

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE



المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
Ecole Nationale Polytechnique

DEPARTEMENT DU GENIE DE L'ENVIRONNEMENT
Laboratoire des Biotechnologies Environnementales et Génie des
Procédés

Mémoire de projet de fin d'études
Pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en génie de
l'Environnement
Thème

ELIMINATION BIOLOGIQUE DES
PHOSPHATES SUR GRIGNON D'OLIVE

Proposé par :
Pr N. ABDI

Etudié par :
TALBI Meriem

Soutenu devant le jury

N. MAMERI
N. ABDI
F. BOUAMRA
H. GHRIB

Professeur
Professeur
Maitre assistant A
Maître de conférences A

Président
Promotrice
Promotrice
Examineur

Promotion 2011/2012

Résumé

Cette étude a pour objectif d'évaluer la possibilité d'utiliser le grignon d'olive comme support de fixation des bactéries déphosphatantes aérobies facultatives intervenant dans le processus de dénitrification.

Au cours de cette étude nous avons optimisé les paramètres (concentration des nitrates et concentration des phosphates) afin de connaître leur influence sur le rendement de déphosphatation biologique par un biofilm.

Mots clés :

Déphosphatation biologique, biofilm, dénitrification, grignon d'olive.

Abstract

This study aims to evaluate the possibility of using the olive-pomace as a fixing support to the optional dephosphating aerobic bacteria involved in the denitrification process.

In this study we have optimized the parameters (concentration of nitrate and phosphate) in order to know their influence on the performance of biological phosphorus removal by a biofilm.

Keywords:

Biological phosphorus removal, biofilm, denitrification, olive-pomace.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم إمكانية استخدام ثفل الزيتون كوسيلة لدعم تثبيت البكتيريا الهوائية الاختيارية "الديفوسفاتية" المشاركة في عملية نزع النتروجين.

في هذه الدراسة تم تحسين العوامل (تركيز النترات والفوسفات) من أجل معرفة تأثيرها على إزالة الفوسفور البيولوجي بواسطة البيوفيلم.

الكلمات المفتاحية:

إزالة الفوسفور البيولوجي، البيوفيلم، نزع النتروجين، ثفل الزيتون كوسيلة.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail en signe de respect et de reconnaissance :

- A mes chers parents.
- A mon frère badre-eddine et ma sœur amel.
- A mon fiancé Nabil.
- A ma belle sœur Sabrina, mon beau frère Lyes et ma belle famille.
- A ma nièce Yasmine et mes neveux Mehdi et Youcef.
- A mes amis.
- A tous les gens que j'aime.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant pour m'avoir donné le courage, la volonté et la patience pour aboutir à la réalisation de ce travail.

Ce travail a été réalisé au laboratoire des biotechnologies environnementales et génie des procédés du département de Génie l'Environnement de l'Ecole Nationale Polytechnique.

Je remercie, vivement et profondément, ma promotrice Madame **N. Abdi** Professeur à l'E.N.P, pour sa disponibilité, sa patience, sa gentillesse qui n'a cessé de m'aider, de me soutenir et de me prodiguer les précieux conseils. Je lui suis fortement reconnaissante.

Je remercie, également Madame **F. BOUAMRA** Maitre Assistant A à l'USTHB qui m'a aidé a réalisé ce travail.

Mes remerciements s'adressent à Monsieur **N. Mameri** Professeur à l'E.N.P, pour l'honneur qu'il me fait en présidant le jury de ma soutenance.

Je remercie également Monsieur **H. Grib** Maître de conférences à l'E.N.P, qui m'a fait l'honneur d'examiner ce modeste travail.

Je tiens bien évidemment à remercier du plus profond de mon cœur ma famille et en particulier mes parents sans qui je ne serais pas ce que je suis aujourd'hui et sans qui je ne serais pas arrivé jusqu'ici.

Je remercie aussi mon frère Badro qui est un exemple pour moi, ma sœur titi qui est un pilier dans ma vie, a mes précieux amis Nazim, Nassim, Rina, Maya et Islam, qui ont toujours été la pour moi et m'ont aidé à réaliser ce travail.

Mes pensées vont également à mes amis et les doctorants de l'Ecole Nationale Polytechnique et spécialement Amine, Farah, Fares, et Rabab sur qui je sais que je peux compter en toute occasion, sans oublié mon ami Mehdi qui m'a été d'une grande aide dans la réalisation de mon projet.

Enfin je remercie l'homme de ma vie Nabil qui m'a toujours soutenu et aidé à me surpasser et à dépasser mes limites.

Sommaire

Introduction générale	1
-----------------------------	---

Synthèse bibliographique

Chapitre I: Généralités sur l'olive et la valorisation de ses sous produits

I-1 Définition et production de l'oléicole	5
I-2 La production d'huile d'olive en Algérie	5
I-3 Technique de production de l'huile d'olive	6
I-4 Composition de l'olive	7
I-5 Composition chimique du grignon d'olive	8
I-6 Impact des effluents d'huileries d'olive sur l'environnement	9
I-7 Valorisation des sous produits de l'oléiculture	9
I-7-1 Valorisation énergétique des grignons d'olive	9
I-7-2 Valorisation des coques	9
I-7-3 Valorisation des eaux de végétation	10

Chapitre II: Le phosphore et son traitement

II-1 Origine, propriétés et formes du phosphore	12
II-2 Les interactions entre les micro-organismes et le phosphore dans les eaux	13
II-2-1 La solubilisation	13
II-2-2 La minéralisation	13
II-3 Le phosphore et l'environnement	14
II-3-1 Les mécanismes d'eutrophisation	14
II-3-2 La lutte contre l'eutrophisation s'organise	14
II-4 Traitement du phosphore	15
II-4-1 Les procédés biologiques	15
II-4-1-1 Les procédés conventionnels par boues activées	16
II-4-2 Les procédés mécaniques de séparation	17
II-4-3 Les procédés physico-chimique	17

Chapitre III: Déphosphatation biologique sur biomasse fixée

III-1 Les procédés a biomasse fixée	20
III-2 Les supports bactériens et la formation du biofilm	20
III-3 Avantages de l'épuration par biomasse fixée par rapport à la biomasse en suspension	21
III-4 facteurs d'influence sur la formation du biofilm	22
III-5 Les bactéries responsables de l'élimination du phosphore	23
III-6 Mécanismes d'enlèvement biologique du phosphore	23
III-7 Efficacité de la déphosphatation biologique : conditions optimales et rendements.....	25

Chapitre IV: Matériels et méthodes

IV-1-1 Matériels utilisés	27
IV-1-2 Le substrat	28
IV-1-3 Méthodes analytiques	29
IV-1-4 Alimentation	31
IV-2-1 L'ensemencement du réacteur	32
IV-2-2 Cycle d'opération du réacteur séquentiel	32
IV-3 La distribution des temps de séjour (DTS) d'un système	32

Chapitre V : Résultats et discussion

V-1 Caractérisation chimique du grignon d'olive	35
V-2 Distribution granulométrique du grignon	35
V-3 Influence de la concentration initiale en nitrates	36
V-4 Influence de la concentration initiale de phosphore	41
V-5 Rendement de la déphosphatation	46

Conclusion	49
-------------------------	----

Références bibliographiques	51
--	----

Annexes	57
----------------------	----

Liste des abréviations :

Acétyl CoA : Acétyl Co-enzyme A

ADN : acide désoxyribonucléique

AGV : acides gras volatils

ARN: acide ribonucléique

ATP: Adénosine triphosphate

bio-P : bactéries déphosphatantes

DCO : demande chimique en oxygène

GAO :Glycogen Accumulating Organisms

PHA : polyhydroxyalkaloates

PHB : polyhydroxybutyrates

PHV : polyhydroxyvalérates

Poly-P : polyphosphates inorganiques

RBS : réacteur biologique séquentiel

RBS-BF : réacteur biologique séquentiel à biofilm

RBS-BD : réacteur biologique séquentiel à biodisques

RBLF : réacteur biologique à lit fluidisé

RSLF : réacteur submergé à lit fixe

RBM : réacteur biologique à membrane.

PAO : polyphosphate accumulating organismes

Liste des tableaux :

Tableau I-1 : Composition chimiques des composants de l'olive	8
Tableau I-2 : Composition chimique indicative des différents types de grignons	8
Tableau IV-1 : Caractéristiques de la colonne	27
Tableau IV-2 : Caractéristiques de l'appareillage	27
Tableau IV-3 : Composition chimique du résidu solide de moulin d'huile	28
Tableau IV-4 : Caractéristique physico-chimique du résidu solide de moulin d'huile...	28
Tableau IV-5 : caractéristiques de la phase anaérobie-aérobie	33

Liste des figures :

Figure I-1 : Composition des olives	7
La Figure II-1 : représente le principe général de l'épuration par boues activée	16
Figure IV-1 : taux des différentes granulométries	35
Figure V-1-1-1 : Evolution de [NO ₃ ⁻] ; [NO ₂ ⁻], [DCO], [P] avec une concentration initiale de 50mg/L en [NO ₃ ⁻].....	37
Figure V-1-1-2 : Evolution de [NO ₃ ⁻] ; [NO ₂ ⁻], [DCO], [P] avec une concentration initiale de 100mg/L en [NO ₃ ⁻].....	38
Figure V-1-1-3 : Evolution de [NO ₃ ⁻] ; [NO ₂ ⁻], [DCO], [P] pour une concentration initiale de 150mg/L en [NO ₃ ⁻]	39
Figure V-1-2 : Variation du rendement de la déphosphatation en fonction de la concentration des nitrates	41
Figure V-1-3-a : Evolution de [NO ₃ ⁻] ; [NO ₂ ⁻], [DCO], [P] le long de la colonne pour une concentration initiale de 20mg/L en [PO ₄ ³⁻]	42
Figure V-1-3-b : Evolution de [NO ₃ ⁻] ; [NO ₂ ⁻], [DCO], [P] le long de la colonne pour une concentration initiale de 30mg/L en [PO ₄ ³⁻]	43
Figure V-1-3-c : Evolution de [NO ₃ ⁻] ; [NO ₂ ⁻], [DCO], [P] le long de la colonne pour une concentration initiale de 40mg/L en [PO ₄ ³⁻]	44
Figure V-1-4 : Variation du rendement de la déphosphatation en fonction de la concentration de phosphate	46

Introduction générale

La protection et l'amélioration de l'environnement est une question d'importance majeure qui affecte le bien-être des populations et le développement économique dans le monde entier ; elle correspond au vœu ardent des peuples du monde entier, et constitue un devoir pour tous les gouvernements.

La lutte contre la pollution de l'eau n'est pas toujours évidente car les produits contaminants sont parfois difficiles à détecter : enfouis au fond des océans, mélangés avec l'eau et donc invisibles à l'œil nu... Il arrive en outre qu'une matière polluante ne produise ses effets toxiques que beaucoup plus tard, alors qu'elles se sont déjà infiltrées très profondément dans le sol. La qualité de l'eau dépend alors de la dissolution des polluants jusqu'à leur disparition totale

La question du phosphore est devenue depuis quelques années une question environnementale majeure :

- Le principe de l'équilibre de fertilisation pour les nitrates et peu pour le phosphore, a été précocement introduit dans leur réglementation.
- Le développement des phénomènes d'eutrophisation des eaux douces a contribué à attirer l'attention sur les flux et les concentrations de phosphore.
- Le rôle du phosphore dans certains impacts environnementaux côtiers.

Tout cela conduit à repositionner la question du phosphore au centre des préoccupations environnementales.

L'eutrophisation est un enrichissement en nutriments (composés azotés et phosphorés utilisés par les végétaux pour leur croissance) conduisant à un développement excessif d'algues et par là même à un déséquilibre de l'écosystème.

Le phosphore est le facteur limitant sur lequel il est possible de jouer efficacement pour réduire l'eutrophisation continentale.

Le plus grand intérêt et les plus récents progrès ont été accomplis dans l'élimination biologique renforcée du phosphore, qui a le potentiel de supprimer le phosphore à des niveaux très faibles à des coûts relativement faibles.

L'objectif de ce travail consiste à étudier la faisabilité d'un procédé biologique de traitement du phosphore sur un support issu d'une industrie agroalimentaire productrice d'huile d'olive : le grignon d'olive.

Ce document comporte deux grandes parties, La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique portant sur des généralités sur l'olive et la valorisation de ses sous produits, le phosphore, son traitement et la déphosphatation biologique sur biomasse fixée.

La seconde partie regroupe le chapitre matériels et méthodes, suivi des résultats obtenus et leurs interprétations.

Synthèse bibliographique

Chapitre I :

Généralités sur l'olive et la valorisation de ses sous produits

I-1/ définition et production de l'oléicole:

Le terme « oléagineux » désigne un ensemble de produits agricoles qui, une fois transformés ou triturés, donnent des huiles qui sont recherchées sur tous les marchés mondiaux.

La demande de produits à base d'oléagineux se répartit entre la consommation humaine (principalement les huiles pour friture et assaisonnement) et l'alimentation animale (tourteaux) [1].

Le Conseil Oléicole International a arrêté ces chiffres de production à 2 665 500 tonnes soit une production en-dessous de la moyenne des cinq dernières années (à 2 817 500 tonnes). La baisse de la production mondiale est principalement imputable à l'Union Européenne (1 933 000 tonnes soit une baisse de près de 200 000 tonnes), à la Tunisie (- 20 000 tonnes), l'Argentine (- 4 000). L'Algérie, la Syrie et la Turquie ont quant à eux vu leur production augmenter de manière significative. [2].

Les principaux pays producteurs des oléagineux dans le monde sont : la Malaisie et l'Indonésie.

Le soja est produit par : les Etats-Unis, le Brésil et l'Argentine.

Le colza est produit par : la Chine, l'Inde, l'Union Européen et le Canada.

Le tournesol : la Russie, l'Ukraine et l'Argentine [1].

I-2/ La production d'huile d'olive en Algérie:

L'Algérie, un des pays producteurs d'huile d'olive, compte 16 millions d'oliviers sur une surface d'environ de 197000ha, cette culture étant surtout localisée dans les régions montagneuses de la Kabylie. Les olives à huile représentent 95% de la production totale d'olives [3].

Ceci dit la production oléicole de la campagne 2009/2010 chutera dans des proportions très importantes, comparée à la campagne 2008/2009. Au 12 janvier 2010, la production totale de l'actuelle campagne atteignait en effet 1,416 million de quintaux d'olives qui se répartissent de la façon suivante : 1,129 million de quintaux d'olives de table et 289 786 quintaux d'olives à huile qui devraient donner une production d'huile d'olive de 14 406 tonnes (156 586 hectolitres) [4].

Ce fort recul de la production s'explique par plusieurs considérations. La première est celle des mauvaises conditions climatiques, les fortes pluies qui se sont abattues durant la période de floraison, notamment en Kabylie, une région spécialisée dans la production d'olives à huile ont fortement perturbé la production, outre les aléas climatiques, c'est la technique culturale pratiquée par certains producteurs, qui est mise en cause ; travaillant sans soin ils abîment les repousses, ce qui affecte la production de l'année suivante, le manque d'entretien des vergers constitue un autre frein au développement de la production, la mauvaise technique et le manque d'entretien des vergers sont toutefois dus au fait que nombre d'agriculteurs n'arrivent pas à vivre de leur production, ils exercent d'autres professions qui les tiennent éloignés de leurs terres. Ils ne bénéficient donc pas d'une formation leur permettant d'améliorer substantiellement le rendement de leurs vergers, d'autres facteurs, comme le terrorisme et la construction anarchique sur les terres agricoles, etc. jouent un rôle néfaste [4].

I-3/ Techniques de production de l'huile d'olives :

L'huile contenue dans les olives est extraite grâce à un processus qui comprend diverses phases de travail : rupture des fruits et mélange de la pâte, extraction de l'huile par prélèvement ou pression, séparation de l'huile avec l'eau de végétation et des particules de pulpe contenues dans le fruit. L'huile obtenue doit être conservée soigneusement pour maintenir ses caractéristiques chimico-agricoles.

La quantité de produit obtenue dépend de la rapidité du traitement, de la durée du stockage et des différentes précautions à prendre en considération pour éviter le développement des microorganismes par le biais de la blessure du fruit [5]

Le système de production d'huile d'olive comprend en général cinq opérations qui sont [6]

1-Tri des olives : le premier stade du cycle de production de l'huile consiste à trier les olives pour les séparer des corps étrangers [7].

2-Lavage : le lavage des olives, après triage à l'arrivée au moulin, permet d'éviter l'augmentation du taux d'acidité, lié à la présence d'impuretés [7].

3-Broyage : l'opération a pour objectif de supprimer les tissus végétaux et de permettre la libération des gouttelettes d'huile [7].

4-Malaxage : le broyage doit être complété par un malaxage.

Cette opération a pour but d'extraire tout ce qui reste d'huile dans les vacuoles, d'agréger les gouttelettes d'huile en grosses gouttes et de former des poches de phase huileuse continue [7].

5-Séparation : Après avoir éliminé, par tamisage, les dernières particules solides, la décantation et de la centrifugation conduisent à deux phases : l'huile vierge de masse volumique égale à 0.916 Kg/l et l'eau appelée « margine » de masse volumique 1.086 Kg/l [7,6].

