

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



Ecole Nationale Polytechnique
Département de Génie de l'Environnement
Laboratoire des biotechnologies environnementales
et génie des procédés



Thèse de Doctorat
en Génie de l'Environnement
Option : Biotechnologie

Présenté par :

CHEIKH Assira

Magister en génie de l'environnement de l'ENP

Thème

**Dénitrification des eaux potables par
un processus hybride combinant
l'électrodialyse à une colonne à
biomasse fixée**

Soutenu devant le jury composé de :

Président :	Mr. AHMED ZAID Toudert	Professeur	ENP
Rapporteurs :	Mr. MAMERI Nabil	Professeur	ENP
	Mme. ABDI HAIDER Nadia	Professeur	ENP
Examineurs :	Mr. BELLAL Mouloud	Professeur	INA
	Mr. BAKOUR Rabah	Professeur	USTHB
	Mr. AKRETCHÉ Djamel Eddine	Professeur	USTHB
Invité :	Mr. ABDELLAOUI Aissa	Ministre	Ministère des ressources en eau (2000)
	Mr. Grib Hocine	Professeur	ENP

ENP 2014

Remerciements

Ce présent travail a été réalisé au niveau de l'Unité de Recherche Ingénierie et Environnement (URIE) anciennement BIOGEP, de l'Ecole Nationale Polytechnique sous la direction de Monsieur le Professeur N. MAMERI et Madame le Professeur N. ABDI.

Il m'est agréable de leur exprimer ici le témoignage de ma profonde gratitude pour leur aide, leur attention et l'intérêt qu'ils ont accordé à ce travail. Les années de thèse passées avec eux ont représentées pour moi une expérience précieuse. Ce fut un honneur de travailler sous leur direction, qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance.

Je remercie Monsieur T. AHMED-ZAID, professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance.

Mes remerciement s'adressent également à Monsieur M. BELLAL, Professeur à l'INA, Monsieur R. BAKOUR, Professeur à l'USTHB et Monsieur D. AKRETCHE, professeur également à l'USTHB pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu accorder à mon travail en me faisant l'honneur d'accepter de faire partie du jury.

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à Monsieur A. ABDELLAOUI, pour avoir accepté mon invitation de participer à ce jury.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance à Monsieur H. GRIB, professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique, pour toute l'aide qu'il m'a fournie pendant la réalisation de ce travail et toute la patience dont il a fait preuve à mon égard.

Je veux également exprimer toute ma gratitude au Professeur H. LOUNICI pour son soutien, son aide très précieuse, ses encouragements constants et sa disponibilité.

J'exprime aussi toute ma gratitude à ma famille: mon père et ma mère ainsi que mon frère, mes sœurs et mon beau frère pour leur aide si précieuse au cours de l'élaboration de ce travail.

Mes remerciements vont également à Mr Labadi Redouane, Technicien au laboratoire de pédologie à l'INA et à Mr Allalou Abderrahmane (Ami Allalou) chef du laboratoire à l'entreprise du verre SOMIVER pour tous les produits et verreries mis à ma disposition.

Je remercie également Mme BOUAAM Hamida, notre secrétaire au département génie de l'Environnement pour sa gentillesse et son aide sur le plan administratif.

Une pensée très chaleureuse accompagne tous les chercheurs et les thésards du département.

Que tous mes collègues et amis trouvent ici l'expression de ma profonde sympathie pour leur présence et leur soutien moral et surtout pour l'ambiance du laboratoire.

Liste des figures

Figure n°II.1 :	Principe de fonctionnement d'un électrodialyseur	17
Figure n°II.2 :	Structure de la membrane anionique.	18
Figure n°II.3 :	Structure de la membrane cationique.	19
Figure n°II.4:	Principe de fonctionnement d'une MEC	20
Figure n°II.5 :	Propriétés des membranes échangeuses d'ions	21
Figure n°II.6 :	Vue éclatée d'une membrane bipolaire (MBP), constituée d'une couche échangeuse de cations (CEC), d'une couche échangeuse d'anions (CEA) et d'une interface entre ces deux couches (Jonction)	23
Figure n° II.7 :	Profil des concentrations en électrodialyse.	25
Figure n°II.8 :	Evolution de l'intensité I en fonction de la tension appliquée U aux bornes de l'empilement	27
Figure n°II.9:	Détermination expérimentale de la valeur de I_{lim} .	27
Figure n°II.10:	Principales applications de l'électrodialyse	30
Figure n°III.1 :	Les voies de réduction du nitrate	33
Figure n°III.2 :	Gains d'électrons et degré d'oxydation des différents éléments azotés au cours des différentes étapes de la dénitrification.	34
Figure n°III.3:	Différentes voies de réduction des nitrates.	37
Figure n°III.4 :	Les différentes étapes de formation d'un biofilm	47
Figure n°IV.1 :	Pilote d'électrodialyse	55
Figure n°IV.2 :	Vue éclatée du pilote de laboratoire P1	57
Figure n°IV.3 :	Schéma d'une cellule du module d'électrodialyse P1.	58
Figure n°IV.4 :	Schéma de la sélection des bactéries dénitrifiantes en réacteur semi-continu	60
Figure n°IV.5 :	Schéma de la culture en continu	61
Figure n°IV.6 :	Schéma de la colonne biologique	66
Figure n°IV.7 :	Schéma de couplage Electrolyse - colonne biologique	68
Figure n°V.1 :	Courbe Intensité- tension	72
Figure n°V.2 :	Détermination du courant limite	72
Figure n° V.3 :	Evolution de la concentration en ions nitrates dans le diluât	73
Figure n°V.4:	Evolution de la concentration en ions nitrates dans le concentrât.	73

Figure n°V.5 :	Bilan de masse pour les différentes intensités de courant (a) 20 mA ; (b) 50 mA ; (c) 100mA	75
Figure n°V.6:	Evolution des rendements faradiques de dénitrification dans le compartiment diluât	76
Figure n°V.7 :	Evolution de la teneur en nitrates dans le diluât en présence des différentes concentrations en chlorures	77
Figure n°V.8 :	Evolution de la fuite des chlorures dans le diluât en fonction du temps	77
Figure n°V.9 :	Evolution de la teneur en nitrates dans le concentrât en présence des différentes concentrations en chlorures	78
Figure n°V.10 :	Evolution de la teneur en chlorures dans le concentrât en fonction du temps	78
Figure n°V.11 :	Rendement faradiques des nitrates en présence des différents teneurs en chlorures. (a) diluât ; (b) concentrât.	79
Figure n°V.12:	Evolution de la concentration des ions nitrates dans le diluât en présence des sulfates	80
Figure n°V.13 :	Suivi de la fuite des sulfates du compartiment diluât	80
Figure n°V.14 :	Evolution du rendement d'extraction des différents anions dans le compartiment diluât pour $[\text{SO}_4^{2-}] = 0$ et 200 mg/L	81
Figure n°V.15 :	Evolution du rendement d'extraction des différents anions dans le compartiment diluât pour $[\text{SO}_4^{2-}] = 0$ et 400 mg/L	81
Figure n°V.16 :	Evolution de la teneur en nitrates et sulfates dans le concentrât.	82
Figure n°V.17 :	Bilan de masse pour les nitrates et sulfates dans le concentrât	82
Figure n°V.18:	Evolution de la concentration des ions chlorures et sulfates dans le diluât.	85
Figure n°V.19 :	Observation de la surface des supports au MEB.	86
Figure n°V.20 :	Analyse de la composition chimique de la surface des deux supports en céramique	87
Figure n°V.21:	Cinétiques d'adsorption des ions nitrates sur le charbon actif	89
Figure n°V.22:	Variation de la concentration des nitrates, nitrites et DCO en fonction de la hauteur dans la colonne de charbon actif	91
Figure n°V.23:	Variation de la concentration des nitrates, nitrites et DCO en fonction de la hauteur dans la colonne remplie du support poreux.	92
Figure n°V.24:	Variation de la concentration des nitrates, nitrites et DCO en fonction de la hauteur dans la colonne remplie du support non poreux	93

Figure n°V.25 :	Rendement de l'élimination de la DCO en fonction de la vitesse de passage dans les trois colonnes.	96
Figure n°V.26 :	Evolution des ions nitrates dans le compartiment diluât et à la sortie de la colonne.	98
Figure n°V.27:	Evolution de la concentration des ions nitrates et nitrites	98
Figure n°V.28 :	Cinétique de dénitrification pour les différentes concentrations initiales en nitrates	102
Figure n°V.29 :	Evolution du temps de biodégradation en fonction des concentrations initiales en nitrates	102
Figure n°V.30:	Cinétique de dénitrification à différentes concentrations en méthanol	104
Figure n°V.31:	Evolution des nitrites pour les différentes concentrations en méthanol	104
Figure n°V.32:	Cinétiques de dégradation de la DCO pour les différentes concentrations en méthanol	104
Figure n°V.33:	Influence de la concentration en méthanol sur le taux de croissance (μ) et le rendement de dénitrification.	104
Figure n°V.34 :	Cinétique de dénitrification à différentes concentrations du phosphore	107
Figure n°V.35:	Evolution des nitrites pour les différentes concentrations en phosphore	107
Figure n°V.36:	Influence de la concentration en phosphore sur le taux de croissance (μ) et sur les différents rendements d'élimination	107
Figure n°V.37 :	Cinétique de dénitrification à différentes températures	109
Figure n°V.38 :	Influence de la température sur le taux de croissance (μ) et le rendement de dénitrification.	109
Figure n°V.39 :	Cinétique de dénitrification à différents pH	111
Figure n°V.40 :	Evolution de la concentration en nitrites à différentes valeurs de pH	111
Figure n°V.41 :	Influence du pH sur le rendement de dénitrification.	111
Figure n°V.42 :	Evolution de la concentration des nitrates en fonction du temps à différentes concentrations en ions chlorures.	113
Figure n°V.43 :	Evolution de la concentration des nitrites en fonction du temps à différentes concentrations en ions chlorures.	113
Figure n°V.44 :	Evolution des nitrates pour des concentrations en chlorures de 500, 1000 et 2000 mg/L effectués le même jour	114

Figure n°V.45 :	Evolution des nitrates pour des concentrations en chlorures de 3000 et 4000 mg/L effectués le même jour	114
Figure n°V.46 :	Evolution de la concentration des nitrates en fonction du temps à différentes concentrations en ions sulfates.	115
Figure n°V.47 :	Evolution de la concentration des nitrites en fonction du temps à différentes concentrations en ions sulfates.	115
Figure n°V.48 :	Observation par MEB des quatre supports vierges à 100µm.	117
Figure n°V.49 :	Observation par MEB des quatre supports colonisés.	118
Figure n°V.50 :	Evolution des nitrates à différentes vitesses pour les quatre supports.	119
Figure n°V.51 :	Distribution du temps de séjours pour les quatre supports : (a) supports vierges ; (b) supports colonisés	120
Figure n°V.52 :	Evolution des nitrites à différentes vitesses pour les quatre supports.	121
Figure n°V.53 :	Evolution des nitrates pour les quatre supports à différentes concentrations initiales en nitrates.	123
Figure n°V.54 :	Evolution des nitrites pour les quatre supports à différentes concentrations initiales en nitrates.	124
Figure n°V.55 :	Evolution du pH en fonction de la hauteur de la colonne $V=1\text{m/h}$, $C_0=400\text{mg/L}$.	125
Figure n°V.56 :	Evolution des nitrates le long de la colonne en présence et en absence des ions chlorures et sulfates	126
Figure n°V.57 :	Evolution des nitrites le long de la colonne en présence et en absence des ions chlorures et sulfates.	127
Figure n°V.58 :	Evolution de la concentration en ions nitrates dans le compartiment diluât pour différentes densités de courant.	128
Figure n°V.59 :	Evolution de la concentration en ions nitrates dans le compartiment concentrât pour différentes densités de courant.	128
Figure n°V.60 :	Evolution de la densité de courant en fonction du temps.	129
Figure n°V.61 :	Evolution des concentrations en nitrates en fonction des densités de courant dans le compartiment concentrât pour trois temps différents.	129
Figure n°V.62 :	Schéma représentatif du couplage en système ouvert	131
Figure n°V.63 :	Evolution de la teneur en nitrates dans les deux compartiments pour une concentration initiale de 92 mg/L de nitrates (échantillon 1).	132
Figure n°V.64 :	Evolution de la teneur en nitrates dans les deux compartiments pour une concentration initiale de 177 mg/L de nitrates (échantillon 2).	132

Liste des tableaux

Tableau n°1.1 :	Résultats d'analyse d'eau de certaines régions en Algérie.	06
Tableau n° II.1 :	Les groupements fonctionnels les plus courants.	19
Tableau n°III.1 :	Genres de bactéries de boue activée qui présentent des espèces dénitrifiantes.	36
Tableau n°III.2 :	Impacts des trois sources de carbone pour la dénitrification.	40
Tableau n°IV.1 :	Propriétés des membranes échangeuses d'ions.	56
Tableau n°IV.2 :	Matériels utilisés.	58
Tableau n°IV.3 :	Conditions opératoires des essais.	59
Tableau n°IV.4:	Composition du milieu nutritif dans le système en continu et en discontinu.	62
Tableau n°IV.5 :	Caractéristiques des trois supports plastiques.	64
Tableau n°IV.6:	Caractéristiques des supports en céramique ; anneaux de rasching poreux et non poreux.	64
Tableau n°IV.7 :	Caractéristiques du charbon actif en grain CAG.	65
Tableau n°V.1 :	Composition chimique des deux supports en céramique	87
Tableau n°V.2 :	Caractéristiques des échantillons utilisés	131

Sommaire

Remerciements	i
Listes des figures	iii
Liste des tableaux	vii

Introduction	01
---------------------	----

Partie bibliographique

Chapitre I : Les nitrates ; généralités et traitements

I.1. Les nitrates	04
I.2. Techniques de traitement	07
I.2.1. Traitement par résines échangeuses d'ions	08
I.2.2. Traitement par procédé membranaire	09
I.2.2.1. La nanofiltration	09
I.2.2.2. L'osmose inverse	09
I.2.2.3. L'électrodialyse	10
I.2.3. Autres techniques de traitements	10
I.2.3.1. Traitement par adsorption	11
I.2.3.2. Traitement par catalyse	11
I.2.3.3. Traitement par photocatalyse	13
I.2.3.4. Traitement par électrolyse	13
I.2.3.5. Réduction électrochimique par le fer à la valence zéro	14
I.2.4. Procédés de couplage	15

Chapitre II : L'électrodialyse

II.1. Définition	16
II.2. Principe de fonctionnement d'un électrodialyseur	16
II.3. Principe des membranes d'électrodialyse	17
II.3.1. Membranes échangeuses d'ions	17
II.3.1.1. Définition	18
a) Les membranes échangeuses d'anions (MEA)	18
b) Les membranes échangeuses de cations (MEC)	19
II.3.1.2. Propriétés physico-chimiques des membranes échangeuses d'ions	20
II.3.1.2.1. Capacité d'échange	21
II.3.1.2.2. Taux de réticulation	21
II.3.1.2.3. La perméabilité	21
II.3.1.2.4. Résistance mécanique	22
II.3.1.2.5. Résistance électrique	22
II.3.1.2.6. Stabilité chimique et thermique	22
II.3.1.2.7. Gonflements	22
II.3.2. Membranes bipolaires	22

II.4. Phénomènes principaux liés à l'électrodialyse et limitations de la technique	24
II.4.1. Polarisation de concentration	24
II.4.2. Courant limite	25
II.5. Rendement faradique	28
II.6. Domaines d'application de l'électrodialyseur	29

Chapitre III : La dénitrification biologique

III.1. Introduction	33
III.2. Mécanismes de la dénitrification	33
III.2.1. Réduction assimilatrice	33
III.2.2. La nitrammonification ou Réduction Dissimilatrice des Nitrates en Ammonium (RDNA)	34
III.2.3. La dénitrification biologique disassimilative ou dissimilatrice	34
III.2.3.1. La dénitrification autotrophe	35
III.2.3.2. La dénitrification hétérotrophe	35
III.3. Facteurs influençant la dénitrification	38
III.3.1. La concentration en oxygène dissous	38
III.3.2. La source de carbone	39
III.3.3. Le rapport C/N	41
III.3.4. Le phosphate	41
III.3.5. Les nutriments	41
III.3.6. Le pH	42
III.3.7. La température	42
III.3.8. La salinité	42
III.3.9. Le Temps de Rétention Hydraulique (TRH)	43
III.3.10. Les substances inhibitrices	43
III.4. Les procédés de dénitrification	44
III.4.1. Systèmes à boues activées	44
III.4.2. Systèmes à bactéries fixées	44
III.4.2.1. Lit fluidisé	45
III.4.2.2. Lit fixé	45
III.5. Les biofilms pour la dénitrification	47
III.5.1. Définition d'un biofilm	47
III.5.2. Etapes de formation d'un biofilm	47
III.5.2.1. Conditionnement de la surface par le milieu	48
III.5.2.2. Adhésion des bactéries	48
III.5.2.3. Croissance du biofilm	49
III.5.2.4. Dispersion du biofilm	49
III.5.3. Pourquoi utilise-t-on les procédés à biofilm ?	50
III.5.4. Les supports bactériens et la formation du biofilm	50
III.5.4.1. L'état de la surface du support	51
III.5.4.2. La nature chimique de la surface solide	51
III.5.4.3. La taille et la surface disponible	52

III.5.5. Matériaux support pour les bactéries dénitrifiantes	52
III.5.6. Phénomène de colmatage des supports bactériens	53

Partie expérimentale

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV.1. Partie électromembranaire	55
IV.1.1. Dispositif expérimental	55
IV.1.1.1. Pilote de laboratoire de type P1	55
IV.1.1.2. Matériel	58
IV.2. Partie biologique	59
IV.2.1. Système à bactéries libres	59
IV.2.1.1. Sélection des micro-organismes dénitrifiants	59
a) Réacteur semi-continu	60
b) Réacteur en continu	61
IV.2.1.2. Milieu de culture	62
IV.2.1.3. Source de carbone et d'énergie	62
IV.2.1.4. Etude de la cinétique de dénitrification en mode batch	62
IV.2.2. Système de biomasse fixée	63
IV.2.2.1. Les supports	63
IV.2.2.2 Les colonnes	65
IV.2.2.3. Ensemencement du réacteur	66
IV.2.2.4. L'alimentation	67
IV.2.2.5. Technologie des réacteurs	67
IV.2.2.6. Lavage des colonnes	67
IV.2.2.7. Distribution du temps de séjour	68
IV.3. Système de couplage	68
IV.4. Méthodes d'analyse	69

Chapitre V : Résultats et discussions

V.1. Partie 1 : Partie Electromembranaire	71
V.1.1. Optimisation des paramètres de l'électrodialyseur	71
V.1.1.1. Courbe de polarisation	71
V.1.1.2. Influence de la densité de courant	73
V.1.2. Influence des ions chlorures et sulfates sur la dénitrification par électrodialyse	77
V.1.2.1. Influence de la teneur en ions chlorures	77
V.1.2.2. Influence de la teneur en ions sulfates	80
V.2. Partie 2 : Système de couplage	85
V.2.1. Essai d'adsorption des nitrates sur les différents supports	88
V.2.2. Réacteur à bactéries fixées	89
V.2.3. Optimisation des paramètres de la colonne à biomasse fixée	90
V.2.3.1. Elimination des ions nitrates	93

V.2.3.2 Profils d'abattement des ions nitrites	94
V.2.3.3. Profil d'abattement de la DCO	95
V.2.4. Couplage ED-Colonne biologique : Etude de faisabilité	97
V.2.5. Optimisation du couplage : Amélioration du système	99
V.3. Partie 3 : Partie biologique	100
V.3.1. Système à bactérie libres - étude en batch	101
V.3.1.1. Étude des constantes de vitesse de la dénitrification biologique	101
V.3.1.1.1. Influence de la concentration initiale en nitrate	102
V.3.1.1.2. Influence de la concentration initiale du Méthanol et du ratio C/N	103
V.3.1.1.3. Influence de la concentration initiale en phosphore	106
V.3.1.2. Influence de la température sur l'élimination des nitrates	109
V.3.1.3. Influence du pH sur l'élimination des nitrates	110
V.3.1.4. Influence des ions chlorures et sulfates sur l'élimination des nitrates	112
V.3.2. Système à bactérie fixées - étude en colonne	116
V.3.2.1. L'état de surface des supports	116
V.3.2.2. Optimisation de paramètres de dénitrification	119
V.3.2.2.1. Dénitrification sous différentes vitesses de passage	119
V.3.2.2.2. Influence de la concentration initiale des nitrates	123
V.3.2.3. Influence de la salinité	126
V.3.3. Choix de la solution du compartiment concentrât	128
V.4. Partie 4 : Le couplage en système ouvert	130
Conclusion	133
Références bibliographique	136
Annexe	152

Introduction

En Algérie, l'eau revêt un caractère stratégique du fait de sa rareté et d'un cycle naturellement perturbé et déséquilibré. Qu'il s'agisse de l'eau souterraine ou de l'eau de surface, les ressources sont limitées. (ANRH, 2009)

Les eaux souterraines constituent le réservoir essentiel des eaux de boissons. Or, leur teneur en nitrates augmente jusqu'à dépasser les normes de potabilité. Cette augmentation est le produit d'une utilisation intensive des fertilisants agricoles et de l'augmentation des rejets domestiques et industriels. Elle indique souvent la présence de substances nuisibles telles que les pesticides ou d'autres résidus. De plus, elle engendre une eutrophisation des milieux aquatiques (S.S. Adav et al., 2010 ; O. B.Yapo et al., 2009).

La consommation d'eau contenant du nitrate peut entraîner d'importants problèmes liés à la santé comme l'asphyxie des nouveau-nés (méthémoglobinémie), malformations congénitales ou d'autres maladies dont le cancer. C'est pourquoi l'OMS limite à 50 mg/L la teneur en nitrates dans les eaux potables.

Différents procédés ont été utilisés pour l'élimination des nitrates dans l'eau. Les trois principaux procédés physico-chimiques les plus utilisés sont l'échange d'ions, l'osmose inverse et l'électrodialyse. L'électrodialyse est l'un des procédés les plus utilisés pour l'élimination d'ions spécifiques tels que les nitrates. Cependant, il produit de grandes quantités de saumures qui sont extrêmement concentrées, non seulement en nitrates, mais aussi en différents ions présents dans l'eau qui sont essentiellement les chlorures et les sulfates. L'élimination de ces saumures est aujourd'hui limitée à une dilution dans l'environnement naturel ou à une décharge dans une usine de traitement des eaux usées par le biais du réseau d'égouts (C. Wisniewski et al., 2002 ; A. Elmidaoui et al., 2000).

Une autre méthode est disponible pour le traitement des eaux chargées en nitrate: la dénitrification biologique. Cette dernière est basée sur la conversion des nitrates en azote gazeux par une activité bactérienne. C'est un processus au cours duquel les bactéries hétérotrophes vont modifier leur métabolisme pour utiliser les formes oxydées d'azote (nitrite, nitrate) comme accepteurs d'électrons au lieu de l'oxygène moléculaire. La réduction biologique du nitrate au cours de la dénitrification mènera à la production finale d'azote moléculaire. L'avantage de ce procédé est sa faisabilité et son aspect économique. En contre partie, il présente également des inconvénients qui sont principalement le changement des caractéristiques de l'eau traitée (température, composition, etc.) ainsi qu'un risque de contamination par les microorganismes (K. Kimura et al, 2002 ; S. Islam et M.T. Suidan, 1998).

Etant donné que chaque procédé mis en œuvre individuellement génère des inconvénients, différents travaux ont porté sur le couplage de l'électrodialyse et le traitement biologique (M.A. Menkouchi Sahli et al., 2006 ; C. Wisniewski et al., 2002).

D'autre part, l'utilisation de cellules immobilisées a suscité des applications dans un large éventail dans les processus biologiques (C. Moreno-Castilla et al., 2003) et présente ainsi plusieurs avantages tels que la réduction de la taille des réacteurs biologiques et l'augmentation de la vitesse de passage du liquide. De ce fait, différents matériaux ont été utilisés comme support pour fixer les micro-organismes (sable, gravier, charbon, plastique, céramique, etc.) qui sont caractérisés par leur grande capacité d'adsorption et leur forme irrégulière qui agit comme refuge pour les bactéries (I. Wojnowska-Baryła et M. Zielińska, 2002).

La première partie de notre étude est consacrée à la dénitrification par électrodialyse ; nous l'avons entamé par l'optimisation du principal paramètre qui est la densité de courant, puis nous avons étudié l'influence des anions chlorures et sulfates sur la dénitrification. Dans la seconde partie, nous avons réalisé le processus combinant les deux procédés de dénitrification qui consiste à coupler l'électrodialyse à une colonne remplie de matériau de garnissage sur lequel des bactéries dénitrifiantes vont se fixer. Ce procédé hybride a pour objectif de traiter des eaux chargées en nitrates par électrodialyse couplé à une colonne biologique qui a pour but de dégrader les nitrates cumulés dans le compartiment concentrât, tout en optimisant ses performances.

Ce travail sera développé suivant cinq chapitres :

- Le premier chapitre présentera une synthèse bibliographique sur les Nitrates : généralités et traitements ;
- Dans le deuxième chapitre, nous détaillerons la technique d'électrodialyse, le cœur même de notre travail ;
- La dénitrification biologique qui sert à éliminer la saumure produite par électrodialyse fera l'objet du troisième chapitre ;
- Le quatrième chapitre englobera la description du matériel et des méthodes analytiques utilisées ainsi que le protocole expérimental suivi ;
- Enfin le dernier chapitre présentera les résultats de l'optimisation des deux procédés ainsi que l'étude des effets qui influent sur la dénitrification par chacun des deux procédés. Après optimisation et identification des paramètres influant, l'essai sur un effluent réel sera réalisé.

Ce manuscrit s'accompagne d'une conclusion synthétisant les principaux résultats obtenus lors de l'élimination des nitrates par la technique d'électrodialyse et le procédé biologique, suivi de quelques perspectives.

Chapitre I

Les nitrates : généralités et traitements

I.1. LES NITRATES :

Les concentrations en nitrates des eaux de surface et des eaux souterraines sont en constante augmentation depuis les années 50 (F. Curie, 2006 ; A. Mariotti, 1994). Cette augmentation est liée à la fois à des apports ponctuels (rejets industriels, rejets urbains ou effluents d'élevage) et à des apports diffus dont la source dominante est l'activité agricole.

En effet, la fertilisation a permis une augmentation importante des rendements de toutes les cultures, en apportant les éléments minéraux selon les besoins des plantes et les périodes d'intense prélèvement. Les apports d'azote ont permis d'augmenter la production et/ou de maîtriser la qualité des cultures, mais également, de maintenir la fertilité du milieu, ainsi que de recycler des déchets d'autres activités sous forme de boue ou d'effluent.

Cette période d'accroissement des rendements agricoles a été accompagnée d'une augmentation importante des concentrations en ions nitrates des nappes d'eaux souterraines et de nombreux cours d'eau. Sachant que l'ion nitrate est peu retenu par les colloïdes du sol, il est facilement lixiviable. Dans certains endroits les concentrations en nitrates ont même dépassé le seuil de potabilité (Z. Salem et al., 2007, N. F. Gray, 2005 ; C. Wisniewski et al, 2002 ; A. Mariotti, 1996).

La toxicité des nitrates résulte de leur réduction en nitrites et de la formation de méthémoglobine (maladie bleue) d'une part et de leur contribution possible à la synthèse endogène de composés N-nitrosés d'autre part. 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 (Santé Canada, 2013).

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande de ne pas dépasser pour un adulte une dose journalière admissible (DJA) de 3,65 mg par kilogramme (kg). Pour un adulte de 70 kg, cela correspond à 255 mg de nitrates par jour (cette DJA n'est cependant pas transposable au nourrisson). Pour l'eau, l'OMS retient la valeur de 50 mg/L comme valeur guide. Au-delà de ce seuil, le risque sanitaire concerne les femmes enceintes et les nourrissons (Santé Canada, 2013 ; N. F. Gray, 2005).

L'enrichissement en nitrates des eaux est également responsable de déséquilibres écologiques tels que l'eutrophisation. Associé au phosphore, l'azote minéral provoque la prolifération des algues et des végétaux aquatiques. A leur mort les végétaux vont se déposer sur le fond et créer une accumulation de biomasse. La décomposition par les bactéries de cette matière organique entraîne une forte consommation d'oxygène et conduit à une situation d'hypoxie (Officier et al., 1984). En plus des nuisances visuelles et olfactives, ce phénomène peut conduire à la disparition des populations piscicoles et benthiques

L'Algérie compte 17 bassins-versants. Les ressources en eau proviennent des eaux de surface et des eaux souterraines renouvelables et non renouvelables. Il est à noter que ces ressources sont très variables notamment celles qui proviennent des nappes tributaires des aléas climatiques. L'exploitation de ces ressources est très intense en raison des besoins grandissants. Mais malheureusement ces dernières décennies, la qualité de l'eau ne cesse de se détériorer et le besoin en eau potable ne cesse d'augmenter. Le programme de surveillance des eaux de puits et de sources, réalisé par le laboratoire de chimie des eaux de l'agence nationale des ressources hydriques (A.N.R.H), a montré l'existence d'une forte concentration en nitrates dans les eaux des nappes souterraines, dans le centre du pays (la plaine de la Mitidja, le Haut Chelif) et à l'ouest (Sidi Bel Abbas), avec une teneur dépassant largement la dose maximale. Voici donc quelques résultats d'analyses d'eaux dans certaines de nos régions appuyant le fait que l'on doit s'intéresser de plus près à la pollution azotée.

Tableau n°1.1 : Résultats d'analyse d'eau de certaines régions en Algérie. (ANRH, 2009)

Nappe	Nature	NO ₃ ⁻ (mg/L)	SO ₄ ²⁻ (mg/L)	Cl ⁻ (mg/L)	Ca ²⁺ (mg/L)	Mg ²⁺ (mg/L)	Na ⁺ (mg/L)	TAC (°F)	TH (°F)	Utilisation	Date de prélèvement
Bas Isser	Puits	130,3	249	203	236	67	85	36	87	Irrigation	02/05/05
	Forage	80	440	518	187	112	125	42	93	Irrigation	11/09/05
	Puits	53	277	191	193	49	136	33	69	AEP + Irrigation	26/05/08
O. El Nador	Puits	76,3	327	388	191	94	267	44	87	AEP	25/04/2005
		250	182	381	197	26	206	20	60	AEP+ Irrigation	18/09/2005
		85	127	229	116	81	142	36	63	AEP+ Irrigation	30/05/2007
		110	174	197	216	24	97	31	64	AEP+ Irrigation	03/06/2008
		450	111	281	222	23	257	22	65	AEP+ Irrigation	20/10/2008
		125	258	333	201	54	573	32	73	AEP	18/05/2009
Mitidja	Forage	168,7	337	233	206	74	90	21	82	Non spécifiée	07/05/2005
	Puits	820	364	206	423	44	165	19	124		30/04/2006
	Forage	73,5	282	235	162	47	78	23	60		20/05/2007
		140	318	328	238	68	132	30	88		21/04/2008
		291,1	342	211	249	55	155	25	85		23/05/2009
Cheliff	Puits	222	263	835	386	106	188	15	141	Non spécifiée	30/04/2005
		300	404	748	471	98	167	18	159		02/10/2006
		320	348	1010	482	136	205	16	177		21/05/2007
		260	74	404	213	47	153	20	73		21/04/2008
		245	550	1300	327	108	610	23	127		18/05/2009

AEP : Alimentation en eau potable

Il ressort de ce tableau que la concentration en ions nitrates varie de 53 à 820 mg/L. Concentration largement dépassée par la norme exigée (50 mg/L) et ce, quelque soit la nature de la nappe. Sachant que ces eaux peuvent être destinées à la potabilisation, il est nécessaire d'effectuer un traitement. L'objectif de ce chapitre est donc de présenter un aperçu de chaque technique et de voir les possibilités de couplage.

I.2. TECHNIQUES DE TRAITEMENT :

Lorsque les mesures palliatives (dilution, modification du niveau de captage, interconnexion avec un réseau voisin, etc.) ne sont plus envisageables, un traitement d'élimination des nitrates pourra être mis en œuvre.

Pour atteindre la limite exigée par les organismes de la santé, de nombreux procédés ont été mis en place pour rendre l'eau potable. Certains de ces procédés sont déjà utilisés industriellement pour le traitement de l'eau, ce sont essentiellement des procédés de filtration (osmose inverse, échange d'ion et électrodialyse), d'autres techniques sont étudiées au niveau du laboratoire comme l'adsorption, la réduction par voie catalytique, électrochimique ou photocatalytique.

Il est à noter que l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) suggère la dénitrification biologique et l'échange d'ions comme technique efficace pour l'élimination des nitrates, alors que l'électrodialyse, l'osmose inverse et l'échange d'ions sont approuvés par l'EPA (Environmental Protection Agency) comme étant les meilleures techniques disponibles pour l'élimination des nitrates des eaux potables. (A. Bhatnagar et M. Sillanpää, 2011)

Le choix d'un procédé de traitement approprié pour un niveau d'approvisionnement en eau dépend de nombreux facteurs, notamment les caractéristiques de l'approvisionnement en eau brute, la source et la teneur en nitrate et en nitrite, les conditions d'application de la méthode de traitement en question ainsi que des objectifs des services publics quant au traitement. (Santé canada, 2013)

I.2.1. Traitement par résines échangeuses d'ions :

La technologie d'échange d'ions est actuellement la meilleure pour éliminer le nitrate de l'eau potable. Son principe consiste à faire couler une eau polluée sur un lit de résine d'anions fortement basique, où le nitrate est retenu et remplacé par un autre anion, qui est généralement le chlorure - dont la présence n'est pas gênante dans la mesure où la concentration limite (200 mg/L) n'est pas dépassée et moins fréquemment le bicarbonate. Le lit de résine est en fonctionnement jusqu'à saturation. Les nitrates sont donc déplacés mais non éliminés et se retrouvent dans les éluats dont l'évacuation pose problème.

Les ions nitrates ne sont pas les seuls retenus, il existe même une sélectivité différente suivant l'espèce anionique. Des plus retenus aux moins retenus, l'ordre généralement cité est $\text{SO}_4^{2-} > \text{NO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{HCO}_3^- > \text{OH}^-$. (M. Dehghani et al., 2010 ; P. Cyplik et al., 2008 ; M. Boumediene et D. Achour, 2004 ; M.O. Ratel, 2001 ; D. Clifford, 1982) Ainsi, une eau riche en sulfates pourra être gênante dans l'élimination des nitrates, la résine fixant préférentiellement les sulfates (A.A. Hekmatzadeh et al., 2012 ; X. Xua et al., 2012 ; J. Kim et M.M. Benjamin, 2004). Cependant, la synthèse de nouvelles résines échangeuses d'anion permet d'améliorer le traitement même en présence d'anions concurrentiels tels que les sulfates. (H. Song et al., 2012 et Y. Zhou et al., 2012).

Après saturation, les résines sont ensuite régénérées avec une saumure de chlorures de sodium (NaCl) qui élimine les nitrates préalablement fixés et recharge les résines en chlorures. Au cours de cette période, les éluats (saumure résiduelle + eau de lavage), riches en nitrates et sulfates, sont le plus souvent éliminés vers le réseau d'assainissement (P. Cyplik et al., 2008 ; S. Ghafari et al., 2008 ; N. F. Gray, 2005 ; J. Kim et M.M. Benjamin, 2004 ; B.U Bae et al., 2002 et J.P. Van Der Hoek et A. klapwijk, 1987).

F.P.S. Sant'Anna et al (1996) et M.O. Ratel (2001) précisent que ces saumures peuvent être soit délivrées à une industrie de fabrication d'engrais azotés (valorisation) soit mélangées à une eau brute avec un certain débit permettant d'obtenir une eau à une charge inférieure à 25 mg/L en nitrates.

I.2.2. Traitement par procédé membranaire :

Le procédé par membranes est le procédé qui fournit la meilleure qualité d'eau en éliminant aussi tous les autres polluants, mais son coût actuellement élevé n'est pas adapté aux petites unités. Il peut être particulièrement intéressant dans le cas d'une multi-pollution à traiter (dureté, nitrates, pesticides,...). Par contre, il est indispensable de le protéger par un pré-traitement efficace contre les matières en suspensions (turbidité) par passage sur un filtre bi-couche sable/charbon en amont. Les éluâts et autres effluents de lavage chimique des membranes doivent être évacués en station d'épuration ou en centre de traitement.

I.2.2.1. La nanofiltration :

La nanofiltration NF, est une technique de filtration qui se situe entre l'ultrafiltration (membranes de clarification) et l'osmose inverse. Elle fait appel à des membranes semi-perméables, minérales ou organiques. Ces dernières sont principalement utilisées pour la production d'eau destinée à la consommation humaine.

Le taux d'élimination des nitrates par les membranes de nanofiltration, est de l'ordre de 45 %. Ce procédé n'est économiquement envisageable que si un ou plusieurs paramètres supplémentaires sont à corriger : dureté, sulfates, pesticides, matières organiques (Santafe-Moros et al., 2007 ; B. Van der Bruggen et C. Vandecasteele, 2003).

I.2.2.2. L'osmose inverse :

L'osmose inverse utilise des membranes denses qui laissent passer l'eau et arrêtent tous les sels. L'application d'une pression supérieure à la pression osmotique de l'eau à traiter, riche en nitrates, permet d'obtenir une eau déminéralisée après traversée d'une membrane sélective. Un rejet concentré est évacué devant la membrane. Les systèmes de traitement par osmose inverse nécessitent le plus souvent une filtration préalable pour retirer les particules et, dans bien des cas, d'autres étapes de prétraitement, par exemple l'ajout d'agents prévenant l'entartrage, la préchloration ou la prédéchloration et l'adoucissement. Les étapes de post-traitement comprennent habituellement l'ajustement du pH, l'ajout d'inhibiteurs de la corrosion ainsi que la désinfection (Santé Canada, 2013).

Cette technique est utilisée essentiellement pour :

- Le dessalement des eaux de mer ;
- Le dessalement des eaux saumâtres ;
- La production d'eau ultra pure (industrie électronique, médicale et/ou nucléaire);

Les membranes (planes ou fibres creuses) sont assemblées en modules. Le rendement d'élimination dépend de la pression appliquée, de la concentration du soluté et du flux demandé en eau traitée. Il peut varier de 85 à 95 % (pression 30 à 60 bars) (M.O. Ratel, 2001). Les limites d'utilisation du procédé sont les suivantes :

- Le traitement n'est pas spécifique ; il modifie la qualité initiale de l'eau et pourrait provoquer aux dires d'experts certains troubles intestinaux plus ou moins graves,
- Un prétraitement est nécessaire, afin d'éviter le colmatage des modules et la précipitation des espèces dissoutes sur les membranes,
- Il y a présence de rejets concentrés.

Cette technique, bien que développée pour le dessalement des eaux de mer ou saumâtres, reste limitée pour l'élimination des nitrates (M.O. Ratel, 2001).

I.2.2.3. L'électrodialyse :

L'électrodialyse est une technique séparatrice mettant en œuvre des membranes échangeuses d'ions, et permet d'extraire les cations et les anions de l'eau en les forçant, par l'application d'une différence de potentiel provenant d'une source en courant continu, à passer à travers des membranes échangeuses de cations ou d'anions empilées selon un arrangement alterné. Ce procédé, objet de notre étude sera détaillé dans le chapitre suivant.

I.2.3. Autres techniques de traitements :

D'autres techniques de traitement sont aussi efficaces pour l'élimination des nitrates des eaux potables mais demeurent pour l'instant au stade expérimental. Parmi ces nouvelles techniques figurent les suivantes :

I.2.3.1. Traitement par adsorption:

Parmi plusieurs technologies de traitement appliquées pour éliminer le nitrate, l'adsorption a été largement explorée et offre des résultats satisfaisants. Différents matériaux conventionnels et non conventionnels de différentes origines ont été évalués pour l'élimination des nitrates. Les adsorbants les plus couramment utilisés sont les suivants :

- Adsorbants à base de carbone : charbon actif de différentes origines : sciure de bois (G.V. Nunell et al., 2012,) bagasse de betterave (H. Demiral et G. Gündüzoglu, 2010), des nanotubes (M.A. Tofighy et T.Mohammadi, 2012) ;
- Adsorbants d'origine naturelle: zéolite (Y. Zhan et al 2011 ; J. Schick et al 2010), et argile naturelle ou modifiée (S. Gammoudi et al., 2012 ; C.J. Mena-Duran et al 2007) ;
- Les nano-alumines (A. Bhatnagar et al, 2010);
- L'hydroxyapatite HAP synthétisé (M. Islam et al, 2010) ;
- Biosorbant comme le chitosane (S. Chatterjee et al 2009);
- Une amine réticulée en paille de blé (X. Xing, et al 2011).

Cependant, tous les types d'adsorbant ne peuvent pas être utilisés pour des applications in situ, notamment en raison de leur coût élevé (C. Della Rocca et al., 2007). De plus, la capacité d'adsorption diminue en présence d'anions concurrents tel que les chlorures, les sulfates et les carbonates (J. Schick et al, 2010), et est influencée par les changements de pH et les températures, en outre la régénération des adsorbants est coûteuse (A. Bhatnagar et M. Sillanpää, 2011).

I.2.3.2. Traitement par catalyse :

Certaines études ont également porté sur la dénitrification chimique du nitrate en présence d'un catalyseur. En 1989, Vorlop et Tacke ont démontré la nécessité d'un système bimétallique pour réduire les nitrates, les composés d'un métal précieux (Pt ou Pd) et d'un métal plus facilement oxydable (Cu, Ni, Fe, Sn, In, Ag), dont la fonction principale est de catalyser la réduction des nitrates en nitrites par hydrogénation. Depuis lors, de multiples combinaisons de métal-métal ont été testées, visant à trouver un compromis optimal entre

l'élimination des nitrates et la sélectivité vers l'azote. (N. Barrabés et J. Sá, 2011 ; S. Horold et al., 1993)

Dès le début des recherches sur la réduction catalytique des nitrates et des nitrites, le palladium a été identifié comme étant le meilleur catalyseur de réduction des nitrites, l'ajout d'un second métal étant nécessaire pour réaliser l'étape de réduction des nitrates en nitrites. La plupart des études ont donc gardé le Pd comme catalyseur principal et ont testé différents catalyseurs métalliques pour activer les nitrates (S. Hörold et al., 1993).

Selon S. Hörold et al (1993), le Pd activé par Cu présente l'activité la plus importante par rapport aux autres promoteurs étudiés (Fe, Co, Pt, Ni, Ag) et montre la meilleure sélectivité vers N₂.

U. Prusse et al. (2000) ont proposé une nouvelle amélioration des catalyseurs. Ils ont montré que les catalyseurs à base d'étain et d'indium (Pd-Sn, Pd-In) sont plus efficaces et sélectifs en comparaison avec le (Pd-Cu). De plus l'utilisation de l'acide formique comme agent réducteur améliore l'élimination des nitrates. Alors que N. Wehbe et al (2009) constatent lors de l'utilisation de Pd-Cu/TiO₂, que la réduction catalytique des nitrates était réalisée efficacement avec H₂ ou H₂ + HCOOH comme réducteur, mais était peu efficace en présence de l'acide formique (HCOOH) seul. A. Pintar et al. (2001) ont constaté une diminution des performances de cette méthode dans le cas des eaux réelles.

Même si la réduction catalytique des nitrates par l'hydrogène semble représenter une approche prometteuse pour l'élimination des nitrates, cette technique est toujours étudiée à l'échelle laboratoire, et malgré des études à l'échelle pilote, elle n'a pas débouché sur des procédés commerciaux. Ceci peut être expliqué par :

- Les produits de la réaction sont de l'azote gazeux et de l'ammoniac dissous, ce qui est indésirable dans l'eau potable.
- La sélectivité insuffisante vers l'azote : la production des ions ammoniums qui dépasse la limite admise par les normes européennes (0,5 mg/l)
- La séparation catalyseur-liquide : l'utilisation d'un catalyseur sous forme de poudre qui implique des difficultés pour la récupération du catalyseur ainsi que la contamination probable de l'eau par les métaux nobles (les limites pour les métaux nobles dans l'eau potable sont très basses)
- Le coût du réacteur, la sécurité des opérations...

I.2.3.3. Traitement par photocatalyse:

Quant à l'élimination des nitrates par photocatalyse, selon N. Wehbe et al. (2009), les irradiations UV ont considérablement amélioré la réaction et ce en présence d'hydrogène et d'acide formique. La combinaison UV-acide formique a montré une activité lente mais a empêché la formation d'ammonium.

K. Doudrick et al. (2013) ont étudié la réduction des nitrates par photocatalyse en utilisant le dioxyde de titane et ont conclu que la photocatalyse n'est pas adaptée à l'eau potable mais serait appropriée pour le traitement des saumures chargées en nitrates comme celles issues de l'échange d'ion.

I.2.3.4. Traitement par électrolyse :

Le principe de la technique se base sur la réduction des nitrates en azote gazeux à la cathode et l'oxydation de l'eau en oxygène gazeux à l'anode. Selon les conditions opératoires, la réduction électrochimique peut être plus ou moins complète et peut donner naissance à divers produits tels les nitrites, l'ammoniac ou l'azote gazeux. En plus des deux gaz principaux formés, le processus d'électroréduction des nitrates génère des groupements hydroxyles, ce qui devrait faire accroître l'alcalinité du milieu réactionnel.

Une grande variété de matériaux, purs ou en alliage, ont été utilisés comme électrodes dans l'électroréduction des nitrates dans des milieux acides ou basiques afin d'éviter la formation de l'ion ammonium. Les potentiels appliqués varient d'une étude à l'autre, selon le matériau de l'électrode et les constituants de la solution (électrolytes).

B.P. Dash et S. Chaudhari (2005) ont utilisé l'aluminium, le graphite, le fer et le titane comme matériaux d'électrode pour la dénitrification électrochimique des eaux souterraines. Ils ont constaté une réduction de nitrate comprise entre 70 et 97% lorsque l'aluminium, le fer et le titane ont été utilisés. Alors que l'électrode en graphite ne présentait que 8% de réduction. En utilisant les électrodes en fer et en aluminium les nitrates ont été transformés en ammonium alors qu'en utilisant des électrodes en titane le produit majoritaire était l'azote gazeux

M. Li et al. (2009) ont étudié la dénitrification électrochimique avec l'objectif de renforcer la réduction des nitrates en azote gazeux et à éliminer les sous-produits, et ce en utilisant la plaque de Cu-Zn comme cathode et la plaque de Ti/IrO₂-Pt comme anode. Leurs résultats indiquent un taux d'élimination des nitrates de 90% sans présence d'ammoniac et avec peu de nitrites, et ce pour une densité de courant de 40mA/cm².

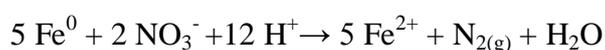
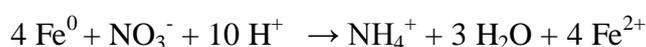
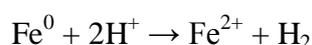
D. Reyter et al. (2010) constate lors de leurs travaux que le contrôle du rapport de surface cathode/anode, et densité de courant à chaque électrode, s'est révélé être un moyen très efficace pour maintenir le potentiel de la cathode à une valeur optimale, favorisant par conséquent la transformation des nitrates en azote.

E. Lacasa et al (2012) ont obtenus une grande sélectivité pour la production d'ion ammonium lors de l'utilisation du graphite et de l'acier inoxydable comme cathode tandis que la cathode de carbure de silicium conduit à la plus grande formation de l'azote gazeux.

D'une manière générale, les applications du procédé électrochimique pour la dénitrification sont limitées en raison de la production d'ammoniac, et présence de métaux dans les solutions à traiter (M. Li et al., 2009).

I.2.3.5. Réduction électrochimique par le fer à la valence zéro :

Le fer à la valence zéro (Fe (0)) a été étudié avec un grand intérêt pour sa capacité à réduire les nitrates dans l'eau et les eaux souterraines (S.C. Ahn et al., 2008). Son principe consiste en un échange direct d'électron entre le contaminant (nitrate) et le fer zéro qui est réduit en ion ferreux ou ferrique, ou par la production de l'hydrogène qui par la suite échange des électrons avec le contaminant. Plusieurs travaux mentionnent que la réduction des ions nitrates est réalisée sous des conditions d'aération et de pH près de la neutralité. (M.Z. Kassae et al., 2011 ; P. Westerhoff et J. James, 2003) alors que C. Tang et al. (2012) constatent une nette amélioration en milieu alcalin mais en présence d'autre ions tels (Fe³⁺ et Cu²⁺).



Le fer employé en laboratoire est généralement sous forme en poudre ou en nanoparticule ou alors peut être aussi combiné à d'autres matériaux (argile, zéolite). (F.S. Fateminia et C. Falamaki, 2013 ; M.Z. Kassae et al. 2011 ; Y. Zhang et al., 2011,)

Lors des essais au laboratoire, les résultats obtenus avec du Fe^0 mélangé à de l'argile sont nettement meilleurs que ceux utilisés uniquement avec le fer commercial (Y. Zhang et al., 2011). De même que pour des mélanges composés de zéolite et de Fe^0 avec une petite quantité de Cu (F.S. Fateminia et C. Falamaki, 2013). Cependant, de telles conditions sont peu applicables aux eaux d'alimentation (phénomène de corrosion) (P. Westerhoff et J. James, 2003).

I.2.4. Procédés de couplage :

Les procédés classiques de dénitrification de l'eau tel que l'osmose inverse ou l'échange d'ions qui sont appliquées pour la potabilité de l'eau ne sont pas efficaces pour l'élimination des ions nitrates de l'eau. Par conséquent, pour supprimer l'ion nitrate, un procédé complémentaire est nécessaire.

Chapitre II

L'électrodialyse

II.1.DEFINITION :

L'électrodialyse est une technique membranaire qui utilise l'énergie électrique pour transférer des espèces chargées. Il s'agissait à l'origine, dans les années 1930, d'utiliser un courant électrique pour accroître le transfert de matière des espèces chargées par rapport à celui obtenu par une simple dialyse. À l'heure actuelle, l'électrodialyse utilise des membranes spécifiques, disposées en alternance orthogonalement à un champ électrique (H. Roux De Balmann et E. Casademont, 2006).

II.2.PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT D'UN ELECTRODIALYSEUR :

Le schéma de la figure n° II.1 représentant le principe général d'un électrodialyseur est constitué d'un empilement de membranes alternativement échangeuses d'anions et échangeuses de cations et de deux électrodes situées aux extrémités de cet empilement.

Sous l'effet d'un champ électrique perpendiculaire au plan des membranes, les cations migrent vers la cathode en traversant les membranes échangeuses de cations (MEC) et les anions migrent vers l'anode en traversant les membranes échangeuses d'anions (MEA). Grâce à la disposition alternée des membranes, les cations sont arrêtés par la MEA, et réciproquement.

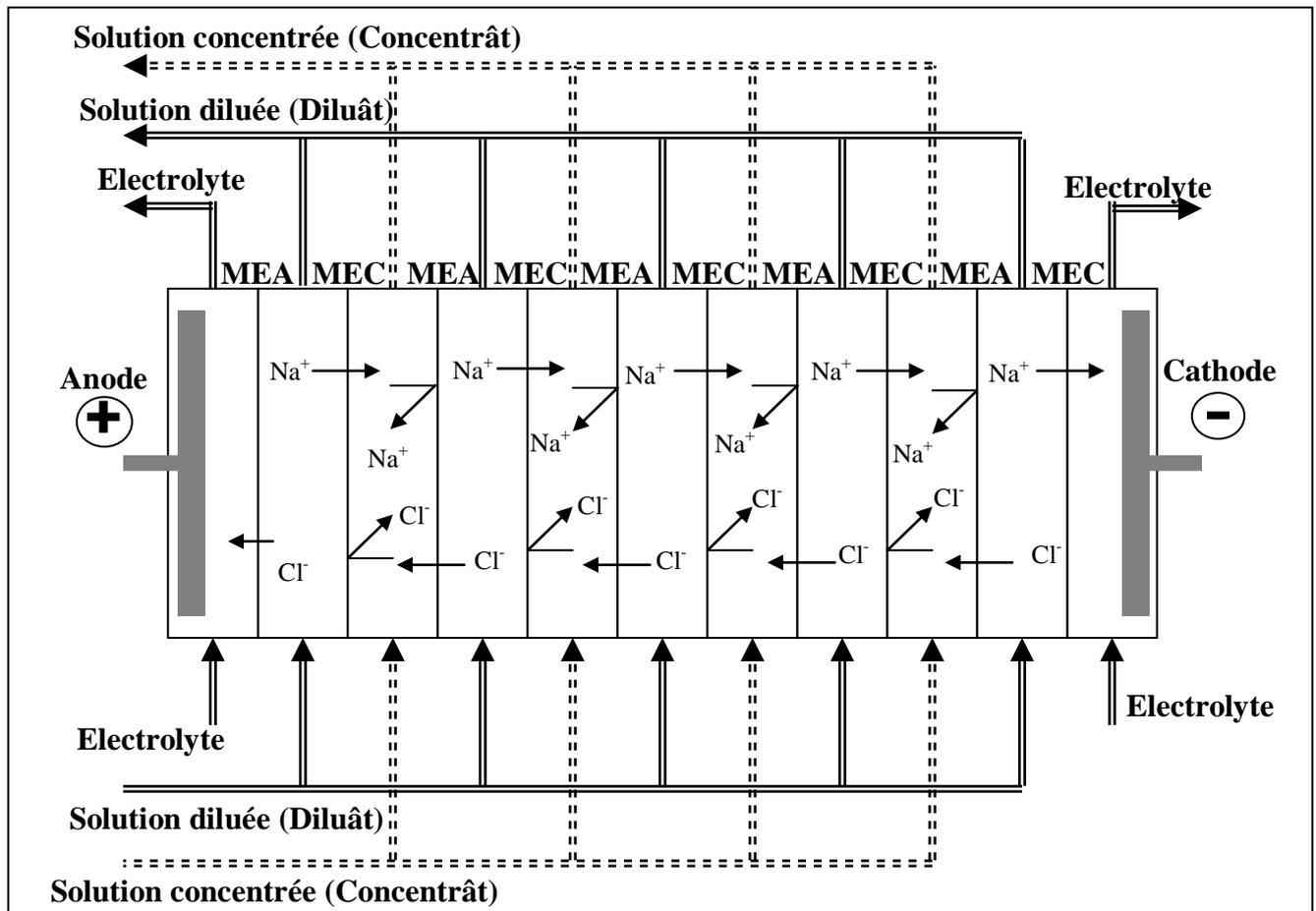


Figure n°II.1 : Principe de fonctionnement d'un électrodialyseur

Il en résulte une augmentation de la concentration dans les compartiments appelés compartiments de concentration ou Concentrât et une diminution dans les compartiments adjacents appelés compartiments de dilution ou Diluât.

L'électrodialyse permet ainsi d'épurer en électrolyte les solutions du compartiment Diluât et de concentrer celles du compartiment Concentrât.

II.3. PRINCIPE DES MEMBRANES D'ELECTRODIALYSE :

On distingue deux types de membranes : les membranes échangeuses d'ions (MEI) et les membranes bipolaires (MB). Ces deux types de membranes sont utilisés pour effectuer différentes transformations, selon la configuration des empilements mis en jeu.

II.3.1. Membranes échangeuses d'ions :

II.3.1.1. Définition :

Une membrane est une interphase séparant deux milieux et contrôlant le transport des constituants d'une manière spécifique (J.P. Brun., 1989). Les membranes échangeuses d'ions permettent le **transfert sélectif d'espèces chargées** selon leur signe de charge. Elles sont parfois qualifiées de membranes homopolaires, par opposition aux membranes bipolaires.

Les membranes échangeuses d'ions *MEI* sont constituées d'une matrice sur laquelle sont fixés de façon covalente des groupements fonctionnels ionisables. Les ions qui assurent l'électroneutralité du système (les ions échangés) sont appelés les contre-ions. Les ions mobiles du même signe que les sites de la membrane sont appelés les co-ions.

Suivant la charge de ces groupements on distingue :

a) *Les membranes échangeuses d'anions (MEA) :*

Les groupements ionisables sont chargés positivement et les ions échangés qui les équilibrent sont des anions. Ce type de membranes se comporte comme un conducteur ionique sélectif aux anions.

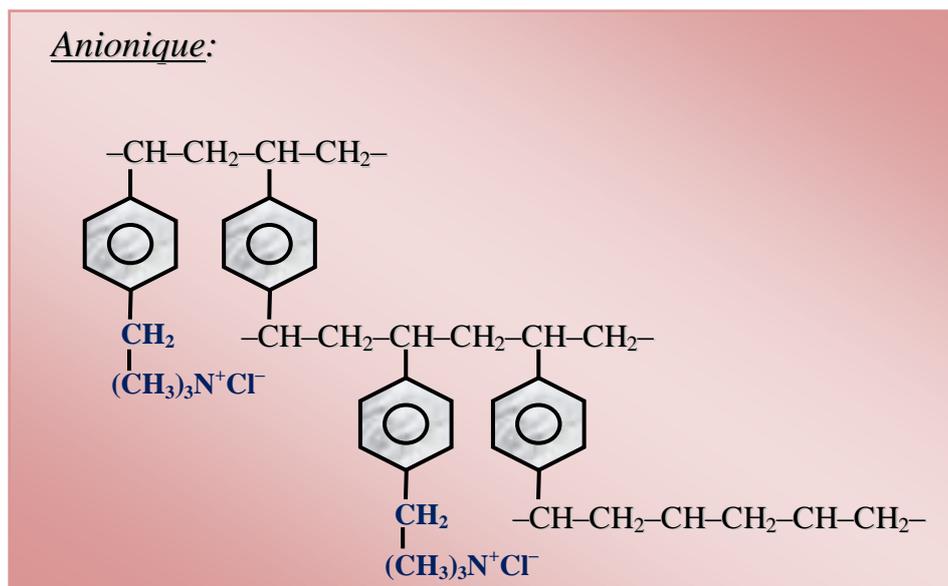


Figure n°II.2 : Structure de la membrane anionique.

b) Les membranes échangeuses de cations (MEC) :

Dans ce cas les charges portées par les groupements sont négatives et les ions équilibrants sont des cations, elles sont perméables uniquement aux cations.

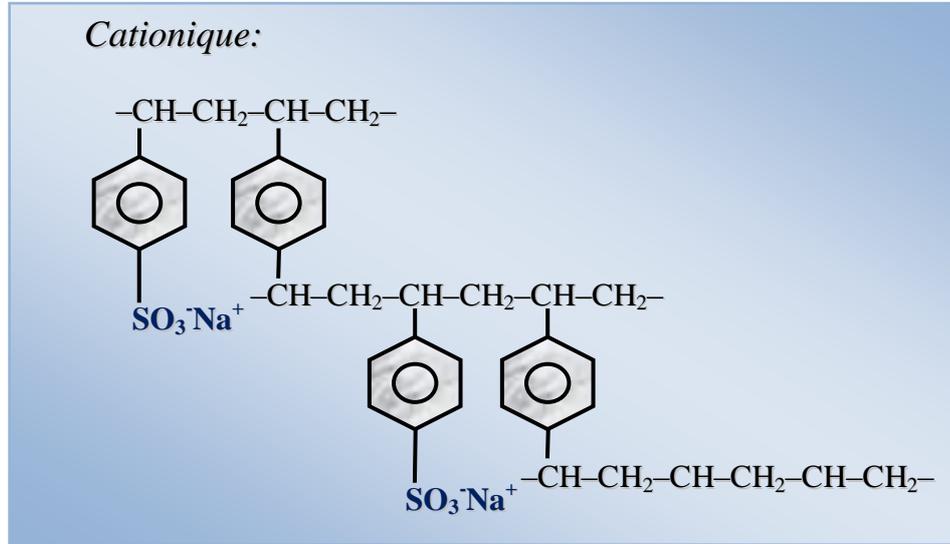


Figure n°II.3 : Structure de la membrane cationique.

Les groupements fonctionnels les plus couramment utilisés sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau n° II.1 : Les groupements fonctionnels les plus courants.

MEC	MEA
Sulfonique : SO_3^{2-}	Alkyl Ammonium
Phosphorique : PO_3^{2-}	NR_3^+ , NHR_2 , NH_2R^+
Carboxylique : COO^-	Phosphonium : PR_3^+
Arsénique : ASO_3^{2-}	Sulfonium : SR_2^+

De même que dans le cas des résines, on distingue des échangeurs forts, groupements fonctionnels acide et base forts pour les MEC et les MEA respectivement, et des échangeurs faibles, groupements fonctionnels acide et base faibles pour les MEC et les MEA, respectivement. Les échangeurs forts comportent des groupements fonctionnels sulfonates pour les MEC ou ammonium quaternaire pour les MEA (H. Roux De Balman et E. Casademont, 2006).

La figure n°II.4 montre le principe de fonctionnement d'une membrane échangeuse de cations.

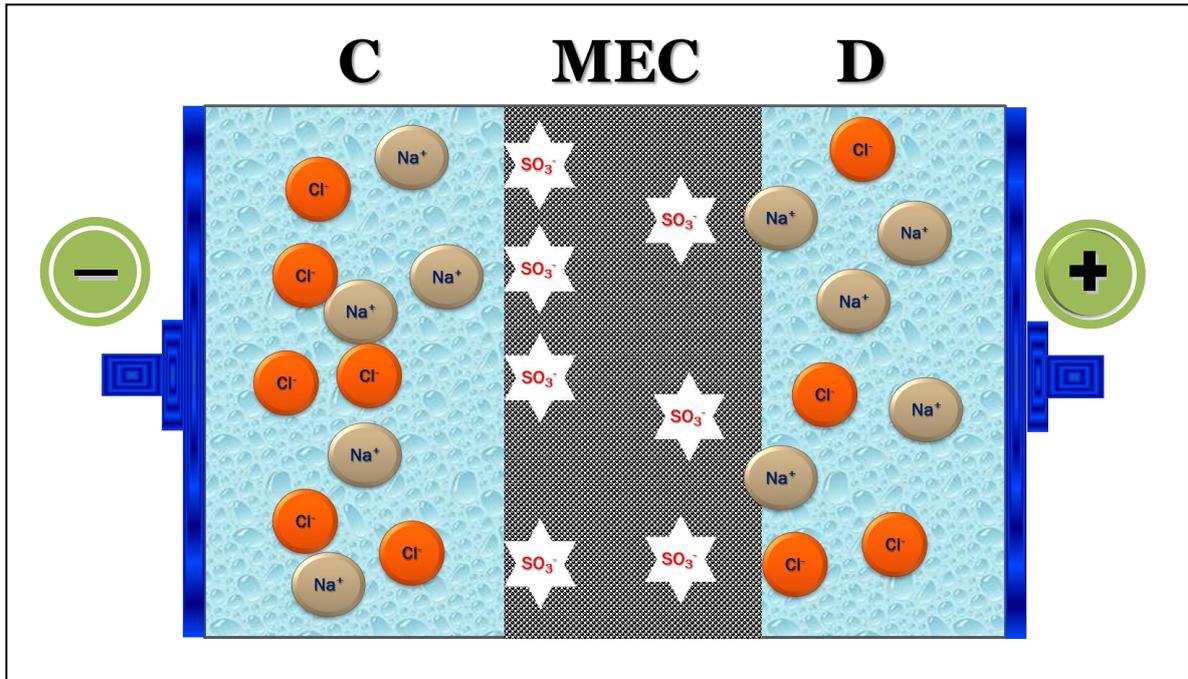


Figure n°II.4: Principe de fonctionnement d'une MEC

Les MEI peuvent être homogènes ou hétérogènes. Les membranes hétérogènes sont constituées de fines particules colloïdales échangeuses d'ions réparties dans un liant inerte comme du polyéthylène, une résine phénolique ou du polychlorure de vinyle (PVC). Les membranes hétérogènes contiennent souvent plus de 65% en masse de particules échangeuses d'ions et souffrent donc d'un taux de gonflement élevé. Les membranes homogènes sont obtenues par polymérisation directe de monomères fonctionnels, les groupements ionisables sont introduits par greffage chimique ou radiochimique sur le support.

