

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



Département du Génie de l'Environnement
Laboratoire des Biotechnologies Environnementales et Génie des Procédés
PROJET DE FIN D'ETUDES POUR L'OBTENTION DU DIPLOME D'INGENIEUR
D'ETAT EN GENIE DE L'ENVIRONNEMENT

THÈME :

**Optimisation de la déphosphatation biologique avec
biomasse fixée**

Présenté par : Mr BENYOUB Saber Mohammed Islam

Soutenu le : 25/06/2013 devant le jury suivant :

Mr H.GRIB
Mme N. ABDI
Mme F.BOUAMRA
Mr N. MAMERI

Professeur à l'ENP
Professeur à l'ENP
Maitre de conférence à l'USTHB
Professeur à l'ENP

Président
Promotrice
Co-Promotrice
Examineur

PROMOTION Juin 2013

Remerciements

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

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

*Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à mes promotrices Madame **N.ABDI** et Madame **F.BOUAMRA** pour leur aide très précieuse, leur patience, leur compréhension, ainsi que leurs conseils, recommandations et remarques constructives qui ont permis l'aboutissement de ce travail.*

*Mes remerciements s'adressent à Monsieur **H. GRIB** Professeur à l'ENP, pour l'honneur qu'il me fait en présidant le jury de ma soutenance.*

*Je remercie également Monsieur **N.MAMERI** Professeur l'E.N.P, qui m'a fait l'honneur d'examiner ce modeste travail.*

*Que **ma mère, mon père et ma tante** trouvent ici le témoignage de ma sincère reconnaissance pour leurs soutiens inconditionnels et encouragements illimités.*

Figure 1.1 : cycle du phosphore.....	6
Figure 3.1 : Vue macroscopique d'un élément de biofilm (T.Baljic et al, 2002).....	16
Figure 3.2 : Cycle de Krebs.....	21
Figure 4.1 : Composition de l'olive.....	25
Figure 6.1 : la DTS dans la colonne avant et après ensemencement.....	33
Figure 6.2 : Circulation de l'effluent avant et après ensemencement.....	33
Figure 7.1.a : Evolution des [P] [NO ₂ ⁻] [NO ₃ ⁻] en fonction de la hauteur pour un débit de 0.1 L/h	36
Figure 7.1.b : Evolution des [P] [NO ₂ ⁻] [NO ₃ ⁻] en fonction de la hauteur pour un débit de 0.2 L/h.....	38
Figure 7.1.c : Evolution des [P] [NO ₂ ⁻] [NO ₃ ⁻] en fonction de la hauteur pour un débit de 0.5 L/h.....	39
Figure 7.2.a : Rendement du relargage pour les débits (0.1 – 0.2 – 0.5) L/h.....	41
Figure 7.2.b : Rendement de consommation pour les débits (0.1 – 0.2 – 0.5) L/h.....	42
Figure 7.2.c : Rendement de déphosphatation pour les débits (0.1 – 0.2 – 0.5) L/h.....	42
Figure 7.3.a : Evolution des [P] en fonction de la hauteur pour [P] _i = 60 mg/l.....	43
Figure 7.3.b : Evolution des [P] en fonction de la hauteur pour [P] _i = 40 mg/l.....	44

Tableau 5.1 : Caractéristiques de l'appareillage.....	28
Tableau 5.2 : Caractéristiques de la colonne (réacteur).....	29
Tableau 5.3 : Caractéristiques du matériau (grignon d'olive).....	29
Tableau 5.4 : Méthodes d'analyse.....	30
Tableau 5.5 : Composition des effluents synthétiques.....	31
Tableau 7.1 : influence de la vitesse sur les différents rendements dans le réacteur.....	41
Tableau 7.2 : influence de $[P]_i$ sur les différents rendements dans le réacteur.....	44

Liste des abréviations

Acétyl CoA : Acétyl Co-enzyme A

ADN : acide désoxyribonucléique

AGV : acides gras volatils

ARN: acide ribonucleique

ATP: Adénosine triphosphate

bio-P : bactéries déphosphatantes

DCO : demande chimique en oxygène

GAO :Glycogen Accumulating Organisms

NADH : Nicotinamide adenine dinucleotide (forme réduite)

NOx : nitrites et nitrates O₂ : Oxygène

PHA : polyhydroxyalkaloates

PHB : polyhydroxybutyrates

PHV : polyhydroxyvalérates

Poly-P : polyphosphates inorganiques

RBS : réacteur biologique séquentiel

RBS-BF : réacteur biologique séquentiel à biofilm

RBS-BD : réacteur biologique séquentiel à biodisques,

RBLF : réacteur biologique à lit fluidisé,

RSLF : réacteur submergé à lit fixe

RBM : réacteur biologique à membrane.

PAO : polyphosphate accumulating organismes

Sommaire

Introduction générale	1
Chapitre 1 : Généralités sur le phosphore	
1.1 Historique	5
1.2 Propriétés chimiques.....	5
1.3 Le phosphore essentiel à la vie.....	5
1.4 Cycle du phosphore.....	6
1.5 Les différentes formes du phosphore.....	7
1.5.1 Les formes allotropiques.....	7
1.5.2 Les formes chimiques.....	7
1.6 Utilisation du phosphore.....	8
1.7 Le phosphore mis en cause.....	8
Chapitre 2 : Traitement du phosphore	
2.1 Méthodes de déphosphatation.....	10
2.1.1 Coagulation chimique avec sels d'aluminium et de fer.....	10
2.1.2 Coagulation avec la chaux.....	11
2.1.3 Coagulation organique avec le chitosane.....	11
2.1.4 Les procédés mécaniques de séparation.....	11
2.1.5 Déphosphatation biologique.....	12
Chapitre 3 : Déphosphatation biologique par une biomasse fixée	
3.1 Introduction.....	15
3.2 Principe général de l'épuration par bactéries fixées.....	15
3.2.1 Avantages de l'épuration par une biomasse fixée par rapport à la biomasse en suspension.....	16
3.3 Les microorganismes responsables de l'élimination du phosphore.....	17
3.4 Mécanismes bactériens de la déphosphatation biologique.....	17
3.5 Application de la déphosphatation biologique par une biomasse fixée.....	18
3.6 Facteurs dont dépend le processus de déphosphatation biologique.....	18
3.6.1 La charge organique.....	18

3.6.2 Le pH.....	18
3.6.3 La température.....	19
3.6.4 L'âge des boues.....	19
3.6.5 Présence de l'oxygène et de nitrate dans la zone anaérobie.....	19
3.7 Modèles biochimiques.....	20
3.7.1 En conditions anaérobies.....	20
3.7.2 En conditions aérobies.....	20
Chapitre 4 : Généralités sur l'olive	
4.1 Définition et production de l'oléicole.....	23
4.2 La production d'huile d'olive en Algérie.....	23
4.3 Techniques de production de l'huile d'olive.....	24
4.4 Composition de l'olive.....	24
Chapitre 5 : Matériels et méthodes	
5.1 Maquette de laboratoire.....	28
5.2 Méthodes d'analyse.....	30
Chapitre 6 : Mode opératoire	
6.1 Lavage du réacteur.....	32
6.2 L'ensemencement du réacteur.....	32
6.3 Cycle d'opération du réacteur séquentiel.....	32
6.4 Etude hydrodynamique de la colonne.....	32
Chapitre 7 : Discussions et résultats	
7.1 Mise en contexte.....	35
7.2 Influence de la vitesse d'écoulement sur le rendement de la déphosphatation.....	35
7.3 Influence de la concentration initiale en phosphore sur le rendement de la déphosphatation.....	43
Conclusion générale.....	47
Références bibliographiques.....	49
Liste des annexes.....	54

Introduction générale

L'eau est une ressource essentielle au développement et à la survie de l'humain. Pour préserver une qualité adéquate de l'eau dans les écosystèmes récepteurs, il est important de gérer cette ressource d'une manière saine. Entre autre, il est important que l'eau soit traitée conformément aux objectifs environnementaux de rejet suite à l'utilisation domestique et industrielle en milieu urbain.

Ce traitement doit libérer l'eau des substances qui, à cause de leur concentration ou leur toxicité, ne peuvent être enlevées par les cycles naturels ou perturbent les milieux récepteurs.

En effet la présence du phosphore dans les eaux engendre une eutrophisation des lacs et des rivières causant ainsi une détérioration de leur aspect esthétique et caractéristique organoleptiques (**G.Martin, 1979**). De ce fait les eaux polluées par le phosphore nécessitent un traitement particulier.

Le phosphore est donc le facteur limitant sur lequel il est possible de jouer efficacement pour réduire l'eutrophisation continentale (**J. Lacaze, 1996**).

Le plus grand intérêt et les plus récents progrès ont été accomplis dans la déphosphatation biologique, qui a le potentiel de supprimer le phosphore à des niveaux très faibles et à des coûts relativement faibles. L'objectif de ce travail consiste à étudier la faisabilité d'un procédé biologique de traitement du phosphore sur un support issu d'une industrie agroalimentaire productrice d'huile d'olive : le grignon d'olive.

Ce document comporte deux grandes parties, La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique portant sur :

- Des généralités sur le phosphore.
- Le traitement du phosphore.
- La déphosphatation biologique sur biomasse fixée.
- Généralités sur l'olive.

La seconde partie regroupe les chapitres :

- Matériels et méthodes.
- Les résultats obtenus et leurs interprétations.

Partie
bibliographique

Chapitre 1

Généralités sur le phosphore

1.1 Historique

La découverte du phosphore remonte en 1669 et est attribuée à Brandt un alchimiste allemand de Hambourg (**V.Porres**).

1.2 Propriétés chimiques

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

Il présente la structure électronique : $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^3$

La valence normale de P conduit au degré d'oxydation III, qui apparaît par exemple dans PCl_3 , PH_3 .

L'arrangement est pyramidal, l'hybridation de P étant sp^3 (**G. Martin, 1987**).

1.3 Le phosphore essentiel à la vie

C'est le onzième élément le plus abondant parmi les éléments de la croûte terrestre (0,12%). Sur un plan quantitatif, le phosphore constitue le cinquième élément constitutif des êtres vivants, après le carbone, l'hydrogène, l'oxygène et l'azote. Mais sur un plan qualitatif, il joue un rôle central dans l'organisation de la vie. (**Claude Aubert, 2007**)

Le phosphore est un élément rare (< 0.1% dans la lithosphère) de grande importance écologique. Composant essentiel du vivant (nucléotides, ADN, phospholipides, enzymes), il joue un rôle clé dans le transfert d'énergie (ATP). (**J. NEMERY et al, 2000**)

Il entre dans la composition de toutes les cellules des organismes vivants. Êtres humains, animaux, plantes et microorganismes, tous dépendent entièrement du phosphore pour vivre et se reproduire.

Le matériel génétique des organismes vivants est constitué par les acides nucléiques (ADN et ARN) qui contiennent du phosphore.