I-4/ Composition de l'olive :

L'olive est le fruit de l'olivier, arbre fruitier caractéristique des régions méditerranéennes. Au plan botanique, c'est une drupe, à peau lisse, à enveloppe charnue riche en matière grasse, renfermant un noyau très dur, osseux, qui contient une graine, rarement deux. Sa forme ovoïde est typique. Sa couleur, d'abord verte, vire au noir à maturité complète, vers octobre novembre dans l'hémisphère nord [1].

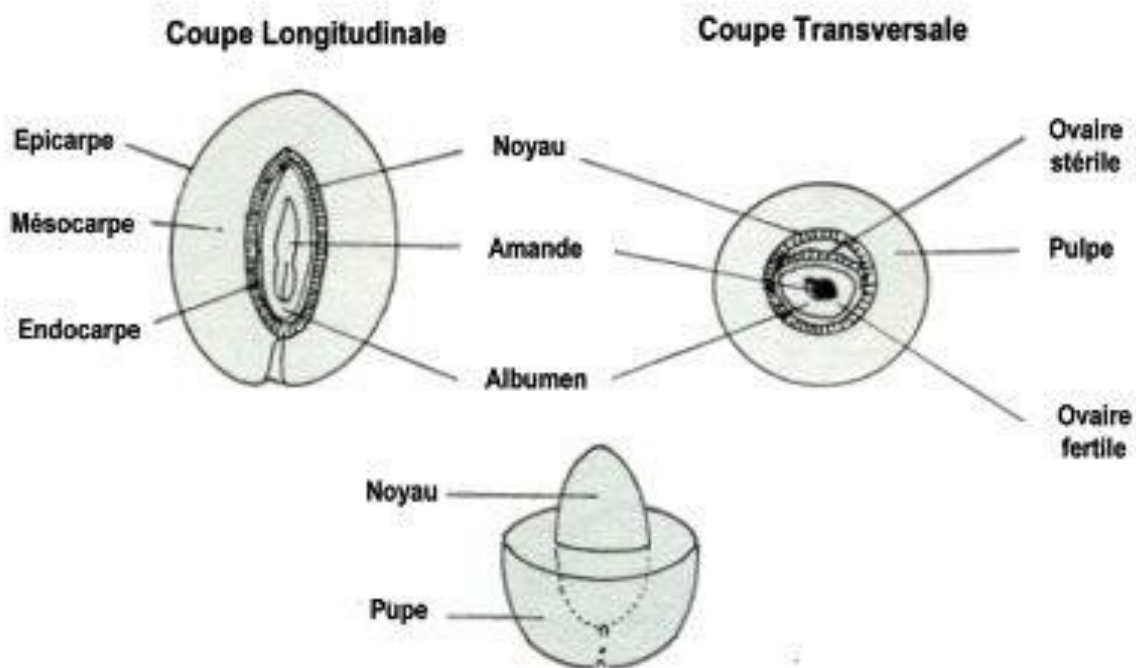


Figure I-1 : Composition des olives [8].

Afin de comprendre plus facilement les variations de composition chimique des différents types de grignons il peut être utile de rappeler (Tableau I-2) la composition chimique des différents composants de l'olive [9].

Tableau I-1: Composition chimiques des composants de l'olive [9].

	Matières Azotées. totales	Matières Grasses	Cellulose brute	Matières minérales	Extractif non azoté
Epicarpe	9,8	3,4	2,4	1,6	82,8
Mésocarpe	9,6	51,8	12,0	2,3	24,2
Endocarpe (noyau et amande)	1,2	0,8	74,1	1,2	22,7

I-5/ Composition chimique du grignon d'olive :

La composition chimique des grignons d'olive varie dans de larges limites selon le stade de maturité, le procédé d'extraction de l'huile et l'épuisement comme il est présenté au tableau I-3 mais il est clair que la partie la plus riche en huile est le mésocarpe (ou pulpe), et celle plus riche en cellulose brute l'endocarpe (ou noyau).

Tableau I-2: Composition chimique indicative des différents types de grignons [7].

Type	% de la Matière Sèche				
	Matière Sèche	Matières minérales	Matières Azotées totales	Cellulose brute	Matières Grasses
Grignon brut	75–80	3–5	5–10	35–50	8–15
Gr. gras part. dénoyauté	80–95	6–7	9–12	20–30	15–30
Grignon épuisé	85–90	7–10	8–10	35–40	4–6
Gr. épuisé part. denoyauté	85–90	6–8	9–14	15–35	4–6
Pulpe grasse	35–40	5–8	9–13	16–25	26–33

I-6/ Impact des effluents d'huileries d'olive sur l'environnement :

Le rejet des effluents d'huileries d'olive est un problème majeur dans les pays du bassin méditerranéen. Au Maroc, la production annuelle de ces effluents est estimée à environ 250 000 m³ (IOM, 2003/2004). Ces eaux fortement polluées causent de sérieux dégâts environnementaux. L'absence de méthodes de traitements adaptées pousse les propriétaires de moulins à huile à rejeter ces eaux dans la nature sans aucun contrôle ou à surcharger le réseau d'égouts avec des substances toxiques. La concentration et la charge en matières organiques ne peut qu'entraîner un dysfonctionnement des stations d'épuration [10].

I-7/ Valorisation des sous produits de l'oléiculture :

I-7-1/ Valorisation énergétique des grignons d'olive :

Compte tenu du pouvoir calorifique des grignons et de l'augmentation du prix des combustibles fossiles, il paraît opportun d'examiner la transformation et l'utilisation des grignons à des fins énergétiques afin de réduire les coûts d'élimination des résidus issus des moulins à huile, les grignons d'olive sont considéré comme de la biomasse pouvant entrer dans la composition d'un biocombustible.

Le noyau d'olive présente ainsi un pouvoir calorifique de l'ordre de 5 kWh / kg. Sur le bassin oléicole français, le potentiel énergétique annuel du gisement de noyaux d'olive peut ainsi être évalué à 30 000 MWh à l'horizon 2015 (évaluation réalisée pour 15 % de noyau dans l'olive), soit une économie équivalente à 3 millions de litres de fioul domestique en entrée chaudière (2 600 tonnes équivalentes pétrole) et une diminution des rejets de CO₂ de près de 9 000 tonnes au niveau national [11].

I-7-2/ Valorisation des coques :

La forte valeur énergétique des coques issues du décorticage permet leur utilisation comme combustible, assurant ainsi la couverture énergétique des huileries, voire des savonneries qui y sont souvent jointes. Les cendres peuvent servir d'engrais en raison surtout de leur teneur en oxyde de potassium [1].

I-7-3/ Valorisation des eaux de végétation :

Les margines ou eaux de végétation sont des résidus aqueux accompagnant l'huile pressée, à forte charge polluante et à pH acide. Ils contiennent des sous-produits hydrosolubles à potentialité et valeur marchande non négligeables : sucres ; certains fermentescibles en alcool (raffinose, mannose, saccharose, glucose, arabinose et xylose) et alcools dérivés ; des polyphénols à effet conservateur par leurs pouvoirs antioxydant et antibactérien [12].

Ces eaux sont employées comme engrais liquides, fertilisants et composts. Des chercheurs espagnols [13] ont par ailleurs développé une méthode consistant à extraire de ces eaux des levures de type « candida » servant à les épurer. La teneur en sucres, facilement assimilable de ces eaux, les sels minéraux font un champ idéal pour le développement de ces levures [13].

Chapitre II :

Le phosphore et son traitement

Le phosphore (P) est un élément chimique non métallique abondant dans la nature. Il est le onzième constituant de la croûte terrestre (0.12%) [14].

C'est un élément indispensable à la vie : il entre dans la composition des os, des dents, il est essentiel pour l'ADN, les nerfs, et pour le fonctionnement des muscles ; il est aussi nécessaire à la croissance des plantes. Son utilisation dans l'agriculture en tant qu'amendement représente 80% de la quantité totale consommée par an pour répondre à une demande croissante en alimentation de la population [15].

Le phosphore n'a pas de toxicité propre et ne présente pas de risque sanitaire direct, mais il peut provoquer des dommages à l'environnement, particulièrement au milieu aquatique, par l'eutrophisation, avec comme conséquence des surcoûts importants pour la production d'eau potable [16].

Le phosphore est donc un élément indispensable vu que c'est un élément « plastique, énergétique et génétique de la matière vivante ». [16]

II-1/ Origine, propriétés et formes du phosphore :

Le phosphore a été découvert en 1669 par un alchimiste allemand Hennig Brand.

Le phosphore (P) est un élément de la colonne n° 5 de la classification périodique

Il présente la structure électronique : $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^3$ et peut se figurer P : faisant apparaître un doublet non apparié et trois électrons libres.

La valence normale de P conduit au degré d'oxydation III, qui apparaît par exemple dans PCl_3 , PH_3 . L'arrangement est pyramidal, l'hybridation de P étant sp^3 .

Le doublet non lié de P peut conduire à des composés de degrés d'oxydation V : $POCl_3$, PO_4^{3-} (tétraédrique), PCl_5 (bipyramidal)[17].

Le phosphore comprend une dizaine de variétés allotropiques (phénomène de structure de certaines substances entraînant des propriétés chimique et physique différentes) regroupées en trois types :

- le phosphore blanc qui brûle spontanément à l'air en dégageant une fumée très toxique et une lumière bleuâtre (phosphorescente)
- le phosphore rouge : beaucoup moins toxique que le précédent est employé dans la fabrication d'allumettes, de pesticides et de bombes incendiaires.
- le phosphore noir est très peu réactif [18]

- Le phosphore dissous (ou soluble) est présent dans l'eau et la solution du sol sous forme minérale (ions orthophosphates, les différents anions de l'acide phosphorique H_2PO_4^- et HPO_4^{2-} et les polyphosphates) ou organique (trioses phosphates, acides nucléiques, phospholipides, acides phosphoriques de sucre et leurs formes dégradées)
- Le phosphore particulaire regroupe toutes les formes de phosphore liées aux minéraux, à des débris divers ou incorporées dans les organismes [19].

II-2/ Les interactions entre les micro-organismes et le phosphore dans les eaux :

L'action des micro-organismes sur le phosphore des eaux est pour la plupart le résultat des réactions de transfert :

- Transfert d'une forme insoluble immobilisée à un composé soluble ou mobile, c'est-à-dire solubilisation des phosphates insolubles par voie microbiologique.
- Transfert des formes organiques à des formes inorganiques c'est-à-dire minéralisation du phosphore organique.

II-2-1/ La solubilisation :

Les micro-organismes responsables de la dissolution microbiologique des phosphates appartiennent à des genres très divers : Pseudomonas, Achromobacter, Flavobacterium, Bacillus, Arthrobacter.

Ces micro-organismes produisent des acides organiques provoquant la solubilisation des phosphates insolubles. Par la suite le phosphore inorganique sera assimilé par les micro-organismes sous formes de composés phosphorés organiques.

II-2-2/ La minéralisation :

La minéralisation du phosphore organique s'effectue par les enzymes type phosphatases. De nombreux micro-organismes, bactéries et champignons, produisent ces enzymes qui libèrent les phosphates inorganiques à partir des composés organiques phosphorés.

Parmi les micro-organismes minéralisants le phosphore organique on peut citer ceux qui appartiennent aux genres : Sarratia, Proteus, Arthrobacter et surtout Bacillus [20].

II-3/ Le phosphore et l'environnement :

Le phosphore joue un rôle indispensable dans le développement des plantes. Il en va de même pour les algues et les plantes aquatiques.

Si l'eau est riche en phosphore, elles se développent rapidement: c'est l'eutrophisation [18].

II-3-1/Les mécanismes d'eutrophisation :

Le fonctionnement du milieu aquatique est sous la dépendance d'un certain nombre de paramètres: la température, l'éclairement, la salinité et la dureté du milieu, les oligo-éléments (dont le magnésium qui intervient dans la constitution de la chlorophylle), les éléments chimiques dont l'azote, le carbone, le phosphore et le silicium.

Si les conditions physiques du milieu sont favorables, la disponibilité en excès d'éléments nutritifs est à l'origine du développement excessif des producteurs primaires (végétaux supérieurs et algues).

La production primaire dépasse alors la capacité des mécanismes naturels de régulation. En eau douce, le phosphore va être le facteur limitant de la prolifération du compartiment primaire. En eaux salées, la situation est moins claire, dans la mesure où les sédiments sont souvent largement pourvus en phosphore, avec des possibilités de relargage suivant les conditions physiques du milieu [16].

II-3-2/ La lutte contre l'eutrophisation s'organise :

Pour réduire la prolifération de ces algues, on utilise des moyens chimiques (sels de cuivre notamment), ou physiques en limitant la pénétration de la lumière, ou mécaniques en déstratifiant les colonnes d'eau par bullage d'air. On peut également réaliser le curage des plans d'eau. Pourtant ces solutions sont coûteuses et généralement limitées aux réservoirs d'eau destinés à être potable.

La seule solution viable sur le long terme est de limiter les apports en phosphore, facteur limitant de l'eutrophisation en eau douce.

Aujourd'hui, la prolifération des cyanobactéries et des algues vertes tend à s'installer dans toutes les zones de Bretagne et de plus en plus longtemps dans l'année, avec un fort accroissement en période estivale lorsque les conditions de luminosité et de température sont remplies [21].

II-4/ Traitement du phosphore :

Trois grands types de procédés sont développés pour concentrer le phosphore dans la fraction solide :

- Les procédés biologiques qui consistent à créer les conditions favorables à la croissance de micro-organismes capables d'accumuler le phosphore au delà de leurs stricts besoins de croissance,
- Les procédés mécaniques de séparation.
- Les procédés physico-chimiques qui consistent à précipiter le phosphore par modification des conditions du milieu (pH) et/ou par ajout de réactifs [22].

II-4-1/ Les procédés biologiques :

La déphosphatation biologique est basée sur la capacité de certains micro-organismes à accumuler le phosphore au-delà de leur besoin métabolique. Ce métabolisme est connu sous le nom d'EBPR de l'anglais « Enhanced Biological Phosphate Removal ».

La quantité de phosphore immobilisée dans les cellules est jusqu'à vingt fois supérieure à celle d'une biomasse de boues activées classiques et peut atteindre 0,38mg de P.g de MVS⁻¹ [23].

L'alternance de phases aérobies et de phases anaérobies strictes est nécessaire au développement des micro-organismes déphosphatants, appelé phosphorus accumulating organisms (PAO).

En condition anaérobie, les bactéries déphosphatantes sont capables de stocker les substrats biodégradables des eaux usées en tant que réserve de carbone organique, les polyhydroxyalcanoates (PHA).

L'énergie nécessaire à cette transformation est fournie par l'hydrolyse des polyphosphates intracellulaires et du glycogène, le phosphate ainsi libéré étant excrété dans le milieu. Pendant la phase aérobie, les PHA sont utilisés par le métabolisme et oxydés, permettant le restockage de glycogène et de P sous forme de polyphosphates, d'une quantité de phosphate supérieure à celle qui a été excrétée en anaérobie [24].

II-4-1-1/ Les procédés conventionnels par boues activées :

a) Principe général de l'épuration par boues activées :

Le principe du procédé à boues activées repose sur le constat suivant : un effluent, dans lequel on insuffle de l'air, est le lieu du développement progressif d'une flore bactérienne et cela au détriment des matières organiques polluantes appelées substrat [25].

Le procédé de traitement est dit « à boues activées » car l'ensemble des conditions favorables à une activité maximale des bactéries est mis en œuvre : un apport en oxygène suffisant, un apport en nutriment si l'effluent ne contient pas tous les composés nécessaires au développement des bactéries, une agitation permanente afin de favoriser le contact entre bactéries et pollution, une concentration élevée en bactérie pour augmenter l'efficacité du traitement [26].

L'eau épurée est ensuite séparée de la biomasse par décantation gravitaire (clarificateur). La majeure partie des boues épaissies est recyclée vers le bassin d'aération de façon à maintenir une concentration cellulaire stable et suffisante pour la biodégradation [27].

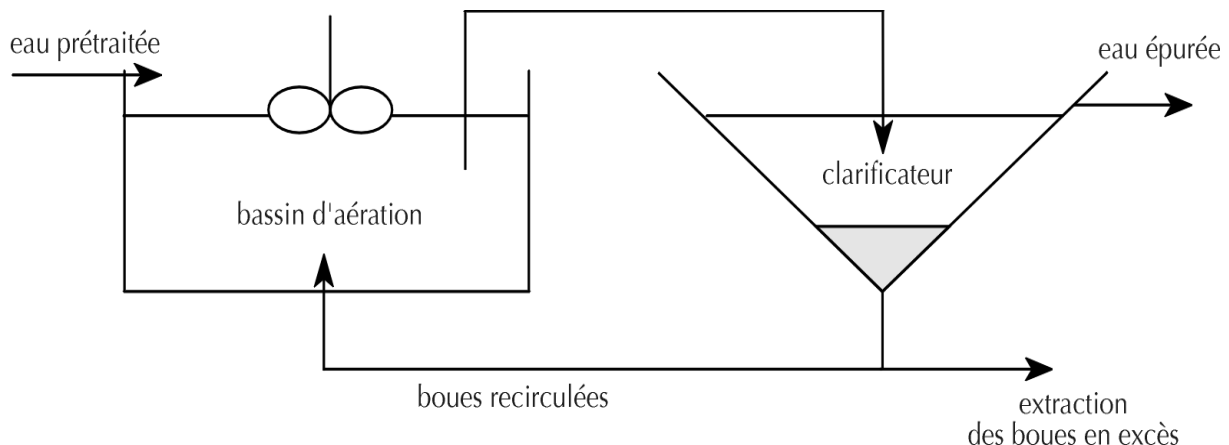


Figure II-1 : Principe général de l'épuration par boues activées [27].

b) Déphosphatation biologique par boues activées :

Cette méthode exige de mettre en place un bassin biologique possédant deux zones qui se succèdent, la première en anaérobiose (absence d'oxygène dissous) et la seconde en aérobiose.

