# République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



#### École Nationale Polytechnique

#### Département de Génie de l'environnement

Projet de Fin d'Études en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur

# THÈME:

# Amélioration de la dénitrification biologique par l'utilisation du champ électromagnétique

#### Présenté par

LAMRANI Yamina

#### Soutenu en juin 2015 devant le jury :

Président	Mr.	N.MAMERI	Professeur	ENP
Examinateur	Mr.	H.GRIB	Professeur	ENP
Protomotrice	Mme.	N.ABDI	Professeur	ENP
Co-promoteur	Mr.	N.BENYOUSSEF	M.A.A	UBEIBBA

Promo juin 2015



\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\* 米 米 米 Remerciements \* 米 \* Je tiens tous d'abord à remercier Dieu le tout puissant pour m'avoir donné le 米 courage, la volonté et la patience pour aboutir à la réalisation de ce travail. 米 米 Ce modeste travail a été réalisé au sein du laboratoire de biotechnologies de \*\*\* Génie d'Environnement à l'École Nationale Polytechnique dirigé par : Madame N.Abdí, à qui je tiens à exprimer, ma profonde gratitude de m'avoir prodigué ses précieux conseils, ses aides permanentes, sa 米 compétence et critiques constructives, 米 Monsieur **N.BENYOUSSEF** Maitre-Assistant à l'université Mohammed 米 El-Bachir El Ibrahimi Bordj Bouaréridj, à qui je tiens à remercier 米米 vivement pour les aides qu'il m'a fournies le long de mon travail Je tiens également à remercier vivement les membres du jury pour l'honneur 米 米 qu'ils m'ont fait en acceptant de juger ce mémoire. Merci à Monsieur 米

**N.MAMERI** d'avoir accepté de présider le jury. Merci également à Monsieur **H.GRIB** qui est accepté d'examiner ce travail.

Et je remercie tous les membres de laboratoire de biotechnologie, pour leur aide et pour leur soutien qu'ils m'ont apporté.

Mes derniers remerciements vont à ma famille, mes amis et toute personne qui m'a aidé de près ou de loin à accomplir ce travail.

\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*

**MERCI** 

\*\*\*\*\*

米米

米

· \*\*

米

# Sommaire

	INTRODUCTION
I.	DÉNITRIFICATION BIOLOGIQUE
I.1.	Généralités sur les nitrates
I.1.1.	Cycle d'azote
I.1.1.1	. La fixation
I.1.1.2	2. L'assimilation
I.1.1.3	3. L'ammonification
I.1.1.4	La nitrification
I.1.1.5	5. La dénitrification
I.1.2.	Origine des nitrates dans les eaux
I.1.3.	Exemple des régions polluées par les nitrates
I.1.3.1	. Dans le monde
I.1.3.2	2. En Algérie
I.1.4.	Conséquences sur la santé humaine et l'Environnement
I.1.4.1	. Effet sur la santé humaine
	- Chez le nourrisson
	- En population Générale
I.1.4.2	2. Effet sur l'Environnement
	- l'Eutrophisation
	- Les marées vertes
I.2.	Dénitrification biologique
I.2.1.	
I.2.1.1	Source d'énergie
I.2.1.2	2. Source de carbone
I.2.1.3	S. Source d'azote
I.2.1.4	Source de soufre
I.2.1.5	5. Source de phosphore
1216	Source d'oligo-éléments

I.2.2.	Bactéries Dénitrifiantes
I.2.3.	Facteurs influençant la dénitrification
I.2.3.1	. La concentration initiale des nitrates
I.2.3.2	. Le carbone organique
I.2.3.3	. L'oxygène dissous
I.2.3.4	. La température
I.2.3.5	. Le pH
I.2.3.6	. Le rapport C/N
I.2.3.7	. Le rôle potentiel d'oxydo-réduction
I.2.3.8	. Influence biologique
I.2.3.9	Substances toxiques
I.2.4.	Schéma de la croissance bactérienne
I.2.4.1	. La phase de latence
I.2.4.2	. La phase d'accélération de croissance
I.2.4.3	. La phase exponentielle de croissance
I.2.4.4	. La phase de ralentissement
I.2.4.5	. La phase stationnaire
I.2.4.6	La phase de mort accélérée
I.2.4.7	. La phase de déclin (Décroissance)
I.2.5.	Technologie de la dénitrification
I.2.5.1	. Système à boue activées
I.2.5.2	. Système à boue fixées
II.	CHAMP ÉLECTROMAGNÉTIQUE
III.1.	Introduction
II.2.	Définition
	Notion du champ
	Le champ électrique
	Champ magnétique
II.2.4.	Champ électromagnétique
II.3.	Types de champ électromagnétique
II.3.1.	Champs EM statique
	Champs EM d'extrêmement basse fréquence
II.3.3.	Champs EM de fréquence intermédiaire

II.3.4.	Champs et ondes EM en radiofréquence	3
II.4.	Le spectre électromagnétique	3
II.4.1.	Les rayonnements ionisants	32
II.4.2.	Les rayonnements non ionisants	33
III.	EFFET DU CHAMP ÉLECTROMAGNÉTIQUE SUR LES SYSTÈ	EME
	BIOLOGIQUES	3
III.1.	Introduction	3
III.2.	Effet sur les microorganismes	3
III.2.1	. Exemple : l'effet des rayons UV sur les microorganismes	3
II.2.2.	Biostimulation par des champs électromagnétiques	3
III.3.	Effet sur les végétaux	3
III.4.	Effet sur l'être humain	4
III.4.1	.Effet sur l'état de santé général	4
III.4.2	Les champ magnétique et le Cancer	۷
II.4.3.	Hypersensibilité aux champs électromagnétiques et dépression	4
III.5.	Mode d'action	4
III.6.	Effet du CEM statique sur la dénitrification biologique	4
IV.	MATÉRIELS ET MÉTHODES	4
IV.1.	Introduction	4
IV.2.	Sélection des bactéries dénitrifiantes	4
IV.3.	Composition de l'alimentation en discontinu	4
IV.4.	Description du dispositif expérimental	4
IV.5.	Méthodes d'analyses physico-chimiques	4
V.	RÉSULTATS ET DISCUSSION	5
V.	Effet du champ électromagnétique sur la dénitrification en Batch	4
V.1.	Effet de l'intensité du champ magnétique sur l'activité dénitrifiante	5
V.2.	Influence de la concentration initiale en nitrate	5
V.3.	Effet de temps d'exposition aux radiations électromagnétiques	5
	CONCLUSION	(
	RÉFÉRENCES BIBIOGRAPHIQUES	
	ANNEXES	

# Liste des figures

Figures	titres	
Figure I.1	Cycle d'azote (Google image)	8
Figure I.2	Carte Telazza (Chabour N, 2004)	
Figure I.3	effet sanitaire des nitrates	12
Figure I.4	l'eutrophisation dans le lac Tanga (w d'El Kala) aout 2009.	13
Figure I.5	Les phases de croissance établies par (Buchanan, 1918)	21
Figure II.1	Représentation d'une onde électromagnétique	28
	(Nicolas et al., 2008)	
Figure II.2	Spectre électromagnétique (BBEMG, 2010)	32
FigureIV.1	Dispositif de la sélection des bactéries en Réacteur Discontinu	49
FigureIV.2	Le montage expérimental	51
FigureIV.3	Intensité de l'induction magnétique en fonction du courant	
Figure V.1	Évolution des concentrations en nitrate en fonction du temps à	
	différentes intensités de l'induction magnétique	
Figure V.2	Évolution des rendements d'élimination du nitrate en fonction du	
	temps à différentes intensités de l'induction magnétique	
Figure V.3	Évolution de la concentration des nitrites en fonction du temps à	57
	différentes intensité de l'induction magnétique	
Figure V.4	Influence de la concentration initiale des nitrates sur la	58
	dénitrification	
Figure V.5	Évolution de la concentration des nitrites	58
Figure V.6	Évolution des concentrations en nitrate en fonction du temps à	59
	courant continu et discontinu	

# Liste des tableaux

tableaux	titres	Pages
Tableau I.1	Composés azotés et leurs degrés d'oxydation (Michael, 2002)	
Tableau I.2	La concentration des nitrates dans différents sites en Algérie	
	(Bougherara, 2010)	
Tableau I.3	Les bactéries dénitrifiantes (Michael, 2002)	17
Tableau II.1	Types de champ électromagnétique (Nicolas et al., 2008)	29
TableauIII.1	Les effets des radiations sur les microorganismes sont en	36
	fonction de la dose (Boukabcha, 2010)	
TableauIII.2	Les effets de champ électromagnétique sur les microorganismes	38
	(Hunt et al., 2009)	
TableauIV.1	Composition de l'alimentation en discontinu	49
TableauIV.2	Paramètre de solénoïde	50

# Liste des abréviations

IFEN	Institut Français de l'Environnement	
OMS	Organisation Nationale du Santé	
FNCLCC	Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer	
NAR	Nitrate réductase	
NIR	Nitrite réductase	
NOR	Oxyde nitrique réductase	
N2OR	Oxyde nitreux réductase	
DBO	Demande biochimique en oxygène	
DCO	Demande chimique en oxygène	
CEM	Champ électromagnétique	
ELF	Extrêmement basse fréquence (Extremely low fréquence)	
IF	Fréquence intermédiaire (intermediaire frequency)	
RF	Radio fréquence	
CM	Champ magnétique	
eV	Électron-Volt	
RNI	Rayonnement non ionisant	
UV	Ultraviolet	
IR	Infrarouge	
Gy	Gray	
ADN	Acide désoxyribo Nucléique	
ARN	Acide ribonucléique	

# INTRODUCTION GÉNÉRALE

# INTRODUCTION GÉNÉRALE

#### INTRODUCTION

Les nitrates (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) sont présents naturellement dans l'eau. Ils sont en effet issus du cycle naturel de dégradation de la matière organique. Mais la teneur en nitrates des eaux souterraines ou de surface sont en augmentation continuelle ces dernières années avec l'intensification de l'agriculture, de l'industrialisation et de l'urbanisation. Environ 30% et 70% des fertilisants azotés utilisés en agriculture sont perdus dans l'environnement sous forme de nitrates que l'on retrouve dans les eaux de surface et souterraines.

Une concentration élevée des nitrates dans les eaux modifie l'équilibre biologique en provoquant le phénomène d'eutrophisation. La consommation d'une eau riche en nitrates peut provoquer la méthémoglobine appelée la maladie bleu des bébés du fait de la transformation dans l'organisme humain des nitrates en nitrites et en nitrosamines cancérogènes.

Il existe plusieurs techniques physicochimiques et biologiques de traitement des nitrates. Les plus utilisés sont les procédés d'échanges d'ions et l'osmose inverse. Récemment les processus biologiques se sont avérés les plus concurrentiels et les mieux adaptés au traitement des nitrates en raison de leur facilité, de leur efficacité et de leur coût modéré. La dénitrification biologique permet la transformation de composés d'oxyde d'azote par des bactéries en azote gazeux. Cependant la dénitrification dans les milieux naturels se produit très lentement et elle n'est pas très efficace pour diminuer les concentrations de nitrates dans les aquifères. C'est pourquoi plusieurs technologies ont été développées pour augmenter l'efficacité des bioprocédés traitant les eaux chargés en nitrates tel que biostimulation électromagnétique (Fojt et al, 2007); le champ électrique (Beschkov et al, 2004).

Le monde dans lequel nous vivons est un mode « rayonnant ». Depuis leur apparition sur terre les êtres vivants (animaux, végétaux, être humain, ...etc.) sont de façon continu ou discontinu exposés aux différents type de rayonnements. Ils sont, par exemple ; exposé aux rayonnements solaires, c'est-à-dire à la lumière visible provenant du soleil ; laquelle s'accompagne de rayonnements invisible connus sous le nom de rayonnements ultraviolets et infrarouges. Ces rayonnements sont des ondes électromagnétiques comme le sont aussi des ondes radio, les rayons X et les rayons gamma.

Les champs électromagnétiques CEM sont présents partout à l'état naturel, dans chaque atome de matière. Il règne à la surface de la Terre un champ électrique naturel créé par la présence de charges électriques dans la haute atmosphère. De même, un champ électrique intense est nécessaire pour maintenir en vie les cellules des organismes vivants.

# INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'hypothèse originale de ce travail a été émise à partir de la lecture de l'abondante littérature scientifique publiée ces dernières années sur l'influence des champs magnétiques statiques et des champs électromagnétiques sur divers organismes vivants.

Le but de ce mémoire est d'étudier expérimentalement les effets des champs électromagnétiques sur les bactéries dénitrifiantes et plus particulièrement l'effet de l'intensité de l'induction magnétique, l'effet de la concentration en nitrate, et l'effet de temps exposition aux radiations électromagnétiques.

Ce mémoire est organisé en quatre chapitres.

Une partie bibliographique qui comprend trois chapitres. Le premier chapitre regroupe les résultats déjà obtenus lors du traitement de la pollution nitrique par dénitrification biologique. Dans le deuxième chapitre, nous présentons les notions et concepts de base du champ électromagnétique sur les cultures vivants (microorganismes, végétaux, et être humain). Le troisième chapitre regroupe des résultats déjà obtenus sur l'effet du champ électromagnétique sur la dénitrification biologique;

Le quatrième chapitre est entièrement consacré à la présentation du protocole d'expérience choisi (méthodologie expérimentale, matériels et dispositifs expérimentaux), des résultats détaillés obtenus suite à l'étude statistiques des effets des champs électromagnétiques sur la dénitrification biologique.

Enfin, une conclusion générale est présentée englobant toutes nos remarques, déductions, réflexions et perspectives dans le cadre de sujet.

# PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

# Chapitre I DÉNITRIFICATION BIOLOGIQUE

#### I. Dénitrification biologique

#### I.1.Généralisés sur les nitrates

En raison du grand nombre de valence ou des degrés d'oxydation de l'azote, de nombreux composés azotés existent dans l'environnement (**tableau I.1**). La majorité de l'azote dans l'environnement se trouve sous forme l'azote moléculaire (N<sub>2</sub>). Environ 80% de volume de l'air contient de l'azote moléculaire et représente un réservoir inépuisable pour tous les organismes vivants, il est incorporé dans un matériau cellulaire qui est utilisé pour la croissance, production d'enzyme et pour l'information génétique (**Michael, 2002**).

L'azote (N) est un élément majeur de tous les organismes et il représente 6,25% de leur masse sèche en moyenne. En biologie, l'azote subit une variété de réaction d'oxydation et de réduction qui produisent des composés avec des degrés d'oxydation allant de -3 (comme dans l'ammoniac NH3) à 5 (comme dans le nitrate, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Dans le cycle d'azote, toutes ces réactions sont effectuées par des bactéries, les archées et certains champignons spécialisés (**Bothe et al., 2007**).

Le nitrate NO<sub>3</sub><sup>-</sup> est un ion naturel présent de façon naturelle dans l'environnement. Il se forme naturellement au cours du cycle de l'azote, notamment lorsque des matières organiques se décomposent, par l'action des bactéries du sol. L'azote organique se transforme par oxydation en composés ammoniacaux puis en nitrates (**Santé Canada**, **1992**).

Les nitrates (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) sont présents naturellement dans l'eau. Ils sont en effet issus du cycle naturel de dégradation de la matière organique. Cependant les apports dus aux activités agricoles (fertilisants et élevages), industrielles et domestiques (rejets non traités), restent prépondérants.

Les engrais à l'azote ne sont pas absorbés par les plantes, volatilisés, ou emportés par le nettoyage des surfaces dans les eaux souterraines sous forme de nitrate. Ceci rend l'azote non disponible pour les plantes, et peut également augmenter la concentration dans les eaux souterraines au-dessus des niveaux admissibles pour la qualité de l'eau potable. Les systèmes septiques éliminent seulement la moitié de l'azote des eaux usées, laissant l'autre moitié dans les eaux souterraines, ceci conduit à une augmentation des concentrations en nitrate.

Les nitrates sont très utilisés comme engrais minéraux. Ils sont également utilisés dans les explosifs, comme agents oxydants dans l'industrie chimique et comme agents de

conservation. Dans des conditions anaérobies, le nitrate peut être réduit par dénitrification (Adam, 1980).

**Tableau I.1:** Composés azotés et leurs degrés d'oxydation (**Michael, 2002**)

Composé	Degrés d'oxydation	Nom chimique
NH <sub>3</sub>	-3	Ammoniac
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-3	Ion ammonium
NH <sub>4</sub> OH	-3	Ammoniaque
NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	-3	Bicarbonate d'ammonium
$N_2$	0	Azote moléculaire
NO <sub>2</sub> -	+3	Nitrite
NO <sub>3</sub> -	+5	Nitrate

#### I.1.1. Cycle d'azote

L'azote est un élément chimique très répandu dans la nature. L'ensemble des réactions biologiques de croissance requiert la présence de cet élément. La forme azotée (N2) est la plus abondante et la plus stable et représente 79% de l'atmosphère terrestre (Martin, 1979). L'azote est un élément essentiel qui compose la matière vivante et est indispensable à la vie de l'homme; en effet il constitue entre 16 et 23% de protéine cellulaires et environ 12% des acides nucléiques (Patureau, 1995).