Cet élément entre également dans la composition des protéines.

En ce qui concerne les plantes, le phosphore intervient comme élément nutritif indispensable à un grand nombre de processus biochimiques tels que la respiration ou la production d'énergie (photosynthèse), son stockage, son transport et son utilisation. Le phosphore favorise le développement des racines et l'accroissement de la masse des racelles, permettant une alimentation suffisante et une croissance rapide, donc un développement précoce des plantes.

Dans le règne animal, le phosphore est également impliqué dans les processus énergétiques (formation et dégradation du glycogène des muscles, synthèse des protéines). Les dents et les os en contiennent beaucoup sous forme de phosphate de calcium. Le phosphore est également impliqué dans la régulation d'équilibres biologiques internes. En effet, une insuffisance de cet élément dans l'alimentation animale peut conduire à des troubles divers : infécondité, hématurie de parturition, moindre résistance à certaines maladies comme l'entérite paratuberculeuse. (**B.Lemercier, 2003**)

1.4 Cycle du phosphore

Le cycle du phosphore est unique parmi les cycles biogéochimiques majeurs: il ne possède pas de composante gazeuse, du moins en quantité significative, et par conséquent n'affecte pratiquement pas l'atmosphère. Il se distingue aussi des autres cycles par le fait que le transfert de phosphore (P) d'un réservoir à un autre n'est pas contrôlé par des réactions microbiennes, comme c'est le cas par exemple pour l'azote.

Pratiquement tout le phosphore en milieu terrestre est dérivé de l'altération des phosphates de calcium des roches de surface, principalement de l'apatite. Bien que les sols contiennent un grand volume de phosphore, une petite partie seulement est accessible aux organismes vivants. Ce phosphore est absorbé par les plantes et transféré aux animaux par leur alimentation.

Une partie est retournée aux sols à partir des excréments des animaux et de la matière organique morte. Une autre partie est transportée vers les océans où une fraction est utilisée par les organismes benthiques et ceux du plancton pour sécréter leur squelette; l'autre fraction se dépose au fond de l'océan sous forme d'organismes morts ou de particules et est intégrée aux sédiments.

Ces derniers sont transformés progressivement en roches sédimentaires par l'enfouissement; beaucoup plus tard, les roches sont ramenées à la surface par les mouvements tectoniques et le cycle recommence.

La figure 1.1 qui suit résume le cycle du phosphore.

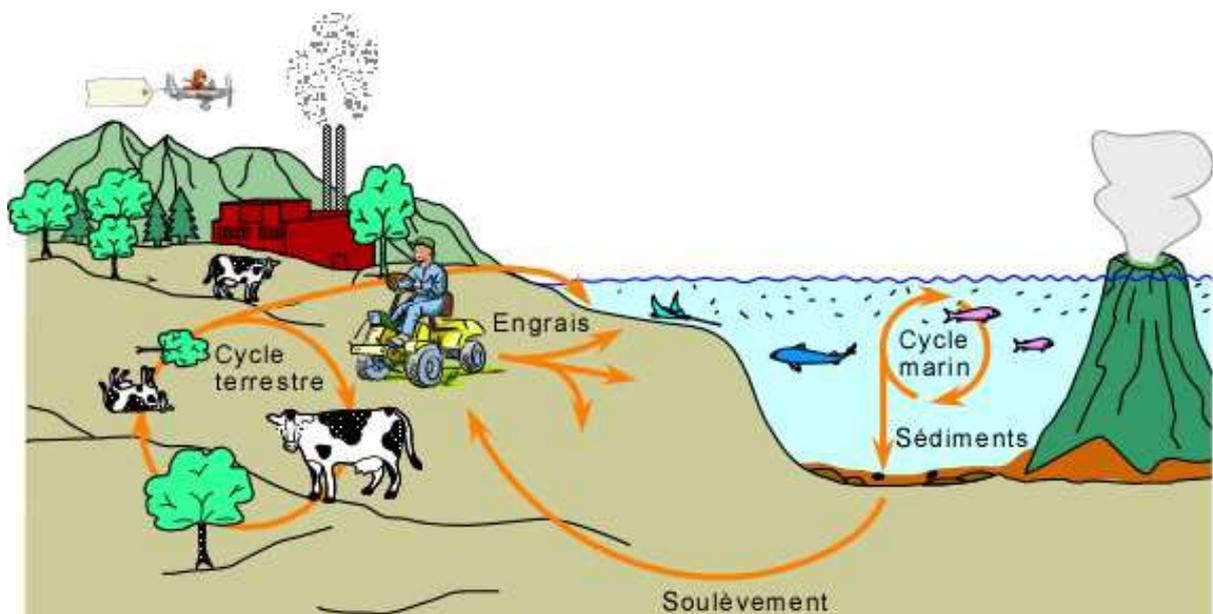


Figure 1.1 : cycle du phosphore

1.5 Les différentes formes du phosphore :

1.5.1 Formes allotropiques

Le phosphore comprend une dizaine de variétés allotropiques regroupées en trois types :

- *Phosphore noir*: se représente sous la forme d'une poudre ou de cristaux noirs, qui s'enflamment à l'air à des températures voisines de 400°C.

C'est la forme la plus stable qu'on puisse retrouver. (N.Bornnard et al., 2007)

- *Phosphore blanc*: Il brûle spontanément à l'air en dégageant une fumée très toxique et une lumière bleuâtre (phosphorescence) c'est la forme la plus dangereuse du phosphore. (Vincent PORRES, 2000)

L'exposition à cette substance est fatale pouvant provoquer des brûlures de la peau menant à des endommagements du foie, du cœur, des reins. À noter aussi que l'absorption de cette substance est mortel ; avant de mourir on souffre de nausées, de crampe d'estomac, de somnolence. (Lenntech, 2009)

Dans l'eau et le sol les réactions sont très lentes, il en résulte son accumulation dans le corps des organismes aquatiques et sa transformation en substance moins dangereuse peut prendre des années. (Lenntech, 2009)

Dans l'air, il se transforme lentement sous l'influence de la lumière et de la chaleur en Phosphore rouge ; le phosphore blanc brûle à 40° C. (G. Deronzier et al., 2004)

- *Phosphore rouge*: Beaucoup moins toxique que le précédent, il est employé dans la fabrication des allumettes, pesticides et bombes incendiaires. (Vincent PORRES, 2000)

Il se représente sous la forme d'une poudre ou de cristaux rouge-brun inflammable à l'air à des températures voisines à 250°C. (N.Bornnard et al., 2007)

1.5.2 Formes chimiques

Dans l'environnement le phosphore est présent sous différentes formes. On distingue les formes dissoutes des formes particulaires. (Blandine Lemercier, 2003)

- *Phosphore dissous*: Présent dans l'eau et dans la solution du sol sous forme minérale ou organique:
 - *forme minérale* : représentée par les ions PO_4^{3-} libres ou associés à la matière organique ou inorganique sous forme de colloïdes ; les différents anions de l'acide phosphorique et les polyphosphates.
 - *forme organique* : elle comprend les trioses phosphates, acide nucléique, phospholipides, acides phosphoriques des sucres et leurs formes dégradées
- *Phosphore particulaire*: il englobe toutes les formes du phosphore liées aux minéraux, à des débris divers ou incorporées dans les organismes; il existe également sous forme minérale ou organique:
 - *forme minérale* : le phosphore est lié à des substances inorganiques donnant l'apatite avec le calcium, le strengite avec le fer et la variscite avec l'aluminium comme il peut être associé aux argiles et à un grand nombre de minéraux.

À part le phosphate tricalcique (apatite), les autres associations du phosphore sont de minéralogie très complexe et peu connue.

1.6 Utilisation du phosphore :

L'utilisation importante du phosphore concerne l'industrie des détergents. En effet, les phosphates diminuent la dureté de l'eau, permettent aux tensioactifs de mieux nettoyer et contribuent ainsi à réduire la concentration en tensioactif ; Ils préviennent la redéposition des particules, maintiennent le pH, facilitent la dissolution du détergent.

Les applications spéciales concernent l'utilisation de composés phosphocalciques dans le domaine de la santé, l'utilisation dans le domaine militaire (phosphore blanc), l'utilisation dans les extincteurs, la fabrication de verres spéciaux, et également dans l'industrie pharmaceutique (phosphore organique). (**Frédéric Cabanes, 2006**)

1.7 Le phosphore mis en cause (L'eutrophisation):

Le phosphore n'est pas toxique intrinsèquement pour la faune et la flore terrestre et aquatique. Par contre, l'eutrophisation est la conséquence directe majeure d'un excès de phosphore dans le milieu et ses effets sont très préoccupants à de nombreux niveaux. Une concentration en phosphore supérieure à 0.1mg/L est suffisante pour y déclencher la marée verte. (**A. E Durrant, 1999**). Ce phénomène se traduit par le développement excessif d'algues qui agissent par plusieurs mécanismes sur l'équilibre biologique du milieu, en limitant le passage de la lumière et en consommant de grandes quantités d'oxygène. Ces algues ont une durée de vie assez courte et se décomposent rapidement. Cette décomposition organique se traduit par une forte demande en oxygène du milieu. Leur dégradation augmente la teneur en matière organique de l'eau, favorisant le développement de microorganismes produisant des toxiques, tels que les cyanobactéries, qui sont capables de détruire presque totalement l'écosystème du plan d'eau contaminé. (**Marie-Line Daumer, 2007**)

Le déficit en oxygène crée des conditions anaérobies dont les premières conséquences sont :

- Le dégagement d'odeur nauséabonde.
- Le colmatage progressif du milieu récepteur, ce qui conduit à son asphyxie.
- La mort des poissons. (**DUCHEMIN J et al., 1988**)

C'est pourquoi la nécessité d'éviter le rejet incontrôlé de phosphore dans les effluents est maintenant intégrée dans la démarche de la plupart des utilisateurs du phosphore : industriels, industriels spécialisés dans le traitement des eaux, agriculteurs et même particuliers.

Chapitre 2

Traitement du phosphore

2.1 Méthodes de déphosphatation

Les sections suivantes présenteront les diverses méthodes de déphosphatation à savoir: la déphosphatation biologique, la coagulation chimique avec sels d'aluminium et de fer, la coagulation avec la chaux, la coagulation avec le composé organique chitosane, ainsi que la précipitation/adsorption avec des matériaux calcaire et scorie d'aciérie.

Les méthodes physicochimiques seront survolées rapidement tandis que la méthode biologique fera l'objet d'une revue plus détaillée.