II.3.1.2. Propriétés physico-chimiques des membranes échangeuses d'ions :

L'utilisation des MEI dans les procédés électromembranaires implique le respect d'un cahier de charge très précis concernant leurs paramètres physico-chimiques. Une haute permselectivité, une faible résistance électrique, une bonne stabilité mécanique et une bonne stabilité chimique, sont les principaux critères d'efficacité d'une membrane.

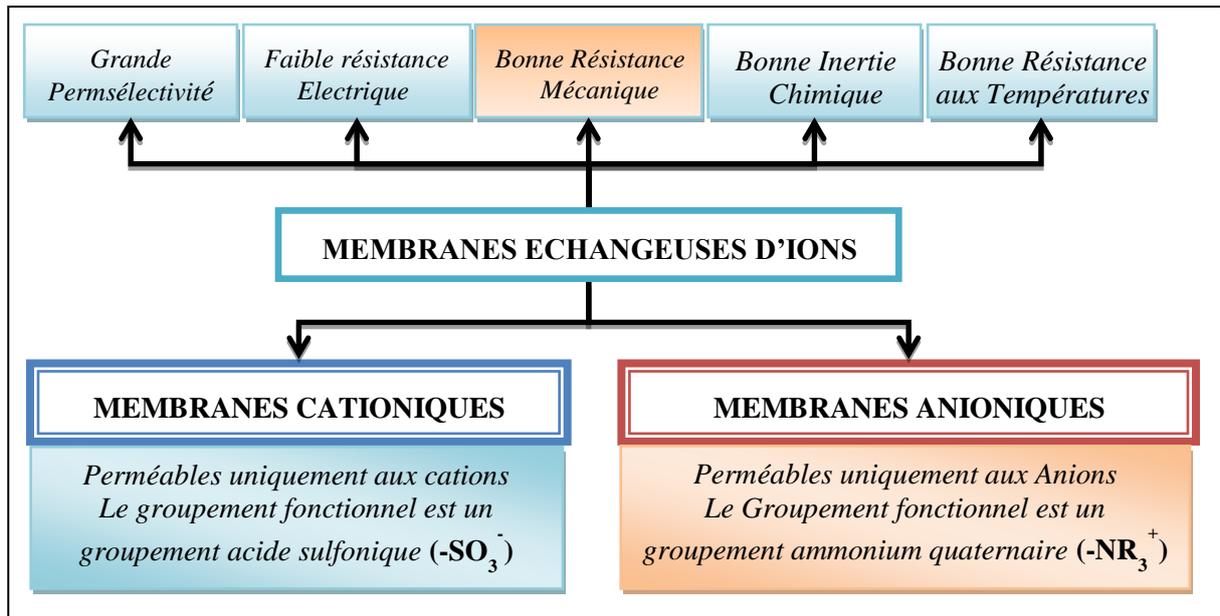


Figure n°II.5 : Propriétés des membranes échangeuses d'ions

Cependant d'autres facteurs sont aussi importants, ils sont cités ci-dessous

II.3.1.2.1. Capacité d'échange :

Elle est définie comme étant le nombre d'équivalents de sites ioniques (groupements fonctionnels) par gramme de membrane sèche. La capacité d'échange varie de 1 à 5 meq/g. En pratique, elle peut aussi être évaluée par le nombre de moles d'ions (et donc d'équivalents) échangés par mètre carré de membrane.

II.3.1.2.2. Taux de réticulation :

Il dépend de la proportion d'agents réticulants introduits au moment de la fabrication de la membrane. Généralement, il ne dépasse pas les 30%.

II.3.1.2.3. La permselectivité :

La permselectivité décrit l'aptitude d'une membrane à favoriser la migration d'un type d'ion (contre-ion) tout en empêchant la migration des ions de signe contraire (co-ion). Ce n'est pas une constante caractéristique de la membrane: elle dépend de la nature des solutions et de leurs concentrations (Roque-Malherbe, R.M.A., 2010)

II.3.1.2.4. Résistance mécanique :

Les membranes échangeuses d'ions doivent avoir une bonne tenue mécanique pour pouvoir résister aux contraintes auxquelles elles sont soumises lors de leurs utilisations, en particulier, en électrodialyse (montage et démontage du module).

II.3.1.2.5. Résistance électrique :

La résistance électrique quantifie la cinétique de transport ionique au sein de la membrane échangeuse d'ions. Elle déterminera le besoin en énergie électrique pour l'utilisation dans un procédé électromembranaire. La membrane échangeuse d'ions doit assurer une bonne perméabilité des contre-ions, donc une bonne conductivité électrique. Elle dépend non seulement de la nature des ions qui portent le courant mais aussi de la nature du matériau polymère, de sa teneur en eau et de son degré de réticulation.

II.3.1.2.6. Stabilité chimique et thermique :

Les membranes échangeuses d'ions doivent fonctionner dans une large gamme de pH et de température, en présence d'agents chimiques ou biochimiques agressifs.

II.3.1.2.7. Gonflements :

Un gonflement des membranes est dû à la pénétration du réseau macromoléculaire qui forme la structure de la membrane par le solvant en particulier l'eau. Cette dernière est retenue par les sites échangeurs à caractère hydrophile. Le gonflement est limité par la réticulation chimique entre les chaînes polymériques hydrophobes qui constituent la trame de la membrane.

II.3.2. Membranes bipolaires :

Ce sont des membranes formées par collage d'une membrane échangeuse d'anions sur une membrane échangeuse de cations. Ces membranes permettent la production des acides et des bases à partir de leur sel, par dissociation de l'eau en H^+ et OH^- au niveau de la surface de collage. Les faces EC et EA sont disposées respectivement du côté de la cathode et du côté de l'anode, de façon à permettre le transfert des ions ainsi produits vers

les solutions adjacentes (figure n°II.6). Leurs principales caractéristiques est qu'elles doivent :

- ✓ Présenter une perméabilité élevée à l'eau afin d'entretenir la réaction de dissociation de celle-ci ;
- ✓ Avoir une faible résistance des deux faces des membranes au transfert des ions H^+ et OH^- produits ;
- ✓ Avoir une bonne sélectivité et une bonne résistance aux pH extrêmes.

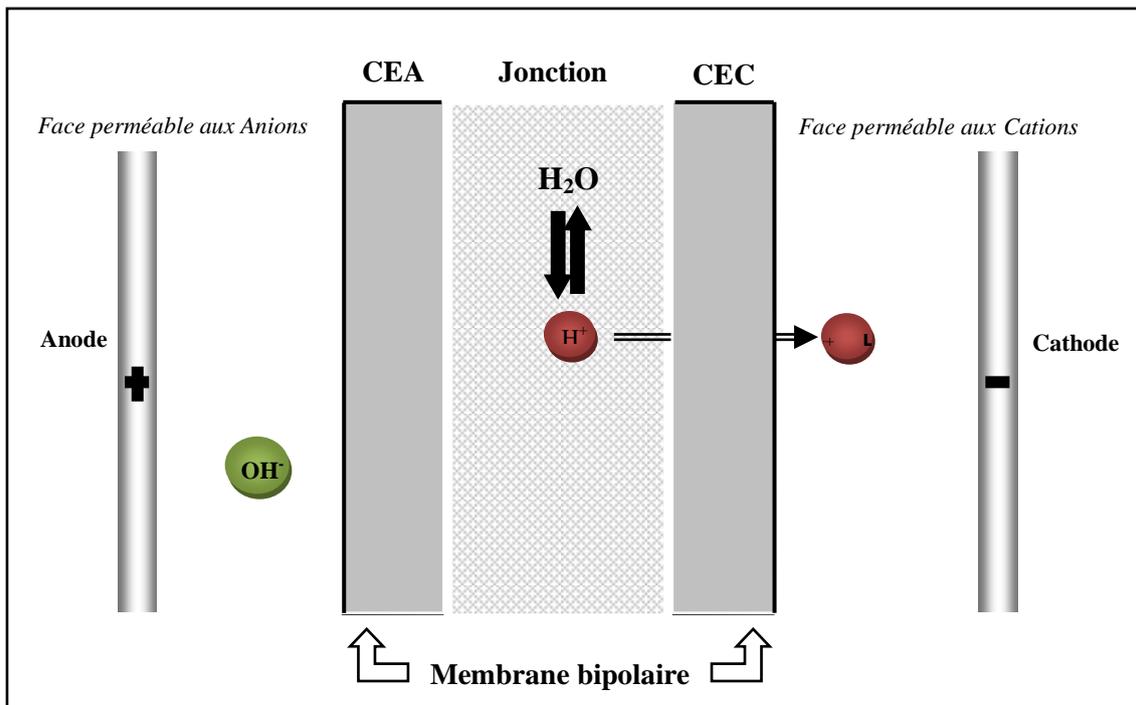


Figure n°II.6: Vue éclatée d'une membrane bipolaire (MBP), constituée d'une couche échangeuse de cations (CEC), d'une couche échangeuse d'anions (CEA) et d'une interface entre ces deux couches (Jonction)

II.4. PHENOMENES PRINCIPAUX LIES A L'ELECTRODIALYSE ET LIMITATIONS DE LA TECHNIQUE :

La capacité de séparation de certains ions d'un mélange ions/molécules neutres est non seulement déterminée par les propriétés des membranes échangeuses d'ions mais aussi par des paramètres opératoires directement liés au module membranaire : ce sont la densité de courant et la densité de courant limite. Une définition de ces paramètres permet d'expliquer les phénomènes auquel tout procédé membranaire est confronté : la polarisation de concentration et le colmatage. Dans le cas de l'électrodialyse, la polarisation de concentration est déterminée essentiellement par la densité de courant et les vitesses d'écoulement des flux du dilué et du concentré. Le colmatage, difficile à contrôler et aux conséquences quasi-irréversibles est souvent dû à l'adsorption de polyélectrolytes ioniques souvent contenus dans les solutions à traiter : ces composés pénètrent partiellement ou totalement dans la membrane entraînant une baisse définitive de la perméabilité sélective par occupation des sites échangeurs d'ions. Pour y remédier, l'inversion périodique du courant électrique est souvent appliquée. Cette dernière transforme les compartiments de dilution en compartiments de concentration et vice versa.

II.4.1. Polarisation de concentration :

Un profil de concentration, lors du passage du courant, s'établit rapidement et ceci est dû aux différences de mobilité des ions dans la solution et dans les membranes. Les nombres de transport des contre-ions à transférer sont plus grands dans la membrane que dans la solution. Cela se traduit, à l'interface membrane/solution, par des gradients de concentration dans les couches limites laminaires. Côté dilué, nous avons une décroissance de la concentration des contre-ions, alors qu'une augmentation de la concentration de ceux-ci a lieu côté concentré (figure n°II.7): c'est la polarisation de concentration spécifique à la présence d'un courant électrique.

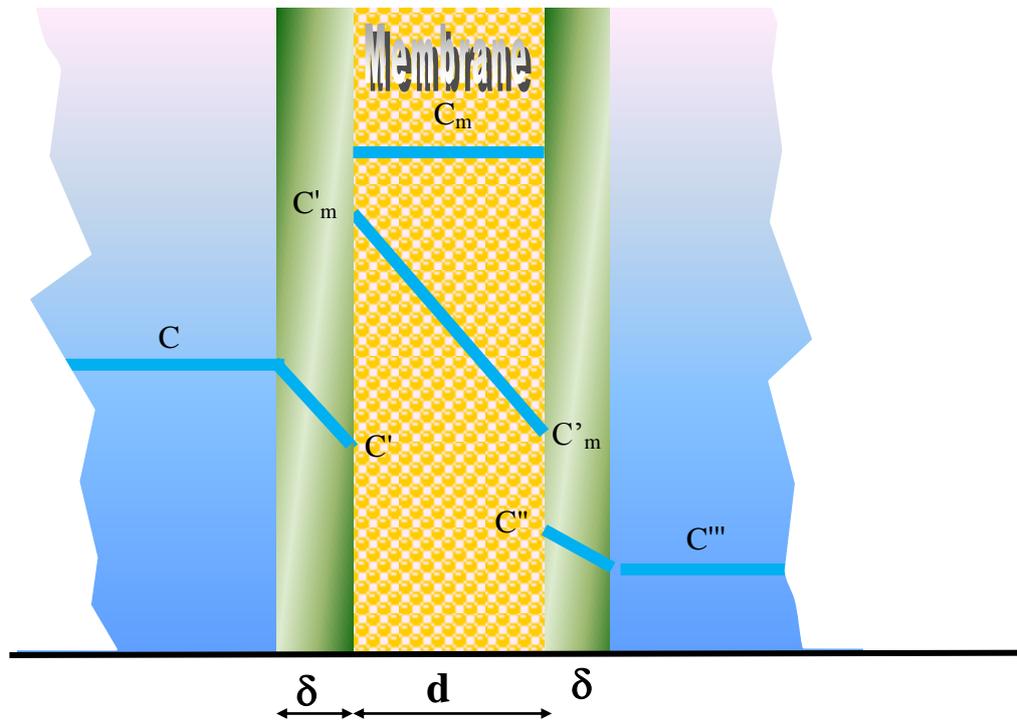


Figure n° II.7 : Profil des concentrations en électrodialyse.

- C : Concentration de l'ion en solution
- C'_m : Concentration de l'ion ayant traversé la membrane au temps t
- C' et C'' : Concentration à l'interface membrane - couche limite
- C_m : Concentration dans la membrane à l'état d'équilibre
- C''_m : Concentration de l'ion ayant traversé la membrane
- C''' : Concentration de l'ion en solution après passage à travers la membrane

II.4.2. Courant limite :

Si la densité de courant augmente (en augmentant la tension appliquée aux bornes du module) cela provoque un accroissement du flux d'ions jusqu'à ce que la concentration à la paroi membranaire devienne nulle. C'est la densité maximale de courant qui peut être atteinte. Elle est appelée densité de courant limite et notée i_{lim} .

Le phénomène de polarisation primaire en électrodialyse devient important quand l'intensité de courant appliquée est élevée. La densité du courant limite est atteinte lorsque la valeur de la concentration à l'interface solution-membrane tend vers zéro, dans ce cas la polarisation est dite totale, d'où l'expression suivante :

$$i_{\text{lim}} = \frac{Z.F.D.C}{\delta.(t_m - t_s)} \quad (1)$$

Avec :

- i** : Densité de courant mA/cm² ;
- Z** : Valence de l'ion ;
- D** : Coefficient de l'ion en solution ;
- δ** : Epaisseur de la couche limite ;
- F** : Constante de Faraday (96 500 Coulombs) ;
- t_m** : Nombre de transports dans la membrane ;
- t_s** : Nombre de transports dans la solution.

La densité du courant limite (i_{lim}) dépend de la concentration de la solution et de l'épaisseur de la couche limite.

La figure n°II.8 représente la courbe intensité-potentiel. Elle nous permet de déterminer la valeur de la densité de courant limite i_{lim} . On y distingue trois zones :

- 1- Une première région linéaire qui correspond à la variation de la densité de courant i en fonction de la tension appliquée V . La pente de cette droite représente la somme des résistances de l'électrolyte et des membranes. Dans cette zone, la loi d'Ohm $U=R.I$ est vérifiée.
- 2- Un palier qui représente la polarisation totale de la cellule de l'électrodialyseur, le flux ionique traversant la membrane atteint sa valeur maximale et la densité de courant reste constante quand la tension augmente.
- 3- Au-delà, l'intensité se remet à croître. Ceci n'est pas dû à une reprise du transfert des espèces en solution mais à l'électrolyse de l'eau. En effet quand la tension devient suffisamment grande, le courant appliqué sert à la dissociation de l'eau en H^+ et OH^- qui transportent à leur tour le courant. Ceci entraîne une surconsommation néfaste d'énergie, des variations de pH pouvant occasionner des dégradations irréversibles et une augmentation de la résistivité du milieu. L'efficacité du procédé est donc altérée. Il faudra donc toujours opérer en deçà de la

valeur de la densité de courant limite car le fonctionnement de l'électrodialyseur en cette troisième région réduit considérablement la durée de vie des membranes.

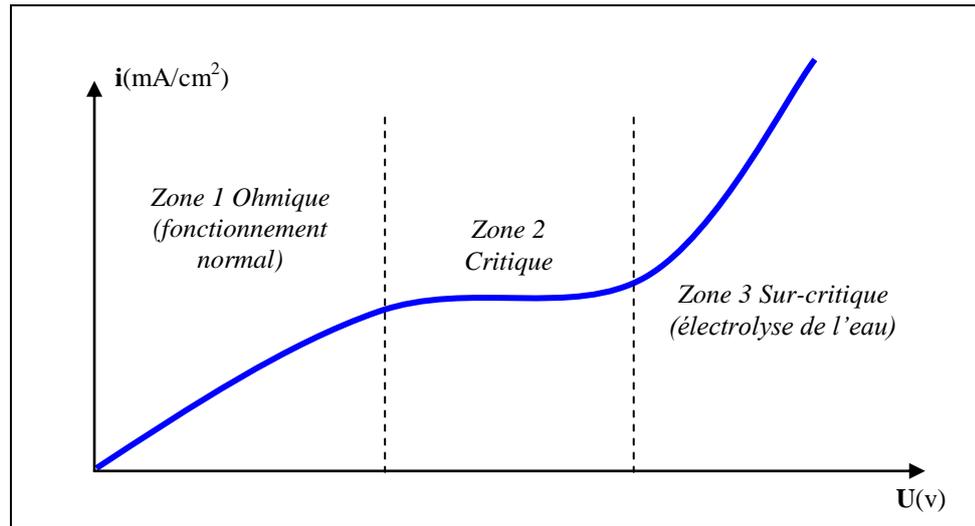


Figure n°II.8 : Evolution de l'intensité I en fonction de la tension appliquée U aux bornes de l'empilement

En pratique, cette valeur est déterminée en mesurant l'intensité I (en A) pour une tension U (en V) croissante appliquée aux bornes de l'empilement. L'intensité I et la densité de courant i sont liées par l'expression :

$$I = i \cdot a$$

où a : l'aire de la membrane.

En portant: le rapport U/I en fonction de $1/I$, le point de changement de pente P , appelé point de polarisation donne la valeur de I_{lim} (figure n°II.9).

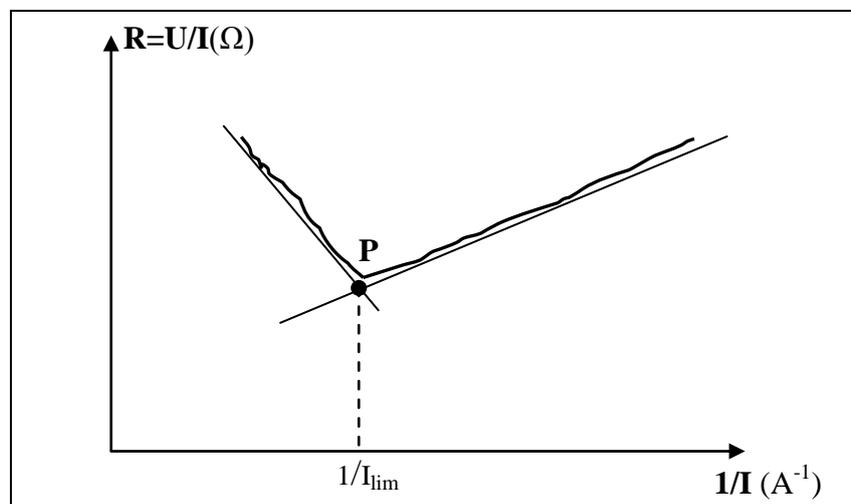


Figure n°II.9: Détermination expérimentale de la valeur de I_{lim} .

La densité de courant limite i_{lim} est donc une fonction directe de la concentration ionique de la solution à déminéraliser. Lors de l'électrodialyse, au fur et à mesure que la concentration en ions diminue, le courant limite diminue. S'il est dépassé, la concentration à l'interface membrane solution tend vers zéro et la résistance de la solution tend vers l'infini : ceci crée un échauffement local pouvant entraîner une détérioration irréversible de la membrane (brûlure, variation de pH). I_{lim} doit donc être impérativement connu et maîtrisé tout au long de l'électrodialyse. Pour cela, il sera intéressant de déterminer I_{lim} à concentration constante. Les conditions opératoires pourront alors être fixées de manière à ne jamais dépasser I_{lim} .

II.5. RENDEMENT FARADIQUE :

Le rendement Faradique d'un électrodialyseur est défini comme étant la fraction du courant effectivement transportée par les ions migrant du diluât vers le concentrât. Il est égal au rapport du nombre d'équivalent réellement transférés sur le nombre d'équivalent théorique.

Pour les ions monovalents, le rendement Faradique est donné par la relation suivante :

$$R_F = \frac{(C_i \cdot V_i - C_f \cdot V_f) \cdot F}{I \cdot t \cdot n} \quad (2)$$

Où :

- C_i, C_f : Concentrations initiale et finale (mole/L) ;
- V_i, V_f : Volumes initial et final (L) ;
- F : Nombre de Faraday = 96 500 coulombs ;
- I : Intensité (A) ;
- t : Temps (s) ;
- n : Nombre de cellules.

Le rendement faradique, compris entre 0 et 1, permet de quantifier l'efficacité de l'électrodialyse. Une valeur égale à 1 signifie que le courant débité dans le système sert entièrement au transport des ions. L'écart à 1 résulte de divers phénomènes :

- ✓ De l'imparfaite sélectivité des membranes ;
- ✓ De l'existence d'autres contre-ions migrant à travers les MEI et faisant diminuer le rendement faradique vis-à-vis de la molécule.

II.6. DOMAINES D'APPLICATION DE L'ELECTRODIALYSEUR :

En fait, l'électrodialyse a été surtout envisagée jusqu'ici pour le dessalement d'eaux saumâtres pour la production d'eau potable, et pour l'épuration des eaux résiduares de salinité supérieure à 0.4 g/L. Cette technique n'est pas adaptée pour le traitement des eaux de salinité supérieure à 3 g/L ce qui l'exclut le plus souvent pour le dessalement de l'eau de mer. Elle est utilisée surtout dans le traitement des concentrâts issus des unités d'osmose inverse pour la production de sel (C. Jiang et al., 2014 ; Y. Yang et al., 2014 ; M. Badruzzaman et al., 2009 ; M. Sadrzadeh et T. Mohammadi, 2009).

D'autre part, l'ED occupe une large place dans l'industrie agro-alimentaire pour traiter les co-produits. Elle est utilisée pour désacidifier les jus de fruits et les vins et pour le dessalement de lactosérum en vue de son recyclage pour l'alimentation animale, la confection de glaces ou encore comme base pour les préparations de laits infantiles (M. Fidaleo et M. Moresi, 2006 ; E. Vera et al., 2003 ; F. Smagghe, et al., 1992). Elle est appliquée aussi dans la déminéralisation des solutions rencontrées dans l'industrie chimiques et pharmaceutiques afin de les purifier (H. Grib et al., 2000 ; L. Yu et al., 2000). De nombreux procédés sont proposés depuis une dizaine d'années pour contribuer au recyclage d'effluent de tannerie, de bains acides, d'eau de rinçage contenant des métaux lourds et toxiques (A. Mahmoud et A.F.A. Hoadley, 2012 ; M.A.S. Rodrigues et al., 2008).

Ces derniers temps, un intérêt renouvelé s'est manifesté pour cette technologie membranaire, la technologie elle-même a été perfectionnée, au bénéfice de la robustesse de l'installation ED et des membranes. Elle permet à la fois de réduire le taux de nitrate et de diminuer la dureté des eaux provenant des nappes phréatiques (A. El Midaoui et al., 2002). Des membranes échangeuses d'anions éliminant de manière sélective le nitrate ont été mises au point (F. Hell et al., 1998 ; T. Sata et al., 1998). A titre d'exemple, cette technique a été installée avec succès dans 15 usines en Israël, qui économisent plus de 55% des coûts de l'eau au profit des clients (Nitron - SED, 2009). Ainsi qu'en France où une installation a été mise en fonction en 2001 dans la région de la Vienne (commune de Jaunay-Clan) avec un taux de réduction des nitrates de 80 % (Novelect, 2003). Cette dernière présentait de nombreux avantages :

- automatisation, simplicité d'exploitation, maintenance légère,
- grande stabilité du traitement et qualité constante de l'eau traitée,
- double abattement (nitrates et calcaire) avec une seule technologie.

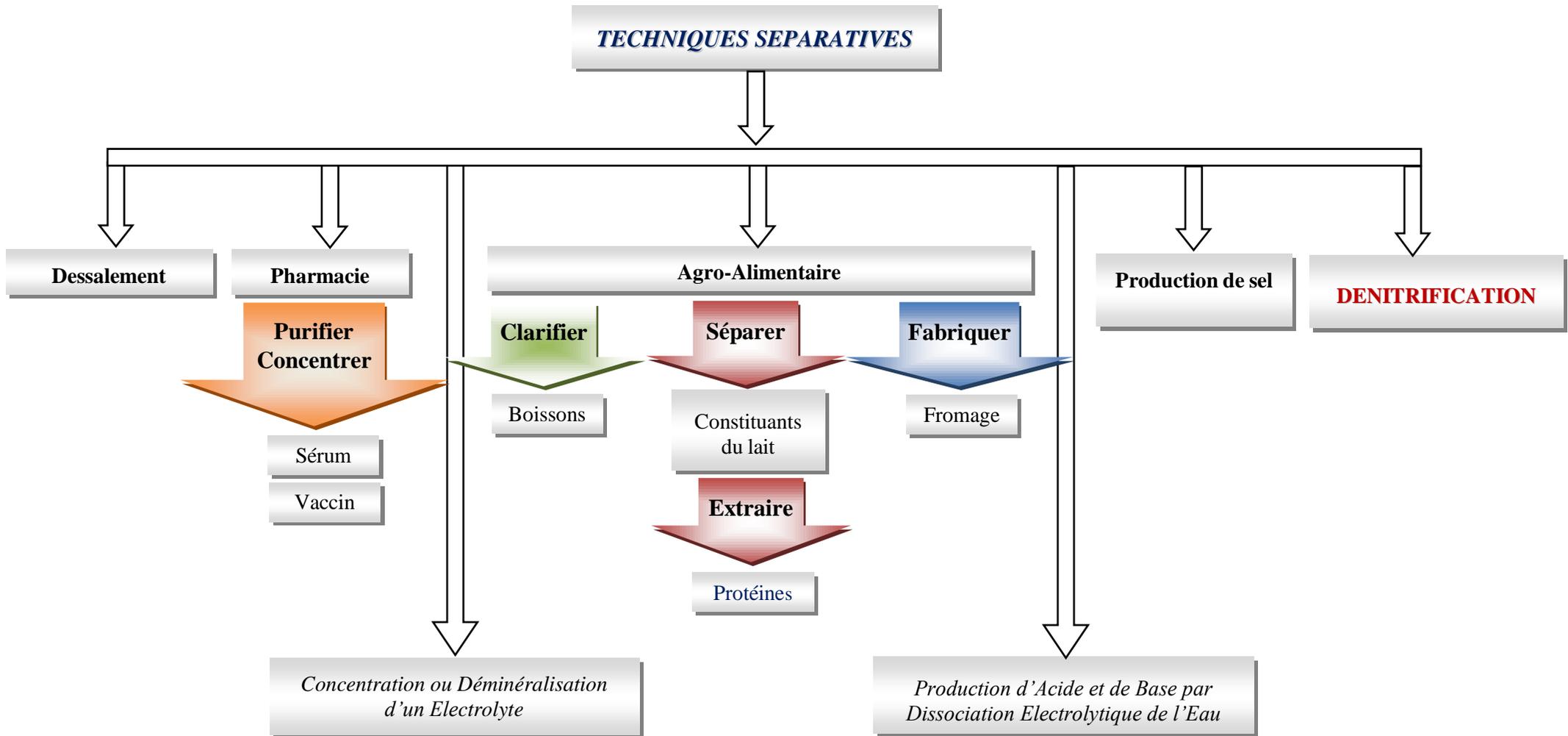


Figure n°II.10: Principales applications de l'électrodialyse

Les nombreuses combinaisons et variations de membranes étendent à peu près à l'infini le nombre des applications de l'électrodialyse. Cette dernière ne se limite pas à la séparation des matières minérales en solution aqueuse. Les composants organiques et même les solvants organiques tels le méthanol ou l'éthanol entrent dans le cadre des possibilités, à condition que les flux soient suffisamment conducteurs.

D'autres avantages de l'électrodialyse : compacité, et économie d'énergie qui provient du fait que le flux dans un empilement d'électrodialyse passe le long des membranes, contrairement à d'autres technologies membranaires où le flux passe à travers les membranes.

Les conséquences s'en ressentent aussi dans l'encrassement des membranes. Dans les procédés basés sur la pression, les impuretés de grande dimension présentes dans le flux de liquide sont pressées contre les membranes, sans qu'ils puissent les traverser. Leur concentration augmente localement donnant lieu à des problèmes de colmatage et d'entartrage. En électrodialyse, le flux est parallèle aux membranes, la surface de celles-ci est constamment nettoyée. Ce qui n'exclut pas totalement les problèmes de colmatage et d'entartrage, mais en diminue en tout cas l'importance. Cependant afin de réduire l'entartrage des membranes, il est possible d'inverser la polarité des électrodes plusieurs fois par heure pendant que le système fonctionne, la direction du mouvement des ions est ainsi modifiée. C'est le procédé d'électrodialyse inverse.

Enfin, un autre avantage de l'électrodialyse réside dans sa souplesse d'utilisation. Dès sa mise en marche, quelques secondes suffisent pour obtenir de l'eau traitée correspondant aux normes définies. Cette technologie supporte des arrêts et des mises en marche rapprochés ou éloignés sans altération de son fonctionnement ou de la qualité de l'eau produite. De plus, cette technique produit moins de rejets d'eau que les autres procédés sur membrane (A. Kapoor et T. Viraraghaven, 1997).

Avec tous ces avantages, l'électrodialyse n'en reste pas moins un procédé qui n'élimine pas la pollution, dans notre cas elle permet de la concentrer ; donc elle nécessite un procédé complémentaire et pour cela nous avons opté pour la méthode biologique où les ions nitrates provenant de l'unité d'électrodialyse seront éliminés par des bactéries. Une définition plus détaillée de cette technique sera donnée dans le chapitre qui suit.

Chapitre III

La dénitrification biologique

En raison des nombreux champs de recherche concernés par les nitrates et le processus de dénitrification (atténuation naturelle, traitement eau potable/eaux usées/eaux industrielles, etc.), la littérature est extrêmement riche et variée. L'objectif ici n'est pas de fournir une revue exhaustive des travaux menés sur la problématique des nitrates et du processus de dénitrification. Ce chapitre pose simplement les bases et le contexte des travaux ultérieurs utiles à notre étude. Pour ce faire, nous allons tout d'abord définir la dénitrification ainsi que ses différents mécanismes. Les principaux facteurs influençant la dénitrification hétérotrophe seront traités par la suite. Enfin, nous aborderons la notion de réacteur à bactéries fixées (lit fixe, notion de biofilm, supports bactériens, etc.)

III.1. INTRODUCTION :

La dénitrification biologique est l'un des procédés les plus efficaces pour l'élimination des nitrates des eaux. En effet c'est une méthode qui est plus économique que conventionnelle faisant appel au traitement par des microorganismes. Ces derniers ont besoin de sources énergétiques et de substances chimiques indispensables pour la synthèse de leurs constituants cellulaires et à leur reproduction (G. Martin, 1979).

III.2. MECANISMES DE LA DENITRIFICATION :

Il est intéressant de rappeler que la réduction du nitrate ou du nitrite ne conduit pas toujours à la production d'azote moléculaire. En effet, deux autres réactions peuvent se produire et surtout interférer avec la dénitrification : les réactions de réduction assimilatrice et de réduction en azote ammoniacal (figure n°III.1).

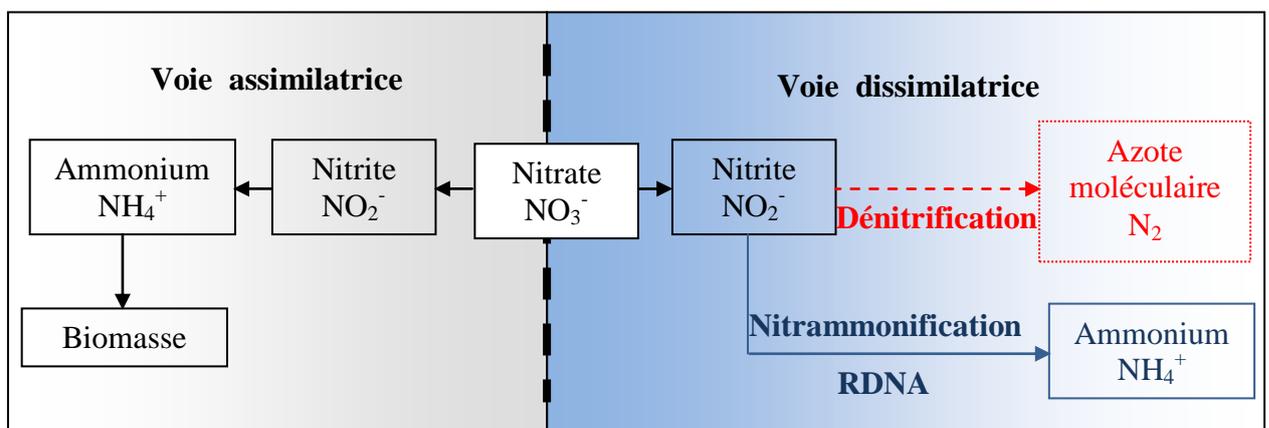


Figure n°III.1 : Les voies de réduction du nitrate

III.2.1. Réduction assimilatrice :

Les nitrates sont réduits par les bactéries en ions ammonium. L'azote contenu dans ce dernier est incorporé en matériau cellulaire. Cette réduction de l'azote est appelée « réduction assimilatrice ». A noter que l'ion ammonium sera utilisé pour la biosynthèse des protéines et autres constituants cellulaires (M.H. Gerardi, 2002 ; G. Martin, 1979). Lors de ce processus, l'ion nitrate est tout d'abord réduit en nitrite puis en ammonium avant d'être converti en matière organique, i.e. en nouvelle biomasse

III.2.2. La nitrammonification ou Réduction Dissimilatrice des Nitrates en Ammonium (RDNA) :

En conditions strictes d'anaérobiose et lorsque la quantité de matière organique fermentescible est importante, E. Fazzolari et al. (1990) notent que la production d'ammonium prend le pas sur la production de formes azotées gazeuses. Cette réduction appelée nitrammonification, majoritairement engendrée par des organismes fermentatifs telles que les bactéries entériques, ne peut cependant être considérée comme de la dénitrification biologique, l'ammonium restant potentiellement ré-oxydable en nitrate (M. Chatelier, 2010).

III.2.3. La dénitrification biologique disassimilative ou dissimilatrice :

La *dénitrification biologique disassimilative* est un processus anoxie qui repose sur la respiration des bactéries qui utilisent les nitrates et nitrites à la place de l'oxygène de l'air (« respiration des nitrates »). Destinée à fournir de l'énergie sous forme d'ATP (Adénosine-Tri-Phosphate) pour l'activité cellulaire et la synthèse de nouvelles cellules, la dénitrification disassimilative prend généralement place en conditions anaérobies, i.e. lorsque la teneur en oxygène dissous n'est plus suffisante pour la respiration aérobie énergétiquement plus favorable (M.H. Gerardi, 2002 ; G. Martin, 1979). Ces microorganismes vont changer leur métabolisme pour utiliser les formes oxydées d'azote (NO_3^- , NO_2^-) comme accepteurs d'électron au lieu de l'oxygène moléculaire (O_2) et qui les transforment en azote gazeux. Les oxydes d'azote solubles, nitrates (NO_3^-) ou nitrites (NO_2^-), sont transformés en composés gazeux : oxyde nitrique (NO), oxyde nitreux (N_2O) et/ou diazote (N_2).

Le processus de dénitrification s'effectue en quatre étapes, au cours desquelles, l'atome d'azote lié à l'oxygène gagne progressivement des électrons, et passe du degré d'oxydation + 5 au degré d'oxydation 0 (Figure n°III.2). Chacune de ces étapes est catalysée par une enzyme : la nitrate réductase, la nitrite réductase, l'oxyde nitrique réductase et l'oxyde nitreux réductase (J.Y. Park et Y.J. Yoo, 2009 ; B. Ovez et al, 2006 ; J. Pelmont, 2005).

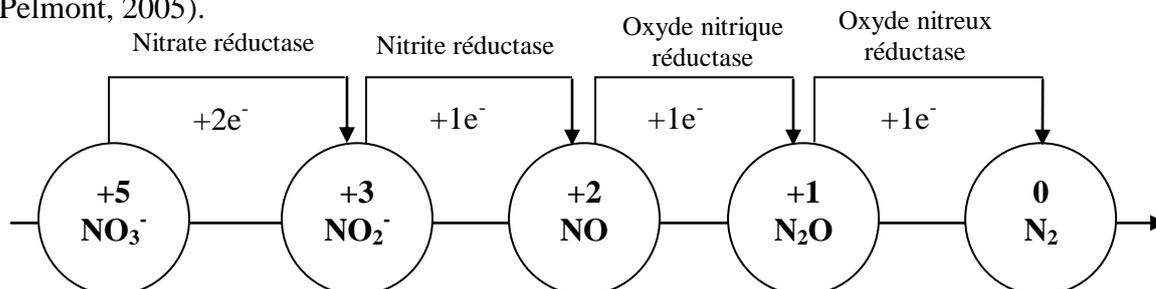


Figure n°III.2 : Gains d'électrons et degré d'oxydation des différents éléments azotés au cours des différentes étapes de la dénitrification.

La réaction complète d'oxydo-réduction nécessite un donneur d'électrons. La nature du donneur d'électrons définit deux mécanismes de dénitrification associés à des métabolismes bactériens différents. 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. De ce fait deux voies sont possibles : la dénitrification autotrophe et la dénitrification hétérotrophe

III.2.3.1. La dénitrification autotrophe :

La dénitrification autotrophe est un phénomène rencontré parfois, de manière spontanée, dans les eaux souterraines. Elle est quasiment absente dans les eaux de surfaces vue leur richesse en matière organique. Elle met en jeu des bactéries qui oxydent (C. Hashly et H. Leclerc, 1993):

- ✓ le soufre (ou composés soufrés comme la pyrite) c'est le cas de *Thiobacillus denitrificans*
- ✓ le fer (*Ferrobacillus ferroxidans*) (N. Abdi-Haider, 1986) ;
- ✓ l'hydrogène gazeux où la bactérie la plus connue est *Hydrogenomonas*.

Même si son utilisation est moins répandue, certaines usines de traitement à pleine échelle emploient la dénitrification autotrophe. Selon M.O. Ratel (2001) l'application d'un tel procédé en France est au stade pilote alors que V. Mateju et al. (1992) décrit le fonctionnement d'une usine de dénitrification autotrophe à Montferland (Pays Bas), à pleine échelle d'une capacité de 35 m³/h équipée d'un réacteur au soufre et au calcaire. L'usine permet de retirer plus de 90 % du nitrate d'une eau brute contenant 80 mg/L de nitrate.

III.2.3.2. La dénitrification hétérotrophe :

La dénitrification hétérotrophe est la réaction la plus utilisée dans les procédés biologiques mis en œuvre à l'échelle industrielle. Ce processus est connu depuis fort longtemps, Gayon et Dupetit en 1882, à la suite des travaux de Schonbein en 1868. La dénitrification s'effectue en **condition anoxique** (hors oxygène gazeux) sous l'action de bactéries hétérotrophes qui utilisent l'oxygène des nitrates pour oxyder un substrat carboné organique.

Il existe une vingtaine d'espèces de bactéries strictement dénitrifiantes. Généralement non sporulées, à Gram négatif et aérobies strictes, elles appartiennent notamment aux genres *Bacillus*, *Paracoccus* et *Pseudomonas* (*P. denitrificans*, *P. Stutzeri*, *B. Licheniformis*). Ces dernières peuvent oxyder un grand nombre de substrats carbonés. Le substrat carboné fournit à la fois l'énergie et le carbone nécessaire au métabolisme et aux synthèses cellulaires. Pour un même nombre d'atomes de carbone, plus le substrat sera réduit, plus grand sera le nombre d'électrons libérés, et plus la chaîne sera courte, plus rapide sera sa dégradation.

Comme ces bactéries dénitrifiantes (*Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, etc) ont une préférence pour l'oxygène libre, il est nécessaire que ce dernier soit absent pour que la dénitrification ait lieu. Une concentration de 0,2 mg O₂/L serait suffisante pour inhiber la dénitrification dans un procédé par boues activées traitant des eaux usées domestiques (Metcalf et Eddy, 2003)

Les bactéries dénitrifiantes sont présentes en milliard dans un gramme de particules et représentent environ 80% de toutes les bactéries présentes dans une boue activée.

Le tableau n°III.1 représente les nombreux genres de bactéries qui contiennent des espèces dénitrifiantes (M.H. Gerardi, 2002).

Tableau n°III.1 : Genres de bactéries de boue activée qui présentent des espèces dénitrifiantes

<i>Achromobacter</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Neisseria</i>
<i>Acinetobacter</i>	<i>Flavobacterium</i>	<i>Paracoccus</i>
<i>Agrobacterium</i>	<i>Gluconobacter</i>	<i>Propionibacterium</i>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Holobacterium</i>	<i>Pseudomonas</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Hyphomicrobium</i>	<i>Rhizobium</i>
<i>Chromobacterium</i>	<i>Kingella</i>	<i>Rhodopseudomonas</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Methanonas</i>	<i>Spirillum</i>
<i>Denitrobacillus</i>	<i>Moraxella</i>	<i>Thiobacillus</i>
<i>Enterobacter</i>		<i>Xanthomonas</i>

En dénitrification des eaux potables, le substrat doit bien sûr ne présenter aucune toxicité. A titre d'exemple, le Ministère Chargé de la Santé en France a autorisé l'utilisation de l'éthanol et de l'acide acétique (M.O. Ratel, 2001).

❖ **Synthèse et mécanisme d'intérêt :**

La Figure n°III.3 reprend les différentes voies de réduction des nitrates reconnues à ce jour. Ce schéma pointe la dénitrification hétérotrophe comme le processus d'intérêt sur lequel se focaliseront les travaux à venir.

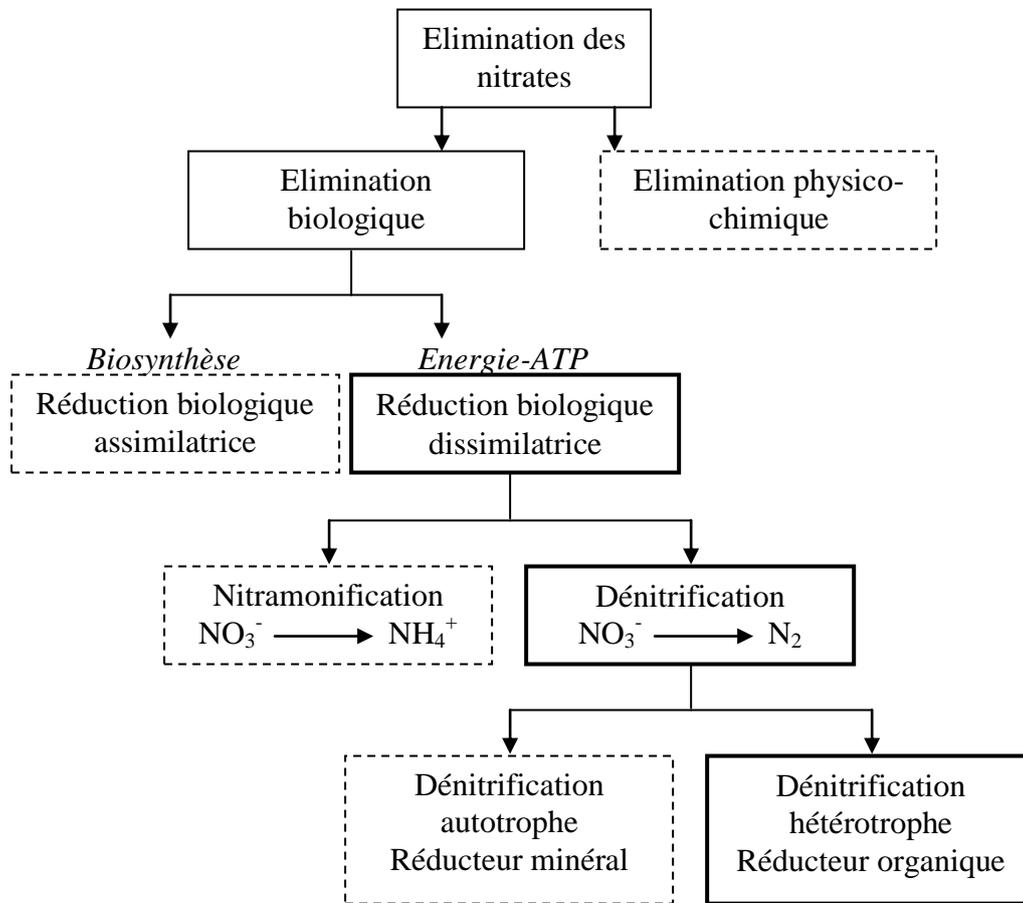


Figure n°III.3: *Différentes voies de réduction des nitrates.*

La voie biologique disassimilative constitue le processus d'intérêt pour notre étude.

III.3. FACTEURS INFLUENÇANT LA DENITRIFICATION :

La dénitrification étant réalisée par de nombreuses espèces de bactéries ayant des exigences physico-chimiques différentes, les valeurs optimales pour les paramètres influençant la dénitrification peuvent varier en fonction de l'espèce bactérienne concernée. La plupart des études examinées indiquent que la dénitrification hétérotrophe est influencée par les paramètres suivants (M.O. Rivett et al 2008 ; K.M. Hiscock et al. 1999,):

- La concentration en oxygène dissous ;
- La source de carbone ;
- Le pH ;
- La température ;
- L'activité des nutriments et micro-nutriments ;
- La salinité ;
- Le temps de rétention hydraulique ;
- Substances inhibitrices.

III.3.1. La concentration en oxygène dissous :

La dénitrification ne peut avoir lieu qu'en absence d'oxygène dissous dans le milieu. Les bactéries réalisant la dénitrification étant des aérobies facultatives, elles consomment l'oxygène dissous avant l'oxygène des nitrates, la dénitrification étant moins rentable d'un point de vue énergétique que la respiration. Pour la réduction du nitrate en nitrite, le potentiel standard E° ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) est de + 430 mV. Du nitrite à l'oxyde nitreux, le potentiel E° (NO_2^-/NO) est de + 350 mV. Ces valeurs se comparent au potentiel de l'oxygène (+ 810 mV) (J. Pelmont, 2005).

En plus de l'effet de concurrence, la présence d'oxygène dissous peut affecter l'activité enzymatique de la dénitrification et la régulation de l'expression génétique. La nitrate réductase et l'oxyde nitreux réductase qui catalysent, respectivement, la première et la quatrième étape du processus de dénitrification sont inhibées par les différentes concentrations d'oxygène. Cet effet inhibiteur peut arrêter le processus enzymatique, donnant lieu à une progressive réduction de la production d'azote moléculaire et l'accumulation en conséquent des différents produits intermédiaires, principalement nitrite et oxyde d'azote (composés hautement toxiques) (R.I. Fernandes, 2011 ; J. Pelmont 2005 ; M.A. Gomez et al., 2000 ; K.M. Hiscock et al 1991). Pour cette raison, il est nécessaire

d'utiliser une concentration en oxygène la plus faible possible afin d'effectuer la dénitrification. Les concentrations limites sont d'ailleurs variables selon les auteurs et les bactéries (C. Hashly et H. Leclerc, 1993). Des concentrations limitantes de 6 mg/L et 9,5 mg/L ont été rapportées par G. Martin (1979), alors que F. Beline et al. (2001) mentionnent que l'inhibition de la dénitrification apparaîtrait pour une oxygénation supérieure à 3,8 mg O₂/L.

Selon C. Hashly et H. Leclerc (1993) dans la pratique industrielle, la teneur en oxygène dans l'eau à dénitrifier ne semble pas poser de problème du fait que l'excès de substrat organique sera utilisé tout d'abord par respiration aérobie, ce qui prouve la tolérance des bactéries dénitrifiantes à l'oxygène.

III.3.2. La source de carbone :

Le substrat carboné fournit à la fois l'énergie et le carbone nécessaire au métabolisme et aux synthèses cellulaires. Pour un même nombre d'atomes de carbone, plus le substrat sera réduit, plus grand sera le nombre d'électrons libérés, et plus la chaîne sera courte, plus rapide sera sa dégradation.

Les principaux produits utilisés sont les alcools, les acides faibles et les sucres. Mais presque tous les composés qui peuvent être dégradés en présence d'oxygène peuvent aussi être utilisés comme substrat pour la réduction des nitrates et des nitrites tq : la paille de blé (F. Boussaid, 1987 ; M. Vossoughi et al., 1982), du grignon d'olive (Z. Salem et al., 2007), de la drèche (N. Benyoucef et al, 2013), des granulés de polyester synthétiques (Y. Xu et al., 2011), des polymères biodégradables (C.S. Srinandan et al., 2012), etc...

Le processus de dénitrification est davantage sensible à la qualité qu'à la quantité de carbone organique présent dans l'eau et les sédiments. Certaines espèces de bactéries ont des affinités marquées pour certaines sources de carbone. Également, certaines différences au niveau de la croissance et du taux de dénitrification ont été observées en fonction des sources de carbone (P.M. Groffman et al., 1991).

En dénitrification des eaux potables, le substrat doit bien sûr ne présenter aucune toxicité, généralement l'éthanol et l'acide acétique sont les plus utilisés dans les stations de traitement d'eau potable. Actuellement, toutes les installations existantes en France fonctionnent avec de l'éthanol. La production de boues est moindre avec le substrat éthanol qu'avec le substrat acide acétique (M.O. Ratel, 2001). Par contre, dans le traitement des

eaux usées, le méthanol est le plus souvent utilisé et ce grâce à son faible coût et à la faible production de biomasse (L. Foglar et F. Briski, 2003, N.R. Louzeiro et al., 2002, G. Koch and H. Siegrist, 1997, P. Timmermans et A. Van Haute, 1983).

Une étude d'impact environnemental sur l'utilisation de trois sources de carbone (méthanol, éthanol et acide acétique) en station d'épuration a été réalisée par l'institut du méthanol. Les catégories étudiées sont :

- ✓ Réchauffement climatique ;
- ✓ Acidification ;
- ✓ Effet cancérigène ;
- ✓ Effet respiratoire ;
- ✓ Phénomène d'eutrophisation ;
- ✓ Appauvrissement de la couche d'ozone ;
- ✓ Ecotoxicité ;
- ✓ Effet smog.

Leurs résultats montrent que les trois sources de carbone étudiées permettent l'élimination de l'azote dans les eaux usées; Cependant, en termes d'impact environnemental, ils ne sont pas tous les mêmes. Le méthanol a eu l'impact le plus faible dans la plupart des catégories contrairement à l'acide acétique qui a eu le plus grand impact. Les valeurs obtenues sont regroupées dans le tableau n°III.2 (Methanol Institute, 2012).

Tableau n°III.2 : Impacts des trois sources de carbone pour la dénitrification

Catégorie d'impact	Méthanol	Ethanol	Acide acétique	Unité/kg de NO ₃ ⁻ éliminé
Réchauffement climatique	1.4	2.07	2.71	Kg CO ₂ équivalent
Acidification	0.152	0.487	0.408	H ⁺ moles équivalent
Effet cancérigène	0.00108	0.00381	0.00585	Kg benzène équivalent
Effets respiratoires	0.000683	0.00129	0.00213	Kg PM _{2.5} équivalent
Phénomène d'eutrophisation	-0.235	-0.220	-0.229	Kg N équivalent
Appauvrissement de la couche d'ozone	0.165	0.146	0.339	Kg CFC-11 équivalent
Ecotoxicité	1.12	1.29	4.32	Kg 2,4-D équivalent
Effet smog	0.00176	0.00337	0.00488	g NO _x équivalent

III.3.3. Le rapport C/N :

Quelle que soit la source de carbone utilisée, la détermination 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 (J.J. Her et J.S. Huang, 1995, K. Bernat et al., 2003). Cette dernière augmente avec le rapport C/N jusqu'à un maximum au-delà duquel la vitesse devient indépendante du rapport (M.O. Ratel, 2001). Le rapport diffère selon les auteurs et la nature du substrat carboné.

III.3.4. Le phosphate :

Les ions PO_4^{3-} qui interviennent dans la transformation $\text{ATP} \longleftrightarrow \text{ADP}$, sont nécessaires à la croissance bactérienne. Ils apparaissent comme un facteur limitant de la croissance. De faibles valeurs en phosphore favorisent l'accumulation des nitrites (V. Rocher et al, 2011 ; W.J. Hunter, 2003 ; Z.H. Abu-Ghararah, 1994). Alors que de grandes valeurs de phosphate favorisent cette croissance aux dépens de la dénitrification. En effet, des études ont montré que la vitesse de la dénitrification atteint un maximum pour des valeurs comprises entre 0,45 et 0,55 mg/L de PO_4^{3-} (M.O. Ratel, 2001).

III.3.5. Les nutriments :

Outre le carbone et l'azote, les bactéries dénitrifiantes ont également besoin d'autres nutriments tels que le phosphore et le soufre. A cela s'ajoute des oligo-éléments tels que les divers minéraux qui sont nécessaires mais en quantités mineures (K, Na, Mg, Ca et Fe), et de certains métaux à l'état de trace (Mn, Zn, Cu, Co et Mo) (M.O. Rivett et al., 2008 ; K. M. Hiscock et al., 1991). Toutefois, la plupart des eaux souterraines contiennent des concentrations adéquates de minéraux nécessaires à la croissance microbienne (R.I. Fernandes, 2011).

III.3.6. Le pH :

La gamme de pH préféré par la dénitrification hétérotrophe est généralement comprise entre 5,5 et 8,0 (C.M. Rust et al., 2000) avec un optimum aux environs de 7-7,5. Des valeurs de pH en dehors de cette plage peuvent entraver le processus de dénitrification. Un environnement fortement acide ($\text{pH} < 5$) peut inhiber la dénitrification et arrêter la chaîne de dénitrification avec la formation de NO_2^- et N_2O . C. Glass et al (1997) ont constaté que l'inhibition de la dénitrification par l'acide nitreux augmente avec la diminution du pH, et c'est pour cette raison qu'il est nécessaire de le maintenir à des valeurs supérieures à 7 afin de minimiser l'inhibition.

B.M. Peyton et al. (2001) ont réussi à dénitrifier une eau fortement chargée en sel issu de la cellule de régénération de l'unité d'échange d'ion avec un pH 9. Seulement ces bactéries ont été adaptées à ce milieu.

III.3.7. La température :

La dénitrification peut s'effectuer dans une gamme de température très étendue. La température optimale pour la dénitrification est comprise entre 25 °C et 35 °C. Cependant, les changements de température influent sur le métabolisme des bactéries. Plus la température s'éloigne de la température optimale de l'espèce bactérienne, plus le métabolisme bactérien ralentit (US EPA. 1993). La température affecte donc le taux d'élimination des nitrates ainsi que le taux de croissance de la biomasse, mais les procédés de dénitrification peuvent se produire dans la plage de température de 2 °C - 75 °C (M.O. Rivett et al., 2008 ; J. Carrera et al., 2003 ; G.Halmo et K. Eimhjellen, 1981).

III.3.8. La salinité :

La salinité est un inhibiteur connu de la dénitrification (M.O. Rivett et al., 2008) surtout dans les régions côtières où un pompage excessif des aquifères d'eau douce conduit à l'intrusion d'eau salée. Le taux de dénitrification diminue avec l'augmentation de la salinité au-delà de 5 g/L pour une biomasse formée en eau douce (C. Glass et J. Silverstein. 1999). Cependant, avec une période d'adaptation adéquate et une lente augmentation des concentrations en sels, il est possible d'adapter une boue activée municipale à la dénitrification d'une eau industrielle très salée (60 g NaCl /L.) (C. Dahl et al., 1997). A.S.

Ucisik et M. Henze (2004) arrivent à dénitrifier une eau contenant des chlorures allant jusqu'à 96,7 g Cl⁻/L (159 g NaCl/L). Toutefois, ces conditions extrêmes ont affecté les taux de dénitrification. Les taux volumétriques ont été réduits par un facteur de dix lorsque la concentration en ion chlorure passait de 4,8 à 96,7 g/L.

III.3.9. Le Temps de Rétention Hydraulique (TRH) :

L'un des facteurs influençant la dénitrification est la vitesse du fluide qui transporte les nitrates dans le système pour que les bactéries puissent le dégrader. Elle se traduit par le temps de rétention hydraulique (HRT). Un temps de rétention long et une concentration en carbone trop élevée favorisent la croissance des bactéries qui n'exécutent que la première phase de la dénitrification ce qui se traduit par une accumulation des ions nitrites. Par contre, si le temps de rétention ou la concentration en carbone sont insuffisants, les nitrates seront réduits en nitrites lesquels seront rejetés à l'effluent (M. Martienssen et R. Schops, 1999). E. Klimiuket et D. Kulikowska (2006) constatent que le taux d'élimination des nitrates diminue avec l'augmentation du HRT.

III.3.10. Les substances inhibitrices :

Outre l'influence de l'oxygène (J. Oh et J. Silverstein, 1999) et du pH, d'autres composés peuvent inhiber la dénitrification tels que l'acétylène, les cyanures, les pesticides et des composés organiques (hydrocarbures) dans des concentrations telles qu'ils sont toxiques pour les bactéries de dénitrification (F. Gilbert et al., 1997, R.I. Fernandes, 2011). Les nitrites sont également toxiques envers la dénitrification (A. Jang et al., 2003), car leur accumulation fait diminuer le pH et cette acidité inhibe la synthèse enzymatique des nitrates et nitrites réductases (C. Glass et J. Silverstein, 1998).

Les métaux tels que Cr, Cu, Ni et Pb influent aussi sur la dénitrification par la répression de la croissance bactérienne à cause de leur complexation avec la matière organique (G. Martin, 1979).

III.4. LES PROCÉDES DE DENITRIFICATION :

Les systèmes de dénitrification biologique peuvent être des réacteurs à biomasse libre (boue activée) ou alors des réacteurs à cultures fixées (procédés à biofilm). En général, les systèmes de dénitrification biologique nécessitent un post-traitement pour retirer la biomasse et les matières organiques biodégradables qui sont présentes dans l'effluent du réacteur. Les procédés habituels de post-traitement comprennent l'aération, la filtration, l'utilisation de carbone activé et la désinfection (Santé Canada, 2013; K.J. Meyer et al., 2010).

III.4.1. Systèmes à boues activées :

Ce procédé est généralement employé dans les stations de traitement des eaux usées. L'eau à traiter est mise en contact dans un réacteur semi-fermé à mélange intégral avec la biomasse agrégée en flocs bactériens. Le réacteur à boue activée, où s'effectue la dénitrification, est généralement couvert pour minimiser l'absorption microbienne de l'oxygène atmosphérique. Toutefois, des petits orifices doivent être laissés pour l'évacuation du gaz carbonique et de l'azote gazeux formés. Une bonne agitation de la liqueur est obligatoire pour avoir un bon contact entre les micro-organismes et les nutriments, et de là une meilleure épuration.

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

- une concentration admissible en biomasse peu élevée (5 à 7 g/L),
- 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.

III.4.2. Systèmes à bactéries fixées :

L'eau passe à travers un garnissage sur lequel est fixée une culture bactérienne formant ainsi un biofilm qui accomplit l'épuration de cette eau. Si les stations d'épuration utilisent généralement des systèmes à bactéries libres, les stations de dénitrification en eau potable fonctionnent selon des systèmes à bactéries fixées. Ces dernières, présentent l'avantage d'un très haut niveau de concentration de la biomasse, donc d'un rendement

meilleur, et ne nécessitent pas de clarificateur (M.O Ratel, 2001). La fixation sur support minéral peut être soit en lit fluidisé ou alors en lit fixé.

III.4.2.1. Lit fluidisé :

En lit fluidisé la taille des particules est inférieure à 1 mm et le flux est ascendant avec une vitesse de manière à obtenir une fluidisation. Cette technologie est intéressante car la surface développée par le milieu fin est élevée et permet une forte concentration en bactéries. Par contre, il a été observé une fuite de matière en suspension dans l'eau traitée (M.O Ratel, 2001).

V. Mateju et al. (1992) ont publié des données sur une usine de traitement sur lit fluidisé où le donneur d'électrons employé est le méthanol et où du phosphate est ajouté comme nutriment. Le taux d'élimination de cette usine est de 74%, seulement des concentrations élevées en nitrite ont été observées de manière intermittente dans l'effluent.

La France est le pays possédant le plus grand nombre d'installation industrielle de dénitrification hétérotrophe. Actuellement, ces installations fonctionnent selon des procédés de lit fixé.

Toutefois, des expériences ont déjà été menées sur lits fluidisés (M.O. Ratel, 2001), ce dernier présentait les inconvénients suivants :

- Le maintien délicat du lit en expansion ce qui limiterait son utilisation à la dénitrification des eaux peu polluées
- Fuite des matières en suspension et de la boue produite nécessitant un traitement de clarification.

III.4.2.2. Lit fixé :

La taille des particules minérales en lit fixé est supérieure à 1 mm, le flux d'eau est ascendant mais avec une vitesse telle qu'il n'y a pas de fluidisation ou à flux descendant. La biomasse reste stockée dans les interstices du matériau.

A titre d'exemple, en Europe, plusieurs unités de dénitrification biologique des eaux potables chargées en nitrates existent depuis de nombreuses années, alors qu'en Amérique du Nord cela n'a été appliqué que récemment (Santé Canada, 2013). Les

procédés les plus couramment utilisés et les plus efficaces sont la dénitrification hétérotrophe à lit fixe et à circulation ascendante ainsi que les lits à base d'hydrogène. K.J. Meyer et al. (2010) (cité par Santé Canada, 2013) mentionnent que les paramètres opérationnels les plus importants à prendre en compte sont l'optimisation du taux de charge superficielle en nitrate ainsi que le dosage du substrat et des nutriments. L'emploi d'une quantité insuffisante de donneur d'électrons peut entraver l'élimination du nitrate ou entraîner la formation de nitrite en raison d'une dénitrification incomplète. Tandis que l'utilisation d'une quantité trop grande de donneur d'électrons peut entraîner la présence d'une quantité excessive de matières biodégradables dans l'effluent du réacteur.

❖ CONCLUSION :

Bien que les méthodes de dénitrification biologique transforment les nitrates en un produit inoffensif, leur mise en œuvre est délicate et nécessite une maîtrise de tels processus ainsi qu'un contrôle et un suivi rigoureux et permanents des paramètres de fonctionnement (mécaniques, physico-chimiques et biologiques). En outre, des post-traitements intensifs sont nécessaires afin d'éliminer les bactéries ainsi que la source de carbone et de garder toujours une qualité d'eau adaptée à la consommation humaine, à cela s'ajoute la formation des produits intermédiaires NO_2^- et N_2O pour un rapport C/N élevé et le risque de prolifération bactérienne. Pour toutes ces raisons la dénitrification biologique est peu utilisée dans la production d'eau potable, elle est cependant largement utilisée dans le traitement des eaux usées. Dans ce qui suit nous allons nous intéresser à l'étude de la dénitrification sur lit fixe, objet de notre travail. Cette dernière repose sur la capacité des bactéries fixées sur un support inerte à dégrader la matière organique. Cette fixation conduit à la formation d'un biofilm. Donc, avant d'énumérer les paramètres qui influent sur le bon déroulement des réacteurs à lit fixe, il est important de définir ce qu'est qu'un biofilm.