En pratique, la recirculation des boues en tête du bassin biologique permet de placer les bactéries en conditions de stress. Elles ont alors tendance à sur-accumuler le phosphore dans le compartiment aérobie [27].

c) Déphosphatation par une biomasse fixée :

La déphosphatation biologique dans les systèmes de traitement à biomasse fixée, où le biofilm se développe sur un support solide est plus difficile à réaliser [26]. Le problème majeur réside dans l'exposition de la biomasse fixée à une alternance de phase anaérobiose/aérobiose.

Dans une boue activée cette séquence est accomplie dans l'espace alors que, dans un biofilm, cette réalisation s'obtient dans le temps. Donc, les systèmes à biofilm doivent opérer pendant une période de temps limité sous la condition anaérobie.

II-4-2/ Les procédés mécaniques de séparation :

Les procédés mécaniques permettent d'extraire le phosphore particulaire de l'effluent soit par décantation, soit à l'aide d'une filtration sous vide. Ils contribuent de façon marginale au traitement du phosphore des eaux usées urbaines du fait de la forte proportion de phosphore dissous dans ce type d'effluent.

Ils sont en revanche efficaces pour des effluents dans lesquels le phosphore particulaire est Majoritaire [24].

II-4-3/ Les procédés physico-chimique :

Des sels de fer ou d'aluminium ou de la chaux sont ajoutés à l'effluent à traiter pour former des précipités insolubles de phosphate. Si l'ajout de chaux est la pratique la plus ancienne, le seul apport de calcium ne permet pas, en général, d'atteindre les seuils réglementaires. De plus, la quantité importante de réactif nécessaire produit un grand volume de boues. Aussi, les sels de fer ou d'aluminium sont aujourd'hui les plus fréquemment utilisés.

Les quantités de réactifs varient d'une station à l'autre. Ils dépendent de la concentration en phosphate de l'effluent mais aussi des conditions physico-chimiques du milieu (pH, alcalinité,

espèces organiques dissoutes, etc.), des conditions de brassage et des matières en suspension [28].

Des ratios molaires Fe/P compris entre 1 à 7,5 ont été décrits comme optimum. Pour un rapport molaire donné, le rendement d'élimination du phosphore sera d'autant plus élevé que la concentration initiale est importante [29].

Trois mécanismes de précipitation sont impliqués dans la déphosphatation physicochimique:

- la précipitation chimique des complexes hydroxy-métalliques de faible solubilité.
- l'adsorption d'espèces phosphorées dissoutes sur la surface de complexes déjà précipités
- la floculation et la co-précipitation de matières colloïdales finement dispersées.

Ces trois mécanismes ont lieu simultanément, ce qui explique les rendements élevés de déphosphatation atteints par les procédés de traitement physico-chimiques [29].

Chapitre III :

Déphosphatation biologique sur biomasse fixée

III-1/ Les procédés a biomasse fixée :

Les procédés à cultures fixées possèdent des avantages par rapport aux procédés à cultures libres. L'hétérogénéité structurale du biofilm lui confère la possibilité d'abriter différents types de microorganismes dans différentes niches écologiques.

Le système à culture fixée fournit une surface volumique élevée pour les microorganismes par l'attachement naturel du biofilm sur les supports. La présence de biomasse sur les supports augmente également la stabilité du système biologique en réduisant les problèmes des surcharges organiques et des charges toxiques [30].

Le principe de fonctionnement d'un lit bactérien consiste à faire ruisseler l'eau à traiter sur une masse de matériaux poreux ou caverneux, accumulés sur une hauteur convenable, qui sert de support aux micro-organismes épurateurs. Cette culture bactérienne colonise la surface du support solide en formant un biofilm [31].

On pourra observer trois couches dans le biofilm, de l'extérieur vers l'intérieur [32]

- une couche aérobie en croissance, recevant du substrat.
- une couche aérobie ne recevant pas de substrat, non en croissance, mais en respiration endogène.
- une couche anaérobie ne recevant ni oxygène, ni substrat, qui opère en fermentation gazeuse.

L'application de la déphosphatation biologique dans des réacteurs à biomasse fixée a été réalisée dans divers types de bioréacteurs dont les principaux sont : le réacteur biologique séquentiel à biofilm (RBS-BF), le réacteur biologique séquentiel à biodisques (RBS-BD), le réacteur biologique à lit fluidisé (RBLF), le réacteur submergé à lit fixe (RSLF) et le réacteur biologique à membrane (RBM) [33].

III-2/ Les supports bactériens et la formation du biofilm :

Les supports de biofilm devraient avoir des propriétés physiques et chimiques désirables dans le but de réussir l'attachement des microorganismes et supporter la croissance microbienne.

Les suggestions proposées par Dussert B. W., et coll. (1996) sont que le support utilisé pour la biofiltration doit avoir une bonne porosité, une bonne rugosité de la surface, ainsi qu'une

bonne capacité d'adsorption. Sa chimie de surface doit être favorable (ne réagit pas avec le liquide qui s'écoule en surface).

L'aptitude des microorganismes à se fixer sur la surface d'un support est fonction de la résistance du matériau utilisé aux courants du fluide traversant le système de biofiltration. De plus le médium doit avoir un volume interstitiel suffisant pour prendre au piège les microorganismes qui se détachent [35].

La présence d'oligo-éléments dans un support bactérien contribue à la prolifération des microorganismes. [36] a identifié plusieurs oligo-éléments contenus dans le bois comme le Ca, K, Mg, Na, B, Mn, Mo, Cu, Zn, Co, Ni.

Ces éléments sont essentiels pour la multiplication des microorganismes.

III-3/ Avantages de l'épuration par une biomasse fixée par rapport à la biomasse en suspension :

La capacité des cellules à se développer sous forme de biofilm leur confère des avantages décisifs par rapport aux cellules en suspension. Ces avantages comprennent [37]:

- Une accumulation élevée de biomasse dans le réacteur.
- Une plus grande stabilité, notamment aux variations subites (chocs) de la charge [38].
- La biomasse en suspension peut être éliminée par l'écoulement liquide, alors que les bactéries du biofilm sont davantage protégées de ce phénomène de lessivage [39].
- Le biofilm joue un rôle de barrière, aussi bien pour les composés néfastes à la croissance bactérienne que pour les substrats.
- Il y a indépendance entre le temps de rétention hydraulique et le temps de rétention de la biomasse sur les supports ce qui confère à cette technologie une flexibilité opérationnelle et donc une facilité d'opération exceptionnelle.
- Les biomasses immobilisées ont tendance à mieux décanter que les biomasses en suspension.
- Une sensibilité moindre aux basses températures.

III-4/ Facteurs d'influence sur la formation du biofilm :

De nombreux facteurs cellulaires, de surface ou environnementaux sont cités dans la littérature comme ayant une influence sur l'adhésion microbienne tel que le PH, l'âge de la boue, la charge organique et autres.

La température joue un rôle primordial dans le développement du biofilm, puisque pour des températures éloignées de l'optimum, la vitesse de multiplication des cellules est ralentie. Cela se traduit, au niveau du fonctionnement des lits bactériens par des démarrages plus lents et une accumulation importante de biosolides à des températures inférieures à 5°C [40].

Dans un réacteur classique, la capacité de l'élimination de la charge des effluents dépend en effet des conditions de fonctionnement du réacteur (notamment de la composition de l'effluent, le temps de séjour hydraulique TRH, la charge massique en carbone, la charge volumique en azote) [40].

Présence de nitrates dans la phase anaérobie

La présence des nitrates durant l'anaérobiose a en général un effet défavorable sur la performance de la déphosphatation biologique. Cet effet s'explique par l'influence négative qu'exercent les nitrates sur le stockage anaérobie de PHB et PHV [41].

En présence des nitrates, la matière organique facilement stockable comme l'acétate ou le propionate, est consommée par dénitrification plutôt que d'être stockée sous forme de PHA par les bactéries déphosphatantes.

Pourtant, le relargage du phosphore en présence de nitrates peut se produire sous les conditions suivantes :

- En présence de carbone organique en quantité suffisante, ce qui peut inhiber l'utilisation des nitrates pour le métabolisme, et par la suite minimiser les effets inhibiteurs de l'assimilation du phosphore par les bactéries déphosphatantes dénitrifiantes concernant de relargage du phosphore [42].
- Si les nitrates sont réduits par l'activité biologique à un niveau qui permet le relargage du phosphore [43].
- En présence des bactéries déphosphatantes aérobies qui n'ont pas la capacité d'utiliser les nitrates pour la respiration [43].

La dernière condition peut expliquer le relargage du phosphore dans un biofilm en présence dans l'affluent des nitrates en quantité assez élevée (12 mg/L) et de carbone en faible quantité (50 mg DCO/L)[44].

III-5/ Les bactéries responsables de l'élimination du phosphore :

Les bactéries impliquées dans la déphosphatation (bio-P) sont [45] :

- Les PAO (polyphosphateaccumulating organismes)

Ce sont des organismes capables de stocker des PHA (polyhydroxyalcanoates) en anaérobiose en utilisant de l'énergie issue de l'hydrolyse des phosphates et de consommer les orthophosphates en condition aérobie en hydrolysant les PHA.

Les travaux montrent que les principales bactéries appartenant au groupe des PAO sont *Acinetobacterspp*, *B-Proteobacteria*, *Actinobacteria* et *Rhodocyclus*.

On trouve parmi les espèces bactériennes responsables du phénomène de déphosphatation biologique, majoritairement, le genre *Acinetobacterspp*. C'est un coccobacille aérobie strict, gram négatif, utilisant comme substrat carboné : l'acétate, l'éthanol et le succinate mais en aucun cas le glucose et le lactose [45].

- Les GAO (glycogenaccumulating organismes) :

Les microorganismes peuvent consommer du glucose et stocker des PHA grâce à l'hydrolyse du glycogène. On recense en générale parmi ces bactéries les gamma-protéobacteria et les G-bactérias [46].

III-6/ Mécanismes d'enlèvement biologique du phosphore :

L'EBP est basé sur l'accumulation du phosphore, dans la biomasse, et ce en excès des besoins métaboliques pour sa croissance. Deux conditions principales sont nécessaires pour assurer ce processus :

- l'exposition de la biomasse à une alternance anaérobie/aérobie (ou anaérobie/anoxie)
- la présence de substrats organiques simples, particulièrement les acides gras volatils (AGV), pendant la phase anaérobie.

Une concentration d'AGV d'environ 165 mg DCO/L est optimale pour le relargage du phosphore dans une biomasse en suspension [47].

Levin et Shapiro (1965) sont les premiers à prouver que le phénomène est bien biologique.

En condition anaérobie, les bactéries déphosphatantes (bactéries bio-P) utilisent les réserves intracellulaires, soit les polyphosphates inorganiques (poly-P), comme source d'énergie, et font le stockage du substrat simple organique sous la forme de polymères : le poly- β -hydroxybutyrate (PHB) et le poly- β -hydroxyvalérate (PHV), et parfois même le glycogène si l'affluent contient une proportion importante de sucres. En même temps se produit le relargage dans l'eau du phosphore présent dans la biomasse [48].

Pendant la phase aérobie, les phosphates précédemment libérés sont accumulés par la biomasse alors que les réserves internes de carbone polymérique (PHB et PHV) sont consommées.

L'EBP est donc le résultat de deux phénomènes principaux :

- le stockage de matière organique avec relargage du phosphore de la biomasse en anaérobiose
- l'accumulation du phosphore par la biomasse en aérobie avec métabolisme de la matière organique précédemment stockée.

Donc, le fait de soumettre la biomasse à une séquence anaérobie/ aérobie s'avère essentiel pour l'EBP.

Diverses hypothèses ont été proposées pour expliquer le mécanisme de fonctionnement biochimique de la biomasse sous ces conditions.

Le succès du processus d'EBP est basé sur la sélection écologique de groupes bactériens capables d'accumuler les phosphates en quantité plus élevée que nécessaire pour l'anabolisme.

Plusieurs modèles biochimiques sont proposés pour expliquer l'EBP. Ces modèles proposent des processus biochimiques et les mécanismes mis en jeu pour expliquer l'EBP [48].

III-7/ Efficacité de la déphosphatation biologique : conditions optimales et rendements [24]:

L'efficacité de la déphosphatation biologique est principalement liée :

- A la concentration de substrats simples facilement biodégradables contenus dans les eaux usées ou pouvant être éventuellement générés en anaérobiose ;
- Au rapport DBO/P (ou DCO/P) des eaux usées qui intervient au niveau du rendement d'assimilation ;
- A l'existence de conditions anaérobies et aérobies réelles dans les réacteurs concernés ;
- Au respect de temps de séjour suffisants dans les réacteurs anaérobies et aérobies pour que les réactions de relargage puis de réabsorption soient complètes ;
- A l'âge des boues.

Matériels et méthodes

IV-1-1/ Matériels utilisés :

Le dispositif expérimental utilisé dans le cadre de la déphosphatation biologique par une biomasse fixée, comprend :

- Un bassin d'alimentation contenant l'effluent synthétique.
- Un bassin contenant le concentrât.
- Une colonne en verre remplie de grignon d'olive (réacteur), équipée de différents points de prélèvements permettant de suivre l'évolution des paramètres à différents niveaux du lit. (Tableau IV-1)
- Une pompe péristaltique permettant de faire varier le débit et par conséquent la vitesse de passage dans la colonne.
- Une pompe à air assurant l'aération en phase aérobie.

Tableau IV-1 : Caractéristiques de la colonne

Hauteur de la colonne	(m)	1,60
Section de la colonne	(m ²)	1,26x10 ⁻³
Volume de la colonne	(m ³)	2,02x10 ⁻³
Hauteur utiles	(m)	1,05
Volume utile	(m ³)	1,32x 10 ⁻³

Tableau IV-2 : Caractéristiques de l'appareillage.

Appareillage	Caractéristiques
Spectrophotomètre	Spectrum vis spectrophotometer SP-2000
Pompe péristaltique	J.P.SELECTA,s.a COD : 4129050
Pompe à air	

IV-1-2/ Le substrat :

Le substrat est un résidu solide (grignon d'olive) prélevé directement au moulin de l'huilerie ; il est produit dans la région de Tizi Rached willaya de Tizi-Ouzou, durant la campagne oléicole de 2010 à 2012.

Bien que le résidu solide ait été préalablement concassé lors de la production d'huile, cette matière est de nouveau réduite à une granulométrie de 5 - 0,212mm.

Les principales caractéristiques du matériau lignocellulosique sont données dans les tableaux IV-3 et IV-4 :

La teneur en cellulose, hémicellulose et lignine a été faite au niveau du centre d'élevage de Baba-Ali.

Tableau IV-3 : Composition chimique du résidu solide de moulin d'huile.

Composés	Teneurs (en% poids/poids) de la MS
Cellulose (%)	10,23
Hémicellulose (%)	8,40
Lignine (%)	58,64
Taux d'humidité (%)	13,24
Taux matière sèche (%)	86,76
Taux de cendre (%)	12,48

Tableau IV-3 : Caractéristique physico-chimique du résidu solide de moulin d'huile :

Densité apparente (g/cm ³)	0,694
Densité réelle (g/cm ³)	0,862
Granulométrie (mm)	5 - 0,212
Porosité	0,241

IV-1-3/ Méthodes analytiques :

a- L'humidité : (ISO N°934, 1980; M.E., 2001)

C'est le rapport exprimé en pourcentage du poids de l'eau contenue dans un matériau, au poids du solide.

$$H = ((M_0 - M_1) / M_0) \times 100$$

M_0 : masse du grignon d'olive avant séchage (g)

M_1 : masse du grignon d'olive après séchage (g)

b- Matière sèche :

C'est le résidu obtenu après séchage à 110°C. La relation est :

$$MS = 100 - H$$

H : taux d'humidité (%)

c- Cendres totales : (NF T 51.040)

Elles sont définies comme étant le résidu obtenu après calcination à 550°C dans un four à moufle. Le taux de cendres est défini par :

$$\% \text{ Cendres} = m / m_0 \times 100$$

m_0 : masse du grignon d'olive (g)

m : masse de cendre pesée après calcination (g)

d- Cellulose brute :

La teneur en cellulose brute est déterminée par la méthode de **Weende** (voir annexe).

Dans cette méthode, les matières cellulosiques correspondent au résidu organique insoluble obtenu après attaque acide (H_2SO_4 0,26 N) et alcaline (NaOH 0,31 N) du substrat.

e- Composés pariétaux :

La teneur en composés pariétaux (cellulose, hémicellulose et la lignine) est déterminée par la méthode de Van Soest (voir annexe).

Cette technique permet d'isoler successivement trois résidus à savoir ;

* NDF (Neutral Detergent Fibber) qui constitue l'essentiel de la paroi végétale.

* ADF (Acid Detergent Fibber) qui correspond à la ligno-cellulose.