2.1.1 Coagulation chimique avec sels d'aluminium et de fer

La coagulation est une étape dans le traitement des eaux potables et usées qui permet de se débarrasser des matières en suspension (MES) et des particules colloïdales qui ne peuvent décanter par elles-mêmes. L'ajout de coagulant permet aussi de réduire la concentration en phosphore par précipitation. Les principaux coagulants employés sont le sulfate d'aluminium ($(Al_2(SO_4)_3 (14 \text{ à } 18) H_2O)$ ou alun) et les sels de fer (sulfates ferrique ou chlorure ferrique). Les principales réactions pour l'enlèvement des phosphates avec ces deux produits sont représentées par les équations suivantes :

Pour l'alun :

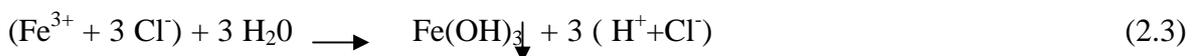


Pour le fer :



Les facteurs énumérés au paragraphe précédent montrent que les équations (2.1) et (2.2) sont simplistes. En fait, lorsque le coagulant est ajouté à la solution à traiter, des réactions d'hydrolyses se produisent, conduisant à la précipitation d'un complexe $Al(OH)_3$ ou $Fe(OH)_3$.

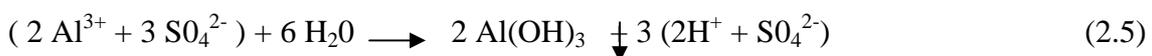
avec le $FeCl_3$:



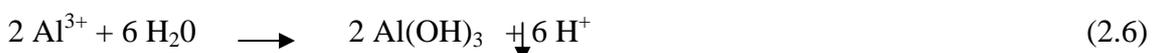
ou lorsque les Cl^- sont éliminés



avec alun



ou lorsque les SO_4^{2-} sont éliminés:



2.1.2 Coagulation avec la chaux

La chaux ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) est un autre produit utilisé pour l'enlèvement des phosphates qui se fait en 2 étapes. Premièrement, la chaux réagit avec l'alcalinité bicarbonate (CO_3^{2-}) et forme un précipité CaCO_3 . Il y a alors augmentation du pH selon l'équation 2.7



A pH 10, le calcium excédentaire réagit avec les phosphates pour précipiter sous forme d'hydroxyapatite, selon la réaction suivante:



Un pH de 9,5 ou moins ne permet pas l'enlèvement de plus de 50% du phosphore total (Narasiah et al, 1994). Ainsi, il est primordial d'avoir un pH d'au moins 10.

Ces auteurs ajoutent que le pH à 11 et 11,5 assure un enlèvement complet du phosphore sous ses formes diverses.

2.1.3 Coagulation organique avec le chitosane

Ce produit provient de la carapace des crabes et crevettes. Les carapaces sont bouillies pendant 1 heure dans une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium pour être ensuite décalcifiées dans une solution aqueuse de HCl, déprotéinées dans une solution de NaOH et décolorée. À cette étape, on obtient de la chitine. Par la suite, la chitine subit une déacétylation dans une solution de NaOH concentrée et on obtient le chitosane (**magister Mme Zemmouri**).

Ce produit est un polymère naturel que l'on ajoute à l'eau que l'on veut traiter. Il emprisonne les métaux lourds, les phosphates et les graisses. Il n'élimine pas les chlorures et ne s'attaque pas aux ions des groupes inséparables. C'est la longueur du polymère qui détermine ce que le chitosane emprisonnera. Le floc produit ne précipite pas, mais flotte à la surface. Le produit ne colmate pas les filtres à sable, mais participe plutôt à l'amélioration de la filtration. Il agit comme une couche filtrante supplémentaire.

Il permette de flocculer les matières en suspension. Ainsi, le phosphore particulaire pourrait être enlevé, mais il est fort peu probable que le phosphore dissous pourra l'être puisque ce coagulant naturel n'a pas la charge ionique pour déstabiliser les particules colloïdales qui, en se groupant, pourrait adsorber le phosphore inorganique dissous (PID).

2.1.4 Les procédés mécaniques de séparation :

Les procédés mécaniques permettent d'extraire le phosphore particulaire de l'effluent soit par décantation, soit à l'aide d'une filtration sous vide.

Ils contribuent de façon marginale au traitement du phosphore des eaux usées urbaines du fait de la forte proportion de phosphore dissous dans ce type d'effluent.

En revanche, ils sont efficaces pour des effluents dans lesquels le phosphore particulaire est majoritaire.

2.1.5 Déphosphatation biologique

La déphosphatation biologique est un procédé qui soumet des bactéries déphosphatantes à deux phases successives: une phase anaérobie et une phase aérobie. L'alternance de ces deux phases permet de maximiser l'enlèvement du phosphore en favorisant une accumulation de phosphore supérieure au besoin du métabolisme de croissance de la biomasse déphosphatante.

Lors de la phase anaérobie, les acides gras volatils (AGV) présents (provenant d'un fermenteur ou par ajout) dans la solution que l'on veut déphosphater sont assimilés par la bactérie déphosphatante et stockés sous forme de poly-hydroxy-alkanoates ou PHA. La dégradation des polyphosphates présents dans le matériel cellulaire des bactéries déphosphatantes en phosphates inorganiques fournit une partie de l'énergie nécessaire pour la transformation des AGV en PHA. Le reste de l'énergie est fourni par le glycogène présent dans la cellule. Les phosphates inorganiques produits lors de la dégradation des polyphosphates sont alors expulsés hors de la cellule. Suite à ce relargage, la concentration de phosphore dans la solution augmente.

La phase aérobie permet ensuite d'abaisser la concentration de phosphore dans la solution à une valeur inférieure à la concentration initiale. En effet, les conditions favorables à la croissance reviennent avec l'aération. Le phosphore est ainsi réassimilé par la bactérie pour ses besoins de croissance. L'énergie pour retransformer le phosphore en polyphosphates provient en partie des réserves de PHA. La bactérie ayant accumulé une quantité importante de PHA lors de la phase anaérobie, il en résulte une surconsommation de phosphore, d'où une concentration de phosphore en solution inférieure à celle précédant le cycle anaérobie/aérobie.

Différents modèles métaboliques ont été développés pour expliquer de façon poussée ce qui se passe réellement lors de ce phénomène. **Comeau (1990a) et Smolders et al. (1994a, 1994b, 1995)** peuvent être consultés pour en savoir plus sur le métabolisme des micro-organismes déphosphatants.

La présence de nitrates doit faire l'objet d'une attention particulière afin d'assurer le bon fonctionnement de cette méthode. En effet, deux types de bactéries déphosphatantes doivent être distingués: les déphosphatantes dénitrifiantes et les déphosphatantes non-dénitrifiantes (**Comeau, 1990a**). Cette distinction prend son sens lorsqu'on considère la présence des nitrates dans la phase anaérobie du procédé de déphosphatation biologique. En effet, lorsque des nitrates se retrouvent dans la zone anaérobie, on parle plutôt d'une zone anoxie. Les déphosphatantes dénitrifiantes ont alors un métabolisme aérobie puisque les nitrates remplacent l'oxygène comme accepteurs d'électrons à la chaîne de transport d'électron (**Kuba et al., 1996, 1997a**). Par contre, les déphosphatantes non-dénitrifiantes conservent un métabolisme anaérobie puisqu'elles sont incapables d'utiliser les nitrates comme accepteurs d'électron. Il s'ensuit que les dénitrifiantes consomment des phosphates en solution alors que les non-dénitrifiantes en relarguent. L'efficacité du système dépend alors de la quantité de chaque type de bactéries déphosphatantes présentes dans la solution.

Les bactéries dénitrifiantes non-déphosphatantes viennent s'ajouter aux déphosphatantes dénitrifiantes et aux déphosphatantes non-dénitrifiantes. Lorsqu'elles sont présentes dans la zone anaérobie et que des nitrates s'y trouvent, les dénitrifiantes non-déphosphatantes

entrent en compétition directe avec les déphosphatantes pour la matière organique disponible (l'acétate). Le fait de consommer la matière organique sans pouvoir subséquemment accumuler les phosphates (comme le feraient les déphosphatantes dénitrifiantes lors de la phase aérobie), laisse moins de substrat aux déphosphatantes qui l'accumulent sous forme de PHA. En ayant moins de PHA, une moins grande quantité de phosphates en solution est assimilée par les déphosphatantes non-dénitrifiantes lors de la phase aérobie ou par les déphosphatantes dénitrifiantes lors d'une phase anoxie.

La présence de nitrates a donc un effet néfaste sur la déphosphatation puisqu'elle encourage la consommation par les dénitrifiantes du substrat disponible pour le stockage en PHA par les déphosphatantes. Lorsque les nitrates sont absents et que des bactéries dénitrifiantes non déphosphatantes sont présentes, les déphosphatantes ne semblent pas souffrir de la compétition si le seul substrat disponible est l'acétate (**Cech et al., 1993**).

Chapitre 3

Déphosphatation biologique par une biomasse fixée

3.1 Introduction

Jusqu'à présent, presque toutes les applications de la déphosphatation biologique sont réalisées dans des variantes du système à boues activées. Par contre la déphosphatation dans les systèmes de traitement à biomasse fixée est beaucoup moins étudiée même si les problèmes de gonflement de boue, de formation de mousse et de libération secondaire du phosphore, souvent rencontrés dans les boues activées, sont évités.

L'application de la déphosphatation biologique dans des réacteurs à biomasse fixée a été réalisée dans divers types de bioréacteurs dont les principaux sont : le réacteur biologique séquentiel à biofilm (RBS-BF), le réacteur biologique séquentiel à biodisques (RBS-BD), le réacteur biologique à lit fluidisé (RBLF), le réacteur submergé à lit fixe (RSLF) et le réacteur biologique à membrane (RBM) (**T. Baljic et al, 2002**).

3.2 Principe général de l'épuration par bactéries fixées

Les procédés biologiques d'épuration par une culture fixée s'inspire de méthodes mises à l'épreuve dans l'épuration par le sol (**C. Gomella et al, 1983**). Ce concept est à la base de plusieurs procédés dont les plus répandus sont les lits bactériens, les disques biologiques et plus récemment les biofiltres immergés (**G. Grosclaude, 1999**).

Le principe de fonctionnement d'un lit bactérien consiste à faire ruisseler l'eau à traiter sur une masse de matériaux poreux ou caverneux, accumulés sur une hauteur convenable, qui sert de support aux micro-organismes épurateurs. Cette culture bactérienne colonise la surface du support solide en formant un biofilm (**M. Séguret, 1998**). Il s'agit d'une couche dense de bactéries, qui ont la capacité de produire des polymères leur permettant de former un film et d'adhérer à un support (**L. Julien, 2006**).

Le matériau de support sur lequel s'accroche le biofilm est l'élément essentiel du système. Il doit répondre à un double impératif : la fixation de la biomasse et la rétention physique des matières en suspension. À cette fin on peut utiliser des supports naturels comme du gravier et des pierrailles concassées dans le lit bactérien ou encore, des matériaux synthétiques pour les systèmes plus modernes. Plus récemment, sont apparus les supports de plastique, très légers, sans volume mort, et autoportants.