III.5. LES BIOFILMES POUR LA DENITRIFICATION :

III.5.1. Définition d'un biofilm :

Un biofilm est constitué de microorganismes adhérant à une surface ou une interface en milieu humide ou aqueux, on parle alors de communautés microbiennes sessiles. Ces micro-organismes sont englobés dans une matrice généralement constituée de polymères extracellulaires ou EPS ("extrapolymeric substances") sécrétés par ces mêmes micro-organismes. Les EPS renferment en majorité des polysaccharides macromoléculaires et à moindre mesure des protéines, des lipides et acides nucléiques (S. Parot, 2007).

III.5.2. Etapes de formation d'un biofilm :

La formation d'un biofilm bactérien sur une surface solide est un phénomène complexe dans lequel des processus physiques, chimiques et biologiques sont impliqués. Pour qu'un biofilm puisse se former, il faut la présence d'une interface colonisable, d'une solution aqueuse comme moyen de transport et comme aide à l'adhésion, de nutriment et de microorganismes bien sûr (généralement des bactéries) (R. Schmidt, 1999). La constitution d'un biofilm mature nécessite plusieurs étapes (Figure n°III.4) :

- ✓ attachement réversible des bactéries,
- ✓ adhésion irréversible et production d'EPS,
- ✓ formation des micro-colonies,
- ✓ maturation du biofilm et mise en place de la structure tridimensionnelle du biofilm,
- ✓ détachement du biofilm.

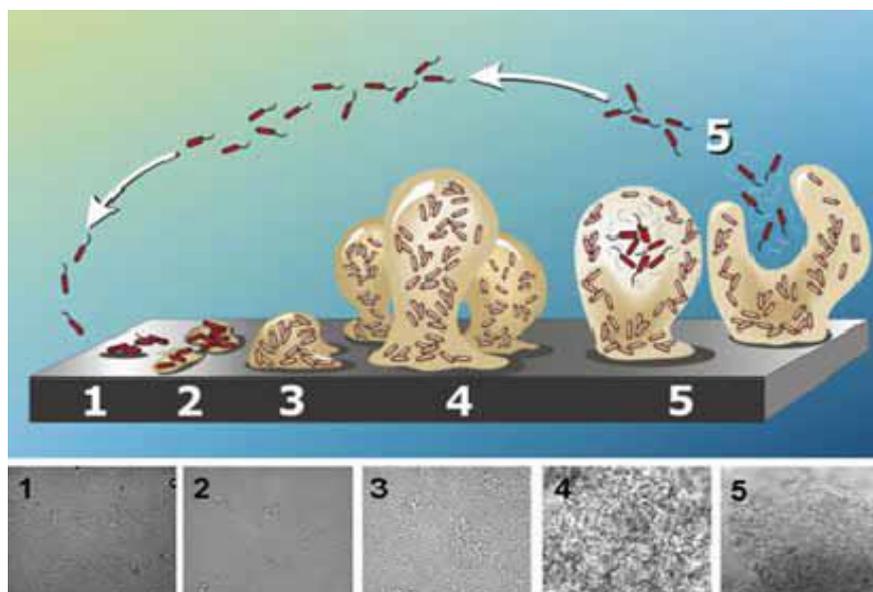


Figure n°III.4 : Les différentes étapes de formation d'un biofilm

II.5.2.1. Conditionnement de la surface par le milieu :

La nature du milieu, du matériau, ainsi que les caractéristiques de surface de ce dernier, sont des paramètres essentiels intervenant lors de cette première étape. En effet, la surface est le siège d'une absorption irréversible de macromolécules telles que des acides humiques, des polysaccharides ou des protéines, conduisant à la formation d'un film conditionnant ("conditionning film"). Ce film est qualifié de conditionnant car il peut modifier les propriétés de surface initiales du matériau ce qui a pour conséquence soit de prévenir l'approche des bactéries soit au contraire de créer un micro-environnement favorable à l'adhésion stable des bactéries.

Un solide immergé dans un liquide acquiert une charge de surface, soit par ionisation de groupes de surface, soit par adsorption d'ions présents dans la phase aqueuse. Une fois chargée, cette surface attire des contre-ions correspondant à des nutriments inorganiques et organiques qui peuvent être utilisés par les bactéries. Par conséquent, la formation de cette couche électrique est indirectement une source potentielle de nutriments.

III.5.2.2. Adhésion des bactéries : Cette adhésion se déroule en deux étapes, une première réversible de nature physicochimique qui suit les lois d'adsorption avec des forces attractives et répulsives, suivi d'une seconde irréversible de nature biologique avec la production d'exopolymères cellulaires.

Au cours de la première étape, les cellules se rapprochent de la surface du support par interactions attractives gouvernées par les forces de Van Der Waals et les liaisons chimiques hydrophobes et ioniques. Elles peuvent alors s'y fixer de façon réversible. Ces forces sont liées aux propriétés physico-chimiques des cellules et de la surface du solide (J. Azeredo et R. Oliveira, 2003 ; M.M. Alves et al., 1999).

La seconde étape fait intervenir la production de polysaccharides secondaires ainsi que d'autres polymères biologiques tels que les protéines. Elle est considérée comme responsable de la fixation irréversible entre les cellules et la surface. La force d'adhésion d'un biofilm suit le même phénomène que la densité et augmente avec la profondeur (J. Azeredo et R. Oliveira, 2003 ; M.M. Alves et al. 1999).

La colonisation initiale a lieu préférentiellement dans les cavités et les creux du support, à l'abri des mouvements convectifs du milieu (S. Michaud, 2001).

III.5.2.3. Croissance du biofilm :

Une fois que la bactérie est irréversiblement adhérente à la surface, sa multiplication conduit à la formation de colonies qui vont recouvrir toute ou une partie de la surface selon les propriétés de surface des bactéries et des matériaux. La structure du biofilm dépend des conditions environnementales telles que la source de carbone ou le régime hydrodynamique (M. Klausen et al., 2006 ; N.R. Stanley et al., 2003). Par la suite le biofilm a une croissance exponentielle se traduisant par une augmentation importante de son épaisseur jusqu'à former un film hétérogène tridimensionnel. Dans cette structure tridimensionnelle se forment des canaux permettant la circulation de nutriments (S. Parot, 2007), d'oxygène et l'évacuation des produits issus du métabolisme bactérien. Finalement l'épaisseur du biofilm se stabilise lorsque les phénomènes d'arrachement du biofilm compensent sa croissance. La durée de la phase de croissance dépend de la quantité de substrat disponible dans le milieu.

III.5.2.4. Dispersion du biofilm :

Le détachement de cellules du biofilm intervient lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables : limitation de la disponibilité en oxygène dans des biofilms épais, apparition de forces de cisaillement dues aux conditions hydrodynamiques, diminution de la concentration ou modification de la nature des nutriments disponibles (S. Parot, 2007 ; R. Schmidt, 1999). Les bactéries peuvent alors migrer afin de trouver un environnement plus favorable à leur développement. Ce phénomène n'est pas restreint au dernier stade du développement du biofilm mais peut avoir lieu, soit par lyse cellulaire soit par le départ de cellules viables, tout au long de la formation du biofilm et en réponse à un changement d'environnement comme une forte diminution de la charge ou la présence d'un toxique, mais aussi à la perte permanente de petites particules de la surface du biofilm, essentiellement provoquée par les forces de cisaillement.

Les données expérimentales sur le taux de détachement du biofilm dans les réacteurs à lit fluidisés signalés par C. Nicolella et al., (2000) ont montré que le coefficient du taux de détachement spécifique augmente fortement avec l'augmentation de la vitesse d'écoulement.

III.5.3. Pourquoi utilise-t-on les procédés à biofilm ?

Les procédés à cultures fixées possèdent des avantages par rapport aux procédés à cultures libres. L'hétérogénéité structurelle du biofilm lui confère la possibilité d'abriter différents types de microorganismes dans différentes niches écologiques. Ainsi, une grande diversité d'organismes se développe. A titre d'exemple, Il a été prouvé que les bactéries nitrifiantes se développaient plus en profondeur au sein du biofilm où l'oxygène est encore présent pour la nitrification, mais où il n'y pas compétition avec les souches hétérotrophes à croissance plus rapide. Cette technologie associe les principaux avantages du biofilm et des procédés classiques à boue activée (D. Di Trapani et al., 2010 ; T. Sriwiriyarat et C.W. Randall, 2005). Le système à cultures fixées fournit une surface volumique élevée pour les microorganismes par l'attachement naturel du biofilm sur les supports dans le bassin d'aération. En conséquence, l'âge des boues est bien évidemment augmenté, sans modification notable de l'exploitation du système.

La présence de biomasse sur les supports augmente également la stabilité du système biologique en réduisant des problèmes des surcharges organiques et des charges toxiques, et en fournissant un âge de boue plus long pour les bactéries nitrifiantes (T. Sriwiriyarat et C.W. Randall, 2005).

III.5.4. Les supports bactériens et la formation du biofilm :

Les supports de biofilm devraient avoir des propriétés physiques et chimiques désirables dans le but de réussir l'attachement des microorganismes et supporter la croissance microbienne. De nombreuses études ont été réalisées afin de déterminer le meilleur support pour l'adhésion des microorganismes. Bien que le choix semble directement lié à la nature de l'effluent à traiter, en partie par sa composition minérale, certaines caractéristiques sont apparues comme primordiales et concernent l'état de surface du support, la nature chimique de la surface solide ainsi que la taille de la particule (surface spécifique) (S. Michaud, 2001).

La fixation des bactéries sur un support approprié dépend de l'hétérogénéité des surfaces, de la charge électrique et du pouvoir adsorbant. Cette fixation conduit à une très grande concentration de bactéries dans le réacteur ce qui permet un meilleur rendement (C. Moreno-Castilla et al., 2003 ; I. Wojnowska-Baryła et M. Zielińska., 2002 ; S. Michaud, 2001).

III.5.4.1. L'état de la surface du support :

La texture de la surface et la porosité du solide ont un impact important sur l'attachement des bactéries. En effet, les supports poreux permettent une colonisation plus rapide. M.M. Alves et al. (1999) réduisent de 50% le temps de démarrage avec un matériau poreux par rapport à du sable. Cependant, une grande rétention de biomasse engendre des problèmes de diffusion des éléments nutritifs qui se traduit par une baisse de l'activité du biofilm. La partie active du biofilm en surface recouvre une zone non active de biomasse, ce qui tend à baisser l'activité spécifique du biofilm jusqu'à 50%. L'obtention d'un biofilm fin très actif est donc le principal objectif dans la mise en place d'un procédé très compact.

A cela s'ajoute la rugosité du support qui est considérée comme le point le plus favorable pour la rétention de biomasse. Mais ce sont les surfaces modérément rugueuses qui présentent les meilleures capacités de rétention. D'autre part, les supports qui possèdent des surfaces avec des angles très aigus présentent des taux d'abrasion trop élevés et sont défavorables à la colonisation bactérienne. (S. Michaud, 2001)

III.5.4.2. La nature chimique de la surface solide

La nature chimique d'un solide peut avantager les cinétiques de colonisation. En effet, la première étape de fixation réversible des bactéries est une étape physico-chimique, gouvernée par ce type d'interaction. Les bactéries en solution aqueuse présentent généralement une surface de charge négative, le caractère positif du support, au pH du réacteur, ne peut donc que favoriser le premier contact. Il a été rapporté également que certains auteurs ont choisi des supports hydrophobes et chargés positivement (S. Michaud, 2001)

La composition chimique du solide influence également la fixation initiale. I. Apilanez et al. (1998) ainsi que M. Kuroda et al. (1988) ont obtenu une colonisation rapide et plus importante pour des matériaux composés de carbone, sans pouvoir bien en expliquer les raisons. De même, les supports à base de sodium, calcium et magnésium ont des capacités de rétention de biomasse supérieures. Cette caractéristique serait liée à la possibilité d'échange de cation du support, favorisant un micro-environnement riche en Na^+ , Ca^{2+} et Mg^{2+} appropriés pour la nutrition microbienne (S. Montalvo et al., 2012).

La composition chimique du support affecte particulièrement le rapport entre les bactéries du biofilm ce qui entraîne un comportement différent vis à vis de la dégradation suivant la nature de l'effluent (S. Michaud, 2001, R. Schmidt, 1999).

III.5.4.3. La taille et la surface disponible :

L'augmentation de la surface de solide augmente les chances de fixation des bactéries sur le support et peut être considérée comme un critère de rapidité d'adhésion. Les particules de petites tailles permettent une surface spécifique élevée (C. Hashly et H. Leclerc, 1993).

III.5.5. Matériaux support pour les bactéries dénitrifiantes :

En application industrielle, les matériaux les plus couramment utilisés dans la dénitrification sont : la biolite (argile extrudée), le biodagène (schiste poreux), la pouzzolane (roche volcanique) et le sable. La granulométrie varie entre 2 et 5mm. Ce choix est un compromis, sachant que des matériaux de petites tailles, permettront un meilleur rendement mais conduiront à un colmatage plus rapide (M.O. Ratel, 2001).

Des anneaux pall en plastiques ont été également utilisés comme support pour la dénitrification d'une eau chargée en nitrate dans un lit immergé (J. Oh et al, 2001). Ces anneaux sont considérés comme un excellent support grâce à leur grande porosité qui permet la fixation d'une grande quantité de biomasse produite (J. Oh et al, 2001).

A l'échelle laboratoire plusieurs matériaux ont été utilisés comme supports. À titre d'exemple, Q. Wang et al. (2009) publient des résultats de travail de dénitrification des eaux souterraines avec des fibres (80% coton et 20% térylène) comme support bactérien. W.J.B. Saliling et al. (2007) utilisent des copeaux de bois et de la paille de blé. C. Moreno-Castilla et al. (2003) optent pour le charbon actif, alors que I. Wojnowska-Baryla et M. Zielińska (2002) utilisent de la céramique pour l'élimination du carbone et l'azote des eaux usées.

III.5.6. Phénomène de colmatage des supports bactériens :

Même si les procédés à cultures fixées possèdent beaucoup plus d'avantages, ils présentent certaines limites et leur efficacité pourrait être compromise par le phénomène de colmatage. Ce dernier est dû à plusieurs processus d'origines physiques, chimiques et biologiques dont les principales causes sont, respectivement : la rétention et l'accumulation de matières dans les pores du solide, la précipitation chimique et la croissance des micro-organismes ainsi que le dépôt de produits issus du métabolisme bactérien et de produits extracellulaires (S. Chabaud, 2007).

Chapitre IV

Matériels et méthodes

Afin d'évaluer dans quelle mesure le couplage électrodialyse – colonne biologique peut effectivement apporter une solution vis à vis de la problématique de la pollution des eaux potables par les nitrates, notre travail s'est articulé de la façon suivante. :

Dans un premier temps, nous avons optimisé les paramètres de la dénitrification par électrodialyse. Nous avons également étudié l'influence de la composition ionique sur les grandeurs de transfert en électrodialyse effectuée avec des effluents synthétiques contenant des ions chlorures et sulfates sachant que ces derniers sont très présents dans les eaux nord africaines.

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à la dénitrification biologique sur colonne en optimisant les paramètres hydrodynamiques du bioréacteur.

Enfin, le couplage électrodialyse – biodénitrification a été réalisé pour traiter une eau à 100 mg/L en nitrate choisie en fonction de la teneur la plus fréquente contenue dans les eaux naturelles algériennes.

Ce chapitre présente le matériel et les méthodes utilisés au cours de cette étude ainsi que les caractéristiques du pilote d'électrodialyse, les différents protocoles opératoires mis en œuvre, le dispositif ayant servi à l'étude de la dénitrification biologique, la sélection des bactéries dénitrifiantes et leur fixation sur différents supports et enfin les méthodes analytiques utilisées pour caractériser les effluents.

IV.1. PARTIE ELECTROMEMBRANAIRE :

Les essais de dénitrification par électrodialyse ont été réalisés sur un pilote de laboratoire à deux compartiments relié à différents appareils de mesure que nous présentons ci-dessous.

IV.1.1. Dispositif expérimental :

IV.1.1.1. Pilote de laboratoire de type P1 :

Toutes les expériences ont été réalisées sur le même pilote d'électrodialyse. Ce dernier est de type Aqualyseur de la société CORNING (figure n°IV.1). Il est composé d'une alimentation hydraulique, d'une alimentation électrique et du réacteur d'électrodialyse. Il est équipé d'un système d'acquisition de données permettant l'acquisition en temps réel de la conductivité, de l'intensité, du voltage et du pH.

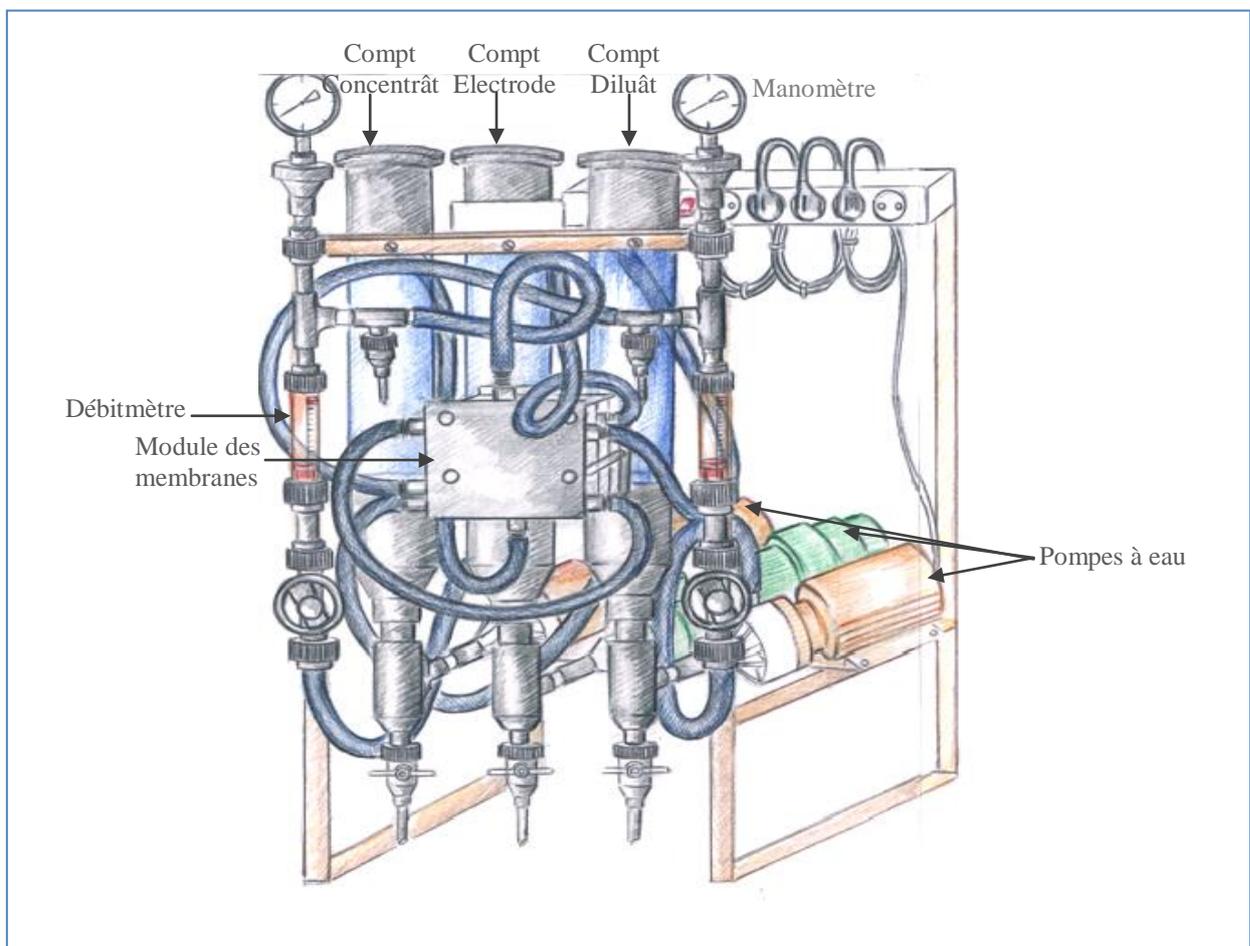


Figure n°IV.1 : Pilote d'électrodialyse

La vue éclatée du module d'électrodialyse est représentée sur la figure n°IV.2. Il est constitué d'un empilement de 19 membranes anioniques (AMV) et de 20 membranes cationiques (CMV) de nature **Styrène-divinyle benzène**. La surface utile de chaque membrane est de 69 cm², leurs propriétés physico-chimiques sont regroupées dans le tableau n°IV.1.

Tableau n°IV.1 : Propriétés des membranes échangeuses d'ions :

Nom	SELEMION® AMV	SELEMION® CMV
Type	ANION	CATION
Résistance électrique (W/cm ²)	1.5 – 3.0 (0.5 M NaCl)	2.0 – 3.5 (0.5 M NaCl)
Epaisseur de la membrane (mm)	0.11 – 0.15	0.13 – 0.15
Nombre de transport	> 0.96	> 0.96
Résistance à l'éclatement [kg/cm ²]	2 - 5	3 - 5
Stabilité thermique (°C)	40	40
Pays d'origine	Japon	Japon

SELEMION® est une marque déposée de ACG Engineering Co., LTD

A chaque extrémité de l'empilement se trouve une électrode en graphite munie d'un circuit de rinçage des électrodes. Les cellules d'électrodialyse se composent de 3 circuits hydrauliques dans lesquels circulent les électrolytes, séparées par des membranes anioniques et cationiques. Sous l'effet d'un champ électrique, les anions et les cations migrent au travers des MEI (Membranes Echangeuses d'Ion) en sens opposés.

Les compartiments sont alimentés en série du point de vue électrique et en parallèle du point de vue hydraulique.

La circulation des solutions est assurée en permanence par des pompes de marque Siebec 38600 Fontaine M15 à deux têtes qui délivrent un débit de 50l/h par l'intermédiaire de tuyaux souples. Les débits dans ces différents compartiments sont ajustés au moyen de vannes manuelles.

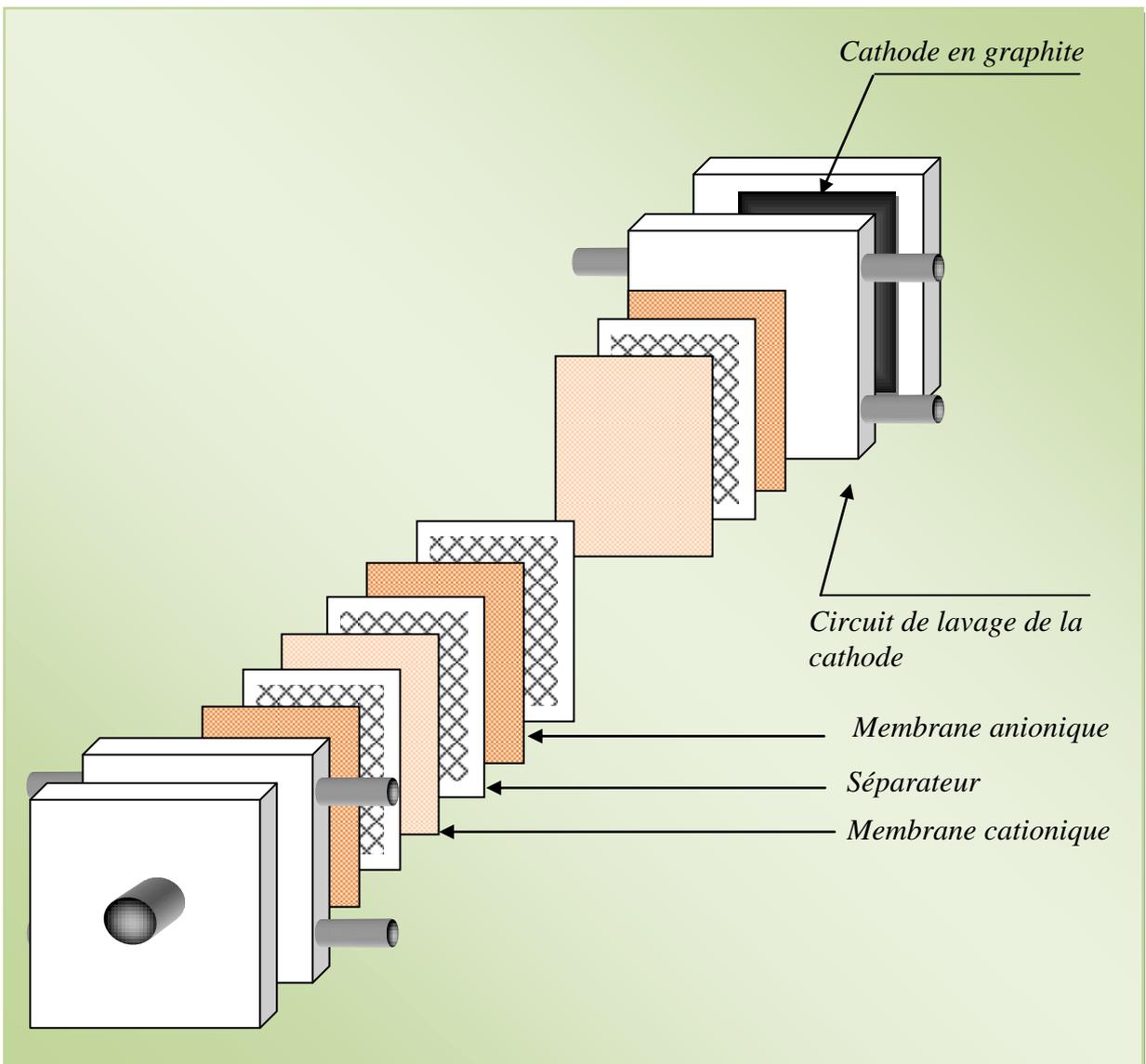


Figure n°IV.2 : *Vue éclatée du pilote de laboratoire P1*

Le schéma d'une cellule de l'électrodialyse représentée sur la figure n°IV.3 schématise le transport des ions à travers les membranes anioniques et cationiques correspondant à un courant d'intensité I constante.

Grâce à une disposition alternée des membranes, les cations migrent vers la cathode et sont arrêtés par les MEA, et réciproquement pour les anions. Il en résulte une suite de compartiment Diluât et Concentrât où l'électrolyte se concentre.

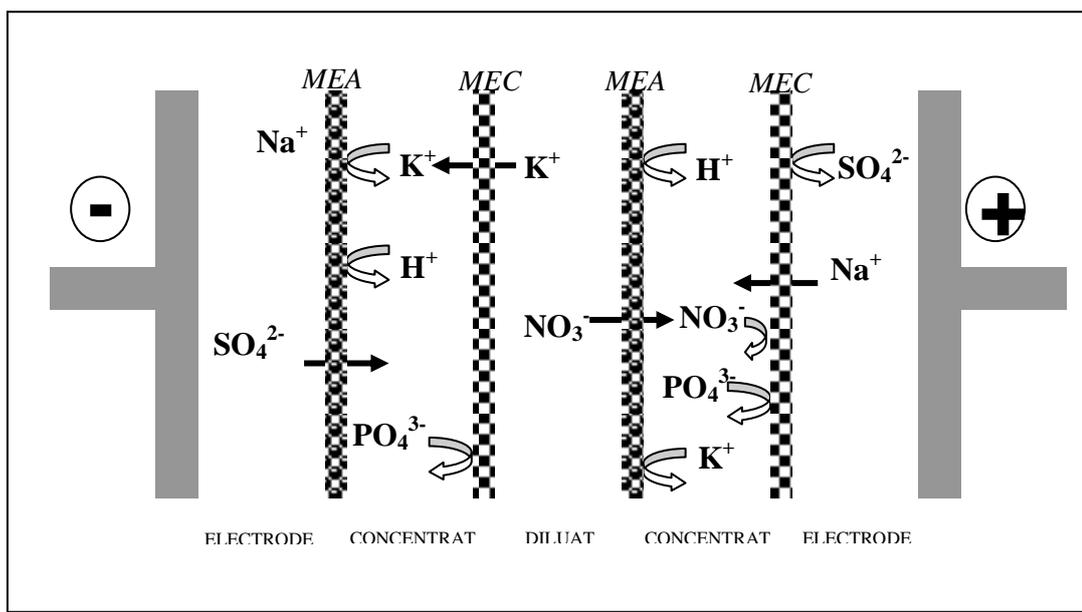


Figure n°IV.3 : Schéma d'une cellule du module d'électrodialyse P1.

IV.1.1.2. Matériel :

Nous avons regroupé dans le tableau n°IV.2 les principaux constituants de l'électrodialyseur et les divers appareils de mesure reliés à ce dernier.

Tableau n°IV.2 : Matériels utilisés.

Matériels	Type
Electrodes	Plaques en Carbone
Pompes d'électrodialyse	Siebec 38600 Fontaine M15
Voltmètre	Fhywe 07132.00
Ampèremètre	P.Fontaine
Conductimètre	Seiko M-2202
pH-mètre	WTW
Générateur de courant	P.Fontaine
Débitmètre	Wika

Les essais de dénitrification par électrodialyse sont réalisés à température ambiante ; une fois le champ électrique appliqué, nous avons prélevé des échantillons de 10 ml dans les compartiments diluât et concentrât.

Toutes les expériences sont réalisées en mode batch, c'est à dire en recyclant chacune des solutions dans le réservoir d'alimentation. Nous avons reporté dans le tableau n°IV.3 les concentrations initiales des solutions contenues dans les différents compartiments de l'électrodialyseur.

Tableau n°IV.3 : Conditions opératoires des essais :

Circuits	Solution	Concentration (M)	Volume (L)
Concentrât	KH ₂ PO ₄	0,1	1
Diluât	KNO ₃	0,02	1,5
Electrodes	Na ₂ SO ₄	0,1	1,5

IV.2. PARTIE BIOLOGIQUE :

Le développement intensif d'une culture bactérienne essentiellement dénitrifiante à partir d'une boue activée prélevée d'une station d'épuration, a imposé des étapes précises et par conséquent la réalisation de montages spécifiques.

IV.2.1. Système à bactéries libres :

IV.2.1.1. Sélection des micro-organismes dénitrifiants:

Les micro-organismes dénitrifiant utilisés pour l'inoculation du réacteur ont été prélevés des fonds du bassin à boue activée de la «station d'épuration des eaux usées de Tizi-Ouzou». Il est en effet connu que les micro-organismes dénitrifiants sont en concentration appréciable dans les zones des solutions aqueuses où la concentration en oxygène est faible ou nulle (R.Y. Stanier, 1976).

Afin de sélectionner les bactéries dénitrifiantes, les boues sont introduites dans un bioréacteur en présence d'une alimentation fortement concentré en nitrates. Le dispositif fonctionne en discontinu dans des conditions anoxiques. Un suivi de la concentration des nitrates et nitrites est effectué régulièrement et la solution d'alimentation est renouvelée à chaque fois que les concentrations diminuent en dessous de la norme. La sélection s'est faite en deux étapes, chaque étape disposant de sa propre installation.

a) Réacteur semi-continu :

- **Dispositif** : le réacteur est composé d'un erlenmeyer de 3 litres, d'un barreau magnétique, d'une plaque d'agitation chauffante et d'un bouchon (Figure n°IV.4).
- **Fonctionnement** : une quantité de boue (environ 1 litre) est mise dans la fiole et complétée avec une alimentation riche en nitrates (milieu1) afin de favoriser le développement de la biomasse dénitrifiante. Le dispositif fonctionne en anoxie à une température de 20°C sous une agitation modérée pour homogénéiser le milieu. L'alimentation est renouvelée en fonction de la consommation des nitrates. et des nitrites. Dès que la totalité des ions nitrates et nitrites a été éliminée (environ 10 heures), les boues sont transférées dans un réacteur continu permettant le développement et le maintien de la biomasse dénitrifiante.

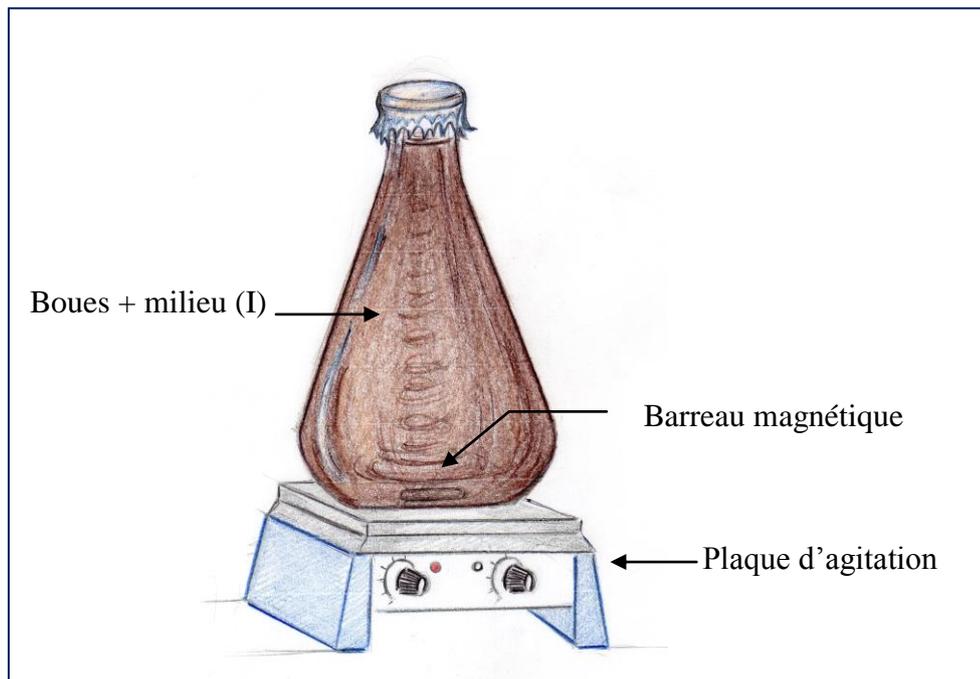


Figure n°IV.4 : Schéma de la sélection des bactéries dénitrifiantes en réacteur semi-continu

b) Réacteur en continu :

- **Dispositif :** Le réacteur est composé d'un bassin de boue activée muni d'un agitateur à hélice et relié d'une part à un décanteur et d'autre part à un bassin d'alimentation. Une pompe péristaltique permet le recyclage des boues décantées vers le réacteur (Figure n°IV.5).

- **Fonctionnement :**

Dans le fonctionnement en continu, le réacteur est maintenu à un volume constant et est alimenté par un milieu nutritif (milieu 2) contenant tous les substrats nécessaires à la croissance et au maintien de la biomasse dénitrifiante. Les boues récupérées dans le décanteur sont réintroduites en tête du réacteur à l'aide d'une pompe péristaltique. Le mélange des boues et de l'alimentation se fait à l'aide d'un agitateur mécanique.

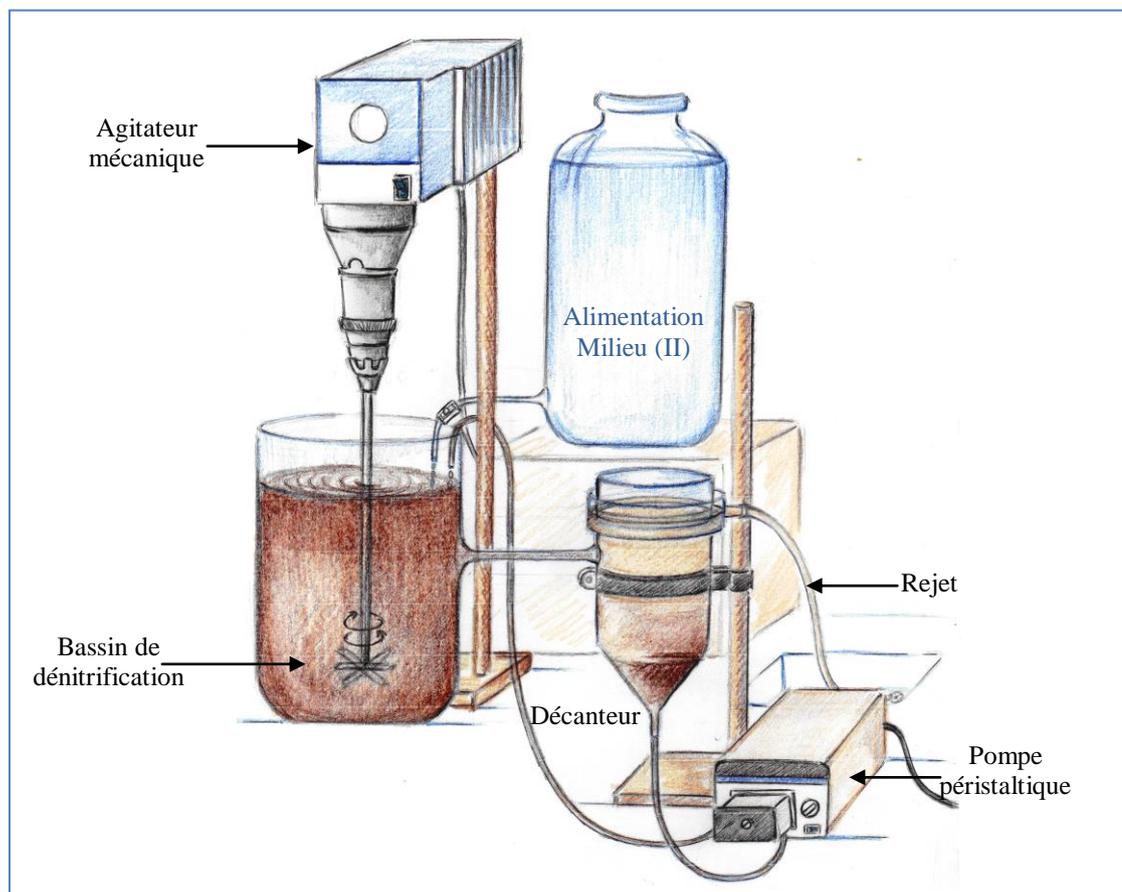


Figure n°IV.5 : Schéma de la culture en continu

IV.2.1.2. Milieu de culture :

Pour favoriser la croissance des micro-organismes dénitrifiants, une source de carbone, des phosphates et d'autres éléments indispensables à la prolifération des micro-organismes (Oligo-éléments, Fer, Magnésium, etc...) solubilisés dans l'eau ont été rajoutés à l'alimentation contenant des nitrates, la température est maintenue à 25°C. La composition du milieu de croissance synthétique est résumée dans le tableau n°IV.4.

Tableau n°IV.4: *Composition du milieu nutritif dans le système en continu et en discontinu.*

Composé	Milieu 1	Milieu 2
KNO₃	2000mg/L \Leftrightarrow 1200mg de NO ₃ ⁻	163mg/L \Leftrightarrow 100mg/L de NO ₃ ⁻
K₂HPO₄	5,89mg/L \Leftrightarrow 1.05mg/L de P	2,81mg/L \Leftrightarrow 0,5 mg/L de P
FeSO₄	10mg/L	0
MgCl₂	25mg/L	0

IV.2.1.3. Source de carbone et d'énergie :

De nombreuses recherches sur la dénitrification ont été réalisées en ajoutant différents composés organiques comme source externe de carbone, comme par exemple le méthanol, l'éthanol, l'acétate, le glucose, etc.... De ces composés organiques, le méthanol est considéré comme le plus intéressant d'un point de vue économique (P. Timmermans et A. Van Haute, 1983). Dans notre étude nous avons utilisé le lactose pour l'étude de faisabilité du couplage ED-Colonne biologique et le méthanol pour le reste de l'étude biologique.

IV.2.1.4. Etude de la cinétique de dénitrification en mode batch :

Une série d'expériences a été faite pour l'étude de la dénitrification en utilisant le Méthanol comme source de carbone et d'énergie. Les constantes cinétiques de la croissance bactérienne et l'influence d'un certain nombre de facteurs opératoires (C/N, P, salinité, pH et T°) sur la vitesse de dénitrification ont été réalisés.

Les essais de dénitrification sont réalisés sur un dispositif de laboratoire en réacteurs batch d'un volume total d'un litre contenant 100 ml de boues activées sélectionnées, avec un milieu nutritif composé de Méthanol comme source unique de carbone et d'énergie et de nitrates comme source d'oxygène.

Les réacteurs hermétiquement fermés afin de maintenir l'anoxie sont placés sous agitation au moyen d'un barreau aimanté et mis à température ambiante (20-25°C).

Pour chaque facteur étudié, des prélèvements horaires d'échantillons liquides sont effectués à partir de ces réacteurs, afin de réaliser le suivi de la croissance bactérienne, les concentrations en nitrates, nitrites et DCO.

IV.2.2. Système de biomasse fixée :

IV.2.2.1. Les supports :

Plusieurs supports ont été utilisés dans cette étude afin de choisir le meilleur rendement au moindre coût, il s'agit de :

- Deux supports en céramique en forme d'anneaux raschig: l'un est poreux, l'autre présente une porosité assez faible.
- Trois supports plastiques: le PVC (polychlorure de vinyle), le PEHD (Polyéthylène haute densité) et le PEBD (polyéthylène basse densité). Ce sont des produits de récupération, leur taille et leur forme sont donc des paramètres physiques irréguliers. La composition chimique des différents supports (PVC, PEHD, PEBD) indique qu'ils ne contiennent pas de composés pouvant être libérés et interférer avec le milieu à traiter. Ils se composent essentiellement de carbone, d'hydrogène (PEBD et PEHD) et de chlorure (PVC).
- Un charbon actif en grain qui permettra de pouvoir de faire la comparaison avec les autres supports dans les mêmes conditions opératoires.

L'observation de l'état de la surface des différents supports a été effectuée par un Microscope Electronique à Balayage (MEB) de type Philips ESEM XL30 à filament de tungstène couplé à un système complet de microanalyse par dispersion d'énergie (EDS X).

Les caractéristiques des trois supports plastiques, des deux supports en céramique ainsi que du CAG sont regroupées dans les tableaux n°IV.5, IV.6 et IV.7 respectivement.

Tableau n°IV.5 : *Caractéristiques des trois supports plastiques.*

Supports → Caractéristiques ↓	PEHD	PVC	PEBD
Aspect	Petits rectangles lisses de tailles irrégulières	Petits rectangles lisses de tailles et irrégulières	Petits morceaux sphériques et rugueux de tailles irrégulières
Couleur	Bleu	Noir	Blanc
Densité apparente (g/cm ³)	0.96	0.51- 0.59	0.92
Indice de fonte (g/10min)	8.00	–	0.33
Température de cassure (°C)	< -75	–	–
Masse totale (g)	88 .89	122.02	64.83
Surface spécifique BET (m ² /g)	3.09	1.67	1.55
Surface spécifique Langmuir (m ² /g)	56.88	29.89	41.69
Surface Externe (m ² /g)	3.81	2.08	2.01
Volume des pores (cm ³ /g)	0	0	0

Tableau n°IV.6: *Caractéristiques des supports en céramique ; anneaux de raschig poreux et non poreux.*

Caractéristiques	Support poreux	Support non poreux
Diamètre externe (cm)	0.8	0.5
Diamètre interne (cm)	0.5	0.3
Hauteur (cm)	0.9	0.7
Masse d'un anneau (g)	0.3	0.3
Masse totale des anneaux (g)	34.6	101.7
Nombre d'anneaux	89	344
Surface spécifique BET (m ² /g)	1.2	1.1
Surface spécifique Langmuir (m ² /g)	5,1	10,9
Surface Externe (m ² /g)	1.9	1.5

Tableau n°IV.7 : Caractéristiques du charbon actif en grain CAG.

Caractéristiques	Valeurs
Humidité (%)	1.59 ± 0.20
Cendre (%)	2.55 ± 0.10
Porosité (%)	0.258 ± 0.013
Densité réelle (g/cm ³)	1.314 ± 0.003
Densité apparente (g/cm ³)	0.441 ± 0.009
Volume poreux total (cm ³ /g)	1.73 ± 0.003
Volume des pores (cm ³ /g)	0.27
Surface spécifique BET (m ² /g)	697.72
Surface spécifique Langmuir (m ² /g)	1097.28 ± 30
Surface Externe (m ² /g)	143.53
Taille de grain (mm)	2 - 3
Masse totale (g)	86.4

IV.2.2.2 Les colonnes :

Les colonnes utilisées sont identiques. Ce sont des tubes en plastique de surface lisse (intérieur et extérieur) et de hauteur de 100 cm. Chaque colonne est remplie d'un support. Le diamètre interne de la colonne est de 1,5 cm, et le volume utile du réacteur est de $235,6 \cdot 10^{-6} \text{m}^3$ (Figure n°IV.6).

La colonne est équipée de 10 points de prélèvement à 10cm d'intervalle y compris la sortie permettant la collecte de l'échantillon d'une part, et le dégazage des produits de la dénitrification d'autre part. Les quatre colonnes garnies des différents supports sont reliées à une pompe péristaltique elle-même reliée à un bac d'alimentation contenant l'eau à traiter. L'effluent circule en flux ascendant dans les colonnes avec une même vitesse. Les prélèvements effectués au niveau des piquages sont collectés et utilisés pour le dosage des différentes paramètres à savoir : nitrate, nitrite, DCO et pH.

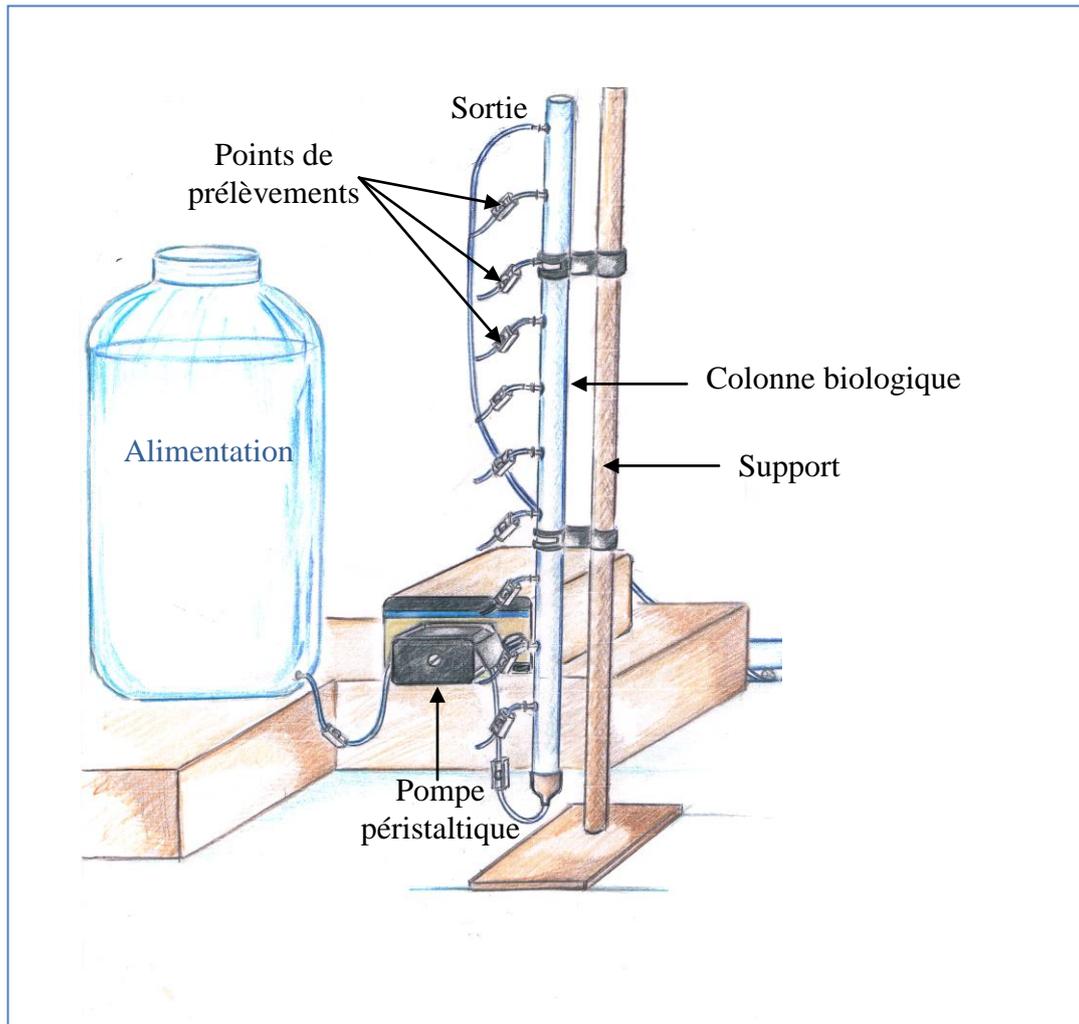


Figure n°IV.6 : Schéma de la colonne biologique

IV.2.2.3. Ensemencement du réacteur :

L'inoculation du réacteur a été réalisée par passage en circuit fermé d'une solution contenant des boues sélectionnées représentant 2% du volume du réacteur. La vitesse d'alimentation est faible car elle doit permettre une bonne colonisation des supports par les bactéries. Une fois que la quantité des nitrates à la sortie du réacteur atteint les normes requises (au bout de 10 heures environ), on estime que le biofilm s'est développé et que le réacteur est apte à fonctionner en mode continu.

IV.2.2.4. L'alimentation :

L'alimentation des quatre colonnes de dénitrification est la même. Nous avons choisi le méthanol comme source de carbone. Selon les travaux de M.A. Gomez et al. (2000) et U. Welander et al. (1998), les alcools sont les plus appropriés en tant que source de carbone pour la dénitrification par biomasse fixée.

IV.2.2.5. Technologie des réacteurs :

Le sens du passage de l'eau dans le réacteur peut être ascendant ou descendant. Avec un courant ascendant, l'azote gazeux libéré ne s'accumule pas au sein de la masse filtrante. Les bulles d'azote sont entraînées vers le haut. Au contraire à courant descendant, des précautions sont à prendre quant à la granulométrie pour limiter les risques d'accumulation gazeuse. Dans notre cas, nous avons alimenté les colonnes biologiques avec un flux ascendant de manière à éviter le colmatage et une meilleure répartition de la biomasse le long de la hauteur du lit, pour avoir une porosité plus élevée, mais surtout pour éviter les embolies gazeuses.

IV.2.2.6. Lavage des colonnes :

Dans les réacteurs biologiques, la dénitrification entraîne une production de boues, due à la croissance bactérienne. L'enrobage progressif du support provoque le colmatage du réacteur. La quantité de boues dépend de la teneur en nitrate à éliminer, de la nature du substrat carboné et de la concentration en oxygène dissous de l'eau brute. La biomasse bactérienne en excès doit être évacuée par lavage, tout en gardant suffisamment de sites d'ensemencement dans les microporosités pour le redémarrage.

Un lavage efficace et régulier du réacteur est nécessaire, il doit permettre d'éliminer la biomasse en excès et une meilleure répartition hydraulique, de même qu'un renouvellement de la flore bactérienne. Il se fait par passage d'eau de robinet une fois par semaine pendant 20-30 minutes. Sa fiabilité étant liée à l'efficacité du décolmatage, car un cycle trop long provoque le vieillissement des boues et un excès de biomasse provoque des passages préférentiels, des temps de séjour trop courts et un déséquilibre dans la répartition des espèces bactériennes (concurrence des bactéries strictement dénitrifiantes par des Entérobactéries). (M.O. Ratel, 2001, S. Naji, 1985)

IV.2.2.7. Distribution du temps de séjour :

L'influence du biofilm sur les caractéristiques du support et, sur le comportement hydrodynamique du réacteur muni de support vierge et de support colonisé est déterminée via le temps de séjour au sein de ce dernier (S. Michaud, 2001).

La distribution des temps de séjour est déterminée en injectant dans l'alimentation un volume de 5 ml d'une solution de NaCl (100g/L) et en mesurant en continu la variation de la conductivité en sortie de réacteur à l'aide d'un conductimètre de type HANNA instrument EC124.

IV.3. SYSTEME DE COUPLAGE :

Le système de couplage permet en premier lieu une dénitrification par électrodialyse suite au transfert des ions nitrates du compartiment diluât vers le compartiment concentrât ; puis en second lieu, le passage de ces ions à travers la colonne biologique en flux ascendant, où ils seront réduits après une succession de réactions en azote gazeux. Pour ce faire, nous avons relié de manière parallèle le concentrât de l'électrodialyseur à la colonne biologique et en un circuit fermé (Figure n°IV.7).

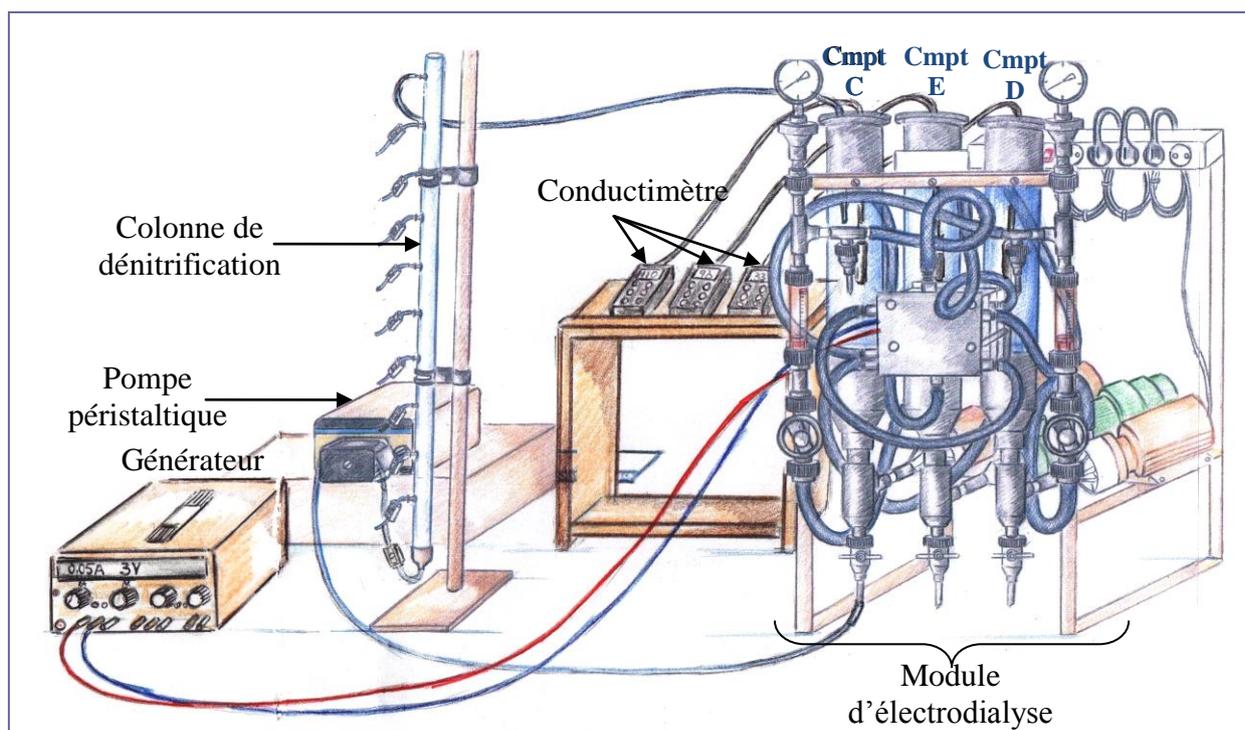


Figure n°IV.7 : Schéma de couplage Electro dialyse - colonne biologique en système fermé

IV.4. METHODES D'ANALYSE :

Les prélèvements d'échantillons effectués au cours des expériences sont utilisés pour le suivi des différentes entités comme les nitrates, nitrites, chlorures, sulfates, orthophosphates, la biomasse microbienne et la DCO.

Les différents dosages ont été effectués selon les méthodes citées ci-dessous.

- **Les nitrates** : méthode au réactif sulfophénique (Norme AFNOR NF 90 012).
- **Les nitrites**: méthode au réactif de diazotation (Norme AFNOR NF 90 013).
- **Les chlorures** : méthode de MOHR.
- **Les sulfates** : méthode turbidimétrique.
- **Les phosphates** : méthode au réactif combiné (Norme AFNOR NF 90 023)
- **La biomasse microbienne** : méthode de la mesure par la turbidité à 600 nm
- **La DCO** : Méthode Standard.

Chapitre V

Résultats et discussions

Rappelons que notre travail a pour but l'élaboration d'un nouveau procédé hybride de purification d'eaux à usage alimentaire contaminées par les nitrates à l'aide d'un électrodialyseur couplé à un bioréacteur à biomasse fixée. De façon plus spécifique, nos objectifs sont :

1. Production d'eau potable par Electrodialyse ;
2. Elimination de la saumure chargée en nitrate produite par le procédé d'électrodialyse, par le biais d'une biomasse fixée sur support ;
3. Valorisation d'un déchet très persistant dans l'environnement et difficilement biodégradable issu d'une usine de plastique.

Ce chapitre présente donc les résultats obtenus à l'issue de cette étude. Cette présentation est synthétisée en quatre parties :

La première partie et qui est la plus importante c'est la partie électromembranaire où nous allons déterminer l'intensité du courant avec laquelle la dénitrification par électrodialyse va s'effectuer. Du fait que les eaux algériennes sont fortement minéralisées surtout en ions sulfates et chlorures ; nous étudierons aussi l'influence de la présence de ces derniers sur l'électromigration des ions nitrates,

La deuxième partie sera consacrée au couplage de l'électrodialyseur à une colonne renfermant des bactéries dénitrifiantes fixées sur support choisi en fonction des performances qu'il présente vis-à-vis de la dénitrification biologique.

Dans la troisième partie nous essayerons de résoudre les problèmes rencontrés lors du couplage à savoir :

- Le colmatage de la colonne (choix de la source de carbone),
- La nature du support bactérien et ce en valorisant un déchet de récupération
- Ainsi que le choix de la solution du Concentrât.

Une fois tous les paramètres optimisés, le couplage en système ouvert sera entamé dans la dernière partie.

V.1. PARTIE 1 : PARTIE ELECTROMEMBRANAIRE

Nous allons tout d'abord exposer les différents résultats obtenus pour le procédé de dénitrification électrochimique choisi à savoir l'électrodialyse. Nous avons effectué les études sur ce procédé en faisant varier la densité de courant en premier lieu puis en fixant celle-ci et en introduisant des concentrations différentes en chlorures et en sulfates afin d'étudier l'influence que pourraient avoir ces ions sur la dénitrification.

V.1.1. Optimisation des paramètres de l'électrodialyseur :

Dans un premier temps nous avons optimisé le principal paramètre concernant l'électrodialyseur à savoir la densité de courant.

V.1.1.1. Courbe de polarisation :

Lors du fonctionnement de l'électrodialyseur, les transferts d'ions dans les membranes et dans les solutions donnent lieu à un phénomène de polarisation. Ceci est déterminé par la courbe intensité-tension.

Afin de déterminer le courant limite, nous avons relevé point par point la tension aux bornes de l'électrodialyseur lors d'un balayage de la densité de courant qui nous a permis de tracer la courbe Intensité - tension représentée sur la figure n°V.1.

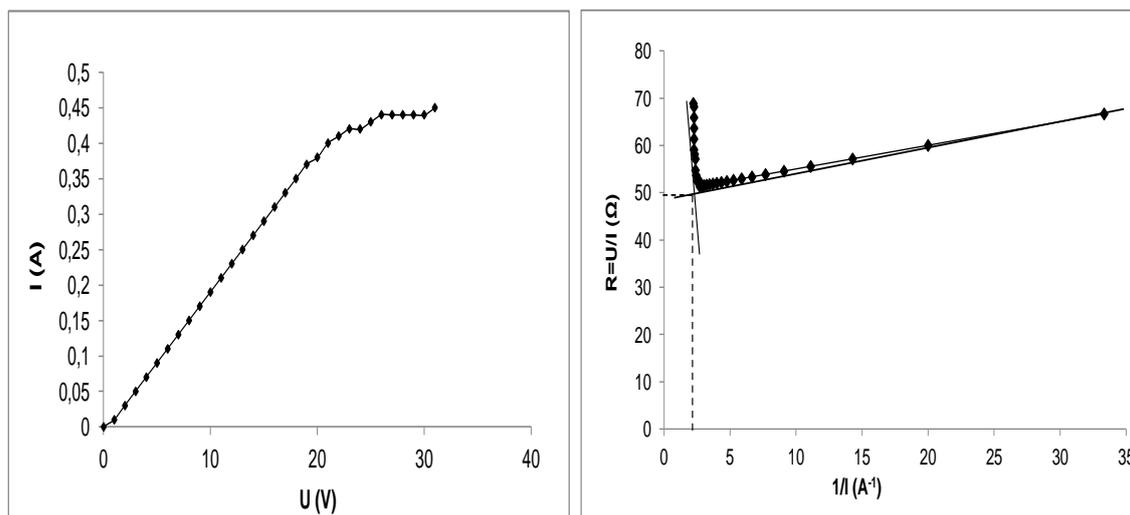


Figure n°V.1 : Courbe Intensité- tension

Figure n°V.2 : Détermination du courant limite

Pour être efficace, l'électrodialyse conventionnelle, dont le but est de faire migrer à travers les membranes des ions minéraux ou organiques contenus dans une solution donnée, doit être réalisée avec des densités de courant inférieures à la densité de courant limite, I_{lim} . Dans des conditions industrielles, afin d'éviter toute perturbation provenant d'un dépassement du courant limite en un quelconque point de l'empilement, un maximum de 80% de celle-ci est utilisé.

D'après les résultats obtenus sur la figure n° V.1, nous pouvons qualifier le comportement tenu par l'électrodialyseur de quasi ohmique ; nous remarquons l'augmentation du potentiel avec l'augmentation de l'intensité ce qui est tout à fait normal, mais nous remarquons aussi que le potentiel limite est quasiment atteint pour une valeur de l'intensité correspondant à 400 mA avant même d'avoir atteint le palier par conséquent nous avons la possibilité de travailler avec les valeurs d'intensités situées dans l'intervalle [0, 400mA] sans risquer d'endommager l'électrodialyseur et son bon fonctionnement.

Le courant limite a été déterminé par la méthode D. Cowan et J. Brown (1959). En traçant la courbe $R=U/I$ en fonction $(1/I)$. Comme le montre la figure n°V.2, la valeur du courant limite est estimée à environ 0,5 A.

V.1.1.2. Influence de la densité de courant :

Etudier l'influence de l'intensité du courant sur la dénitrification permet de voir et de prévoir dans les mêmes conditions opératoires le comportement des ions. Ce qui permet aussi de déterminer le courant optimal.

La dénitrification d'une eau synthétique de concentration de 100 mg/L en nitrates a été réalisée en utilisant 4 intensités de courant différentes à savoir 20, 50, 70 et 100 mA correspondants aux densités de courant respectives de 2,8 ; 7,2 ; 10,1 et 14,5 A/cm². Sous l'effet du champ électrique, les ions K⁺ et NO₃⁻ provenant du nitrate de potassium circulant dans le compartiment Diluât vont migrer en sens opposé vers le compartiment Concentrât en traversant respectivement les membranes CMV et AMV. Les figures n°V.3 et n°V.4 représentent l'évolution des teneurs en nitrates dans les compartiments Diluât et Concentrât pour les densités de courant citées ci-dessus.