Le cycle de l'azote est caractérisé par trois réservoirs : azote organique (acides aminés, protéines...), azote minéral (NO<sub>2</sub>-, NO<sub>3</sub>-...), azote gazeux (N<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O...) et est régi par des processus chimiques et biologiques permettant le passage d'une forme azotée à une autre (figureI.1). Dans les milieux naturels, on n'observe pas d'accumulation d'azote dans l'un ou l'autre compartiment car un équilibre s'instaure entre ces trois réservoirs. L'azote est un constituant essentiel pour toutes les formes de vie, aussi bien dans les écosystèmes aquatiques (l'homme prenant part à ces processus). De façon générale, l'azote est un facteur limitant de la croissance pour les règnes animal et végétal dans les écosystèmes naturels (**Portejoie et al., 2002**).

Dans l'eau, l'azote se trouve en solution sous forme combinée : nitrate (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), azote ammoniacal (NH<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), azote organique (**Boeglin, 2007**).

Le cycle de l'azote implique une série de transformations chimiques qui sont l'œuvre d'un petit nombre d'organismes spécialisés. Ces mécanismes biologiques peuvent être brièvement résumés comme suit, (**Kevin**, 2005) :

#### **I.1.1.1.** La fixation :

Correspond au passage de l'azote atmosphérique  $(N_2)$  en azote combiné sous l'action de certains organismes qui consomment  $N_2$  par la réaction de réduction :

$$2N_2(g) + 3(CH_2O) + 3H_2O$$
  $\longrightarrow$   $4NH_4^+ + 3CO_2$   
Azote Matière organique ammonium

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

 $4NH_4^+ + OH^ \longrightarrow$   $NH_3(g) + H_2O$ 
Ammonium hydroxyl ammoniac

#### I.1.1.2. L'assimilation

C'est la transformation de la matière azotée minérale ou organique inerte en matière vivante. La forme assimilable est l'azote ammoniacal (NH3) qui est transformé, par exemple, en acides aminés. Il s'agit de l'utilisation d'une partie de l'azote ammoniacal pour la synthèse cellulaire, c'est-à-dire comme élément constitutif de la biomasse (**Boeglin, 2007**).

#### I.1.1.3. L'ammonification

Il s'agit de la transformation de l'azote organique (c'est-à-dire lié à un radical carboné) en azote ammoniacal, réalisée par des réactions de type hydrolyse, désamination oxydative et désamination réductive (**Boeglin, 2007**).

#### I.1.1.4. La nitrification

Cette réaction réalise l'oxydation par voie biologique de l'azote ammoniacal en nitrites puis en nitrates en faisant intervenir des micro-organismes strictement aérobies caractérisés par un métabolisme autotrophe vis-à-vis du carbone, c'est-à-dire qu'ils synthétisent leur matière vivante à partir du carbone minéral ( carbonate ) .

Les micro-organismes impliqués appartiennent à deux groupes très spécifiques :

- Les nitrosobactéries (genre Nitrosomonas) : oxydation de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en NO<sub>2</sub><sup>-</sup>,
- Les nitrobactéries (genre Nitrobacter) oxydation des nitrites NO<sub>2</sub> en nitrates NO<sub>3</sub>.

Le métabolisme bactérien autotrophe entraine un temps de génération (temps nécessaire au doublement de la population) très long (de l'ordre de 24h), l'activité nitrifiante s'avérant forcement influencée par la température dans la mesure où les bactéries sont mésophiles (optimum vers 30°C) et vont donc être très sensibles aux baisses de température.

#### I.1.1.5. La dénitrification

Il s'agit de la réaction de réduction par voie biologique des nitrates en azote gazeux qui retourne ainsi sous sa forme primitive dans l'atmosphère.

Les nitrates jouent le rôle d'accepteur final d'électrons à la place de l'oxygène. Les bactéries impliquées (genre *acinetobacter*, *Pseudomonas*, *moraxella*, *alcaligènes*...) ont un métabolisme hétérotrophe, la dénitrification implique nécessairement la présence d'une pollution carbonée qui peut être directement puisée dans l'eau brute ou ajoutée ... et le maintien d'une concentration en oxygène dissous nulle (milieu anoxie).

La dénitrification est un processus assez complexe. Cependant, elle peut être simplifiée par le schéma suivant :

$$NO_3^- + 2H^+ + 2e^- \longrightarrow NO_2^- + H_2O$$
  
 $NO_2^- + 4H^+ + 3e^- \longrightarrow 0.5 N_2 + 2H_2O$   
 $NO_3^- + 6H^- + 5e^- \longrightarrow 0.5 N_2 + 3H_2O$ 

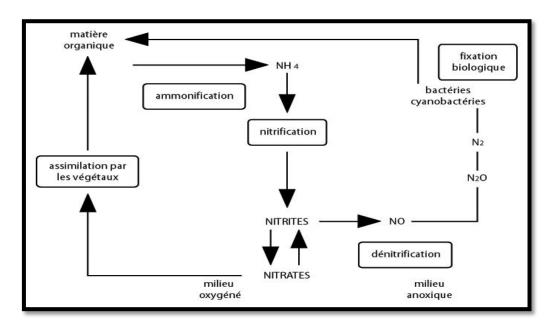


Figure I.1 : Cycle d'azote (Google image)

#### I.1.2.Origine des nitrates dans les eaux

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

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

À cette pollution azotée, il convient d'ajouter les nitrates d'origine animale. Un porc de moins de six mois et qui pèse 100 Kg évacue une quantité de lisier (mélange d'urine et de matière fécales) correspondant à 1m³/an, (soit 5.5 Kg d'azote. S'il est mal stocké, il pollue en priorité les eaux de surfaces.

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

Les teneurs en nitrates sont en augmentation ces dernières années. La progression dans les eaux souterraines est couramment de 0.5 à 1mg/l/an et peut atteindre 2mg. Une situation voisine se rencontre dans les eaux superficielles (**Ratel, 2002**).

### I.1.3. Exemple des régions polluées par les nitrates

#### I.1.3.1.Dans le monde

L'ensemble de la pollution des eaux a accru considérablement depuis le début des années soixante dans l'ensemble du monde. Certes, dans les pays industrialisés, de vastes programmes ont permis de ralentir la progression de la contamination des eaux. En France, selon un rapport de l'institut français de l'environnement (**IFEN**), le taux de nitrates est en augmentation continuelle depuis 1970, avec un niveau presque stable les quatre dernières années.

#### I.1.3.2. En Algérie

L'Algérie, un pays en voie de développement voulant diminuer la facture des importations alimentaires, s'est tournée vers une utilisation plus large et intense des terres agricoles, ce qui a nécessité une utilisation accrue d'engrais entrainant une pollution progressive et continue des réserves d'eau par les nitrates.

Une étude réalisé sur le barrage Ghrib Ain Edefla (Nord-Ouest de l'Algérie) au cours de la période allant d'avril à octobre 2007 a montré que la concentration des nitrates en juillet est le double de celle trouvée en avril, ceci correspond à la période d'introduction des engrais dans les terres agricoles au voisinage de ce barrage (**Hamaidi**, **2009**).

Une autre étude réalisée à Skikda a montré que la concentration des nitrates a atteint 49,7mg/l dans certains sites (**Bordjiba**, **2009**). À la plaine de la Mitidja la concentration est passée de 130mg/l en 2002 à 260mg/l en 2004 (**Salem**, **2007**) dépassant largement la norme O.M.S (50mg/l). Une situation très alarmante est observée en 2004 à Oued Mezzouze Collo W de Skikda comme la montre la **figure I.2**. (**Chabour**, **2004**) ou la concentration atteint 570mg/l. Des valeurs de 80 à 120mg/l ont été obtenues dans de nombreux puits captant la nappe de Chéria (**Baali et al.**, **2007**). Le **tableau I.2**.montre l'intensité de la gravité de la pollution par les nitrates des ressources aquatiques Algériennes.

**Tableau I.2**. La concentration des nitrates dans différents sites en Algérie (**Bougherara,2010**)

Villes	N-NO3 en mg/L	Année
La Mitidja	260	2004
Collo (Oued	570	2004
Mezzouze)		
Sidi Bel Abess	175	2004
Batna (Ain lacer)	125	2006
Chéria	80-120	2007
Skikda	47,9	2008
Tlemcen	242	2008
Chleff	100	2008

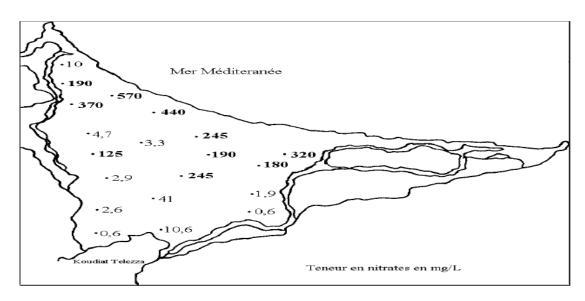


Figure I.2 : Carte Telazza (Chabour N, 2004)

#### I.1.4. conséquence sur la santé humaine et l'Environnement

#### I.1.4.1. Effet sur la santé humaine

L'homme produit naturellement entre 60 et 70 milligrammes (mg) par jour de nitrates qui sont retrouvés dans le sang, les urines, la sueur ; les larmes, etc. Les apports extérieurs environ 150mg par jour, concernent la voie digestive, par ingestion d'eau ou d'aliments. Les apports se répartissent entre 70 à 80% pour l'alimentation et entre 20 à 30% pour l'eau (**Miquel et al.2003**) les aliments constituent la source d'exposition la plus importante. Certains légumes (salades, épinards, betteraves, carottes, etc.) peuvent être chargés en nitrates (de 2 000 à 4 500 mg/kg) (**Zmirou et al., 2000, Miquel et al., 2003**).

Un végétarien absorbe entre 175 et 195mg de nitrates par jour (**Miquel et al., 2003**). D'autres aliments, conservés en saumure tels que les charcuteries, fromages, poissons, etc. sont également pourvoyeurs de nitrates.

L'étude de la toxicité des nitrates et de leurs dérivés transformés dans l'organisme, à savoir les nitrites et les nitrosamines, a donné lieu à des très nombreuses publications scientifiques, souvent contradictoires. Historiquement, les nitrates et leurs dérivés ont été incriminés dans la survenue d'une intoxication aigüe méthémoglobinémie, chez les nouveaunés et dans la population générale (**Testud 2004**, **Vilaginés 2003 et Zmirou et al.,2000**). Les acquisitions récentes concernant le métabolisme des nitrates ainsi que l'analyse des données expérimentales et de la littérature épidémiologique accumulée depuis une trentaine d'années montrent cependant que leur toxicité pour l'homme a été largement surestimée (**Testud 2004**).

<u>Chez le nourrisson</u>, les nitrates ont été incriminés dans la survenue de la méthémoglobinémie (ou maladie bleue). La formation des nitrites, à partir des nitrates ingérés, est réalisée par la flore bactérienne intestinale. Chez les enfants, les nitrites en excès provoquent une moindre capacité des globules rouges à fixer et transporter l'oxygène d'où une cyanose. L'effet produit est proche de celui lié à l'intoxication par le monoxyde de carbone. Cet effet est bien démontré lorsque les taux de nitrates sont très élevés.

De plus, dernièrement, il a été montré que le risque de méthémoglobinémie était en réalité plus lié à la pollution bactériologique de l'eau, qu'à la présence de nitrates (**Testud** ,2004). Ceci car la transformation des nitrates en nitrites pourrait également avoir lieu dans l'eau avant ingestion, quand celle-ci est fortement chargée en microorganismes.

En population générale, les nitrates ne sont pas directement cancérigènes alors que les nitrites, de forme transitoire et instable, seraient associés à certaines formes de cancers, notamment des cancers digestifs, de l'estomac et de l'œsophage. En effet, dans un milieu acide comme celui de l'estomac, les nitrites réagissent avec différents produits de décomposition des protéines de la viande : polyamines, proline, amines diverses (FNCLCC ,2005). Il s'ensuit la production de nitrosamines, dont la première cible est l'estomac et dont le pouvoir cancérigène a été montré chez l'homme en exposition professionnelle (Testud 2004, Zmirou et al.,2000).

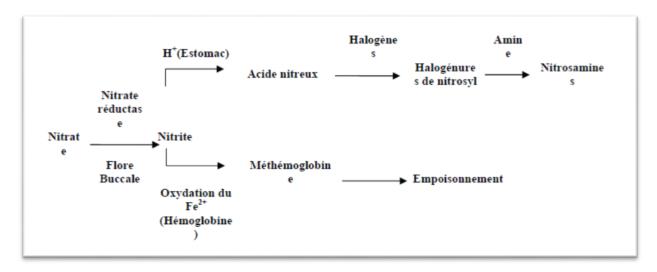


Figure I.3: Effet sanitaire des nitrates (Bougherara, 2010)

#### I.1.4.2. Effet sur l'environnement

En ce qui concerne l'environnement, l'augmentation des teneurs en nitrate dans les eaux et en présence des phosphores modifie l'équilibre biologique des milieux aquatiques (**Jacques C**, **2002**).

<u>L'eutrophisation</u>: Les nitrates en excés dans les eaux de surfaces sont la principale cause de l'eutrophisation qui est une croissance excessive des micro-algues (phytoplanctons) et des macro-algues dans les rivières, les lacs et les zones littorales.

La matière organique présente dans le fleuve augmente démesurément suite à l'apparition et à la prolifération des algues dans les eaux. Quand les algues meurent, cette matière organique se décompose en consommant tout l'oxygène dans l'eau et donc la mort de tous les poissons et invertébrés qui conduira par la suite à la mort de l'écosystème aquatique en quelques décennies voire même en quelques années. Cette anoxie ne se produit pas en général dans le réseau fluvial mais dans les estuaires turbides ou le transit de l'eau est fortement ralenti et ou la décomposition l'emporte sur la production algale. Le phénomène d'eutrophisation fluviale se produit principalement au printemps et en été ou l'ensoleillement est fort, permettant la photosynthèse par les algues et la température est élevée.

Le probleme d'eutrophisation s'est accentué en Algérie ces derniers années. La figure I.4 montre une situation alarmante dans le lac tanga (El kala, Est Algérien) ou une grande partie de la surface du lac est couverte par les algues ce qui la rendu inutilisable pour la récréation. Par le biais des oueds le barrage Ghrib à Ain Edafla reçoit d'une part les rejets de plusieurs agglomérations et d'autre part les engrais agricole ; ce qui a provoqué au cours de ces dernières années une eutrophisation croissante de cet écosystème (Hamaidi M.S.et al,2009).



**Figure I.4**: l'eutrophisation dans le lac Tanga (W d'El Kala) aout 2009.

<u>Les marées vertes</u>: il s'agit du phénomène de proliférations massives de certaines espèces d'algues micro ou macroscopiques de genre *ulves*, suite à un enrichissement trop important des eaux en éléments nutritifs, il constitue donc un exemple typique d'eutrophisation du milieu marin côtier. Pour se développer, les *ulves* doivent trouver dans l'eau de mer des quantités suffisantes de sels nutritifs azotés et phosphorés. Depuis plus d'un siècle, les scientifiques ont classé les algues vertes parmi les végétaux nitrophiles, c'est-à-dire particulièrement demandeurs en nitrates, entre autre pour constituer leur abondant équipement chlorophyllien.

Démarrant en mars ou avril sous la forme de petits fragments de thalle en suspension dans l'eau du rivage, la prolifération s'accélère en mai et juin , pour aboutir en général à une biomasse maximale en début d'été , capable de recouvrir par temps calme la quasitotalité de l'estran lors des marées descendantes. Le phénomène est apparu en Bretagne au début des années 70 (**Boquillet et al, 2007**), s'amplifiant rapidement pour atteindre maximum fluctuant depuis le milieu des années 80 . La production de biomasse est plus ou moins importante et plus ou moins retardée dans l'année selon le régime des pluies, en particulier du printemps , qui influence les quantités de nitrates apportées à la bande cotière.

#### I.2. Dénitrification biologique

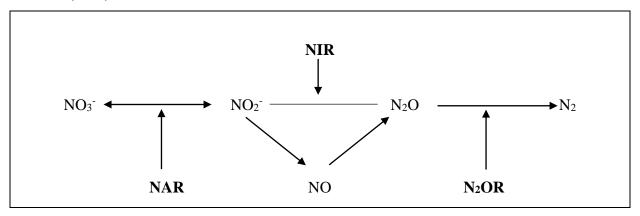
Les traitements biologiques occupent une place importante parmi les procédés mis en place pour éliminer les nitrates.