On pourra observer trois couches dans le biofilm, de l'extérieur vers l'intérieur (**F. Edeline, 1980**) :

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

On peut représenter comme suit un élément de lit bactérien :

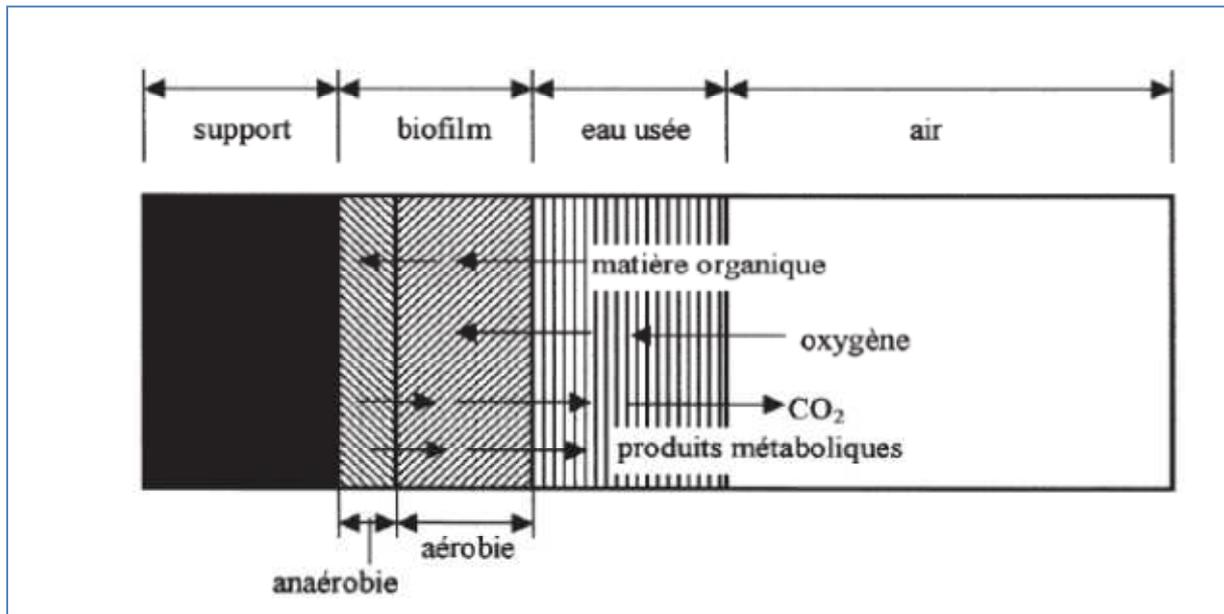


Figure 3.1 : Vue macroscopique d'un élément de biofilm (T.Baljic et al, 2002).

3.2.1 Avantages de l'épuration par une biomasse fixée par rapport à la biomasse en suspension

La capacité des cellules à se développer sous forme de biofilm leur confère des avantages décisifs par rapport aux cellules en suspension. Ces avantages comprennent (D. Nicolas, 2008) :

- Une accumulation élevée de biomasse dans le réacteur.
- Une plus grande stabilité, notamment aux variations subites (chocs) de la charge (E. Cook et al, 1978).
- La biomasse en suspension peut être éliminée par l'écoulement liquide, alors que les bactéries du biofilm sont davantage protégées de ce phénomène de lessivage (O. Wanner et al, 2006).
- Le biofilm joue un rôle de barrière, aussi bien pour les composés néfastes à la croissance bactérienne que pour les substrats.
- Il y a indépendance entre le temps de rétention hydraulique et le temps de rétention de la biomasse sur les supports ce qui confère à cette technologie une flexibilité opérationnelle et donc une facilité d'opération exceptionnelle.
- Les biomasses immobilisées ont tendance à mieux décanter que les biomasses en suspension.
- Une sensibilité moindre aux basses températures.

3.3 Les microorganismes responsables de l'élimination du phosphore

Les bactéries impliquées dans la déphosphatation (bio-P) sont (M. Wagner, 2002) :

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

Les travaux de **Seviour et al (2003)** montrent que les principales bactéries appartenant au groupe des PAO sont: *Acinetobacter spp*, *B-Proteobacteria*, *Actinobacteria* et *Rhodocyclus*.

On trouve parmi les espèces bactériennes responsables du phénomène de déphosphatation biologique, majoritairement, le genre *Acinetobacter spp*. C'est un coccobacille aérobie strict, gram négatif, utilisant comme substrat carboné : l'acétate, l'éthanol et le succinate mais en aucun cas le glucose et le lactose (D. Pandolfi, 2006).

3.4 Mécanismes bactériens de la déphosphatation biologique

De nombreux travaux de recherche ont permis de comprendre le mécanisme d'élimination biologique du phosphore des eaux usées par suraccumulation des phosphates (Y. Comeau, 1997).

Dans une boue activée classique, la teneur en phosphore organique est de l'ordre de 2 % par gramme de biomasse (exprimée en matière volatile en suspension), dans une boue activée déphosphatante la teneur en phosphore organique peut atteindre 8 à 10 % par gramme de biomasse.

Les principaux groupes microbiens responsables de l'épuration des eaux usées se divisent en microorganismes :

- autotrophes (source de carbone inorganique : CO₂)
- hétérotrophes (source de carbone organique).

Parmi les hétérotrophes se trouvent les microorganismes supérieurs aérobies strictes tels les protozoaires et rotifères et la plupart des bactéries.

3.5 Application de la déphosphatation biologique par une biomasse fixée

La déphosphatation biologique par une biomasse fixée peut être réalisée par :

- L'utilisation d'un réacteur séquentiel (batch) à biofilm : **(G. Martínez et al, 1991)**
Le cycle est réalisé en trois phases principales : le remplissage, la réaction (anaérobie et aérobie en séquence) et le soutirage de l'effluent. L'avantage de ce système est la réalisation de la séquence entière à l'intérieur du même réacteur, en l'occurrence la compétition pour l'oxygène entre les bactéries déphosphatantes et les bactéries nitrifiantes ne permet que la réalisation partielle de la nitrification.
- L'utilisation d'un réacteur à biofilm en continu où la direction de l'écoulement et l'aération dans deux réacteurs sont changées en séquence : **(R. Gonçalves et al, 1992)**
La réalisation de cette séquence permet l'optimisation de la charge organique appliquée selon les besoins de la biomasse lors de l'anaérobiose et de la charge en phosphore qui doit éliminer pendant l'aérobiose.
- La réalisation d'une phase anaérobie en batch et une phase aérobie avec alimentation continue : **(C. Yoon et al, 1990)**
Ce système a été réalisé afin de surmonter le problème de la charge en phosphore introduite instantanément au début de la phase aérobie, et qui se montre plus faible que la capacité maximale d'accumulation de la biomasse.

3.6 Facteurs dont dépend le processus de déphosphatation biologique

3.6.1 La charge organique

La source de carbone utilisable par les bactéries déphosphatantes est la DCO facilement biodégradable. Elle est composée essentiellement d'acides gras volatils comme l'acide acétique (ou acétate de...), l'acide propionique (ou propionate de...), l'acide butyrique (ou butyrate de...). Les acides volatils présents dans les eaux usées sont généralement issus du processus de fermentation de molécules de plus grande taille.

Afin d'assurer une déphosphatation efficace, les eaux usées doivent contenir une quantité minimale d'AGV comprise entre 25 et 100 mg/l pour chaque mg de P à éliminer **(G. Deronzier et al, 2004)**.

3.6.2 Le pH

Le pH est un facteur important régissant la déphosphatation biologique et intervient précisément au cours de la phase d'anaérobiose. Un pH bas entraîne une diminution du ratio phosphore relargué /acétate absorbé. En effet, l'augmentation du pH, de part et d'autre de la membrane cellulaire des bactéries, nécessite une énergie supplémentaire pour le transport de l'acétate. Une partie de l'énergie induite par l'hydrolyse des polyphosphates

est donc dédiée à cette tâche alors que, dans des conditions de pH optimal, elle sert au stockage de PHB. Un pH de $6,8 \pm 0,7$ constitue une gamme acceptable (Liu et al, 1996).

3.6.3 La température

Une augmentation de la température favorise l'élimination biologique du phosphore. Cela peut être expliqué comme suit :

- L'augmentation des vitesses de relargage/réabsorption de phosphore, de consommation de substrat et de croissance bactérienne. Les mécanismes d'absorption et de relargage de phosphore pouvant être ralentis à faible température (8-10 °C).
- L'augmentation substantielle de la quantité de substrats rapidement biodégradables (AGV) avec la température.
- L'amélioration de l'efficacité des processus de nitrification/dénitrification, ayant une répercussion positive sur la déphosphatation.

3.6.4 L'âge des boues

Pour un âge de boues supérieur à 35 jours, la déphosphatation biologique n'est plus efficace (Ekama et al, 1983). La capacité d'accumulation de phosphore de la biomasse est alors saturée et le relargage dû à l'activité endogène augmente. Lorsque les boues sont plus jeunes, la vitesse de réaction est plus rapide. Un âge de boues d'environ 20 jours est compatible avec un bon rendement de déphosphatation biologique.

3.6.5 Présence d'oxygène et de nitrate dans la zone anaérobie

En phase d'anaérobiose, l'oxygène qui peut être apporté par les eaux usées ou par les retours de boue, réduit, voire inhibe le phénomène de relargage. Il en est de même pour les nitrates, car le sous-groupe des bactéries déphosphatantes aérobies facultatives (intervenant dans le processus de dénitrification) oxyde les acides gras à l'aide des nitrates, au lieu de les transformer en PHA.

3.7 Modèles biochimiques

3.7.1 En conditions anaérobies

En phase anaérobie, l'acétate est stocké sous forme de PHB à l'intérieur des bactéries bio-P. A cette fin, l'acétate serait tout d'abord transformé en acétyl-CoA. Le transport de l'acétate à l'intérieur de la cellule requiert de l'énergie, et la transformation d'acétyl-CoA en PHB requiert des molécules réductrices, telles que les NADH.

Deux explications ont été proposées pour identifier la source de cette énergie de transport et de ces molécules réductrices :

- La première fait intervenir les poly-P et le cycle de Krebs (**Figure 3.2**). L'énergie de transport serait fournie par l'hydrolyse des poly-P: le gradient de pH, nécessaire pour que le transport de l'acétate puisse s'effectuer, pourrait être rétabli soit par l'utilisation directe des poly-P soit par leur utilisation indirecte, via la production d'ATP. L'énergie produite par les poly-P pourrait aussi être utilisée pour la transformation d'acétate en acétyl CoA. Les orthophosphates en excès seraient alors relâchés à l'extérieur de la cellule via une enzyme de transport contrôlée par le gradient de pH. Bien que normalement inhibé en conditions anaérobies, le cycle de Krebs pourrait, à partir d'une fraction de l'acétyl-CoA synthétisé à partir de l'acétate, fournir les molécules de NADH requises pour le stockage de PHB depuis l'acétate.
- Le deuxième modèle considère aussi que l'énergie requise pour la transformation de l'acétate en acétyl-Co A provient de l'hydrolyse des poly-P, mais propose une autre source de NADH: la dégradation du glycogène (par glycolyse), préalablement accumulé dans la cellule fournirait les NADH requis pour la transformation de l'acétyl-CoA en PHB.