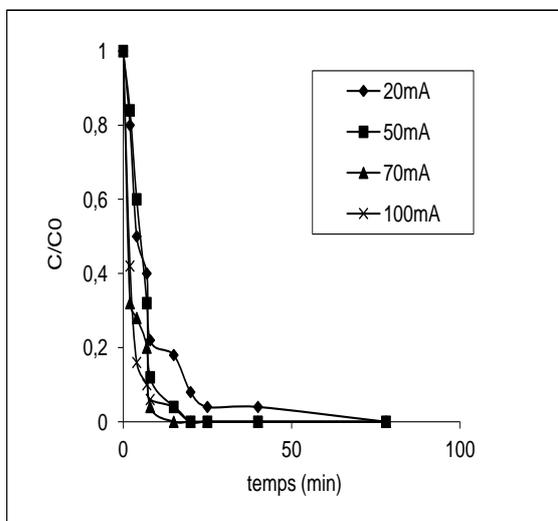


Figure n° V.3 : Evolution de la concentration en ions nitrates dans le diluât.

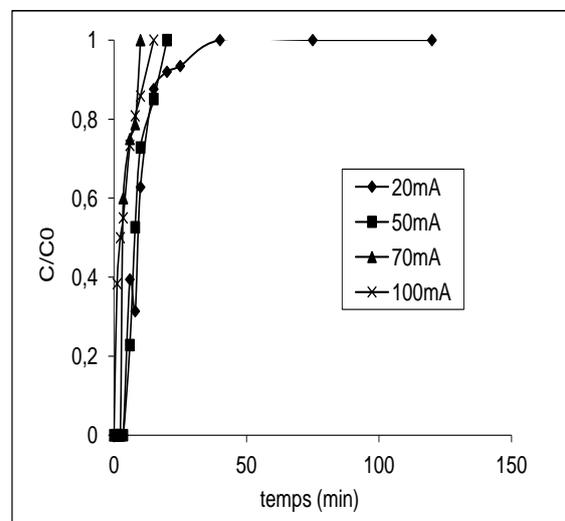


Figure n° V.4 : Evolution de la concentration en ions nitrates dans le concentrât.

Nous constatons une dénitrification quasi-totale et rapide pour toutes les valeurs d'intensité de courant appliquées. Toutefois, nous remarquons que les courbes de dénitrification se distinguent en deux groupes. En effet, les pentes des deux intensités de courant utilisées à savoir 70 et 100 mA correspondant aux densités de courant 10,1 et 14,5 A/cm² sont pratiquement confondues alors que pour 50 et 20 mA (2,8 et 7,2 A/cm²) un décalage peut être constaté par rapport aux intensités précédentes.

Après 6 minutes de manipulation, la teneur en nitrates est déjà en dessous de 5 mg/L pour les intensités 70 et 100 mA. Par contre au même temps, nous avons relevé respectivement pour 20 et 50 mA des teneurs de 42 et 33 mg/L de nitrates. L'eau est totalement dénitrifiée au bout de 16 minutes pour un courant de 50 mA alors qu'il faut 75 minutes pour une intensité de courant de 20 mA.

La cinétique de transfert des ions nitrates du compartiment diluât vers le compartiment concentrât est plus rapide aux fortes intensités de courant. En effet, plus l'intensité du courant est forte, plus la vitesse de transfert est rapide, ce qui est en accord avec les résultats présentés par A. Elmidaoui et al. (2001) pour leurs travaux sur l'élimination des nitrates par électrodialyse et par L.J. Banasiak et al. (2007) qui ont procédé à une déminéralisation par électrodialyse.

Par contre, les vitesses sont plus faibles et pratiquement du même ordre de grandeur au vu des courbes obtenues pour les intensités de courant inférieures à 70 mA.

En ce qui concerne 100 mA, les nitrates migrent dès les premières minutes contrairement aux autres intensités où le passage des anions dans le concentrât ne se remarque qu'au bout de 3 minutes en moyenne. Ceci peut s'expliquer par le fait que les anions se colmatent sur la membrane au lieu de passer au travers. Ce qui justifie leur absence dans le concentrât pendant ces premières minutes puis, leur libération dans le concentrât une fois les sites saturés, est confirmée par les teneurs relevées. Au-delà de 3 minutes l'influence de l'intensité de courant est négligeable.

Nous avons calculé les bilans de masse pour les différentes intensités de courant c'est-à-dire 20, 50 et 100 mA correspondant aux densités respectives de courant 2,8 ; 7,2 et 14,5 A/cm².

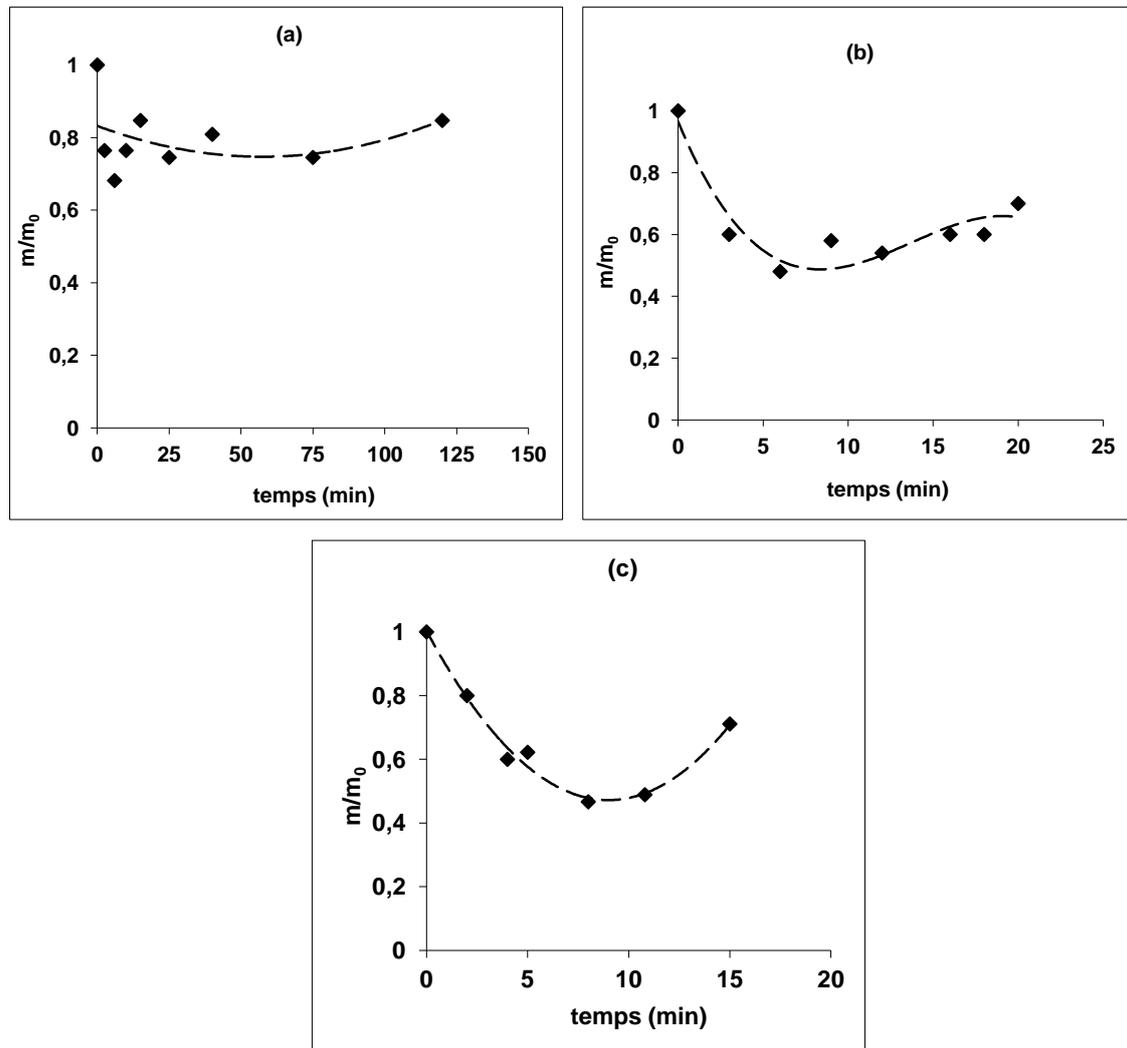


Figure n°V.5 : Bilan de masse pour les différentes intensités de courant
(a) 20 mA ; (b) 50 mA ; (c) 100mA

Comme nous pouvons le voir sur la figure n°V.5 concernant les intensités 20 et 50mA, il y a au début une certaine instabilité voir même une baisse du bilan de masse et ce pendant les six premières minutes, puis une stabilisation de celui-ci. Ce phénomène est dû à l'adsorption des ions sur les membranes et donc une concentration faible ou quasi nulle dans le concentrât. La stabilisation est due à la libération des ions dans ce dernier.

Par contre pour l'intensité 100 mA, nous constatons une baisse du bilan alors que nous n'avons pas remarqué dans le concentrât de faibles teneurs en nitrates du moins pendant les premières minutes, ceci est peut-être dû au fait que le flux des nitrates sortant du diluât et le flux entrant dans le concentrât ne sont pas égaux, ce qui a engendré un déficit au niveau du bilan massique.

Nous avons calculé aussi les rendements faradiques des différentes intensités de courant appliquées afin de quantifier la consommation d'énergie électrique par l'électrodialyseur dans chaque cas. La figure n°V.6 représente les rendements faradiques dans le compartiment diluât en fonction du temps. D'après cette figure, il apparaît que le rendement diminue avec l'augmentation du courant. Pour des densités de courant élevées, nous avons des rendements faradiques relativement faibles (de l'ordre de 20 à 40%) et pour des densités de courant moins élevées, les rendements faradiques sont de l'ordre de 40 à 90%. N. Drouiche et al. (2009) constatent eux aussi lors de la désulfuration par électrodialyse, que plus la densité de courant augmente, plus le rendement faradique diminue. Ceci nous permet de déduire que les réactions secondaires et parasites se produisant en dehors de la dénitrification vont consommer de l'énergie électrique.

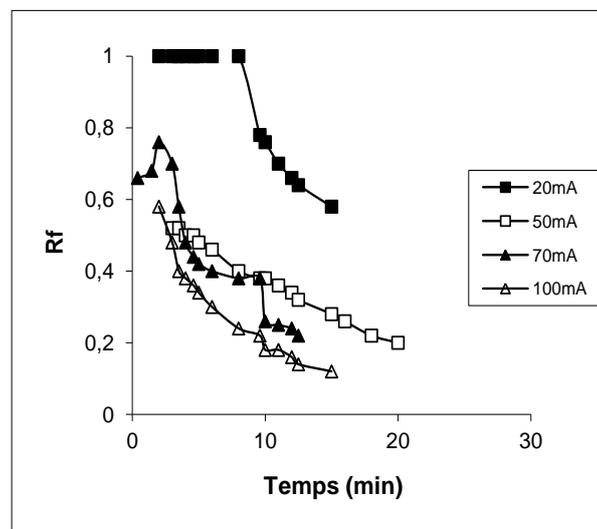


Figure n°V.6: Evolution des rendements faradiques de dénitrification dans le compartiment diluât

La synthèse de ces différents résultats nous a permis de fixer l'intensité de courant $I = 50 \text{ mA}$, avec laquelle nous avons suivi le processus de dénitrification par électrodialyse. Nous avons retenu cette intensité de courant car elle nous semble la plus appropriée pour satisfaire nos conditions à savoir :

- Un temps moyen de dénitrification totale de 20 min par rapport aux autres intensités qui est trop rapide, 10 minutes au maximum pour 70 et 100 mA, ou trop lent 75 minutes pour 20 mA ;
- Gain d'énergie d'après la figure V.6 relative aux rendements faradiques. Cette intensité de courant de 50 mA, présente une consommation moyenne d'énergie par rapport à celle de 20 mA qui est très importante.

Une fois ce paramètre fixé, nous avons essayé de nous rapprocher de la composition d'une eau naturelle, et cela en ajoutant respectivement dans notre eau synthétique des chlorures dans un premier temps puis des sulfates dans un second temps afin d'étudier leur influence sur les performances de la dénitrification par électrodialyse.

V.1.2. Influence des ions chlorures et sulfates sur la dénitrification par électrodialyse:

Etant donné la non sélectivité des membranes échangeuses d'ions, un problème peut être rencontré lors de la dénitrification par électrodialyse d'eaux provenant de puits destinées à l'usage alimentaire et cela à cause des ions autres que les nitrates qui peuvent se trouver à des concentrations élevées gênant et ralentissant ainsi le transfert des ions nitrates vers le compartiment concentrât. Nous nous sommes concentrés sur les chlorures et les sulfates du fait de leur présence en concentrations non négligeables dans les eaux algériennes.

V.1.2.1. Influence de la teneur en ions chlorures :

Les essais de dénitrification ont été réalisés sur une eau synthétique contenant 100 mg/L de nitrates et dopée en chlorures à des concentrations de 200 mg/L et 400 mg/L. La densité de courant utilisée au cours des essais est de $0,72 \text{ mA/cm}^2$ correspondant à une intensité de 50 mA. Les résultats obtenus pour les deux concentrations en chlorures sont illustrés dans les figures n°V.7 et V.8.

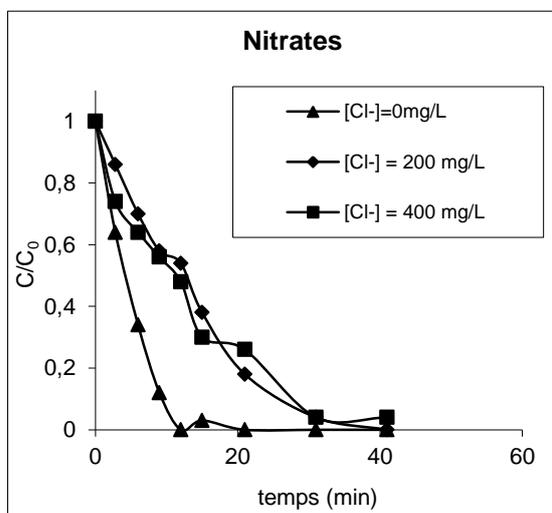


Figure n°V.7 : Evolution de la teneur en nitrates dans le diluât en présence des différentes concentrations en chlorures

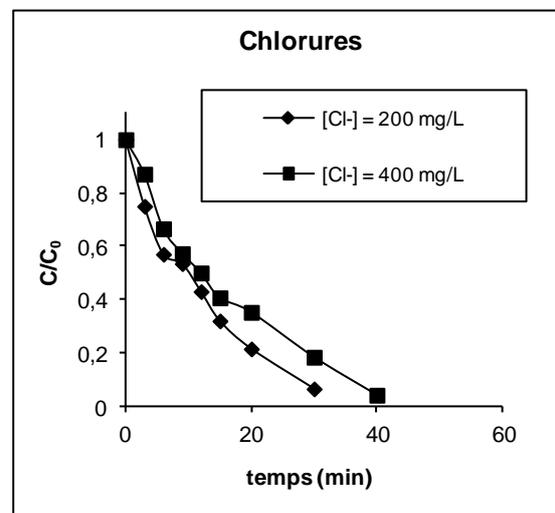


Figure n°V.8 : Evolution de la fuite des chlorures dans le diluât en fonction du temps

Il ressort de la figure n°V.7, que pour les eaux contenant des chlorures, la dénitrification complète nécessite environ trois fois plus de temps que pour celle qui n'en contient pas, ceci étant dû à la compétition qui naît entre les ions chlorures et nitrates étant tout deux monovalents donc ayant tous deux la même probabilité de traverser les membranes pour passer d'un compartiment à l'autre.

Nous remarquons également, que les deux courbes de dénitrification correspondant à 200 et 400 mg/L de chlorures rajoutés sont confondues, ce qui montre qu'à des concentrations supérieures à 200 mg/L en chlorures, l'influence sur la migration des nitrates n'augmente pas pour autant. En fait, la concentration en chlorures influe peu.

La migration des chlorures du diluât est décrite sur la figure n°V.8. Nous en retenons une concentration finale de l'ordre de 16 mg/L pour une concentration initiale de 400 mg/L et 13 mg/L pour 200 mg/L ; ceci montre bien que l'élimination des chlorures s'est faite en même temps que celle des nitrates.

Des résultats similaires ont été observés par les chercheurs M. Ben Sik Ali et al. (2010), au cours de la dénitrification des eaux saumâtres par électrodialyse. Ils expliquent ce résultat par la mobilité ionique des deux ions qui sont très proches. ($\mu_{\text{NO}_3^-} = 74,04 \cdot 10^{-5}$ et $\mu_{\text{Cl}^-} = 76,3 \cdot 10^{-5}$ ($\text{cm V}^{-1}\text{s}^{-1}$)). Nous pouvons avancer que la présence des chlorures ralentit la migration des nitrates, ceci est en accord avec les travaux de C. Wisniewski et al. (2002).

Nous avons suivi également les différentes concentrations en nitrates et chlorures dans le compartiment concentrât. Les résultats obtenus sont présentés sur les figures n°V.9 et V.10.

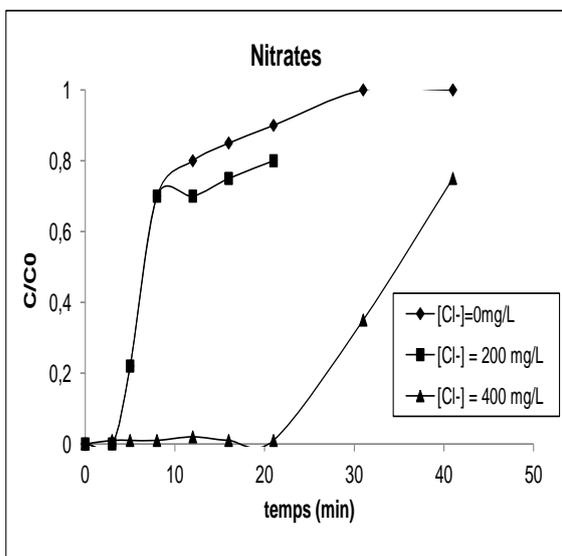


Figure n°V.9 : Evolution de la teneur en nitrates dans le concentrât en présence des différentes concentrations en chlorures

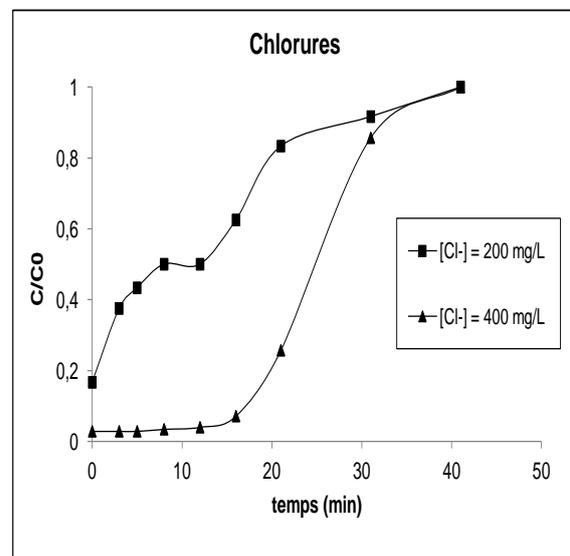


Figure n°V.10 : Evolution de la teneur en chlorures dans le concentrât en fonction du temps

Nous remarquons d'après la figure n°V.9, que dans le compartiment concentrât, un décalage entre la courbe correspondant à $[Cl^-] = 400 \text{ mg/L}$ et les deux autres. Durant les 10 premières minutes, nous observons que les courbes correspondant à 0 et 200 mg/L en chlorures se confondent complètement. Ce même résultat a été observé par N. Kabay et al. (2006) en étudiant l'effet de la combinaison de différents sels sur la séparation des ions monovalents et bivalents par électrodialyse.

Selon cette même figure, nous remarquons qu'en présence de 400 mg/L de chlorure, les nitrates mettent environ 20 minutes pour sortir, de même que pour les chlorures (figure n°V.10). Ceci peut être expliqué par le fait que les nitrates et les chlorures s'adsorbent sur la membrane échangeuses d'anions et limite ainsi le transfert des deux ions. Après 20 minutes, la membrane saturée, permet enfin aux deux anions d'électromigrer.

Nous avons calculé les rendements faradiques des ions nitrates dans le diluât et le concentrât. Les résultats sont reportés sur les figures n°V.11.

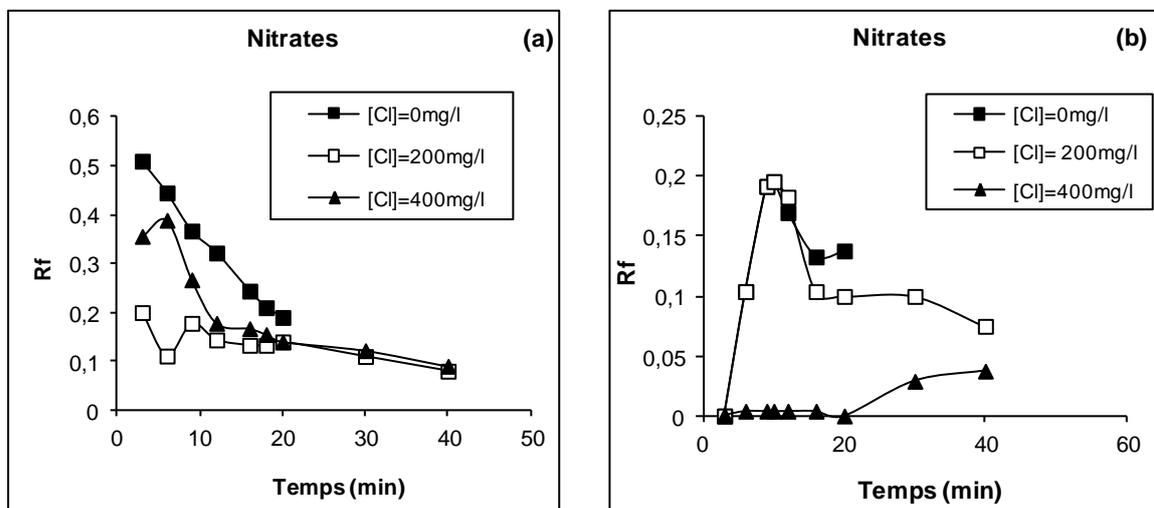


Figure n°V.11 : Rendement faradiques des nitrates en présence des différentes teneurs en chlorures. (a) diluât ; (b) concentrât.

Nous remarquons qu'en absence des chlorures, les rendements faradiques des nitrates sont plus importants, ce qui suggère que l'électromigration des nitrates en présence des chlorures consomme peu d'énergie. La figure n°V.11 montre que pendant les 10 premières minutes les rendements sont instables. L'essai sans chlorures n'a pas été suivi jusqu'à 40 minutes pour des raisons techniques car effectivement au bout de 20 minutes le courant était pratiquement nul ce qui pouvait endommager les membranes.

Dans le concentrât, nous remarquons que la présence des chlorures n'influe pas sur le rendement faradique des nitrates. En effet, une croissance est évidente dès les 3 premières minutes due à la migration des nitrates dans le concentrât. Par contre, en présence de 400 mg/L de chlorures, nous constatons des rendements faradiques nuls durant les 20 premières minutes, suite à l'adsorption des nitrates sur la membrane. Au-delà des 20 minutes, il se produit une croissance franche correspondant à l'électromigration des nitrates dans le concentrât.

V.1.2.2. Influence de la teneur en ions sulfates :

L'étude l'influence des sulfates sur la dénitrification par électrodialyse est représentée sur la figure n°V.12.

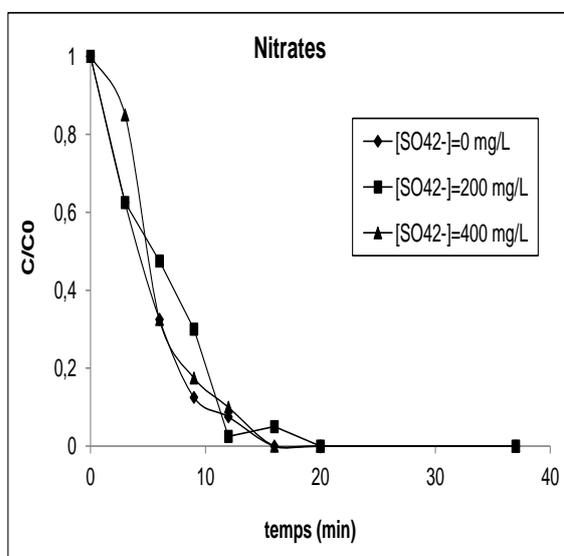


Figure n°V.12: Evolution de la concentration des ions nitrates dans le diluât en présence des sulfates

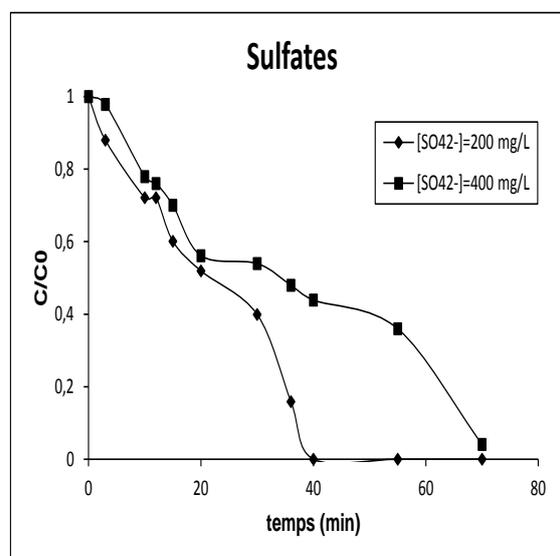


Figure n°V.13 : Suivi de la fuite des sulfates du compartiment diluât

Nous constatons que la dénitrification est quasi-totale dans tous les cas en absence et en présence de sulfates à 200 mg/L et à 400 mg/L. Le chevauchement des courbes correspondant aux différentes concentrations initiales en sulfates, démontre une faible influence des ions sulfates sur la dénitrification

L'élimination des sulfates est illustrée par la figure n°V.13, où nous avons relevé les concentrations finales suivantes: 17 mg/L au bout de 71 minutes et 33,5 mg/L au bout de 37 minutes de manipulation, correspondant à des teneurs initiales respectivement de 400 mg/L et 200 mg/L de sulfates.

Nous avons reporté les valeurs des rendements d'extraction -calculés d'après la formule ci-dessous- des nitrates et sulfates présents dans le diluât pour les différentes concentrations de sulfates sur les figures n°V.14 et n°V.15 et nous les avons comparés aux données de l'essai à blanc en d'autres termes la manipulation où la concentration en sulfates est nulle:

$$R_{ext} = \frac{C_i - C_f}{C_i}$$

Avec :

C_i : concentration initiale dans le Diluât (mg/L)

C_f : concentration finale dans le Diluât (mg/L)

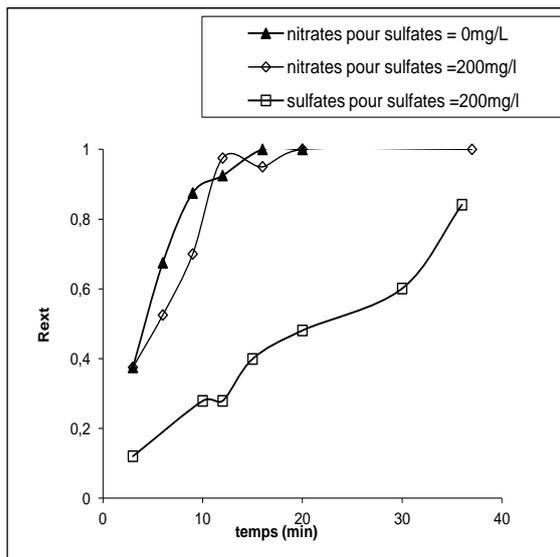


Figure n°V.14 : Evolution du rendement d'extraction des différents anions dans le compartiment diluât pour $[SO_4^{2-}] = 0$ et 200 mg/L

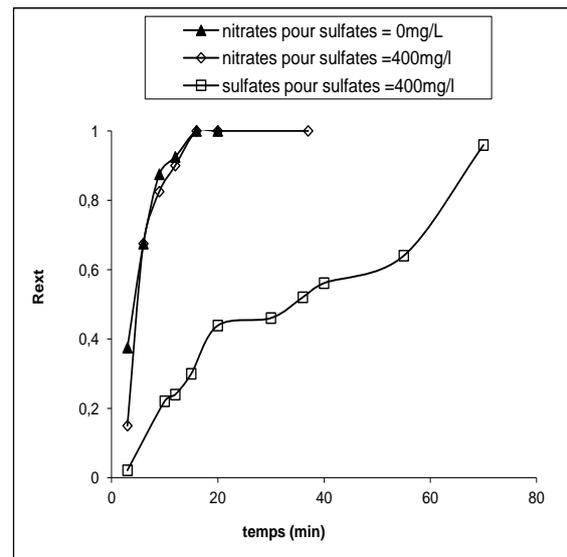


Figure n°V.15 : Evolution du rendement d'extraction des différents anions dans le compartiment diluât pour $[SO_4^{2-}] = 0$ et 400 mg/L

D'après la figure n°V.14, nous avons constaté que les nitrates passent plus vite que les sulfates. En effet à 31 minutes de manipulation, les rendements d'extractions sont de 100% pour les nitrates et 62% pour les sulfates. Le rendement maximal atteint par les sulfates est de 83% et cela au bout de 41 minutes. En comparaison avec l'essai sans l'ajout de sulfates, nous remarquons qu'à 3 minutes du début de l'expérience, nous avons noté une élimination de 39% des nitrates en l'absence des sulfates et 37% en leur présence, puis à 9 minutes de manipulation 87% de nitrates ont été éliminés contre 70% en présence des sulfates. Ce léger écart entre ces deux courbes se poursuit jusqu'à la formation des deux

paliers et ce à partir de 16 minutes où nous avons atteint un rendement d'extraction de 97% ; les deux courbes sont carrément superposées.

L'ajout de 400 mg/L de sulfates n'a pas empêché les nitrates de sortir en premier du diluât. En effet, le rendement d'extraction des nitrates a atteint 100% à 16 minutes de manipulation alors qu'il n'était qu'à 30% pour les sulfates. L'élimination complète, 96% ne s'est faite qu'au bout de 71 minutes d'expérience. D'un autre côté, les courbes des rendements d'extraction des nitrates que ce soit en présence des sulfates ou non, sont complètement confondues, par conséquent nous pouvons déduire que la présence des sulfates n'a pas influencé l'élimination des nitrates.

La récupération des ions nitrates et sulfates dans le compartiment concentrât est illustrée dans la figure n°V.16. Nous constatons que les différents anions s'attardent pour sortir dans le concentrât, nous remarquons aussi que les nitrates mettent moins de temps que les sulfates. Nous pouvons donc dire que les nitrates ont plus de rapidité à passer de l'autre côté et que donc leur adsorption sur les membranes est moins importante. M.A. Menkouchi Sahli et al. (2006) constatent que le transfert des sulfates était négligeable par rapport à ceux des nitrates lors d'une opération de déminéralisation-dénitrification.

Pour avoir une idée plus précise, nous avons établi les bilans de masse pour chaque entité chimique, à savoir les nitrates et les sulfates. Les résultats sont représentés sur la figure n°V.17.

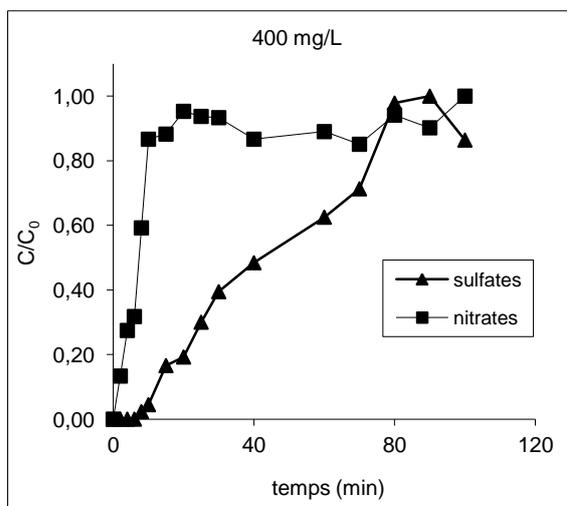


Figure n°V.16 : Evolution de la teneur en nitrates et sulfates dans le concentrât.

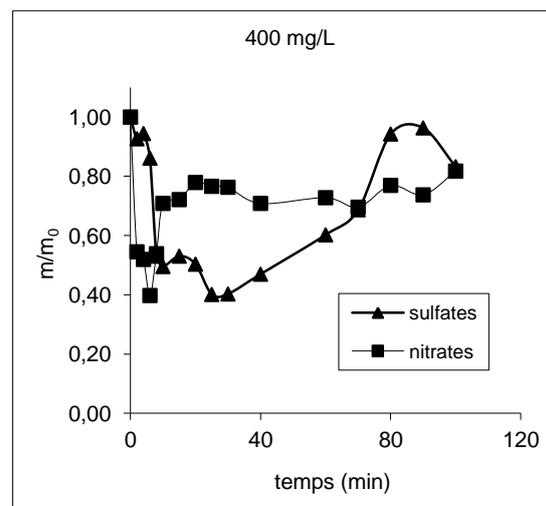


Figure n°V.17 : Bilan de masse pour les nitrates et sulfates dans le concentrât.

Comme nous pouvons le constater, il y a une chute massique qui est due à l'adsorption des ions sur les membranes, mais dans ce cas-là précisément, la perte en masse pour les sulfates est nettement plus importante que pour les nitrates ; elle est de l'ordre de 50% environ. Nous pouvons également remarquer qu'au-delà de 30 minutes le bilan de masse commence à remonter pour ensuite se stabiliser et cela est dû à la saturation des membranes en ions ce qui permet donc le passage.

Ce résultat a été obtenu précédemment par A. Elmidaoui et al. (2002) et A. Gherrou et H. Kerdjoudj (2002) qui attribuent cela au fait que les nitrates sont des ions monovalents contrairement aux ions sulfates qui sont bivalents, ce qui leur facilite le passage à travers la membrane.

En effet, les membranes anioniques et cationiques ont une sélectivité typique pour les différents ions, les ions bivalents sont plus fortement retenus dans le matériau de la membrane et donc sont transportés plus lentement. Ceci peut être expliqué par la charge électrostatique (charge des ions bivalents est plus élevée que celle des ions monovalents) ainsi que la taille de l'ion : plus la taille est grande, plus l'encombrement stérique augmente. Cela a été observé en particulier pour les sulfates car la taille des ions bivalents est plus grande que les ions monovalents. (K. Ghyselbrecht et al., 2013 ; N. Kabay et al., 2006).

La nature de la membrane ainsi que le taux de réticulation peuvent influencer aussi sur l'électromigration des ions. Selon Sata (2000) plus le taux de réticulation est important plus la taille des pores des membranes diminue. Par conséquent, le passage des ions sulfates, plus volumineux que les ions nitrates et chlorures, a tendance à diminuer.

A cela s'ajoute la théorie de l'hydratation. Les espèces sont classées par rapport à leur affinité avec les molécules d'eau, cette classification a été proposée par Hofmeister, en considérant la capacité de certains sels à précipiter les protéines.

	<i>Fortement hydraté</i>	<i>Faiblement hydraté</i>
Anions	citrate ³⁻ > SO ₄ ²⁻ > HPO ₄ ²⁻ > acetate ⁻ > Cl ⁻ > Br ⁻ > I ⁻ > NO ₃ ⁻ > ClO ₄ ⁻	
Cations	Al ³⁺ > Mg ²⁺ > Ca ²⁺ > H ⁺ > Na ⁺ > K ⁺ > Rb ⁺ > Cs ⁺ > NH ₄ ⁺ > N(CH ₃) ₄ ⁺ ,	
	<i>Kosmotrope</i>	<i>Chaotrope</i>

Les ions monovalents de masse moléculaire élevée (ClO_4^- , NO_3^- , $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$, NH_4^+ , ...) présentent une faible densité de charge et sont donc peu hydratés. Ayant une affinité plus faible envers les molécules d'eau que les molécules d'eau entre elles, leur présence déstabilise le réseau initial de liaisons hydrogène constituant le milieu. En raison de cet effet déstructurant (engendrant un « désordre »), ces ions sont qualifiés d'ions chaotropes. A l'inverse, les ions de densité de charge importante (citrate³⁻, SO_4^{2-} , Al^{3+} , Mg^{2+} , ...) ont une affinité plus importante envers les molécules d'eau que ces dernières entre elles. Ils sont donc fortement hydratés et leur présence a pour effet de structurer le milieu en créant en son sein un réseau plus consistant de liaisons hydrogène. Ces ions sont donc qualifiés d'ions kosmotropes (engendrant un « ordre ») (W. Kunz et al., 2004).

Nous constatons donc que nos résultats sont en adéquation avec l'échelle d'hydratation des ions. En présence d'ions facilement hydratés, comme le chlorure ou le sulfate, la couche d'hydratation des nitrates diminue. La diminution de sa taille hydratée conduit à l'augmentation de son coefficient de transfert. Cet effet est d'autant plus important que l'ion en présence est hydraté, sulfate, qu'en présence de chlorure, moins hydraté. De plus, puisque le rayon du sulfate augmente, celui-ci passe difficilement à travers la membrane. Des résultats similaires ont été obtenus par E. Singlande et al. (2006) en étudiant l'influence de la composition ionique sur le traitement des effluents salins par électrodialyse.

Au vu des résultats précédents, nous constatons également que le temps de fonctionnement de l'électrodialyse en présence de sels contenant un anion bivalent (sulfate) a été plus long que celui contenant des anions monovalents (figure n°V.18) et que quelque soit la combinaison utilisée le temps d'élimination des nitrates est le plus court comparativement avec les autres cinétiques. Ceci a été confirmé par les travaux de L.J. Banasiak et A.I. Schäfer (2009) ; N. Kabay et al. (2006) ; A. Gherrou et H. Kerdjoudj (2002) et K. Kesore et al. (1997).

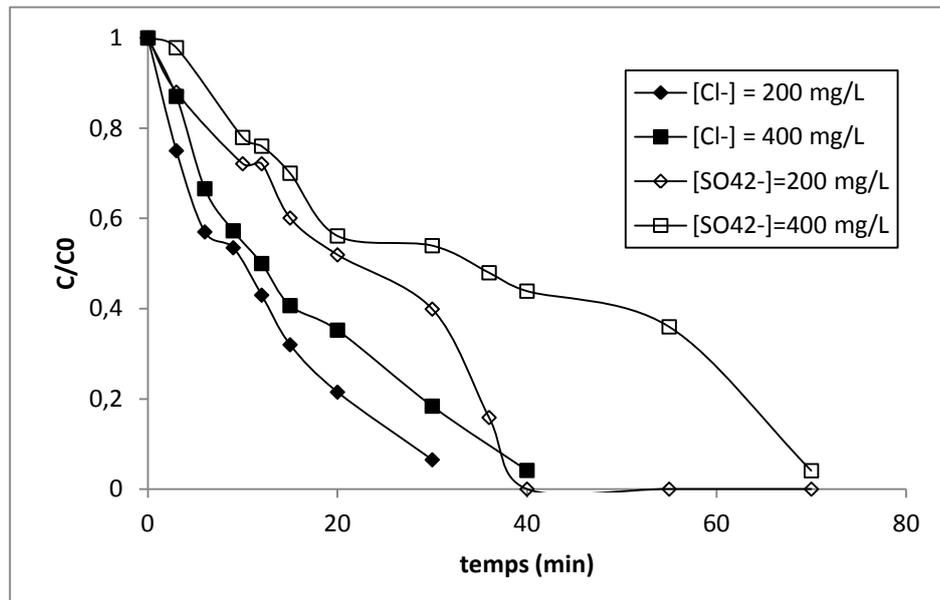


Figure n°V.18: Evolution de la concentration des ions chlorures et sulfates dans le diluât.

V.2. PARTIE 2 : SYSTEME DE COUPLAGE :

Le procédé d'électrodialyse nous permet une dénitrification complète et donc l'obtention d'une eau de très bonne qualité dans le compartiment diluât. Par ailleurs, nous ne devons pas négliger qu'en parallèle nous obtenons une eau fortement chargée en ions dans le compartiment concentrât ; cette eau serait néfaste avec des conséquences graves sur l'environnement dans un futur proche ou lointain si elle était rejetée telle quelle sans traitement au préalable. Le procédé d'électrodialyse couplé au procédé de dénitrification biologique serait une solution intéressante permettant de produire de l'eau potable et de traiter la saumure générée et cumulée dans le compartiment concentrât dans un bioréacteur à biomasse fixée.

Cependant avant d'entamer le couplage, il est important d'étudier la faisabilité de la dénitrification par culture fixée. L'efficacité de ce procédé dépend non seulement des conditions opératoires (nature de la biomasse, pH, T°) mais surtout du type de support utilisé pour fixer les bactéries.

L'objectif donc de cette partie consiste à étudier les performances de la dénitrification sur colonne en présence de deux supports en céramique : l'un est poreux l'autre est non poreux et du charbon actif en grain (CAG) connu pour sa forte porosité et ses grandes capacités d'adsorption.

Nous commencerons cette partie d'étude par présenter les résultats obtenus après analyse de la surface des supports par MEB ainsi que leur composition chimique. Les résultats sont représentés sur les figures n°V.19 et V.20.

Les photos de la figure n°V19 montrent une différence de porosité entre les supports utilisés. En effet le support en céramique présente une importante macroporosité comparativement au CAG pour lequel on observe des macro et micropores. Cette caractéristique favorise la formation rapide du biofilm sur les supports poreux, ce qui laisse supposer que ces derniers présenteraient de meilleures performances par rapport au support non poreux. (S. Michaud, 2001). Ce qui n'est pas le cas du support en céramique poreuse pour lequel l'analyse des caractéristiques illustrées dans le tableau n°IV.5 révèle une surface spécifique la plus faible de $5,075 \text{ m}^2/\text{g}$ par rapport à celle du support non poreux de $10,86 \text{ m}^2/\text{g}$.

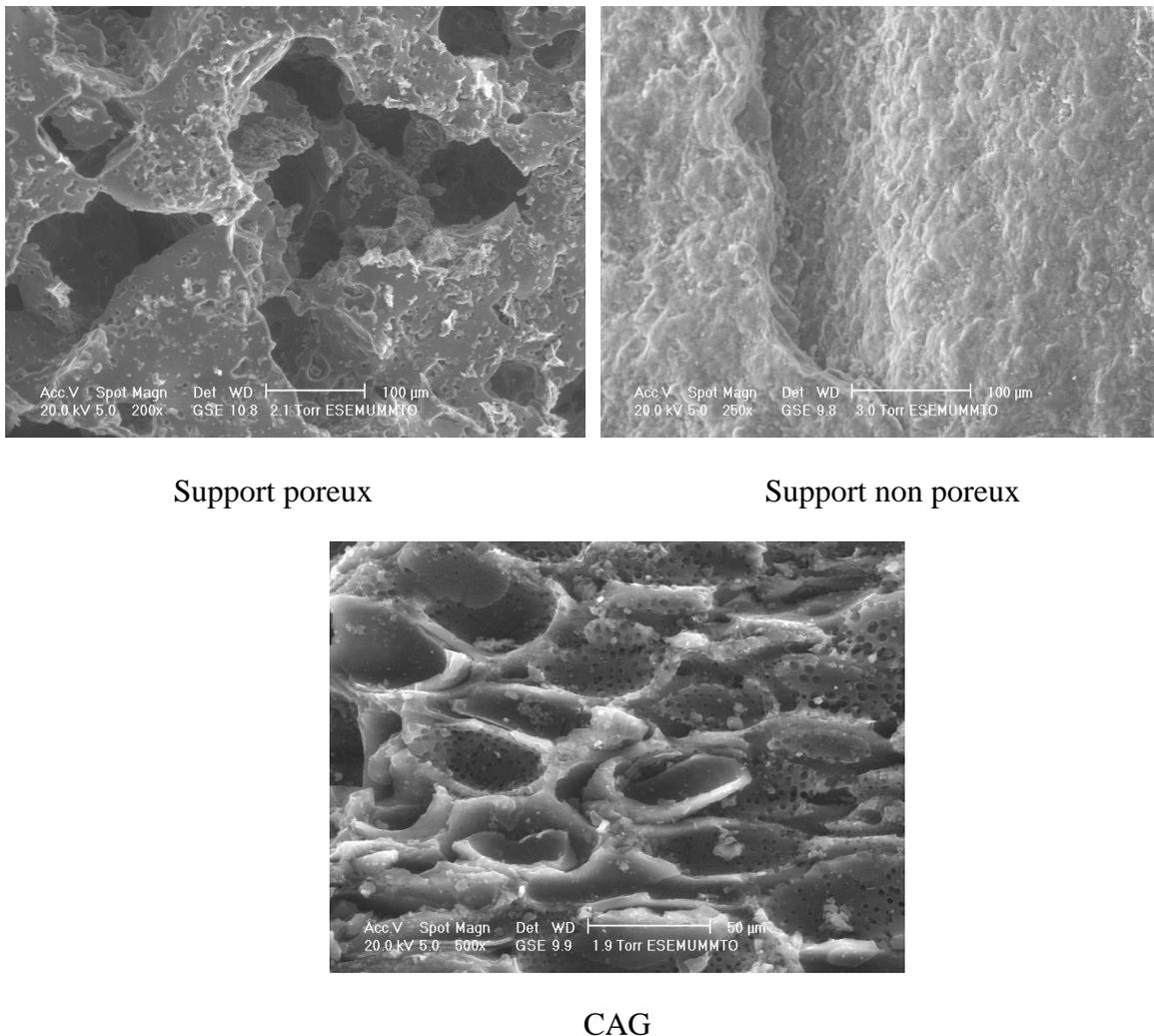
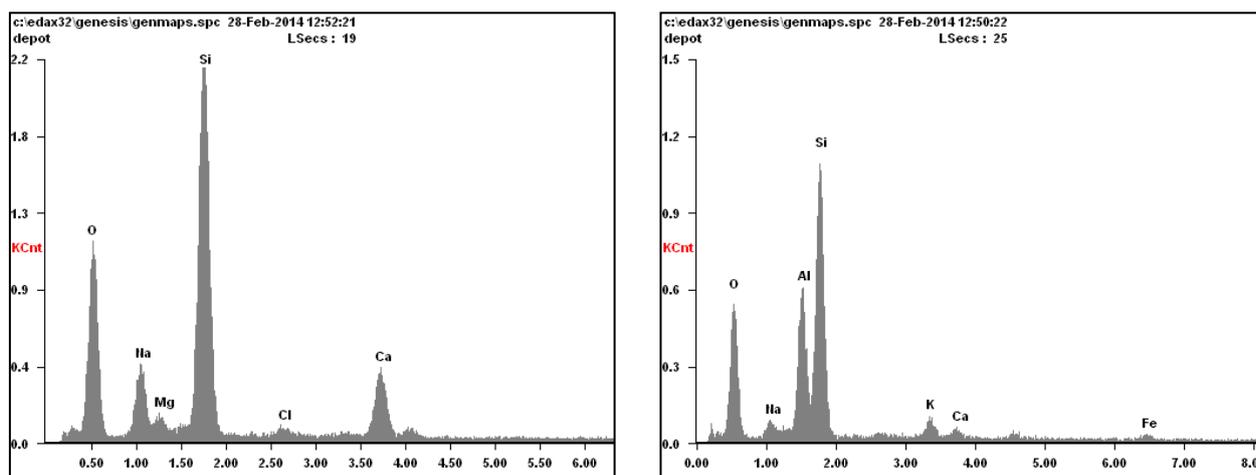


Figure n°V.19 : Observation de la surface des supports au MEB



Support poreux

Support non poreux

Figure n°V.20 : Analyse de la composition chimique de la surface des deux supports en céramique

Les résultats de l'analyse chimique (tableau n°V.1) montrent une différence dans la composition chimique des supports en céramique.

Tableau n°V.1 : Composition chimique des deux supports en céramique

Élément	Pourcentage en poids (%)		Pourcentage en atomes (%)	
	Support poreux	Support non poreux	Support poreux	Support non poreux
Oxygène (O)	51.29	45.04	64.68	59.05
Sodium (Na)	10.42	3.84	9.14	3.5
Aluminium (Al)	-	15.72	-	12.22
Magnésium (Mg)	1.55	-	1.28	-
Silicium (Si)	29.51	30.76	21.20	22.97
Potassium (K)	-	2.29	-	1.23
Chlore (Cl)	0.84	-	0.48	-
Calcium (Ca)	6.39	0.98	3.22	0.52
Fer (Fe)	-	1.36	-	0.51

De prime abord, il est important de signaler que divers métaux sont indispensables aux organismes vivants comme cofacteurs de catalyse enzymatique ou d'oxydoréduction, ou encore pour stabiliser les macromolécules et les membranes. Ces éléments métalliques ont une importance biologique par leurs oxydoréductions. Les plus importants sont le manganèse, le fer, le cobalt, le nickel et le cuivre.

Selon les résultats du tableau n°V.1, le support poreux se présente comme étant un support riche en oxygène, silicium et sodium. Ce dernier participe à la régulation de la pression osmotique intracellulaire, au fonctionnement de transporteurs... Nous remarquons également la présence du magnésium mais en petite quantité. Selon S. Montalvo et al. (2012) un support contenant des éléments tels que Na^+ , Ca^{2+} et Mg^{2+} (éléments favorables à la croissance des microorganismes) permet d'améliorer les performances des procédés de traitements des eaux usées fortement chargées en composés azotés. En effet parmi les cations les plus abondants dans la cellule sont ceux du magnésium. Il en faut environ 100 fois plus que de zinc. Le magnésium représente à lui seul environ 1% du poids sec de la bactérie. Il est indispensable aux transformations des nucléotides à adénine (ATP, ADP), Hexokinase, diverses phosphotransférases et hydrolases. C'est un Stabilisateur des ribosomes et de la paroi bactérienne. A cela s'ajoute le calcium qui est lui aussi un stabilisateur et activateur de nombreuses protéines, il intervient dans l'adhérence entre cellules, de plus il est indispensable à la division cellulaire. Le potassium est utilisé à son tour comme activateur spécifique de certains transporteurs et enzymes (pyruvate phosphokinase, tryptophanase) (J. Pelmont, 2005). Tous ces éléments sont présents à des pourcentages plus élevés, dans le support poreux que ceux présents dans le support non poreux ce qui laisse supposer que les performances du support poreux seront meilleurs que celles du support non poreux.

Il est important de signaler aussi la présence de l'aluminium en quantité non négligeable dans le support non poreux. Cet élément, à l'état ionique, est connu pour ses effets toxiques sur les cellules.

V.2.1. Essai d'adsorption des nitrates sur les différents supports :

Avant la fixation bactérienne sur les différents supports utilisés (CAG, support en céramique poreux et support en céramique non poreux), il est important de vérifier si les nitrates peuvent s'adsorber sur ces derniers. Pour cela nous avons suivi les cinétiques d'adsorption des nitrates qui a consisté en une mise en contact d'un volume de 500 ml d'une solution de nitrates à 100 mg/L avec différentes masses des supports. Pour le charbon actif, les masses utilisées sont 1, 5 et 10 mg qui correspondent à un rapport « r » de 2 ; 10 et 20 mg/L respectivement. ($r = \text{la masse du support} / \text{volume de la solution de nitrates}$). Les résultats obtenus sont représentés sur la figure n°V.21.

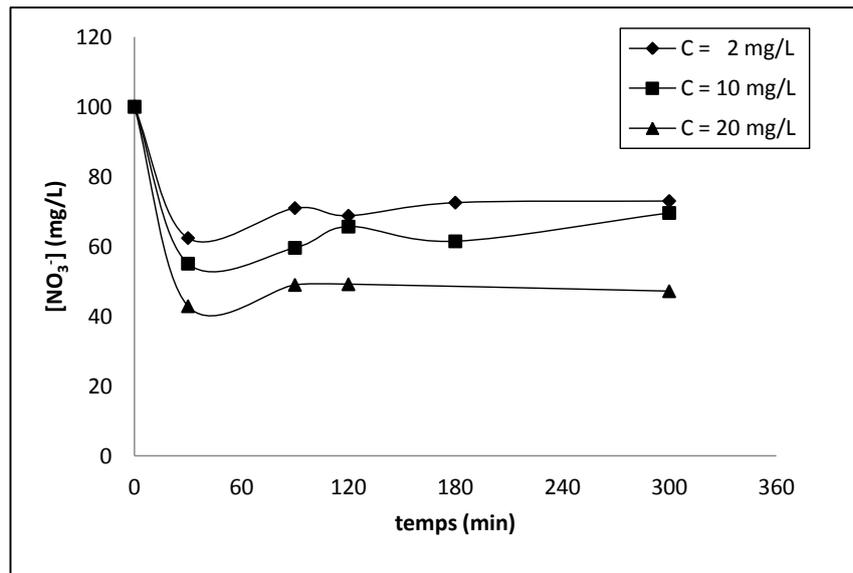


Figure n°V.21: Cinétiques d'adsorption des ions nitrates sur le charbon actif

Nous constatons une diminution rapide de la concentration en nitrates dans les 30 premières minutes pour les trois rapports. Celle-ci est attribuée à une adsorption des nitrates sur le charbon jusqu'à l'obtention d'un palier indiquant l'état d'équilibre.

L'allure des trois cinétiques montre clairement que cette adsorption est fonction du rapport « r », puisque l'augmentation de la quantité de charbon actif utilisée induit une meilleure adsorption (A. Cheikh, 1999).

Pour les deux supports en céramique, le résultat des essais d'adsorption indique qu'il n'y a pas eu d'adsorption des ions nitrates sur ces supports.

V.2.2. Réacteur à bactéries fixées :

La fixation de la biomasse dénitrifiante sur les différents supports est réalisée par passage en circuit fermé d'une solution contenant des bactéries et les éléments indispensables à leur croissance. Une fois fixés, les microorganismes réduisent les nitrates en azote gazeux en produisant des nitrites intermédiaires dans la réaction de dénitrification. Comme ces derniers sont très toxiques pour la santé humaine, il est impératif de veiller à leur disparition pendant le traitement. Un suivi de l'évolution de leur concentration ainsi que celle des nitrates à l'entrée et à la sortie de la colonne est donc nécessaire.

Les résultats obtenues montrent pour les nitrates des valeurs en dessous de 10mg/L, valeur largement en deçà des normes préconisées par l’OMS (un niveau guide de 25mg/L de NO_3^-).

En ce qui concerne les concentrations en ions nitrites, les valeurs obtenues sont inférieures à 25 $\mu\text{g/l}$, valeur également très inférieure à la norme qui est de l’ordre de 100 $\mu\text{g/l}$.

V.2.3. Optimisation des paramètres de la colonne à biomasse fixée :

La vitesse de passage dans le réacteur est un paramètre important, il conditionne le fonctionnement d’un procédé de dénitrification à cultures fixées. Son rôle a été démontré en faisant percoler le long des trois colonnes en flux ascendant, une solution de nitrates à 100 mg/L, en appliquant différentes charges hydrauliques à savoir : 0.3m/h, 0.45m/h, 0.6m/h et 0.8m/h correspondant à des débits d’alimentation de 0,8 ml/min, 1,3 ml/min, 1,8 ml/min et 2,4 ml/min, respectivement. L’influence de ce paramètre sur le déroulement de la réaction de dénitrification à l’intérieur du réacteur, est mise en évidence par le suivi de l’évolution des différentes entités : nitrates nitrites et DCO. Les résultats obtenus sont représentés sur les figures, n°V.22 pour le CAG, n°V.23 pour le support poreux et n°V.24 pour le support non poreux.

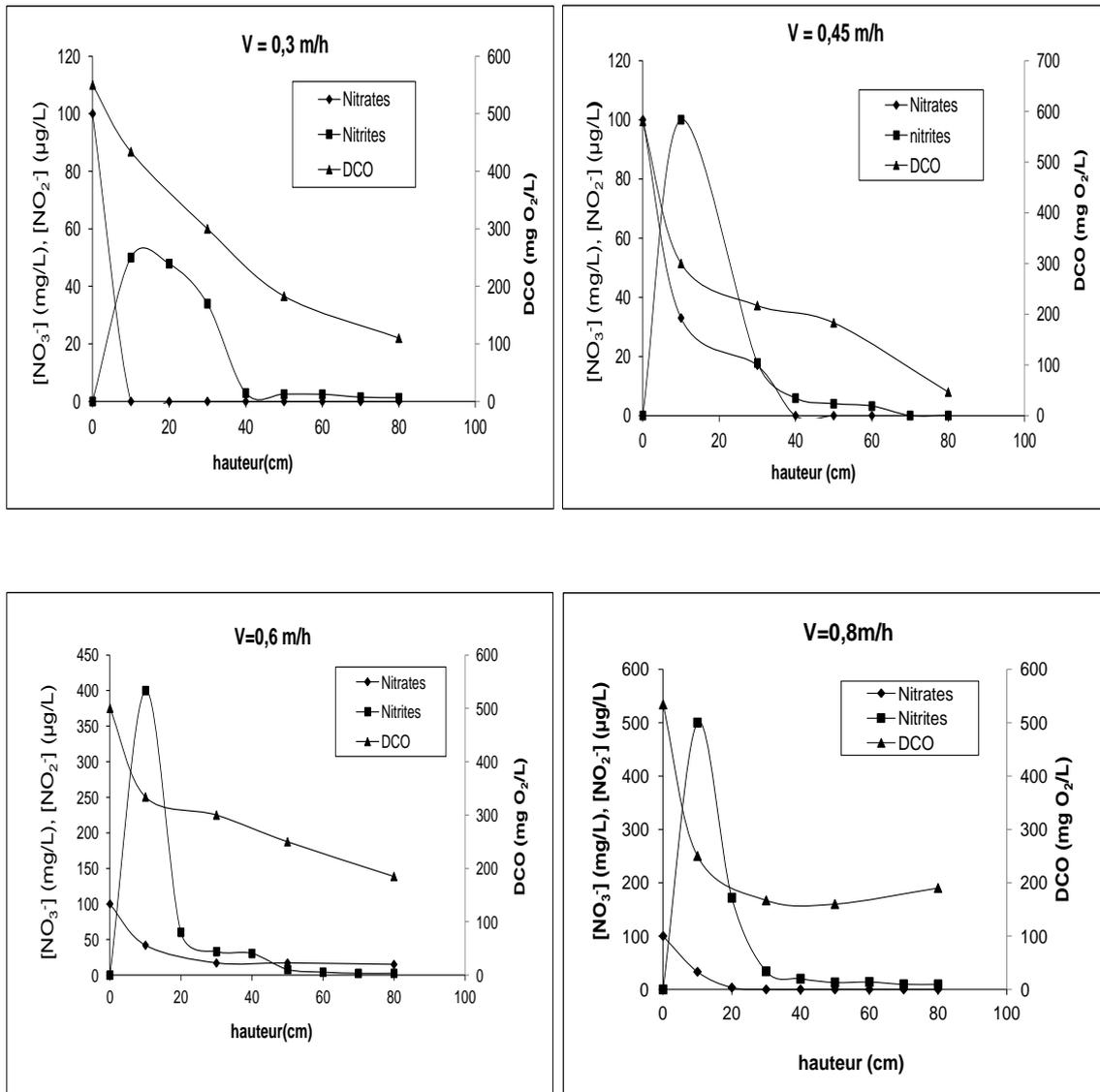


Figure n°V.22: Variation de la concentration des nitrates, nitrites et DCO en fonction de la hauteur dans la colonne de charbon actif

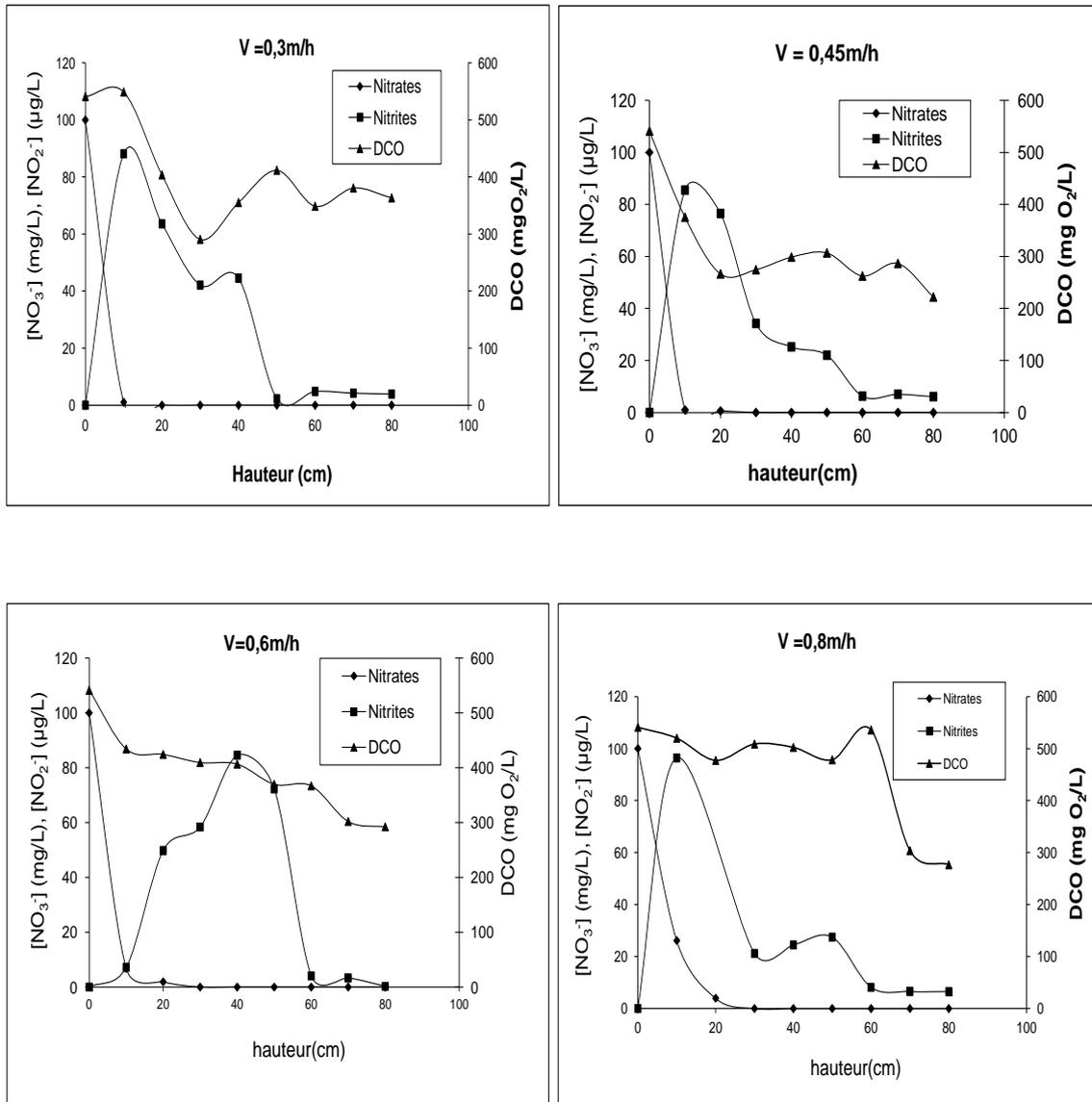


Figure n°V.23: Variation de la concentration des nitrates, nitrites et DCO en fonction de la hauteur dans la colonne remplie du support poreux.