La dénitrification biologique repose sur l'utilisation de bactéries, essentiellement de la famille des *Pseudomonas*, qui utilisent les nitrates à la place de l'oxygène de l'air, et qui les transforment en azote gazeux. Les bactéries hétérotrophes consomment les produits organiques pour en tirer l'énergie tandis que les bactéries autotrophes apportent cette énergie des matières inorganiques et du soufre parfois.

La dénitrification est un processus biologique anoxique (**Kargi., 2000**) par lesquels certains micro-organismes convertissent le nitrate NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en azote gazeux N<sub>2</sub> pour produire l'énergie nécessaire à la croissance cellulaire. La plupart des microorganismes dénitrifiants sont anaérobies facultatifs et utilisent donc préférentiellement l'oxygène comme accepteur final d'électrons dans la chaine respiratoire. C'est pourquoi la dénitrification requiert des conditions anaérobies, ou plus exactement anoxie. Une concentration de 0.2 mg O<sub>2</sub> L<sup>-1</sup> serait suffisante pour inhiber la dénitrification dans un procédé par boues activées traitant des eaux usées domestiques (**Metcalf et Eddy, 2003**).

La dénitrification biologique est l'un des procédés les plus efficaces pour l'élimination des nitrates des eaux polluées. Deux grandes catégories de technologies biologiques sont aujourd'hui mises en œuvre pour la dénitrification : l'une est « autotrophe » dans laquelle les bactéries utilisent une source de carbone minéral ; et l'autre « hétérotrophe » dont la biomasse nécessite une source de carbone organique. Cette dernière présente l'avantage d'être plus économique que les méthodes physicochimiques et électrochimiques, ainsi que la dénitrification autotrophe (Ratel, 2001).

La dénitrification est un processus respiratoire microbien au cours duquel des microorganismes sont capables de substituer à l'oxygène des formes oxydées de l'azote comme accepteur terminal d'électrons dans leur chaine respiratoire. Les oxydes d'azote solubles nitrate (NO<sub>3</sub>-) ou nitrite (NO<sub>2</sub>-) sont transformés en composés gazeux : oxyde nitrique (NO), protoxyde d'azote (N2O) et/ou azote selon la chaine de réaction suivante :



Chaque étape est catalysée par une enzyme particulière : nitrate réductase (NAR), nitrite réductase (NIR), oxyde nitrique réductase (NOR) et enfin oxyde nitreux réductase (N<sub>2</sub>OR) (Cavigelli et al, 2001).

#### I.2.1. Sources nécessaires pour la dénitrification

Les micro-organismes ont besoin de sources énergétiques et de substances chimiques indispensables à la synthèse de leurs constituants cellulaires.

### I.2.1.1 Source d'énergie

Le type d'énergie utilisé classe les bactéries en deux catégories :

- Bactéries phototrophes : Elles utilisent le rayonnement solaire comme source d'énergie ;
- **Bactéries chimiotrophes** : Elles puisent leur énergie à partir des réactions d'oxydation des produits chimiques.

#### I.2.1.2.Source de carbone

C'est l'élément constitutif essentiel de la cellule. D'après cette source, on en distingue deux catégories :

- Bactéries autotrophe : Elle est capable de se développer en milieu inorganique,
- **Bactéries hétérotrophe** : Elles se reproduisent en milieu organique ou la matière organique (méthanol, éthanol, acide acétique, lactose...) est à la fois source de carbone et d'énergie.

#### I.2.1.3. Source d'azote

Les micro-organismes ont besoin de substances azotées pour synthétiser leurs protéines qui représentent environ 10% de leur poids sec.

#### I.2.1.4.Source de soufre

Le soufre est utilisé pour la synthèse des acides aminés soufrés et dont les bactéries ont en besoin ; il est présent sous forme de groupement thiols (-SH) et est incorporé sous forme de sulfate ou, composé soufré organique.

#### I.2.1.5. Source de phosphore

Le phosphore est incorporé dans la cellule sous forme de phosphate inorganique, il est ainsi utilisé pour la synthèse des acides nucléiques et d'autres composés cellulaires.

#### I.2.1.6. Source d'oligo-éléments

Les oligo-éléments (Manganèse, Calcium, Cobalt...) sont indispensables à la croissance des bactéries car ils font partie constituante d'enzyme ou de coenzyme mais on les retrouve à l'état de trace (inférieur à  $1\mu g/l$ ).

#### I.2.2.Bactéries dénitrifiantes

Il existe une vingtaine d'espèces de bactéries strictement dénitrifiantes. Généralement non sporulées, à Gram négatif et anaérobies facultatives, elles appartiennent notamment aux genres *Bacillus*, *Paracoccus* et *Pseudomonas* (P.denitrificans, P.Stutseri, B.Licheniformis).

Ces bactéries peuvent oxyder un grand nombre de substrat carbonés. Le substrat carboné fournit à la fois l'énergie et le carbone nécessaire au métabolisme et aux synthèses cellulaires.

Plusieurs organismes sont capables de dénitrifier, y compris les champignons et les protozoaires, cependant une même capacité de dénitrification a été trouvée chez les algues et les moisissures. Les organismes dénitrifiant sont des bactéries anaérobies facultatives et sont hétérotrophes et autotrophes. Les bactéries dénitrifiantes utilisent les nitrates et nitrites pour dégrader la DBO en absence d'oxygène, pour obtenir de l'énergie pour l'activité cellulaire, et le carbone pour la croissance et la reproduction (**Michael, 2002**).

Les bactéries dénitrifiantes sont présentes en milliard dans une gramme de particules et représentent environ 80% de toutes les bactéries présentes dans une boue activée. Le **tableau** (I.3) représente les nombreux genres de bactéries qui contiennent des espèces dénitrifiantes. (Michael, 2002)

**Tableau I.3**: les bactéries dénitrifiantes (Michael, 2002)

Les bactéries dénitrifiantes			
Acétobacter	Halobacterium		
Achromobacter	Hyphomicrobium		
Acinetobacter	Kingella		
Agrobacterium	Methanonas		
Alcaligenes	Moraxella		
Arthrobacter	Neisseria		
Axotobacter	Paracoccus		
Bacillus	Propionicbacterium		
Chromobacterium	Pseudomonas		
Corynebacterium	Rhizobium		
Denitrobacillus	Phodopseudomonas		
Enterobacter	Spirillum		
Escherichia	Thiobacillus		
Flavobacterium	Xanthomonas		

Beaucoup de genres de bactéries dénitrifiantes peuvent utiliser les ions nitrites ou nitrates pour dégrader la matière organique, certains genres tels que *Enterobacter* et *Escherichia* utilisent les nitrates seulement. D'autres genres tels que : *Alcaligenes* utilisent les nitrites seulement.

#### I.2.3. Facteurs influençant la dénitrification

La dénitrification est le résultat complexe d'interactions entre des paramètres physiques, hydrologiques et chimiques, mais également biologiques.

Les conditions requises pour que la dénitrification ait lieu sont d'abord la présence de donneurs d'électrons, c'est-à-dire la source de carbone organique, ensuite une anaérobiose stricte ou modérée qui régule l'activité enzymatique, la présence de formes azotées oxydantes comme les nitrates, les nitrites et enfin la présence des bactéries capable de réaliser ce processus.

#### I.2.3.1. La concentration initiale des nitrates

En général, les nitrates sont nécessaires pour la synthèse des enzymes surtout la nitrate réductase. Selon **Brayan 1981**, le nitrate affecte la production du nitrate réductase. Sa présence déclenche la synthèse et sa concentration détermine la quantité d'enzyme synthétisé. Cette relation peut être décrite par une cinétique de Michael-Menten qui se caractérise par une forte dépendance de la vitesse de dénitrification à la concentration des nitrates (**Betlach M.R et Tiedje.M, 1981**).

Un autre effet de la concentration initiale des nitrates pourrait être sur l'ordre de la réaction. (**Bowman R.A. et Focht D.D, 1974**) mettent en évidence une cinétique d'ordre 1 pour de faibles concentrations en nitrates tandis que pour de fortes concentrations la cinétiques de la réaction serait d'ordre 0.

#### I.2. 3.2. Le carbone organique

Comme la plupart des micro-organismes dénitrifiants sont hétérotrophes, la présence de carbone organique donc est indispensable à la réalisation du processus de dénitrification, car le substrat carboné fournit l'énergie nécessaire à leur métabolisme et constitue l'élément de base de leurs synthèses cellulaires. Le carbone organique favorise également le processus de dénitrification en accélérant la respiration aérobie (**Davidsson et Leonardson, 1996**). Tandis que les faibles performances de dénitrification biologique, résultant en général d'une limitation des eaux usées en carbone, imposent l'apport d'une source de carbone exogène afin d'améliorer les performances de traitement. Le méthanol et l'acétate sont les principaux substrats carbonés synthétiques ayant été utilisé dans le domaine de la dénitrification des eaux résiduaires (**Louzeiro et al., 2002, Foglar et Briski., 2003**).

#### I.2.3.3.L'oxygène dissous

Les rendements de dénitrification sont affectés par la présence d'oxygène. En effet, les micro-organismes réalisant la dénitrification étant des aérobies facultatifs, ils consomment l'oxygène dissous avant l'oxygène des nitrates. Cependant, la dénitrification peut commencer en présence de faibles taux d'oxygène dissous ( Mariotti, 1986). Le taux limite d'oxygène dissous à partir duquel la dénitrification peut s'initier est compris entre 0.2 et 2mg/l ( Nakajima et al., 1984, Trevor .,1985). Ceci peut etre expliquer par l'existance de quelques micro-organismes qui sont capable de dénitrifier en aérobiose. En présence d'une forte concentration d'oxygène dissous, les étapes de la dénitrification sont graduellement inhibées, c'est d'abord la

réduction de l'oxyde nitreux ou protoxyde d'azote ( $N_2O$ ) qui est affecté puis celle du nitrite et enfin celle de nitrate.

#### I.2.3.4. La température

La température est un important facteur de contrôle de dénitrification. Bien que la dénitrification puisse avoir lieu pour très large gamme de température, entre 0 et 60°C, celleci reste relativement faible entre 0 et 5°C ( **Smid A.E. et Beauchamp E.G,1976**). Entre 2 et 25°C, la dénitrification augmente de manière continue et reste plus ou moins stable entre 25 et 60°C. Alors qu'à des températures supérieure à 60°C elle décroit. Les pourcentages d'augmentation du taux de dénitrification en fonction de la température sont très variables d'un site à l'autre.

En règle générale, la réaction semble être réalisée par des micro-organismes mésophiles. Mais il n'existe pas de température optimale pour réaliser la dénitrification

Il existe plusieurs équations qui relient la température et la dénitrification on peut citer par exemple la relation suivante ( Knowles R, 1982) :

$$\mathbf{K}_{\mathsf{t}} = \mathbf{K}_{20} * \Theta^{(\mathsf{t}\text{-}20)}$$

 $Ou: \mathbf{K}_t$  : taux de dénitrification à la température t

**K**<sub>20</sub>: taux de dénitrification à 20°C

t : température en °C

#### I.2.3.5.Le pH:

Les microorganismes réalisent la dénitrification sont moyennement sensibles aux fluctuations du pH. Le pH optimum semble se situer entre 7 et 8,7. La réaction de dénitrification entraine une élévation du pH, qui doit être contrôlé puisqu'il peut y avoir inhibition de la réaction au-delà d'une valeur de pH égale à 9. Les travaux de **Gee et Kim 2004** montrent toutefois que la dénitrification est possible à un pH de 9,5 dans un réacteur en batch accumulant les nitrites. **Foglar et Briski, 2003** observent un pH optimum de 7,4 mais également une bonne dénitrification dans des gammes de pH allant de 5,9 à 8,4 pour une biomasse acclimatée à dégrader les nitrates.

#### I.2.3.6. Le rapport C/N

Quelle que soit la source de carbone utilisée, la dénitrification d'une concentration en carbone à fournir par rapport à la concentration en nitrate à éliminer (rapport C/N) est une étape préliminaire obligatoire à toute optimisation de traitement biologique par dénitrification. Le rapport DCO/N pour la dénitrification complète est égal à 2.86 pour le nitrate et 1.71 pour le nitrite sans tenir compte de la croissance cellulaire. De nombreux auteurs (**Skrinde J.R. et Bhagat S.K, 1982, Tam N.F.Y et al, 1992 a et b**) soulignent qu'indépendamment de la source de carbone utilisée, le rapport DCO/N doit être compris entre 3 et 6 pour avoir de bonnes performance de dénitrification biologique. Des études sur la dénitrification montrent que le rapport C/N minimal pour une réduction totale du nitrate en N<sub>2</sub> est de 3.4 et 1.08 pour une dénitrification totale du nitrite.

### I.2.3.7.Le rôle potentiel d'oxydo-réduction

Les réactions de respiration ou de dénitrification étant composées d'une succession de réactions d'oxydo-réduction, le potentiel d'oxydo-réduction global de chaque intermédiaire est un facteur important. La vitesse de dénitrification augmente lorsque le potentiel d'oxydo-réduction décroit (**Lie E. et Wellander T.1994**). (**Kucera I. et al.1983**) ont montré que le nitrite et le protoxyde d'azote produits lors de la dénitrification ou ajouté au milieu, diminuaient le taux de réduction de nitrate en oxydant la chaine respiratoire via les nitrites et l'oxyde nitreux réductases.

### I.2.3.8.Influence biologique

La dénitrification est assurée par les communautés des microorganismes. Elles sont structurés sur le long terme par la disponibilité en carbone, le pH, la température (**Enwall K. et al, 2005**). Leur composition reflète donc les conditions environnementales. Mais les tolérances ne sont pas les mêmes pour tous les types de bactéries (**Wallenstein M.D. et al 2006**). La biodiversité offre une grande variété de microorganismes pouvant réaliser la dénitrification. Certains tolèrent des pH acides, contrairement à d'autres qui ont besoin de pH exclusivement neutres, ou certains supportent des degrés d'assèchement plus fort que d'autres. Le paramètre biologique influe donc lui aussi directement sur la dénitrification.

### I.2.3.9. Substances toxiques

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

- Les cyanures et le dinitriphénol qui inhibe la chaine respiratoire des microorganismes.
- Les ions sulfures qui inhibent la NOR et la N<sub>2</sub>OR.
- L'acétylène qui inhibe N<sub>2</sub>OR.

#### I.2.4. Schéma de la croissance bactérienne

La culture en batch permet de suivre tout le cycle d'une population de microorganismes. Ce cycle est également représenté sous forme d'une courbe de croissance correspondant au suivi de la population (densité de population) ou au suivi de la biomasse (densité de la biomasse), éventuellement après transformation logarithmique, en fonction du temps.

Depuis la première description de (**Buchanan**, **1918**), il est classique distinguer plusieurs phases dans la croissance des cultures des micro-organismes. Ces phases sont caractérisées par certaines valeurs ou variations de la vitesse de multiplication de la culture. On reconnait classiquement les sept phases successives suivantes (figure I.5) :

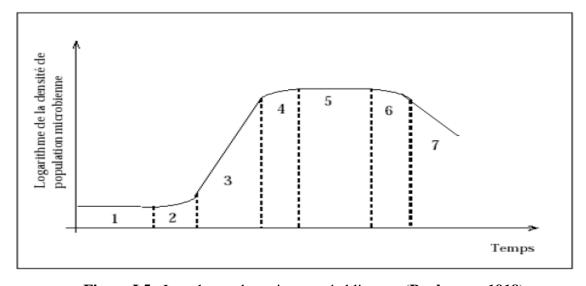


Figure I.5 : Les phases de croissance établies par (Buchanan, 1918)

#### I.2.4.1 : La phase de latence

Il s'agit d'une période d'adaptation au cours de laquelle la cellule synthétise en particulier les enzymes qui lui sont nécessaire pour métaboliser le substrat présent (**Reatz et Bauer**,

2001). Au cours de cette phase, il n'y a pas de reproduction cellulaire :

$$X=cte = X_0$$

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

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

La vitesse de croissance (dx/dt = 0).

#### I.2.4.2. La phase d'accélération de croissance

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

#### I.2.4.3. La phase exponentielle de croissance

Pendant cette phase, les microorganismes se divisent et doublent leur nombre à un intervalle de temps régulier d'où la population est presque uniforme en termes de propriétés chimiques et physiologiques. Au cours de cette phase, la vitesse de croissance dx/dt augmente proportionnellement à X. D'où l'allure logarithmique (ou exponentielle) du phénomène.

En coordonnées semi-logarithmique, (Log X = f(t)), cette phase a l'allure d'une droite :

$$dx/dt = \mu X$$

On peut modéliser simplement la phase exponentielle de croissance par :

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

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

Le taux de croissance est quant à lui constant et maximal, il est définit par l'équation différentielle suivante :  $\mu = dx/dt. \ 1/X = \mu_{max}$ 

Pour cette phase :  $Log X_2 - Log X_1 = \mu_{max} (t_2 - t_1)$ 

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

#### I.2.4.4. La phase de ralentissement

La vitesse de taux de croissance régresse. Il y a un épuisement du milieu de culture de fait de la disparition d'un ou plusieurs composés nécessaires à la croissance et à une accumulation des produits inhibiteurs résultants du métabolisme bactérien, il existe un début d'autolyse des micro-organismes.