3.7.2 En conditions aérobies

Au début de la phase aérobie, les bactéries bio-P disposent d'une réserve importante de PHB et d'une quantité réduite de poly-P.

Les substrats carbonés externes étant aussi consommés par la biomasse, les bactéries bio-P utiliseraient alors leurs réserves de PHB comme source d'énergie et de croissance.

Selon **Comeau et al (1986)**, comme en présence d'oxygène, le rapport ATP/ADP dans la cellule augmente, la formation de poly-P, à partir d'ATP et de phosphates solubles captés de l'extérieur, pourrait avoir lieu.

Pour les modèles prenant en considération le glycogène, la réaction de formation de glycogène à partir du PHA en conditions aérobies doit aussi être considérée (**R. Caroline Ky, 1999**).

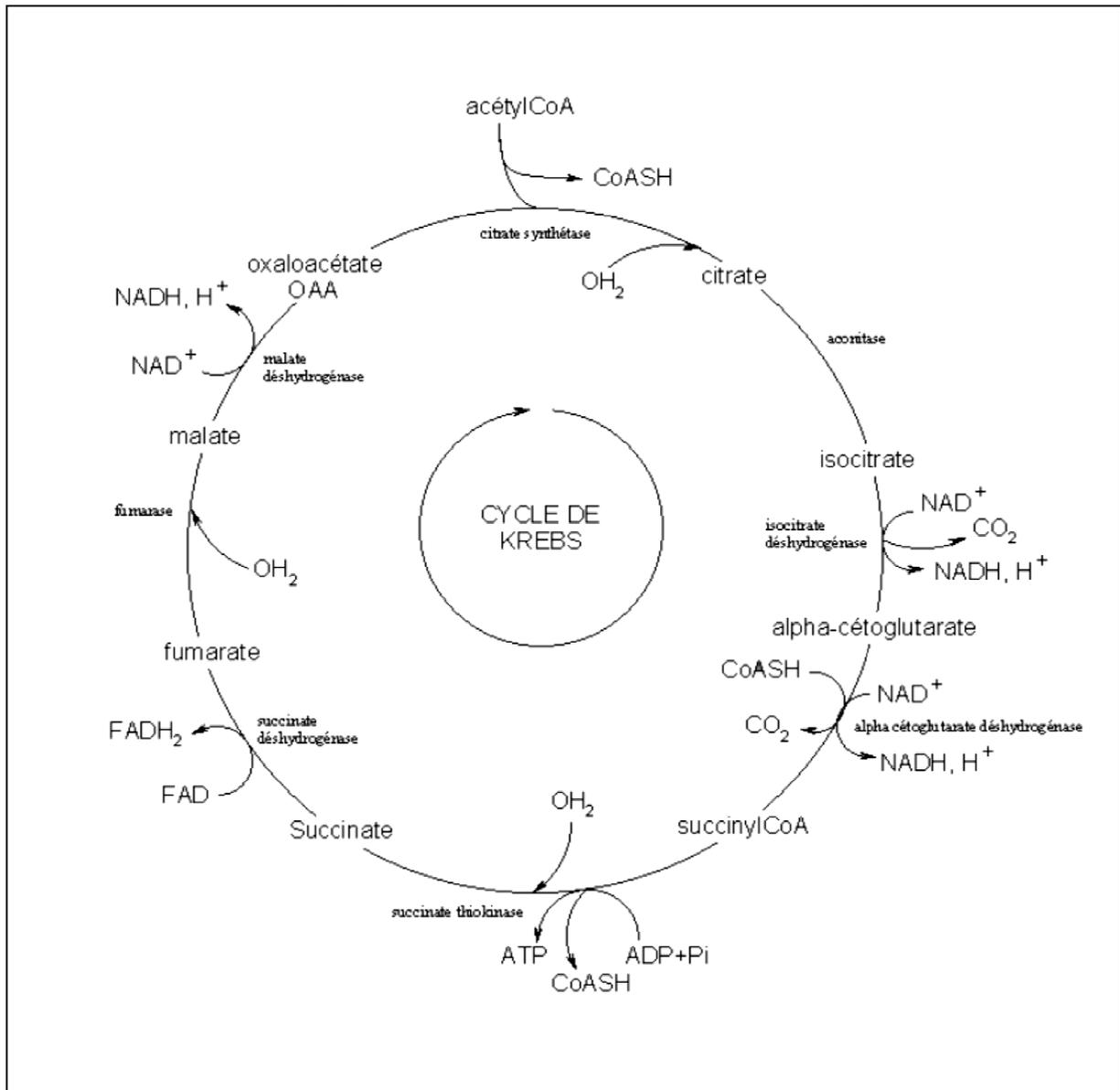


Figure 3.2 : Cycle de Krebs

Chapitre 4
Généralités sur
l'olive

4.1 Définition et production de l'oléicole:

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

La demande de produits à base d'oléagineux se répartit entre la consommation humaine (principalement les huiles pour friture et assaisonnement) et l'alimentation animale (**Matallah M.A. A, 2006**).

Le Conseil Oléicole International a arrêté ces chiffres de production à 2 665 500 tonnes soit une production en-dessous de la moyenne des cinq dernières années (à 2 817 500 tonnes). La baisse de la production mondiale est principalement implacable à l'Union Européenne (1 933 000 tonnes soit une baisse de près de 200 000 tonnes), à la Tunisie (- 20 000 tonnes), l'Argentine (- 4 000). L'Algérie, la Syrie et la Turquie ont quant à eux vu leur production augmenter de manière significative (**Rapport d'activité AFIDOL, 2009**). Les principaux pays producteurs des oléagineux dans le monde sont : la Malaisie et l'Indonésie.

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

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

Le tournesol : la Russie, l'Ukraine et l'Argentine (**Matallah M.A. A, 2006**).

4.2 La production d'huile d'olive en Algérie:

L'Algérie, un des pays producteurs d'huile d'olive, compte 16 millions d'oliviers sur une surface d'environ de 197000ha, cette culture étant surtout localisée dans les régions montagneuses de la Kabylie. Les olives à huile représentent 95% de la production totale d'olives (**Données du ministère de l'équipement, 2008/2009**).

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

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

Ils ne bénéficient donc pas d'une formation leur permettant d'améliorer substantiellement le rendement de leurs vergers, d'autres facteurs, comme le terrorisme et la construction anarchique sur les terres agricoles, etc. jouent un rôle néfaste) (**Données du ministère de l'Agriculture et du Développement Rural, 2010**).

4.3 Techniques de production de l'huile d'olives :

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

La quantité de produit obtenue dépend de la rapidité du traitement, de la durée du stockage et des différentes précautions à prendre en considération pour éviter le développement des microorganismes par le biais de la blessure du fruit (**EncycloEcolo, 2012**).

Le système de production d'huile d'olive comprend en général cinq opérations qui sont (**N. Benhayia et al, 2003**) :

1-Tri des olives : le premier stade du cycle de production de l'huile consiste à trier les olives pour les séparer des corps étrangers (**D. Sadia, 2011**).

2-Lavage : le lavage des olives, après triage à l'arrivée au moulin, permet d'éviter l'augmentation du taux d'acidité, lié à la présence d'impuretés (**D. Sadia, 2011**).

3-Broyage : l'opération a pour objectif de supprimer les tissus végétaux et de permettre la libération des gouttelettes d'huile (**D. Sadia, 2011**).

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

Cette opération a pour but d'extraire tout ce qui reste d'huile dans les vacuoles, d'agréger les gouttelettes d'huile en grosses gouttes et de former des poches de phase huileuse continue (**D. Sadia, 2011**).

5-Séparation : Après avoir éliminé, par tamisage, les dernières particules solides, la décantation et de la centrifugation conduisent à deux phases : l'huile vierge de masse volumique égale à 0.916 Kg/l et l'eau appelée « margine » de masse volumique 1.086 Kg/l (**D. Sadia, 2011**).

4.4 Composition de l'olive :

L'olive est le fruit de l'olivier, arbre fruitier caractéristique des régions méditerranéennes. Au plan botanique, c'est une drupe, à peau lisse, à enveloppe charnue riche en matière grasse, renfermant un noyau très dur, osseux, qui contient une graine, rarement deux. Sa forme ovoïde est typique. Sa couleur, d'abord verte, vire au noir à maturité complète, vers octobre novembre dans l'hémisphère nord (**Matallah M.A. A, 2006**).

Afin de mieux comprendre la composition des olives il peut être utile de consulter la **figure 4.1** qui est un schéma explicite de la composition de l'olive.

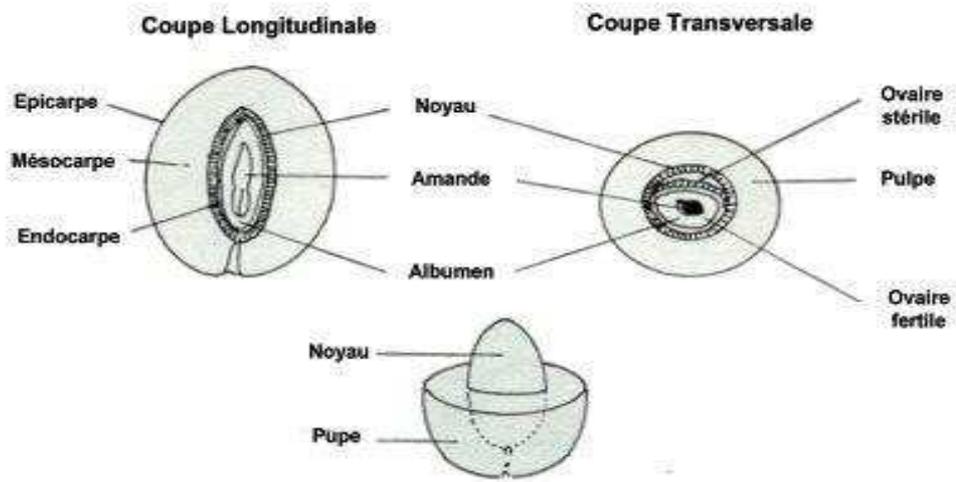


Figure 4.1 : Composition de l'olive

Partie

Expérimentale

Chapitre 5

Matériels et méthodes

5.1 Maquette de laboratoire

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

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

Les caractéristiques de l'appareillage utilisé sont mentionnées dans le **Tableau 5.1**

Tableau 5.1 : *Caractéristiques de l'appareillage.*

Appareillage	Caractéristiques
Pompe péristaltique	MasterFlex L/S Model N: 75 75 - 00
Spectrophotomètre (UV- Visible)	Model Optizen 2120 UV 200-240 V (1A)
Pompe à air	AQUARIUM AIR PUMP 220-240 VOLTS A.C

Le réacteur sur le quel nous avons travaillé est une colonne en verre qui présente des caractéristiques figurant sur le **Tableau 5.2**

Tableau 5.2 : *Caractéristiques de la colonne (réacteur).*

Hauteur de la colonne (m)	1.6
Section de la colonne (m ²)	2.5×10 ⁻³
Volume de la colonne (m ³)	4×10 ⁻³
Hauteur utile (m)	1.4
Volume utile (m ³)	3.5×10 ⁻³

Le réacteur à été rempli par un matériau lignocellulosique : le grignon d’olive dont les principales caractéristiques sont données dans le **Tableau 5.3**

Tableau 5.3 : *Caractéristiques du grignon solide brut*

Composés	Teneurs (en% poids/poids)
Humidité	47,70
Cendres	2,07
Matières volatiles	27,63
Matières azotées	2,71
Matières grasses	7,92
Protéines	4,02
Sucres totaux	1,00
Cellulose	18,03
Hémicellulose	8,05
Potassium	0,52
Phosphore	0,10
Lignine	10,50

La composition chimique du grignon d’olive brut indique que la fraction carbone hydratée (cellulose et hémicellulose) représente le principal composant du grignon d’olive.