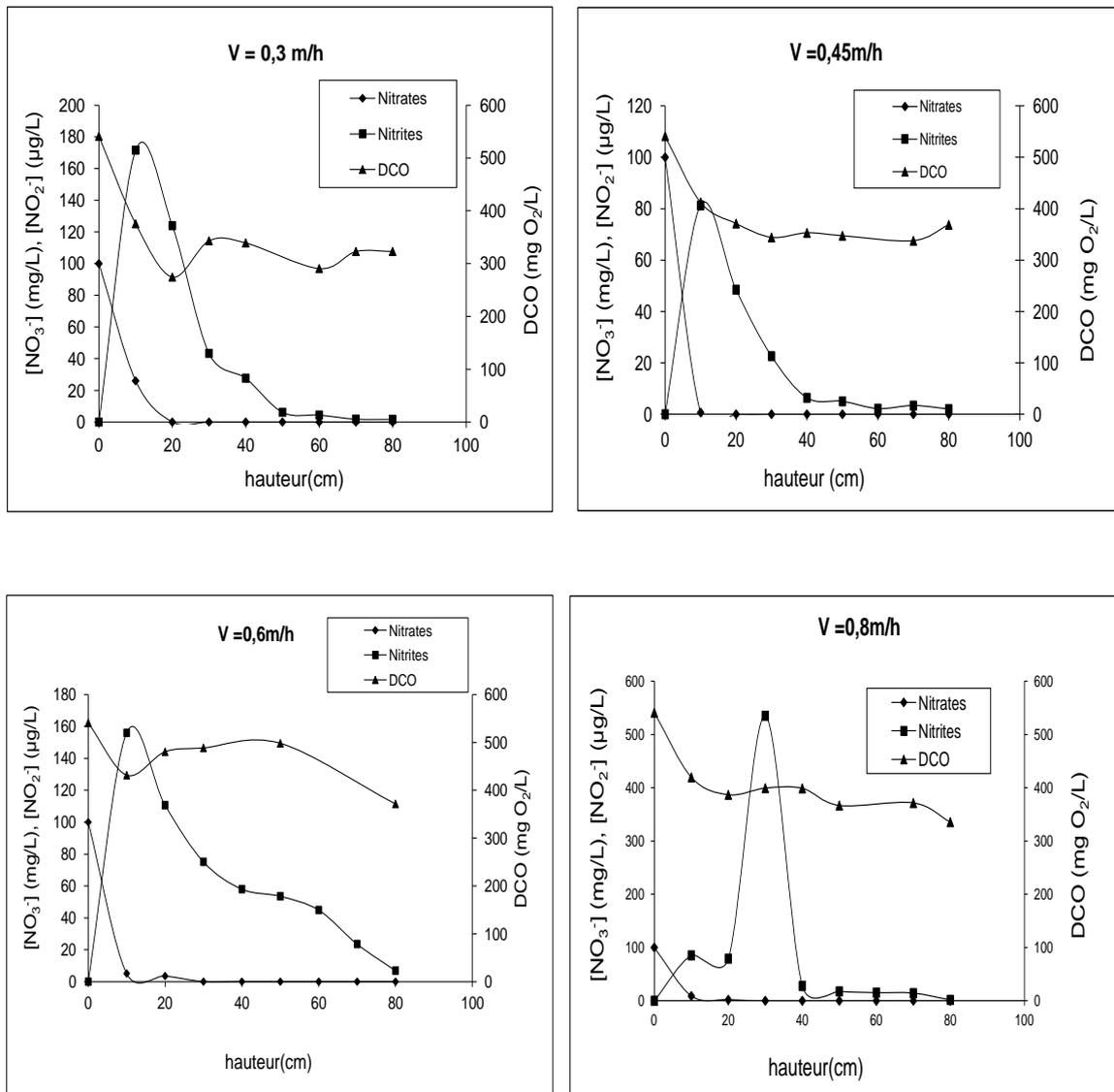


Figure n°V.24: Variation de la concentration des nitrates, nitrites et DCO en fonction de la hauteur dans la colonne remplie du support non poreux

V.2.3.1. Elimination des ions nitrates :

Nous constatons que pour tous les supports utilisés, les profils des nitrates présentés sur les figure n°V.22, V.23 et V.24 montrent que l'élimination de ces derniers est effectuée d'une manière exponentielle pour atteindre des faibles concentrations dans les 10 et 20 premiers centimètres. Cette décroissance est d'autant plus importante que la vitesse de passage est faible. Ce type de profil d'azote nitrique s'explique par le mouvement ascendant de l'effluent qui provoque une proportion bactérienne plus importante en bas de la colonne (G. Martin, 1979).

En effet, quand l'eau à traiter passe à travers la colonne, les bactéries aéro-anaérobies facultatives consomment l'oxygène de l'eau en premier puis le nitrate. Donc l'excès du substrat carboné permet l'élimination rapide de l'oxygène et une élimination efficace des nitrates. Le nitrate peut diffuser à l'intérieur des couches profondes du biofilm et être transformé dans des zones anoxiques malgré la présence d'oxygène (J. Copland, 2002).

Nous constatons aussi que toutes les vitesses utilisées nous ont permis d'avoir en sortie du réacteur des concentrations en nitrates inférieures à la norme.

V.2.3.2 Profils d'abattement des ions nitrites :

Le profil des nitrites le long des colonnes montre que ces derniers apparaissent et leur teneur augmente pour atteindre un pic. Cela est dû à la présence prédominante des bactéries dénitrifiantes qui réduisent les nitrates en ions nitrites, et ce dès les 10 premiers centimètres. Puis, leurs concentrations diminuent pour atteindre des valeurs proches du zéro à la sortie de la colonne. Ceci est expliqué par le fait que les nitrites représentent l'étape intermédiaire de la réduction des nitrates en azote gazeux (H.K. Trivedi, 2009 ; J. Copland, 2002). Leur concentration à la sortie de la colonne dépend de la hauteur de cette dernière et de la charge hydraulique appliquée (G. Blecon, 1985).

En effet, d'après les courbes représentées sur la figure n°V.22 relatives à la dénitrification sur un lit de CAG, nous constatons que plus la vitesse de passage augmente plus la production de nitrite augmente. Leur concentration passe d'une valeur de 40 µg/L à 500 µg/L pour des charges hydrauliques de 0.3m/h et 0.8m/h respectivement et s'éliminent à la hauteur 40 cm.

Pour la colonne remplie de support poreux, nous remarquons que pour toutes les vitesses étudiées, la quantité de nitrite produite n'est pas aussi importante que celle obtenue pour le CAG, mais le pic est très large ce qui induit à une élimination très lente des ions nitrites qui disparaissent à une hauteur de 60 cm. Tandis que la colonne remplie de support non poreux, les nitrites apparaissent et disparaissent rapidement sur une hauteur de 40 cm.

Ceci peut être expliqué par le fait que l'activité bactérienne du biofilm de la colonne remplie de support poreux est faible par rapport à celle des deux autres colonnes. Le support utilisé lors de nos expériences est la céramique poreuse, un matériau grossier présentant un grand volume du vide (des pores qui se voient à l'œil nu) comparativement aux deux autres supports utilisés. Ce dernier permet une colonisation plus rapide, les

microorganismes se sont fixés dans les macropores ainsi qu'à l'intérieur du cylindre formant ainsi un biofilm épais. Cet excès de biomasse peut engendrer des problèmes de diffusion des éléments nutritifs. La partie active du biofilm en surface recouvre une zone non active de biomasse, ce qui tend à baisser l'activité spécifique du biofilm qui peut aller jusqu'à 50% dans le cas des support poreux (S. Michaud, 2001 ; M.M. Alves et al., 1999).

R. Dillon et L. Fauci (2000) ont constaté que l'efficacité d'un traitement par biomasse immobilisée dans un support poreux dépend principalement des mécanismes régissant le transport de substrat à travers le support. Ceci laisse supposer que, dans des conditions de forte concentration de biomasse dans des supports poreux, la quantité du substrat disponible au microorganisme est réduite, ce qui ralentit la réaction de biodégradation. Ces mêmes observations ont été constatées par I. Wojnowska-Baryla et M. Zielińska (2002) en étudiant l'élimination du carbone et l'azote des eaux usées municipales par biomasse immobilisée dans des supports en céramique.

Il est à signaler que la charge hydraulique de 0,8 m/h appliquée au réacteur chargé de support poreux a produit un détachement de la biomasse sous forme de floccs que nous avons observé dans les échantillons prélevés et qui peut être attribué aux phénomènes d'érosion et de desquamation: c'est la perte rapide et massive du biofilm. Elle a lieu surtout avec des biofilms épais lors de changement environnementaux comme la diminution de la charge ou la mort des cellules internes conduisant à une rupture de la liaison solide-biofilm. Une augmentation du contenu relatif en protéines dans la matrice favoriserait le détachement. Ce comportement aurait été observé pour des floccs de boues activées, ou le changement dans la quantité de protéines serait apparenté à la désintégration des floccs (C. Nicolella et al., 2000 ; P.H. Nielsen et al., 1997). A partir de ces observations, nous avons jugé nécessaire de recoloniser le réacteur.

V.2.3.3. Profil d'abattement de la DCO :

Nous remarquons un profil d'abattement de la DCO identique à celui obtenu pour les nitrates et ce pour tous les supports étudiés. Cet abattement traduit la consommation du substrat carboné par la biomasse dénitrifiante (Martin, 1979).

McCarthy a étudié la relation entre la DCO requise et les nitrates réduits sur les filtres anaérobies (cité par Gaid, 1984) et a déduit que cette réduction est due soit à une adsorption du substrat sur le charbon actif, soit à la biodégradation sur le support. Ainsi, au vu des résultats d'une dénitrification importante qui témoigne d'une forte présence de biomasse dénitrifiante sur le support, et en s'appuyant sur les résultats obtenus lors des essais d'adsorption des ions nitrates sur les supports en céramique, il apparaît que l'abattement de la DCO est principalement dû à la biodégradation du substrat carboné (lactose).

Nous avons rapportés sur la figure n°V.25, les taux d'abattement de la DCO en fonction des différentes charges hydrauliques et ce pour les trois supports utilisés. Nous constatons que le support non poreux présente une bonne résistance à toutes les vitesses de passage avec un rendement de 45%. Alors que le support poreux présente un biofilm très sensible à l'augmentation de la vitesse et il est sujet à l'érosion. Ceci est peut être dû à sa macroporosité qui engendre un biofilm épais qui peut causer la mort des cellules internes conduisant à une rupture de la liaison solide-biofilm, de plus le support s'effrite facilement en présence d'eau. Les cristaux se détachent en entraînant une partie du biofilm.

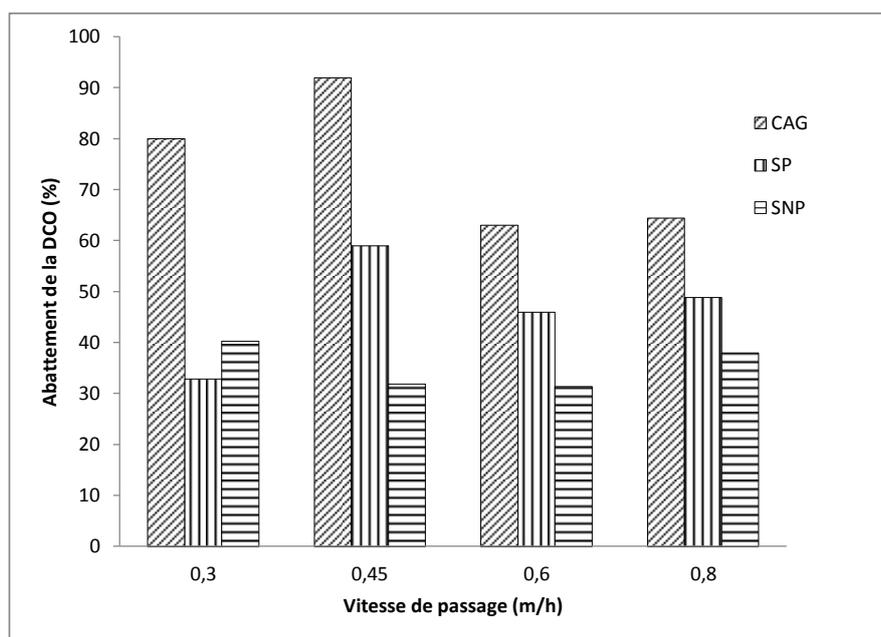


Figure n°V.25 : Rendement de l'élimination de la DCO en fonction de la vitesse de passage dans les trois colonnes.

Dans le cas de la colonne remplie de CAG, les meilleurs rendements (90%) sont obtenus pour les plus faibles vitesses (0,3m/h et 0,45m/h). Au-delà de 0,45 m/h, ce rendement décroît de manière significative (65%). Aux faibles vitesses, le CAG qui est un support poreux présente les meilleurs rendements d'élimination de nitrates et nitrites. Ceci est dû à sa surface poreuse qui permet la rétention rapide des bactéries. Tandis que qu'à des vitesses élevées, le support poreux perd significativement sa capacité à dénitrifier, car il devient moins résistant aux « forces de détachement ». Ce qui serait dû à sa forte porosité, et le court temps de séjour. Pour le paramètre DCO on observe une plus faible élimination du carbone dans les colonnes remplies de support en céramique par rapport à celle du charbon actif.

D'un point de vue pratique, la vitesse la plus élevée donnant le meilleur rendement est la plus simple à mettre en œuvre. Ce qui nous conduit à choisir la vitesse de 0,45m/h comme une vitesse optimale pour réaliser le couplage. Ce dernier sera effectué avec la colonne remplie de CAG.

V.2.4. Couplage ED-Colonne biologique : Etude de faisabilité :

Dans cette partie, nous avons couplé au compartiment Concentrât de l'électrodialyseur, la colonne inoculée par des bactéries dénitrifiantes. Les ions nitrates qui arrivent du compartiment Diluât vers le Concentrât par migration à travers la membrane anionique, traversent la colonne chargée de bactéries dénitrifiantes. Le compartiment Concentrât est dopé avec du lactose et des phosphates afin d'apporter la source de carbone et de phosphore nécessaire au métabolisme des bactéries. La quantité des nitrates provient du compartiment Diluât.

Nous avons suivi l'évolution de la concentration des ions nitrates et nitrites au cours du temps dans le compartiment diluât et à la sortie de la colonne. Le suivi de la concentration en ions nitrates au cours du temps est schématisé sur la figure n°V.26. Il se produit une dénitrification aussi bien dans le diluât par électrodialyse que dans le concentrât par les microorganismes. La concentration en nitrates de l'eau traitée est de l'ordre de 6 mg/L. De même pour les ions nitrites en sortie de colonne, leur concentration n'excède pas les 10 µg/l, valeur qui est très inférieure à la norme fixée par l'OMS (100µg/l).

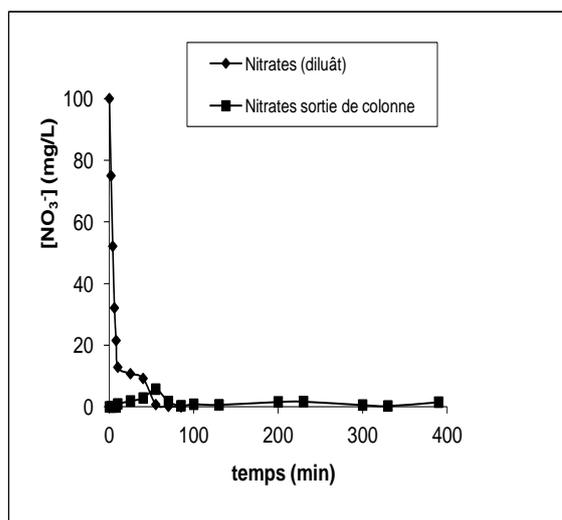


Figure n°V.26 : Evolution des ions nitrates dans le compartiment diluât et à la sortie de la colonne.

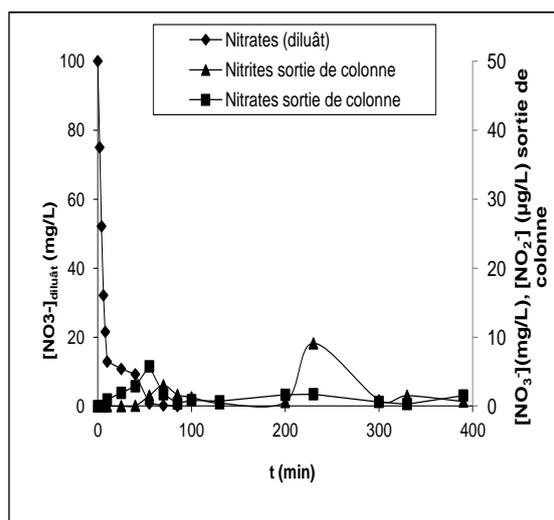


Figure n°V.27: Evolution de la concentration des ions nitrates et nitrites

La figure n°V.27 confirme l'efficacité de la dénitrification par couplage électrodialyse – colonne biologique. En effet, ce système permet à la fois d'éliminer les nitrates du diluât et de dénitrifier la saumure et surtout de stabiliser la teneur en nitrates et nitrites à des concentrations inférieures à la norme internationale.

Le flux d'ions nitrates électromigrés du compartiment diluât vers la colonne biologique a été instantanément transformé en azote gazeux N_2 . Ce qui rend le traitement biologique par biomasse dénitrifiante immobilisée une étape avantageuse et non limitante pour le procédé, contrairement au procédé classique utilisant un bioréacteur à cultures libres.

En effet, l'élimination des nitrates par électrodialyse couplé au procédé biologique a fait l'objet de plusieurs études. A. Elmidaoui et al. (2002), C. Wisniewski et al. (2002) et M.A. Menkouchi Sahli et al. (2006) ont pu traiter des eaux potables chargées en nitrates par électrodialyse et éliminer ces derniers dans un bioréacteur à culture libre. Leurs résultats sont très satisfaisants puisque' ils obtiennent un rendement de plus de 99%. Cependant lors de la production d'eau à usage alimentaire par ce procédé une étape supplémentaire est ajoutée afin de séparer l'eau dénitrifiée des microorganismes. A titre d'exemple C. Wisniewski et al. (2002) optent pour un module d'ultrafiltration qui est une technique assez coûteuse. Dans le cas de notre étude, cette étape n'est pas nécessaire. De plus le procédé à culture libre utilise beaucoup d'espace, ce qui rend notre procédé hybride plus avantageux et plus économique.

En plus de l'élimination complète et instantanée des nitrates, et l'utilisation des cellules immobilisées, l'un des autres avantages de cette technique réside dans le fait qu'il n'y a pas de contact entre l'eau dénitrifiée par électrodialyse et les microorganismes qui traitent la saumure générée. Ce procédé hybride permet de traiter de grand volume d'eau sans que la qualité de celle-ci ne soit altérée.

V.2.5. Optimisation du couplage : Amélioration du système :

Le couplage électrodialyse colonne biologique nous a permis effectivement d'éliminer les nitrates du diluât et de dénitrifier la saumure tout en stabilisant la teneur en nitrates et nitrites à des concentrations inférieures à la norme internationale. Néanmoins, lors de nos essais de couplage, nous avons noté quelques observations qui vont être étudiées dans la partie qui suit :

- L'utilisation du lactose comme source de carbone induit une production excessive de la zooglyce ce qui favorise l'apparition rapide du phénomène de colmatage. Pour pallier à ce problème, nous avons jugé intéressant d'utiliser le méthanol comme substrat carboné qui permet de favoriser le développement d'une biomasse dénitrifiante active tout en réduisant l'épaisseur du biofilm. Le méthanol est la source la plus fréquemment utilisée en raison de son coût moindre. Notre étude va porter sur les principaux paramètres pouvant influencer la cinétique bactérienne à savoir la concentration initiale de méthanol, le pH, la température,...
- La dénitrification de 100 mg/L par électrodialyse avec une intensité de courant de 50 mA se réalise en 20 minutes, alors que la colonne biologique consomme beaucoup plus de temps. Au-delà de 20 minutes, nous avons remarqué une baisse très rapide de l'intensité de courant et le générateur avait atteint sa valeur maximale ce qui pouvait endommager les membranes et de ce fait le fonctionnement de l'électrodialyse a été interrompu. Par contre le réacteur de dénitrification biologique du concentrât fonctionnait toujours, puisque la pompe de l'électrodialyseur assurait la recirculation de la saumure vers celui-ci. Afin de ne pas endommager les pompes de l'électrodialyseur, il serait préférable d'augmenter la vitesse de passage dans la colonne, ceci entraînerait une diminution du rendement de dénitrification biologique comme l'ont montré les résultats obtenus en présence de charbon actif et illustrés sur la figure n°24. Nous allons donc

essayer de remplacer le CAG (adsorbant assez coûteux) par un autre produit qui présenterait les mêmes performances.

- La concentration de K_2HPO_4 (0,1 M) est trop élevée pour pouvoir être éliminée par la suite par les bactéries dénitrifiantes présentes dans la colonne biologique. Des grandes quantités de phosphore risquent de se retrouver dans l'eau à traiter après couplage. Pour remédier à ce problème et éviter une pollution phosphorée (phénomène d'eutrophisation) il est nécessaire de remplacer la solution de K_2HPO_4 par une autre solution dont la concentration sera suffisante pour assurer la migration des ions nitrates du diluât vers le concentrât.
- La présence des ions nitrites dans le compartiment concentrât est dû à la présence de bactéries dénitrifiantes relarguées par la colonne. En effet après un ensemencement sur boîte de pétri nous avons pu confirmer leur présence. Cette présence peut engendrer la formation d'un biofilm à la surface des membranes échangeuses d'ions. Pour palier à cela, il faut ouvrir le système.

V.3. PARTIE 3 : PARTIE BIOLOGIQUE

La dénitrification peut avoir lieu suite à la présence de :

- une source de nitrates ;
- une absence d'oxygène. En effet l'oxygène est un compétiteur et un inhibiteur de la dénitrification.
- un substrat carboné facilement utilisable comme source d'énergie pour les bactéries hétérotrophes.

D'autres facteurs physico-chimiques tels que la température et le pH peuvent influencer sur la dénitrification. Cette dernière étant réalisée par de nombreuses espèces de bactéries ayant des exigences physico-chimiques différentes. Une étude en batch est envisagée afin de déterminer l'influence de ces facteurs sur le rendement d'élimination des nitrates. Une fois ces paramètres optimisés, nous passerons à l'étude en colonne où des bactéries dénitrifiantes seront fixées sur différents supports dans le but de trouver le meilleur support pouvant remplacer le CAG et présentant les meilleures performances pour la dénitrification.

V.3.1. Système à bactérie libres - étude en batch :

Dans cette partie, nous avons recherché les limites de mise en œuvre de la réaction de dénitrification en présence d'une boue dénitrifiante en s'appuyant sur les facteurs influençant la cinétique de la croissance bactérienne et l'influence d'un certain nombre de facteurs opératoires (C/N, P, pH, T°, concentration de source de carbone,...etc.) sur le rendement d'élimination des nitrates et ce en utilisant le méthanol comme source de carbone et d'énergie.

Le méthanol a été choisi en raison de son faible coût et à son faible rendement en biomasse. La réaction stœchiométrique du processus lorsque le méthanol est utilisé comme source de carbone est :



L'efficacité de la dégradation biologique est estimée d'une part, par le taux d'abattement des nitrates, et d'autre part, par le taux de croissance des micro-organismes. Ces grandeurs caractéristiques déterminées pour chaque essai vont permettre d'interpréter les résultats et de mettre en évidence l'influence éventuelle des conditions opératoires sur l'efficacité de la dénitrification biologique.

V.3.1.1. Étude des constantes de vitesse de la dénitrification biologique :

L'optimisation du procédé de dénitrification biologique en présence de méthanol nécessite la connaissance de la loi cinétique de réduction des nitrates. Dans ce cadre, nous nous proposons de faire une étude cinétique en discontinu, à partir de laquelle nous essaierons d'observer l'influence du phosphore et de la source de carbone et d'accéder à l'ordre de grandeur des constantes de demi-saturation ou constante de Monod.

Nous nous baserons sur l'hypothèse suivante : « la vitesse de disparition des nitrates suit une loi type Monod » et nous l'exprimerons sous la forme :

$$R = -\frac{d[\text{NO}_3^-]}{dt} = k \frac{[\text{NO}_3^-]}{[\text{NO}_3^-] + K_{\text{NO}_3^-}} * \frac{[\text{MeOH}]}{[\text{MeOH}] + K_{\text{MeOH}}} * \frac{[\text{P}]}{[\text{P}] + K_P} * X$$

Avec :

- R : vitesse de réduction des nitrates (mg /h) ;
- r = R/X : vitesse spécifique de réduction des nitrates (mg de nitrates/g de MVS/h) ;
- [NO₃⁻] : concentration en ions NO₃⁻ (mg/L);
- [MeOH] : concentration en méthanol (mg/L);
- [P] : concentration en phosphore (mg/L);
- K_{NO₃⁻}, K_{MeOH} et K_P sont les constantes de demi-saturation relatives aux Nitrate, Méthanol et Phosphore respectivement

V.3.1.1.1. Influence de la concentration initiale en nitrate :

Afin de déterminer l'effet de l'accepteur d'électrons sur la croissance bactérienne et la vitesse de la réaction de dénitrification, les bactéries ont été inoculées et cultivées dans des milieux de cultures contenant différentes concentrations initiales en nitrates de 50, 100, 150, 200 et 250 mg/L. Les résultats obtenus (figure n°V.28 et V.29) nous permettent de constater que plus la concentration initiale en nitrate augmente, plus le temps mis à la biodégradation est important et que les courbes représentées sur la figure n°V.28 sont des cinétiques d'ordre 0. Ces mêmes courbes ont été obtenues par L. Foglar et al. (2003) en étudiant la dénitrification des eaux usées par le procédé boues activées en présence de fortes concentrations en nitrates (100 – 500 mg/L).

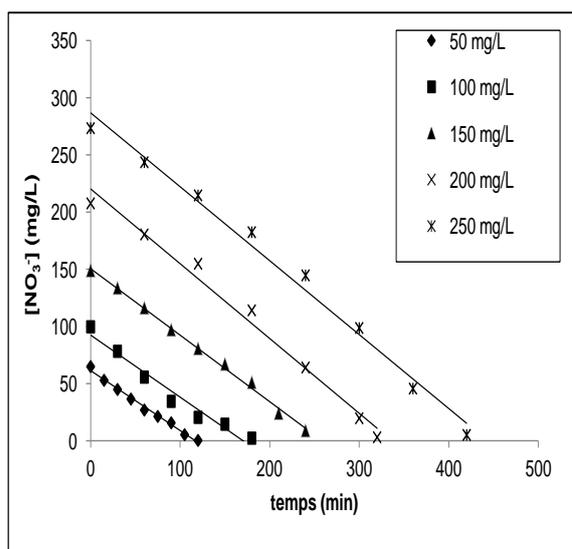


Figure n°V.28 : Cinétique de dénitrification pour les différentes concentrations initiales en nitrates

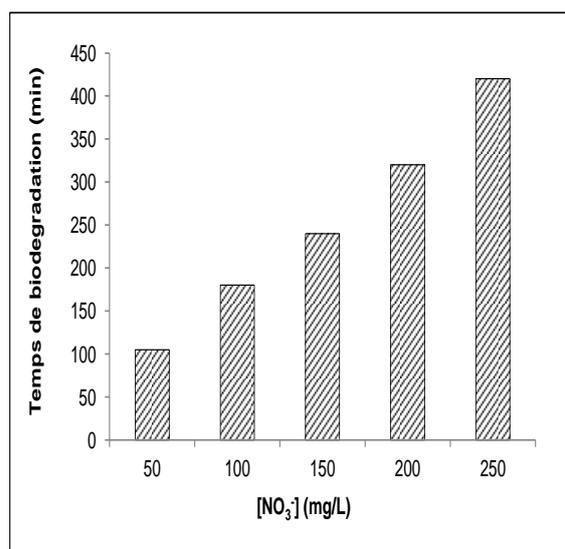


Figure n°V.29 : Evolution du temps de biodégradation en fonction des concentrations initiales en nitrates

En utilisant les données de nos expériences, nous avons déterminé la constante de vitesse ainsi que la constante de demi-saturation relatives au nitrate $k = 0,29$ et $K_{NO_3^-} = 8,72 \text{ mg/L}$. Selon J.M. Tiedje et al. (1982) et K.S. Jorgensen (1989), si le carbone devient limitant, la dénitrification est favorisée tandis que si le nitrate devient limitant alors la voie la plus probable pour l'élimination des nitrates est la réduction assimilative, car les deux processus (dénitrification et nitrate ammonification) peuvent intervenir sous des conditions environnementales similaires que sont l'anoxie ou les faibles concentrations en oxygène dissous. Toutefois, lorsque le milieu devient riche en nitrates, l'importance de la dénitrification augmenterait à nouveau au dépend de la réduction dissimilatrice.

D'après nos résultats et afin de favoriser la réduction disassimilative des nitrates, nous devons travailler avec des concentrations en nitrates supérieures à 9 mg/L. A.C. Van Haandel et J.G.M. Van Der Lubbe (2012) constatent que la concentration en nitrates a peu d'influence sur le taux de dénitrification: lorsque la concentration en nitrates est supérieure à 0,5 mg N/L (2,21 mg/L de nitrate), le taux de dénitrification est indépendant de la concentration en nitrates.

En conclusion, l'influence de la concentration en nitrates n'est très significative qu'à partir du moment où les nitrates sont suffisamment présents dans le milieu.

V.3.1.1.2. Influence de la concentration initiale du Méthanol et du ratio C/N:

En raison de l'importance de la source de carbone pour la dénitrification, cette étape est effectuée afin de quantifier l'influence du rapport méthanol/nitrate (C/N) sur la dénitrification. Le méthanol a été choisi comme source de carbone externe la plus appropriée car elle est la moins coûteuse et très efficace dans la dénitrification (I. Purtschert et W. Gujer, 1999). Pour cela, plusieurs expériences ont été menées afin d'évaluer l'influence de la concentration initiale de la source de carbone sur le phénomène de la dénitrification. Les expériences ont été réalisées avec les concentrations initiales en méthanol de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 et 0.5 ml/L qui correspondent aux rapports C/N : 0.53 ; 1.05 ; 1.75 ; 2.1 et 2.62 respectivement et une concentration initiale en nitrate de 250 mg/L.

Durant nos expériences, nous avons mesuré en concomitance la réduction des nitrates, l'évolution des nitrites, la DCO, le pH et la croissance bactérienne en fonction du temps.

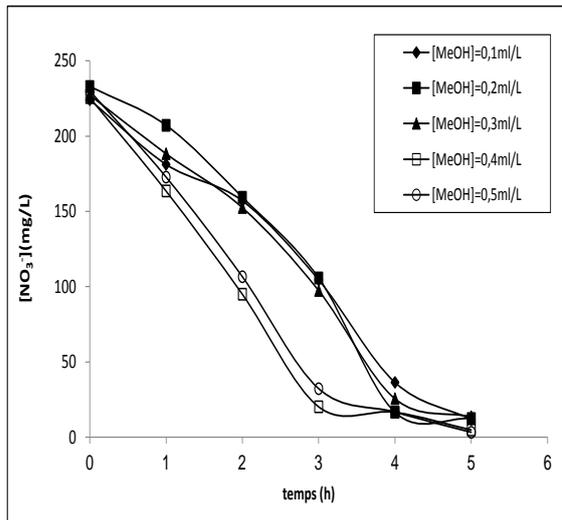


Figure n°V.30: Cinétique de dénitrification à différentes concentrations en méthanol

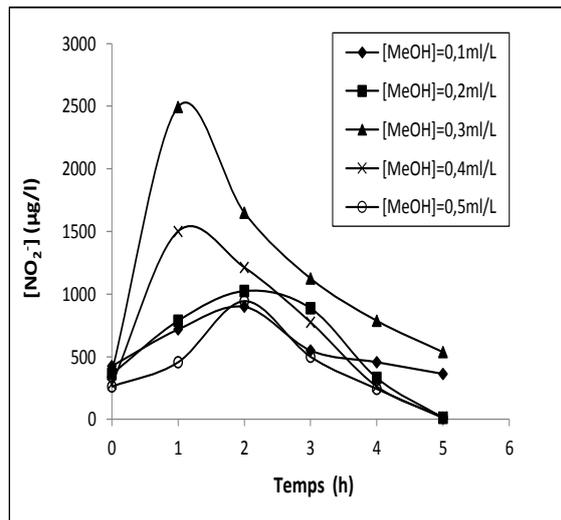


Figure n°V.31: Evolution des nitrites pour les différentes concentrations en méthanol

Les résultats obtenus montrent que la vitesse de dénitrification augmente proportionnellement avec les concentrations initiales en méthanol. Le meilleur temps de dénitrification correspond aux rapports C/N les plus élevés (figure n°V.30). La consommation de méthanol durant le processus de dénitrification exprimée par la diminution de la DCO implique une croissance considérable de la biomasse dans le réacteur.

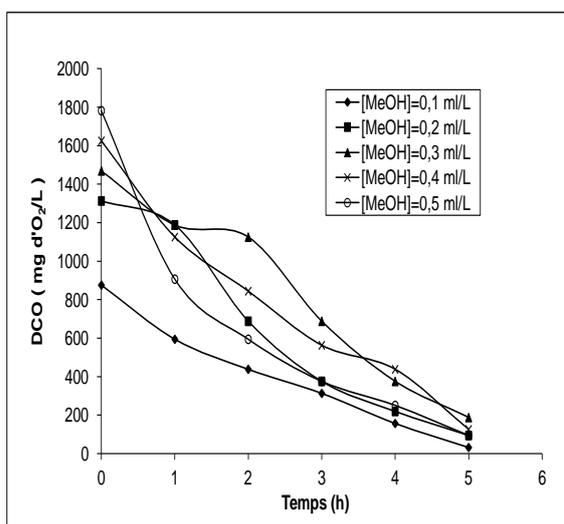


Figure n°V.32: Cinétiques de dégradation de la DCO pour les différentes concentrations en méthanol

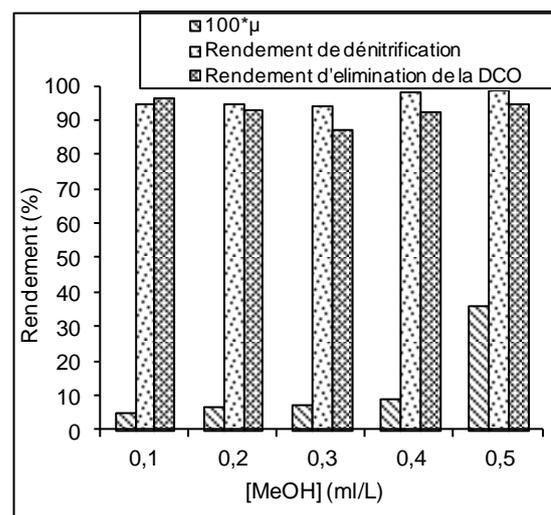


Figure n°V.33: Influence de la concentration en méthanol sur le taux de croissance (μ) et le rendement de dénitrification.

Selon la figure n°V.33, l'augmentation du ratio C/N de 0,53 à 2,62 induit une augmentation du taux de croissance et du taux de dénitrification. Ces résultats sont en accord avec ceux de J.J. Her et J. S. Huang (1995). Ces derniers constatent que les meilleurs taux de dénitrification (> 90%) correspondent à des rapports compris entre 0,9 et 10. M. Kornaros et G. Lyberatos (1996) indiquent que le rapport entre le carbone organique et le nitrate contrôle la voie entre la dénitrification dissimilative et la réduction assimilative des nitrates en ions ammoniums. Plus le ratio est élevé, plus la dénitrification est favorisée (W. Robertson et al., 2008 ; J.J. Her et J. S. Huang, 1995). Cependant une quantité plus grande que celle nécessaire à la dénitrification induit un potentiel d'oxydoréduction négatif à l'effluent du réacteur et à un début de réduction des sulfates en sulfure d'hydrogène (H_2S). Tandis qu'une quantité inférieure ne permet pas la dénitrification complète et s'observe par une accumulation de nitrites et du protoxyde d'azote dans l'effluent (M. J. Kampschreur et al., 2009 ; N. Sauthier et al., 1998). Il peut donc se résumer qu'il faut avoir suffisamment de matière carbonée pour maintenir un équilibre entre le carbone organique et l'azote (C/N) afin de maintenir la voie de la dénitrification hétérotrophe dissimilative.

Les études de D.W. Koren et al. (2000), U. Welander et al. (1998) et J. P. Van Der Hoek et al. (1988) démontrent qu'une source de carbone ajoutée dans des proportions appropriées afin de prévenir la réduction des sulfates et limiter le processus à la

dénitrification est la meilleure alternative. Ils proposent alors le rapport C/N = 0,86, tandis que Z. H. Abu-Ghararah (1994) estime qu'un rapport de 0,55 est suffisant pour traiter une eau chargée en nitrates par le procédé à lit fixe en utilisant le méthanol comme source de carbone. Il explique que ce rapport a été sélectionné en dessous du niveau stœchiométrique (0,71) afin d'éviter un excès du méthanol dans l'effluent. Cependant, la relation stœchiométrique réelle diffère de la relation stœchiométrique théorique car une partie du carbone organique et celle des nitrates est utilisée pour la synthèse de la biomasse, c'est pour cette raison que le ratio C/N utilisé est bien souvent supérieur à la valeur théorique (Q. Wang et al., 2009 ; H. Constantin et M. Fick, 1997). Dans la présente étude, il a été suggéré qu'une valeur de C/N= 0.53 est une valeur suffisante pour une dénitrification optimale. Des recherches similaires ont obtenu des rapports de C/N = 1,1 (M.A. Gómez et al., 2000) et C/N=1.25 (Q. Wang et al., 2009).

Pour mieux connaître la cinétique de réduction des nitrates, nous avons calculé la constante de demi-saturation relative au méthanol. La vitesse de réduction des nitrates s'écrit sous la forme :

$$R = -\frac{d[NO_3^-]}{dt} = k * \frac{[MeOH]}{[MeOH] + K_{MeOH}} * X$$

La vitesse spécifique de réduction des nitrates $r = \frac{R}{X} = k * \frac{[MeOH]}{[MeOH] + K_{MeOH}}$

Après calcul, $k = 8,4$ et $K_{MeOH} = 0,061$ mg/L, sachant que la densité du méthanol est 0,791, $K_{MeOH} = 0,077$ ml/L. Cela signifie qu'en-dessous de cette valeur le taux de croissance devient très dépendant de la concentration en substrat principal.

L'équation de Monod s'écrit alors de la manière suivante :

$$r = \frac{R}{X} = 8,4 * \frac{[MeOH]}{[MeOH] + 0,061}$$

Les paramètres de la croissance sont calculés selon la méthode utilisée par E. Liwarska-Bizukojc et al. (2001) $X = X_0 e^{\mu_{max}}$.

Et donc $\mu_{max} = 0,23 \text{ h}^{-1} = 7,69 \text{ j}^{-1}$, cette valeur est très proche de celle trouvée par P. Dold et al. (2007) $\mu_{max} = 6.29 \text{ j}^{-1}$ qui ont étudié la post-dénitrification pour l'élimination de l'excès d'azote.

$$\mu = 0,23 * \frac{[MeOH]}{[MeOH] + 0,061}$$

V.3.1.1.3. Influence de la concentration initiale en phosphore :

Les ions PO_4^{3-} apparaissent comme un facteur de croissance bactérienne à cause de leur rôle dans la synthèse de l'ATP. Il est évident qu'ils doivent être présents dans le milieu pour que la dénitrification puisse se faire dans les meilleures conditions, et aboutir au stade final azote gazeux. La détermination de la constante de demi-saturation relative au phosphore nous permettra de fixer la dose en dessous de laquelle le phosphore sera considéré comme facteur limitant de la dénitrification. Cette étude est spécialement importante dans le traitement d'eaux de forages déphosphatées. Les essais ont été réalisés pour des concentrations de phosphore allant de 1, 2, 3, 4 et 5 mg/L. Les autres paramètres restent invariables ; 200 mg/L de nitrates maintenus à température ambiante de 25°C. Toutefois, l'excès de méthanol a été fourni ici pour garantir l'absence de limitation de substrat. Les résultats sont représentés sur les figures suivantes.

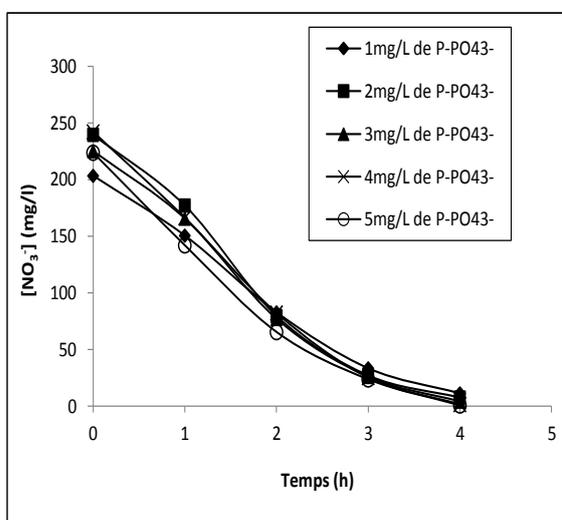


Figure n°V.34 : Cinétique de dénitrification à différentes concentrations du phosphore

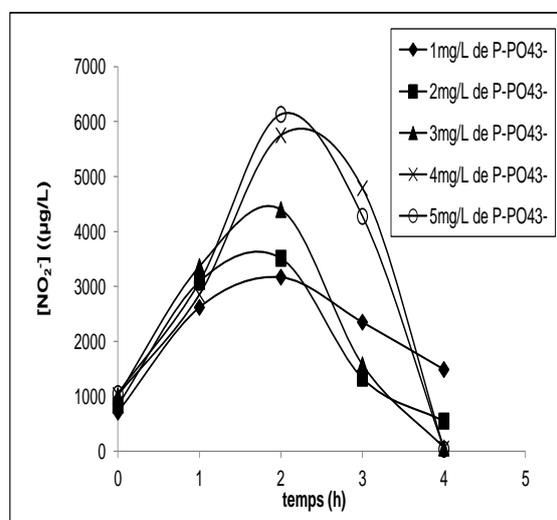


Figure n°V.35 : Evolution des nitrites pour les différentes concentrations en phosphore

Nous remarquons que l'élimination des nitrates en présence de concentrations initiales variables du phosphore augmente de façon proportionnelle avec celle-ci. Le rendement de dénitrification atteint son maximum pour une concentration initiale en phosphore égale à 5 mg/L.

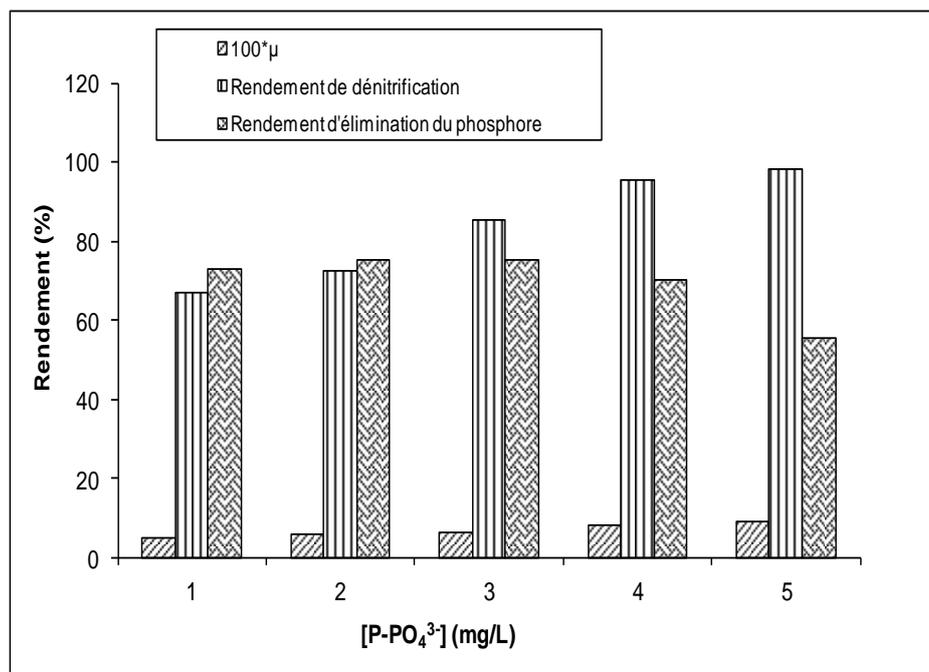


Figure n°V.36: Influence de la concentration en phosphore sur le taux de croissance (μ) et sur les différents rendements d'élimination

Cependant le meilleur rendement d'élimination ou consommation du phosphore est obtenu pour une concentration de 3 mg/L au-delà de cette valeur, le rendement diminue. Il semblerait qu'il n'y ait plus de consommation du phosphore. Pour dénitrifier, les bactéries n'utilisent plus le phosphore du milieu, le phosphore cellulaire leur est suffisant.

Nous constatons aussi que plus la concentration en phosphore augmente, plus la production d'ion nitrite est importante. Pour des concentrations en phosphore allant de 3 à 5 mg/L, l'élimination des nitrites est totale pour un temps de 4h, alors que pour de faibles concentrations (1 et 2 mg/L) elle nécessite beaucoup plus de temps. Ces mêmes remarques ont été observées par V. Rocher et al. (2011). Ils expliquent ceci par le fait que les cinétiques bactériennes n'étaient plus assez rapides pour éliminer les nitrites et que ce phénomène observé en conditions non limitantes en phosphore est logiquement accentué en situation de carence en phosphore.

W.J. Hunter (2003) a étudié la dénitrification dans des colonnes de sable avec le phosphore comme facteur limitant. Il a trouvé que seule une petite quantité de nitrate a été éliminée et que la plupart ont été convertis seulement en nitrites. Il a constaté aussi que 0,16 mg/L de phosphore sont nécessaires pour éliminer efficacement 17 mg/L de nitrate sans accumulation significative de nitrite.

Pour confirmer ces observations, il serait intéressant de déterminer les constantes cinétiques liées à cette biodégradation. La vitesse spécifique de réduction des nitrates

$$r = \frac{R}{X} = k * \frac{[P]}{[P] + K_p}$$

Et donc $k = 9,84$ et $K_p = 0,3$ mg/L

La constante de Monod relative au phosphore est de l'ordre de 0,3 mg/L. Pour des eaux de forages déphosphatées, l'élimination biologique des nitrates ne pourra se faire qu'à partir d'une concentration en phosphore au dessus de la valeur correspondant à K_p , sinon le phosphore sera considéré comme facteur limitant dans la dénitrification. Selon Leprince & Richard (1982) (cité par S. Naji, 1985) la vitesse de la dénitrification atteint un maximum pour des valeurs comprises entre 0.45 et 0.55 mg/L de PO_4^{3-} .

L'équation de Monod s'écrit alors de la manière suivante :

$$r = \frac{R}{X} = 9,84 * \frac{[P]}{[P] + 0,3}$$

Nous avons déterminé aussi le taux de croissance maximal μ_{max} à partir de la relation $X = X_0 e^{\mu_{max} t}$. Après calcul, $\mu_{max} = 0,097 \text{ h}^{-1} = 2.32 \text{ J}^{-1}$. L'équation s'écrit donc de la manière suivante :

$$\mu = 0,097 * \frac{[P]}{[P] + 0,3}$$

V.3.1.2. Influence de la température sur l'élimination des nitrates :

Les changements de température influent sur le métabolisme des bactéries. Plus la température s'éloigne de la température optimale de l'espèce de bactéries, plus le métabolisme bactérien ralentit (US EPA. 1993). La température affecte donc le taux de biodégradation des nitrates et le taux de croissance de la biomasse.

Dans cette partie, nous avons fait varier la température de 20, 25, 30, 35 et 40°C. D'après les résultats expérimentaux obtenus nous pouvons déduire que la température optimale pour la croissance de ces bactéries se situe autour de 25°C avec un taux de croissance $\mu_{max} = 0,094 \text{ h}^{-1}$. Ce résultat concorde avec les données théoriques concernant l'activité des bactéries dénitrifiantes où leur température optimale de croissance est comprise entre 25 à 35°C (M.O. Rivett et al., 2008). Toutefois, le rendement maximal d'élimination des nitrates est observé à la température (35°C), où il atteint 99.5%.

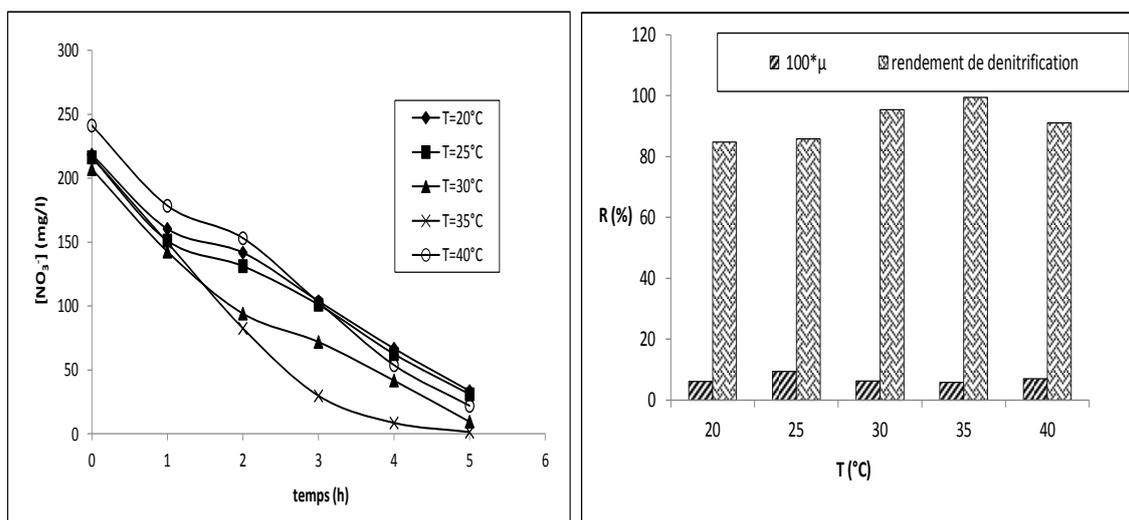


Figure n°V.37 : Cinétique de dénitrification à différentes températures

Figure n°V.38 : Influence de la température sur le taux de croissance (μ) et le rendement de dénitrification.

La dénitrification est optimale dans une gamme de température assez large. On rapporte dans la littérature des gammes de tolérance étendues de 5°C à plus de 75°C (G. Martin, 1979). De 35 à 60°C la dénitrification augmente avec la température, avec essentiellement accumulation de protoxyde d'azote, alors qu'à des températures supérieures à 60°C, elle décroît (R. Knowles, 1982). Aux basses températures, les vitesses de dénitrification sont faibles mais mesurables jusqu'à 5°C (L. Vacková et al., 2011 ; U. Welander et B. Mattiasson, 2003). P. Timmermans et A. Haute (1983) ont constaté qu'un changement de température de 20 à 10 °C a diminué le taux de dénitrification d'environ 70 % pour une biomasse qui utilise le méthanol comme substrat carboné. Cependant, nous n'avons pas à intervenir sur ce paramètre puisque pour toutes les températures étudiées, nous obtenons un rendement d'élimination de l'ordre de 90%.

V.3.1.3. Influence du pH sur l'élimination des nitrates :

Sachant que le pH du milieu réactionnel influe sur l'activité enzymatique des bactéries dénitrifiantes et sur la nature des produits de la dénitrification nous avons effectué une série d'expériences pour une gamme de pH allant de [4 – 9]. Les résultats obtenus montrent que le pH optimal pour la croissance bactérienne est compris entre 7 et 9, ce qui correspond à un bon rendement de dénitrification de l'ordre de 98%. Selon R. Knowles (1982) la dénitrification peut se produire dans une large gamme de pH comprise

entre 4 et 9 mais serait optimale pour des pH compris entre 7 et 8 (J.M. Bremmer et K. Shaw, 1958).

Nous remarquons d'après la figure n°V.39 que les vitesses d'élimination des ions nitrites sont lentes pour des pH acides. En effet, les bactéries dénitrifiantes principalement celles qui réduisent les nitrites en azote gazeux sont très sensibles à la présence d'acide nitreux (C. Glass et al., 1998). La concentration d'acide nitreux est liée à la concentration en nitrites par l'équation d'équilibre suivante : $\text{HNO}_2 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{NO}_2^-$. L'inhibition de la dénitrification par l'acide nitreux augmente donc avec la diminution du pH.

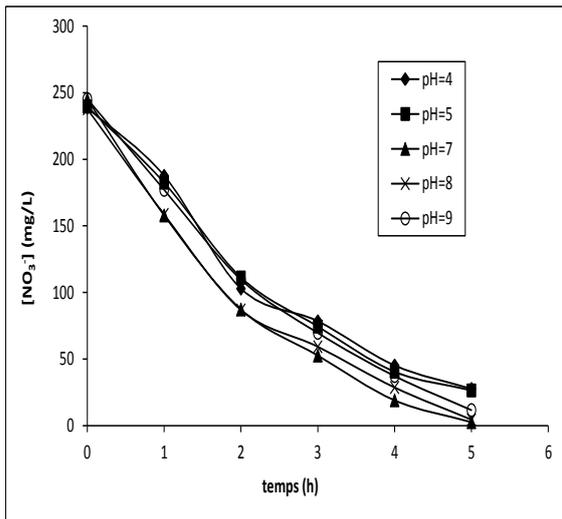


Figure n°V.39 : Cinétique de dénitrification à différents pH

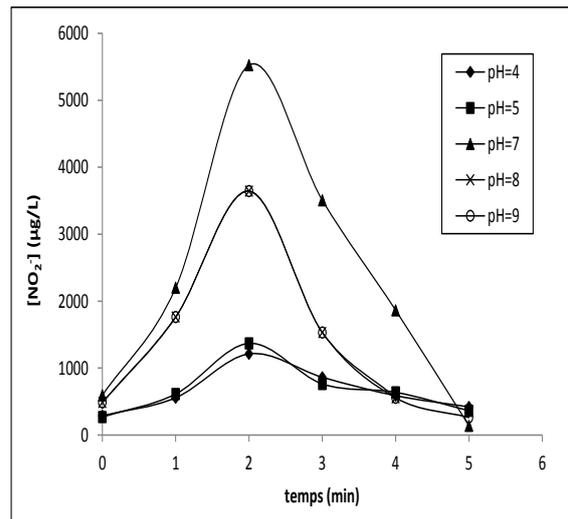


Figure n°V.40 : Evolution de la concentration en nitrites à différentes valeurs de pH

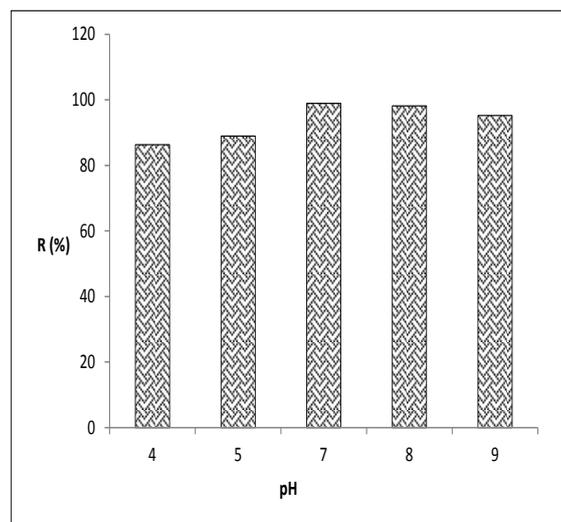


Figure n°V.41 : Influence du pH sur le rendement de dénitrification.

Nous constatons aussi que les meilleurs rendements (>90%) sont pour des pH>7. Alors que pour des valeurs de pH égales à 4 et 5 il est moindre. Ceci peut être expliqué par le fait que pour des pH inférieurs à 6 la dénitrification relargue davantage de N₂O, les enzymes réduisant les oxydes d'azotes, et plus spécialement la N₂O réductase, sont progressivement inhibées (M. Thorn et F. Sorensson, 1996). Cela entraînerait une décroissance des vitesses de dénitrification accompagnée d'une augmentation du taux de N₂O comme produit final. A pH 4, le N₂O peut être le produit final majeur (J. Wijler and C. C. Delwiche, 1954), alors que pour des pH supérieurs à 6, la dénitrification est totale et le produit formé est essentiellement du N₂ (W.C. Koskinen et D.R. Keeney, 1982 ; O. Van Cleemput et al., 1975). De plus, nous avons constaté une augmentation du pH au cours de l'expérimentation. En effet, la dénitrification consommant des ions H⁺, produit de l'alcalinité.

Le pH a donc une grande influence sur la dénitrification. Il est nécessaire de le maintenir à des valeurs supérieures à 7 afin de minimiser l'inhibition de la dénitrification par l'acide nitreux (HNO₂) et la production d'oxyde nitreux (N₂O). Cependant, le pH des eaux souterraines est généralement proche de la neutralité, ce qui signifie que l'effet du pH est appelé à jouer un rôle mineur.

V.3.1.4. Influence des ions chlorures et sulfates sur l'élimination des nitrates :

Sachant que le procédé d'électrodialyse ne permet pas de concentrer les nitrates uniquement mais aussi d'autres ions, et comme les eaux nord africaines sont caractérisées par une minéralisation importante avec une prédominance de chlorures et de sulfates, ces derniers vont se retrouver dans le compartiment concentrât qui sera transféré directement vers la colonne. C'est pourquoi, nous avons jugé utile d'étudier l'influence des chlorures et sulfates sur la cinétique de dénitrification. Il s'agit d'évaluer l'effet des sels minéraux (NaCl et Na₂SO₄) sur l'activité biologique à l'aide de milieux synthétiques contenant différentes concentrations en chlorures et sulfates. Pour cela, plusieurs séries d'expériences ont été effectuées. L'une en faisant varier la concentration des chlorures de 200 mg/L à 5000 mg/L. L'autre en faisant varier la concentration des sulfates de 150 mg/L à 5000 mg/L. La concentration initiale des nitrates a été fixée à 100 mg/L. les résultats obtenus sont représentés sur les figure n°V.42 et V.43.

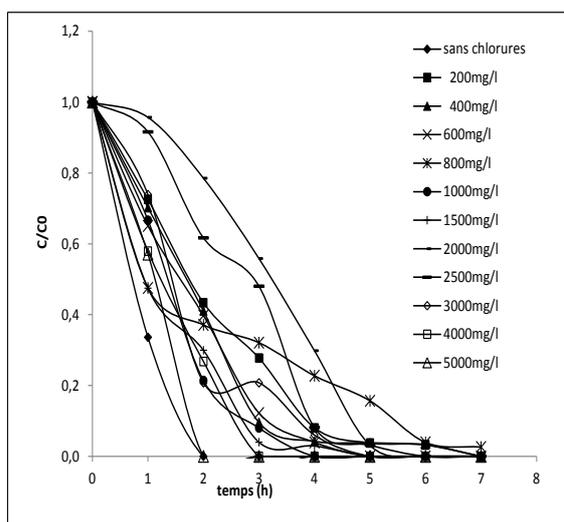


Figure n°V.42 : Evolution de la concentration des nitrates en fonction du temps à différentes concentrations en ions chlorures.

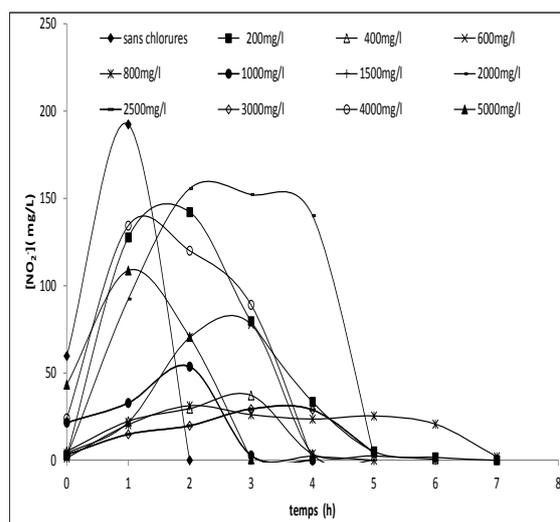


Figure n°V.43 : Evolution de la concentration des nitrites en fonction du temps à différentes concentrations en ions chlorures.

D'après les résultats représentés sur la figure n°V.42, l'élimination totale des nitrates en absence de chlorures s'effectue en 2 heures, par contre en présence d'ions chlorures les nitrates sont éliminés au bout de 3 à 6 heures. Pour des concentrations en ions chlorures supérieures à 800 mg L^{-1} , l'élimination des nitrates s'effectue en moins de 5 heures. Pour les ions nitrites, leur élimination en absence de chlorures se fait en 2 heures, par contre en présence de chlorures elle atteint 5 heures.

Les chlorures n'entravent pas le bon déroulement d'une dénitrification biologique mais la ralentissent, ce qui confirme les résultats de G. Claus et J. Kutzner (1985) qui ne constatent aucune inhibition du pouvoir dénitrifiant de *Thiobacillus denitrificans* pour une concentration de chlorure de sodium inférieur à 30 g L^{-1} , et ceux de F.P.S. Sant'Anna et al. (1996) qui constatent une baisse de rendement de 6% lorsque la concentration en chlorure de sodium passe de 0 à 30 g/L .

Nous remarquons également que pour certaines concentrations élevées la dénitrification est rapide alors que pour d'autres concentrations en chlorures moins élevées une adaptation des bactéries est plus que nécessaire afin de réaliser des essais dans la même journée. Nous avons mis en évidence l'évolution de la dénitrification pour des concentrations différentes en chlorures et cela pour des essais effectués dans la même journée (figure n°V.44 et n°V.45). Nous constatons que plus la concentration en ions

chlorures augmente plus le temps pour réaliser à la dénitrification diminue, ceci est en accord avec les résultats trouvés par A. S. Ucisik et M. Henze (2004) et C. Dahl et al. (1997). Ces derniers arrivent à dénitrifier une eau fortement concentrée en chlorures par le procédé de boue activée avec une adaptation graduelle de cette dernière en ions chlorures.

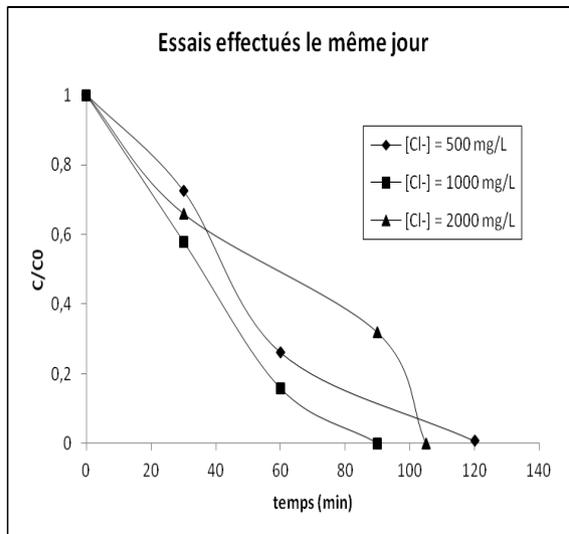


Figure n°V.44 : Evolution des nitrates pour des concentrations en chlorures de 500, 1000 et 2000 mg/L effectués le même jour

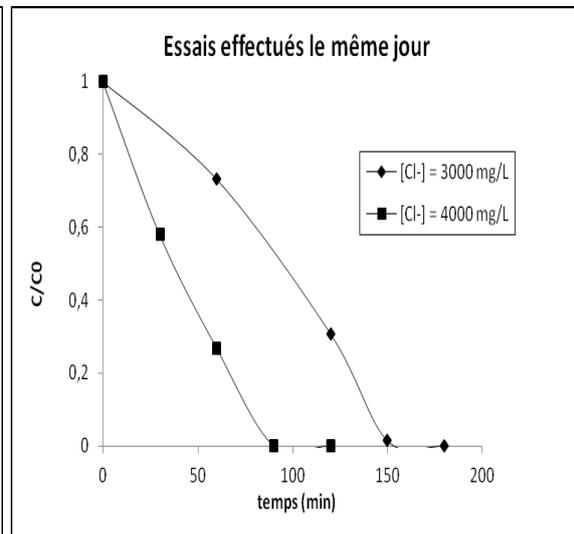


Figure n°V.45 : Evolution des nitrates pour des concentrations en chlorures de 3000 et 4000 mg/L effectués le même jour.

De même pour les ions sulfates, d'après l'allure des courbes de la figure n°V.46, l'élimination des nitrates en absence d'ions sulfates est très lente et s'étale jusqu'à 9 heures, par contre plus la concentration des ions sulfates augmente, plus le temps d'élimination des nitrates est réduit. De même pour les nitrites, la présence des sulfates réduit le temps de leur élimination.