#### I.2.4.5. La phase stationnaire

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

#### I.2.4.6. Phase de mort accélérée

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

#### I.2.4.7. La phase de déclin (décroissance)

Un changement nuisible comme la carence en nutriment et l'accumulation de déchets toxiques conduisent à la diminution du nombre de cellules viables et une lyse cellulaire sous l'action des enzymes protéolytiques endogènes, caractéristique de la phase de mortalité. La mort d'une population de micro-organismes, comme sa croissance durant la phase exponentielle, est habituellement logarithmique. La cinétique de croissance des micro-organismes est donc essentiellement composée d'une phase de latence suivie d'une phase exponentielle puis d'une phase stationnaire.

#### I.2.5. Technologie de la dénitrification

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

#### I.2.5.1. Système à boues activées :

Le réacteur est généralement couvert pour minimiser l'adsorption microbienne de l'oxygène atmosphérique. Toutefois, des petits orifices doivent être laissés pour l'évacuation du gaz carbonique et de l'azote gazeux formés.

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

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

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

#### I.2.5.1. Système à bactéries fixées :

L'eau passe au travers d'un garnissage sur lequel est fixée une culture bactérienne accomplissant l'épuration d'eau.

Afin d'augmenter l'activité spécifique de la biomasse, la formation d'un biofilm à l'intérieur du réacteur est apparue comme une solution intéressante. Le principe repose sur l'utilisation de la capacité naturelle des microorganismes, à se fixer sur un support solide et à former une matrice de polymères biologiques. Parmi les réacteurs à cultures fixées, on distingue plusieurs catégories : le lit bactérien, les biodisques, procédés anciens aux performances modestes et enfin les réacteurs à lit mobile. Les lits fixes sont actuellement les utilisés dans le traitement azotés des eaux usées.

# Chapitre II CHAMP ÉLECTROMAGNÉTIQUE

# Synthèse bibliographique CHAMP ÉLECTROMAGNÉTIQUE

## II. Champ électromagnétique

#### II.1. Introduction

Les rayonnements électromagnétiques étaient présents avant notre naissance, bien avant en fait. Pour dire vrai, ils seraient apparus au plus tard quelques heures après la création de l'univers, c'est-à-dire il y a environ 15 milliards d'années, plus de 10 milliards d'années avant la formation de la terre, plus de 10 milliards d'années avant l'apparition de la vie sur celle-ci. Depuis leur apparition, les rayonnements électromagnétiques n'ont cessé d'inonder l'univers, dont certains nous parviennent encore à l'heure actuelle (**Nicolas et al., 2008**).

Dans notre vie quotidienne, nous somme envahis par une gigantesque quantité de rayonnements, certains venant du soleil, d'autres de nos téléphones portables.

Qu'ils soient d'origine naturelle ou artificielle, les champs électromagnétiques sont omniprésents dans notre quotidien .Avec l'apparition de nouvelles technologies telles que la téléphonie mobile, les études concernant leur impact sur l'environnement et notre santé suscitent un intérêt et des débats grandissantes au sein du public.

Face à la profusion de ces étranges rayonnements venus du fin fond de l'espace, nous nous sommes demandé quels étaient leurs effets sur le vivant (**Nicolas et al., 2008**).

#### II.2. Définition

#### II.2.1. Notion du champ

La notion de champ est utilisée en physique pour traduire l'influence que peut exercer, à distance, un objet sur son environnement. Un champ caractérise une propriété particulière de l'objet. Et aussi un champ est un phénomène physique d'échange d'énergie et de force qui s'exercent à distance provoquant des effets induits sur des objets. Il se caractérise par son intensité et sa direction. Réciproquement, les autres objets présents dans l'environnement ne sont sensibles au champ que s'ils présentent eux-mêmes cette propriété. Par exemple, notre planète la Terre, génère un champ de pesanteur. Ce champ est généré par la masse de la planète et réciproquement, il exerce son effet sur les objets massifs.

Dans le contexte de l'électromagnétisme, le terme « champ » désigne un phénomène susceptible de perturber des objets matériels dans un espace qui, théoriquement, peut être infini, mais qui, dans les faits, est évidemment plus restreint (**Afsset, 2010**)

### II.2.2. Champ électrique

Le champ électrique est un objet physique qui permet de définir ou de mesurer l'influence exercée à distance par des particules chargés électriquement (Nicolas et al., 2008).

Le champ électrique caractérise l'effet d'attraction ou de répulsion exercé par une charge électrique sur une autre. Toute charge électrique produit un champ électrique. La tension électrique, qui traduit l'accumulation de charges électriques, génère donc du champ électrique. Ainsi, lorsqu'une lampe est branchée au réseau électrique, il y a un champ électrique, même si la lampe n'est pas allumée.

Un champ électrique est une région de l'espace sur lequel une charge électrique exerce une force sur les objets chargés dans son voisinage. Les unités du champ électrique sont Newton/coulomb (N/C) ou Volt / mètre (V/m), les deux sont équivalents (**Kato, 2006**).

Plus la tension d'alimentation d'un appareil est élevée, plus le champ électrique qui en résulte augmente. Elle décroit très vite avec la distance. Il convient de noter que le champ électrique est arrête par le moindre obstacle, même faiblement conducteur (bâtiment, arbre, etc.).

### II.2.3.Champ magnétique

Le champ magnétique est quant à lui un objet physique qui permet de définir l'influence d'un aimant, d'un électroaimant ou d'un déplacement d'électrons sur un autre corps (Nicolas et al., 2008).

Le champ magnétique est représenté par des lignes de forces. Elles suivent toujours la même direction, soit du pôle nord vers le pôle sud.

Un champ magnétique est une région de l'espace sur lequel une force électrique agit sur les charges en mouvement. Les unités du champ magnétique sont Newton / Weber (N / Wb) ou Ampère / mètre (A / m), les deux sont équivalents. La densité de flux magnétique, étant définie comme la quantité de flux passant à travers une zone de section transversale unitaire, est souvent utilisée à la place du champ magnétique (*Kato*, 2006). L'unité de densité de flux magnétique (B) est le Tesla dans le système international (*Bourget*, 2011). Les champs magnétiques n'apparaissent que si le courant circule. Ils sont provoqués par le déplacement de charges électriques. Ils sont d'autant plus intenses que le courant est élevé (*Raoul*, 2010). Ainsi, si un

champ magnétique existe, un champ électrique existe aussi. C'est pourquoi on parle de champ électromagnétique de manière générale (*Afsset*, 2010).

Un champ magnétique, tout comme le champ de pesanteur, ne peut être touché ou vu et correspond à un champ vectoriel (un champ magnétique possède une direction et une intensité). Nous pouvons prendre conscience de l'existence d'un champ magnétique par son effet sur des objets particuliers, sensibles à celui-ci, telle que la boussole. Par exemple, l'aiguille aimantée de la boussole est sensible au champ magnétique terrestre et s'aligne avec les lignes de champ, pointant le Nord magnétique (*Fanjat*, 2012).

Un champ **magnétique statique** est un champ de force créé par un aimant ou par le flux constant d'électricité, par exemple dans les appareils fonctionnant au courant continu (**CC**) (*OMS*, 2006). Les champs électriques et magnétiques statiques sont présents en permanence dans l'environnement. Alors que le champ électrique statique est associé à la présence de charges électriques fixes.le champ magnétique est dû au mouvement physique de charges électriques (*Perrin et Souques*, 2010).

### II.2.4.Champ électromagnétique

Les champs électromagnétiques (**CEM**) résultent de la combinaison des champs électrique et magnétique. Ils sont constitués d'une onde électrique et d'une onde magnétique qui se déplacent ensemble à la vitesse de la lumière. Les champs électromagnétiques se caractérisent par leur fréquence et leur longueur d'onde. La fréquence est le nombre d'oscillation de l'onde en une seconde, mesuré en Hertz(Hz). La longueur d'onde est la distance parcourue par l'onde pendant la durée d'une oscillation. Plus la fréquence est élevée, plus la longueur d'onde est courte, et l'énergie déployée dans le champ est élevée.

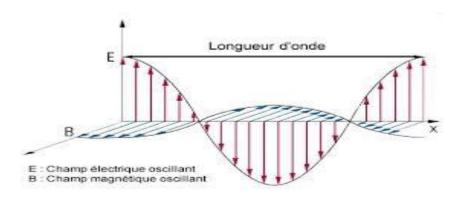


Figure II.1: Représentation d'une onde électromagnétique (Nicolas et al., 2008)

Les rayonnements électromagnétiques sont toujours émis à partir de la matière, soit au niveau des électrons, soit au niveau des noyaux atomiques. Ils représentent un mode de transport d'énergie dans l'espace. Un rayonnement électromagnétique désigne une perturbation des champs électrique et magnétique .Un rayonnement électromagnétique se caractérise par un flux de particules dépourvues de masse, les photons, associé à une onde, l'onde électromagnétique.

Lorsqu'un courant électrique circule dans un conducteur (cafetière, lampe de chevet), il génère la production d'un champ magnétique, et à une certaine distance de la source, lorsque le champ électromagnétique (**CEM**) est formé, il y a «couplage» des deux champs. Plus l'intensité électrique est élevée, plus le champ magnétique est important. L'intensité du **CEM** diminue rapidement lorsqu'on s'éloigne de la source (en fonction de l'inverse du carré de la distance). L'intensité d'un **CEM** peut être atténuée par d'éventuels dispositifs de protection (blindages).

### II.3. Types de champ électromagnétique

Tableau II.1 : Types de champ électromagnétique (Nicolas et al., 2008)

Gamme de fréquence	Fréquence	Source de champ	Exemple d'intensité maximal
Statique	0Hz	Naturel  VDU (vidéo displays)	70μΤ
		IRM et d'autre diagnostic/instrumentation scientifique	1T dans le tunnel, 200mT à la porte,  < 0.5 mT en dehors de la salle de dispositif
		Électrolyse industrielle	De 10-30 mT au niveau des pieds
Extrêmement basse	0-300Hz	Les lignes électriques	10-20μT sous la ligne, ou 10kV/m
fréquence ELF)	50Hz	Distribution domestique	<0.1-0.2 μT dans la chambre
		Moteurs électrique dans les voitures, train, Tramway	50μT et 300V/m
Fréquence intermédiaire (IF)	300Hz-100kHz	Des exemples typiques sont les suivants :	

		VDU, dispositif antivol  Dans les magasins, les mains libres, les systèmes de	30-700nT
		contrôle d'accès, lecteur carte et métal détecteur	10V/m
Radio fréquence(RF)	100kHz-300GHz	Radiodiffusion et la télévision	$0.1 \text{W/m}^2$
		Le téléphone portable	
		Four micro-onde	$0.5 \text{W/m}^2$
		Radar, portable et radio fixe	0.2W/m²
		Émetteur-récepteur	

### II.3.1. Champ EM statique

Les champs sont dites « statiques » lorsqu'ils ne varient pas dans le temps. Ces champs existent à proximité de toute installation fonctionnant en courant continu. Le champ électrique statique ne pénètre que peu ou pas l'organisme. De plus, il est fort atténué par tout matériau interposé entre la source et le lieu d'exposition considéré. Également, sa distribution dans l'espace est très inhomogène, de sorte qu'il est très difficile et aléatoire de quantifier l'exposition moyenne des personnes et des populations. À l'inverse du champ électrique, le champ magnétique (CM) pénètre aisément l'organisme et n'est que peu ou pas perturbé ou atténué par les matériaux interposés.

### II.3.2.Champ EM d'extrêmement basse fréquence

On appelle « extrêmement basses» les fréquences entre 3 et 300 hertz(Hz). Les champs 50Hz y sont largement dominants. Ces 50 Hz sont générés par tout conducteur ou appareil électrique en fonctionnement. Comme pour ce qui concerne les champs statiques, et pour les mêmes raisons, seul le CM est seul retenu à ce jour pour caractériser l'impact éventuel sur la santé des champs EM en 50Hz.Les autres fréquences les plus représentées dans la gamme des fréquences extrêmement basses sont , notamment , le 16.7 Hz des voies ferrées. Mais les

données d'exposition à ces champs sont insuffisantes et leur impact éventuel sur la santé n'a pas été étudié à suffisance.

### II.3.3. Champs EM de fréquence intermédiaire

Les fréquences situées entre 300 Hz et 100 kilohertz (kHz) sont dites « intermédiaires ».

### II.3.4. Champs et ondes EM en radiofréquence

La plupart des systèmes de radio- et télécommunications , mais aussi de nombeux autres systèmes, utilisent le support des champs EM de la gamme des radiofréquences (RF), soit entre 100kHz environ et 300 gigahertz (GHz). Cette gamme englobe les « micro-ondes » (300 mégahertz ou MHz à 300 GHz ). A ces fréquences, les champs se combinent pour former un rayonnement EM dont la longueur d'onde est inversément proportionnelle à la fréquence , valant 300 m à la fréquence de 1 MHz et 30 cm à la fréquence de 1 GHz, par exemple

### II.4.Le spectre électromagnétique

Un spectre électromagnétique est la décomposition d'un rayon électromagnétique en fonction de son longueur d'onde, ou en fonction de fréquence ou d'énergie, de sa fréquence selon l'équation de propagation ou de l'énergie de ses photons, (Basdevant et al., 2002 ; Aurango et al., 2006)

Le spectre est la distribution produite lorsque l'onde électromagnétique est décomposée en différentes composantes de fréquence (Kato, 2006).

Le spectre électromagnétique s'étend du champ statique aux rayonnements ionisants. Toutes les ondes ou radiations électromagnétiques ont la propriété de véhiculer de l'énergie sous forme de photons. Plus la fréquence de l'onde électromagnétique est rapide, plus l'énergie véhiculée est importante. Lorsque l'énergie véhiculée est supérieure à 12.40eV, c'est-à-dire lorsque la fréquence est supérieure à 3000 THz et la longueur d'onde inférieure à 100 nm, la radiation peut ioniser la matière et est ainsi appelée radiation ionisante.

Par longueur d'onde décroissante, on voit apparaître les ondes radio, les microondes, le rayonnement infrarouge, le fameux rayonnement visible, l'ultraviolet et les rayons gamma, on se rend compte que tous ces rayonnements sont de même nature, seul un paramètre charge : la longueur d'onde. Plus on diminue la longueur d'onde, plus l'énergie de ces rayonnements

augmente et plus ces rayonnements sont potentiellement dangereux. La **figureII.1** montre le spectre d'ondes électromagnétiques.

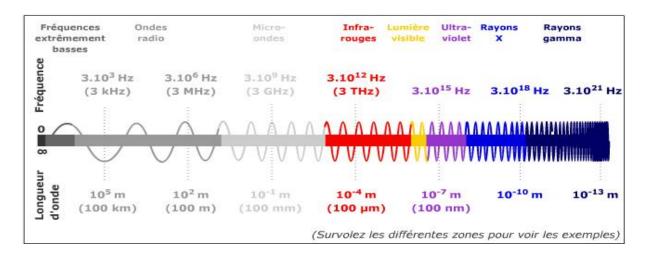


Figure II.2: spectre électromagnétique (BBEMG, 2010)

Les champs d'extrêmement basse fréquence sont ceux allant jusqu'à 300 Hz par exemple le courant électrique. Les champs de moyenne fréquence 300 Hz à 10 MHz sont engendrés par certains appareils électriques. Les radiofréquences sont comprises entre 10 MHz et 300 GHz (domaine hertzien et ultra hertzien) et sont le fait de la radio, de la télévision, du radar, des téléphones portables ou des fours à micro-ondes (Raoul, 2010 ; Vallée, 2004).

Les rayonnements électromagnétiques peuvent être classés en deux types : rayonnements ionisants et les rayonnements non ionisants.

### **II.4.1.Les rayonnements ionisants**

On appelle rayonnements ionisant un rayonnement qui a assez d'énergie pour arracher des électrons à un matériau, et donc transformer les atomes en ions. Les rayons X et les rayonnements Gamma font partie des rayonnements ionisants (**Nicolas et al, 2008**).

On entend par rayonnement ionisant tout rayonnement susceptible d'arracher un électron à la matière. L'atome le plus facilement ionisable étant le potassium, avec une énergie d'ionisation de 4.3 eV.