* ADL (Acid Detergent Lignin) qui correspond à la lignine.

f- DCO:

Oxydation chimique des matières réductrices par un excès de $K_2Cr_2O_7$. Cette oxydation se réalise en milieu acide (H_2SO_4), en présence de sulfate de mercure comme catalyseur ($HgSO_4$), à ébullition à reflux pendant 2 heures dans un ballon ou un tube muni d'un réfrigérateur c'est une méthode colorimétrique qui se calcul par excès de dichromate de potassium selon la norme : Standard Methods .

g- Nitrates

Transformation des nitrates en dérivé nitro-phenol-sulfonique coloré au moyen d'acide sulfophénique c'est une méthode colorimétrique selon la norme : AFNOR NF 90 102.

h- Phosphates :

Formation en milieu acide d'un complexe avec le molybdate d'ammonium et le tartrate double d'antimoine et de potassium la méthode d'analyse des phosphates est également colorimétrique selon la norme : ISO N° 6878.

i- Nitrites :

Les nitrites réagissent avec le Sulfanilamide pour former un composé diazoïque qui, après copulation avec le N1 Naphtyléthylènediamine dichlorure donne naissance à une coloration rose mesurée à 543nm cette méthode de dosage est aussi colorimétrique et selon la norme : AFNOR NF 90 013.

j- Densité réelle : (NF EN 934 -3)

Elle permet d'étudier la répartition du volume poreux.

$$dr = M_0 \times \rho / (P_2 - P_1)$$

M_0 : Masse du produit à analyser (g).

ρ : Masse volumique du méthanol ($\rho = 0,792 \text{ g/cm}^3$).

P_1 : Masse du méthanol à ajouter à M_0 pour remplir le pycnomètre (g).

P_2 : Masse du méthanol remplissant le pycnomètre (g).

k- Densité apparente : (NF EN 932-2)

La densité apparente est donnée par la relation suivante :

$$daap = M_0 / V$$

Tel que $M_0 = M_2 - M_1$

Avec : M_0 : Masse du grignon d'olive

M_2 : Masse d'une éprouvette de 10ml qui contient le grignon d'olive (g).

M_1 : Masse de l'éprouvette vide (g).

V : Volume de l'éprouvette = 10 ml.

l- La porosité : (AFNOR B 10 503)

Elle est liée à la présence de pores entre les grains constituant un solide. Elle est exprimée par le rapport du vide au volume total.

$$\epsilon = V_1/V_T = [(M_2 - M_1)/d] - V_2/V_T$$

Mode opératoire : Pour mesurer la porosité (ϵ), on utilise une éprouvette de 10 ml qu'on remplit de grignon d'olive jusqu'à un volume de 2 ml, soit une masse M_1 . On ajoute du méthanol jusqu'à un volume de 4 ml, soit alors la masse M_2 . La porosité est calculée par la relation suivante :

Avec : $V_T = 4$ ml ; $V_2 = (4-2)$ ml ; d : densité du méthanol = 0,792.

m- Granulométrie :

Nous avons utilisé un tamiseur électrique avec vibration et système de fixation son principe est le suivant : Une colonne de tamisage est composée d'une série de tamis de contrôle empilés les uns sur les autres, par ordre croissant d'ouverture de maille (de bas en haut).

Chaque tamis est formé d'un boîtier cylindrique dans le fond duquel est tendue une toile, généralement métallique, dont les ouvertures sont normalisées.

Un échantillon représentatif du matériau à analyser est déposé sur le tamis supérieur, et l'ensemble des tamis est soumis à des secousses conduisant à la répartition des particules le long de la colonne de tamisage

IV-1-4/ Alimentation :

L'alimentation correspond à un effluent synthétique dont la composition est la suivante :

- PO_4^{3-} (KH_2PO_4) = 30 mg/L
- NO_3^- = 100 mg/L

- $\text{CH}_3\text{COO}(\text{CH}_3\text{COONa})=196 \text{ mg/L}$ correspondant à une DCO de 300 mg/L d'O_2
- Les oligo-éléments sont apportés par l'eau du réseau de distribution.

La quantité d'AGV est comprise entre 25 et 100 mg/L pour chaque mg de P à éliminer, cela nous a conduits à utiliser une quantité de 25 mg/L d'acétate pour chaque mg de P à éliminer [29].

IV-2-1/ L'ensemencement du réacteur :

La colonne a étéensemencée par une biomasse dénitrifiante préalablement sélectionnée en mode batch à partir d'une boue activée récupérée au niveau de la station de traitement d'eaux usées de Baraki alimentée par : 2 g/l de KH_2PO_4 ; 2 g/l de KNO_3 ; 1 g/l de CH_3COONa

La fixation des microorganismes a été réalisée par le passage, en circuit fermé et à faible vitesse, d'une quantité de boue présélectionnée représentant 2% du volume total du réacteur.

Une fois que la biomasse colonise les supports et développe un biofilm, le réacteur fonctionne en continu.

IV-2-2/ Cycle d'opération du réacteur séquentiel :

Le réacteur est alimenté à l'aide de la pompe péristaltique opérant en flux ascendant afin d'éviter la formation de poche de gaz.

Le fonctionnement séquentiel retenu pour notre étude est le suivant :

1. Phase anaérobie : le réacteur fonctionne en anoxie puis en anaérobie, après une consommation des nitrates éventuels de l'effluent.
2. Phase aérobie : L'affluent sortant de la phase anaérobie est recueilli dans le bassin de concentrât pour être réintroduit dans la colonne. L'aération est assurée par une pompe à air.

IV-3/ La distribution des temps de séjour (DTS) d'un système:

Le traceur utilisé dans cette étude est une solution de chlorure de sodium à 100 g/L , dont 5 ml ont été injectés instantanément à l'entrée du réacteur, sous forme d'un Dirac. La détection du

signal est réalisée par la mesure de la conductivité et les valeurs sont exprimées en conductivité de NaCl (C(t)).

Le dispositif de mesure utilisé est un conductimètre (HANNA instrument EC 124).

Tableau IV.5 : Caractéristiques de la phase anaérobie/ aérobie.

	Phase anaérobie	Phase aérobie
Temps de séjour (min)	18	18
Vitesse (m/h)	0,713	0,713
Débit (m³/h)	1,44 x 10 ⁻³	1,44 x 10 ⁻³

Résultats et discussions

V-1/ Caractérisation chimique du grignon d'olive :

Les principales caractéristiques chimiques du grignon d'olive présentées sur le Tableau IV-3 (annexe 10).

Les résultats des analyses effectuées sur le grignon d'olive de Tizi Rached sont globalement conformes à ceux rapportées par la littérature relative à un grignon épuisé partiellement dénoyauté [7]. Le taux de cellulose qui correspond à la fraction carbohydrates est faible (10%) si on la compare aux résultats de N. Abdi et coll (2000) qui ont utilisé un grignon brut avec une teneur en cellulose de 86% (en% poids/poids) de la MS).

V-2/ Distribution granulométriques du grignon :

Le grignon utilisé possède une granulométrie située entre 0.212 et 5 mm. Bien que la proportion la plus importante correspond à une granulométrie située entre 2-5mm (Figure IV-1) nous avons jugé utile d'utiliser le mélange dans le but de valoriser ce déchet et l'utiliser comme support bactérien dans la déphosphatation des eaux.

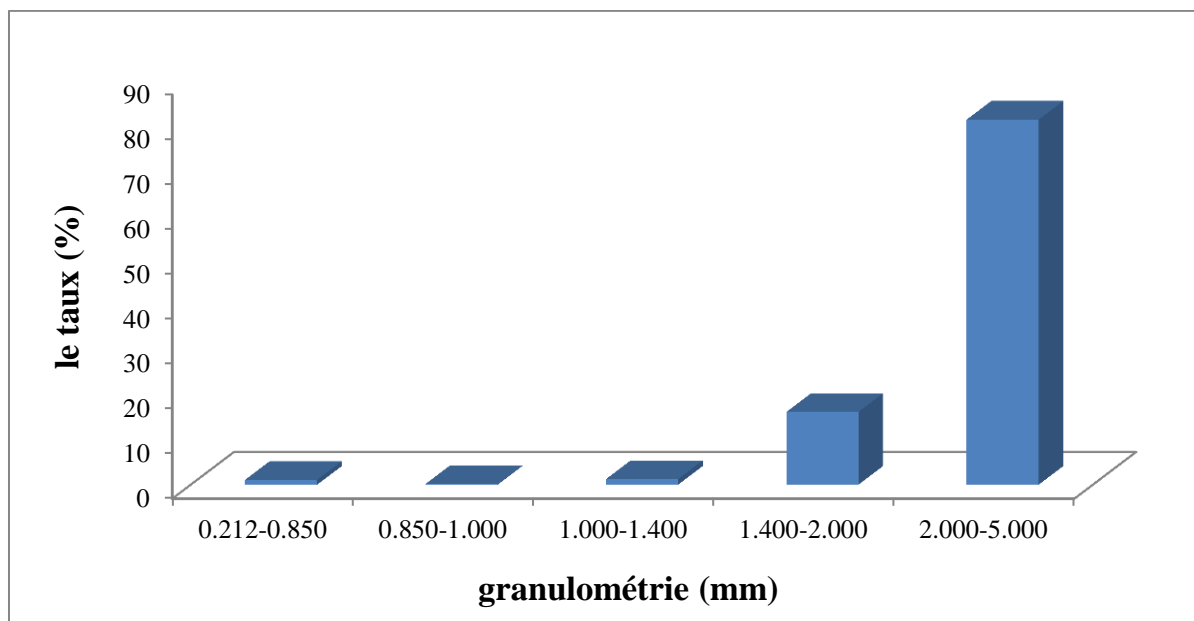


Figure V-1 : Taux des différentes granulométries.

La mise en route du bioréacteur a nécessité un ensemencement par une biomasse dénitrifiante préalablement sélectionnée à partir d'une boue activée. L'adaptation de notre bioréacteur à la dénitrification s'est déroulée en une semaine environ. Le suivi du dénitrifiant de nos bactéries a été réalisé par un profil nitrite/nitrate.

La biomasse dénitrifiante est utilisée car les bactéries dénitrifiantes sont également déphosphatantes.

L'exposition de la biomasse fixée sur le grignon à une alternance anaérobie/aérobie nous a permis d'observer une activité déphosphatante au bout de 4 jours.

V-3/ Influence de la concentration initiale en nitrates :

Dans le but d'optimiser la concentration initiale en nitrates nous avons fait varier l'effluent synthétique à différentes concentrations en nitrates à savoir : 50mg/L ; 100mg/L ; 150mg/L.

Le suivi du fonctionnement du réacteur est réalisé par l'examen de l'évolution des paramètres suivants dans les deux phases anaérobie/aérobie : concentration en ions phosphates, concentration en ions nitrates, concentration en ions nitrites, DCO.

Les résultats sont présentés sur les **Figures V-1-1-1, V-1-1-2, V-1-1-3**

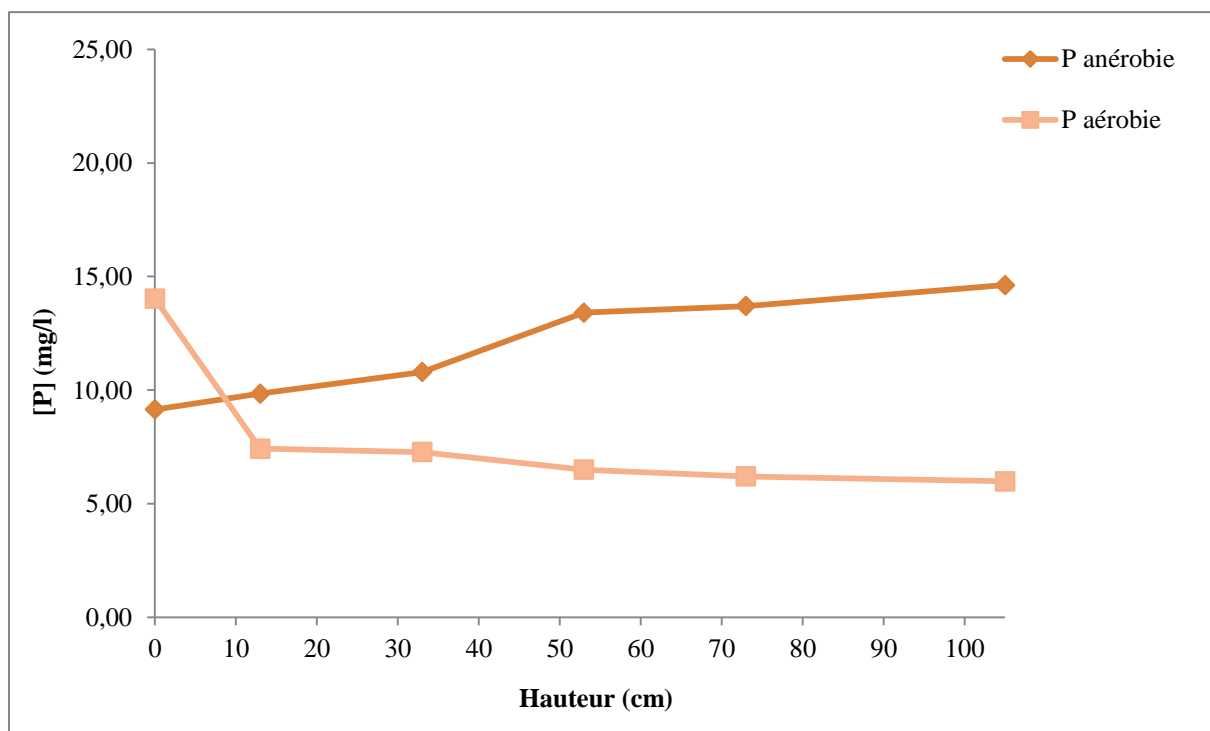
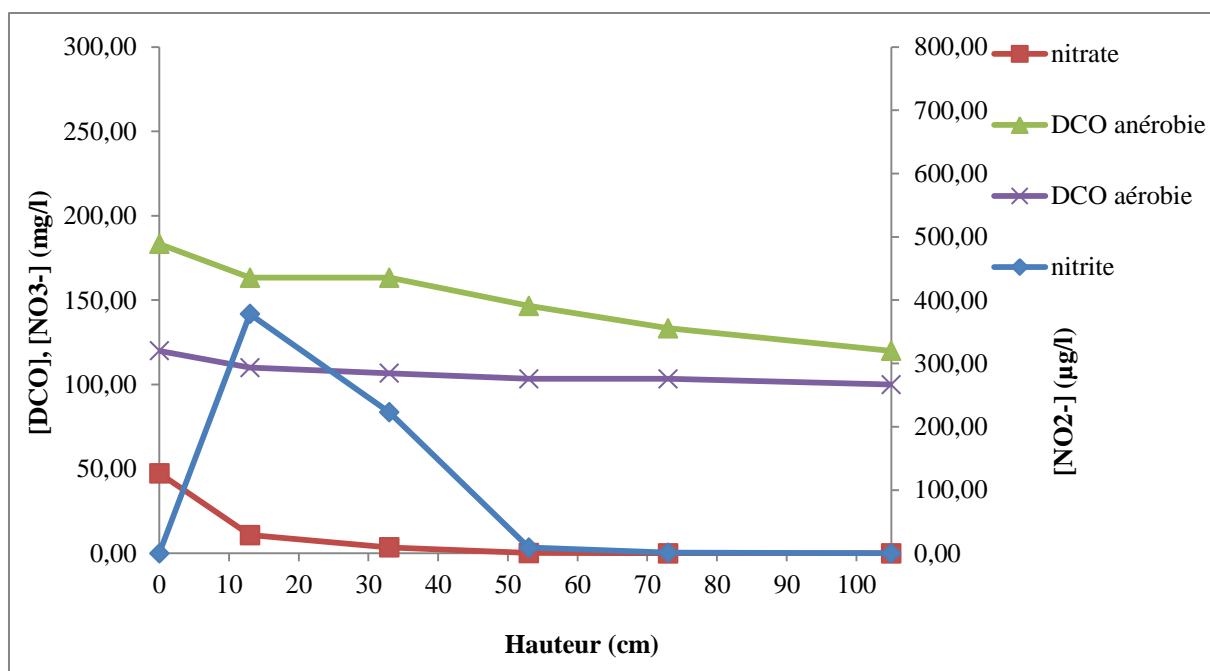


Figure V-1-1-1 : Evolution de [NO₃⁻] ; [NO₂⁻], [DCO], [P] avec une concentration initiale de 50mg/L en [NO₃⁻]