La cellulose est un biopolymère, de nature fibrillaire synthétisé dans le cytoplasme des cellules végétales, qui est déposé à l’extérieur de la membrane plasmidique, participant ainsi au maintien de la rigidité du tissu (**A. Mouranche et al. 1985**) (**S.Pilet, 1971**)

L'hémicellulose est un hétéropolysaccharide, associé à la cellulose par des liaisons hydrogène,

Les principaux constituants des hémicelluloses sont essentiellement des sucres en C₅ (xylose et arabinose) ; le glucose est toujours présent. (A. Mouranche et al. 1985) (R. W. William et al., 1987)

La présence de lignine dans le résidu brut (10,5 %) acquiert une résistance biologique très élevée ; les micro-organismes capables de dégrader la cellulose et l'utiliser comme source de carbone, perdent cette capacité par la présence de la lignine. De ce fait le grignon d'olive est dans ce cas utilisé comme support bactérien et non comme source de carbone.

5.2 Méthodes d'analyse

Les différents paramètres suivis le long de la colonne sont : les concentrations en nitrates en nitrites et en phosphates.

Sur le **Tableau 5.4** sont portées les méthodes d'analyses utilisées et les normes correspondantes

Tableau 5.4 : Méthodes d'analyse.

Paramètres	Méthode d'analyse	Normes
Nitrates	Colorimétrique	AFNOR NF 90 102
Nitrites	Colorimétrique	AFNOR NF 90 013
Phosphates	Colorimétrique	ISO N° 6878

5.3 Alimentation

Selon G. Deronzier et al, la quantité d'AGV est comprise entre 25 et 100 mg/L pour chaque mg de P à éliminer.

Dans le cadre de ce travail nous avons opté pour une quantité de 25 mg/L d'acétate pour chaque mg de P à éliminer, une concentration en phosphore de 20 mg/L P-PO₄ (KH₂PO₄) et une concentration en nitrate équivalente à 100 mg/L en NO₃⁻.

La composition de l'effluent synthétique est donnée dans le **Tableau 5.5**

Tableau 5.5 : *Composition de l'effluent synthétique.*

Alimentation
P-PO ₄ (KH ₂ PO ₄)= 20 mg/L
NO ₃ (NaNO ₃)= 100 mg/L
25 mg/L d'acétate (CH ₃ COONa)

Chapitre 6

Mode opératoire

6.1 Lavage du réacteur

Une fois la colonne (réacteur) remplie de grignon, nous avons procédé au lavage à faible vitesse pour éliminer les éléments indésirables coincés entre les grains de grignon.

Nous avons lavé notre réacteur avec de l'eau de robinet (pendant 48 heures) à une vitesse permettant l'expansion du support à l'aide d'une pompe péristaltique.

6.2 L'ensemencement du réacteur

La colonne a étéensemencée par une biomasse dénitrifiante préalablement sélectionnée en mode batch à partir d'une boue activée récupérée au niveau de la station de traitement d'eaux usées de Beni Messous.

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

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

6.3 Cycle d'opération du réacteur séquentiel

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

Le fonctionnement séquentiel retenu pour notre étude est le suivant :

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

6.4 Etude hydrodynamique de la colonne après ensemencement

L'étude hydrodynamique a pour but de déterminer la distribution de temps de séjour tout au long de la colonne.

C'est à partir de la distribution de temps de séjour que nous pourrons choisir les vitesses d'écoulement et les intervalles de temps qui conviennent le mieux pour notre étude. La **Figure 6.1** représente la distribution des temps de séjours (DTS) réalisée avant et après ensemencement pour un débit de 0.5 l/h.

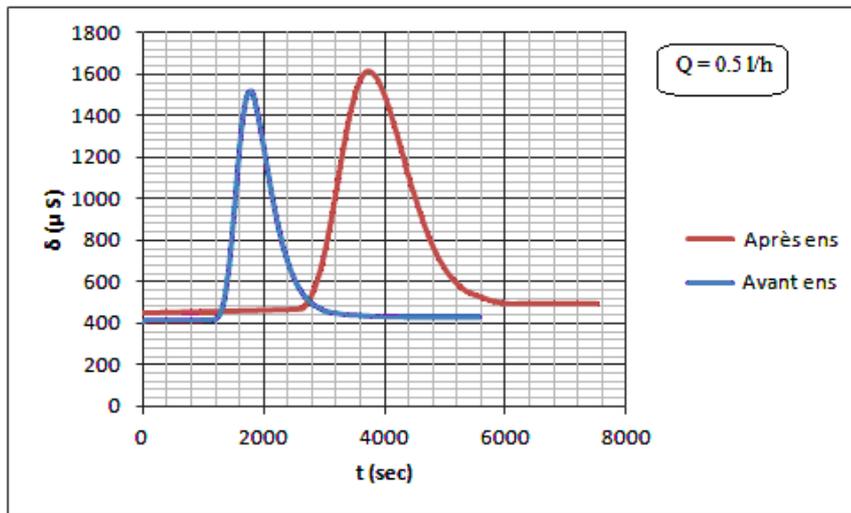


Figure 6.1 : la DTS dans la colonne avant et après ensemencement

Nous pouvons remarquer que la courbe de la DTS avant ensemencement est plus rapide que celle d'après ensemencement, ceci s'explique par le passage difficile de l'effluent (après ensemencement) dans les interstices entre les grains du grignon occupés par le biofilm.

La **Figure 6.2** illustre le passage de l'effluent avant et après ensemencement et nous permet de mieux comprendre le phénomène.

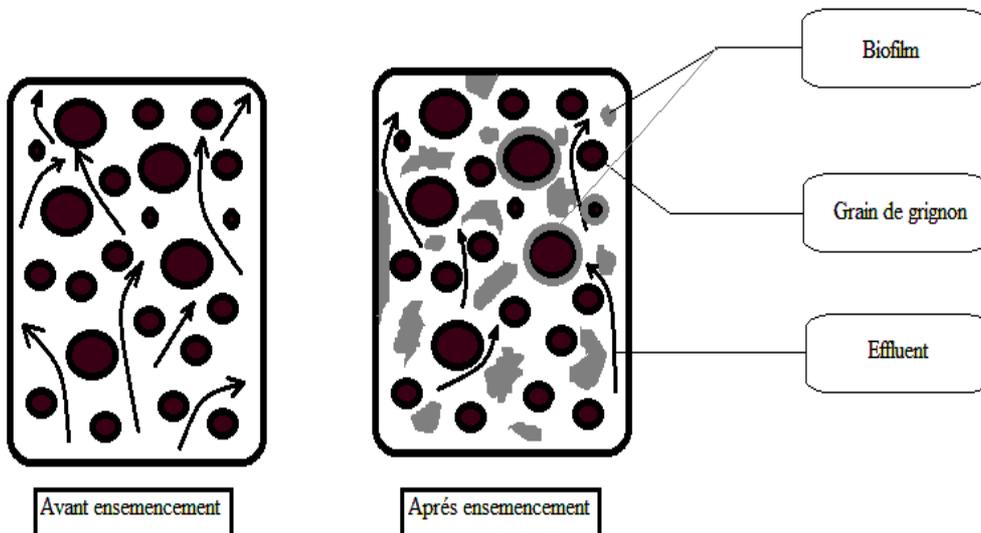


Figure 6.2 : Circulation de l'effluent avant et après ensemencement

Chapitre 7

Résultats et discussions

7.1 Mise en contexte

Dans un premier temps, nous avons adapté le bioréacteur pour la dénitrification (une étape primordiale qui précède la déphosphatation) : une période d'enrichissement de la biomasse a été effectuée en conditions dénitrifiantes.

Après l'établissement d'une activité de dénitrification (au bout de 5 jours), nous avons exposé la biomasse aux conditions favorables à la déphosphatation afin de favoriser le développement des bactéries déphosphatantes.

Après 15 jours de fonctionnement une activité de déphosphatation a été enregistrée.

7.2 Influence de la vitesse d'écoulement sur le rendement de la déphosphatation

Dans le but de choisir la meilleure vitesse de circulation pour notre étude, nous avons fait circuler l'effluent synthétique à différents débits à savoir : 0.1 L/h ; 0.2 L/h ; 0.5 L/h.

Le suivi du fonctionnement du réacteur est réalisé par l'examen de l'évolution des paramètres suivants : Phosphate (phase anaérobie/aérobie), Nitrate, Nitrite (deux essais ont été effectués pour chaque échantillon).