Tout rayonnement d'une longueur inférieure à 288 nm peut être considéré comme ionisant. Cette longueur d'onde correspond à la limite inférieure du spectre solaire au niveau de la mer. Toutefois, lors de l'interaction du rayonnement avec la matière. Toute l'énergie n'est

pas déposée sur une cible unique. Des phénomènes d'excitation de la matière ont lieu et conduisent à une perte d'énergie de l'onde incidente. On considère qu'il faut environ 35 eV pour ioniser la matière ce qui correspond à un rayonnement dont la longueur d'onde est inférieure à 35.4 nm. Cette énergie est à comparer avec les énergies de liaison C-C (3.6 eV) et celle de la liaison O-H (5.16 eV). Elle est suffisante pour entrainer la dissociation des molécules. Bien qu'elle paraisse faible (quelques électronvolts). Au niveau d'une mole, elle représente des énergies considérables. Une énergie de 1 eV par atome représente 96.5 kj.mol<sup>-1</sup> (23 kilocalories par mole).

Les rayonnements les plus énergétiques transfèrent assez d'énergie aux électrons de la matière pour les arracher de leur atome. Les atomes ainsi privés de certains de leurs électrons sont alors chargés positivement. Les atomes voisins qui accueillent les électrons de chargent négativement. Les atomes chargées positivement ou négativement sont appelés ions. Les atomes qui ont perdu un électron sont devenus des ions + (cations) et les atomes qui ont reçu cet électron sont devenus des ions – (anions). Les rayonnements capables de provoquer de telles réactions sont dits ionisants. Les rayonnements ionisants regroupent : les neutrons, les faisceaux d'électrons, les particules chargées lourdes et les photons.

### II.4.2. Les rayonnements non ionisants

On appelle rayonnement non ionisant, ceux qui sont incapables d'ioniser H, O et les autres atomes, et dont l'énergie est inférieure à 13.6 eV. Il s'agit des ondes radioélectriques, infrarouge(IR), visibles et ultraviolet (UV).

Les champs non ionisants présentent des fréquences correspondant à des énergies de photons bien en dessous des énergies d'ionisation ou de liaisons pertinentes (Kaiser, 1996), c'est à dire ils ne portent pas suffisamment d'énergie pour ioniser un atome ou des molécules (Wang, 2009). Le rayonnement non ionisant (RNI) comprend le spectre des rayons ultraviolets (UV), lumière visible, infrarouge (IR), micro-ondes (MW), la fréquence radio (RF), et les rayonnements extrêmement basses fréquences (ELF) (Astumian et al., 1995; Weaver et al., 1998). Leur mode d'action sur l'organisme est différent, fondé sur la circulation de courants et/ou des phénomènes d'échauffement selon la fréquence. Une erreur courante consiste à penser que la dangerosité potentielle d'un RNI est d'autant plus forte que sa fréquence est élevée, ce qui n'est pas le cas puisque l'interaction ondes-matière et la puissance sont également à prendre en compte (Perrin et Souques, 2010).

# Chapitre III EFFET DU CHAMP ÉLECTROMAGNÉTIQUE SUR LES SYSTÈMES BIOLOGIQUES

### III. Effet du champ électromagnétique sur les systèmes biologiques

### III.1. Introduction

Tous les organismes évoluent en permanence dans un champ magnétique faible. Sur la représentation du spectre électromagnétique (figure II.1), le champ magnétique se situe au tout début avec une longueur d'onde infinie et une fréquence nulle (**BBEMG**, **2010**). Il est donc très loin des rayonnements ionisants comme les rayons gamma et les rayons-X. Ces derniers ont la capacité de briser les liaisons inter-intracellulaires (**Blank**, **1995**). Bien que la fréquence des champs magnétiques soit très basse et qu'ils ne possèdent pas l'énergie pour briser des liaisons au niveau moléculaires, plusieurs effets dus aux champs magnétiques statiques ont été observés sur les organismes vivants.

L'exposition aux champs électromagnétique n'a rien d'un phénomène nouveau. Cependant, au cours du vingtième siècle, l'exposition environnementale aux champs électromagnétiques générés par l'activité humaine a augmenté régulièrement, parallèlement à la demande d'énergie électrique et les progrès ininterrompus de la technique de même que l'évolution des mœurs ont conduit à la création de sources de plus en plus nombreuses. Chacun de nous est exposé à un ensemble complexe de champs électriques et magnétiques de faible intensité, tant à la maison que sur le lieu de travail, dont les sources vont de la production et du transport de l'électricité pour alimenter les appareils ménagers et les équipements industriels, aux télécommunications et aux émissions radiotélévisées (Nikhil parsi, 2007).

### III.2. Effet sur les microorganismes

Le mécanisme d'action des champs électromagnétiques sur les organismes vivants n'est pas encore bien connu. Il y a des études dans lesquelles aucun effet du champ magnétique n'a été observé. Certains auteurs ont tentés de trouver des mécanismes physiques et biologiques de l'action des champs électromagnétiques sur les organismes vivants (**Lukas et al., 2006**). Nous ne pouvons que supposer que le CEM ne modifie pas l'activité métabolique des bactéries.

Il y a eu de nombreuses études sur l'effet du champ magnétique sur les organismes vivants, mais les résultats sont généralement contradictoires. Bien que certains d'entre eux montrent un effet négatif, la plupart d'entre elles montrent une amélioration de la croissance parce que l'effet dépend de l'intensité de champ magnétique et le type de micro-organismes exposé (Yavuz et al., 2000).

**Nakamura et al.** (1997) ont étudié la croissance d'une bactérie *bacillus subtilis MI113* et ont constaté que le nombre de cellules dans le cas d'exposition au champ magnétique était environ deux fois supérieurs à celle de témoin.

**Tamska et Wolny (2008)** n'ont observé que les transformations de composés azotés dans les systèmes de boue activée étant plus efficace lorsqu'ils sont exposés à un champ magnétique que les systèmes sans champ magnétique.

Yavus et Celebi (2000) ont étudié la dégradation d'un substrat (glucose) par les boues activées avec la présence de champ magnétique en courant continu. Ils ont constaté que le taux d'élimination du substrat a été augmenté avec l'accroissement de l'intensité de champ magnétique, et atteint un maximum à 17.8mT.

Les effets des radiations sur les microorganismes sont fonction de la dose (intensité-temps) de radiations absorbés et sont, dans leurs interprétations à rapprocher des effets de la chaleur (Température-temps).

La cinétique de destruction suit une loi comparable à celle énoncée avec la température. Les doses de réduction en kGy permettent de réduire de 90% le nombre de germes vivants, pour certains microorganismes sont indiquées dans le tableau III.1.

Le kGy, est l'unité dérivée de la dose absorbée du système international (SI) d'unités.

Un Gray représente l'énergie absorbée par un milieu homogène d'une masse d'un kg lorsqu'il est exposé à un rayonnement ionisant apportant une énergie d'un joule :  $1Gy = 1 \text{ J/kg} = 1 \text{ m}^2 \cdot \text{s}^2$ 

**Tableau III.1**. Les effets des radiations sur les microorganismes sont en fonction de la dose (**Boukabcha, 2010**)

Microorganismes	Dose (kGy)	Microorganismes	Dose (kGy)
Pseudomonas aeroginosa	0.1	Staphylococcus aureus	0.8-1.9
Lactobacilles	0.1-0.2	Clostridium botulinum type E	1.2-3
Escherichia Coli	0.15-0.3	Spores de cl.boludinum	3.5-5
Shigella sp	0.25-0.4	Micrococcus radiodurans	5-8
Salmonella sp	0.5-1	Levures	0.8-1.2
Streptococcus faecalis	0.75-1	Moisissures	0.4-1.3
Maraxella	0.8-1.3	Poliovirus	14

### III.2.1.Exemple: l'effet des rayons UV sur les microorganismes

L'action potentielle des rayons UV sur les micro-organismes est bien exposée par **Boucher 1980**, dans la description de son modèle breveté : « les photons UV de forte énergie (3,3-6,2 eV) vont produire une forte action délétère sur le matériel génétique, car leur longueur d'onde correspond à un maximum d'absorption par l'ADN et d'autres acides nucléiques (**Moisan et al, 2001**). Cependant, dans le cas des spores (qui peuvent attendre 1mm de diamètre), l'énergie du photon risque de se dissiper rapidement selon l'épaisseur de la paroi et donc restreint la réaction photochimique aux couches externes sans atteindre l'ADN... La limite d'action ou longueur d'absorption d'un photon UV est de 1µm. En d'autres termes, les caractéristiques énergétiques du photon restreignent son rôle à des surfaces très fines, et seront donc plus efficaces sur des petites bactéries non sporulées. Dans le cas de spores très résistantes, l'action du photon va contribuer à une altération partielle des protéines de surface possédant des ponts disulfures, et facilite ainsi la diffusion des molécules actives (tomes, radicaux libres) vers le noyau de la cellule.»

Le point de vue de Boucher sur la profondeur de pénétration des UV est exacte : elle a pour ordre de grandeur la dimension d'une spore qui en général n'excède pas 1 à 3µm, mais ces spores peuvent former des agrégats et donc minimiser davantage le rôle des UV (**Moisan et al, 2001**). Les UV se matérialisent sous la forme de photons hautement énergétiques. Lorsqu'ils frappent la bactérie, une partie de leur énergie est absorbée par les molécules qui composent la paroi des micro-organismes. Cet apport d'énergie est suffisant pour provoquer des ruptures de liaisons au sein des molécules pariétales, provoquant ainsi la destruction atome par atome de la paroi. Certaines études ont montré les limites d'action des photons UV essentiellement dues au faible pouvoir de pénétration de ces derniers.

### III.2.2.Biostimulation par des champs électromagnétiques

Une gamme de microorganismes sont exposés aux champs électromagnétiques, les résultats sont résumés dans le tableau III.2.

# Synthèse bibliographique EFFET DU CHAMP ÉLECTROMAGNÉTIQUE SUR LES SYSTÈMES BIOLOGIQUES Tableau III.2. Les effets de CEM sur les microorganismes (Hunt et al., 2009)

Organisme	Classe	Intensité	Effet biologique
Archaea	MW	13.5–36.5 GHz	Augmentation de la croissance, le nombre de cellules et de
Methanosarcina			la taille et de la production de méthane
barkeri			
<u>Eubactéries</u>	PMF	0.05-1 mT	L'activité de transposition stimulée et la viabilité cellulaire
	AC MF	16, 60 Hz 0.05–1 mT	réduite ; La stimulation de l'activité d'énolase, Réduction de l'activité de transposition & amélioration de la
	OMF	100 mT	viabilité cellulaire, La stimulation de temps en fonction du temps d'exposition ou l'inhibition de la viabilité cellulaire,
		30 μΤ	Des changements liés à la densité cellulaire,
	DC EF	NA	augmentation de la croissance
	AC MF	0.1–1 mT @ 50 Hz	variation de la morphologie, altération au cours de la division cellulaire
	ACEF	2.5-50 V/cm @ 0.05-100 kHz	stimulation de la synthèse d'ATP à la membrane, optimale à 100 Hz
	6-polar	0.35-2.1 kHz	optimate a 100 Hz
	ACEF	Pour des tubes à essai, 60 Hz pour les boites de pétri	augmentation de la croissance dans les tubes à essai (147±24%) et Colonies (de 42 à 179%)
Bacillus cereus	6-polar		
	ACEF	1 kHz	Augmentation de la croissance dans les tubes (196± 29%) et les colonies
B.mucilaginosus	SMF	~0.39 T	Augmentation de la croissance
B.Subtilis	AC-MF	0.8-2.5 mT, 0.8 et 1kHz	Augmentation de la croissance et une perte de cohésion intercellulaire
Pseudomonas	PMF	0.6-1.3 mT	Augmentation de la croissance,
Trichoderma	PMF	1.5 Mv cm <sup>-1</sup>	Augmentation de la croissance, l'activité de la cellule et de la sécrétion
Streptomyces noursei	PMF	1.5 Mv cm <sup>-1</sup>	Augmentation de la production d'antibiotique, évolution d'O2, consommation du Glucose
Salmonella Typhimurmium	OMF	15Mt @0.3 Hz	Stimulation de la croissance
Micrococcus Denitrificans Corynebacterium	SMF	500-800 Mt	Inhibition de la croissance suivie d'une stimulation après 6h
Glutamicum	AC MF	4.9 mT, 50Hz	Augmentation des niveaux d'ATP d'environ 30%
Natural Flora	SMF	22 mT	La dégradation accrue des liqueurs de déchets phénoliques
Natural Flora	PEF	1.25-3.25 kV.cm <sup>-1</sup>	Biosorption accrue de l'Uranium
Bacteria & yeast	OMF	15mT@ 0.3Hz	Augmentation de la croissance en Gram – (Pseudomonas earuginas, Halabacterium halobium) à Gram+ (Bacillus subtilis, Staphylocuccuse epidermidis) et la levure (Candila albicans)
Phodobacter	AC/DC	0.13-0.3 T	Augmentation de la synthèse de la porphyrine, une
Sphaeroides	MF		expression accrue de la dehydratase de l'acide 5- aminolévulinique

			~
<u>Cyanobacteria</u>			
Spirulina platensis	SMF	10mT	Augmentation de la croissance (50%), 02, le sucre, la phycocyanine
		250Mt	Augmentation de la croissance (22%), CNP-absorption, Chl,
			minéraux.
	MW	7.7mm	Augmentation de la croissance (50%)
		@2.2Mw.cm <sup>-2</sup>	
Anabaena doliolum	SMF	30mT	Augmentation de la croissance, des pigments, des glucides et des protéines
Algae			
Chlorella Vulguris	SMF	10-35 mT	Augmentation de la croissance (100%), défense antioxydant stimulé
Chlorella sp.	SMF	6-58 mT	Augmentation de la croissance (NA)
Dunaliella Salina	SMF	10-23mT	Augmentation de la croissance (90%), et β-carotène
Dunanena Salina	51111	10 25111	

AC-EF: champ électrique à courant alternatif, DC-EF: champ électrique à courant continu

MW: micro-onde, OMF: champ magnétique oscillant, SMF: champ magnétique statique

**PEF** : champ électrique pulsé, **PMF** : champ magnétique pulsé.

### III.3. Effet sur les végétaux

Les champs magnétiques ont démontrés des effets désirables comme la promotion de la germination de graines et la stimulation de la croissance de plantes. Les champs magnétiques faibles sont présentement intensément étudiés pour leurs effets sur les organismes vivants (Markov, 2007; Funk, Monsees et al., 2009).

Grace à ce mécanisme, ils peuvent influencer les voies métaboliques et les événements qui se produisent au niveau cellulaire (*Funk*, *Monsees et al.*, 2009). Une exposition à un champ magnétique faible a démontré plusieurs effets chez les plantes et les graines, dont une stimulation de la croissance des plantes et de la germination des graines (*De Souza*, *Sueiro et al.*, 2008; *Vashisth et Nagarajan*, 2008).

La nature diamagnétique des composants du tissu végétal entraine des effets observables des champs magnétiques sur plusieurs de ces tissus. Les observations des effets des champs magnétiques sur les produits végétaux ont été faites principalement sur les graines. Une

exposition aux champs magnétiques de graines de diverses natures engendre des effets sur le taux germination et la taille des plantules produits (*Carbonell, Martinez et al., 2000 ; Florez, Carbonell et al., 2007 ; Balouchi et Sanavy, 2009 ; Camps-Raga, Gyawali et al., 2009*). La germination est un phénomène dont les nombreuses réactions biochimiques sont influencées de façon importante par une exposition au champ magnétique.

Par exemple des graines sont exposées au champ magnétique démontrent des différences dans leur taux de croissance, dans l'induction de l'activité enzymatique et l'absorption de l'eau. Les graines de laitue exposées à un champ de 10 mT pendant 10minutes ont démontrées une augmentation de leur taux d'absorption d'eau de 30% (Reina, Pascual et al., 2001). Les graines traitées absorbent l'eau plus rapidement en plus grande quantité que les graines témoins. L'hypothèse selon laquelle le champ magnétique influence le courant ionique dans la paroi cellulaire de l'embryon de la plante permet d'expliquer en partie ce phénomène (Reina et Pascual, 2001). De plus, l'exposition de grains de riz à des champs magnétiques de l'ordre de 150 mT à 250 mT a provoqué une augmentation de leur taux de germination (Carbonell, Martinez et al., 2000). Des résultats similaires ont été obtenus avec des graines de tomates, pour lesquels il a été observé une amélioration de la croissance des plants et du rendement fruitier (De Souza, Garcia et al., 2006). L'exposition des graines de maïs à des champs magnétiques de 60 à 200 mT a permis de stimuler la germination des graines et d'augmenter la récolte de 29,5% (Gelland et Pazur, 2005). Des graines de concombres exposées à un champ magnétique de 200 à 450 mT ont démontré une croissance accrue comparativement aux graines témoins.