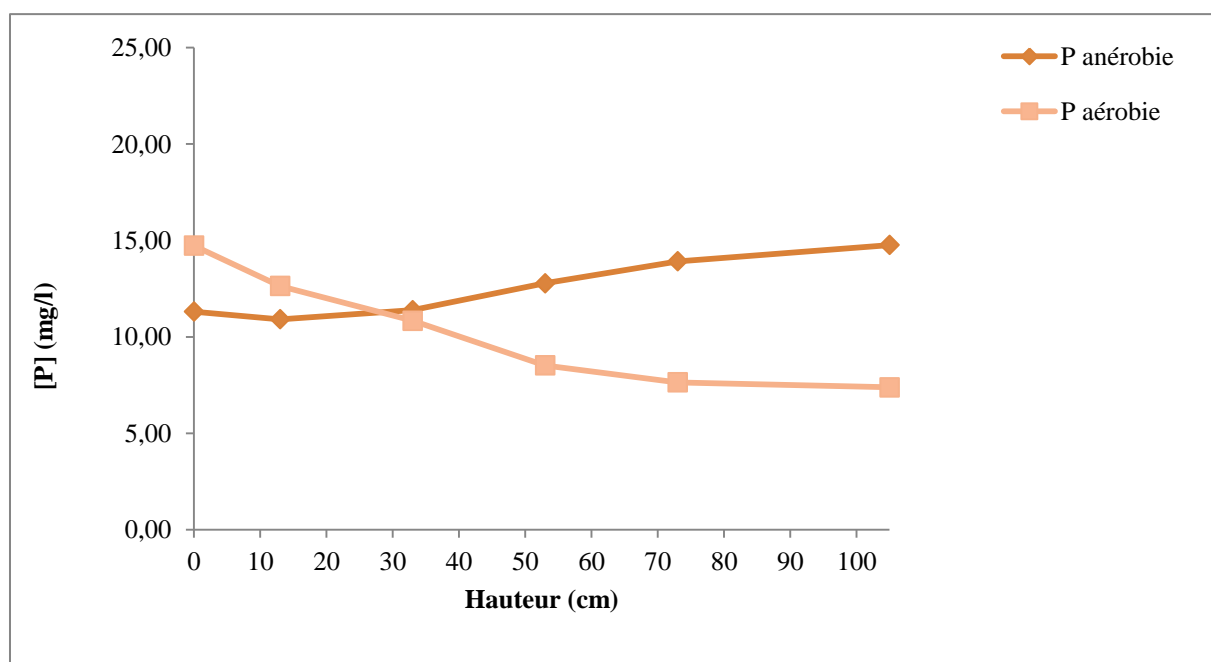
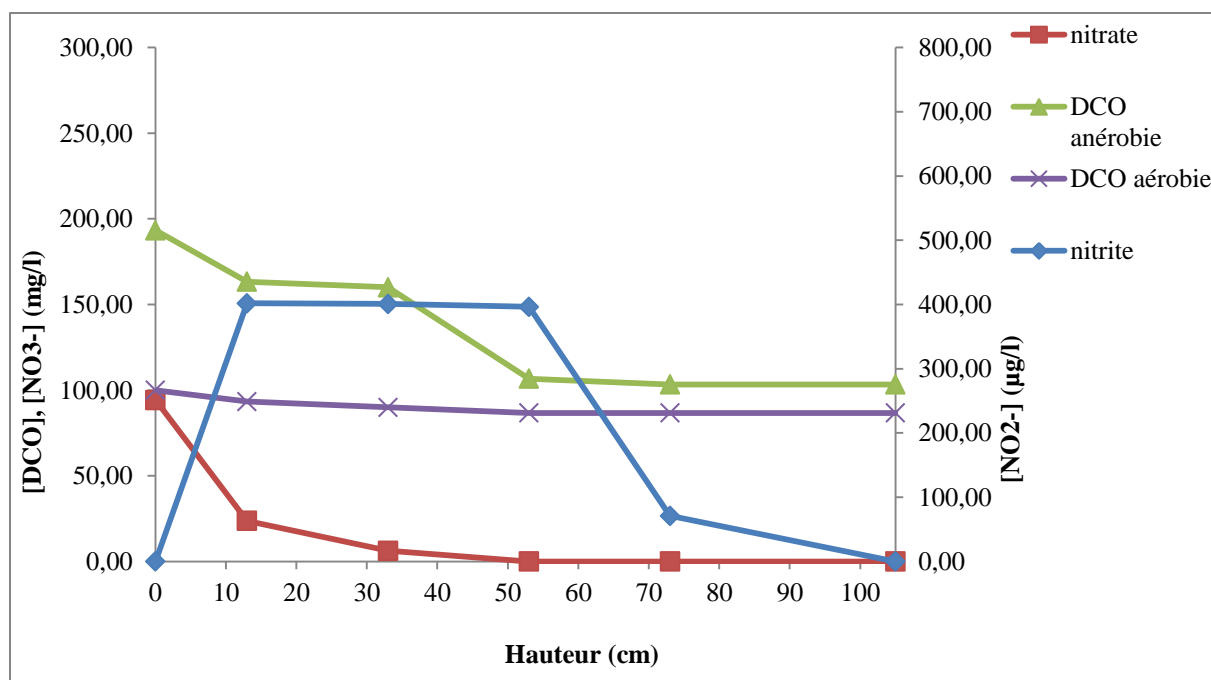


Figure V-1-1-2 : Evolution de [NO₃⁻] ; [NO₂⁻], [DCO], [P] avec une concentration initiale de 100mg/L en [NO₃⁻]

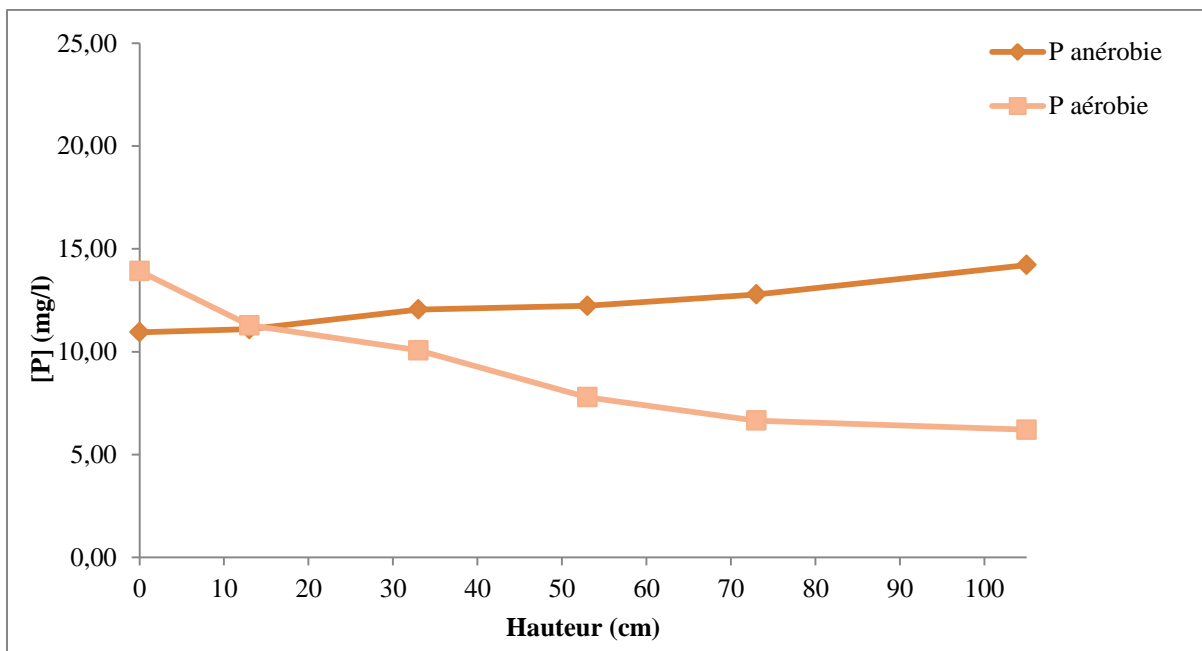
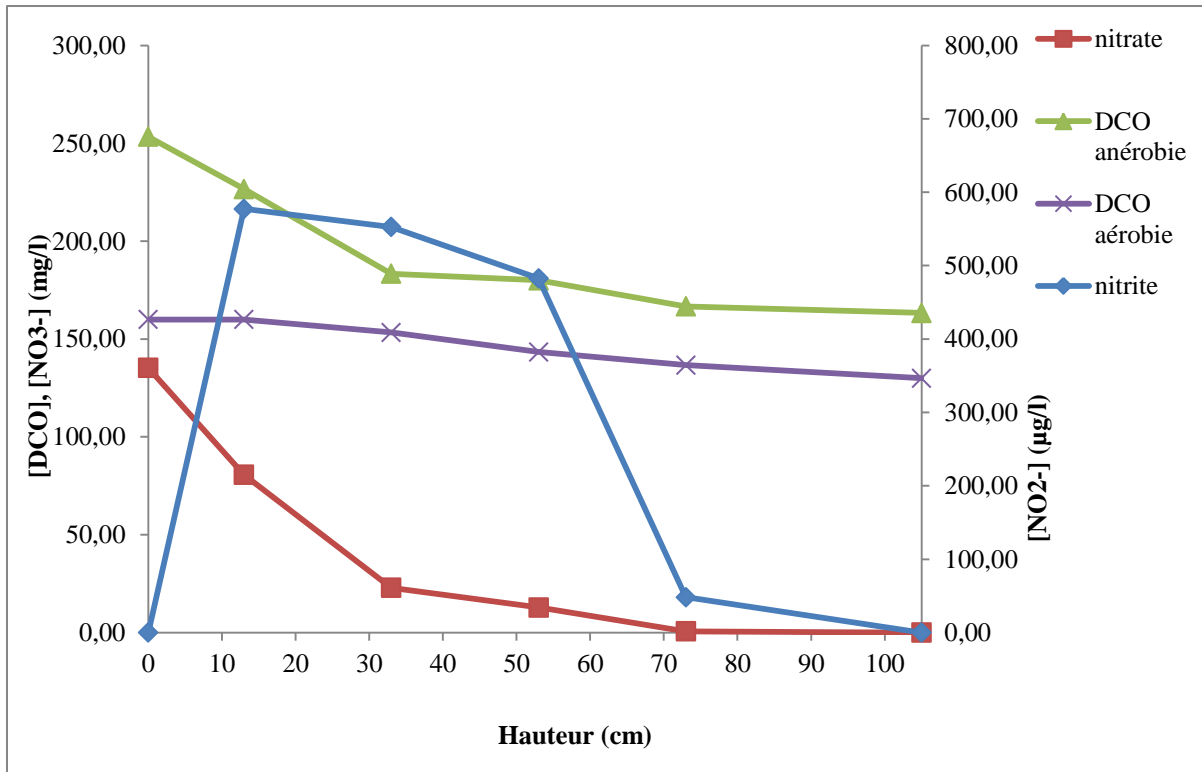


Figure V-1-1-3 : Evolution de $[\text{NO}_3^-]$; $[\text{NO}_2^-]$, [DCO], [P] pour une concentration initiale de 150mg/L en $[\text{NO}_3^-]$

D'après les résultats obtenue nous pouvons déduire que :

Nous pouvons observer une importante activité de dénitrification en phase anaérobie et donc une consommation totale des nitrates.

On constate que la dénitrification se fait principalement dans le bas de la colonne ce qui signifie un grand pouvoir dénitrifiant des bactéries et une importante colonisation à ce niveau.

La concentration en nitrates diminue jusqu'à leur élimination totale. Parallèlement les nitrites sont produits. La valeur optimale obtenue se situe 10cm, entre 10 et 50cm, et 10 et 30cm pour les concentrations initiales de 50, 100 et 150mg/l de NO_3^- respectivement. Les nitrates sont réduits en azote moléculaire avec une production et disparition des intermédiaires nitrites.

Selon les courbes on observe également une diminution de la DCO ce qui s'explique par le fait que la matière organique facilement stockable comme l'acétate, est consommée par dénitrification plutôt que d'être stockée sous forme de PHA par les bactéries déphosphatantes.

En ce qui concerne l'évolution du phosphore nous avons remarqué une phase de relargage dans la phase anaérobie puis une réabsorption de ce phosphore dans la phase aérobie. Nous sommes donc en présence des deux phénomènes mis en évidence par [50].

- le stockage de matière organique avec relargage du phosphore de la biomasse en anaérobiose
- l'accumulation du phosphore par la biomasse en aérobie avec métabolisme de la matière organique précédemment stockée.

Par ailleurs, l'abattement obtenue lors de cette étude est relativement bas ce qui s'explique par la mauvaise aération lors de la phase aérobie suite à l'utilisation d'une pompe de faible pression.

La figure V-1-2 montre le rendement obtenu pour chaque concentration de Nitrates. Les résultats obtenus montrent une déphosphatation moyenne de l'ordre de 40%.

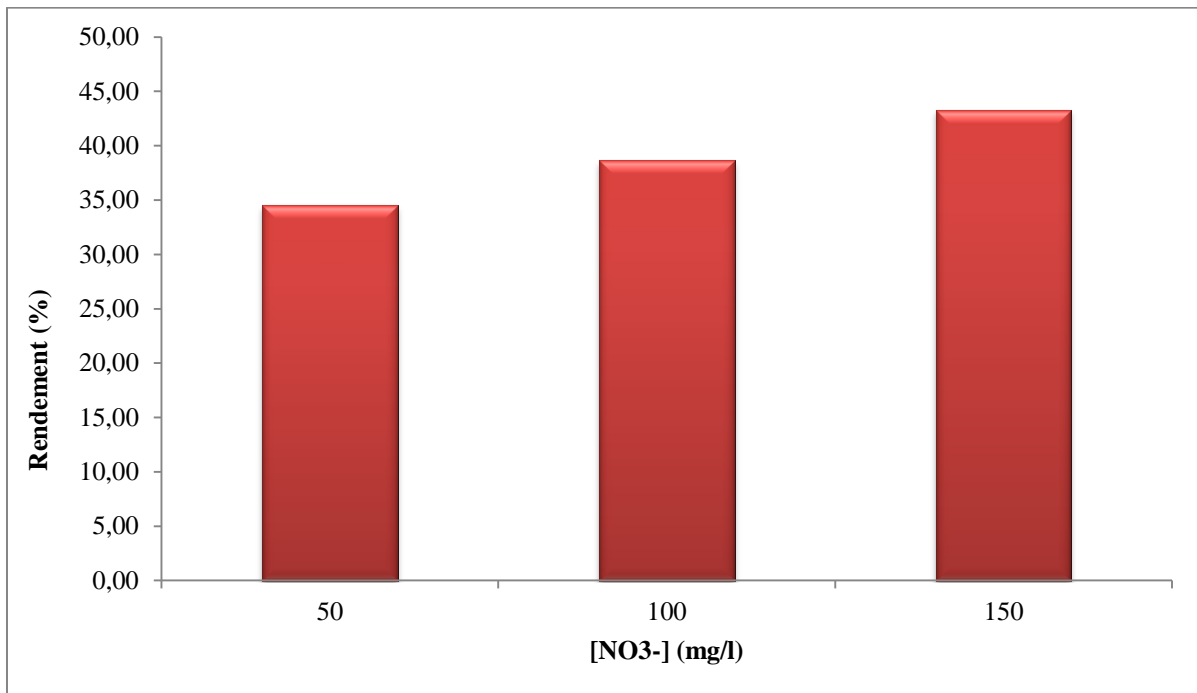


Figure V-1-2 : Variation du rendement de la déphosphatation en fonction de la concentration des nitrates.

V-1-2/ Influence de la concentration initiale de phosphore :

Etant donné que notre étude consiste à traiter un effluent fortement chargée en phosphore, nous avons essayé d'étudier l'influence de la charge volumique sur le processus de déphosphatation le long de la colonne.

Pour se faire, nous avons fait circuler à flux ascendant l'alimentation à différentes concentrations en phosphate (20mg/L, 30mg/L et 40mg/L) en fixant la concentration des nitrates à 100mg/L.

