librairie Larousse*, Paris
- (25) O. QUEBRIAL (1985)  
" Valorisation du sang animal "  
CDIUPA, n°35 , *Edition Apria*, Paris