### III.4.Effet sur l'être humain

Même en l'absence de tout champ électrique extérieur, notre corps est le siège de microcourants dus aux réactions chimiques qui correspondent aux fonctions normales de l'organisme. Par exemple, certains signaux sont relayés par les nerfs sous la forme d'impulsions électriques. La plupart des réactions biochimiques qu'impliquent la digestion et de l'activité cérébrale par exemple, comportent une redistribution de particules chargées. Le cœur lui-même est le siège d'une activité électrique que votre médecin peut suivre sur l'électrocardiogramme (Nikhil parsi, 2007).

Le corps humain est un bon conducteur de l'électricité. La présence d'un champ électrique ou d'un champ magnétique à 60Hz, c'est-à-dire a extrême basse fréquence imprime aux charges électriques à l'intérieur du corps un mouvement alternatif de la même fréquence, soit de 60 oscillations par seconde. Cela fait apparaitre dans le corps de petits courants électriques qui disparaissent dès que l'exposition cesse. Ces microcourants ne s'accumulent pas dans le corps. Ils sont généralement imperceptibles car leur intensité est trop faible pour exciter les nerfs et les muscles. Ils sont même plus faibles que les courants produits naturellement par l'activité du cœur et du cerveau. Par exemple, en présence d'un champ magnétique de  $0,15~\mu T$ , les microcourants provoqués dans le corps sont environ 5~000 fois plus petits que les courants naturels du corps humain. (**Hydro-Québec, novembre 2011**).

Nous imaginons mal un monde sans électricité. Pourtant, partout où cette forme d'énergie est utilisée, les conducteurs et les appareils électriques produisent des champs électriques et magnétiques (**CEM**). Bien que ces champs soient généralement de faible intensité et imperceptibles, leurs effets potentiels sur le corps humain font depuis quarante ans l'objet de recherches poussées. Ces travaux ont débouché sur de nombreux rapports d'études. Plusieurs centaines d'études épidémiologiques ont été réalisées auprès de divers groupes, tant chez les travailleurs du domaine de l'électricité que dans la population en général. En outre, un grand nombre d'études expérimentales ont été menées en laboratoires sur les effets des champs électriques et magnétiques sur les cellules vivantes.

D'après les études et les recherches d'Hydro-Québec, les scientifiques qui tentent d'évaluer si un produit (ou un agent comme le champ magnétique) est cancérigène s'appuient sur deux types d'études : les études épidémiologiques et les études de laboratoire de longue durée sur l'animal de laboratoire. De nombreuses études épidémiologiques réalisées dans le monde, notamment aux États-Unis, au Canada et en Grande-Bretagne, se sont intéressées aux champs magnétiques.

### III.4.1. effets sur l'état de santé général

Certaines personnes qui se plaignent d'un ensemble diffus de symptômes les attribuent à une légère exposition aux champs électromagnétiques produits sur leur lieu de résidence. Il s'agit notamment d'anxiété, de céphalées, de tendances dépressives voire suicidaires, de fatigue. Jusqu'à présent, les données scientifiques ne confirment pas l'existence d'un lien entre

cette symptomatologie et l'exposition à des champs électromagnétiques. Elle peut, au moins en partie, être attribuée au bruit et à d'autres facteurs environnementaux ou encore à l'anxiété suscitée par les nouvelles technologies (**Nikhil parsi, 2007**).

### III.4.2.Les champs électromagnétiques et le cancer

Malgré de multiples études, les données relatives à d'éventuels effets soulèvent beaucoup de controverses. Cela étant, il est clair que s'il est prouvé que les champs électromagnétiques ont un effet sur le cancer, l'accroissement correspond du risque ne peut être qu'extrêmement faible. Les résultats obtenus jusqu'ici présentent de nombreuses incohérences, mais quoi qu'il en soit, aucune augmentation importante du risque n'a été mise en évidence chez l'adulte ou l'enfant quel que soit le type de cancer.

Selon quelques études épidémiologiques, il y aurait une légère augmentation du risque de leucémie chez l'enfant en cas d'exposition aux champs électromagnétiques de basse fréquence générés dans la maison. Toutefois, les scientifiques ne sont généralement pas d'avis que ces résultats indiquent l'existence d'une relation de cause à effet entre l'exposition à ces champs et la maladie (contrairement à certains artefacts de ces études ou à des effets sans rapport avec l'exposition aux champs en question). Si l'on est parvenu à cette conclusion, c'est en partie du fait que l'expérimentation animale et les études en laboratoire ont été incapables de mettre en évidence le moindre effet reproductible à l'appui de l'hypothèse selon laquelle les champs électromagnétiques sont la cause ou agissent comme promoteurs de certains cancers. Les études de grande envergure qui sont actuellement en cours dans plusieurs pays pourraient apporter un élément de réponse à ces problèmes.

### III.4.3.hypersensibilité aux champs électromagnétiques et dépression

Certain individus font de « l'hypersensibilité » aux champs électriques ou magnétiques. Ils se demandent notamment si les douleurs, les algies, les migraines, la dépression, la léthargie, les insomnies, voire les convulsions et les crises d'épilepsie dont ils souffrent ne seraient pas dues à une exposition à des champs électromagnétiques. Il n'y a guère de preuves scientifiques en faveur de l'hypothèse d'une hypersensibilité aux champs électromagnétiques. De récentes études scandinaves montrent que les sujets humains ne réagissent pas de manière uniforme lorsqu'ils sont exposés à un champ électromagnétique dans des conditions convenablement

contrôlées. Il n'y a pas non plus de mécanisme biologique généralement accepté qui soit susceptible de rendre compte d'une telle hypersensibilité. La recherche dans ce domaine est difficile car bien d'autres réactions subjectives peuvent intervenir, indépendamment des effets directs du champ lui –même. Les travaux se poursuivent néanmoins (**Nikhil Parsi, 2007**).

### III.5. Mode d'action

### **Sur les plantes**

Les observations affirmant que les champs magnétiques peuvent produire ou altérer plusieurs phénomènes biologiques sont nombreuses. Plusieurs modèles ont été proposés pour tenter d'expliquer les mécanismes d'action en jeu. Les deux modèles important pouvant expliqués les phénomènes observés chez les plantes sont les mécanismes de radicaux libres et les mécanismes de résonances des ions en cyclotron (**Stéphanie Bourget, 2011**).

### • Mécanisme des radicaux libres

Lorsque les atomes ont un spin opposé, ils forment une paire. Les atomes présentant un nombre impair d'électrons sont des radicaux libres. Ils sont hautement réactifs et cherchent à se stabiliser en volant un électron à une nouvelle molécule, qui deviendra à son tour réactive. La chaine de réactions qui s'en suit est rapide, mais très dommageable pour la cellule. La membrane cellulaire, l'ADN et l'ARN peuvent être altérés par les radicaux libres. La formation de radicaux libres et le processus par lequel ils sont détruits une fois formées sont déterminants pour les processus de vieillissement. Les radicaux libres possèdent des propriétés magnétiques, ce qui porte à croire que les réactions chimiques les impliquant pourraient être influencées par le champ magnétique. Leur réactivité au champ magnétique est liée au spin des électrons (**Kato**, 2006).

### • Mécanisme de résonnance des ions en cyclotron

Les phénomènes de résonance de cyclotron est observable lorsqu'un champ magnétique alternatif es superposé à un champ magnétique statique (**Liboff, 2010**). Une particule chargé qui se déplace parallèlement à un champ magnétique n'est pas soumise aux forces de Lorentz. Par contre, lorsque cette particule se déplace perpendiculairement aux lignes de champ, les forces de Lorentz qui s'exercent sur elle la garde sur une trajectoire circulaire. Si l'angle entre les lignes de force et la trajectoire de la particule est plus petit que 90°, la particule

adopte une trajectoire hélicoïdale. Lorsqu'un moment magnétique est généré par le mouvement d'un électron autour du noyau, il est proportionnel au moment angulaire de l'électron. Le champ magnétique cause une torsion dans le moment angulaire de l'électron, ce qui cause une accélération du mouvement de la particule. La fréquence du champ magnétique alternatif, la densité du champ magnétique statique et la ration entre la charge de l'ion et sa masse permettent de définir la fréquence de résonance spécifique à chaque ion (**Liboff**, 1997). Plusieurs canaux membranaires ont une configuration hélicoïdale. Selon le modèle de Liboff (**Liboff**, 1985), les ions Ca2+ qui bougent de façon hélicoïdale le long des lignes de champ magnétique sont accélérés par la résonance de cyclotron générée par un champ magnétique alternatif superposé au champ géomagnétique. Ceci cause une augmentation du flux des ions Ca2+ via les canaux de calcium enlignés sur le champ géomagnétique. L'effet de résonance de cyclotron induit donc une modification de l'équilibre des réactions biochimiques.

### III.6.Effet du CEM statique sur la dénitrification biologique

Il n'y a que peu d'études qui utilisent le champ magnétique pour les processus de traitement des eaux usées, et dans la plupart d'entre eux, le champ magnétique est utilisé seulement pour la séparation des solides ou des micro-organismes de l'effluent attachés. Cependant, il existe ici une remarque importante, qui est l'activité biologique accrue par l'application du champ magnétique. Pour une raison quelconque, le champ magnétique à tendance à augmenter l'activité bactérienne, et l'effet était beaucoup plus perceptible dans les cultures hétérogènes (des eaux usées) que dans la culture pure (Yavuz et al., 2000).

Les champs magnétiques ne sont pas atténués par les membranes et parois biologiques et ils peuvent pénétrer dans les cellules et même plus profondément dans les tissus vivants. Grâce à ce mécanisme, ils peuvent influencer les voies métaboliques et les événements qui se produisent au niveau cellulaire (**Funk, Monsees et al., 2009**). Ce fait pourrait mener à la conclusion que les membranes ne peuvent pas percevoir le champ magnétique. Par contre, il a été démontré au cours des années que plusieurs des effets du champ magnétique sur les organismes vivants découlent de l'altération du flux de calcium à travers la membrane. L'explication se trouve dans les propriétés diamagnétiques des phospholipides qui composent la membrane. Ceux-ci se réorientent sous l'effet d'un champ, ce qui cause la déformation des canaux de calcium de la membrane (**Rosen, 2003**; **Galland et Pazur, 2005**) Les canaux à ions sodium sont affectés de façon moins importante par les champs magnétiques (**Rosen, 2003**).

Lukas et al (2006), ont mis en évidence que le champ magnétique a un effet létal sur les bactéries dénitrifiantes, sans aucun changement dans l'activité enzymatique.

Les bactéries *Paracoccus dénitrificans* ont été exposées à une basse fréquence de champ magnétique (10mT, 50Hz) pendant 24mn, en comparaison avec les échantillons témoins. Il a été observé que l'activité de dénitrification des cellules a diminué de manière significative après l'exposition au champ magnétique (**Lukas et al., 2006**).

# PARTIE EXPÉRIMENTALE

# Chapitre IV MATÉRIELS ET MÉTHODES

### IV. Matériels et méthodes :

### IV.1. Introduction

Ces dernières années la dynamique des travaux de recherches dans le domaine du traitement des eaux par procédés biologiques vise à réduire et à optimiser le facteur temps. Ceci passe par l'amélioration des procédés par différentes méthodes : traitements physiques (rayons X et rayons gamma, les ultrasons), traitements chimiques (utilisation de diverses sources de carbone) afin d'améliorer le rendement des systèmes microbiologiques. Notre contribution innovatrice est que ce travail se propose d'étudier la possibilité d'améliorer la dénitrification biologique par l'utilisation du champ électromagnétique statique.

Étant donné que l'efficacité de ce procédé dépend de la capacité des microorganismes (bactéries dénitrifiantes) à transformer les nitrates en azote gazeux, nous nous proposons d'utiliser les relations électromagnétiques pour stimuler la dénitrification biologique. Deux réacteurs séquentiels en batch ont été mis en place dans les mêmes conditions de fonctionnement sauf que le deuxième est placé dans un dispositif, lui permettant de fonctionner en présence d'un champ électromagnétique statique.

### IV.2. Sélection des bactéries dénitrifiantes

La sélection d'une flore bactérienne dénitrifiante a été réalisée à partir d'une boue activée prélevée au niveau de la station d'épuration de la ville d'Alger. Une quantité de boue a été mise en présence d'une alimentation riche en nitrates afin de favoriser le développement de la biomasse dénitrifiante. La sélection a été réalisée dans des conditions d'anoxie à la température du laboratoire (T= 18°C) avec des quantités suffisantes d'acétate de calcium comme source de carbone .Une agitation est nécessaire pour homogénéiser le milieu. Une fois que la consommation des nitrates est réalisée au bout d'un temps relativement court, nous estimons que les boues sont aptes à dénitrifier (figure VI.1).

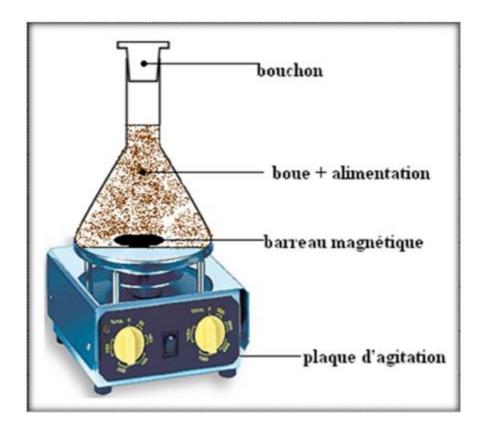


Figure IV.1 : Dispositif de la sélection des bactéries en Réacteur discontinu

### IV.3. Composition de l'alimentation en discontinu

La composition de l'alimentation en mode batch est donnée dans le tableau IV.1

**Tableau IV.1**: composition de l'alimentation en discontinu

composé	Alimentation en discontinue	
NaNO <sub>3</sub>	100mg de NO <sub>3</sub>	
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Trace	
MgSO <sub>4</sub>	Trace	
Acétate de calcium	En excès	

### IV.4. Description du dispositif expérimental :

Les expériences de dénitrification ont été réalisées dans un réacteur en batch de 300ml contenant une concentration en boue activée dénitrifiante de 0,29% soumis à une agitation mécanique en continu. Le champ magnétique a été créé par un solénoïde, alimenté par un générateur de courant continu (Matrix, model MPS-3010L-1). Le réacteur a été placé sur un support au centre de la bobine autour de laquelle sont placés deux ventilateurs afin d'éliminer

La chaleur produite par le solénoïde et permet ainsi à l'unité d'opérer à une température ambiante. Le réacteur fermé à l'atmosphère, muni d'un point de prélèvement pour la prise d'échantillon, fonctionne ainsi en absence d'oxygène.

Diverses intensités de radiations électromagnétiques (5mT, 10mT, 20mT) ont été imposées au réacteur et des prélèvements sous agitation sont effectués chaque heure (1h). La détermination de la concentration des nitrates et des nitrites a été effectuée après centrifugation à 4000 trs/min, le surnagent ainsi obtenu subira par la suite une réaction de coloration pour un dosage spectrophotométrique des nitrates et des nitrites à une longueur d'onde de 440nm et 537 nm respectivement.

L'effet de la concentration initiale en nitrates, ainsi que le type d'exposition (en continu/ alternative) ont été testés. Le dispositif expérimental est représenté sur figure IV.2.

L'intensité de l'induction magnétique (Tesla) est le fait de la conduction du courant à travers les fils du matériau conducteur (cuivre) constituant le solénoïde, cette induction peut être ajustée toute en changeant l'intensité du courant électrique (Ampère). La figure IV.3.représente l'intensité de l'induction magnétique en fonction du courant électrique (Ampère).

La mesure des intensités magnétiques fournies par le solénoïde à diverses intensités électriques a été réalisée à l'aide d'un teslamètre (Teslamater DF 3901).Les paramètres de solénoïde sont données dans le tableau IV.2

Les expériences ont été réalisés à une concentration de la source de carbone à fournir par rapport à la concentration des nitrates C/N = 6 (Martin et al., 2009).

Tableau IV.2 : paramètre de solénoïde

Diamètre	15,2 cm
Diamètre intérieur	7,5 cm
Longueur	12,7 cm
Nombre de spire	935
Diamètre de fils	2mm
Poids	1713,2 g



Figure IV.2 : Le montage expérimental

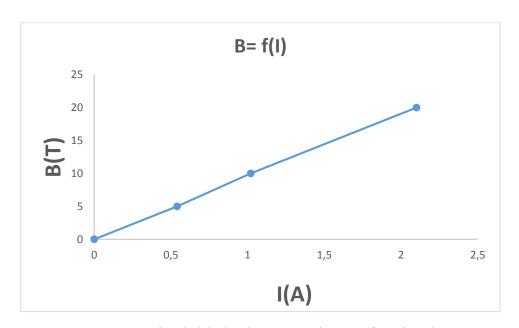


Figure IV.3: Intensité de l'induction magnétique en fonction du courant

### IV.5. Méthodes d'analyses physico-chimiques :

Les nitrates et les nitrites ont été mesurés selon les normes suivantes :

• Les nitrates : méthode au réactif sulfophénique (norme AFNOR NF 90012).