Les résultats sont présentés sur les **Figures V-1-3-a, V-1-3-b, V-1-3-c.**

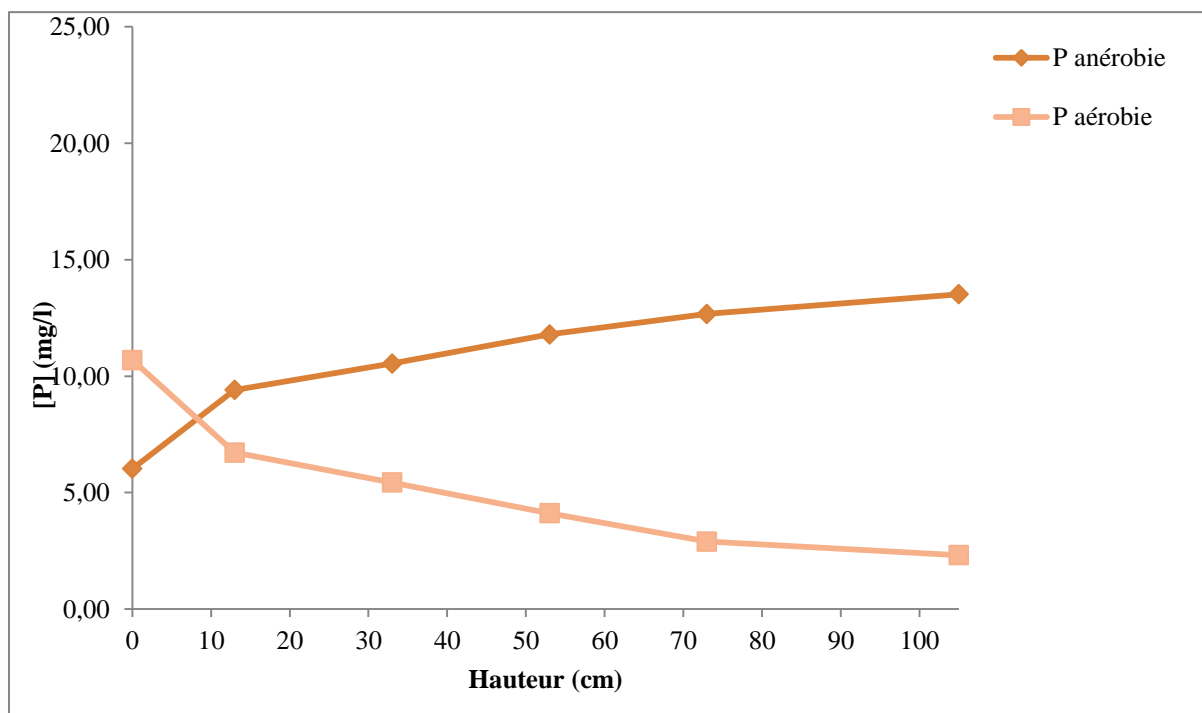
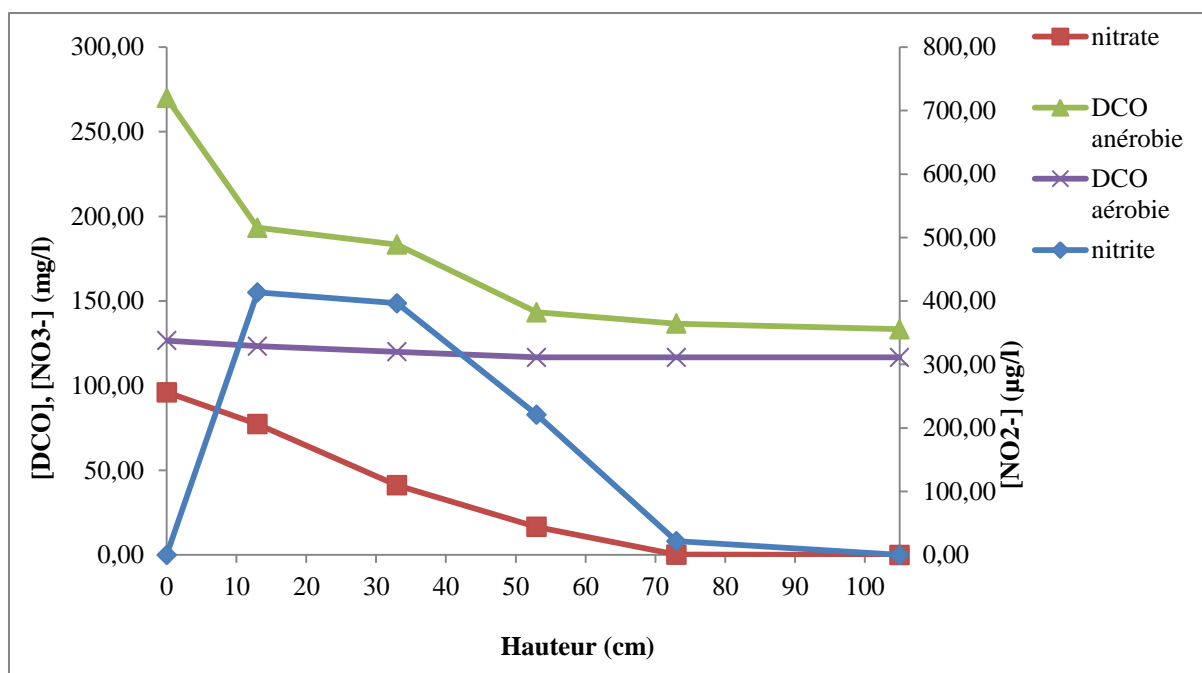


Figure V-1-3-a : Evolution de [NO₃⁻], [NO₂⁻], [DCO], [P] le long de la colonne pour une concentration initiale de 20mg/L en [PO₄³⁻]

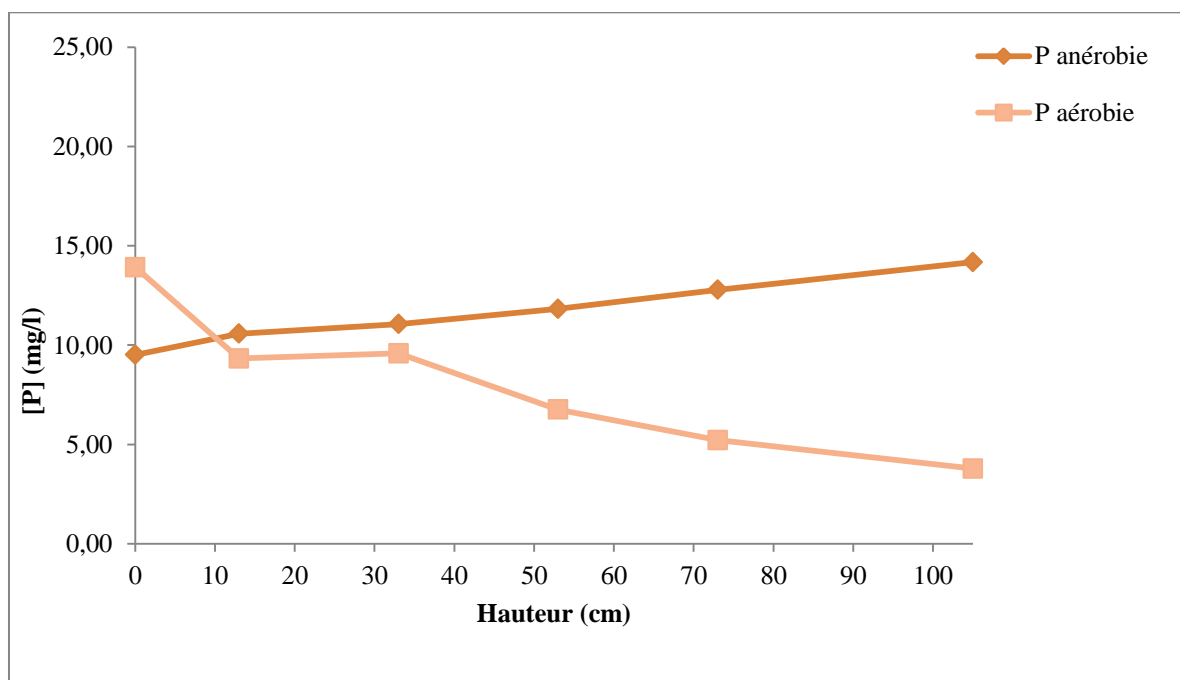
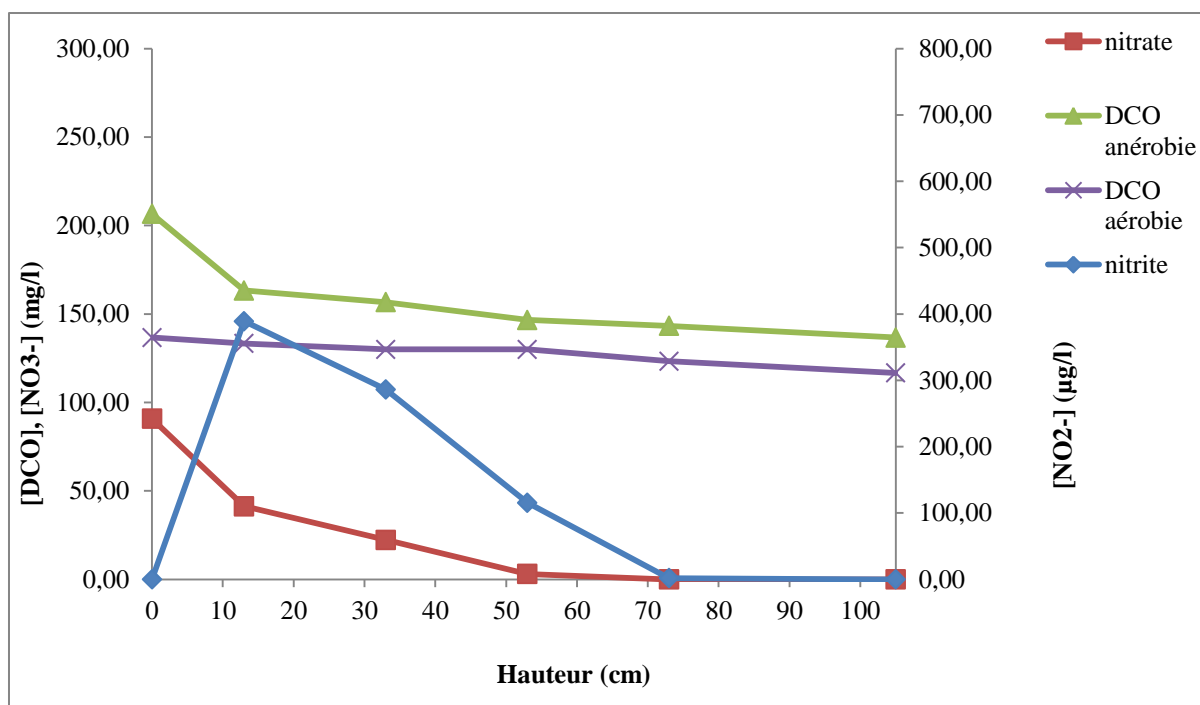


Figure V-1-3-b : Evolution de [NO₃⁻], [NO₂⁻], [DCO], [P] le long de la colonne pour une concentration initiale de 30mg/L en [PO₄³⁻]

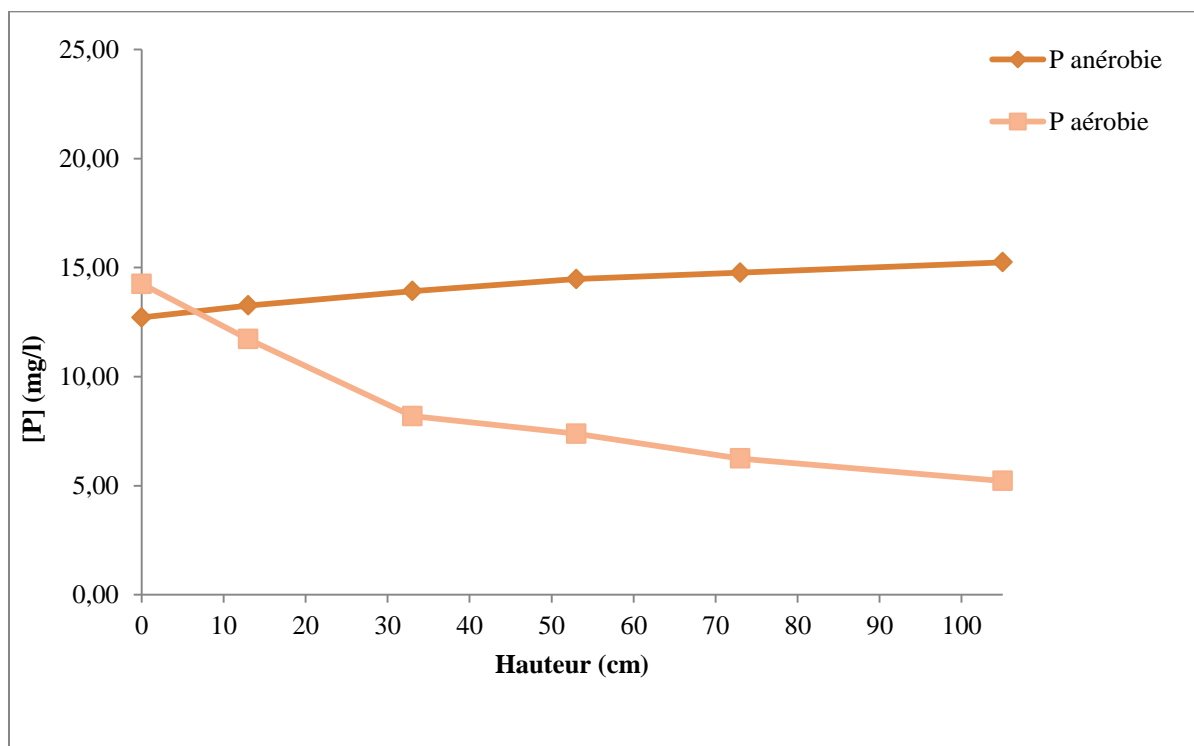
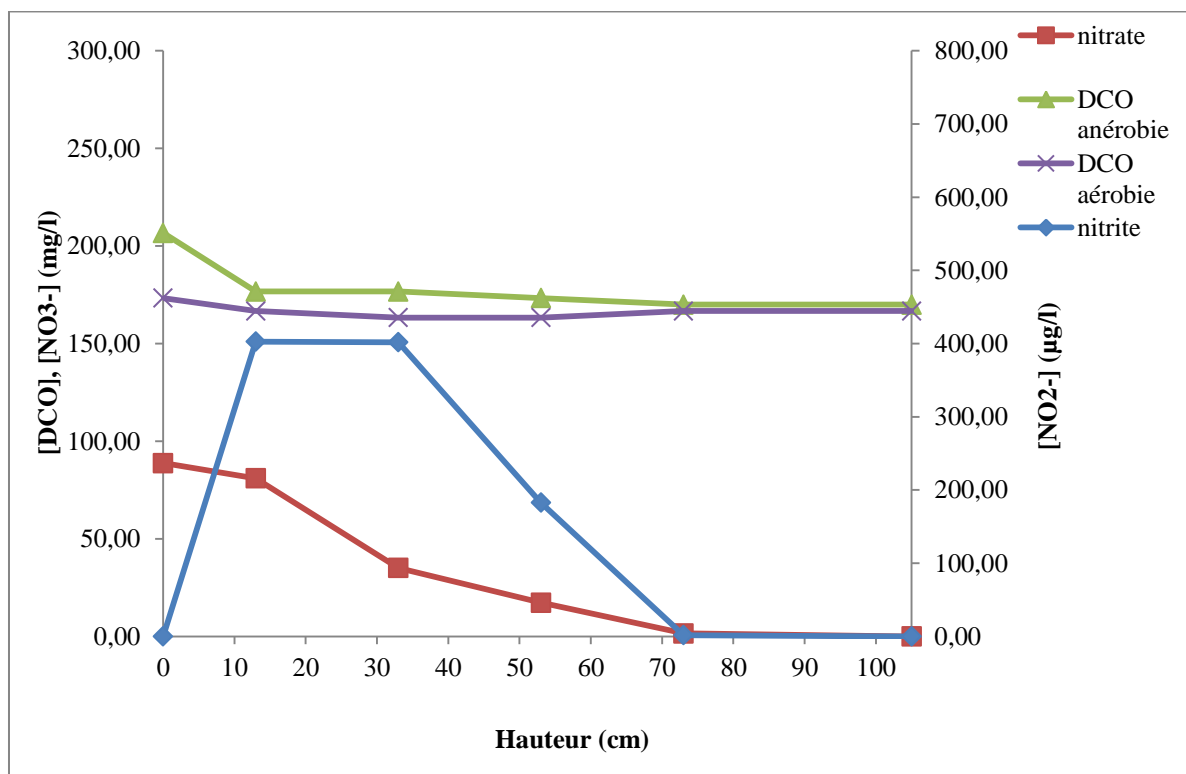


Figure V-1-3-c : Evolution de $[\text{NO}_3^-]$; $[\text{NO}_2^-]$, $[\text{DCO}]$, $[\text{P}]$ le long de la colonne pour une concentration initiale de 40mg/L en $[\text{PO}_4^{3-}]$

D'après les graphes nous pouvons déduire que :

Lors de la phase anaérobie nous observons un relargage du phosphore ce qui s'explique par les bactéries déphosphatantes (bactéries bio-P) utilisent les réserves intracellulaires, soit les polyphosphates inorganiques (poly-P), comme source d'énergie, et font le stockage du substrat simple organique sous la forme de polymères : le poly- β -hydroxybutyrate (PHB) et le poly- β -hydroxyvalérate (PHV). En même temps se produit le relargage dans l'eau du phosphore présent dans la biomasse [48].

Le relargage du phosphore est accompagné d'un abattement de la DCO, qui peut être expliqué par le fait que les bactéries déphosphatantes utilisent le phosphore comme source d'énergie pour stocker le substrat organique sous forme de (PHB) et (PHV) [29].

Il est à noter qu'une activité microbienne est enregistrée dans le bassin de concentrât par des microorganismes présents dans l'affluent ce qui explique la diminution de la concentration de la DCO et du phosphore dans la phase de transition entre l'anaérobiose et l'aérobiose.

En phase aérobie nous pouvons voir une réabsorption du phosphore car dans le bassin d'aération, les PHA et la matière organique contenue dans les eaux usées sont oxydés par les bactéries. La respiration (de l'oxygène) produit l'énergie nécessaire aux bactéries qui régénèrent leurs stocks de poly phosphates et croissent.

L'élimination biologique du phosphore est liée à une réabsorption de P plus importante que le relargage [49].

La quantité du phosphore reléguée pendant la phase anaérobie est approximativement 30% alors que la réabsorption du phosphore en phase aérobie représente 75% donc un rapport moyen de 25% or selon [33], un rapport de 33% est fondamental pour le processus de biodéphosphatation dans un biofilm en continu parce qu'il représente la capacité de stockage excédentaire qui permet l'alimentation continue du réacteur.

IV-1-3/ Rendement de la déphosphatation :

La figure V-1-4 montre le rendement obtenu pour chaque concentration de PO_4^{3-} et nous avons obtenue une déphosphatation moyenne de l'ordre de 60%.