Il semblerait donc que des concentrations élevées de sulfates n'influent pas sur la dénitrification tant que la source de carbone est ajoutée dans des proportions appropriées comme l'ont démontré J. P. Van Der Hoek et al. (1988) dans leurs études. Les électrons sont transférés d'un donneur d'électrons (élément réduit: matière organique) à un accepteur d'électrons (élément oxydé: oxygène, nitrates, nitrites ou sulfates), les accepteurs d'électrons sont utilisés par les bactéries en ordre décroissant d'électropositivité c'est à dire qu'elles utilisent en général les éléments dans l'ordre de préférence suivant : oxygène dissous, nitrates, nitrites, sulfates...etc. (W.L. Balderston et J.M. Sieburth, 1976). Utiliser les nitrates ou les nitrites comme accepteurs d'électrons génère moins d'énergie que lorsque

l'oxygène est utilisé. C'est pourquoi la dénitrification se produit peu ou pas en présence d'oxygène. De la même façon, les bactéries réductrices de sulfates ne peuvent rivaliser avec les réductrices de nitrates pour la matière organique en conditions anoxiques, car l'utilisation des sulfates génère encore moins d'énergie (USEPA, 1993).

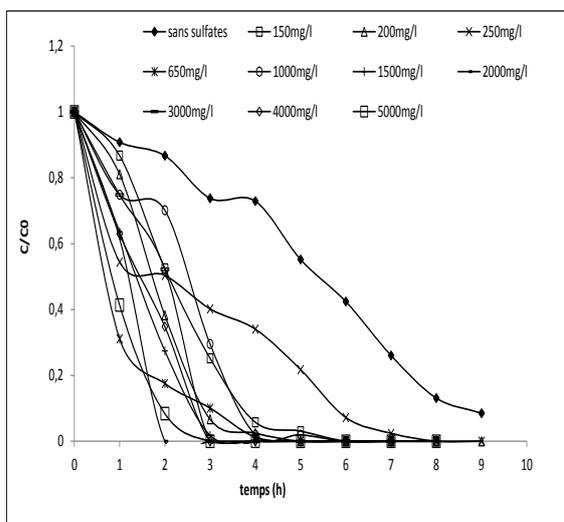


Figure n°V.46 : Evolution de la concentration des nitrates en fonction du temps à différentes concentrations en ions sulfates.

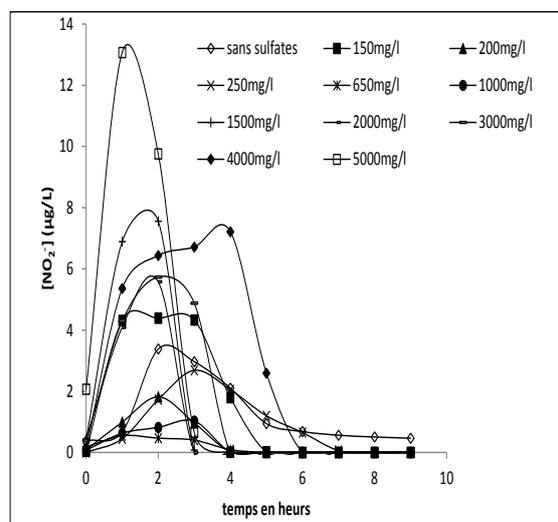


Figure n°V.47 : Evolution de la concentration des nitrites en fonction du temps à différentes concentrations en ions sulfates.

En conclusion, nous pouvons dire que l'étude de la dénitrification par boue activée en utilisant le méthanol comme source de carbone et d'énergie en mode batch nous a permis de mettre au point les conditions opératoires suivantes :

- ✓ Une concentration initiale en nitrate supérieure à 10 mg/L ;
- ✓ Un rapport C/N=0,53 ;
- ✓ Une concentration en phosphore égale à 5 mg/L ;
- ✓ Travailler sous une température ambiante de l'ordre de 25°C ;
- ✓ Le pH de la solution avoisine la neutralité.

Une fois ces paramètres optimisés, nous avons fixé les bactéries dénitrifiantes sur différents supports afin d'étudier la dénitrification sur lit fixe.

V.3.2. Système à bactérie fixées - étude en colonne :

Dans cette partie, on se propose d'optimiser les paramètres de la colonne biologique pour la dénitrification par cultures fixées d'une eau chargée en nitrate d'une part, et de remplacer le CAG par un autre produit susceptible d'avoir les mêmes performances d'autre part. Etant donné que l'efficacité de ce procédé dépend du type de support utilisé (caractères physico-chimique et hydrodynamique), notre objectif est donc :

- d'évaluer les performances de plusieurs déchets plastiques (PVC, PEHD et PEBD) en tant que support bactérien en vue de les valoriser ;
- de comparer les performances de ces supports plastiques à ceux du charbon actif en grain.

Pour cela nous allons, dans un premier temps, déterminer et comparer les paramètres d'exploitation du procédé tel que : les conditions de démarrage, la vitesse de passage et la concentration initiale en nitrate appliquée. Dans un second temps, nous allons réaliser une étude comparative de l'influence de la formation du biofilm sur le comportement hydrodynamique des supports.

V.3.2.1. L'état de surface des supports :

Avant d'entamer l'étude hydrodynamique des quatre réacteurs. Une analyse au microscope électronique à balayage pour les quatre supports vierges a été effectuée. Le résultat montre que ces derniers présentaient des différences dans l'aspect de leurs surfaces, essentiellement l'aspect rugueux du support PEBD contrairement au deux autres supports plastiques qui présentent une surface assez lisse, et aussi l'absence des pores pour les trois supports plastiques contrairement au CAG. (Figure n°V.48).

La rugosité est désignée par tous les auteurs comme le point le plus favorable à un support pour la rétention de biomasse (A. Gjaltema et al. 1997 ; M.C.M. Van Loodsrecht et J.J. Heijnen 1993 ; P. Fox et al., 1990, K. Kida et al., 1990; J.J. Heijnen et al., 1989). Les supports qui possèdent des surfaces avec des angles très aigus présentent des taux d'abrasion trop élevés, défavorables à la colonisation bactérienne, c'est le cas du support PVC qui présente des angles assez aigus.

En milieu colonisé, les observations au microscope électronique à balayage ont permis de mettre en évidence une biomasse fixée sur les quatre supports. Le biofilm s'est formé en surface pour les supports plastiques et en profondeur pour le support garni en CAG (figure n°V.49).

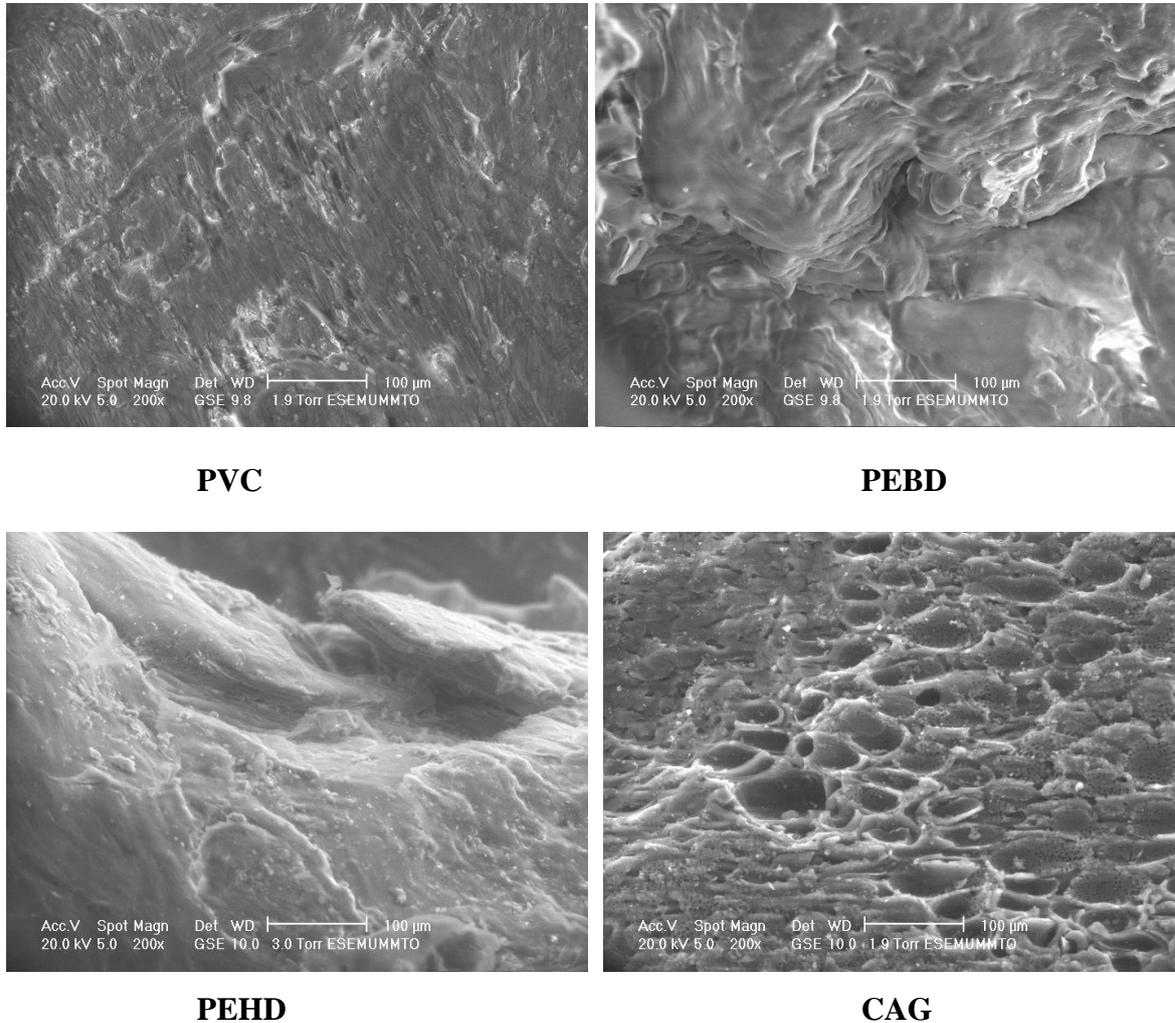


Figure n°V.48 : Observation par MEB des quatre supports vierges à 100µm.

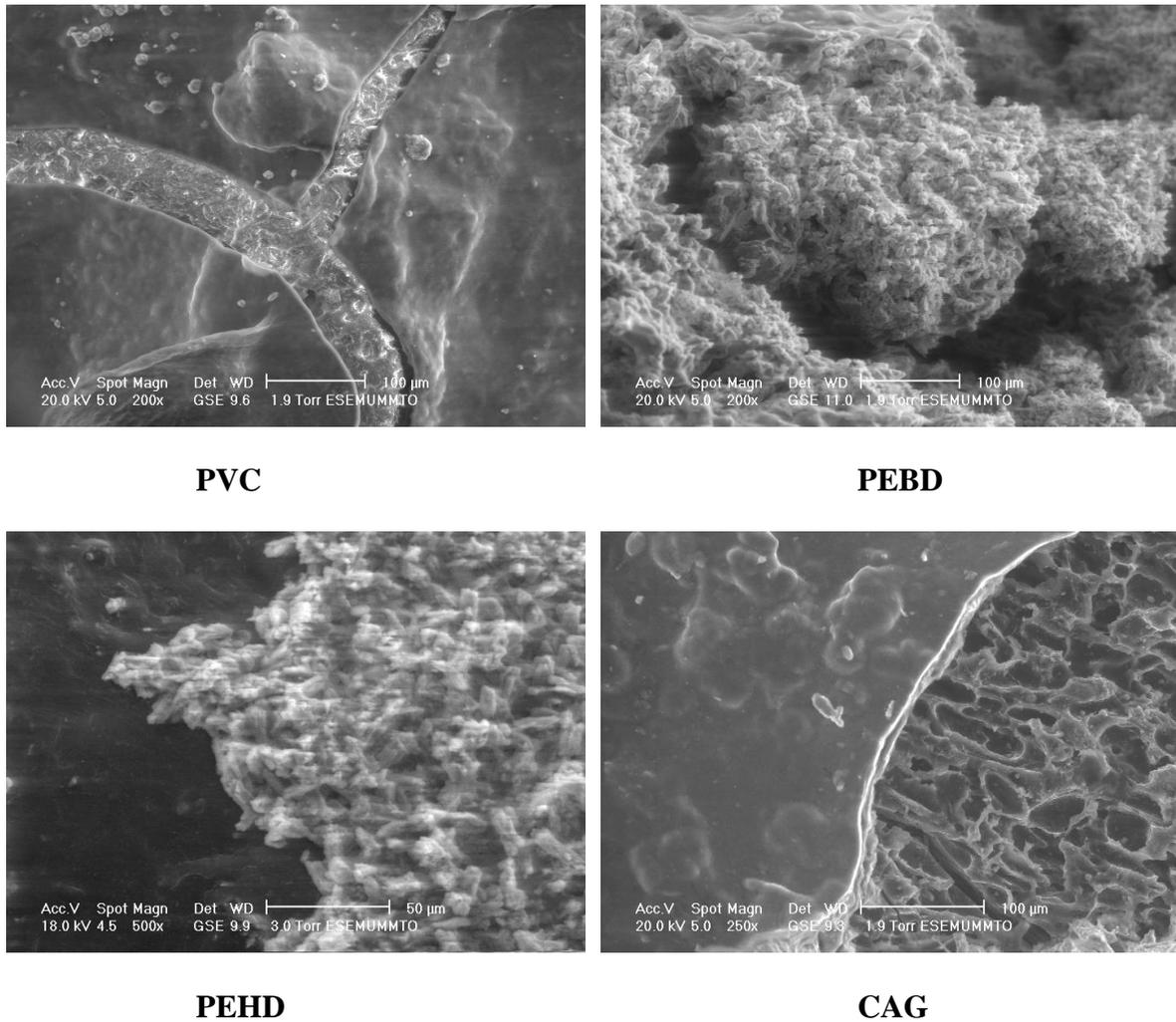


Figure n°V.49 : Observation par MEB des quatre supports colonisés.

L'analyse par BET a permis de confirmer l'absence des pores pour les supports plastiques (volumes des pores = 0 cm³/g), alors que les surfaces spécifiques du PVC, PEHD et PEBD sont : 1.67 m²/g, 3.09 m²/g et 1.55 m²/g respectivement. Il reste que le CAG, très poreux (volume des pores = 0,27 cm³/g), présente de loin la plus grande surface spécifique (697.72 m²/g). L'augmentation de la surface de solide augmente les chances de fixation des bactéries sur le support et peut être considérée comme un critère de rapidité d'adhésion (S. Parot, 2007). En effet, lors de la procédure de colonisation, le réacteur garni avec le CAG a mis moins de temps que les trois autres réacteurs (48 h). I. Apilanez et al. (1998) ainsi que M. Kuroda et al. (1988) ont obtenu une colonisation rapide et plus importante pour des matériaux composés de carbone, sans pouvoir bien en expliquer les raisons.

V.3.2.2. Optimisation de paramètres de dénitrification :

V.3.2.2.1. Dénitrification sous différentes vitesses de passage :

La vitesse de passage de l'effluent dans la colonne est un paramètre important pour la dénitrification biologique sur lit fixe. Pour cela, nous avons travaillé avec différentes vitesses (0.3m/h, 0.45m/h, 0.6m/h, 0.8m/h et 1m/h), correspondant à des débits d'alimentation de 0,8 ml/min, 1,3 ml/min, 1,8 ml/min, 2,4 ml/min et 3 ml/min respectivement. Après l'obtention d'un premier régime permanent, nous augmentons par palier successif, la vitesse du liquide dans le réacteur, et nous suivons l'évolution des différents paramètres : nitrate, nitrite et pH. Nous représentons sur la figure n°V.50 les résultats obtenus pour les différentes vitesses étudiées.

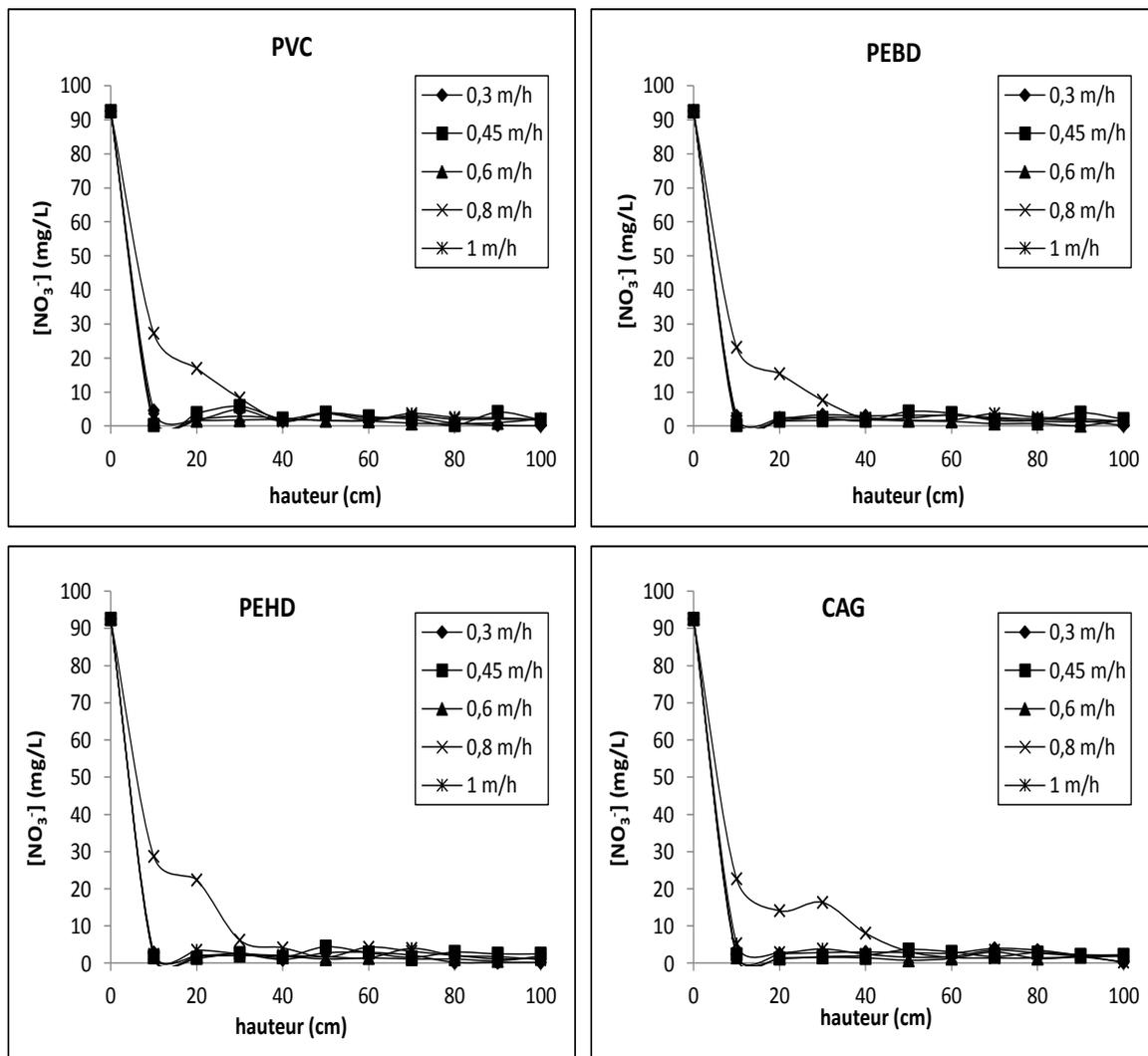


Figure n°V.50 : Evolution des nitrates à différentes vitesses pour les quatre supports.

Les résultats obtenus lors de l'étude de l'influence de la vitesse de passage allant de 0.3 m/h à 1 m/h sur les capacités de dénitrification nous ont permis de constater une élimination totale des nitrates et nitrites pour tous les supports. Les meilleurs rendements de dénitrification sont obtenus avec les faibles vitesses (0,3 m/h et 0,45 m/h) pour les quatre supports où les concentrations de nitrites sont pratiquement nulles. En effet, un temps de séjour plus long favorise les performances du réacteur (M.O. Ratel, 2001). Plus le temps de contact entre liquide-solide est long, meilleur sera le rendement d'élimination. Cependant, un temps de séjour trop long favorise l'accumulation des nitrites qui peuvent avoir un effet inhibiteur. (M. Martienssen et R. Schops, 1999).

L'étude hydrodynamique des quatre réacteurs a permis de mettre en évidence l'influence du temps de séjour sur la formation du biofilm. Les résultats obtenus pour les quatre supports vierges et colonisés sont représentés dans la figure n°V.51. Ils montrent que le temps de séjour du support PVC est nettement inférieur à celui du CAG et du support PEHD, alors que le PEBD est légèrement supérieur à ces derniers. Après colonisation, le temps de séjour moyen passe de 30 à 10 min pour les supports CAG, de 35 à 20 pour PEBD, de 25 à 15 min pour PVC et de 30 à 15 min pour le PEHD.

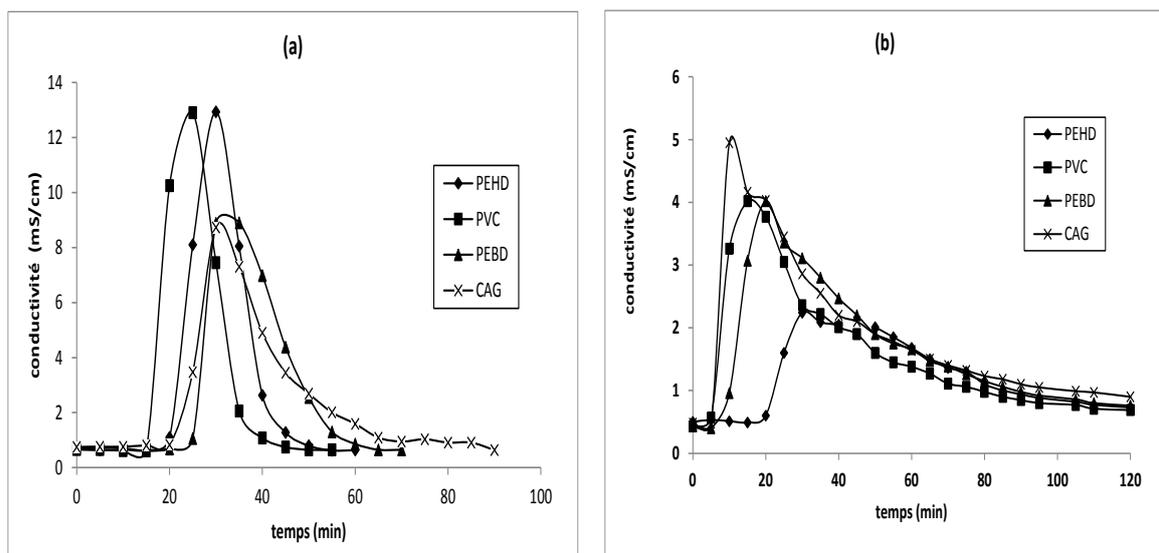


Figure n°V.51 : *Distribution du temps de séjours pour les quatre supports : (a) supports vierges ; (b) supports colonisés*

La production importante des nitrites (figure n°V.52) pour les supports garnis de PEHD et CAG est due au développement excessif du biofilm du fait de leurs grandes surfaces spécifiques par rapport aux deux autres supports. Cette importante production de biomasse est liée à la faible vitesse (0.3 m/h) sous laquelle travaillent les réacteurs. Toutefois aux faibles vitesses les colonnes se colmatent facilement, plus particulièrement celle du CAG, dû à une croissance intense du biofilm. Contrairement aux supports plastiques non poreux, le CAG étant un support poreux, présente une granulométrie assez petite (2-3 mm) ce qui permet une colonisation plus rapide. Mais comme nous l'avons déjà cité, cette grande rétention de biomasse engendre la formation d'un film épais qui limitera la diffusion des éléments nutritifs et par conséquent la baisse d'activité du biofilm.

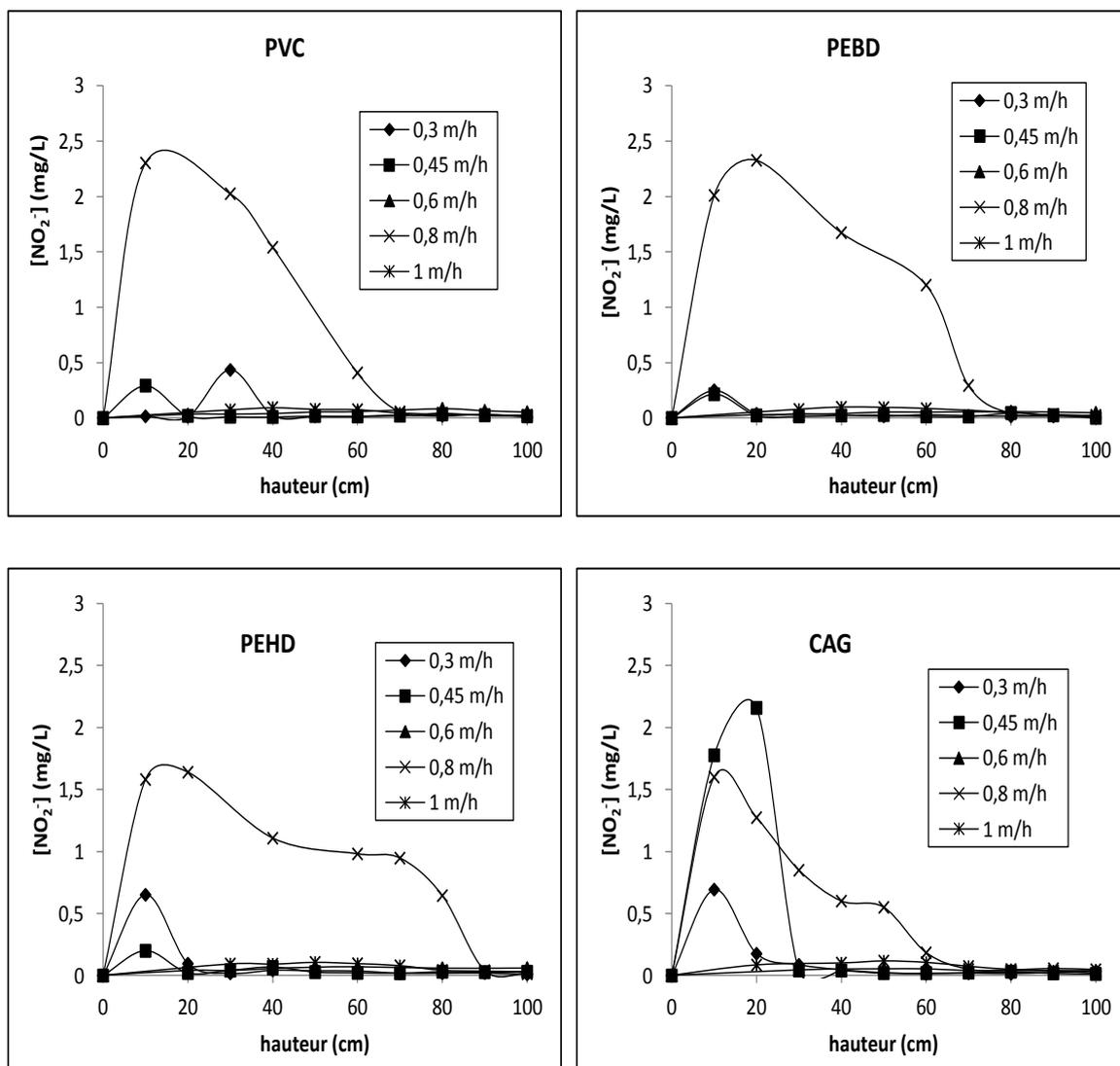
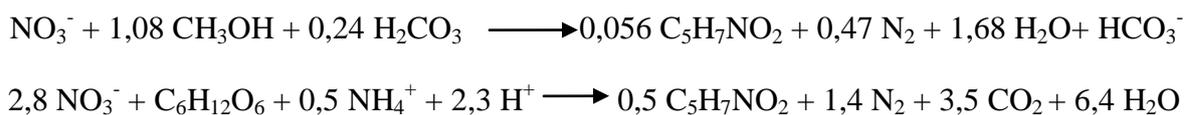


Figure n°V.52 : Evolution des nitrites à différentes vitesses pour les quatre supports.

En effet, d'après M.C.M. Van Loodsrecht et J.J. Heijnen (1993) et S. Michaud (2001), au-delà d'une épaisseur optimale effective qui est de 100 à 400 μ m pour les biofilms dénitrifiants, les cinétiques de dégradation ainsi que la production des enzymes intervenants dans la synthèse des exopolymères nécessaires à l'attachement microbien baissent.

Selon M.O. Ratel (2001), des matériaux de petite taille permettent un meilleur rendement, mais conduisent à un colmatage plus rapide d'interstices libres. Dans ce cas précis, un lavage fréquent des colonnes est effectué afin de débarrasser ces dernières des gaz emprisonnés à l'intérieur ainsi que des résidus de biodégradation.

Nous constatons aussi que dans le cas du support CAG, l'utilisation du méthanol conduit à une quantité de nitrites nettement inférieure à celles obtenues en utilisant le lactose. Cette même remarque a été notée par M.A. Gomez et al. (2000) qui expliquent qu'un autre facteur peut influencer la quantité de nitrite résiduel et réside dans le choix de la source de carbone. En effet, ils ont détecté une concentration assez élevée en nitrite (5 mg/L) dans leur effluent quand le saccharose a été utilisé comme source de carbone. Alors qu'en utilisant l'éthanol ou le méthanol l'accumulation de nitrites dans l'eau traitée a été pratiquement nulle. Cette forte concentration est due aux problèmes de diffusion et de transfert des nutriments, car l'utilisation d'un sucre engendre une importante production d'exopolysaccharide formant ainsi un biofilm épais qui limiterait les phénomènes de diffusion. D'autre part, une plus grande production de biomasse a été observé uniquement dans des essais avec du saccharose, ce qui a provoqué le colmatage du filtre. Ceci est confirmé par les réactions suivantes, où l'utilisation du méthanol engendre la formation d'une biomasse inférieure à celle où un sucre est utilisé :



Ils déduisent alors que les alcools (éthanol et le méthanol) sont plus appropriés en tant que sources de carbone que le saccharose pour un système à film fixe, pour l'élimination des nitrates des eaux souterraines.

Concernant le choix des supports, la colonne remplie de support PEBD présente les meilleures performances vis-à-vis des nitrites. Ceci est probablement dû au temps de contact assez long par rapport aux autres supports, de la rugosité de sa surface ainsi de l'absence des pores ce qui induit à la formation du biofilm uniquement sur la surface.

De l'examen de ces résultats, il ressort que le réacteur présente une efficacité constante quelque soit la vitesse de passage, l'activité s'améliorant même avec le temps. Nous avons retenu la vitesse la plus élevée de 1 m/h pour la suite de notre travail.

V.3.2.2.2. Influence de la concentration initiale des nitrates :

Afin d'étudier l'influence de la concentration initiale sur le processus de dénitrification le long de la colonne, les quatre réacteurs sont alimentés avec une vitesse de 1 m/h et la concentration initiale en nitrate variant de 200 à 600 mg/L.

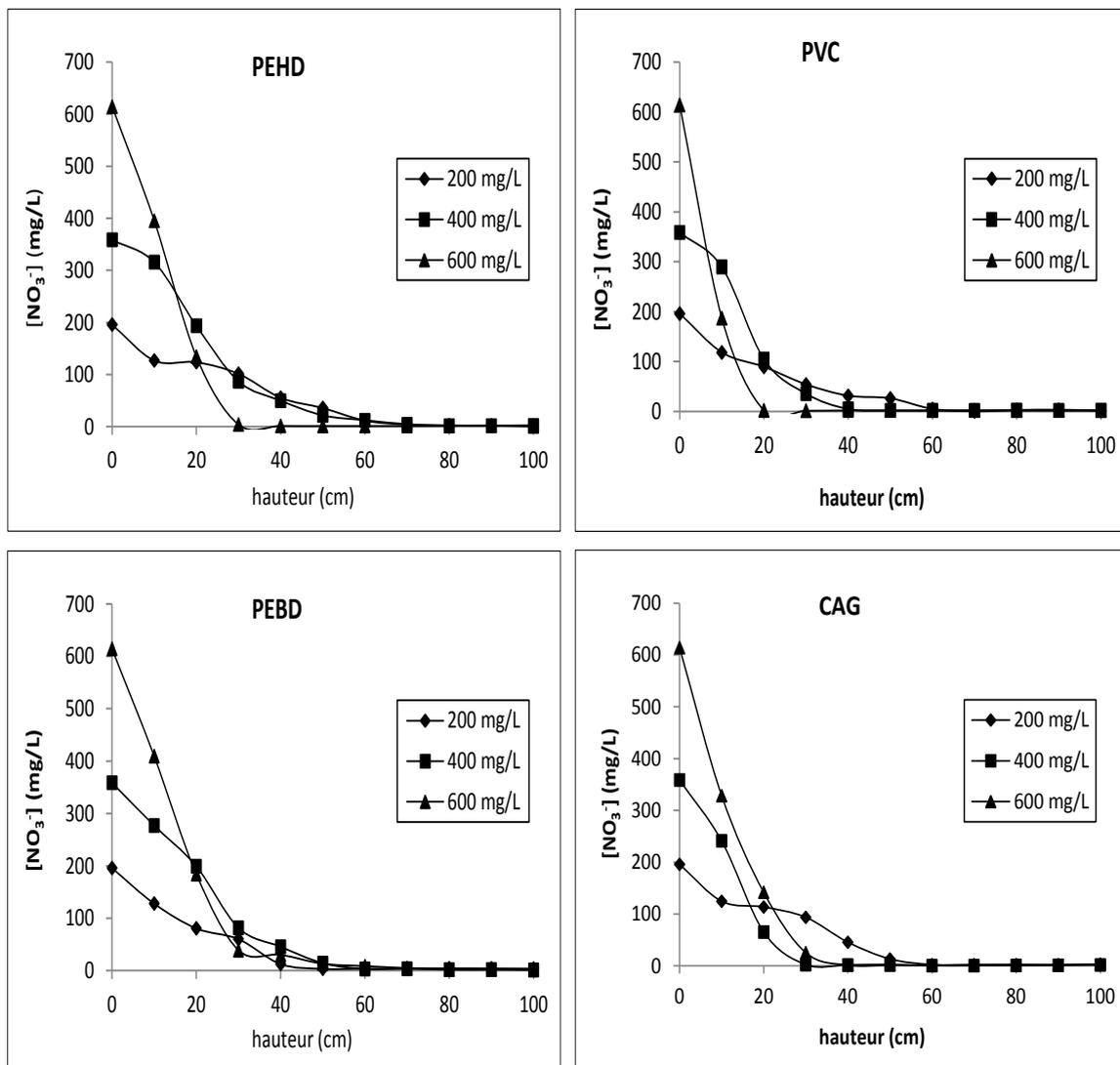


Figure n°V.53 : Evolution des nitrates pour les quatre supports à différentes concentrations initiales en nitrates.

Les résultats obtenus (figure n°V.53) indiquent que les nitrates décroissent d'une manière exponentielle (G. Martin 1979), plus de la moitié de la charge est éliminée dans les premiers 30 cm. Cependant, plus la concentration est élevée, plus l'élimination totale des nitrates se prolonge le long de la colonne. En effet, à la concentration initiale de 600 mg/L, l'élimination totale des nitrates s'effectue à 60cm de la colonne.

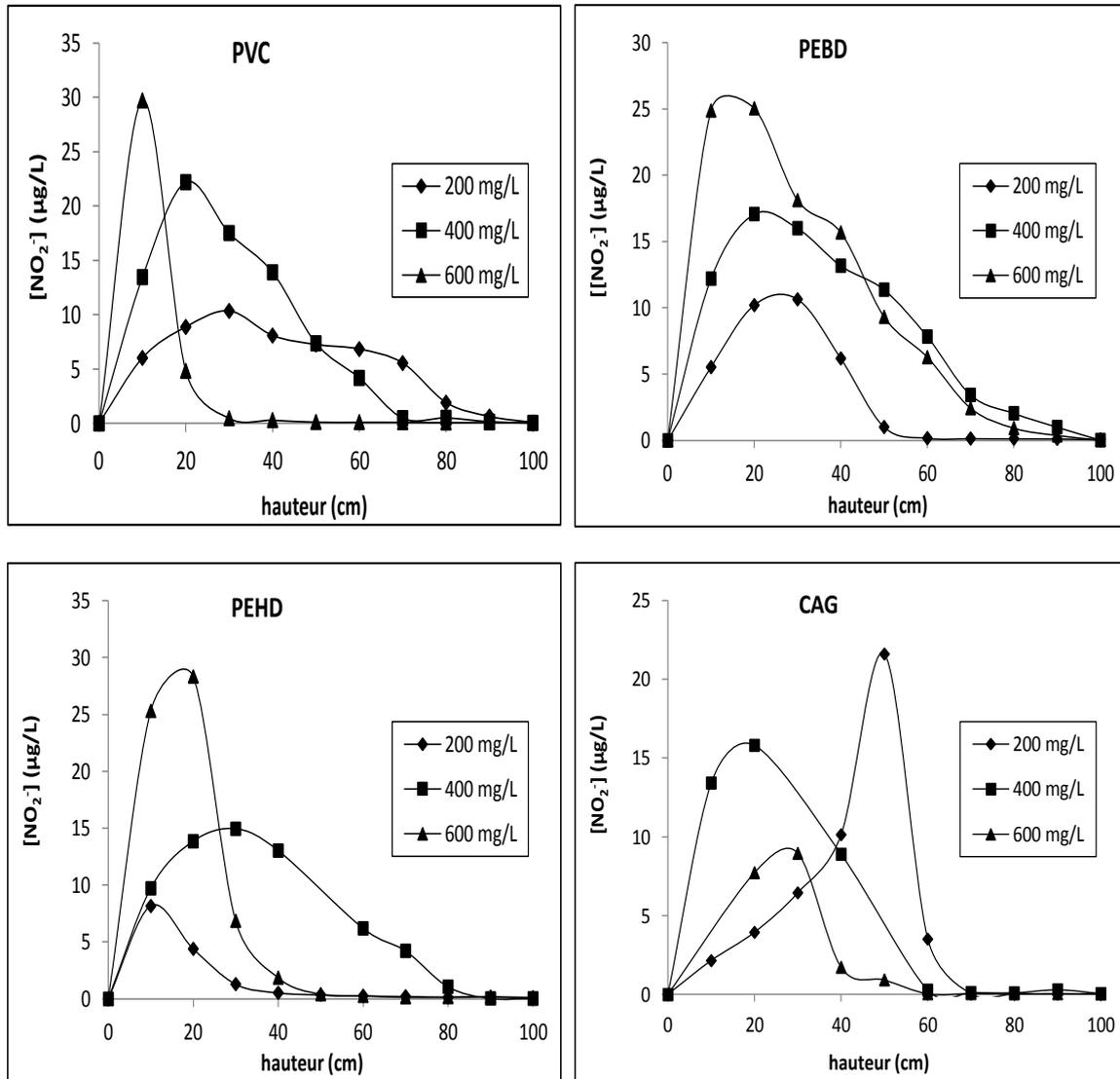


Figure n°V.54 : Evolution des nitrites pour les quatre supports à différentes concentrations initiales en nitrates.

Les profils des nitrites (figure n°V.54) sont caractérisés par l'apparition d'un pic d'autant plus important aux fortes concentrations initiales en nitrate, il passe de 2 mg/L de nitrites pour la concentration $C_0 = 100$ mg/L (figure n°V.52) à 30mg/L de nitrites pour $C_0 = 600$ mg/L.

Il est à noter que ces valeurs restent toujours inférieures aux valeurs préconisées par la législation. Le support PEBD présente une performance proche de celle du CAG. Il a été observé que 24 heures après augmentation de la concentration initiale des nitrates les teneurs en nitrites et nitrates à la sortie des colonnes garnies par ces deux supports sont inférieures à la norme. Par contre pour les deux autres supports (PVC, PEHD) il fallait attendre plus de temps pour que la solution traitée soit conforme aux normes.

Un suivi de l'évolution du pH à l'intérieur des réacteurs a permis d'obtenir les résultats présentés sur la figure n°V.55. Une augmentation du pH est observée suite à l'alcalinité du milieu lors de l'apparition des nitrites. Lors de la disparition de ces derniers, une diminution du pH est observée à la sortie de la colonne. Ceci est expliqué par le fait que la dénitrification hétérotrophe fait augmenter le pH. En effet, la dénitrification tend à augmenter le pH et la dénitrification le fait diminuer (H.E. Nutall et Y. Lu, 2003).

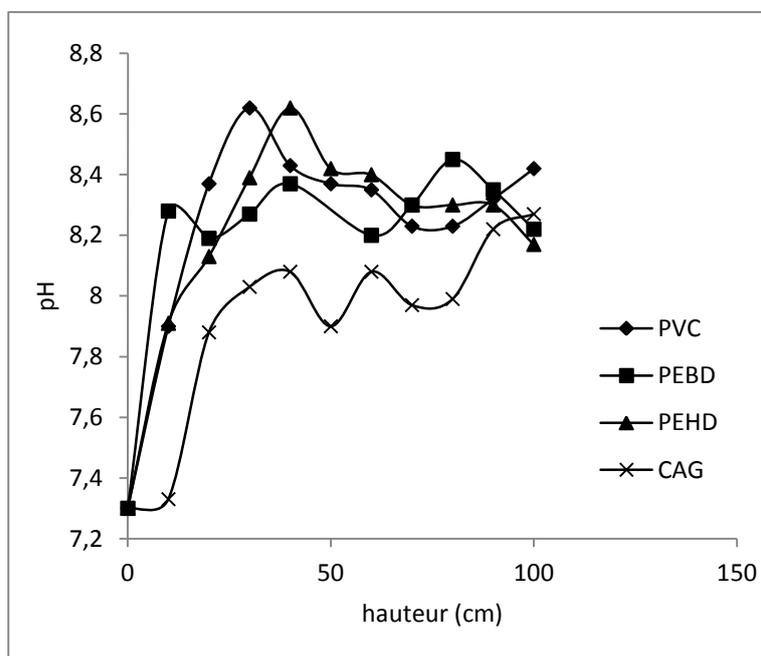


Figure n°V.55: Evolution du pH en fonction de la hauteur de la colonne $V=1\text{m/h}$, $C_0=400\text{mg/L}$.

Par ailleurs, il est à signaler que toutes ces fluctuations se situent dans une gamme de pH de [6-8] qui est une gamme optimale de la réduction des nitrates (Z. Salem et al., 2007). Des résultats similaires ont été obtenus par Q.Wang et al. (2009) qui ont traité une eau chargée en nitrate dans un bioréacteur à base de fibre en utilisant le méthanol comme source de carbone. Leur rendement de dénitrification a été de 99% pour un pH optimal situé entre 7 et 7,5.

Il est à signaler aussi que le pH initial est de 7.3 et il augmente dans le réacteur du fait de la présence du méthanol. Ce dernier a tendance à augmenter le pH car il libère des ions OH⁻. (G. Bitton, 2005 ; M.H. Gerardi, 2002)



V.3.2.3. Influence de la salinité :

Lors de notre étude en mode batch sur l'influence de la présence des sels sur la cinétique de dénitrification, nous avons constaté que ces derniers exerçaient une certaine influence quant à la production des nitrites. Pour cette raison, un essai sur colonne a été effectué, il consistait à alimenter les réacteurs garni par le support PEBD et CAG avec une solution contenant 5000 mg/L en ions chlorure et 5000 mg/L en ions sulfates, la concentration des ions nitrates était fixée à 200 mg/L.

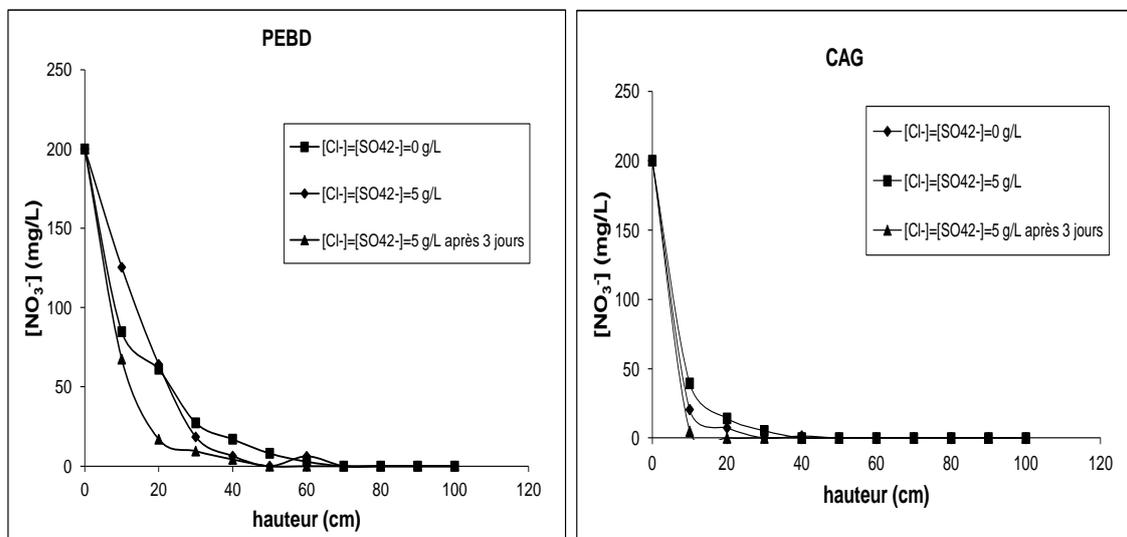


Figure n°V.56: Evolution des nitrates le long de la colonne en présence et en absence des ions chlorures et sulfates

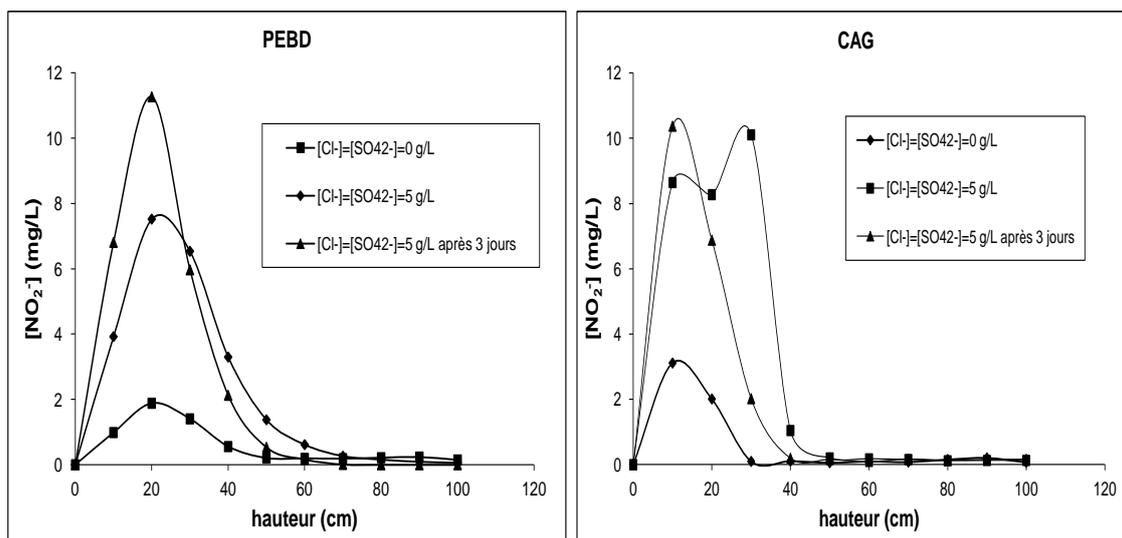


Figure n°V.57 : Evolution des nitrites le long de la colonne en présence et en absence des ions chlorures et sulfates.

Les résultats de cette expérience sont représentés sur les figures n°V.56 et n°V.57. Ils confirment effectivement les observations constatées lors des essais en batch, où la présence des deux ions à de fortes concentrations, ralentit la cinétique de dénitrification. En effet, l'accumulation des ions nitrites est due au ralentissement de l'activité enzymatique (nitrite réductase). Ces mêmes observations ont été notées par F.P.S. Sant'Anna et al. (1996). Cependant, l'élimination est totale à la sortie de colonne.

Après examen des résultats obtenus pour la partie étude sur colonne, nous avons conclu que les performances du réacteur ont mis en évidence l'aptitude des bactéries à éliminer 600 mg/L de nitrates avec une vitesse optimale d'1 m/h correspondant à un débit de 3 ml/min dans une gamme de pH compris entre 7,3 et 8,5.

L'étude portait aussi sur l'évaluation des performances d'un déchet plastique non biodégradable, disponible et très persistant dans l'environnement provenant de l'Entreprise Nationale du Plastique et Caoutchouc (ENPC) Algérie, en tant que support bactérien. Il a été démontré que le support PEBD présente les meilleures performances par rapport aux autres supports, et ce grâce à la rugosité de sa surface ainsi qu'à l'absence des pores ce qui induit la formation d'un biofilm uniquement sur la surface et de ce fait diminuer les risques de colmatage.

Pour la suite de notre étude, nous avons orienté notre choix vers l'utilisation du support PEBD un déchet plastique moins coûteux que le CAG.

V.3.3. Choix de la solution du compartiment concentrât :

Lors de nos manipulations d'électrodialyse, nous avons introduit dans le compartiment concentrât un sel qui non seulement devait assurer le passage du courant mais en même temps, il servait d'alimentation pour les bactéries (source de phosphore). Pour cela, nous avons opté pour le KH_2PO_4 (0.1 M). Seulement et comme nous l'avons signalé précédemment, cette concentration est trop élevée pour pouvoir être éliminée par la suite par les bactéries dénitrifiantes. De ce fait, nous avons choisi de remplacer cette solution par une solution contenant 50 mg/L NO_3^- pour assurer la migration des ions nitrates du diluât vers le concentrât.

Avec cette nouvelle solution dans le compartiment concentrât, nous avons étudié l'influence de la densité de courant sur la dénitrification pour une eau synthétique contenant 200 mg/L en nitrates en utilisant les quatre intensités de courant déjà étudiée à savoir 20, 50, 70 et 100 mA correspondants aux densités de courant respectives 2,8 ; 7,2 ; 10,1 et 14,5 A/m^2 ,

Les résultats de l'évolution des concentrations en ions nitrates dans le compartiment diluât et concentrât pour les différentes densités de courant sont résumés dans les figures n°V.58 et n°V.59.

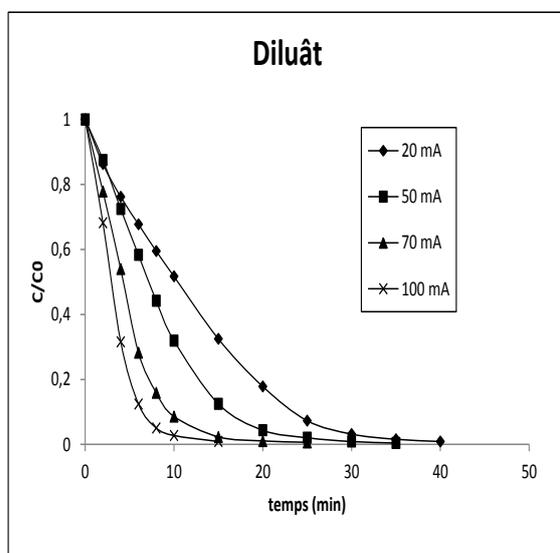


Figure n°V.58 : Evolution de la concentration en ions nitrates dans le compartiment diluât pour différentes densités de courant.

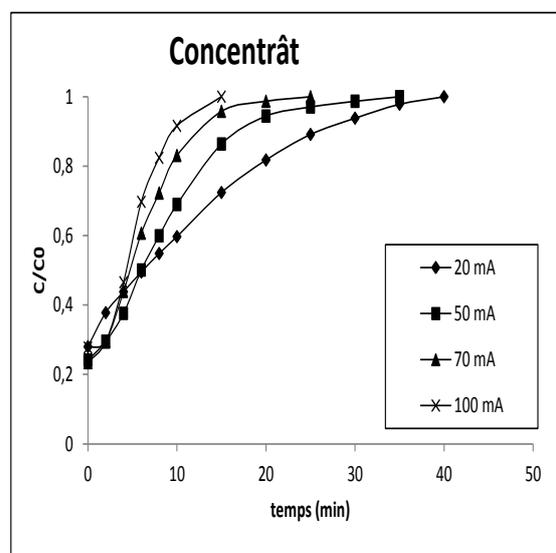


Figure n°V.59 : Evolution de la concentration en ions nitrates dans le compartiment concentrât pour différentes densités de courant.

Les courbes représentées sur la figure n°V.58 montrent que la dénitrification est quasi complète pour toutes les densités de courant appliquées. Nous remarquons que pour la valeur correspondante à $14,5 \text{ A/m}^2$ ($I = 100 \text{ mA}$), la dénitrification s'est faite en moins de 15min. Par contre, avec une densité de courant de $2,8 \text{ A/m}^2$, la dénitrification est nettement plus lente avec un temps de plus de 30 minutes.

La figure n°V.59 montre que la migration des ions nitrates du compartiment diluât vers le compartiment concentrât se fait de façon rapide, notamment pour les densités les plus élevées puisqu'elles atteignent le palier au bout de seulement 15 min de temps alors que pour les densités les plus faible, le temps mis pour atteindre le palier est légèrement plus important.

Nous constatons bien que pour toutes les densités de courant appliquées, il y a une déminéralisation effective de la solution dans le diluât. Nous avons suivi alors l'évolution des densités de courant en fonction du temps. Les résultats (figure n°V.60) montrent qu'avec l'évolution du temps, la densité de courant n'est pas maintenue constante sauf pour la densité $2,9 \text{ A/m}^2$. Nous avons une chute de la densité à partir de 10 minutes, pour la densité $7,2 \text{ A/m}^2$ à partir de 6 minutes pour celle de $7,2 \text{ A/m}^2$ et pour la densité $14,5 \text{ A/m}^2$ à partir de 2 minutes.

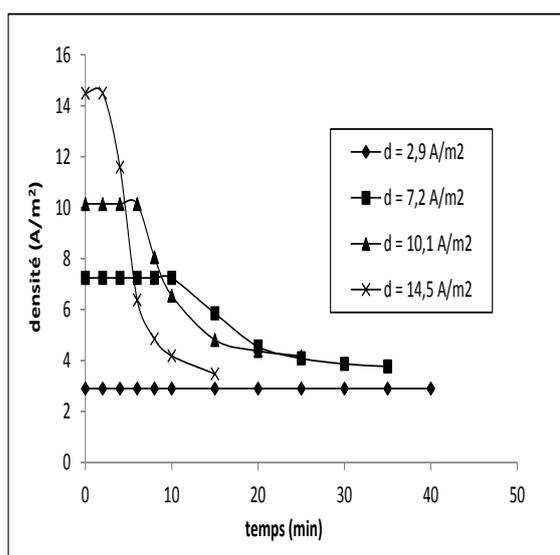


Figure n°V.60 : Evolution de la densité de courant en fonction du temps.

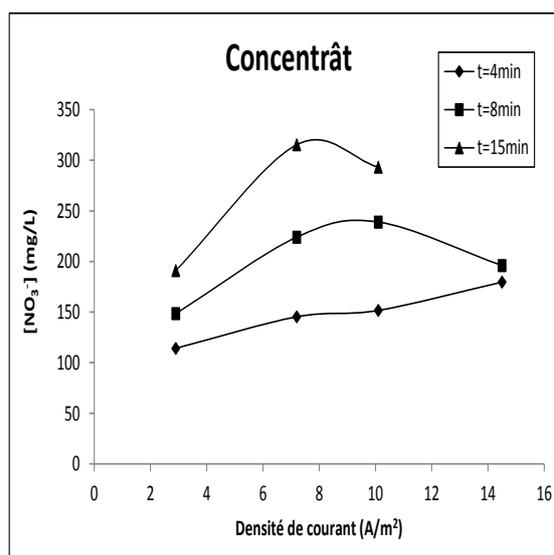


Figure n°V.61: Evolution des concentrations en nitrates en fonction des densités de courant dans le compartiment concentrât pour trois temps différents.

Ainsi, les courbes obtenues pour la figure n°V.60 montrent que la solution du concentrât choisie à savoir 50 mg/L de NO_3^- ne nous permet pas de maintenir une densité de courant constante durant toute la manipulation sauf pour la densité 2,9 A/m^2 . Pour cette raison, nous avons choisi d'ajouter à la solution de 50 mg/L de NO_3^- , une quantité de K_2HPO_4 pour augmenter la conductivité de la solution et aussi pour assurer le besoin des bactéries en phosphore. Les résultats obtenus nous permettent effectivement d'augmenter le temps des manipulations avec une densité constante.

Nous avons représenté sur la figure n°V.61, la concentration en nitrates en fonction de la densité de courant pour trois temps différents dans le compartiment concentrât dans le but de trouver l'intensité du courant optimale pour effectuer nos essais. Nous observons que l'augmentation de la densité de courant fait augmenter la concentration des ions nitrates dans le concentrât pour atteindre un palier à 7,2 A/m^2 . Au-delà de cette valeur, l'énergie ajoutée n'est plus utilisée pour le transport des ions mais est perdue comme chaleur probablement, ce qui est néfaste pour les membranes.

D'après la figure n°V.61, il apparaît qu'une augmentation de la densité de courant à une valeur supérieure à 7,2 A/m^2 n'est pas nécessaire et que cette valeur correspond à la concentration maximale récupérée dans le compartiment concentrât. Ceci est en accord avec nos travaux antérieurs.

V.4. PARTIE 4 : LE COUPLAGE EN SYSTEME OUVERT

Une fois les différents paramètres de l'électrodialyse et ceux de la colonne biologique optimisés, nous avons procédé au couplage et ce en utilisant deux échantillons des eaux de puits provenant d'une zone agricole de la commune de H'raoua dont les caractéristiques sont illustrées dans le tableau n°V.2 qui révèle que les deux effluents sont non seulement chargés en nitrates mais aussi en ions sulfates et chlorures.

Tableau n°V.2 : Caractéristiques des échantillons utilisés

	Echantillon 1	Echantillon 2
Nitrates (NO_3^-)	92.29	176.89
Sulfates (SO_4^{2-}) (mg/L)	174.19	238,38
Chlorures (Cl^-) (mg/L)	290.12	340.61
TAC (°F)	33.00	35.00
TH (°F)	25.00	31.50
pH	7.63	7.64

Pour réaliser le couplage ED-Colonne biologique en système ouvert ; nous avons introduit dans le compartiment diluât l'échantillon prélevé, à l'aide d'une pompe, nous avons relié le compartiment concentrât à la colonne biologique où les bactéries dénitrifiantes sont fixées sur le support PEBD. Un bac d'alimentation qui contient une source de carbone alimente le compartiment concentrât car les eaux souterraines destinées à la production d'eau potable ne contiennent pas de carbone organique en quantité suffisante. Par conséquent il faut ajouter suffisamment de carbone à l'unité de dénitrification pour que la réaction s'accomplisse. Nous reportons sur la figure suivante, le schéma représentatif du couplage en système ouvert.

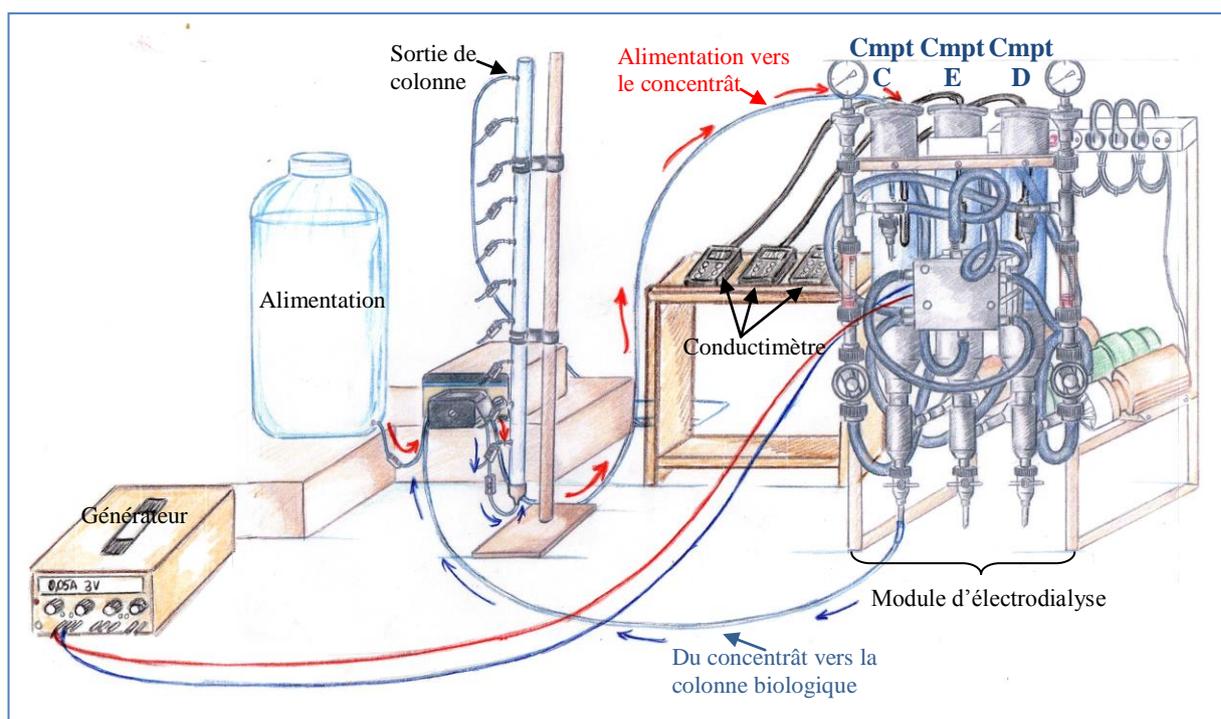


Figure n°V.62 : Schéma représentatif du couplage en système ouvert

Nous avons reporté sur la figure n°V.63 et n°V.64, l'évolution des nitrates dans les deux compartiments (diluât et concentrât) pour les deux concentrations initiales en nitrates (échantillon 1 et 2).

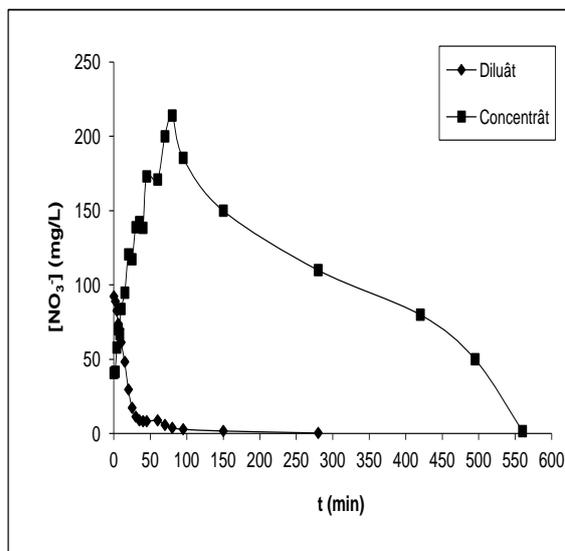


Figure n°V.63 : Evolution de la teneur en nitrates dans les deux compartiments pour une concentration initiale de 92 mg/L de nitrates (échantillon 1).