**Principe :** Afin de déterminer les nitrates, on utilise la méthode de l'acide phénol-sulfonique. Les nitrates réagissent sur l'acide phénol-sulfonique pour donner de l'acide nitrophénol – sulfonique de coloration jaune, l'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité de nitrates présentes.

• Les nitrites : méthode au réactif de diazotation (norme AFNOR NF 90013).

<u>Principe</u>: Le principe du dosage est basé sur la réaction de Griess (diazotation d'une amine primaire aromatique en présence d'un nitrite en milieu acide puis copulation avec une autre amine aromatique):

- Action du nitrite sur la sulfonimalide en milieu acide et formation d'un sel diazonium,
- Réaction du sel de diazonium sur le N-(1-Naphtyl) éthylènediamine (NED) en milieu chlorhydriques.

# Chapitre V RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

### V. Effet du champ électromagnétique statique sur la dénitrification en Batch

### V.1. Effet de l'intensité du champ magnétique sur l'activité dénitrifiante

Pour évaluer le potentiel de dénitrification avec exposition au champ électromagnétique statique, deux expériences en parallèle ont été conduite: la première a été réalisée dans un réacteur en batch soumis aux **CEM**, et la deuxième dans un réacteur conventionnel sans exposition aux **CEM** et servant de témoin. Les deux bioréacteurs ont opérés dans les mêmes conditions.

Le champ électromagnétique a tendance à augmenter l'activité bactérienne et la croissance. Il peut influencer les voies métaboliques et les évènements qui se produisent au niveau cellulaire (**Dini et al., 2011** et **Yalan Ji et al.,2010**).

L'exposition continue d'une boue dénitrifiante à diverses intensités du champ électromagnétique montre qu'une intensité de 5mT influence positivement l'activité dénitrifiante avec une amélioration de la vitesse de réduction des nitrates par rapport au témoin (figure V.1). L'analyse des diverses cinétiques réalisées à différentes intensités de champ électromagnétique permet de constater que l'activité enzymatique des microorganismes dénitrifiants a été stimulé grâce à l'énergie apportée par les ondes électromagnétiques. En effet cette stimulation diminue avec l'augmentation de l'intensité magnétique ce qui peut être expliqué par le fait qu'un apport important d'énergie perturbe l'équilibre enzymatique et a donc un effet inhibiteur.

La figure V.2 montre clairement qu'une exposition de l'unité de dénitrification à un champ électromagnétique de 5 mT permet de réduire la durée de traitement de 10h à 5h soit une amélioration de temps de traitement de 50%.

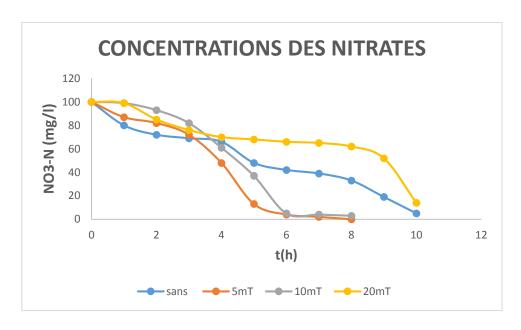
Quand l'intensité de l'induction magnétique atteint la valeur 20mT, le temps d'élimination des nitrates s'est vu augmenter jusqu'à atteint 11h, ceci peut être attribué à la sur-stimulation des cellules exposées aux champs électromagnétiques à des hautes intensités induisant des dégâts cellulaires, des pertes en biomasse et une désactivation des enzymes intracellulaires qui se traduit par une suraccumulation des nitrites qui persistent suite à une inhibition de la nitrite réductase affectant ainsi la croissance des cellules et le chemin métabolique du substrat (**Bidlas et al.,2008**; **Mellefont et al.,2008**).

L'analyse de la figure (V.3) illustrant l'évolution de la concentration des nitrites à diverses intensités de l'induction magnétiques montre clairement que la réduction des nitrites via l'enzyme nitrite réductase a été amélioré suite à l'exposition aux ondes électromagnétiques, l'activité enzymatique a donc été stimulé par un apport d'énergie et la vitesse de transformation des nitrites a été accéléré .Les nitrites ont tendance à disparaitre rapidement dans le milieu réactionnel exposé au champ électromagnétique contrairement à l'unité témoin ou les nitrites s'accumulent fortement .

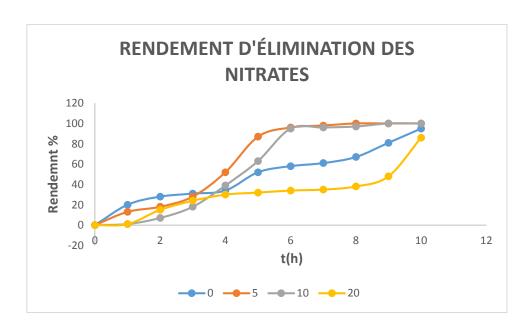
Les résultats obtenus concordent avec ceux trouvés par **Filipic et al.** (2012) qui, ont montrés que l'activité enzymatique des deux bactéries majoritaires des boues des stations d'épurations (à savoir *E.Coli, Pseudomonas putida*) est influencée positivement par un champ magnétique statique (5,17 et 50 mT), alors qu'une inhibition de la croissance a été observée avec un pic très prononcé à la température optimale de la croissance (37 et 28°C respectivement).

**Lebkowska et al. (2011)** rapportent qu'une exposition d'une boue activée à un champ magnétique statique de 7mT a un effet positif sur la croissance de la biomasse et sur l'activité enzymatique d'une boue activée. L'influence du champ magnétique sur le processus de dégradation du formaldéhyde a été observée pour des concentrations de 2400 – 2800 mg/l, avec une amélioration du rendement de biodégradation et de l'abattement de la DCO de 30% et 26% respectivement par rapport au témoin.

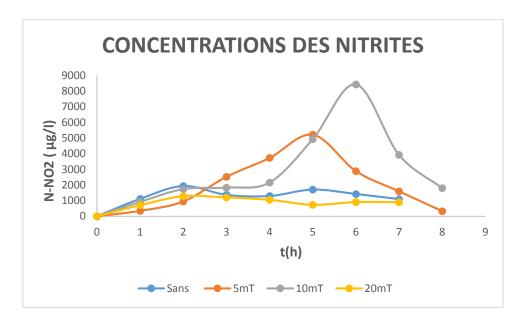
L'investigation de l'effet d'un champ magnétique d'une induction de 40mT sur l'élimination des composés organiques a été présentée par **Tomska et Wolny** (2008). Les résultats obtenus montrent que l'abattement de la DCO dans l'unité de boue activée exposée à un champ magnétique est nettement meilleur par rapport à l'unité témoin. Également l'analyse des composés azotés de transformation montre que l'élimination des composés azotés organiques et plus essentiellement la nitrification est plus efficace avec l'unité opérant avec des aimants.



**Figure V.1** : Évolution des concentrations en nitrates en fonction du temps à différentes intensités de l'induction magnétiques



**Figure V.2** : Évolution des rendements d'élimination des nitrates en fonction du temps à différentes intensités de l'induction magnétique



**Figure V.3** : Évolution de la concentration des nitrites en fonction du temps à différentes intensités de l'induction magnétique

### V.2. influence de la concentration initiale en nitrate

La teneur en nitrates est un des paramètres limitant la dénitrification biologique, étant donné que le rapport C/N influence en grande partie la réduction des nitrates (**Martin et al., 2009**).

Afin de mettre en évidence la relation entre l'exposition aux radiations magnétiques et les concentrations initiales des nitrates trois unités de dénitrification ont été mise en fonctionnement dans les mêmes conditions opératoires à une induction magnétique de 5mT et des concentrations en nitrates de 50, 100,150 mg/l respectivement.

Les résultats obtenus (figure V.4) montrent que le champ électromagnétique affecte de manière similaire la dénitrification biologique par amélioration de la vitesse de réduction des nitrates et une stimulation des enzymes responsables quelques soit la concentration initiale en nitrate.

Le suivi de l'évolution des nitrites confirme également cet effet. Les nitrites sont rapidement transformés en azote gazeux sauf pour la concentration initiale de 150mg/, les nitrates sont rapidement transformés en nitrites à des fortes concentrations s'accumulant ainsi dans le milieu réactionnel en provoquant une toxicité chez les microorganismes dénitrifiants malgré l'effet stimulant des radiations électromagnétiques (figure V.5).

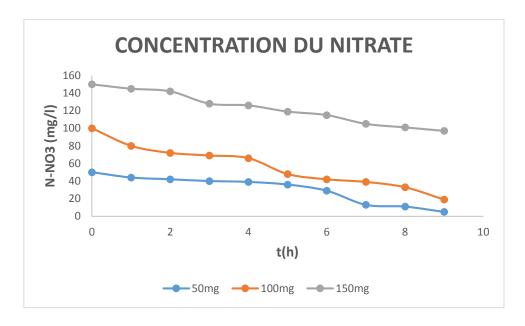


Figure V.4 : Influence de la concentration initiale des nitrates sur la dénitrification

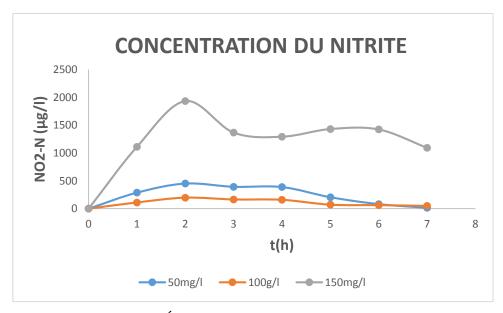
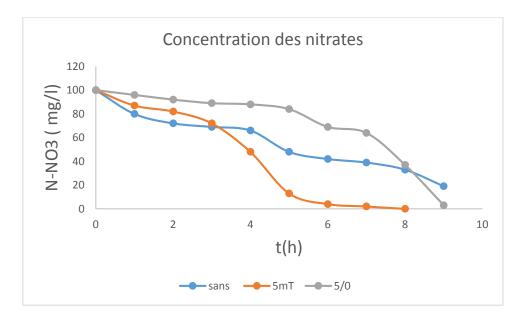


Figure V.5 : Évolution de la concentration des nitrites

### V.3. Effet de temps d'exposition aux radiations électromagnétiques

Dans le but d'étudier le comportement des microorganismes dénitrifiants vis-à-vis du mode d'application des radiations électromagnétiques, trois unités de dénitrification en batch ont été mise en fonctionnement. La première unité opère à une exposition continue aux champs électromagnétiques alors que la deuxième fonctionne avec un temps d'exposition d'une heure suivi d'un temps de repos également d'une heure. La troisième étant une unité témoin. Les trois unités opèrent dans les mêmes conditions opératoires. Les résultats obtenus (Figure V.6) montrent qu'une exposition en continue améliore l'activité dénitrifiante par stimulation des

enzymes responsables alors qu'une exposition alternée (temps d'exposition suivi d'un temps de repos) inhibe l'activité dénitrifiante qui peut être dû a une perturbation de l'action enzymatique des enzymes impliquées dans le processus de dénitrification.



**Figure V.6** : Évolution des concentrations en nitrates en fonction du temps à courant continu et discontinu.

# CONCLUSION GÉNÉRALE

### **CONCLUSION**

### **CONCLUSION**

Les nitrates sont des nutriments pour les végétaux. L'utilisation d'engrais azotés (élément constitutif des nitrates) inadaptés aux conditions locales et l'exploitation inappropriée des sols provoquent des concentrations excessives de nitrates dans les eaux.

La pollution des eaux par les nitrates présente un double risque. Ingérés en trop grande quantité, les nitrates ont des effets toxiques sur la santé humaine. Par ailleurs, ils contribuent avec les phosphates à modifier l'équilibre biologique des milieux aquatiques en provoquant des phénomènes d'eutrophisation.

L'objectif de ce travail était d'étudier l'effet du champ électromagnétique sur la dénitrification biologique.

Dans un premier temps, nous avons sélectionné la biomasse dénitrifiante à partir d'une boue activée afin de le mettre dans le milieu réactionnel.

Dans un second temps, nous avons démarré le processus et établi le profil des concentrations des paramètres significatifs de la dénitrification tels les nitrates et nitrites le long de notre réacteur, et déterminé l'influence de l'intensité de l'induction magnétique sur la dénitrification, les résultats obtenus se résument comme suit :

- Les faibles intensités de l'induction magnétique stimulent l'activité dénitrifiante, alors que les intensités avoisinant de 20 mT ont un effet inverse (inhibition).
- Une exposition à un champ magnétique de 5mT permet de réduire le temps nécessaire pour une dénitrification compète (100mg/l) de 5 heures (50%).
- La concentration initiale en nitrate n'a pas d'influence sur l'activité d'une boue dénitrifiante exposée à un champ électromagnétique.
- L'exposition continue permet d'améliorer le rendement épuratoire de l'activité enzymatique alors qu'une exposition altérée perturbe l'activité dénitrifiante.

# RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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

Baali .F., Rouabhia. A., Kherici .A., Djabri .L., Bouchaou. L., Hani .A. (2007). Qualité des eaux souterraines et risqué de pollution en milieu semi-aride. Cas de la cuvette de Chéria (NE Algérien). Estudios Geologicos, 63(2) julio-diciembre 2007, pp 127-133.

**BBEMG.** (2010). "Notions de base" Retrieved 03-03, 2010, from http://www.bbemg.ulg.ac.be/ **Betlach, M.R et Tiedje, J.M**. (1981). Kinetic explanation for accumulation of nitrite, nitric oxide and nitrous oxide during bactérial denitrification. Applied and Environmental Microbiology. 42(6). pp 1074-1084.

**Bidlas. E., Du T., Lambert RJW**. (2008). An explanation for the effect of inocolum size on MIC and the growth/ no growth interface J food Microbiol, 126: 140-52.

**Blank, M.** (1995). "Biological effects of environmental electromagnetic fields: molecular mechanisms." Biosystems **35**(2-3): 175-178

**Boeglin J.** (2007). Traitements biologiques des eaux résiduaires, Technique de l'ingénieur 2007, vol. G3, n°G6250.

Boquillet C., Lany Y. You M. (2007). Le nitrate et traitement des eaux. U.C.O. Bretagne nord.

**BorDjiba O., Bekhouche F., Hassine A., et Djenidi R**. **(2009)**. Impact de la pollution par les hydrocarbures sur la qualité des eaux usées dans la région de Skikda (Nord-Est Algérien). European Journal of Scientific Research ISSN 1450-216X Vol.26 No.1 (2009).pp 87-97.

**Boucher RM.** Seeded gas plasma sterilization method. US Patent 4 207 286. 1980.

**Bougherara H., 2010**, "La denitrification par l'utilisation d'une culture mixte", mémoire de doctorat, Département de chimie, Université Mentouri Constantine, Algérie.

**Boukabcha M., 2010**. « Étude des effets des radiations sur les systèmes vivants », mémoire de magister, Département de physique, université d'Oran.

**Bowman, R.A.,et Focht, D.D.** (1974). The influence of glucose and nitrate concentrations upon denitrification rates in sandy soils. Soil Biology and Biochemistry. 6. pp 279-301.

**Bryan L.E., Nicas T., Holloway B.W, and Crowther C**. (**1981**). Aminoglycoside-Resistant Mutation of Pseudomonas aeruginosa Defective in Cytochrome c<sub>552</sub> and Nitrate Reductase. Antimicrobial agents and chemotherapy, Jan. 1981, p.71-79.

Buchanan R.E. (1918). Life phases in a bacterial culture. J.Infect. Dis 98, 1271-1273.

Camps-Raga, B., S. Gyawalli, et al. (2009). « Germination Rate Studies of Soybean under Static and Low-Frequency Magnetic Fields. » IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation 16(5):1317-1321.

Carbonell, M.V., E. Martinez, et al.(2000). "Stimulation of germination in rice (Oryza sativa L.) By a static magnetic." Electro- and Magnetobiology 19(1): 121-128.

Cavigelli M.A. & Robertson G.P. (2001). Role of denitrifier diversity in rates of nitrous oxide consumption in a terrestrial ecosystem. Soil Biology and Biochemistry, 33.pp 297-300.

**Chabour N**. (2004). La surexploitation des eaux souterraines dans les plaines littoeales : nappe de Telezza dans la région de Collo (Nord-Est-Algérien). Science & technologie B-N°22. Décembre 2004.pp 127-132.

**Davidsson, T.E. et Leonardson, L.G. (1996**). Effects of nitrate and organic carbon additions on denitrification in two artificially flooded soils. Ecological Engineering. 7 (2). pp 139-149.

**De Souza, A., D. Garcia, et al. (2006)**. «Pre-sowing magnetic treatments of tomato seeds increase the growth and yield of plants. » Bioelectromagnetics 27 (24): 247-257.

**De Souza, A., L.Sueiro, et al. (2008).** « Improvement of the growth and yield of lettuce plants by non-uniforme magnetic fields." Electromagnetic biology and Medecine 27(2):173-184.