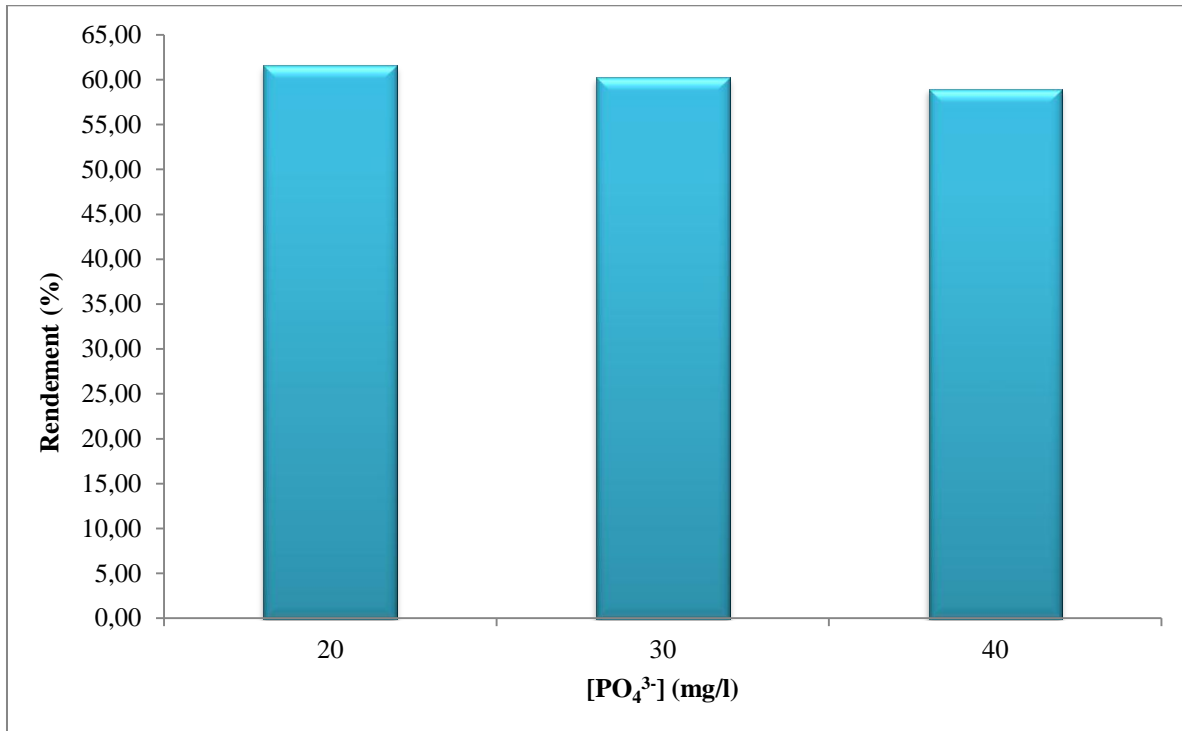


Figure V-1-4 : Variation du rendement de la déphosphatation en fonction de la concentration de phosphate.

Nous pouvons ainsi déduire que notre bioréacteur a un pouvoir maximal de déphosphatation moyen de 60% ce qui peut s'expliquer par :

- un débit de pompe assez élevée
- une aération insuffisante
- La dénitrification et le relargage du phosphore peuvent être inhibés, si la concentration d'oxygène est au-dessus d'un certain seuil.
- Présence des bactéries non déphosphatantes capables de stocker les acides gras volatiles (acétate) en utilisant une énergie autre que celle qui provient de l'hydrolyse des polyphosphates.

Conclusion

L'objectif de ce travail étant la réalisation d'un procédé de déphosphatation biologique par une culture fixée.

Pour cela, nous avons commencé par la réalisation de toutes les conditions favorables pour le développement d'une biomasse déphosphatante. Ensuite nous avons essayé de mettre en évidence le rôle joué par la présence des nitrates sur le phénomène de relargage du phosphore en phase anaérobie.

Les essais effectués sur pilote de laboratoire avec un effluent synthétique fortement chargé en phosphore ont permis d'avoir un rendement d'environ 40% de déphosphatation avec une aération à l'entrée de la colonne et un rendement moyen de 60% pour une aération au niveau de l'affluent et de 100% de dénitrification dans les deux cas.

Le traitement du phosphore contenu dans les eaux usées relève d'une double exigence réglementaire et environnementale dont l'objectif est la limitation de l'eutrophisation des eaux continentales [29].

Les résultats des recherches effectuées à ce jour montrent que l'élimination biologique du phosphore sur biofilm est possible. Pourtant, la réalisation efficace de l'élimination biologique du phosphore par une culture fixée soulève plusieurs défis pour les recherches futures. La performance des biofilms opérant en continu est restreinte par la difficulté de réaliser les conditions alternées nécessaires pour une déphosphatation biologique efficace.

Références bibliographique

[1]. **MATALLAH Med Assed Allah (2006)** : < Marche mondial des oléagineux > thèse de magistère Institut National Agronomique (INA) Alger.

[2]. **Rapport d'activité AFIDOL (2009)** : < la filière oléicole française >.

[3]. **Données du ministère de l'équipement (2008/2009)**

[4]. **Données du ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, (2010).**

[5]. **EncycloEcolo (2012)** : < l'huile d'olive > tirée du livre : les industries des corps gras.

[6]. **N. Benhayia et K. Zein (2003)** : < Analyse des problèmes de l'industrie de l'huile d'olive et solutions récemment développées > 2ème Conférence Internationale Swiss Environmental Solutionsfor Emerging Countries (SESEC II) Lausanne, Suisse.

[7]. **Djadoun Sadia (2011)** : thèse de magistère < influence de l'hexane acidifié sur l'extraction de l'huile de grignon d'olive assistée par micro-ondes > UMM Tizi Ouzou.

[8]. **C.O.I (1989)** < Documentation, ED Française >, N°25.

[9]. **Food and Agriculture Organization of the United Nations** : livre apparu en 1984 < Utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale dans le bassin méditerranéen >.

[10]. **Houda EL HAJJOUJI (2007)** : < Evolution des caractéristiques physico-chimiques, spectroscopiques et éco toxicologiques des effluents d'huileries d'olive au cours de traitements biologique et chimique > thèse de doctorat, institut national polytechnique de Toulouse.

[11]. **AgriMer, et l'Association Française Interprofessionnelle de l'Olive (2005)** : Travaux financés par l'Union Européenne, France, dans le cadre du règlement européen.

[12]. **Alliance environnement (2003)**: article sur < Evaluation of the application of cross compliance as foreseen under regulation >.

[13]. **Hicham LAKHTAR (2009)** : thèse pour obtention de grade de docteur de l'université Paul Cézanne < Culture du *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler sur résidus oléicoles en fermentation en milieu solide : Transformation des polyphénols des margines>.

[14]. **Isabelle Beaudin (2006)**: < La mobilité du phosphore >, rapport du centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec.

[15]. **Frédéric CABANES (2006)** : thèse pour obtention de diplôme de doctorat < Déphosphatation des effluents : précipitation et valorisation du phosphore >, Aix-Marseille.

[16]. **Claude AUBERT (2007)** : article sur < Le phosphore élément essentiel à la vie mais avec un impact sur l'environnement lié aux activités humaines >.

[17]. **G.martin (1987)** : Point sur l'épuration et le traitement des effluents (eau air), (technique et documentation (Lavoisier) France.

[18]. **Vincent PORRES (2008)** : < Le Phosphore > Ingénieur E.S.I,T.P.A

[19]. **Joaneson Lacour (2005)** : < Caractérisation des substances Azotées et Phosphatées contenues dans les effluents liquides de la ravine Bois de chêne > Université d'Etat d'Haïti - Ingénieur Agronome.

[20]. **Fatiha EL HAFIANE, Ahmed RAMI, Bouchaib EL HAMOURI (2001)** : article sur < Devenir de l'azote et du phosphore en période d'adaptation et en phase stationnaire d'un chenal algal à haut rendement >.

[21]. **Eau & Rivières (2005)** : n° 132 < Le phosphore, un polluant d'avenir ? >

[22]. **J. Zhu, A. Luo, P. Ndegwa (2001)**: article sur <Raising pH by low-level aeration for soluble phosphorus removal of swine manure>.

[23]. **Pambrun, Vaitea (2005)** : <Analyse et modélisation de la nitrification partielle et de la précipitation concomitante du phosphore dans un réacteur à alimentation séquentielle> thèse a Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse.

[24]. **Marie-Line DAUMER, (2007)** : < Analyse des transformations du phosphore lors du traitement biologique et physico-chimique des lisiers de porc en vue d'un recyclage >, Thèse Présentée en vue de l'obtention de grade de Docteur de l'Université de Toulouse.

[25]. **Cindy BASSOMPIERRE (2007)** : Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'INP Grenoble Spécialité : Automatique < procédé a boue activée pour le traitement d'effluents papetiers : de la conception d'un pilote a la validation des modèles >.

[26]. **Jean-Pierre Canler, Jean-Marc Perret, Philippe Duchêne, Éric Cotteux (2000)**: article sur < Aide au diagnostic des stations d'épuration par l'observation microscopique des boues activées>.

[27]. **Richard Villemuri, Yves Comeau et Grant Vandenberg (2009)** : < développement d'un traitement biologique de bassin d'eau en circuit fermé pour l'enlèvement du phosphore>, document de recherche N° 2009.

[28]. **Maurer M., Boller M. (1998)** : <Modelling of phosphorus precipitation in wastewater treatment plant with enhanced biological phosphorus removal >. 4th Kollekolle seminar on activated sludge modelling; Denmark.

[29]. **Deronzier G., Choubert J.-M. (2004)** : article sur < Traitement du phosphore dans les petites stations d'épuration à boues activées >. Antony: Cemagref Editions.

[30]. **Sriwiryarat T., Randall C.W. (2005)**: article sur < Performance of IFAS wastewater treatment processes for biological phosphorus removal >.

[31]. **Dimitri Xanthoulis (2011)** : <Le traitement des eaux usées de petites agglomérations> journée thématique a l'Hôtel El-Marsa de Sidi-Fredj, Alger .

[32]. **Edeline F (1980)** : livre sur < L'épuration biologique des eaux résiduaires (théorie et technologie) >. édition, Cebedoc.

[33]. **Tanja Baljic- Zelovic et Roland Leduc (2002)** : <L'enlèvement biologique du phosphore dans les technologies à biofilm : une synthèse de la problématique >, Water Quality Research Journal of Canada.

[34]. **Dussert B. W., Tramposch W. G. (1996)** : < Impact of support media and properties on the biological treatment of drinking water >. In Advances in Slow Sand and Alternative Biological Filtration, eds. Graham, N. J. D. and R. Collins; John Wiley: Chichester, New York.

[35]. **Son H. J., Park Y. H., Lee J. H. (2004)**: article sur < Development of supporting materials for microbial immobilization and iron oxidation >.

[36]. **Saka S. (2001)**: Chemical Composition and Distribution. In Wood and Cellulosic Chemistry. Eds. D.N.S. Hon, N. Shiraiishi, Marcel-Dekker, Inc. New York.

[37]. **Derlon Nicolas (2008)** : < Analyse de la compétition microbienne entre bactéries autotrophes et hétérotrophes au sein d'un biofilm éliminant l'azote >, thèse de doctorat de l'université de Toulouse.

[38]. **EE. Cook, LP.Herning (1978)** : < Shock load attenuation trickling filter. J. Environ >. Eng. Div. ASCE 104.

[39]. **O.Wanner, H. Eberl, E.Morgenroth, D. Noguera, C. Picioreanu, B.Rittmann, and M. Van Loosdrecht (2006)**: <Mathematical modelling of biofilms >. IWA Scientific and Technical Report No.18, IWA Publishing.

[40]. **Annachatre A. P., Bhamidimarri S. M. R. (1992)**: < Microbial attachment and growth in fixed-film reactors: Process start up considerations >. Biotechnol. Advances.

- [41]. **Yves Comeau, Jacques Brisson, Florent chazarenc (2006)** : document de transfert de technologie < traitement de boues piscicoles par marais artificiel et lit filtrant de déphosphatation >.
- [42]. **T. Saito (2004)**: thèse sur < Effect of nitrite on phosphate uptake by phosphate accumulating organisms >.
- [43]. **GJJ Kortstee, KJ Appeldoorn (2000)**: séminaire sur < Ecological aspects of biological phosphorus removal in activated sludge systems >.
- [44]. **Shanableh A, Abeysinghe D, Hijazi A (1997)** : article sur < Effect of cycle duration on phosphorus and nitrogen transformations in biofilters >.
- [45] **M. Wagner, A. Loy, R. Nogueira, U. Purkhold, N. Lee, H. Daims (2002)** : article sur < Microbial community composition and function in wastewater treatment plants >.
- [46]. **Denis Pandolfi (2006)** : < Caractérisation morphologique et physiologique de la biomasse des boues activées par analyse d'images >, thèse de doctorat l'institut national polytechnique de Lorraine.
- [47]. **Asmlal L (1996)** : < Contribution à l'étude du métabolisme bactérien dans l'enlèvement biologique du phosphore des eaux usées >. Mémoire de doctorat, Département de génie civil, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada.
- [48]. **TANJA BALJIC-ZELOVIC ET ROLAND LEDUC (2002)** : article sur : < L'enlèvement biologique du phosphore dans les technologies à biofilm >, Canada.
- [49]. **FNDAE n°29 (2002)** : communiqué sur < Traitement du phosphore dans les petites stations à boue activée >.
- [50]. **MENORET.C (2001)** : < traitement d'effluents concentrés par culture fixe sur gravier ou pouzzolane >, thèse doctorat université des sciences du Languedoc Montpellier.

Annexes

Annexe 1 : Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO)

Principe : Oxydation chimique des matières réductrices par un excès de $K_2Cr_2O_7$. Cette oxydation se réalise en milieu acide (H_2SO_4), en présence de sulfate de mercure comme catalyseur ($HgSO_4$), à ébullition à reflux pendant 2 heures dans un ballon ou un tube muni d'un réfrigérateur.

Appareil :

- Appareil à reflux
- Bloc chauffant
- Spectrophotomètre UV-Visible

Réactifs :

1. Réactif de digestion :

Dans 500ml d'eau distillée ajouter dans l'ordre :

- $K_2Cr_2O_7$10,216 g, préalablement séché à l'étuve pendant 2h à 105°C.
- $HgSO_4$ 33,3g
- H_2SO_4 ,167ml

2. Réactif d'acide sulfurique :

Ajouter du Ag_2SO_4 dans du H_2SO_4 concentré à raison de 5,5 g de Ag_2SO_4 /kg de H_2SO_4

Mode opératoire :

- Introduire dans un tube à fond plat de DCO 2,5 ml de l'échantillon à analyser.
- Ajouter 1,5 ml de dichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$.
- Ajouter lentement et avec précaution 3,5 ml d'acide sulfurique-sulfate d'argent en agitant soigneusement le tube et en refroidissant sous un courant d'eau froide de façon à éviter toute perte de substances organiques volatils.
- Porter à ébullition dans un bloc chauffant pendant 2 h.
- Effectuer la lecture sur le spectrophotomètre à $\lambda = 600$ nm.
- La teneur en DCO est déduite du graphe d'étalonnage.

Annexe 2 : Dosage des Nitrates (NO_3^-)

Méthode au réactif Sulfophénique (Norme AFNOR NF T 90 102)

Principe : Transformation des nitrates en dérivé nitro-phénol-sulfonique coloré au moyen d'acide sulfophénique.

Appareil : Spectrophotomètre UV-Visible.

Réactifs :

1. Réactif sulfophénique :

Dissoudre 12 g de phénol dans 144 ml d'acide sulfurique, H_2SO_4 ($d=1,84$) et mettre le mélange au bain marie pendant 2 heures pour que la réaction soit totale.

2. Ammoniaque

Mode opératoire :

- Prendre 5 ml de l'échantillon à analyser, le faire évaporer à sec.
- Laisser refroidir et ajouter 2 ml de réactif sulfophénique.
- Attendre 10 minutes, puis ajouter 15ml d'eau déminéralisée et 10 à 15ml d'ammoniaque qui développe la couleur jaune.
- Compléter à 50 ml avec de l'eau déminéralisée.
- Effectuer la lecture sur le spectrophotomètre à $\lambda = 440 \text{ nm}$.
- La teneur en nitrates est déduite du graphe d'étalonnage.

Annexe 3 : Détermination des phosphates (PO_4^{3-}) (ISO N° 6878)

Principe : Formation en milieu acide d'un complexe avec le molybdate d'ammonium et le tartrate double d'antimoine et de potassium. Réduction par l'acide ascorbique en un complexe coloré en bleu qui présente deux valeurs maximales d'absorption l'une vers 700 nm, l'autre plus importante à 880 nm.

Appareil : Spectrophotomètre UV- Visible

Réactifs :**1. Réactif Mixte :**

Heptamolybdate d'ammonium 13 g.

Eau distillée 100 ml.

Tartrate d'antimoine 0.35 g.

Eau distillée 100 ml.

Acide sulfurique pur 150 ml

Eau distillée 150 ml.

Mélanger les trois solution, conserver le réactif dans un flacon brun.

2. Acide ascorbique à 10 % :

Acide ascorbique.....10g.

Eau distillée100ml.

Mode opératoire :

- Prendre 40 ml d'eau à analyser.
- Ajouter 1 ml acide ascorbique et 2 ml du réactif mixte.
- Attendre 10 mn le développement de la couleur bleue.
- Effectuer la lecture à une longueur d'onde de 880 nm.
- La teneur en phosphates est déduite du graphe d'étalonnage.