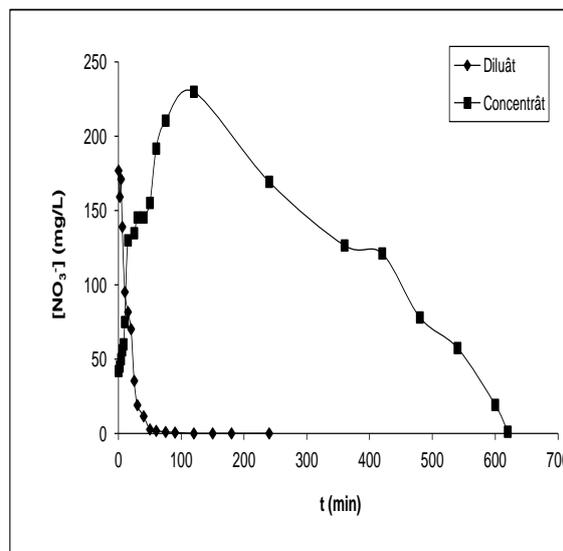


Figure n°V.64 : Evolution de la teneur en nitrates dans les deux compartiments pour une concentration initiale de 177 mg/L de nitrates (échantillon 2).

D'après les figures n°V.63 et n°V.64, nous constatons la migration rapide des ions nitrates du compartiment diluât vers le compartiment concentrât. Cependant, une fois arrivés au compartiment concentrât la concentration diminue jusqu'à une élimination totale. Ceci prouve le bon fonctionnement du couplage ED-Colonne biologique pour des eaux contaminées ayant des concentrations en nitrates allant jusqu'à 200 mg/L.

Il est à signaler aussi que la concentration des ions nitrates et nitrites est nulle en sortie de colonne.

Nous avons consacré la dernière partie de notre travail à l'étude de l'efficacité du procédé hybride ED - colonne biologique en système ouvert. Nous avons constaté que ce système effectivement permet d'éliminer les nitrates du diluât et de dénitrifier la saumure tout en stabilisant la teneur en nitrate et nitrite à des concentrations largement inférieure à la concentration admissible par l'OMS.

Conclusion

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.

Lorsque les taux de nitrates d'une ressource dépassent le seuil de 50 mg/L, plusieurs remèdes peuvent être envisagés, afin de fournir au consommateur une *eau de bonne qualité* conforme aux exigences de la réglementation.

Notre revue bibliographique a montré que différentes techniques existent pour l'élimination des nitrates des eaux potables. Certaines techniques sont commercialisées malgré leurs inconvénients, telles que l'osmose inverse, l'électrodialyse et les procédés biologiques.

Nous nous sommes fixés comme objectif d'étudier la dénitrification d'une eau chargée en nitrate visant à être potabilisée en réalisant un procédé hybride (ED-Colonne biologique) ; le premier est électromembranaire permettant d'une part de produire une eau potable et d'autre part de concentrer les nitrates, le second quand à lui est un procédé biologique traitant les nitrates concentrés en les réduisant en azote gazeux.

Le premier volet de cette étude concerne le procédé de dénitrification par électrodialyse pour lequel nous avons optimisé la densité de courant. En effet, nous avons retenue la valeur de 50 mA comme intensité optimale pour laquelle nous avons constaté une consommation d'énergie et un temps de dénitrification moyen.

L'étude de l'influence des ions chlorures et sulfates sur l'électromigration des nitrates était l'étape suivante. Nous en retenons que la présence des chlorures freine le passage des nitrates du diluât vers le concentrât, alors que celle des sulfates n'influe guère sur cette migration, cependant ils ont eu tendance à concurrencer les nitrates lors de leur adsorption sur la membrane.

Dans le deuxième volet, l'étude du système de couplage a été entamée par l'optimisation de la colonne biologique utilisant différents supports. Nous avons retenus le charbon actif en grain CAG comme meilleur support bactérien, car comparativement aux deux autres supports étudiés, il présentait les meilleures performances du point de vue rendement de dénitrification et abattement de la DCO et ce pour une vitesse optimale de 0.45m/h.

Une fois la colonne optimisée, nous avons procédé au couplage en système fermé. Les résultats obtenus dans le procédé hybride permettent de mettre en évidence un abattement des nitrates dans le diluât et une dénitrification de l'effluent concentré. Les concentrations en nitrates et nitrites en sortie sont inférieures aux valeurs préconisées par la législation. Cependant la présence des microorganismes dans le concentrât nous oblige à ouvrir le système, de plus l'utilisation du CAG présentait certains inconvénients liés principalement au phénomène de colmatage. Donc la recherche d'autres supports qui présenteraient les mêmes performances que ce dernier a fait l'objet du troisième volet de notre étude.

Nous avons entamé ce troisième volet par étudier l'influence de divers paramètres physico-chimiques (C/N, P, pH, T°, concentration de source de carbone, salinité) qui peuvent avoir un effet accélérateur ou inhibiteur sur la réaction de dénitrification en mode batch, et en utilisant le méthanol comme source de carbone et d'énergie.

Les résultats obtenus ont permis de mettre au point les conditions opératoires optimales suivantes : un rapport C/N=0,53 ; une concentration en phosphore égale à 5 mg/L ; une température ambiante de l'ordre de 25°C et un pH qui avoisine la neutralité.

L'étude portait aussi sur l'effet des ions chlorures et sulfates sur la cinétique de dénitrification. Les résultats obtenus nous permettent de dire que les chlorures n'entravent pas le bon déroulement d'une dénitrification biologique mais la ralentit. Il en est de même que les sulfates tant que la source de carbone est ajoutée dans des proportions appropriées.

Enfin la dernière partie de ce volet avait pour objectif d'évaluer les performances de plusieurs déchets plastiques (PVC, PEHD et PEBD) en tant que support bactérien en vue de les valoriser, et de comparer les performances de ces derniers à ceux du charbon actif en grain. Pour cela un réacteur à biofilm utilisant un déchet plastique provenant de l'entreprise nationale du plastique et caoutchouc (ENPC) Algérie comme support bactérien a été développé. Le support utilisé PEBD présentait de bonnes performances par rapport aux autres supports, et ce grâce à la rugosité de sa surface et à l'absence des pores favorisant la

formation d'un biofilm uniquement sur la surface et amoindrissant ainsi les risques de colmatage. Les performances d'un tel réacteur ont mis en évidence l'aptitude des bactéries à éliminer des concentrations allant jusqu'à 600 mg/L de nitrates avec une vitesse optimale de 1m/h dans une gamme de pH compris entre 7,3 et 8,5.

Nous avons consacré la dernière partie de notre travail à la réalisation du couplage ED – colonne biologique en système ouvert. En effet, les résultats obtenus nous ont permis de confirmer l'efficacité de notre procédé. Cette association présente plusieurs avantages:

- Procédé compact qui permet de traiter d'importants volumes d'eau;
- Production d'une eau dénitrifiée et déminéralisée avec un rendement de plus de 90%. la concentration en nitrates de l'eau traitée reste largement inférieure à la norme exigée (50 mg/l);
- La qualité de l'eau potable n'est pas affectée par le processus biologique;
- Réduction de la solution concentrée en nitrates en azote gazeux dans la colonne biologique;
- Stabiliser la teneur en nitrate et nitrite à des concentrations inférieures à celles préconisées par la norme internationale ;
- Elimination totale de la pollution sans risquer de la déplacer ou engendrer une autre ;
- La mise en œuvre d'une telle technologie mettant en œuvre la valorisation d'un déchet serait d'un apport considérable sur le terrain en réduisant considérablement le cout de l'investissement.

Ces résultats sont très satisfaisants et encourageants. En perspectives, les travaux futurs peuvent être orientés vers l'extension du processus à l'échelle pilote avec des effluents réels en système continu.

Références bibliographiques

- **Abdi-Haider, N.** Etude du rôle des sulfures et pyrite de fer dans la dénitrification en sous-sol. 1986 *thèse de Doctorat d'ingénieur* ENSC Rennes.
- **Abu-Ghararah, Z.H.** Nitrate removal from drinking water using anoxic packed reactor. 1994 *Engineering Science* 6 pp 137 – 151.
- **Adav, S.S., Lee, D.J., Lai, J. Y.** Enhanced biological denitrification of high concentration of nitrite with supplementary carbon source. 2010 *Applied Microbiology and Biotechnology* 85 pp 773 – 778.
- **Ahn, S. C. Oh, S. Y., Cha, D. K.** Enhanced reduction of nitrate by zero-valent iron at elevated temperatures. 2008 *Journal of Hazardous Materials* 156 pp 17 – 22.
- **ANRH** : document de l'Agence Nationale des Ressources Hydriques. 2005-2009.
- **Alves, M.M., Pereira, M.A., Polanco, F., Novais, J.M., Mota, M.** A new device to select microcarriers for biomass immobilization: application to an anaerobic consortium. 1999 *Water Environment Research* 71(2) pp 209-217.
- **Apilanez, I., Gutierrez, A., Diaz, M.** Effect of surface materials on initial biofilm development. 1998 *Bioresource Technology* 66 (3) pp 225 - 230.
- **Azeredo, J., Oliveira, R.** The role of hydrophobicity and exopolymers in initial adhesion and biofilm formation. Section du livre *Biofilm in Medicine, Industry and Environmental Biotechnology*. Edité par Lens, P., Moran A.P., Mathony, T., Stoodley, P., O'Flaherty, V. 2003 IWA Publishing.
- **Badruzzamana, M., Oppenheimer, J., Adham, S., Kumar, M.** Innovative beneficial reuse of reverse osmosis concentrate using bipolar membrane electrodialysis and electrochlorination processes. 2009 *Journal of Membrane Science* 326 pp 392 – 399.
- **Bae, B.U., Jung, Y.H., Han, W.W., Shin, H.S.** Improved brine recycling during nitrate removal using ion exchange. 2002 *Water Research* 36 pp 3330–3340.
- **Balderston, W.L., Sieburth J.M.** Nitrate removal in closed system aquaculture by columnar denitrification. 1976 *Applied and Environmental Microbiology* 2 pp 808 - 818.
- **Banasiak, L.J., Kruttschnitt, T.W., Schäfer, A.I.** Desalination using electrodialysis as a function of voltage and salt concentration. 2007 *Desalination* 205 pp 38 – 46.

- **Brun, J.P.** Procédés de séparation par membranes. Transport, techniques membranaires, applications. 1989, *Edition Masson*.
- **Barrabés, N., Sá, J.** Catalytic Nitrate removal from water, past, present and future perspectives. 2011 *Applied Catalysis B: Environmental* 104 pp 1-5.
- **Beline, F., Martinez, J., Marol, C., Guiraud, G.** Application of the ^{15}N technique to determine the contributions of nitrification and denitrification to the flux of nitrous oxide from aerated pig slurry. 2001 *Water Research* 35 (11) pp 2774 – 2778.
- **Ben Sik Ali, M., Mnif, A., Hamrouni, B., Dhahbi, M.** Denitrification of brackish water by electrodialysis: Effect of process parameters and water characteristics. 2010 *Surface Engineering and Applied Electrochemistry* 46 pp 253 – 262.
- **Benyoucef, N., Cheikh, A., Drouiche, N., Lounici, H., Mameri, N., Abdi, N.** Denitrification of groundwater using Brewer's spent grain as biofilter media. 2013 *Ecological Engineering* 52 pp 70 – 74.
- **Bernat, K., Wojnowska-Baryła, I., Dobrzyńska, A.** Nitrogen oxidation and reduction in aerated single-stage activated sludge process. 2003 *Polish Journal of Environmental Studies* 12 (4) pp 387-394.
- **Bhatnagar, A., Kumar, E., Sillanpää, M.** Nitrate removal from water by nano-alumina: Characterization and sorption studies. 2010 *Chemical Engineering Journal* 163 (3) pp 317-323
- **Bhatnagar A., Sillanpää, K.** A review of emerging adsorbents for nitrate removal from water. 2011, *Chemical Engineering Journal* 168 pp 493 - 504.
- **Bitton, G.** Wastewater Microbiology. 2005, 3rd edition, *John Wiley & Sons, Inc.*
- **Blecon, G.** Dénitrification autotrophique par *Thiobacillus denitrificans* sur soufre. Aspect microbiologique et mise au point technologique. 1985 *Thèse de Doctorat* Université de Rennes I.
- **Boumediene, M., Achour, D.** Denitrification of the underground waters by specific resin exchange of ion. 2004 *Desalination* 168 pp 187-194.
- **Boussaid, F.** Etude de la dénitrification biologique in situ à l'aide de substrats cellulosiques. 1987 *Thèse de Doctorat* Université de Rennes I.
- **Bremner, J. M., Shaw, K.** Denitrification in soil. II. Factors affecting denitrification. 1958 *The Journal of Agricultural Science* 51 (1) pp 40 – 52.

- **Carrera, J, Vicent, T., Lafuente, F.J.** Influence of temperature on denitrification of an industrial high-strength nitrogen wastewater in a two-sludge system. 2003 *Water SA* 29 (1) pp 11-16
- **Chabaud, S.** Influence du biofilm sur les performances des systèmes de traitement par infiltration dans le sol : application à l'assainissement non collectif. 2007 *thèse de doctorat* Université de Nantes.
- **Chatelier, M.** Faisabilité d'un pilote de dénitrification *in situ* dans un aquifère karstifié. 2010 *thèse de doctorat* Université de Poitiers.
- **Chatterjee, S., Lee, D.S., Lee, M.W., Woo, S.H.** Nitrate removal from aqueous solutions by cross-linked chitosan beads conditioned with sodium bisulphate. 2009 *Journal of Hazardous Materials* 166 pp 508 – 513.
- **Cheikh, A.** Traitement des eaux chargées en nitrates par bioréacteur électrochimique. 1999 *Projet de Fin d'Etude* Ecole Nationale Polytechnique.
- **Claus, G., Kutzner, J.** Physiology and kinetics of autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans*. 1985 *Applied Microbiology and Biotechnology* 22 pp 283 - 288.
- **Clifford, D.** Breakthrough Predictions in Multicomponent ion exchange processes for nitrates removal. 1982, *Studies in Environmental Science* 19 pp 179 – 211.
- **Constantin, H., Fick, M.** Influence of c-sources on the denitrification rate of a high-nitrate concentrated industrial wastewater. 1997 *Water Research* 31 (3) pp 583 – 589.
- **Copland, J.** Nitrate Removal; Task 2.2: Biological Denitrification. 2002 Submitted to California Energy Commission Sacramento, California.
- **Cowan, D., Brown, J.** Effect of turbulence on limiting current in electro dialysis cells. 1959 *Industrial and Engineering Chemistry* 51 pp 1445 – 1448.
- **Curie, F.** Rétection de nitrates dans les zones humides riveraines : rôle des facteurs hydrologiques, géomorphologiques et biogéochimiques. Approche multi échelle dans le bassin de la seine. 2006, *thèse de doctorat* université Paris VI.
- **Cyplik, P., Czaczyk, K., Piotrowska-Cyplik, A., Marecik, R., Grajek W.** The influence of resin regeneration on nitrates removal effectivity from drinking water. 2008 *Nauka Przyroda Technology* 2 (1) pp 1 – 11.
- **Dahl, C., Sund, C., Kristensen, G.H., Vredendregt, L.** Combined biological nitrification and denitrification of high-salinity wastewater. 1997 *Water Science and Technology* 36 pp 345 – 352.

- **Dash, B. P., Chaudhari, S.** Electrochemical denitrification of simulated ground water. 2005 *Water Research* 39 pp 4065 – 4072.
- **Dehghani, M., Binaee Haghighi, A., Zamanian, Z.** The efficiency of the Amberjet 4200 resin in removing nitrate in the presence of competitive anions from Shiraz drinking water. 2010, *Pakistan Journal of Biological Sciences* 13 (11) pp 551 – 555.
- **Della Rocca, C., Belgiorno, V., Meriç, S.** Overview of *in-situ* applicable nitrate removal processes. 2007 *Desalination* 204 pp 46 - 62.
- **Demiral, H., Gündüzoğlu, G.** Removal of nitrate from aqueous solutions by activated carbon prepared from sugar beet bagasse. 2010 *Bioresource Technology* 101(6) pp 1675-1680.
- **Dillon R., Fauci L.** A microscale model of bacterial and biofilm dynamics in porous media. 2000 *Biotechnology and Bioengineering* 68 (5) pp 536 - 547.
- **Di Trapani, D., Mannina, G., Torregrossa, M., Viviani, G.** Comparison between hybrid moving bed biofilm reactor and activated sludge system: a pilot plant experiment. 2010 *Water Science and Technology* 64 (1) pp 891 – 902.
- **Dold, P., Takács, I., Mokhayeri, Y., Nichols, A., Hinojosa, J., Riffat, R., Bailey, W., Murthy, S.** Denitrification with carbon addition – kinetic considerations. 2007 *Water Environment Federation, Nutrient Removal* pp 218 - 238.
- **Doudrick, K., Yang, T., Hristovski, K., Westerhoff, P.** Photocatalytic nitrate reduction in water: Managing the hole scavenger and reaction by-product selectivity. 2013 *Applied Catalysis B: Environmental* 136 - 137 pp 40 - 47.
- **Drouiche, N., Grib, H., Abdi, N., Lounici, H., Pauss, A., Mameri, N.** Electrodialysis with bipolar membrane for regeneration of a spent activated carbon. 2009 *Journal of Hazardous Materials* 170 pp 197 – 202.
- **El Midaoui, A., Elhannouni, F., Menkouchi Sahli, M.A., Chay, L., Elabbassi, H., Hafsi, M., Largeteau, D.** Pollution of nitrate in Moroccan ground water: removal by Electrodialysis. 2001 *Desalination* 136 pp 325-332.
- **El Midaoui, A., Elhannouni, F., Taky, M., Chay, L., Menkouchi Sahli, M. A., Echihabi, L., Hafsi, M.** Optimization of nitrate removal operation from ground water by electrodialysis. 2002 *Separation and Purification Technology* 29 pp 235–244.
- **Fateminia, F. S., Falamaki, C.** Zero valent nano-sized iron/clinoptilolite modified with zero valent copper for reductive nitrate removal. 2013 *Process Safety and Environmental Protection* 91 pp 304 – 310.

- **Fazzolari, E., Mariotti, A., Germon, J.C.** Dissimilatory ammonia production vs. denitrification in vitro and in inoculated soil samples. 1990 *Canadian Journal of Microbiology*, 36 pp 786 - 793.
- **Fernandes, R.I.** Statistical methods for estimating the denitrification rate. 2011 *thèse de doctorat* Université de l'état de Floride.
- **Foglar, L., Briski, F.** Wastewater denitrification process: the influence of methanol and kinetic analysis. 2003 *Process Biochemistry* 39 pp 95 - 103.
- **Fidaleo, M., Moresi, M.** Electrodialysis application in the food industry. 2006 *Advances in Food and Nutrition Research* 51 pp 265 – 360.
- **Fox, P., Suidan, M.T., Bandy, J.** A comparison of media types in acetate fed expanded bed anaerobic reactors. 1990 *Water Research* 24 (7) pp 827 - 835.
- **Gaid K.** Mode d'élimination des composés sur filtre. 1981 *Thèse de Doctorat*, Université de Rennes.
- **Gammoudi, S., Frini-Srasra, N., Srasra, E.** Nitrate sorption by organosmectites. 2012 *Engineering Geology* 124 pp 119 – 129.
- **Gerardi, M.H.** Nitrification and Denitrification in the Activated Sludge Process. 2002 *John Wiley and Sons, Inc.*
- **Ghafari, S., Hasan, M., Aroua, M.K.** Bio-electrochemical removal of nitrate from water and wastewater - A review. 2008 *Bioresource Technology* 99 pp 3965–3974.
- **Gherrou, A., Kerdjoudj, H.** Removal of gold as $\text{Au}(\text{Tu})_2^+$ complex with a supported liquid membrane containing macrocyclic polyethers ligands as carriers. 2002 *Desalination* 144 pp 231 – 236.
- **Ghyselbrecht, K., Huygebaert, M., Van Der Bruggen, B., Ballet, R., Meesschaert, B., Pinoy, L.** Desalination of an industrial saline water with conventional and bipolar membrane electrodialysis. 2013 *Desalination* 318 pp 9–18.
- **Gilbert, F., Francois, F., Stora, G., Bertrand, J.C.** Inhibition de la dénitrification par les hydrocarbures dans les sédiments marins. Role de *Nereis divesicolor*. 1997 Academie des sciences / Elsevier, Paris, *Ecology* 320 pp 819 – 824.
- **Gjaltema, A., Vinke, J.L., van Loosdrecht, M.C.M., Heijnen, J.J.** Biofilm abrasion by particle collisions in airlift reactors. 1997 *Biochemical Engineering* 36 (1) pp 221 - 228.
- **Glass, C., Silverstein, J.** Denitrification kinetics of high nitrate concentration water: pH effect on inhibition and nitrite accumulation. 1998 *Water Research* 32 (3) pp 831 – 839.

- **Glass, C., Silverstein, J.** Denitrification of high-nitrate, high-salinity wastewater. 1999 *Water Research* 33 (1) pp 223 – 229.
- **Gómez, M.A., González-López, J., Hontoria-Garcia, E.** Influence of carbon source on nitrate removal of contaminated groundwater in a denitrifying submerged filter. 2000 *Journal of Hazardous Materials* B80 pp 69 – 80.
- **Gray, N.F.** Water Technology: An introduction for environmental scientists and engineers. 2005, second edition *Elsevier Science & Technology Books*
- **Grib, H., Belhocine, D., Lounici, H., Pauss, H., Mameri, N.** Desalting of phenylalanine solutions by electrolysis with ion-exchange membrane. 2000 *Journal of Applied Electrochemistry* 30 pp 259-262.
- **Groffman, P.M., Axelrod, E.A., Lemunyon, J.L., Sullivan, W.M.** Denitrification in grass and forest vegetated filter strips. 1991 *Journal of Environmental Quality* 20 (3) pp 671 – 674.
- **Halmo, G., Eimhjellen, K.** Low temperature removal of nitrate by bacterial denitrification. 1981 *Water Research* 15 pp 989 - 998.
- **Hashlay, C., Leclerc H.** Microbiologie des eaux d'alimentation. 1993 *Technique et documentation Lavoisier*.
- **Heijnen J.J., Mulder A., Enger W., Hoeks F.** Review on the application of anaerobic fluidized bed reactors in wastewater treatment. 1989 *The Chemical Engineering Journal* 41 pp 37 - 50.
- **Hekmatzadeh, A.A., Karimi-Jashani, A., Talebbeydokhti, N., Kløve, B.** Modeling of nitrate removal for ion exchange resin in batch and fixed bed experiments. 2001 *Desalination* 284 pp 22–31.
- **Hell, F., Lahnsteiner, J., Frischherz, H., Baumgartner, G.** Experience with full-scale electro dialysis for nitrate and hardness removal. 1998 *Desalination* 117 pp 173-180.
- **Her, J.J., Huang, J.S.** Influences of carbon source and C/N ratio on nitrate/nitrite denitrification and carbon breakthrough. 1995 *Bioresource Technology* 54 (1) pp 45 - 51.
- **Hiscock, K.M., Lloyd, J.W., Lerner, D.N.** Review of natural and artificial denitrification of groundwater. 1991 *Water Research* 25(9) pp 1099 - 1109.
- **Horold, S., Vorlop, K.D., Tacke, T., Sell, M.** Development of catalysts for a selective nitrate and nitrite removal from drinking water. 1993 *Catalysis Today* 17 pp 21-30.

- **Hunter, W.J.** Accumulation of nitrite in denitrifying barriers when phosphate is limiting. 2003 *Journal of Contaminant Hydrology* 66 pp 79 – 91.
- **Islam, M., Mishraa, P.C., Patel, R.** Physicochemical characterization of hydroxyapatite and its application towards removal of nitrate from water. 2010 *Journal of Environmental Management* 91 pp 1883 – 1891.
- **Islam, S., Suidan M.T.** Electrolytic denitrification: long term performance and effect of current intensity. 1998 *Water research* 32 pp 528 - 536.
- **Jang, A., Ahn, Y., Kim, I.S.** Monitoring the impact of dissolved oxygen and nitrite on anoxic biofilm in continuous denitrification process. 2003 *Environmental Monitoring and Assessment* 87 (2) pp 133 – 144.
- **Jiang, C., Wang, Y., Zhang, Z., Xu, T.** Electrodialysis of concentrated brine from RO plant to produce coarse salt and freshwater. 2014 *Journal of Membrane Science* 450 pp 323 – 330.
- **Jorgensen, K.S.** Annual Pattern of Denitrification and Nitrate Ammonification in Estuarine Sediment. 1989 *Applied and Environmental Microbiology* 55 (1) pp 1841 – 1847.
- **Kabay, N. Ipek, O., Kahveci, H., Yuksel M.** Effect of salt combination on separation of monovalent and divalent salts by electrodialysis. 2006 *Desalination* 198 pp 84 – 91.
- **Kampschreur, M.J., Temmink, H., Kleerebezem, R., Jetten, M.S.M., Van Loosdrecht, M.C.M.** Nitrous oxide emission during wastewater treatment. 2009 *Water research* 43 pp 4093 – 4103.
- **Kapoor, A., Viraraghavan, T.** Nitrate Removal From Drinking Water - Review. 1997 *Journal of Environmental Engineering* 123 (4) pp 371 – 380.
- **Kassaee, M. Z., Motamedi, E., Mikhak, A., Rahnemaie, R.** Nitrate removal from water using iron nanoparticles produced by arc discharge vs. Reduction. 2011 *Chemical Engineering Journal* 166 pp 490 – 495.
- **Kesore, K., Janowski, F., Shaposhnik, V.A.** Highly effective electrodialysis for selective elimination of nitrates from drinking water. 1997 *Journal of Membrane Science* 127 pp 17-24.
- **Kida, K., Morimura, S., Sonoda, Y., Obe, M., Kondo, T.** Support media for microbial adhesion in an anaerobic fluidized bed reactor. 1990 *Journal of Fermentation and Bioengineering* pp 354 - 359.

- **Kim, J., Benjamin, M.M.** Modeling a novel ion exchange process for arsenic and nitrate removal. 2004 *Water Research* 38 pp 2053–2062.
- **Kim, Y.M., Cho, H.U., Lee, D.S., Park, D., Park, J.M.** Comparative study of free cyanide inhibition on nitrification and denitrification in batch and continuous flow systems. 2011 *Desalination* 279 pp 439 – 444.
- **Kimura, K. Masahiko, N. Yoshimasa, W.** Nitrate removal by a combination of elemental sulfur-based denitrification and membrane filtration. 2002 *Water Research* 36 pp 1758 – 1766.
- **Klausen, M. Gjermansen, J.U. Kreft, T. Tolker-Nielsen.** Dynamics of development and dispersal in sessile microbial communities: examples from *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* model biofilm. 2006 *FEMS Microbiology Letters* 261 pp 1-11.
- **Klimiuk, E., Kulikowska, D.** The Influence of Hydraulic Retention Time and Sludge Age on the Kinetics of Nitrogen Removal from Leachate in SBR. 2006 *Polish Journal of Environmental Studies* 15 (2) pp 283 – 289.
- **Knowles, R.** Denitrification. 1982 *Microbiological Reviews* 46 (1) pp 43 – 70.
- **Koch, G., Siegrist, H.** Denitrification with methanol in tertiary filtration. 1997 *Water Research* 31(12) pp 3029 – 3038.
- **Koren, D.W., Gould, W.D., Bédard, P.** Biological removal of ammonia and nitrate from simulated mine and mill effluents. 2000 *Hydrometallurgy* 56 pp 127 – 144.
- **Kornaros, M., Lyberatos, G.** Kinetics of aerobic growth of a denitrifying bacterium, *Pseudomonas Denitrificans*, in the presence of nitrates and/or nitrites. 1997 *Water Research* 31 (3) pp 479 – 488.
- **Koskinen, W. C., Keeney, D. R.** Effect of pH on the Rate of Gaseous Products of Denitrification in a Silt Loam Soil. 1982 *Soil Science Society of America Journal* 46 (6) pp 1165 – 1167.
- **Kunz, W., Henle, J., Ninham B.W.** ‘Zur Lehre von der Wirkung der Salze’ (about the science of the effect of salts): Franz Hofmeister’s historical papers. Review Article. 2004 *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 9 pp 19 – 37.
- **Kuroda, M., Yuzawa, M., Kakibara, Y., Okamura, M.** Methanogenic bacteria adhered to solid supports. 1988 *Water Research* 22 (5) pp 653 - 656.

- **Lacasa, E., Canizares, P., Llanos, J., Rodrigo, M. A.** Effect of the cathode material on the removal of nitrates by electrolysis in non-chloride media. 2012 *Journal of Hazardous Materials* 213 – 214 pp 478 – 484.
- **Li, M., Feng, C., Zhang, Z., Lei, X., Chen, R., Yang, Y., Sugiura, N.** Simultaneous reduction of nitrate and oxidation of by-products using electrochemical method. 2009 *Journal of Hazardous Materials* 171 pp 724 – 730.
- **Liwarska-Bizukojc, E., Bizukojc, M., Ledakowicz, S.** Kinetic model for the process of aerobic biodegradation of organic fraction of municipal solid waste. 2001 *Bioprocess and Biosystems Engineering* 24 pp 195 - 202.
- **Louzeiro, N.R., Mavinic, D.S., Oldham, W.K., Meisen, A., Gardnere, I.S.** Methanol-induced biological nutrient removal kinetics in a full-scale sequencing batch reactor. 2002 *Water Research* 36 pp 2721 – 2732.
- **Mahmoud, A., Hoadley, A.F.A.** An evaluation of a hybrid ion exchange electro dialysis process in the recovery of heavy metals from simulated dilute industrial wastewater. 2012 *Water Research* 46 pp 3364 – 3376.
- **Mariotti, A.** Dénitrification in situ dans les eaux souterraines, processus naturels ou provoqués : une revue. 1994, *Hydrogéologie* 3 pp 43-68.
- **Martin, G.** Le problème de l'azote dans les eaux. 1979 *Technique et Documentation - Lavoisier Paris*.
- **Martienssen, M., Schops, R.** Population dynamics of denitrifying bacteria in a model biocommunity. 1999 *Water Research* 33 (3) pp 639 – 646.
- **Mateju, V., Cizinska, S., Krejci, J., Janoch, T.** Biological water denitrification-A review. 1992 *Enzyme and Microbial Technology* 14 pp 170 – 183.
- **Mena-Duran, C.J., Sun Kou, M.R., Lopez, T., Azamar-Barrios, J.A., Aguilar, D.H., Dominguez, M.I., Odriozola, J.A. Quintana, P.** Nitrate removal using natural clays modified by acid thermoactivation. 2007 *Applied Surface Science* 253 (13) pp 5762-5766.
- **Menkouchi Sahli, M.A., Tahaikt, M., Achary, I., Taky, M., Elhanouni, F., Hafsi, M., Elmghari, M., Elmidaoui A.** Technical optimization of nitrate removal for groundwater by ED using a pilot plant. 2006 *Desalination* 189 pp 200 – 208.
- **Methanol Institute:** Methanol Use in Wastewater Denitrification. 2012 Document préparé par Exponent, Alexandria, VA et Theis, T.L., A. Université de l'Illinois, Chicago. *Exponent, Inc.*

- **Meyer, K.J., Swaim, P.D., Bellamy, W.D., Rittmann, B.E., Tang, Y.** Biological and ion exchange nitrate removal evaluation. 2010 *Water Research Foundation* Denver, Colorado Rapport No. 4131.
- **Michaud, S.** Etude hydrodynamique et biologique d'un procédé de méthanisation a biofilm : le réacteur à lit tubulé inverse. 2001 *thèse de doctorat* Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse.
- **Montalvo, S., Guerrero, L., Borja, R., Sánchez, E., Milán, Z., Cortés, I., Rubia, M. A.** Application of natural zeolites in anaerobic digestion processes: A review. 2012 *Applied Clay Science* 58 pp 125–133.
- **Moreno-Castilla, C., Bautista-Toledo, I., Ferro-Garcia, M.A., Rivera-Utrilla, J.** Influence of support surface properties on activity of bacteria immobilised on activated carbons for water denitrification. 2003 *Carbon* 41 pp 1743–1749.
- **Naji, S.** Etude d'un nouveau type de réacteur a biomasse immobilisée : application à la dénitrification et à la méthanisation des solutions aqueuses. 1985 *Thèse de Doctorat*, Université de Metz.
- **Nicolella, C., Van Loosdrecht, M.C.M., Heijnen, J.J.** Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. Review article. 2000 *Journal of Biotechnology* 80 pp 1–33
- **Nielsen, P.H., Jahn, A., Palmgren, R.** Conceptual model for production and composition of exopolymers in biofilms. 1997 *Water Science and Technology* 36 (1) pp 11 – 19.
- **Nitron - SED.** Nitrate removal plants for ground and surface water. A cost – effective and environmentally – friendly solution. 2009 *Shikun & Binui, Arison group Environment*.
- **Novelect, les cahiers de l'innovation.** 2003 *la Mission Novelect - EDF*, NOV 435.
- **Nunell, G.V., Fernandez, M.E., Bonelli, P.R., Cukierman, A.L.** Conversion of biomass from an invasive species into activated carbons for removal of nitrate from wastewater. 2012 *Biomass and Bioenergy* 44 pp 87- 95.
- **Nutall, H. E., Lu, Y.** In situ denitrification. 2003 *United States Patent* US N°6551815 B1 pp 1-27.
- **Officier C.B., Biggs R.B., Taft J.L., Cronin L.E., Tyler M.A., Boynton W.R.** Chesapeake bay anoxia: origin, development and significance. 1984, *Science* 223 pp 22-27.

- **Oh, J., Silverstein, J.** Oxygen inhibition of activated sludge denitrification. 1999 *Water Research* 33 (8) pp 1925 – 1937.
- **Oh, J. Yoon, S.M. Park, J.M.** Denitrification in submerged biofilters of concentrated nitrate wastewater. 2001 *Water Science and Technology* 43 (1) pp 217 – 223.
- **Ovez, B., Ozgen, S., Yuksel, M.** Biological denitrification in drinking water using *Glycyrrhiza glabra* and *Arunda donax* as the carbon source. 2006 *Process Biochemistry* 41pp 1539 – 1544.
- **Park, J.Y., Yoo, Y.J.** Biological nitrate removal in industrial wastewater treatment: which electron donor we can choose. 2009 *Applied Microbiology Biotechnology* 82 pp 415 – 429.
- **Parot, S.** Biofilms électroactifs : Formation, caractérisation et mécanismes. 2007 *thèse de doctorat* Institut National Polytechnique de Toulouse.
- **Pelmont, J.** Biodégradations et métabolismes : Les bactéries pour les technologies de l'environnement. 2005 *Collection Grenoble Sciences, EDP Sciences édition.*
- **Peyton, B.M., Mormile, M.R., Petersen, J.N.** Nitrate reduction with *Halomonas Campisalis*: kinetics of denitrification at pH 9 and 12.5% NaCl. 2001 *Water Research* 35 (17) pp 4237 – 4242.
- **Pintar, A., Batista, J., Levec, J.** Catalytic denitrification: direct and indirect removal of nitrates from potable water. 2001 *Catalysis Today* 66 pp 503 – 510.
- **Prüsse, U., Hähnlein, M., Daum, J., Vorlop, K. D.** Improving the catalytic nitrate reduction. 2000 *Catalysis Today* 55 pp 79 – 90.
- **Purtschert, I., Gujer, W.** Population dynamics by methanol addition in denitrifying wastewater treatment plants. 1999 *Water Science and Technology* 39 (1) pp 43 – 50.
- **Ratel, M.O.** Elimination des nitrates des potables. 2001 Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et des affaires rurales, document technique FNDAE hors série n°4.
- **Reyter, D., Bélanger, D., Roué, L.** Nitrate removal by a paired electrolysis on copper and Ti/IrO₂ coupled electrodes - influence of the anode/cathode surface area ratio. 2010 *Water Research* 44 pp 1918 - 1926.
- **Rivett, M.O., Buss, S.R., Morgan, P., Smith, J.W.N., Bemment, C.D.** Nitrate attenuation in groundwater: A review of biogeochemical controlling processes. 2008 *Water Research* 42 pp 4215 – 4232.

- **Robertson, W., Vogan, J., Lombardo, P.** Nitrate removal rates in a 15-year-old permeable reactive barrier treating septic system nitrate. 2008 *Groundwater Monitoring Remediation* 28(3) pp 65 - 72.
- **Rocher, V., Meche, P., Rechdaoui, S., Paffoni, C., Goncalves, A.** Conditions d'apparition des nitrites lors de la dénitrification des eaux usées par biofiltration : Importance des apports en phosphore. 2011 *l'Eau, l'Industrie, les Nuisances* 344 pp 106 – 112.
- **Rodrigues, M.A.S., Amado, F.D.R., Xavier, J.L.N., Streit, K.F., Bernardes, A.M., Ferreira, J.Z.** Application of photoelectrochemical electro dialysis treatment for the recovery and reuse of water from tannery effluents. 2008 *Journal of Cleaner Production* 16 pp 605 – 611.
- **Roque-Malherbe, R.M.A.** The physical chemistry of materials ;energy and environmental applications. 2010 *Taylor and Francis Group*.
- **Roux De Balmann, H., Casademont, E.** Électrodialyse. 2006 *Techniques de l'Ingénieur* j2840.
- **Rudolph, J., Frenzel, P., Pfennig, N.** Acetylene inhibition technique underestimates in situ denitrification rates in intact cores of freshwater sediment. 1991 *FEMS Microbiology Letters* 85 (2) pp 101 – 106.
- **Rust, C.M., Aelion, C. M., Flora, J.R.V.** Control of pH during denitrification in subsurface sediment microcosms using encapsulated phosphate buffer. 2000 *Water Research* 34 (5) pp 1447 – 1454.
- **Sadrzadeh, M., Mohammadi, T.** Treatment of sea water using electro dialysis: Current efficiency evaluation. 2009 *Desalination* 249 pp 279 – 285.
- **Salem, Z., Lebig, H., Cherafa, W.K., Allia, K.** Valorisation of olive pits using biological denitrification. 2007 *Desalination* 204 pp 72–78.
- **Saliling, W.J.B., Westerman, P.W., Losordo, T.M.** Wood chips and wheat straw as alternative biofilter media for denitrification reactors treating aquaculture and other wastewaters with high nitrate concentrations. 2007 *Aquacultural Engineering* 37 pp 222 – 233.
- **Santafé-Moros, A., Gozávez-Zafrilla, J.M., Lora-García, J.** Nitrate removal from ternary ionic solutions by a tight nanofiltration membrane. 2007 *Desalination* 204 pp 63 – 71.

- **Sant'anna, F.P.S., Martin, G., Taha, S.** Effect of sodium chloride on the denitrification of ion exchange resin eluates by a sulphur-oxidizing chemoautotrophic bacterium. 1996 *Revue Science Eau* 3 pp 333-350.
- **Santé Canada.** Recommandation pour la qualité de l'eau potable au Canada : Nitrate et nitrite dans l'eau potable. 2013 Document de consultation publique préparé par le Comité fédéral provincial territorial sur l'eau potable. Bureau de l'eau, de l'air et des changements climatiques. Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs, Santé Canada, Ottawa (Ontario).
- **Sata, T., Mine, K., Matsusaki, K.** Change in Transport Properties of Anion-Exchange Membranes in the Presence of Ethylene Glycols in Electrodialysis. 1998 *Journal of Colloid and Interface Science* 202 pp 348 – 358.
- **Sauthier, N., Grasmick, A., Blancheton, J. P.** Biological denitrification applied to a marine closed aquaculture system. 1998 *Water Research* 32 (6) pp 1932 – 1938.
- **Schick, J., Caillet, P., Paillaud, J.L., Patarin, J., Mangold-Callarec, C.** Batch-wise nitrate removal from water on a surfactant-modified zeolite. 2010 *Microporous and Mesoporous Materials* 132 pp 395–400.
- **Schmidt, R.** traité des matériaux, 7. Comportement des matériaux dans les milieux biologiques: Applications en médecine et biotechnologie. 1999, première édition, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- **Singlande, E., Roux-de Balman, H., Lefevbre, X., Sperandio, M.** Improvement of the treatment of salted liquid waste by integrated electrodialysis upstream biological treatment. 2006 *Desalination* 199 pp 64 – 66.
- **Smaghe, F., Mourgues, J., Escudier, J. L., Conte, C. T., Molinier, J., Malmay C.** Recovery of calcium tartrate and calcium malate in effluents from grape sugar production by electrodialysis. 1992 *Bioresource Technology* 39 pp 185 – 189.
- **Song, H., Zhou, Y., Li, A., Mueller, S.** Selective removal of nitrate from water by a macroporous strong basic anion exchange resin. 2012 *Desalination* 296 pp 53–60.
- **Srinandan, C.S., D'souza, G., Srivastava, N., Nayak, B.B., Nerurkar, A.S.** Carbon sources influence the nitrate removal activity, community structure and biofilm architecture. 2012 *Bioresource Technology* 117 pp 292–299.
- **Sriwiryarat, T., Randall, C.W.** Performance of IFAS wastewater treatment processes for biological phosphorus removal. 2005 *Water Research* 39 (16) pp 3873 - 3884.
- **Stanier, R.Y.** Microbiologie générale. 1976 Masson et CIE éditeurs.

- **Stanley, N.R., Lazazzera, B.A., Britton, R.A., Grossman A.D.** Identification of catabolite repression as a physiological regulator of biofilm formation by *Bacillus subtilis* by use of DNA microarray. 2003 *Journal Bacteriology* 185 pp 1951 - 1957.
- **Tang, C., Zhang, Z., Sun, X.** Effect of common ions on nitrate removal by zero-valent iron from alkaline soil. 2012 *Journal of Hazardous Materials* 231-232 pp 114 – 119.
- **Thorn. M. Sorensson, F.** Variation of nitrous oxide formation in the denitrification basin in a wastewater treatment plant with nitrogen removal. 1996 *Water research* 2(1) pp 543 - 547.
- **Timmermans, P., Van Haute, A.** Denitrification with methanol fundamental study of the growth and denitrification capacity of *Hyphomicrobium* Sp. 1983 *Water Research* 17 (10) pp 1249 – 1255.
- **Tofighy, M.A., Mohammadi, T.** Nitrate removal from water using functionalized carbon nanotube sheets. 2012 *Chemical Engineering Research and Design* 90 pp 1815 – 1822.
- **Trivedi, H.K.** Simultaneous Nitrification and Denitrification (SymBio®_ Process). 2009 *Handbook of Environmental Engineering, Volume 9: Advanced Biological Treatment Processes* Edited by: L. K.Wang, N. K. Shammas and Y-T. Hung. *Humana Press*, New York.
- **Tiedje, J.M.** Denitrification: Methods of Soil Analysis, Part 2. Agronomy Monograph No. 9. 1982. In A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney Edition, Amer. Soc. Agron., Madison, WI pp 1011-1026.
- **Ucisik, A.S., Henze, M.** Biological denitrification of fertiliser wastewater at high chloride concentration. 2004 *Water SA* 30 (2) pp 191 – 198.
- **United States Environmental Protection Agency (USEPA).** Manual Nitrogen Control.1993. *Office of Research and Development, Office of Water*, Washington, DC EPA 625/R-93/010.
- **Vacková, L., Srb, M., Stloukal, R., Wanner, I.** Comparison of denitrification at low temperature using encapsulated *Paracoccus denitrificans*, *Pseudomonas fluorescens* and mixed culture. 2011 *Bioresource Technology* 102 pp 4661 – 4666.
- **Van Cleemput, O., Patrick, W. H. J., Mc Ilhenny, R. C.** Formation of chemical and biological denitrification end products in flooded soil at controlled pH and redox potential. 1975 *Soil Biology and Biochemistry* 7 pp 329 - 332.

- **Van Der Bruggen, B., C. Vandecasteele, C.** Removal of pollutants from surface water and groundwater by nanofiltration: overview of possible applications in the drinking water industry. 2003 *Environmental Pollution* 122 pp 435 – 445.
- **Van Der Hoek, J.P., Klapwijk, A.** Nitrate removal from ground water. 1987 *Water Research* 21 (8) pp 989-997.
- **Van Der Hoek, J. P., Paul, J.M., Klapwijk, A.** Effect of hydraulic time on microbial sulfide production in an upflow sludge blanket denitrification reactor fed with methanol. 1988 *Applied Microbiology and Biotechnology* 28 pp 493-499.
- **Van Haandel, A.C., Van Der Lubbe J. G. M.** Handbook of Biological Wastewater Treatment: Design and Optimisation of Activated Sludge Systems. 2012 2nd edition *IWA Publishing*.
- **Van Loosdrecht M.C.M., Heijnen J.J.** Biofilm bioreactors for waste-water treatment. 1993 *TIBTECH* 11 *Elsevier Science Publisher* pp 117 - 121.
- **Vera, E., Ruales, J., Dornier, M., Sandeaux, J., Sandeaux R., Pourcelly, G.** Deacidification of clarified passion fruit juice using different configurations of electro dialysis. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 78 pp 918 – 925.
- **Vossoughi, M., Laroche, M., Navarro, J.M., Faup, G., Leprince, A.** Continuous denitrification by immobilized cells. 1982 *Water Research* 16 pp 995 – 1002.
- **Wang, Q., Feng, C., Zhao, Y., Hao, C.** Denitrification of nitrate contaminated groundwater with a fiber-based biofilm reactor. 2009 *Bioresource Technology* 100 pp 2223 – 2227.
- **Wehbe, N., Jaafar, M., Guillard, C., Herrmann, J. M., Miachon, S., Puzenat, E., Guilhaume, N.** Comparative study of photocatalytic and non-photocatalytic reduction of nitrates in water. 2009 *Applied Catalysis A: General* 368 pp 1 - 8.
- **Welander, U., Henrysson, T., Welander, T.** Biological nitrogen removal from municipal landfill leachate in a pilot scale suspended carrier biofilm process. 1998 *Water Research* 32 (5) pp 1564 – 1570.
- **Welander, U., Mattiasson, B.** Denitrification at low temperatures using a suspended carrier biofilm process. 2003 *Water Research* 37 pp 2394 – 2398.
- **Westerhoff, P., James, J.** Nitrate removal in zero-valent iron packed columns. 2003 *Water Research* 37 pp 1818 – 1830.
- **Wijler, J., Delwiche C. C.** Investigations on the denitrifying process in soil. 1954 *Plant and Soil* 5 (2) pp 155 – 169.

- **Wisniewski, C., Persin, F., Cherif, T., Sandeaux, R., Grasmick, A., Gavach, C., Lutin, F.** Use of a membrane bioreactor for denitrification of brine from an electro dialysis process. 2002 *Desalination* 149 pp 331-336.
- **Wojnowska-Baryła, I., Zielińska, M.** Carbon and nitrogen removal by biomass immobilized in ceramic carriers. 2002 *Polish Journal of Environmental Studies* 11 (5), pp 577-584.
- **Xing, X., Gao, B.Y., Zhong, Q.Q., Yue, Q.Y., Li, Q.** Sorption of nitrate onto amine-crosslinked wheat straw: Characteristics, column sorption and desorption properties. 2011 *Journal of Hazardous Materials* 186 pp 206 – 211.
- **Xu, Y., Qiu, T.L., Han, M.L., Li, J., Wang, X.M.** Heterotrophic denitrification of nitrate contaminated water using different solid carbon sources. 2011 *Procedia Environmental Sciences* 10 pp 72 – 77.
- **Xua, X., Gao, B., Zhao, Y., Chen, S., Tana, X., Yue, Q., Lin, J., Wang, Y.** Nitrate removal from aqueous solution by *Arundo donax* L. reed based anion exchange resin. 2012 *Journal of Hazardous Materials* 203–204 pp 86 – 92.
- **Yang, Y., Gao, X., Fan, A., Fu, L., Gao, C.** An innovative beneficial reuse of seawater concentrate using bipolar membrane electro dialysis. 2014 *Journal of Membrane Science* 449 pp 119 – 126.
- **Yapo, O. B., Mambo, V., Meledje Djedjess, E. J-C., Ohou, M. J., Seka, A., Tidou, A. S., Houenou, P.V.** Searching for parameters optimising the biological denitrification of nitrate-and ammonium-rich well waters by private slow sand filtration reactors. 2009 *European Journal of Scientific Research* 26 (4) pp 565 – 576.
- **Yu, L., Lin, A., Zhang, L., Chen, C., Jiang, W.** Application of electro dialysis to the production of Vitamin C. 2000 *Chemical Engineering Journal* 78 pp 153 – 157.
- **Zhan, Y., Lin, J., Zhu, Z.** Removal of nitrate from aqueous solution using cetylpyridinium bromide (CPB) modified zeolite as adsorbent. 2011 *Journal of Hazardous Materials* 186 pp 1972–1978.
- **Zhang, Y., Li, Y., Li, J., Hu, L., Zheng, X.** Enhanced removal of nitrate by a novel composite: Nanoscale zero valent iron supported on pillared clay. 2011 *Chemical Engineering Journal* 171 pp 526 – 531.
- **Zhou, Y., Dong Shuang, C., Zhou, Q., Cheng Zhang, M., Hui Li, P., Min Li, A.** Preparation and application of a novel magnetic anion exchange resin for selective nitrate removal. 2012 *Chinese Chemical Letters* 23 pp 813–816.

Techniques analytiques

I. Dosage des nitrates : Méthode au réactif SULFOPHINIQUE (Norme AFNOR NF T 90 102)

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

Réactifs :

- Acide sulfurique (36N).
- Ammoniac.
- Phénol.

Préparation du réactif sulfophénique :

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

Mode opératoire :

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

II. Dosage de nitrites : Méthode au réactif de DIAZOTATION

(Norme AFNOR NF T 90 013)

Réactif de diazotation :

- Acide orthophosphorique (H_3PO_4) ;
- Sulfaniamide ($C_6H_8O_2N_2S$);
- Dichlorure de N-(1-naphtyl) éthylène diamine ($C_{10}H_7NHCH_2CH_2, 2HCl$).

Préparation du réactif de diazotation :

- A 800 ml d'eau distillée, ajouter 100 ml d'acide orthophosphorique concentré, et 40g de Sulfanilamide ;
- Après dilution, ajouter 2g de dichlorure de N-(1-naphtyl) éthylène diamine ;
- Compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée ;
- Mettre le réactif dans un flacon brun et le conserver à l'abri de la lumière.

Mode opératoire :

- Prendre 50 ml de l'échantillon à analyser ;
- Ajouter 1ml de réactif de diazotation ;
- Attendre 10 minutes pour le développement de la couleur rose ;
- Effectuer la lecture sur le photomètre à $\lambda = 537nm$;
- La teneur en nitrites de l'échantillon est déduite graphiquement à partir de la courbe d'étalonnage de nitrite.

III. Dosage des chlorures : méthode au sel de MOHR :

Principe :

On fait agir un milieu neutre, une solution de nitrate d'argent sur une prise d'essai connue en présence de chromate de potassium comme indicateur.

Réactifs :

- Solution de nitrates d'argent à 4,79 g/L.
- Solution de chromate de potassium à 50 g/L.

Mode opératoire :

- Prélever 10 ml de l'échantillon à analyser ;
- Ajouter 0,1 ml de solution chromate de potassium ;
- Doser avec le nitrate d'argent jusqu'à virage de la coloration jaune à une faible teinte brunâtre ;
- Essai à blanc : le volume de nitrates d'argent nécessaire pour produire des virages sur une eau déminéralisée.

La teneur en chlorures de l'échantillon est donnée en milligramme d'ion Cl^-/L , suivant l'expression :

$$[(v - b) \times 1000] / (V \times K)$$

où :

v : volume de solution de nitrate d'argent utilisé (ml)

b : volume de solution de nitrate d'argent consommé par l'essai à blanc (ml)

V : volume de la prise d'essai (10 ml)

K : facteur dépendant de la dilution

IV. Dosage des sulfates : méthode turbidimétrique

Principe :

Cette méthode est basée sur le fait que les ions SO_4^{-2} se précipitent en milieu acide et en présence du chlorure de baryum (BaCl_2) pour former (BaSO_4).

Réactifs :

- Solution stabilisante : chlorure de magnésium, acétate de sodium, nitrate de potassium, acide acétique
- Chlorure de baryum.

Préparation de la solution stabilisante :

Dissoudre 30 g de chlorure de magnésium, 5 g d'acétate de sodium, 1 g de nitrate de potassium et 20 ml d'acide acétique (99%) dans 500 ml d'eau distillée puis compléter à 1 l.

Mode opératoire :

- Prélever 10 ml de l'échantillon à analyser ;
- Ajouter 2 ml de solution stabilisante et agiter ;
- Rajouter 0,04 g de chlorure de baryum, agiter pendant 1 minute puis verser la suspension dans la cellule du photomètre ;
- Attendre 3 à 4 minutes pour effectuer la lecture sur le photomètre à $\lambda = 420$ nm ;
- Essai à blanc : sur une eau déminéralisée nous procédons aux mêmes étapes mais sans ajouter le chlorure de baryum.

V. Dosage des orthophosphates : méthode au réactif combiné

(Norme AFNOR NF 90 023)

Réactifs :

- Acide sulfurique pur ($d = 1.84$) à 15% environ en volume ;
- Acide ascorbique : solution à 50 g/L ;
- Tartrate de potassium et d'antimoine solution à 2,8 g/L ;
- Paramolibdate d'ammonium : solution à 40g/L.

Préparation des réactifs :

- **Tartrate de potassium et d'antimoine : solution à 2,8g/L :**

Dissoudre 0,28g de tartrate de potassium et d'antimoine ($K(SbO)$, $C_4H_4O_6$, $4H_2O$) dans de l'eau distillée et compléter à 100 ml avec celle-ci.

- **Paramolibdate d'ammonium : solution à 40g/L :**

Dissoudre 20g de Paramolibdate d'ammonium ($(NH_4)_6 Mo_7O_{24}$, $4H_2O$) dans de l'eau distillée et compléter à 500ml avec celle-ci.

Filtrer éventuellement. La solution obtenue peut être conservé à 4°C dans un flacon de polyéthylène.

- **Acide ascorbique : solution à 50g/L.**

Dissoudre 5g d'acide ascorbique dans de l'eau distillée et compléter à 100 ml avec celle-ci. Préparer cette solution chaque jour.

- **Réactif combiné :**

Dans une fiole jaugée de 100 ml, mélanger :

- 50 ml d'acide sulfurique ;
- 5 ml de la solution de tartrate ;
- 15 ml de la solution de paramolybdate d'ammonium.

Compléter au volume avec de l'eau distillée, Ce réactif peut être conservé à 4°C.

Mode opératoire :

- Vérifier le pH de l'échantillon qui doit être compris entre 2 à 7, l'ajuster si nécessaire ;
- Introduire 20 ml de d'échantillon à analyser ou solution étalon dans une fiole jaugée de 25 ml ;
- Ajouter 1 ml de solution d'acide ascorbique, agiter, puis ajouter 4 ml de réactif combiné, mélanger soigneusement ;
- Attendre 30 minutes le développement et la stabilisation de la coloration bleue ;
- Effectuer la lecture sur le photomètre à $\lambda = 700$ ou 880nm ;
- La teneur en orthophosphates de l'échantillon est déduite à partir de la courbe d'étalonnage, et exprimer en milligramme par litre de phosphore.

N.B : Verrerie courante de laboratoire doit être lavée à l'acide chlorhydrique et rincée à l'eau distillée.

VI. DOSAGE DE LA DCO :***Réactif de digestion :***

- Dissoudre 10,216 g de $K_2Cr_2O_7$, préalablement chauffé à $103^\circ C$ pendant 2h, dans 500 ml d'eau distillée ;
- Ajouter 167 ml de H_2SO_4 concentré + 33,3 $HgSO_4$;
- Agiter jusqu'à dissolution complète, laisser refroidir et compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée.

Réactif d'acide sulfurique :

- Ajouter Ag_2SO_4 à H_2SO_4 concentré avec un taux de 5.5g d' $Ag_2SO_4/kg H_2SO_4$;
- Laisser reposer 1 à 2 jours afin qu' Ag_2SO_4 soit complètement dessous ;
- La solution doit être conservée à l'obscurité.

Mode opératoire :

- Prendre 2,5ml d'échantillon à analyser ou solution étalon et l'introduire dans un tube spécifique en verre ;
- Ajouter lentement 1.5ml de réactif de digestion + 3,5ml de réactif d'acide sulfurique dans chaque tube, après le mélange les tubes doivent être immédiatement bien fermés afin d'éviter toute évaporation suite à un fort échauffement dû à une réaction exothermique ;
- Bien mélanger les tubes au vortex, et laisser refroidir ;
- Mettre le bloc chauffant en marche pendant au moins 30min. à $148^\circ C$, jusqu'à ce que le voyant de chauffe (heating) s'allume ;
- Positionner les tubes dans le bloc chauffant préalablement préchauffé, régler le minuteur sur 120 min.

VII. Relation entre la densité optique et l'extrait sec :

La détermination de la matière sèche cellulaire est la méthode la plus rigoureuse. La technique utilisée consiste en :

- 200 ml de culture bactérienne sont centrifugés puis lavés avec de l'eau distillée 3 fois ;
- Le culot est remis en suspension dans 60 ml d'eau distillée ;
- La DO est lue à 600 nm d'un spectrophotomètre ;
- 50 ml de cette suspension est séchée à 105°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant
- $(m - m_0)$, et on a : $C_o = (m - m_0) / 50 \text{ ml}$;
- Le reste (10 ml) est utilisé pour la préparation des dilutions, la prise de D.O est effectuée à 600 nm ;
- La courbe des DO en fonction des concentrations est établie.

الملخص:

الهدف من هذه الدراسة هي دراسة جدوى لعملية نزع النترات. لذلك تم دراسة عملية جمع بين مفاعل الالكترودياليز و المفاعل البيولوجي المحتوي على الكتلة الحيوية المثبتة. قمنا في مرحلة اولى بدراسة تاثير العوامل الرائيسية (شدة التيار الكهربائي, تركيز ايونات الكبريتات و الكلوريدات) على فعالية الالكترودياليز, ونتج عن ذلك ان الفعالية المثلى لعملية نزع النترات كانت لتيار كهربائي شدته 50 م أ, وتواجد شوارد الكلوريدات مع النترات يبطء هجرة هذه الاخيرة الى مقصورة مركز الالكترودياليز في حين لم يلاحظ اي تاثير لشوارد الكبريتات على هجرة النترات. من جانب اخر تطرقنا الى دراسة نزع النترات بيولوجيا من مقصورة مركز الالكترودياليز عن طريق اجراء مفاعل بيولوجي(بيوفيلم) باستخدام النفايات البلاستيكية مدعمة بالبكتيريا. وأظهر أداء هذا المفاعل قدرة البكتيريا على إزالة 600 ملغ / ل من النترات مع السرعة الأمثل 1م/سا. المياه الناتجة عن مقصورة مخفف الالكترودياليز بالنسبة لشوارد النترات تتوافق مع المعايير الموصى بها من قبل المنظمة العالمية للصحة ونفس هذه النتيجة تحصلنا عليها بالنسبة لمياه الناتجة عن مقصورة المركز الالكترودياليز بعد معالجتها بيولوجيا.

كلمات مفاتيح: النترات, الالكترودياليز, مفاعل بيولوجي, كتلة حيوية متبنة, نزع النترات بيولوجيا, النفايات البلاستيكية.

Résumé :

Une étude de faisabilité d'un processus de dénitrification est réalisée dans ce présent travail. Il s'agit d'un processus hybride combinant l'électrodialyse à une colonne à biomasse fixée. L'optimisation du procédé d'électrodialyse a été entamée par l'étude de l'influence de l'intensité du courant, la présence des ions chlorures et sulfates. Une efficacité optimale de la dénitrification pour une valeur d'intensité de courant de 50 mA appliquée a été obtenue. La compétition entre les ions chlorure et nitrate induit à une électromigration lente des nitrates. En revanche, la présence d'ions sulfate n'a eu aucune influence sur la dénitrification par l'électrodialyse.

D'autre part, la dénitrification biologique du concentrât d'électrodialyse a été effectuée par la réalisation d'un réacteur à biofilm utilisant un déchet plastique (PEBD) comme support bactérien. Les performances du réacteur ont mis en évidence l'aptitude des bactéries à éliminer 600 mg/L de nitrates avec une vitesse optimale d'1 m/h

La mise en place du processus hybride de dénitrification a été réalisée. En effet, l'eau traitée dans le compartiment diluât est conforme en termes de concentration en nitrates, de plus, les concentrations des différents ions sont inférieurs aux normes recommandés par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS). La solution concentrée après traitement biologique est en accord avec les normes de l'OMS en termes de nitrate et nitrite.

Mots clés : Nitrate, électrodialyse, dénitrification biologique, bioréacteur à biomasse fixée, biofilm, déchet plastique.

Abstract:

A Feasibility study of an innovated denitrification process is achieved in this present work. It consists of a combination of the electro dialysis (ED) and the Column of Immobilized Biomass. In order to perform the electro dialysis process, the influence of various parameters such as: current intensity, chloride, and sulphate concentrations were estimated. Therefore, an optimum efficiency of the denitrification for an applied current intensity value of 50mA was obtained. The competition between the chloride and nitrate ions was encountered using the electro dialysis process inducing a slow electromigration of the nitrates. In contrary, the presence of sulphate ions had no influence on the electro dialysis during the denitrification.

On the other hand, the biological denitrification of brines by Electro dialysis was carried out. A biofilm reactors using waste plastics (LDPE) as the bacterial supports were investigated. The observed performance of the reactors confirmed the capacity of immobilized bacteria to reduced 600 mg/L of nitrate at a flow velocity of 1 m/h.

The successful establishment of the hybrid denitrification process was realised. Indeed, the treated water in dilute compartment was in conformity in terms of nitrates concentration and even more the concentrations of different ions are below the amounts recommended by the World Health Organisation (WHO). The concentrated solution after biological treatment agrees with WHO standards in terms of nitrate and nitrite ions.

Keywords: Nitrate, electro dialysis, biological denitrification, fixed biomass bioreactor, biofilm, plastic waste.



Water denitrification by a hybrid process combining a new bioreactor and conventional electro dialysis

A. Cheikh^a, H. Grib^a, N. Drouiche^{a,b,*}, N. Abdi^a, H. Lounici^a, N. Mameri^c

^a Laboratoire BIOGEP, Ecole Nationale Polytechnique, B.P. 182-16200, El Harrach, Algiers, Algeria

^b Centre de Recherche en Technologie des Semi-Conducteurs pour l'Energétique (CRTSE), 2, Bd Frantz Fanon BP140, Alger-7-merveilles, 16027, Algeria

^c University of Technology of Compiègne, Chemical Engineering Department, B.P. 20.509, 60205 Compiègne Cedex, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 11 April 2012

Received in revised form 9 November 2012

Accepted 10 November 2012

Available online 20 November 2012

Keywords:

Granular Activated Carbon

Electrodialysis

Denitrification

Fixed biomass

Bioreactor

ABSTRACT

A feasibility study of an innovated denitrification process is achieved in this present work. It consists of a combination of the electro dialysis (ED) and the Column of Immobilized Biomass on Granular Activated Carbon – CIBGAC. In order to perform the electro dialysis process, the influence of various parameters such as current intensity, chloride, and sulphate concentrations were estimated. Therefore, an *optimum* efficiency of the denitrification for an applied *current intensity* value of 50 mA was obtained. The competition between the chloride and nitrate ions was encountered using the electro dialysis process inducing a slow electromigration of the nitrates. In contrary, the presence of sulphate ions had no influence on the electro dialysis during the denitrification. On the other hand, the biological denitrification of brines by electro dialysis was carried out. A clear decrease of pH was observed from 7.5 to 6.2 and the monitoring of the nitrate and nitrite ions through the bio-compartment affirmed the efficiency of this process. The successful establishment of the hybrid denitrification process was realized. Indeed, the treated water in dilute compartment was in conformity in terms of nitrates concentration and even more the concentrations of different ions are below the amounts recommended by the World Health Organization (WHO). TOHOH he brine solution after biological treatment agrees with WHO standards in terms of nitrate and nitrite ions.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The high concentration of nitrates in drinking waters is mainly due to intensive use of nitrogen fertilizers in agriculture and the increase in domestic waste [1]. Excessive concentrations of nitrate in water can be hazardous to human health, especially for infants and pregnant women such as the asphyxiation in infants (methemoglobinemia) and risk of birth defects. *Several conventional nitrate removal methods* such as ion exchange, electro dialysis, membrane and biological processes were used. Electro dialysis (ED) is one of the most commonly used technique for the removal of specific ions such as nitrates even at high levels, however they produce large amounts of brines which are extremely concentrated not only in nitrate, but also in the various ions present in water (sulphate,

hydrogen carbonate, chloride) and, it achieves only a transfer of the pollution in the sewers [1,2].