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

**Dini L., Abbro L., 2005**. Bioeffects of moderate –intensity static magnetic fields on cell cultures. Micron 26:195-217.

**Enwall K., Philipport L., Hallin S.** (2005). Activity and composition of the denitrifying bacterial community respond differently to long-term fertilization. Applied and Environmental Microbiology 71: pp 8335-8343.

**Fédération nationale des centres de lutte contre le cancer (FNCLCC)**. Le dictionnaire des cancers de A à Z. Définition des nitrates, mise à jour du 20 déc. 2005,1p.

**Filipic J., Kraigher B., Tepus B., Kokol V., Mandic-Mulec I**. (2012). Effects of low-density static magnetic fields on the growth and activities of wastewater bacteria Escherichia coli and Pseudomonas putida. Bioresource Technology 120, 225-232.

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

**Funk, R.H.W.T.Monsees, et al. (2009)**. "Electromagnetic effect- From cell biology to medicine." Progress in Histochemistry and Cytochemistry 43(4):177-264.

**Galland, P.and A. Pazur (2005)**. "Magnetoreception in plants" Journal of Plant Research 118(6):371-389.

Gee C.S, Kim J.S.(2004). Nitrite accumulation followed by denitrification using sequencing batch reactor. Wat.Sci. Tech 49(6), 47-55.

**Hamaidi M.S.Hamaidi F., Zoubiri A., Bouaklil F. et Dhan Y**. **(2009)**. Etude de la dynamique des Populations Phytoplanctonique et Résultats Préliminaires sur les Blooms Toxiques à Cyanobactéries dans le Barrage de Ghrib (Ain Defla- Algérie). European Journal of Scientific Research ISSN 1450-216X Vol. 32 No. 3(2009). pp 369-380.

**Hunt R W., Zavalin A., Bhatnagar A., Chinnassamy S., Das K C.,2009**. "Electromagnetic Biostimulation of living Cultures for Biotechnology, Biofuel and Bioenergy Applications" Int.J.Mol.Sci,10,4515-4558.

**JACQUES magné rose- Marie MAGNE –MARTY.** « Biophysique physico-chimie/ physique P.C.E.M. », ISBN 2-7298-9140-4, EDITION MARKETING, COPYRIGHT, Paris(1991).

**Jean-Louis, Besdevant, James Rick et Michel spiro** : « Énergie nucléaire », Éditions de l'école Polytechnique, cedex, France, Janvier (2002).

Ji Y., Wang Y., Sun J., Yan T., Li J., Zhao T., Yin X., Sun C (2010). "Enhancement of biological treatment of wastewater by magnetic field". Bioresource Technology 101:8535-8540.

KATO masamichi. « Electromagnetics in Biology », Springer.

Kevin McKague, Keith Reid & Hugh Simpson. (2005). Répercussions environnementales de l'utilisation d'azote en agriculture, fiche technique du ministère de l'agriculture, de l'alimentation et des affaires rurales, Canada.

**Knowles R.** (1982). Denitrification, Dissimilatory Reduction of Nitrate to Ammonium, and Nitrification in a Bioturbated Estuarine Sediments as Measured with <sup>15</sup>N and Microsensor Denitrification. Microbiol Techniques Rev., 46.pp 43-70.

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

**Lebkowska M. Rutkowska A.N, Pajor E. (2013)**. Effect of a static magnetic field of 7Mt on formaldehyde biodegradation in industrial wastewater from urea-formaldehyde resin production by activated sludge. Bioresource Technology 131, 78-83.

**Liboff, A.R.** (1985)." Geomagnetic cyclotron resonance in living cells." Journal Biological Physics 13(4): 99-102.

**Liboff, A.R.** (1997)." Electric-field ion cyclotron resonance." Bioelectromagnetics 18(1):85-87.

**Liboff, A.R.** (2010)." A Role for the Geomagnetic Field in Cell Regulation." Electromagnetic Biology and Medicine 29(3):105-12.

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

Louzeiro N.R, Mavinic D.S., Oldham W.K., Meison A. and Garder I.S. (2002). Methanol – inducced biological nutrient removal kinetics in a full-scale sequencing batch reactor. Water Research. 2002; 36 (11). Pp 2721-2732.

**Lukas Fojt, Ludek Strasak, Vladimir Vetterl, 2006.** « Effect fields on the denitrification activity of Paracoccus denitrificans .Bioelectrochemistry 70(2007) 91-95.

**Mariotti A. (1986).** La dénitrification dans les eaux souterraines, principes et méthodes de son identification : une revue. Journal of Hydrology.88:1-23.

**Markov, M. S. (2007).** "Magnetic field therapy: Areview. Electromagnétic Biology and Medicine 26(1):1-23.

Martin D. Salminen J.M., Niemi R.M., Heiskanen I.M., Valve M.J., Hellsten P.P, Nysten T.H. (2009). Acetate and ethanol as potential enhancers of low temperature denitrification in soil contaminated by fur farms: A pilot –scale study.

Martin G. (1979). Le problème de l'azote dans les eaux. Tech & Doc, Lavoisier Paris, France. Mellafont LA, Mc Meekin TA, Ross T. (2008). Effect of relative inoculum concentration on Listeria monocttogenes growth in co-culture. Int J Food Microbiol 121:157-68.

**Michael H.Gerardi**. (2002). Wastewater Microbiology "Nitrification and Denitrification in the activated sludge".

**Miquel G., Revol H., Birraux C**., offre parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. La qualité de l'eau et de l'assainissement en France.

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

MOISAN M, BARBEAU J, MOREAU S, PELLETIER J, TABRIZIAN M, YAHIA LH. Low-temperature sterilization using gaz plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms. *Internal Journal of Pharmaceutic*, 2001, **226**, 1-21.

**Nakajima M., Hayamizu, T. et Nishimura H**. (1984). Effect of oxygen concentration on the rates of denitrification and denitrification in the sediments of an eutrophic lake. Water Research.18.pp 335-338.

**Nakamura, K., Okuno, K., Ano, T., Shodo, M., 1997**. Effect of high magnetic field on the growth of Bacillus subtilis measured in a newly developed superconducting magnet biosystem. Bioelectroch. Bioener. 43,123-128.

Nicolas Micallef, Steven Vallée, Maxime Woringer. (2008). Effet des ondes électromagnétiques sur le vivant. Culture libre, sciences ouvertes.

**Nikhil Parsi, 2007**. « Electromagnetic Effects on Soybeans ». University of Missouri-Columbia, 2007.

**Portejoie S, Martinez J, Landmann G**. (2002) :L'ammoniac d'origine agricole: impact sur la santé humaine et animale et sur le milieu naturel. INRA Prod.Anim, 15,151-160.

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

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

**Reina, F.G. and L.A.Pascual (2001)**. "Influence of a stationary magnetic field on water relations in lettuce seeds. Part I: Theoretical considerations." Bioelectromagnetics 22(8):589-595.

**Reina**, **F.G.**, **L.A. Pascual**, **et al. (2001)**. « Influence of a stationary magnetic field on water relations in lettuce seeds. Part II: Experimental results." Bioelectromagnetics 22(8):596-602.

**Rosen, A. (2003).** "Mechanism of action moderate-intensity static magnetic fields on biological systems." Cell Biochemistry and Biophysics 39(2): 163-173.

**Santé Canada** (**1992**) Le nitrate et le nitrite. Recommandation pour la qualité de l'eau potable au Canada. Documentation à l'appui, Accessible à <u>www.hesc.gc.ca</u>.

Salem Z., (2007). Lebik H., Cherafa W.K & Allia K. Volarisation of olive pits using denitrification. Desalination 204 (2007). pp 72-78.

**Skrind J.R, Bhagat S.K** (1982). Industrial wastes as carbon sources in biological denitrification. Journal of the Water Pollution Control Federations. 54(4): pp 370-377.

**Smid A.E. et Beauchamp E.G. (1976)**. Effects of temperature and organic matter on denitrification in soil. Canadien Journal of Soil Science. 56. pp 385-391.

Testud F. Engrais minéraux. EMC Toxicologie Pathologie. 2004, p21-28.

**Trevor J.T. (1985).** The influence of oxygen concentrations on denitrification in soils. Applied Microbiology and Biotechnology.23.pp 152-155.

**Tomsko,A., Wolny,L., 2008**. Enhancement of biological wastewater treatment by magnetic field exposure. Desalination 222,368-373.

**Vashisth, A.and S.Nagarajan** (2008)." Exposure of seeds to static magnetic field enhances germination and growth caracteristics in chickpea (Cicer arietinum L.)." Bioelectromagnetics 29(7):571-578.

**Vilaginès R**. Eau, Environnement et santé publique. Introduction à l'hydrologie. Editions Tec & Doc, 2003, 2<sup>ème</sup> éd., 109p.

Walenstein M.D., Myrold D.D., Firestone M.K., Voytek M.A. (2006). Environmental controls on denitrifying communities and denitrification rates: insights from molecular methods. Ecological Applications 16:2143-2152.

Yavuz,H., Celeri, S.S., 2000. Effect of magnetic field on activity sludge in wastewater treatment. Enzyme Micro. Technol. 26, 22-27.

**Y.-S. Kim, K .Nakano, T-J. Lee, S. Kanchanatawee and M. Matsumura**, on-site nitrate removal of groundwater by an immobilized psychrophilic denitrifier using soluble starch as a carbon source. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2002.93(3):p.303-308;

Zmirou D., Bard D., Dab W. et al. Quels risques pour notre santé! Syros, 2000, 333p.



## **ANNEXES**

## Dosage des nitrates et des nitrites

Le dosage des ions nitrates et nitrites se fait par colorimétrie dans le visible.

I. Dosage des nitrates : méthode au réactif SULFOPHINIQUE (Norme AFNOR NFT 102)

#### Réactifs:

- Acide sulfurique (36N)
- Ammoniac
- Phénol

## Préparation du réactif sulfophénique :

Dissoudre 12g de phénol dans 144ml d'acide sulfurique dans un bain-marie

### Appareillage:

- Photomètre UV-visible
- Cellule de dosage

## Mode opératoire :

- Prendre 5ml de l'échantillon à analyser. Le faire évaporer à sec.
- Laisser refroidir et ajouter 2ml de réactif sulfophénique.
- Attendre 10 minutes, puis ajouter 15 ml d'eau déminéralisée et 10 à 15ml d'ammoniac qui développe la couleur jaune.
- Compléter à 50 ml avec de l'eau déminéralisée.
- Effectuer la lecture sur le photomètre à  $\lambda = 440$ nm.
- La teneur en nitrate est déduire du graphe d'étalonnage. Figure 1

## **ANNEXES**

# II. Dosage des nitrites : méthode au réactif de DIAZOTATION (Norme AFNOR NFT 90 013)

### Réactifs:

- Acide orthophosphorique concentré H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>
- Sulfanilamide C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>N<sub>2</sub>S
- Dichlorure de N-(1-naphtyl) éthylène diamine C<sub>10</sub>H-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.2HCL
- Nitrite de potassium NaNO<sub>2</sub> en poudre

### Préparation du réactif de diazotation :

- Introduire dans une fiole de 250ml, contenant 150ml d'eau distillée, 25ml d'acide orthophosphorique concentré.
- Ajouter 10g de Sulfanilamide.
- Ajouter, après dissolution, 0.5 g de dichlorure de N-(1-naphtyl) éthylène diamine.
- 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 :

- Introduire dans une fiole jaugée de 50ml d'échantillon à analyser.
- Ajouter 1ml de réactif de diazotation.
- Agiter et attendre 10 minutes pour le développement de la couleur.
- Effectuer un essai à blanc en remplaçant l'échantillon à analyser par de l'eau distillée.
- Effectuer la lecture sur le spectrophotomètre à la longueur d'onde  $\lambda = 537$  nm.
- La teneur en nitrite est déduite du graphe d'étalonnage. Figure2

# **ANNEXES**

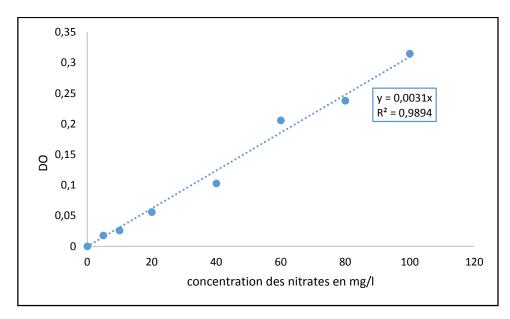


Figure 1 : courbe d'étalonnage des nitrates

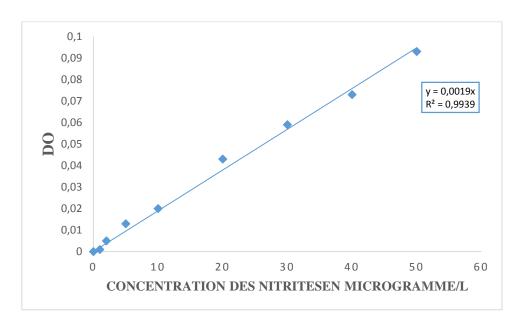


Figure 2 : courbe d'étalonnage des nitrites

## ملخص

في هده الدراسة ,تم تطبيق العلاج بالاشعاع الكهرومغناطيسي على بكتيريا منشطة نازعة النترات في مفاعل حيوي لاجل تحفيز الانزيمات المطبقة في هده العملية و بالتالي تقليل وقت المعالجة.

اظهر التعرض المستمر للكتلة الحيوية نازعة النترات لمختلف الحث,انه عندما يكون الحث عند 5 ميليتسلا فانه يؤثر ايجابيا على عملية نزع النترات من خلال تسريع معدل الحد من النترات في حين عند 20 ميليتسلا فان له تاثير سلبي . اظهرت دراسة عمل القيم المختلفة للحث المغناطيسي مع تركيزات مختلفة للنترات ان فعالية هدا النوع من العلاج لا يعتمد عل تركيز النترات و ان له نفس التاثير مع هده التركيزات المختلفة

اظهرت المقارنة بين وحدتين من وحدات نزع النترات حيث واحدة تعرضت لحث مغناطيسي يساوي 5 ميليتسلا في حين الاخرى تعرضت لنفس الحث و لكن بالتناوب (ساعة من العلاج و ساعة من الراحة) ان التعرض المستمر يحفز نشاط نازع النترات في حين التعرض بالتناوب يبطء من الحث من النترات و يسبب خلل في الانزيمات المسؤولة كلمات مفتاحية النترات نازع النترات بكتيريا منشطة الحقل الكهر ومغناطيسي انزيم

#### <u>Résumé</u>

Dans la présente étude, un traitement avec des radiations électromagnétiques a été appliqué sur une boue activée dénitrifiante dans un réacteur séquentiel en batch dans le but d'accélérer la vitesse de la réduction des nitrates par une stimulation des enzymes impliquées dans ce processus, et par conséquent réduire le temps de traitement. L'exposition en continue de la biomasse dénitrifiante à diverses inductions magnétiques a montré que les faibles inductions de l'ordre de 5 mT influencent positivement le processus de dénitrification par une accélération de la vitesse de réduction des nitrates, alors que les intensités avoisinant les 20mT ont un effet inverse. L'étude de l'action d'une faible induction magnétique (5mT) à diverses concentrations en nitrates a montré que l'efficacité de ce type de traitement est indépendante de la concentration, ainsi l'activité enzymatique est stimulée de manière identique. Une comparaison entre deux unités de biodénitrification l'une exposée à une induction électromagnétique de 5mT en continue et une autre exposé également à la même induction de façon alternée (une heure de traitement/ une heure de repos) a montré que l'exposition en continue stimule l'activité dénitrifiante alors que l'exposition alternée d'un temps de repos ralentie la réduction des nitrates par une perturbation des enzymes impliqués.

Mots clés: nitrate, dénitrification, boue activée, champ électromagnétique, stimulation, enzyme.

#### **Abstract:**

In this study, treatment with electromagnetic radiation was applied to an activated sludge denitrifying in sequential batch reactor in order to accelerate the rate of nitrate reduction by stimulating enzymes applied in this process, and therefore reduce the processing time. The continuous exposure in the denitrifying biomass to various magnetic inductions showed that weak inductions of about 5mT positively influence the denitrification process by accelerating the rate of reduction of nitrate, whereas the intensities around 20mT have an opposite effect. The study of the action of low magnetic induction (5mT) with various concentrations of nitrates showed that the effectiveness of this type of treatment is not dependent on the concentration and enzyme activity is stimulated in the same way. A comparison between two biodenitrification nits to 5mT exposed to electromagnetic induction of another continuous and also exposed to the same induction alterning manner (one hour of treatment/ one hour of rest) showed that continuous exposure stimulates denitrifying activity while alternating exposure of a rest period slowed the reduction of nitrates by a disturbance of the enzymes involved.

Keywords: nitrate, denitrification, activated sludge, electromagnetic field, stimulation, enzyme.