Les résultats sont présentés sur **les Figures 7.1.a ; 7.1.b ; 7.1.c**

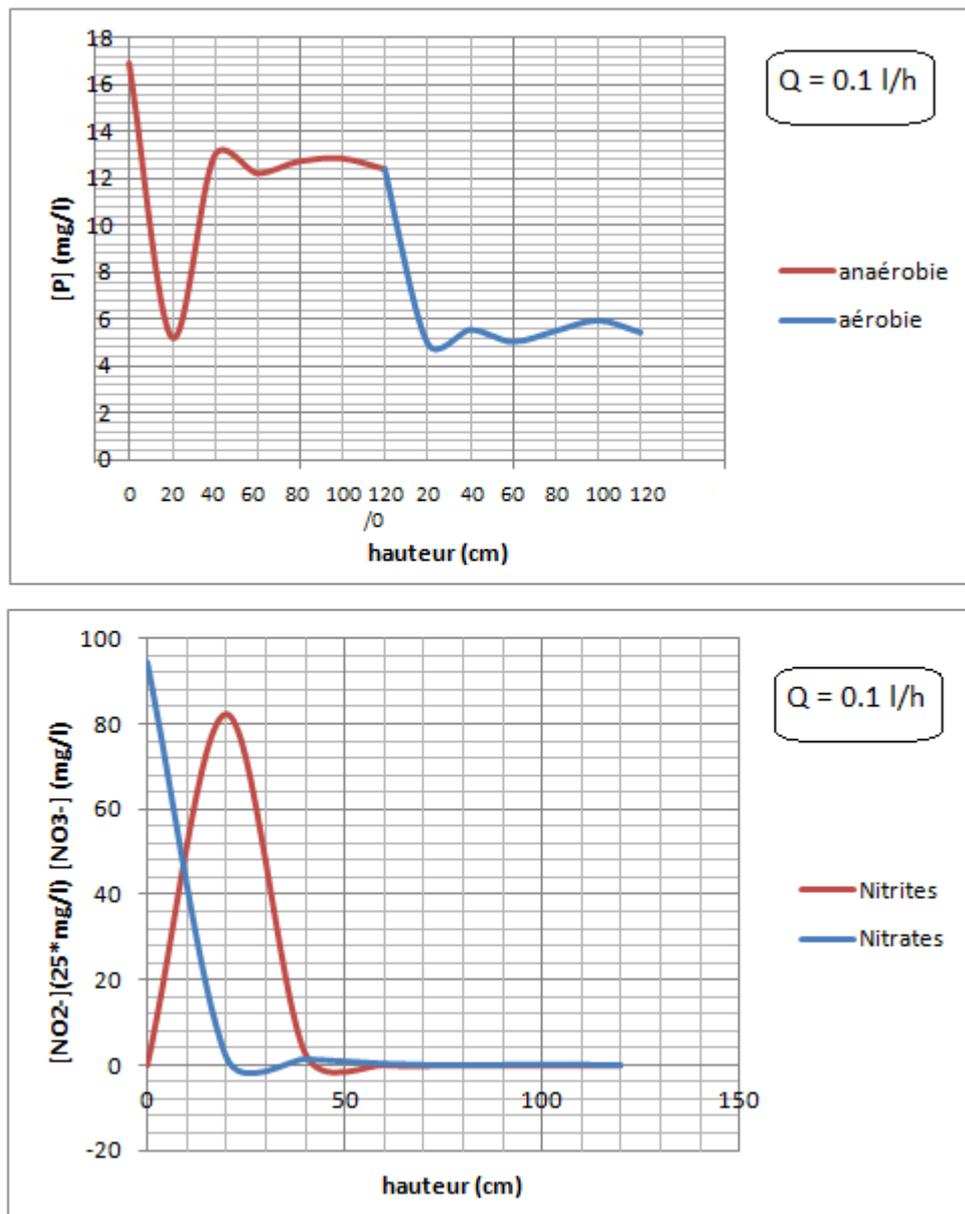


Figure 7.1.a : Evolution des [P] [NO₂⁻] [NO₃⁻] en fonction de la hauteur pour un débit de 0.1 L/h

Il existe divers types de bactéries déphosphatantes : les bactéries dénitrifiantes non déphosphatantes, les déphosphatantes dénitrifiantes et les déphosphatantes non dénitrifiantes (**Comeau 1990.a**).

Lorsque les dénitrifiantes non déphosphatantes sont présentes dans la zone anaérobie et que des nitrates s'y trouvent, elles entrent en compétition directe avec les déphosphatantes pour la matière organique disponible (l'acétate), elles consomment la matière organique sans pouvoir accumuler les phosphates.

Les déphosphatantes dénitrifiantes ont un métabolisme aérobie puisque les nitrates remplacent l'oxygène comme accepteur d'électrons (**Kuba et al., 1996,1997a**) et accumulent le substrat sous forme de PHA.

Ces deux groupes de bactéries interviennent sur les 20 premiers centimètres du réacteur (voir **Figure 5.1.a**). Ceci se traduit par une consommation des nitrates et disparition des nitrites d'où l'abatement en phosphore qui diminue de (16.88 à 5.23 mg/l) soit un pourcentage de 69%.

Les déphosphatantes non dénitrifiantes conservent un métabolisme anaérobie puisqu'elles sont incapables d'utiliser les nitrates comme accepteur d'électrons, et sont donc responsables du relargage des phosphates observé au-delà des 20 cm.

Au-delà des 40 cm, nous n'observons pas de relargage supplémentaire qui s'expliquerait par une faible colonisation du support par la biomasse.

En phase aérobie les déphosphatantes dénitrifiantes consomment le phosphore au-delà de leurs besoins métaboliques ; en effet les conditions favorables à la croissance reviennent avec l'aération, le phosphore est ainsi réassimilé par la bactérie pour ses besoins de croissance, l'énergie pour retransformer le phosphore en poly-phosphates provient en partie des réserves de PHA. Nous avons également constaté de la même manière une surconsommation de (7.38 mg/l en P) soit un pourcentage de 44 %.

La déphosphatation biologique est donc le résultat de deux phénomènes principaux comme mentionnés par **M. Silva (2008)** :

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

Donc, le fait de soumettre la biomasse à une séquence anaérobie/aérobie s'avère essentiel pour la déphosphatation biologique. Sans la présence de cette alternance on doit s'attendre à une très faible efficacité d'enlèvement du phosphore par la biomasse fixée.

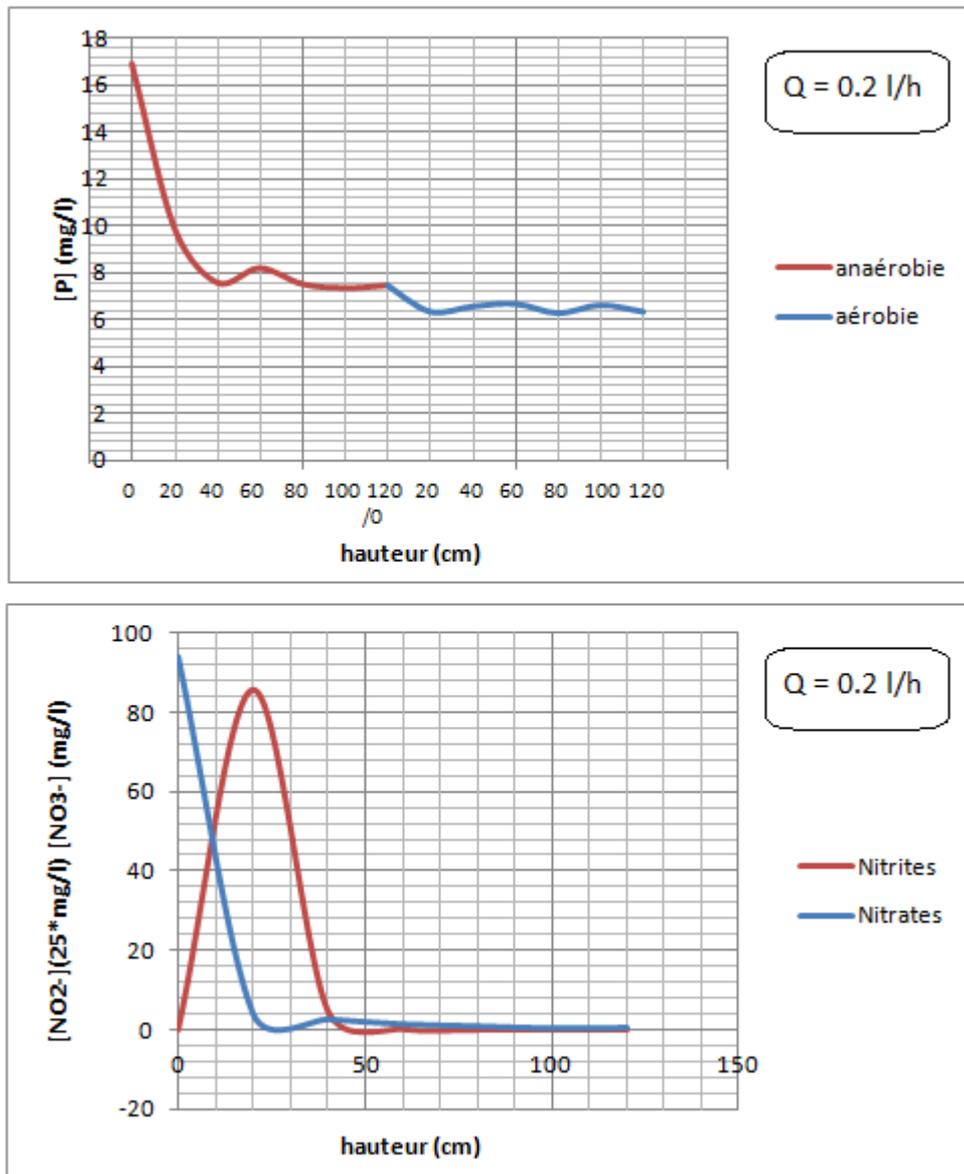


Figure 7.1.b : Evolution des [P] [NO₂⁻] [NO₃⁻] en fonction de la hauteur pour un débit de 0.2 L/h

Dans les 40 premiers centimètres, nous observons une forte diminution des phosphates parallèlement à une réduction considérable des nitrates avec apparition des nitrites. Par ailleurs le relargage après 20 cm n'est pas observé comme précédemment ceci est dû à la présence des nitrites en forte concentration (13.1 mg/l) inhibant l'activité des bactéries déphosphatantes.

Ces résultats corroborent les travaux de **Meinhold, Arnold & Isaacs (1999)** qui suggèrent que les nitrites interfèrent avec l'utilisation des PHA. Les micro-organismes n'ont plus la capacité de relarguer le phosphore et par voie de conséquence d'assimiler le phosphore (Voir **figure 7.1.b**).