A biological denitrification is known as a further method used to decontaminate wastewater where microorganisms convert nitrate into nitrogen gas under anoxic conditions. This technique seems to have clear advantages in the feasibility and economics aspects. Nevertheless, every process *has* its own set of advantages and *disadvantages* namely the changes in treated water characteristics (temperature, turbidity, composition etc.) and through *bacterial contamination* risk also [3,4].

The main purpose of this work is to propose a new hybrid denitrification process combining the electro dialysis (ED) and Column of Immobilized Biomass on Granular Activated Carbon (CIBGAC) bioreactor. The electro dialysis (ED) ensures the separation of nitrate ions and the production of suitable drinking water and the quality of the drinking water is not affected by the biological process or by bacterial contaminants, even when the (CIBGAC) bioreactor treats the nitrate concentrate provided by ED treatment, and gives a complete elimination of nitrate (Fig. 1a).

The optimization of each technique composing the hybrid process allows the improvement of its performance. The experimental

* Corresponding author at: Centre de Recherche en Technologie des Semi-Conducteurs pour l'Energétique (CRTSE), Department of Environmental Engineering, 2, Bd Frantz Fanon BP140, Alger-7-merveilles, Alger 16000, Algeria. Tel.: +213 21 279880x192; fax: +213 21 279555.

E-mail address: nadjibdrouiche@yahoo.fr (N. Drouiche).

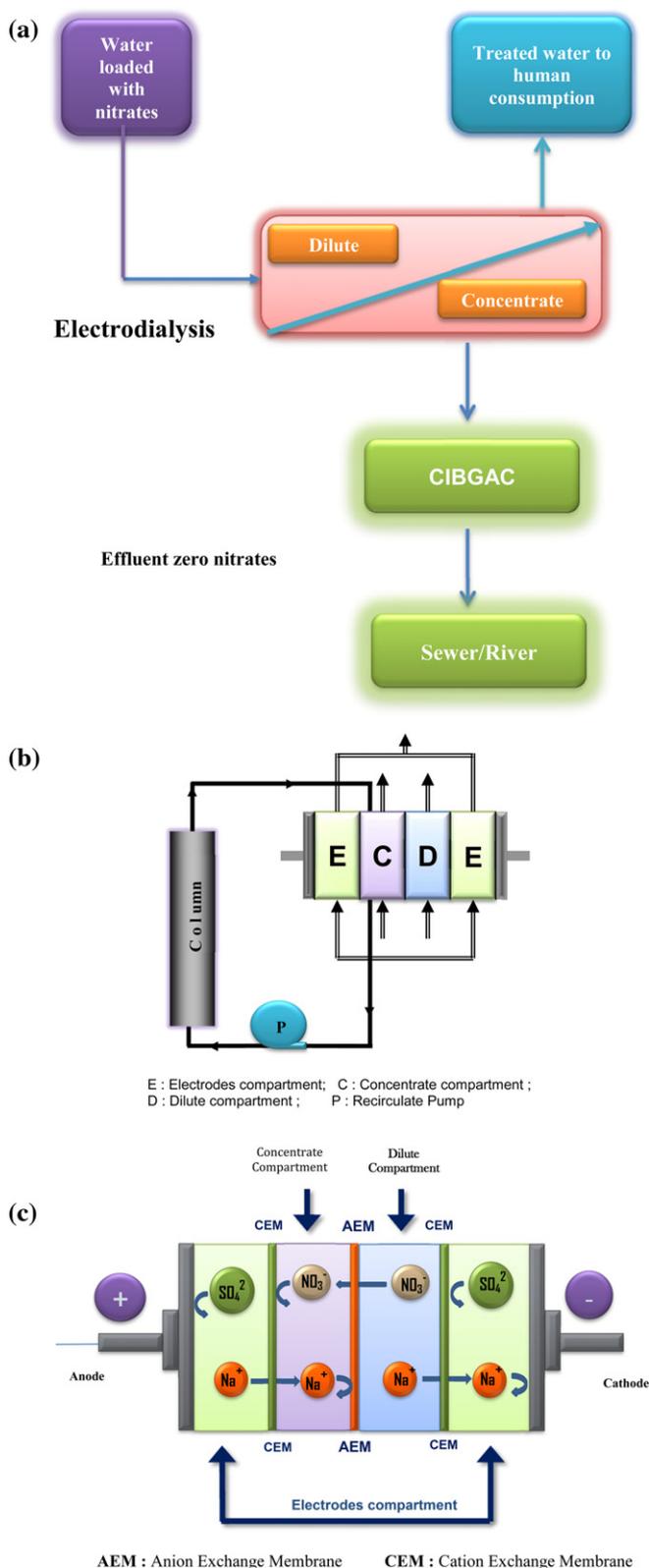


Fig. 1. Schematic representation of the experimental set up of denitrification process: electro dialysis (ED) and Column of immobilized biomass on granular activated carbon (CIBGAC).

Table 1
Operating conditions of the tests.

Compartment	Solution	Concentration (M)	Volume (L)
Concentrate	KH_2PO_4	0.1	1
Dilute	KNO_3	0.02	1.5
Electrodes	Na_2SO_4	0.1	1.5

parameters studied in electro dialysis are the current density, the chloride and sulfate concentrations. However, the parameters of the biocompartment on Granular Activated Carbon (GAC) as support are: the velocity, the initial concentration and the height of the column bed.

2. Materials and methods

A schematic representation of the experimental set up of denitrification process is shown in Fig. 1.

2.1. Electrodialysis process (ED)

Electrodialysis experiments were performed with Corning P1 pilot. The P1 stack consisted of 10 unit cells involving 19 selenion-AMV and 20 CMV membranes as anion and cation-exchange membrane, respectively. These membranes were manufactured by Asahi Glass (Chiyoda-Ku, Tokyo). The effective area of each membrane is 69 cm^2 . The solution circulation is carried out continuously by peristaltic pumps *Seibec 38600 model* with a flow capacity of 50 L/h.

Denitrification tests by electro dialysis process are performed at ambient temperature. The electric field is applied using current generator (*Fontaine M15 model-France*), samples of 10 mL of each dilute and concentrate compartments were used to follow the change of nitrate concentration. Table 1 shows the operating conditions of the tests.

The faradic yield is calculated by Eq. (1)

$$R_F = \frac{C_i \cdot V_i - C_f \cdot V_f \cdot F}{I \cdot T \cdot n} \times 100 \quad (1)$$

where

- C_i, C_f : initial and final concentrations in mol L^{-1}
- V_i, V_f : volume of initial and final solutions in L^{-1}
- F : the faradic number = 96,500 Coulombs
- Δt : variation of time in seconds
- n : number of cells
- I : current in amperes.

2.2. Column of Immobilized Biomass on Granular Activated Carbon (CIBGAC)

Through a PVC/Plexiglas column (80 cm in height and 1.5 cm in diameter), a biomass has been fixed on the Granular Activated Carbon (GAC) as support with bed height up to 75 cm and porosity of 27%. In order to fix this biomass onto GAC, denitrifying sludge has been previously and successfully selected in batch mode and further developed in continuous reactor. Table 2 shows the characteristics of nutrient added. The detection is achieved by

Table 2
Characteristics of nutrient added.

KNO_3	0.163 mg/L
KH_2PO_4	2.25 mg/L
Lactose	0.5 mg/L
Volume seeded	100 mL
Inflow rate	0.84 L/h

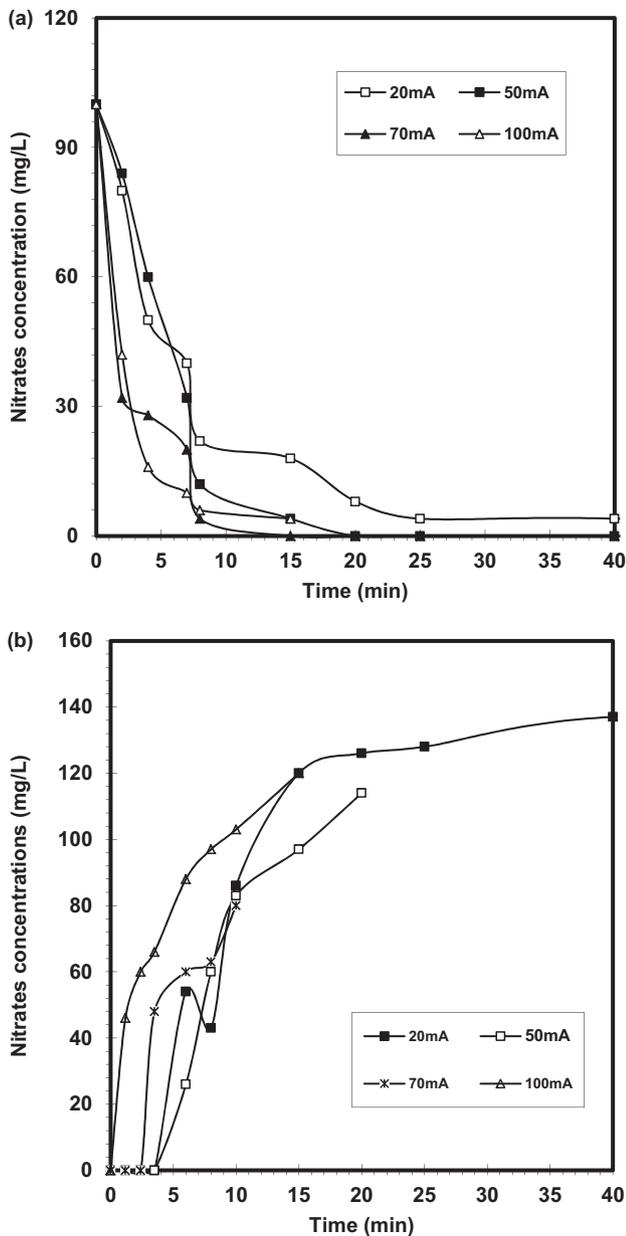


Fig. 2. Change of nitrate concentration. (a) In dilute compartment and (b) in concentrate compartment.

discontinuous selection to enrich denitrifying microorganisms in sludge. A closed circuit via peristaltic pump (*Watson Marlow 210 model*) ensures a continuous flow from feed tank to the column during 1 day. Then, the Immobilized Biomass on Granular Activated Carbon in the column was continuously washed with distilled water.

2.3. Analysis methods

The concentration of nitrates was measured by colorimetric method (method with a sulfophenic reagent at $\lambda = 440$ nm). The concentration of nitrites was determined at $\lambda = 737$ nm (method with diazotized reagent, *AFNOR NFT 90013*). The concentration of sulphates was estimated by turbidimetric method. The concentration of chlorides was measured by Mohr method (*AFNOR NF T 90014*) [5].

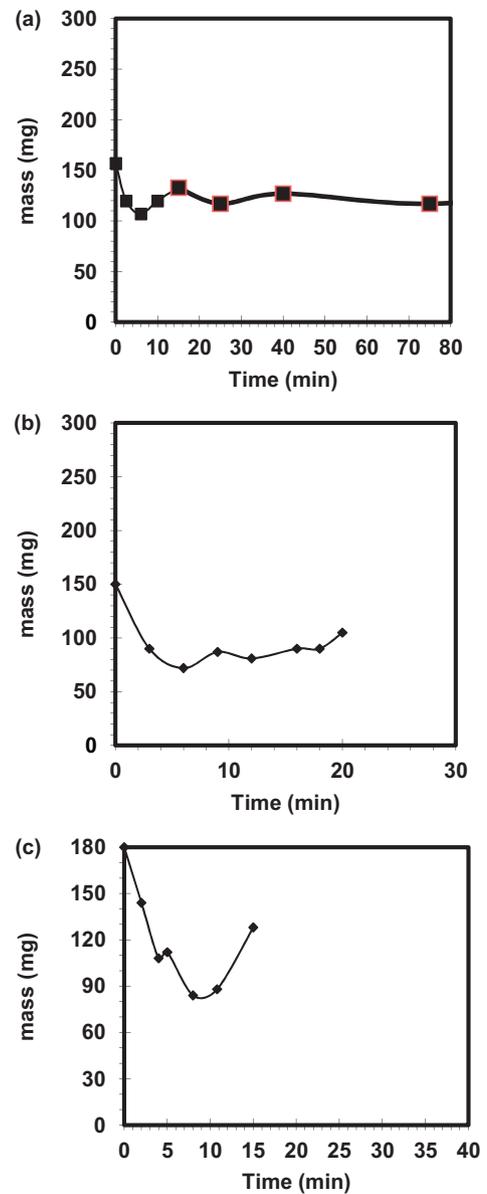


Fig. 3. Change of the mass balance at various current intensities. (a) $I = 20$ mA, (b) $I = 50$ mA, (c) $I = 100$ mA.

3. Results and discussion

3.1. Influence of operating parameters on the performance of electro dialysis during denitrification

To perform the denitrification through electro dialysis, the influence of various experimental parameters such as: current intensity, chlorides and sulphates concentrations, was examined. Denitrification mechanism is given in Fig. 1c.

3.2. Current intensity

The limiting current intensity was determined by polarization curve (not shown) using a synthetic solution containing 100 mg/L of nitrate. The results have shown that the limiting current was 200 mA. The influence of current intensity on denitrification was studied by varying this parameter from 20 to 100 mA that corresponds to current densities ranging from 2.3 to 14.5 A/m². The change of nitrate concentrations during the experiment in

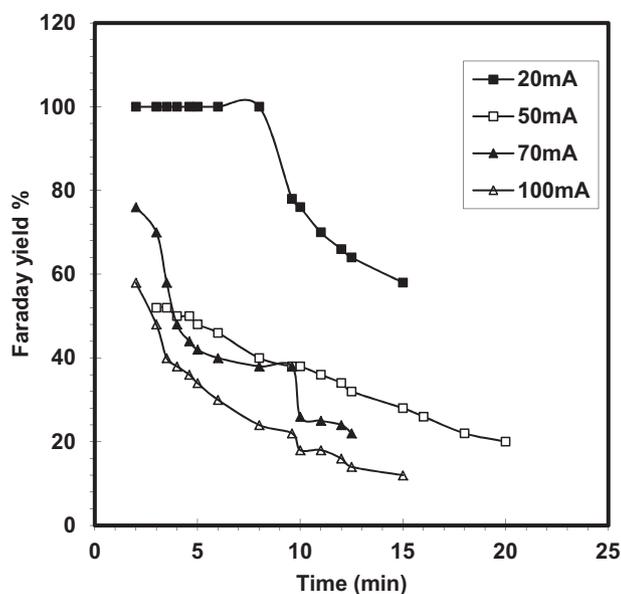


Fig. 4. Change of Faraday yield during the denitrification in dilute compartment.

different compartments is presented in Fig. 2a and b. The kinetic is rapid and similar for both higher current densities, namely 14.5 and 10.1 A/m². Indeed, the denitrification is achieved after the experimental time of about 15 min. On the other side, for the two other current densities, there is a slope shift and the denitrification is relatively slower than those obtained with higher densities. The necessary experimental times ranging from 20 to 30 min were obtained for total denitrification. The nitrates ions pass through the anion exchange membrane to the inside the concentrate compartment (Fig. 2b). The calculation of the mass balance at various current intensities is presented in Fig. 3. For the first few minutes of the experiment, a small mass loss is observed due to the adsorption of nitrate onto the membrane.

The determination of the Faraday yields obtained for each applied current density allowed to determine the electric energy consumption by electro dialysis in each case. Fig. 4 shows the Faraday yields in the dilute compartment during the experiment. For high current intensities, Faraday yields are relatively low (about 20–40%). In contrary, for lower current intensities, Faraday yields increased significantly at a range between 40 and 90%. The current intensity of 50 mA seemed to be the most suitable value giving an interesting kinetic and Faraday yield.

Indeed, increasing the current intensity expresses low Faraday yields (70 and 100 mA) and faster denitrification. Reducing this parameter will induce high Faraday yields resulting in rising the denitrification experimental time (time: 35 min at $I = 20$ mA).

3.3. Influence of the chlorides and sulphate ions

North African water is commonly mineralized and contains high salt concentrations. The influence of the sulphates and chlorides concentrations on the electro dialysis performance has been studied.

The influence of the chloride concentration was determined by supplying the dilute compartment with a mixture of salt (NaCl and KNO₃) where the concentration of nitrate was fixed at 100 mg/L and the concentration of chloride varied from 200 to 400 mg/L. The results presented in Fig. 5a and b, show that the competition between chlorides and nitrates ions during their electromigration to the concentrate compartment was encountered. However, this phenomenon led to slowdown the time of denitrification. Similar

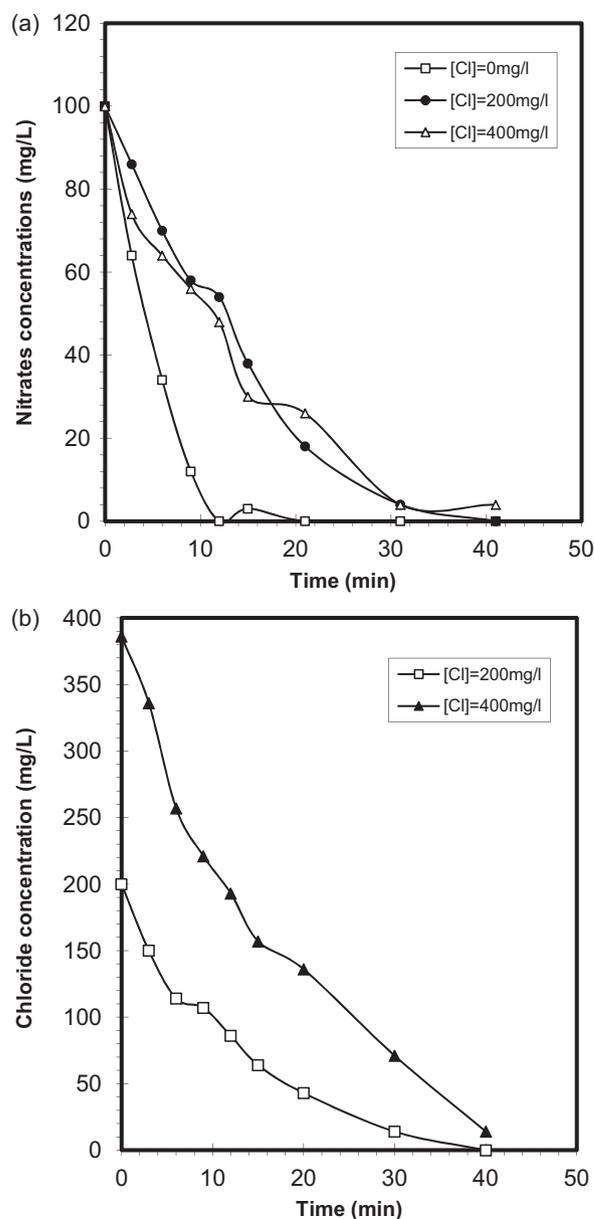


Fig. 5. Change of nitrate and chloride concentration in dilute compartment. (a) Nitrate at various chloride concentration and (b) chloride alone.

results were observed by others searchers Ben Sik Ali et al. [6], during the denitrification in brackish water through electro dialysis. This result could be explained by the ionic mobility of the two ions which could be so close. It can also be seen that in the absence of chlorides, the nitrates faraday yields are greater, therefore it confirms competition between the chlorides and nitrates ions during electromigration to the concentrate compartment (Fig. 6a and b).

The influence of the sulphate concentrations ranging from 200 to 400 mg/L on the denitrification process is not significant (results not shown). This result may be explained by the high affinity of the Selenion AMV membranes which are more selective toward nitrate than sulphate ions; this was confirmed by the mass balance for each anion (nitrate and sulphate ions) in the concentrate compartment. This result was previously obtained by El midaoui et al. [7], during the nitrate removal operation from ground water by electro dialysis. It may be explained that the ion transport of divalent ions is lower than that of monovalent ones.

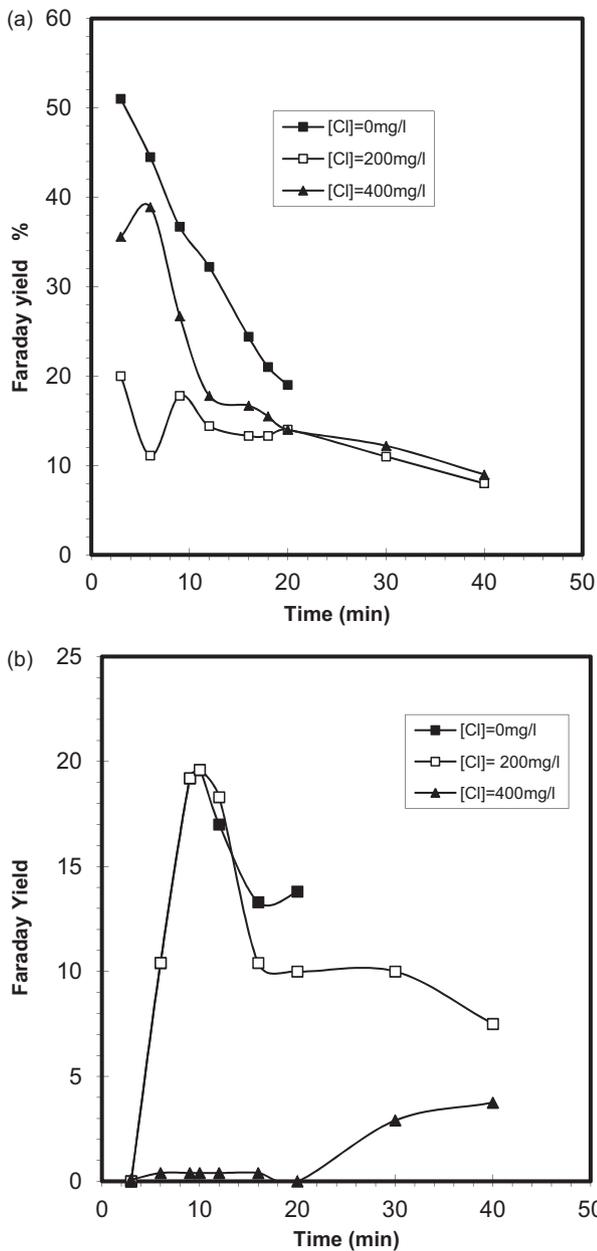


Fig. 6. Change of Faraday yield during the denitrification at various chloride concentration. (a) In dilute compartment and (b) in concentrate compartment.

3.4. The performance of Column of Immobilized Biomass on Granular Activated Carbon (CIBGAC)

The concentrated nitrate solution $C = 100 \text{ mg/L}$ was percolated through the CIBGAC at a rate ranging from 0.3 to 0.8 m/h using a peristaltic pump. The results obtained are shown in Fig. 7. The significant variation in experimental parameters induced pH reduction from 7.5 to 6.2. However this change keeps the pH in the optimal range of the denitrification [8]. Therefore, the pH adjustments are not necessary during the experiments. To determine the evolution of nitrate through the CIBGAC, an example is shown in Fig. 7a and gives a profile which exponentially decreases to reach low concentrations after the first 10 cm. Thus, this decrease is more important than the velocity value (already considered as low value). However, for high velocities values (0.8 m/h) the total nitrate reduction is achieved only at the CIBGAC outlet. All used velocities allowed lower nitrate levels than WHO standard (50 mg/L) [9].

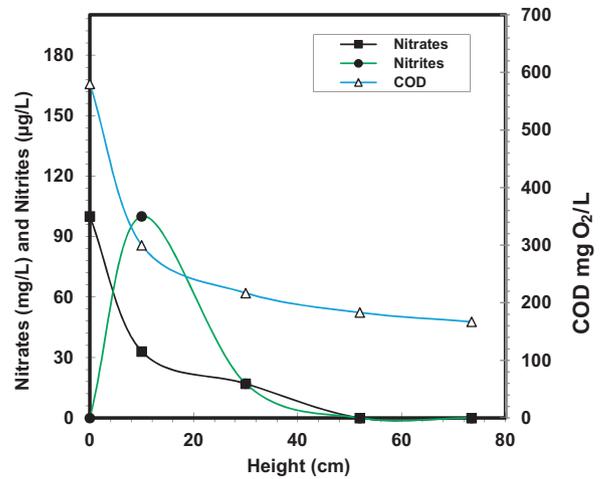


Fig. 7. Evolution of the content of various parameters on the bioreactor for $V = 0.45 \text{ m/h}$.

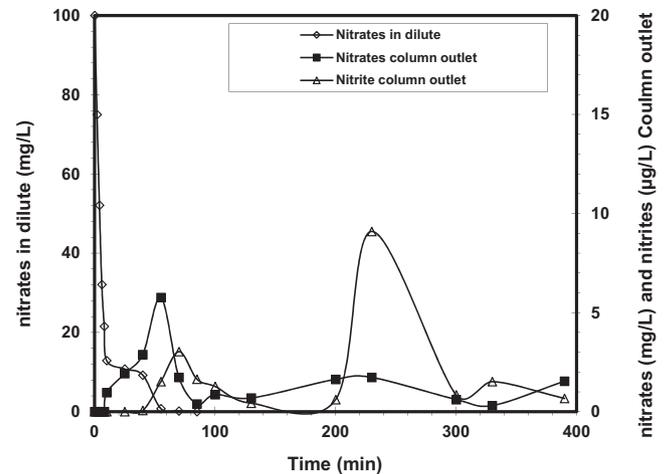


Fig. 8. Evolution of nitrates and nitrites concentration.

However, it could be seen that the denitrification efficiency of the CIBGAC decreased with increasing solution velocity in the column. This result is in agreement with those obtained by Pekdemir et al. [10].

The concentration profile of nitrite appears along the CIBGAC and its content increases to a peak. This is due to the predominance of denitrifying bacteria that reduces nitrate to nitrite ions, in the first 10 cm, consequently their concentrations decreased after this time, reaching values close to zero at CIBGAC outlet. This could be explained by the fact that nitrite was detected as the intermediate step of reduction of nitrate to nitrogen gas according to the following relation:



The concentration of nitrite at the bioreactor outlet depends on the height and the applied velocity. The high velocity is known as the greatest concentration of nitrite at the bioreactor output. This may be essential to the contact time whereas it could not be sufficient enough to remove all nitrite. At low velocity (0.3 and 0.45 m/h), the obtained nitrite values are equal to or less than the World Health Organization standard. However, for velocity values greater or equal to 0.6 m/h, higher values of nitrite concentrations than those of WHO standards are obtained.

3.5. The combination of ED and CIBGAC

The brine providing from ED was treated simultaneously by the CIBGAC. The process worked with a total denitrifying of the nitrates ions in dilute compartment. The flux of nitrate ions after the electromigration across the anion exchange membrane (AMV) to the concentrate compartment was satisfactorily treated through the column of Immobilized Biomass on Granular Activated Carbon. The results showed that the denitrification successfully occurred either in the diluted compartment by ED or in the concentrates solution by CIBGAC. Indeed, it should be noted that at the output column, the final nitrate concentrations were below the required WHO standard (50 mg/L). Nitrites ions were also eliminated and their concentrations did not exceed 10 µg/L. These values are in agreement with WHO standards which recommend 100 µg/L. Fig. 8 confirms the efficiency of the new hybrid denitrification process.

4. Conclusion

This study demonstrates the feasibility of the hybrid process combining a continuous separation of nitrate from polluted waters by electro dialysis (ED) and their simultaneous biodegradation in a Column of Immobilized Biomass on Granular Activated Carbon (CIBGAC).

A current of 50 mA was retained for the denitrification by electro dialysis technique. A competition between the chlorides and nitrates ions during electromigration to the concentrate was observed. Then significant reduction of the denitrification kinetic was estimated. On the other hand, sulphate ions did not perturb the denitrification operation.

Biological denitrification by the bioreactor (CIBGAC) has induced pH reduction from 7.5 to 6.2. However this reduction keeps the pH in the optimal range of the denitrification. The observation of the nitrate concentration change in the bioreactor shows an exponentially decays reaching low concentrations in the first 10 cm. This result induces that the nitrite profile increases to a peak

and follows-on the decreased nitrite concentration to values close to zero at the bioreactor (CIBGAC) outlet.

This innovated process allows not only nitrates removal of the dilute and brine denitrification but also to stabilize the nitrate concentrations below WHO standard and to reduce nitrate to nitrogen gas as well.

The electromigration flow of nitrate from dilute compartment (ED) to the bioreactor (CIBGAC) was immediately transformed into nitrogen gas N₂. This hybrid process would be the *most and no limiting advantageous* to nitrate removal unlike the conventional process using a free cultures bioreactor.

References

- [1] Y. Liu, S. Mei, D. Iya-Sou, S. Cavadias, S. Ognier, Carbamazepine removal from water by dielectric barrier discharge: comparison of ex situ and in situ discharge on water, *Chemical Engineering and Processing* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.cep.2012.03.003>.
- [2] M. Sadrzadeha, T. Mohammadia, J. Ivakpourb, N. Kasiri, Neural network modeling of Pb²⁺ removal from wastewater using electro dialysis, *Chemical Engineering and Processing* 48 (2009) 1371–1381.
- [3] K. Kimura, N. Masahiko, W. Yoshimasa, Nitrate removal by a combination of elemental sulfur-based denitrification and membrane filtration, *Water Research* 36 (2002) 1758–1766.
- [4] S. Islam, M.T. Suidan, Electrolytic denitrification: long term performance and effect of current intensity, *Water Research* 32 (1998) 528–536.
- [5] AFNOR (French Association of Standardization), Collection of the French Standards on the Methods of Analysis of Water, first ed., Lavoisier TCE & DOC, Paris, 1979.
- [6] M. Ben Sik Ali, A. Mnif, B. Hamrouni, M. Dhahbi, Denitrification of brackish water by electro dialysis: effect of process parameters and water characteristics, *Surface Engineering and Applied Electrochemistry* 46 (2010) 253–262.
- [7] A. El Midaoui, F. Elhannouni, M. Taky, L. Chay, M.A. Menkouchi Sahli, L. Echihabi, M. Hafsi, Optimization of nitrate removal operation from ground water by electro dialysis, *Separation and Purification Technology* 29 (2002) 235–244.
- [8] Z. Salem, H. Lebig, W.K. Cherafa, K. Allia, Valorisation of olive pits using biological denitrification, *Desalination* 204 (2007) 72–78.
- [9] World Health Organization, Guidelines for Drinking-Water Quality, second addendum to third ed., World Health Organization, Geneva, 2008.
- [10] T. Pekdemir, E.K. Kaçmazoglu, B. Keskinler, Ö.F. Algur, Drinking water denitrification in a fixed bed packed biofilm reactor, *Journal of Environmental Science and Engineering* 22 (1998) 39–45.



Denitrification of water in packed beds using bacterial biomass immobilized on waste plastics as supports

A. Cheikh^a, A. Yala^a, N. Drouiche^{a,b,*}, N. Abdi^a, H. Lounici^a, N. Mameri^c

^a Laboratoire BIOGEP, Ecole Nationale Polytechnique, B.P. 182-16200, El Harrach, Algiers, Algeria

^b Centre de Recherche en Technologie des Semi-Conducteurs pour l'Energétique (CRTSE), 2, Bd Frantz Fanon BP140, Alger – 7 Merveilles, 16027, Algeria

^c University of Technology of Compiègne, Chemical Engineering Department B.P. 20.509, 60205 Compiègne Cedex, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 10 August 2012

Received in revised form 1 December 2012

Accepted 3 December 2012

Available online 27 December 2012

Keywords:

Denitrification

Nitrate

Nitrite

Biofilm

Immobilized biomass

Plastic wastes supports

ABSTRACT

The present work investigates a novel water denitrification technique based on immobilized bacterial biomass using various plastic wastes as supports PVC (polyvinyl chloride), HDPE (high density polyethylene) and LDPE (low density polyethylene) in packed columns. The efficiency of these supports is compared with a conventional support, granular activated carbon (GAC). The results obtained for denitrification under various operating conditions showed that working at a high fluid velocity does not affect the bacterial behavior adversely. The denitrifying bacteria were able to treat water at an inlet nitrate concentration of 600 mg L⁻¹ with removal efficiency near to 100%. The column packed with porous GAC as a support quickly became plugged in contrast to the nonporous LDPE which possesses a rough surface for film support and delivers almost the same performance as GAC. It was found that sulfate ions promote denitrification, but chloride inhibits it. The effectiveness of the packed-bed process is not diminished significantly by the coexistence of both types of ion in the feed stream.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Over recent decades, a continuous increase of nitrate concentrations (NO₃⁻) in groundwater reserves and surface water has been observed. Nitrate pollution is a widespread problem in many countries, which can cause health hazards to both humans and animals (Khalil and Richards, 2011; Jahangir et al., 2012; Morari et al., 2012). This pollution originates mainly from industrial activity and from intensive agricultural application of nitrogenous fertilizers and uncontrolled land discharge of wastewater. Indeed, about 30–70% of nitrogen fertilizers used in agriculture is lost to the environment and found in nitrate form in surface waters and groundwater used for drinking water (Yapo et al., 2009; Adav et al., 2010; Nancharaiyah and Venugopalan, 2011; Köster et al., 2011).

At high concentrations, nitrate consumption causes methemoglobinemia in infants (blue baby). Ammonia (NH₃) may be oxidized to nitrate (NO₃⁻) by bacteria such as nitrosamines and can be subsequently reduced to nitrites (NO₂⁻) by other bacteria such as nitrobacter. The nitrites are more dangerous than the nitrates. The ingestion of nitrites can cause cancers in stomach or intestine

through nitrosamines, which are known carcinogenic compounds (Ratel, 2000).

The use of immobilized microorganisms for denitrification has led to a wide range of practical biological processes (Moreno-Castilla et al., 2003). Such operations present several advantages compared to processes involving suspended biomass, such as reducing bioreactor size and allowing increased flow rates. Various materials have been used as supports to fix microorganisms (e.g., sand, gravel, coal, plastic, etc.), which are characterized by their high adsorption capacity and their irregular shape that acts as a shelter for bacteria (Wojnowska-Baryła and Zielińska, 2002).

This work focuses on nitrate removal from an electrolysate concentrate by biological denitrification using a biomass fixed grown on several plastic supports.

The comparison of performance of these plastic supports to that of granular activated carbon one was carried out. Nitrate and nitrite removal, in fixed bed reactors, was measured at several feed concentrations and flow velocities. In addition, the influence of chloride and sulfate ions on the denitrification kinetics was also studied.

2. Materials and methods

2.1. Microorganisms and culture medium

The microorganisms used in this study were obtained from an activated sludge present in a local municipal treatment plant.

* Corresponding author at: Centre de Recherche en Technologie des Semi-Conducteurs pour l'Energétique (CRTSE), Department of Environmental Engineering, 2, Bd Frantz Fanon BP140, Alger – 7 Merveilles, Alger 16000, Algeria. Tel.: +213 21 279880x192; fax: +213 21 279555.

E-mail address: nadjibdrouiche@yahoo.fr (N. Drouiche).

The carbon and nitrate sources in the reactor feed stream were methanol and potassium nitrate, respectively.

2.2. Reactors

Four PVC columns with smooth surfaces (interior and exterior), with a height of 100 cm, were each filled with support particles. The internal diameter of each column was 1.5 cm, and the reactor volume is 706.5 mL and the columns were equipped with 10 sampling points at 10 cm intervals including the outlet.

The four columns fitted with different supports were connected in parallel and fed by a peristaltic pump (Master Flex) from a feed tank containing the water to be treated. The influent flow was upward through the columns with an equal flow to each column. The reactor was inoculated by passing, under closed recycle and at low speed, a solution containing the sludge sample representing 2% of the reactor volume. Once films of biomass were initiated on the supports, the reactors were operated with the feed solution in order to allow full development of the biofilm on the support surfaces. Apilanez et al. (1998), studying activated carbon, sand, glass particles and diatomaceous earth, obtained more rapid colonization of support materials composed of carbon than inorganics but not being able to explain it.

Aqueous samples were taken at the 10 sample ports and analyzed for nitrate, nitrite, and pH.

2.3. Supports

The recycled waste plastics used for this study as supports were PVC (polyvinyl chloride), HDPE (high density polyethylene) and LDPE (low density polyethylene). The size and shape of these packing materials were irregular. The plastics are composed essentially of carbon and hydrogen (LDPE and HDPE) with some chloride in the PVC. This chemical composition of the different supports indicates that they do not contain chemicals that could be released and interfere with the biological process or contaminate the treated water.

2.4. Residence-time distribution

The influence of biofilm on the reactor hydrodynamics may be observed by determining the residence-time distribution (RTD) for columns equipped with the clean support and after the support is colonized by biofilm.

The residence-time distribution was determined by injecting into the feed stream a 5 mL volume of NaCl solution (100 g L^{-1}) and measuring continuously the conductivity at the reactor outlet using a conductivity meter (HANNA Instrument, Model EC124).

2.5. Analysis methods

Analytical grade chemicals were used without additional purification. All samples were filtered through a $0.45 \mu\text{m}$ membrane filter before analysis and were tested within 1 h of collecting. A Shimadzu 1100 UV/vis spectrophotometer was used for all measurements of nitrate with the cadmium reduction method (APHA, 1998).

Nitrite was analyzed using a colorimetric method according to Standard Methods 4500- NO_2^- (APHA, 1998). Scanning electron microscope (SEM) images of the different supports were taken before and after the colonization. The specific surface area and porosity were evaluated by N_2 physisorption and calculated according to the BET method with a Coulter-SA3100 device.

3. Results and discussion

3.1. Surface support

The scanning electronic micrographs of the surfaces of the four blank supports indicate differences among the polymer supports especially the rough appearance of the LDPE support in contrast to the other two plastic supports, which have smooth surfaces. Also, the absence of pores in the three plastic supports was demonstrated as opposed to the GAC (Fig. 1(a)).

Roughness is indicated as the most important support parameter for favoring biomass colonization (Gjaltema et al., 1997).

The PVC-support surface exhibits very sharp edges that cause abrasion and make bacterial colonization unfavorable. From the SEM images of the colonized packings, the SEM images allow us to confirm that the biomass was fixed on all four supports. The biofilm formed on the surfaces of the plastic supports but also in depth with the GAC support (Fig. 1(b)).

The BET analysis confirmed the absence of pores in the plastic supports (pore volume = $0 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$); the specific surface areas of the PVC, HDPE and LDPE were: 30, 57 and $41 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, respectively. On the other hand, the GAC remained highly porous (pore volume = $0.27 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$) and had the largest specific surface area ($1097 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$).

The solid surface development raises the bacterial binding capacity of the support. Indeed, the colonization process of the reactor filled with the GAC took less time than the three other bioreactors (48 h).

3.2. Influence of the velocity rate on the denitrification

The steady-state nitrate and nitrite profiles presented in Fig. 2 revealed total removal of nitrate and nitrite for all the supports. The most complete denitrification was obtained with low fluid velocity, ranging from 0.3 to 0.45 m h^{-1} , where the outlet nitrite concentrations were close to zero. Indeed, a longer residence-time promotes the reactor performance. The hydrodynamic study of the four reactors highlighted the influence of residence-time on the biofilm formation. The RTD results obtained for the four blank supports are shown in Fig. 3(a). They showed that the peak residence-time and dispersion of the RTD is significantly lower with the PVC support than for the GAC or the HDPE, whereas the LDPE support RTD is slightly broader than the other ones. After colonization, the average residence-time decreases from 30 to 10 min for the GAC support, from 35 to 20 min for the LDPE, from 25 to 15 min for the PVC and from 30 to 15 min for the HDPE (Fig. 3(b)). These decreases indicate that significant portions of the reactor volumes filled with biomass.

The extensive nitrite production in the columns filled with HDPE and GAC was due to excessive biofilm development because of their larger specific surface areas. This large biomass production is related to the low velocity (0.3 m h^{-1}). At low velocity, column plugging can be a problem, especially in the case of GAC, this is due to the intense biofilm growth. Unlike the non-porous plastic supports, the GAC as any porous support allows faster colonization. However, the high biomass retention also causes problems with diffusion of nutrients.

The active part of the biofilm on the packing covers a non-active region of the biomass volume, which tends to lower the specific activity of the biofilm, by as much as 50% in the case of a porous support (Alves et al., 1999). The LDPE has the best affinity for nitrites, probably due to the relatively long contact time in the reactor compared to the other supports; the roughness of its surface and the absence of pores leads to biofilm formation only on the surface.

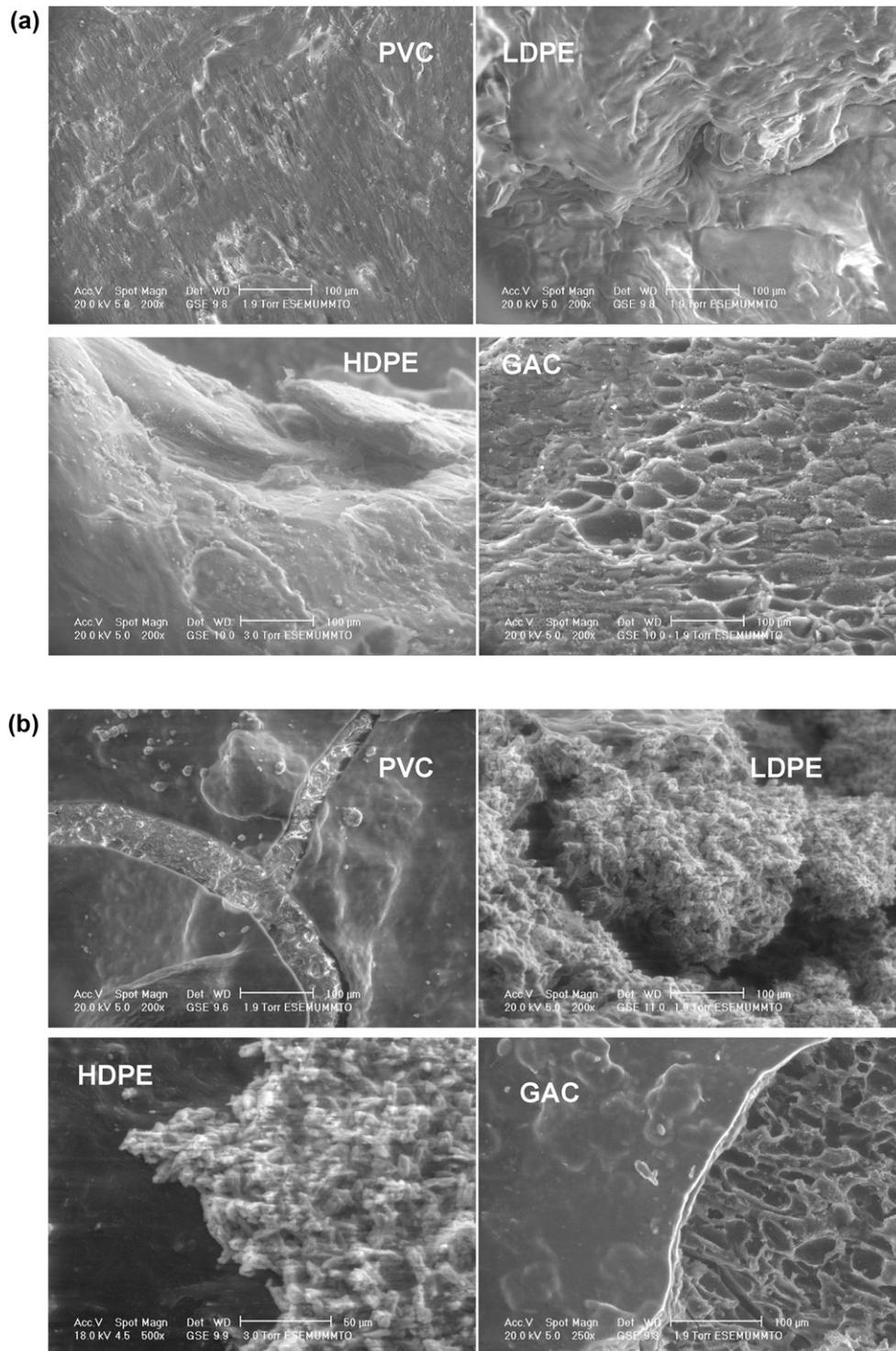


Fig. 1. SEM observation (a) of four blank supports (b) of four colonized supports.

In conclusion, it appears that all four reactors can provide high efficiency over a range of feed rates, and the activity even improves with time. The highest velocity studied was equal to 1 m h^{-1} .

3.3. Influence of the initial nitrate concentrations

The four bioreactors were fed at a velocity of 1 m h^{-1} . The initial nitrate concentration was varied from 200 to 600 mg L^{-1} . Typical results are shown in Fig. 4. The results indicate that the nitrate

decreases exponentially with position (Martin, 1979); it appears from the figure that more than 90% of the nitrate load is eliminated in the first 30 cm. However, more the inlet concentration increases, more of the column is active in converting the nitrate. Indeed, with the initial concentration of 600 mg L^{-1} total nitrate removal requires 60 cm of column (Fig. 4(a)). The nitrite profiles are characterized by a peak concentration that results from conversion of high initial nitrate concentrations (Fig. 4(b)). It is noted, however, that these peak values are still below than those recommended by

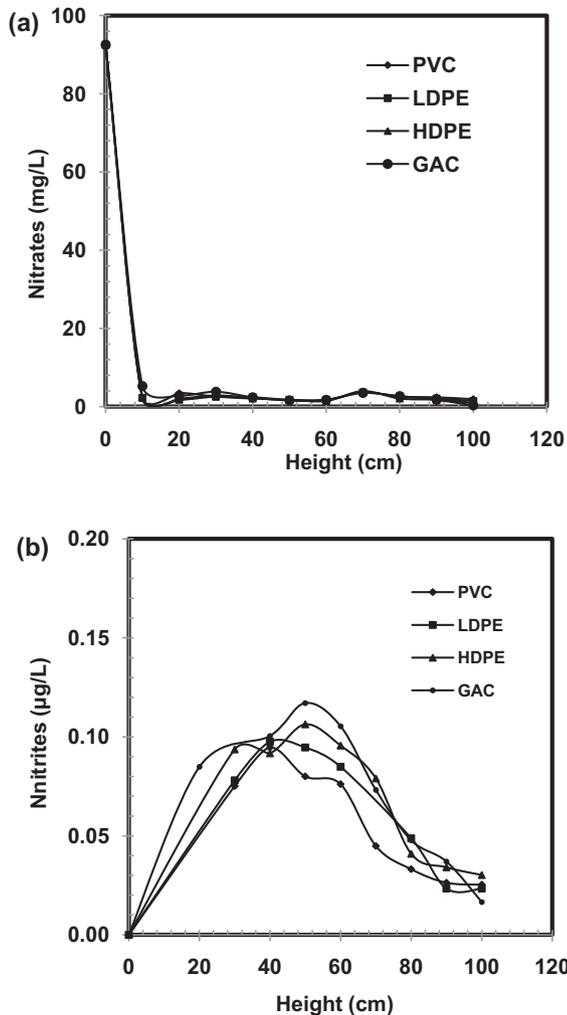


Fig. 2. Variation of the nitrates and nitrites concentration along the column for different supports: (a) nitrates and (b) nitrites. $C_0 = 100 \text{ mg L}^{-1}$; $V = 1 \text{ m h}^{-1}$.

the legislation. The LDPE support exhibited performance close to that of the GAC. Within 24 h of increased nitrate feed concentration, the nitrite and nitrate levels at the outlets of the columns filled by these two supports were under the maximum allowable values. More time was needed for the other two materials (PVC and HDPE) to achieve the required quality in the treated solution, particularly good nitrite destruction.

The pH profile inside the bioreactors was also observed. The results are shown in Fig. 5 where a pH increase was obtained due to the medium alkalinity during the nitrite appearance. During their disappearance, a slight pH decrease is observed near the column outlet. This may be explained by the fact that the heterotrophic nitrate reduction increases the pH (Bougard, 2004). Indeed, denitrification tends to increase the pH and the nitrite reduction decreases it.

However, it should be noticed that all these variations are situated within a pH range of 6–8, which is an optimal range of nitrate reduction (Salem et al., 2007). Similar results were obtained by Wang et al. (2009) who studied nitrate removal in fiber-based bioreactor and had obtained a removal efficiency of 99% for an optimal pH ranged from 7 to 7.5 using methanol as a carbon source.

Usually, the initial pH was 7.3 but it increased in the reactor due to the reaction of methanol provided as a carbon source;

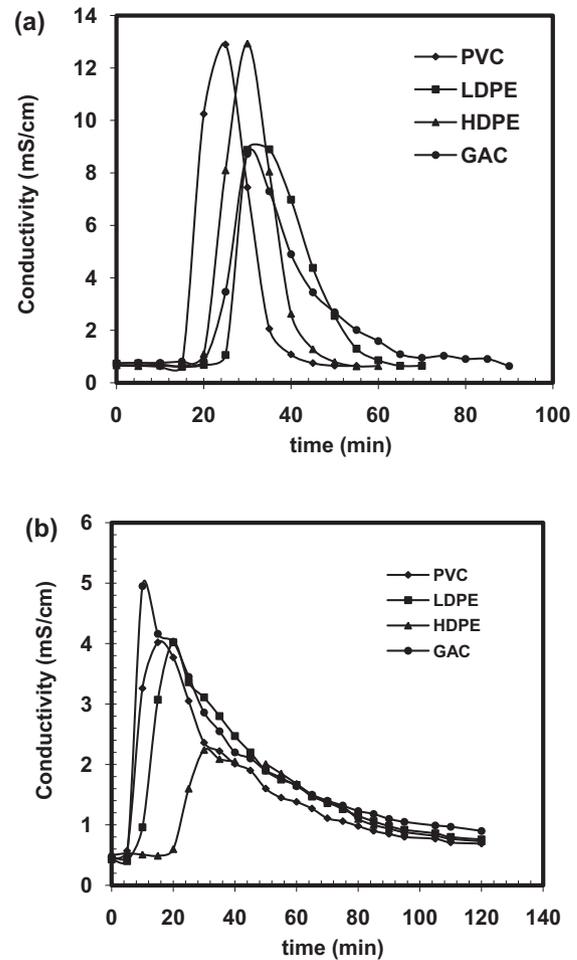
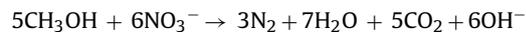


Fig. 3. Determination of the residence-time for different supports: (a) blank supports and (b) colonized supports.

consequently, OH^- ions are produced and thus increases pH (Gerardi, 2002; Bitton, 2005) as the reaction shown below:



3.4. Influence of chloride and sulfate ions

The influence of chloride and sulfate ions on the biological denitrification is presented in Fig. 6. Indeed, the results confirm the observations noted during preliminary batch tests (results not shown). Those tests indicated that chloride does not prevent the biological denitrification, but it slows it down. Sant'anna et al. (1996) obtained similar results with a yield reduction of 6% when the sodium chloride concentration was increased from 0 to 30 g L⁻¹.

Nitrate removal without sulfate is very slow and requires as much as 9 h. On the other hand, the nitrate removal time decreases when the sulfate ion concentration increases. Accordingly, the nitrate removal time is reduced by the presence of sulfate ions. So, it seems that high sulfate concentrations do not affect the denitrification as long as a carbon source is added in appropriate proportions. In the biological reduction processes electrons are transferred from an electron donor (reduced component: organic matter) to an electron acceptor (oxidized element: oxygen, nitrates, sulfates or nitrites). The electron acceptors are used by the bacteria in decreasing order of electropositivity, which means that they

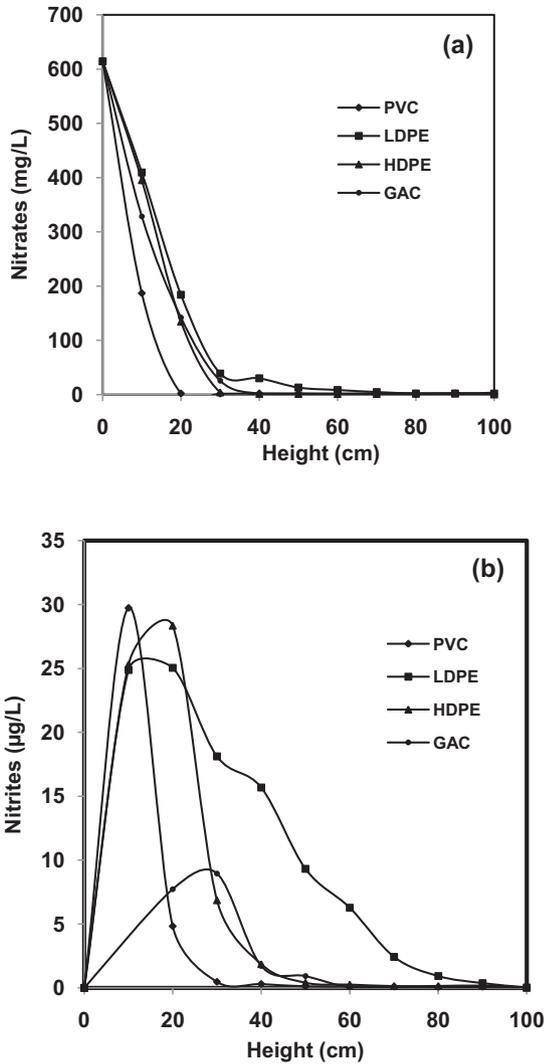


Fig. 4. Denitrification kinetics at various initial nitrates concentrations for different supports: (a) nitrates and (b) nitrites. $V = 1 \text{ m h}^{-1}$; $C_0 = 600 \text{ mg L}^{-1}$.

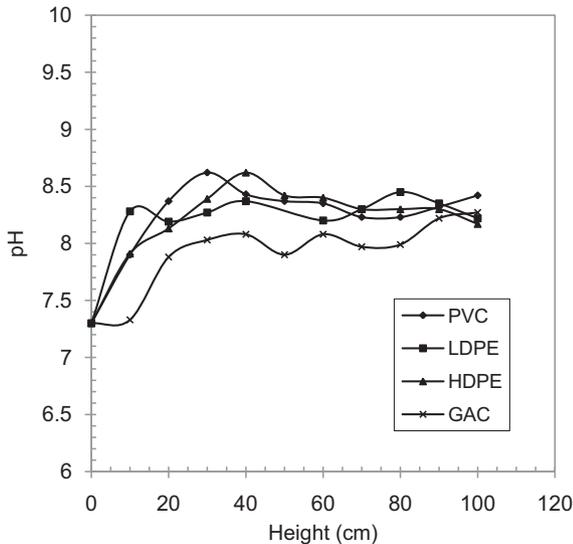


Fig. 5. Evolution of pH along the column for different supports. $V = 1 \text{ m h}^{-1}$; $C_0 = 400 \text{ mg L}^{-1}$.

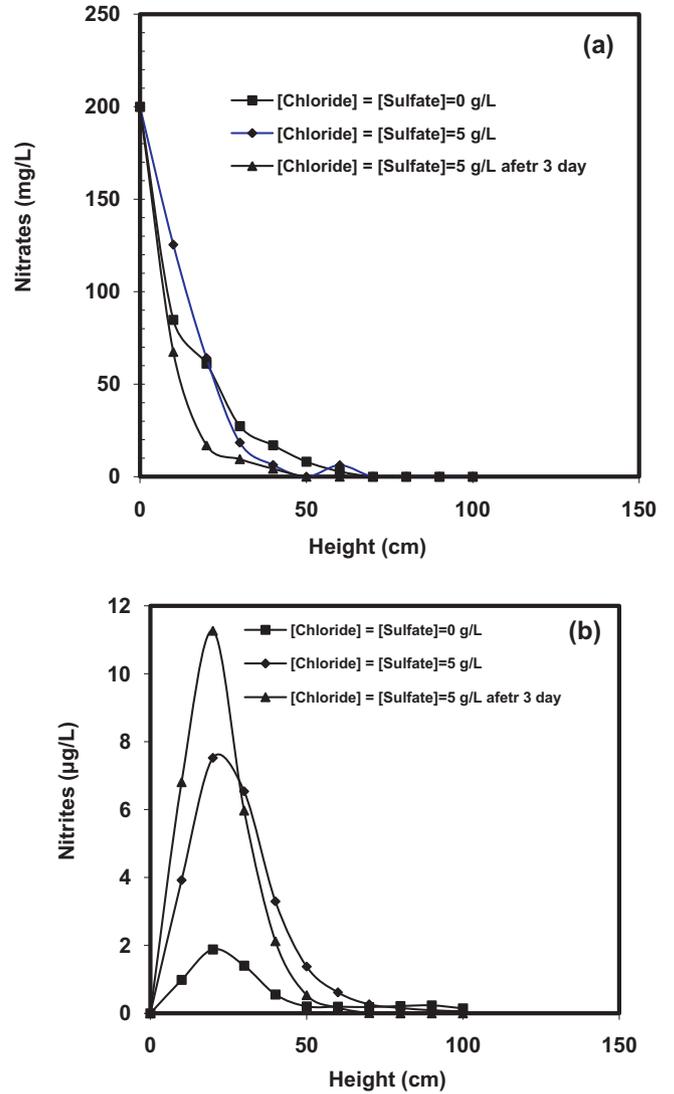


Fig. 6. Variation of the nitrates and nitrites concentration along the column in the presence and absence of chloride and sulfate ions: (a) nitrates and (b) nitrites.

generally use reactants in order of preference as follows: dissolved oxygen, nitrates, nitrites, sulfates, etc. (Balderston et al., 1976).

The use of nitrates or nitrites as electron acceptors generates less energy than the use of oxygen. For this reason, a little denitrification may occur in the presence of oxygen. Similarly, sulfate-reducing bacteria cannot compete with the nitrate-reducing bacteria for the organic matter in anoxic conditions because the use of sulfate produces less energy (USEPA, 1993). These results are important because the North African waters are highly mineralized and therefore can be successfully treated with this bioreactor.

4. Conclusion

In order to treat effectively concentrated nitrate brines produced by electro dialysis, biofilm reactors using waste plastics as the bacterial supports were investigated. The observed performance of the reactors confirmed the capacity of immobilized bacteria to reduce 600 mg L^{-1} of nitrate at a flow velocity of 1 m h^{-1} . Working at a high velocity (1 m h^{-1}) does not affect the bacterial behavior adversely. The porous GAC biofilm support quickly causes the bed to become plugged unlike the PEBD support, which has a rough

surface to support biomass and delivers performance close to that of the GAC.

Finally, the presence of chloride and sulfate ions at high concentrations retards the kinetics of denitrification somewhat. Indeed, the accumulation of nitrite ions is due to the slowing of enzyme activity (nitrite reductase). Nevertheless, complete nitrate and nitrite removal could still be achieved at the column outlet.

References

- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association and Water Environment Federation, 1998. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 20th ed. American Public Health Association, Washington, DC, USA.
- Adav, S.S., Lee, D.J., Lai, J.Y., 2010. Enhanced biological denitrification of high concentration of nitrite with supplementary carbon source. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85, 773–778.
- Alves, M.M., Pereira, M.A., Polanco, F., Novais, J.M., Mota, M., 1999. A new device to select microcarriers for biomass immobilization: application to an anaerobic consortium. *Water Environ. Res.* 71, 209–217.
- Apilanez, I., Gutierrez, A., Diaz, M., 1998. Effect of surface materials on initial biofilm development. *Bioresour. Technol.* 66, 225–230.
- Balderston, W.L., Sieburth, J.M., 1976. Nitrate removal in closed system aquaculture by columnar denitrification. *Appl. Environ. Microbiol.* 2, 808–818.
- Bougard, D., 2004. Traitement biologique d'effluents d'azotes avec arrêt de la nitrification au stade nitrite. Ph.D Thesis. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, France.
- Bitton, G., 2005. *Wastewater Microbiology*. John Wiley & Sons, New York, p. 85.
- Gerardi, M.H., 2002. *Nitrification and Denitrification in the Activated Sludge Process*. John Wiley and Sons, New York.
- Gjaltema, A., Vinke, J.L., van Loosdrecht, M.C.M., Heijnen, J.J., 1997. Biofilm abrasion by particle collisions in airlift reactors. *Biochem. Eng.* 36, 221–228.
- Jahangir, M.M.R., Khalil, M.I., Johnston, P., Cardenas, L.M., Hatch, D.J., Butler, M., Barrett, M., O'flaherty, V., Richards, K.G., 2012. Denitrification potential in subsoils: a mechanism to reduce nitrate leaching to groundwater. *Agric. Ecosyst. Environ.* 147, 13–23.
- Khalil, M.I., Richards, K.G., 2011. Denitrification enzyme activity and potential of subsoils under grazed grasslands assayed by membrane inlet mass spectrometer. *Soil Biol. Biochem.* 43, 1787–1797.
- Köster, J.R., Cárdenas, L., Senbayrama, M., Bol, R., Well, R., Butler, M., Mühlinga, K.H., Dittert, K., 2011. Rapid shift from denitrification to nitrification in soil after biogas residue application as indicated by nitrous oxide isotopomers. *Soil Biol. Biochem.* 43, 1671–1677.
- Martin, G., 1979. Le problème de l'azote dans les eaux. *Technique et Documentation – Lavoisier*, Paris.
- Morari, F., Lugato, E., Polese, R., Berti, A., Giardini, L., 2012. Nitrate concentrations in groundwater under contrasting agricultural management practices in the low plains of Italy. *Agric. Ecosyst. Environ.* 147, 47–56.
- Moreno-Castilla, C., Bautista-Toledo, I., Ferro-García, M.A., Rivera-Utrilla, J., 2003. Influence of support surface properties on activity of bacteria immobilised on activated carbons for water denitrification. *Carbon* 41, 1743–1749.
- Nanchaiah, Y.V., Venugopalan, P.V., 2011. Denitrification of synthetic concentrated nitrate wastes by aerobic granular sludge under anoxic conditions. *Chemosphere* 85, 683–688.
- Ratel, M.O., 2000. Elimination des nitrates des potables. Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche et des affaires rurales. Document Technique FNDAE, France.
- Salem, Z., Lebig, H., Cherfa, W.K., Allia, K., 2007. Valorisation of olive pits using biological denitrification. *Desalination* 204, 72–78.
- Sant'anna, F.P.S., Martin, G., Taha, S., 1996. Effect of sodium chloride on the denitrification of ion exchange resin eluates by a sulphur-oxidizing chemoautotrophic bacterium. *Rev. Des Sci. de l'Eau* 3, 333–350.
- United States Environmental Protection Agency (USEPA), 1993. *Manual Nitrogen Control*. EPN 62YR-93/0 10. USEPA, Washington, DC.
- Wang, Q., Feng, C., Zhao, Y., Hao, C., 2009. Denitrification of nitrate contaminated groundwater with a fiber-based biofilm reactor. *Bioresour. Technol.* 100, 2223–2227.
- Wojnowska-Baryła, I., Zielińska, M., 2002. Carbon and nitrogen removal by biomass immobilized in ceramic carriers. *Polish J. Environ. Stud.* 11 (5), 577–584.
- Yapo, O.B., Mambo, V., Meledje Djedjess, E.J.-C., Ohou, M.J., Seka, A., Tidou, A.S., Houenou, P.V., 2009. Searching for parameters optimising the biological denitrification of nitrate-and ammonium-rich well waters by private slow sand filtration reactors. *Eur. J. Sci. Res.* 26, 565–576.