Annexe 4 : Dosage des nitrites**Méthode au réactif de diazotation (Norme AFNOR NF T 90 013)**

Principe: Les nitrites réagissent avec le Sulfanilamide pour former un composé diazoïque qui, après copulation avec le N-(1-naphtyléthylènediamine dichloride donne naissance à une coloration rose mesurée à 537 nm.

Réactif de diazotation :

Dans une fiole de 250ml, contenant 150 ml d'eau distillée, ajouter dans l'ordre :

- H_3PO_425 ml.
- Sulfanilamide ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2\text{N}_2\text{S}$)10g.
- dichlorure de N-(1-naphtyl) éthylène diamine 0,5 g.

Une fois le mélange totalement dissous, compléter à 250ml avec de l'eau distillée

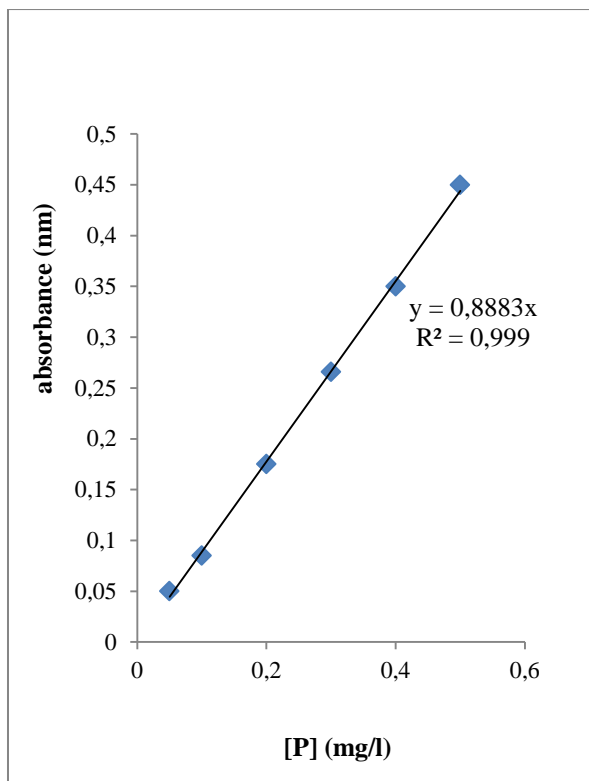
Mettre le réactif dans un flacon brun et le conserver à 4°C à l'abri de la lumière.

Mode opératoire :

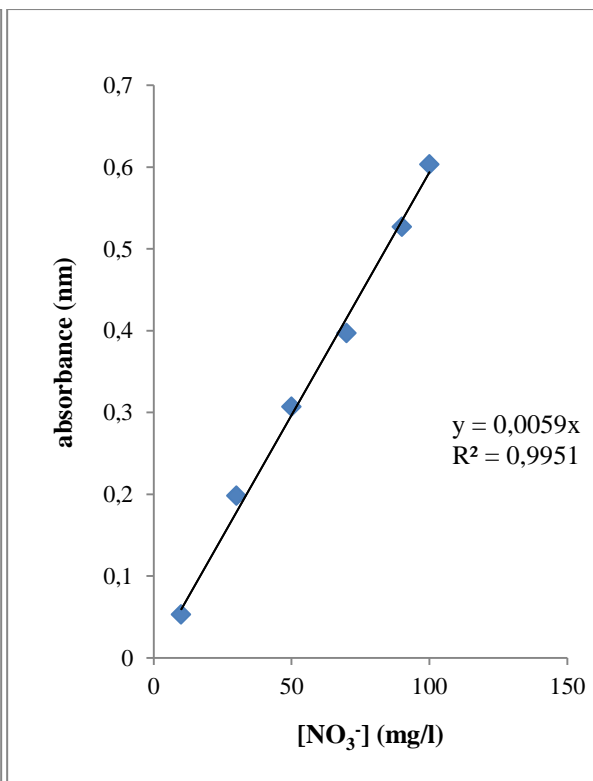
- Prélever 20ml d'échantillon et l'introduire dans un tube à essai.
- Ajouter 0,4 ml du réactif de diazotation.
- Attendre 10 minutes et effectuer les mesures à la longueur d'onde $\lambda=537$ nm -La teneur en nitrites est déduite du graphe d'étalonnage.

Annexe 5 : Courbes d'étalonnage

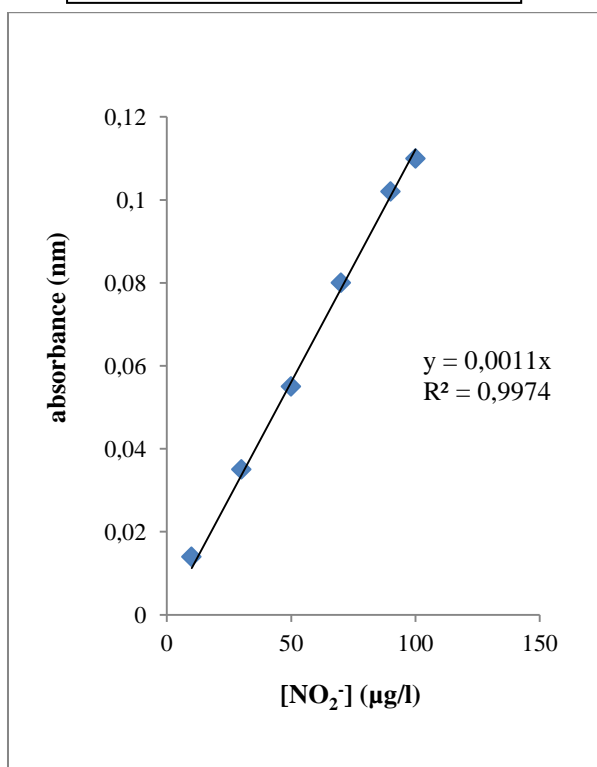
Courbe d'étalonnage du Phosphore



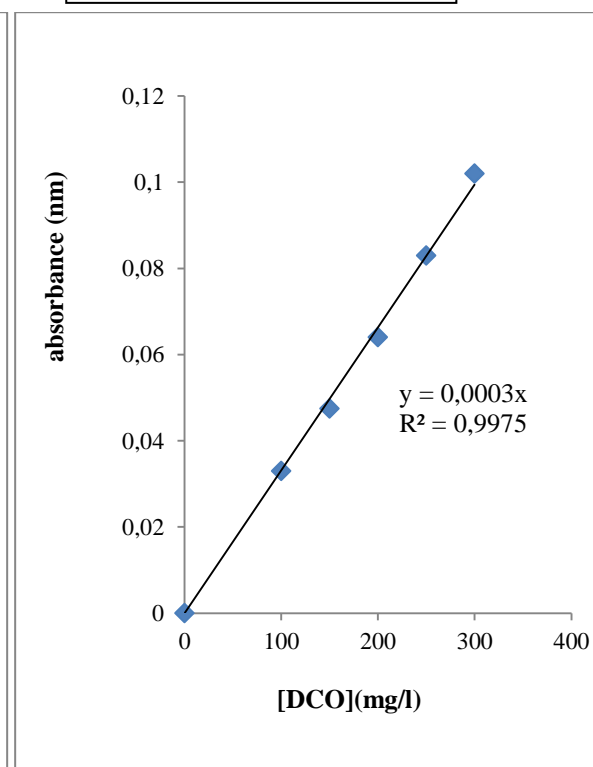
Courbe d'étalonnage des Nitrates



Courbe d'étalonnage des Nitrites



Courbe d'étalonnage DCO



Annexe 7 : Caractéristique physico-chimiques du grignon d'olive

- **L'humidité** : Elle permet de savoir la teneur en eau du grignon d'olive, cependant elle n'interfère pas lorsque celui-ci est utilisé dans le traitement des eaux.

L'humidité est calculée à partir de la relation suivante :

$$H = (M_0 - M_1)/M_1 (\%)$$

M_0 : Masse du grignon d'olive avant séchage (g).

M_1 :Masse du grignon d'olive après séchage (110°C dans l'étuve pendant 2 heures) (g).

- **Les cendres** : Le taux de cendres permet de connaître la part de la matière organique qui entre dans la structure du grignon d'olive.

Le taux de cendres est défini par :

$$\% \text{ cendres} = m/m_0$$

Tels que :

m_0 : masse de grignon d'olive.

m : masse de cendre pesée après calcination à 625°C pendant 2 heures.

- **La porosité** : La porosité est liée à la présence de pores entre les grains constituant un solide. Elle est exprimée par le rapport du vide au volume total.

Mode opératoire : Pour mesurer la porosité (ϵ), on utilise une éprouvette de 10 ml qu'on remplit de grignon d'olive jusqu'à un volume de 2 ml, soit une masse M_1 . On ajoute du méthanol jusqu'à un volume de 4 ml, soit alors la masse M_2 . La porosité est calculée par la relation suivante :

$$\epsilon = V_1/V_T = [(M_2 - M_1)/d] - V_2/V_T$$

Avec : $V_T = 4$ ml. ; $V_2 = (4-2)$ ml ; d : densité du méthanol = 0,792.

- **La densité réelle** : Elle permet d'étudier la répartition du volume poreux.

Mode opératoire : L'échantillon est mis dans une étuve à 110°C pour le déshydrater, une quantité du produit sec à analyser est mise dans un pycnomètre taré, il est ensuite rempli de méthanol et pesé.

La connaissance de la tare et de la masse volumique du méthanol nous permet d'accéder au poids du grignon d'olive utilisé, et connaissant le volume du pycnomètre, nous déduisons la densité :

$$d_r = \frac{M_0 \cdot \rho}{(P_2 - P_1)}$$

Tel que :

M_0 : Masse du produit à analyser (g).

ρ : Masse volumique du méthanol ($\rho = 0,792 \text{ g/cm}^3$).

P_1 : Masse du méthanol à ajouter à M_0 pour remplir le pycnomètre (g).

P_2 : Masse du méthanol remplissant le pycnomètre (g).

➤ **La densité apparente :** La densité apparente est donnée par la relation suivante :

$$d_{ap} = \frac{M_0}{V}$$

Tel que $M_0 = M_2 - M_1$

Avec : M_0 : Masse du grignon d'olive

M_2 : Masse d'une éprouvette de 10ml qui contient le grignon d'olive (g).

M_1 : Masse de l'éprouvette vide (g).

V : Volume de l'éprouvette = 10 ml.

Annexe 8 : Dosage de la cellulose brute (Méthode de Weende)

Principe : L'insoluble cellulosique, ou la cellulose brute est la matière organique qui reste insoluble après deux hydrolyses successives acide et alcaline, diminuée du taux de matières minérales. Ce résidu peut contenir, en plus de la cellulose, une quantité non négligeable de lignine, voire même d'hémicelluloses.

Matériel :

- Etuve à 130°C
- Balance de précision à 0,1 mg
- Broyeur retech ZM1nuni d'une grille de 1mm
- Appareille de dosage de fibres type Fibertec (Foss Tecator)
- Creusets filtrants de porosité 2 (40-90µm) (Robu-Glas, ref : 20602)
- Dessiccateur avec gel de silice ou autre déshydratant
- Four permettant de réaliser des incinérations à 550°C.

Réactifs :

- **Acide sulfurique 0,225 N**, soit 12,5g d'H₂SO₄ concentré dans 1000ml d'eau distillée.
- **Hydroxyde de sodium 0,313**, soit 12,5g de NaOH en pastilles dans 1000ml d'eau distillée.

Mode opératoire :

Les échantillons sont, dans un premier temps, broyer à l'aide d'un broyeur équipé d'un tamis de 1mm.

- Peser 1g d'échantillon dans un creuset filtrant (**PE**) réalisé 3 répétitions pour les aliments et les matières premières et seulement 2 répétitions pour les fèces ou autres contenus digestifs.
- Positionner les creusets filtrants dans un appareil de dosage de fibre (6 poste) puis ajouter 150ml de la solution d'acide sulfurique 0.225N.
- Porter tout à ébullition sous reflux pendant 30min.
- Une fois le temps d'hydrolyse écoulé, éliminer le surnageant par filtration et laver le résidu au moins trois fois à l'eau distillée bouillante.

- Le rinçage terminé, ajouter au résidu 150ml de solution de soude 0.313N et porter à Placer les creusets à l'étuve à 103°C pendant environ 17 heures.
- Peser après refroidissement (20 minute dans un dessiccateur) (**P1**).
- Calciner dans un four à 550°C pendant 5heures (1ere montée en température jusqu'à 250°C pallier de 1heure, puis 2eme montée en température jusqu'à 550°C pallier de 5heures).
- Au sortir du four, placer les creusets environ 1 heure dans l'étuve à 103°C avant de les laisser refroidir dans le dessiccateur et de les peser (**P2**).

$$\% \text{ Cellulose Brute} = [(P1-P2) / PE] \times 100.$$

Annexe 9 : Détermination des quantités de lignine, hémicelluloses et cellulose

Les méthodes, de type gravimétrique, permettent d'apprécier le potentiel en polyholosides. Elles se basent sur la différence de solubilité des constituants des parois cellulaires.

Le taux de lignine est déterminé suivant la norme ASTM D 1106 – 84 (reapproved 1990).

Les matières extractibles de l'échantillon (huiles, résines, tannins ...) sont tout d'abord enlevées par différents solvants :

- l'éthanol (95%) pour l'extraction des tannins
- le mélange éthanol-toluène (1:2 en volume) pour l'extraction des résines, cires, huiles, corps gras.
- l'eau chaude pour extraire les fractions solubles dans l'eau comme les sucres libres.

Ensuite, 15ml d'une solution d'acide sulfurique à 72% sont ajoutés à 1 g de matière végétale sèche ayant préalablement subi les extractions précédentes.

L'échantillon est agité pendant au moins 1 minute puis est laissé 2 heures au repos interrompu par des agitations fréquentes. Le mélange est ensuite dilué à 3% avant d'être porté à reflux pendant 4 heures. L'échantillon est alors filtré puis lavé à l'eau chaude. Après séchage à l'étuve à 105°C pendant 12 heures, une première pesée est effectuée.

La seconde pesée détermine la masse de matière minérale obtenue après incinération de l'échantillon dans un four à 550°C pendant 5 heures. La masse de lignine représente la différence entre les deux pesées.

La méthode de VAN SOEST et WINE connue sous le nom de **méthode A.D.F.-N.D.F.** (Acid Detergent Fiber – Neutral Detergent Fiber), consiste à soumettre la matière végétale à l'action successive de deux détergents anionique et cationique.

Le détergent N.D.F. élimine en particulier les protéines et les complexes tanins protéines et solubilise les substances pectiques, Cette méthode permet d'évaluer l'ensemble des **hémicelluloses, cellulose et lignine.**

Le réactif N.D.F. est préparé à l'aide de :

- ~ 150 g de lauryl sulfate de sodium,

- ~ 93,05 g d'éthylène diamine tétraacétate de sodium (EDTA),
- ~ 22,80 g de phosphate disodique,
- ~ 34,05 g de tétraborate de disodium,
- ~ 10 H₂O,
- ~ 50 ml d'éthyl cellulose.

Le mélange est complété à 5 litres avec de l'eau distillée. 1 g de matière végétale finement broyée (dont on déterminera parallèlement la teneur en matière sèche), est introduit dans un erlenmeyer de 500 ml muni d'un réfrigérant ascendant. 100 ml de réactif N.D.F. y sont ajoutés. Après 1 heure d'ébullition, le résidu est filtré sur un creuset de Gooch de porosité 1, abondamment rincé à l'eau bouillante et séché dans l'étuve à 105°C pendant 12 heures, Après refroidissement dans un dessiccateur, le creuset est pesé.

La masse de matière minérale du résidu est déterminée comme précédemment.

La différence entre les deux pesées représente le poids total de cellulose + hémicelluloses + lignine.

Le dosage A.D.F. est effectué par l'action d'un détergent acide. Le résidu obtenu dans ce cas est constitué de **lignine et de cellulose**, Le réactif A.D.F. comprend 100 g de bromure de cétyl triméthyl ammonium dans 5 l d'une solution d'acide sulfurique à 3,5%.

Le protocole opératoire est identique au précédent, le réactif N.D.F. étant remplacé par le réactif A.D.F.

La différence entre les deux pesées représente ici le poids de lignocellulose.

Ainsi, la quantité de chacun des constituants des parois cellulaires est calculée par différences entre les trois résultats :

Quantité de cellulose = quantité lignine + cellulose (ADF) - quantité lignine

Quantité d'hémicelluloses = quantité lignine + cellulose + hémicelluloses (NDF) – quantité lignine + cellulose (ADF).

Les études de reproductibilité des résultats et de pureté des différentes fractions ont montré que cette méthode permet d'obtenir une évaluation fiable de la répartition des principaux constituants des parois cellulaires.

Annexe 10 : Caractéristiques du matériau (grignon d'olive).

Composés	Résultats
Taux d'humidité (%)	13,24
Taux de cendre (%)	12,48
Densité apparente (g/cm ³)	0,694
Densité réelle (g/cm ³)	0,862
Granulométrie (mm)	5 - 0,212
Porosité (%)	0,241
Cellulose (%)	10,23
Hémicellulose (%)	8,40
Lignine (%)	58,64
Matière sèche (%)	86,76