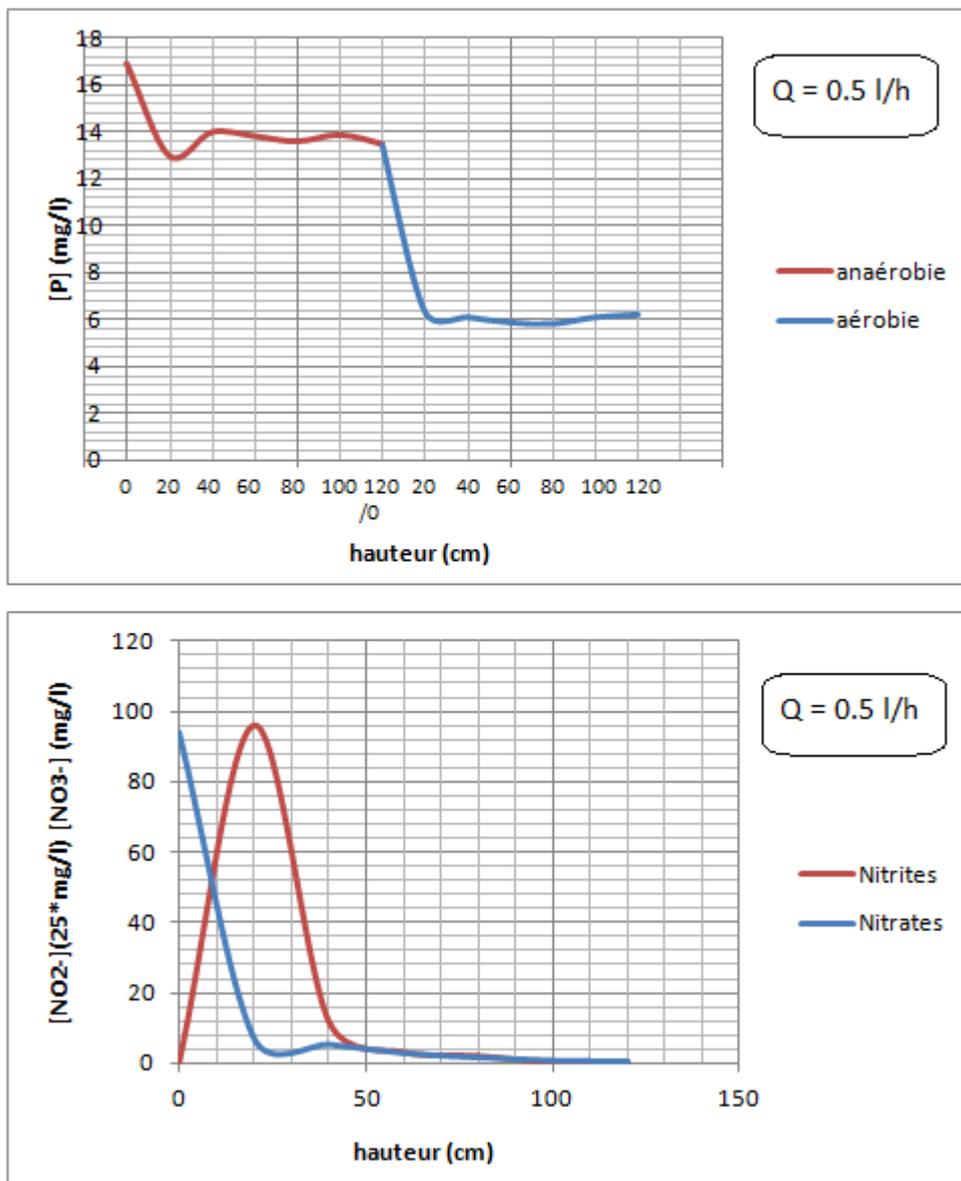


Figure 7.1.c : Evolution des $[P]$ $[NO_2^-]$ $[NO_3^-]$ en fonction de la hauteur pour un débit de 0.5 L/h

Lorsque le réacteur fonctionne à 0,5m/h, sur les quarante premiers centimètres, le relargage est perturbé par la présence des nitrites, cependant la réabsorption du phosphore en quantités importante (42 %) est observé en phase aérobie. Nous pouvons expliquer, ce résultat obtenu en phase anaérobie par un échantillonnage effectué précocement ; en effet le passage de la vitesse 0,2 m/h à 0,5m/h nécessite une durée d'adaptation des microorganismes beaucoup plus longue. Les prélèvements effectués en phase aérobie après une période de fonctionnement suffisamment longue ont permis d'observer une suraccumulation du phosphore.

De la **figure 7.1.c**, nous pouvons également remarquer que :

La courbe d'évolution des nitrates en phase anaérobie indique une forte activité de dénitrification : les nitrates sont totalement consommés.

La dénitrification se situe dans les 40 premiers centimètres, cela s'explique par l'influence de la vitesse sur la réaction de dénitrification.

Pour la suite de notre travail, nous avons opté pour le débit de 0.5 L/h, non pas pour le rendement élevé obtenu avec ce débit mais par peur de perturber le système qui nécessite un temps d'adaptation plus long.

Sur le **Tableau 7.1**, sont affichés les valeurs de relarguage, des rendements de consommation ou réabsorption et des rendements de déphosphatation correspondants aux différents débits.

Tableau 7.1 : Influence de la vitesse sur les différents rendements dans le réacteur

	Rendement du relarguage		Rendement de consommation		Rendement de déphosphatation	
	(mg/L)	(%)	(mg/L)	(%)	(mg/L)	(%)
Q=0,1 L/h	7,71	45,67	7,38	43,72	11,43	67,71
Q=0,2 L/h	0,62	3,67	1,12	6,63	10,52	62,32
Q=0,5 L/h	1,01	5,98	7,09	42	10,64	63,03

Les graphes nous permettront d'en savoir d'avantage sur le rendement du relarguage, le rendement de consommation et le rendement de déphosphatation pour chaque débit.

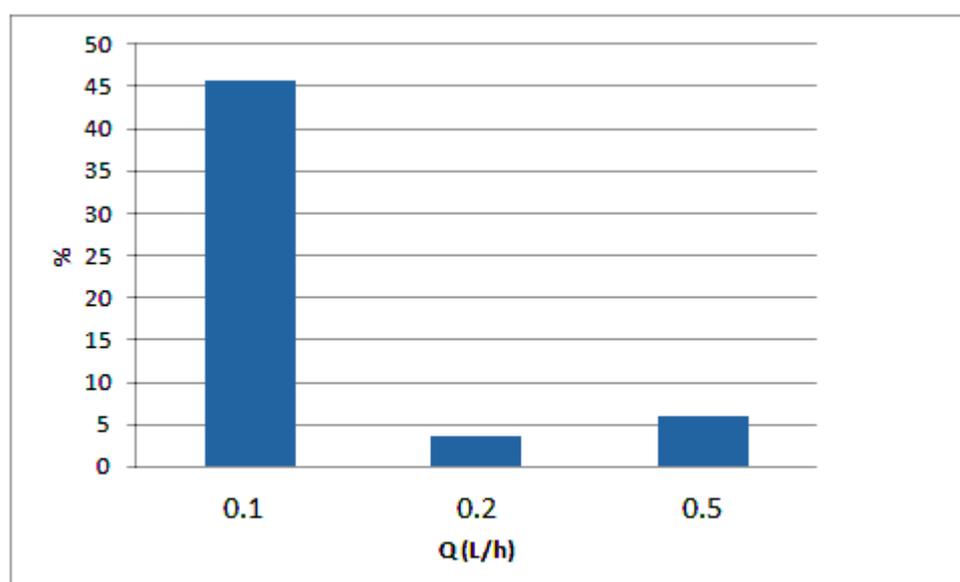


Figure 7.2.a : Rendement du relarguage pour les débits (0.1 – 0.2 – 0.5) L/h

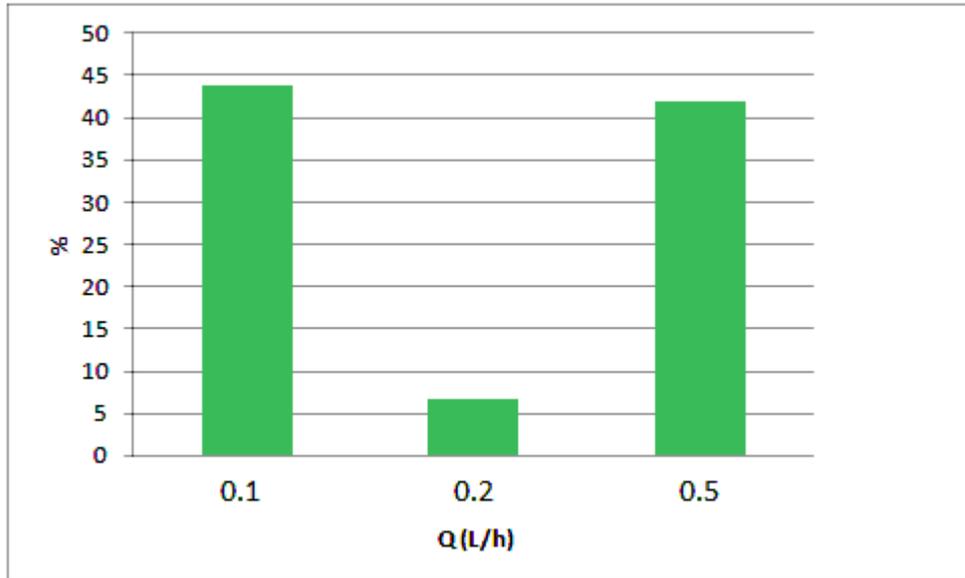


Figure 7.2.b : Rendement de consommation pour les débits (0.1 – 0.2 – 0.5) L/h

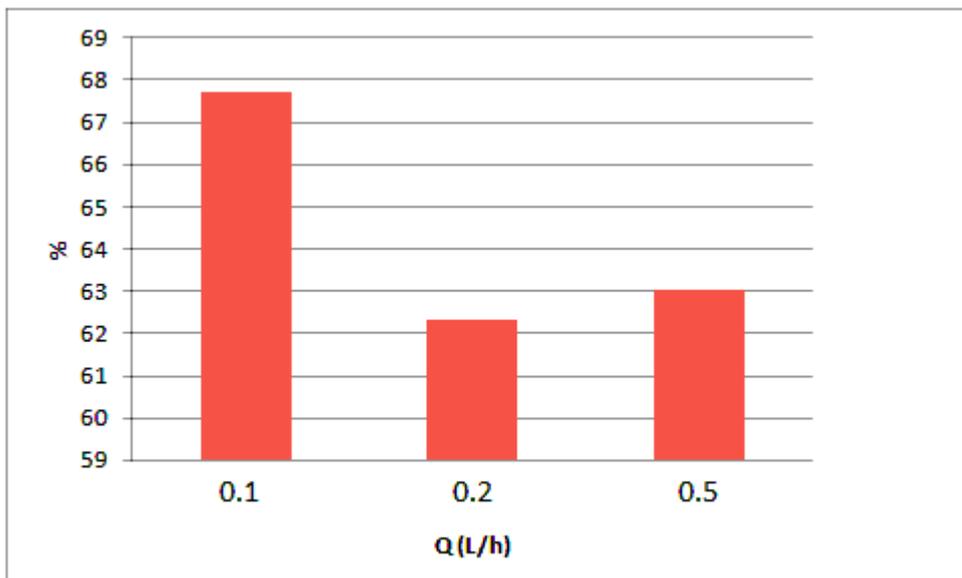


Figure 7.2.c : Rendement de déphosphatation pour les débits (0.1 – 0.2 – 0.5) L/h

D'après les figures (7.2.a, 7.2.b, 7.2.c), nous constatons que le meilleur relargage a été enregistré pour un débit de 0.1 L/h, ceci s'explique par l'adaptation rapide des bactéries à un faible débit, chose qui favorise la dénitrification et donc la déphosphatation.

La réabsorption du phosphore est nettement meilleure pour les débits de 0.1 et 0.5 L/h.

7.3 Influence de la concentration initiale en phosphore sur le rendement de la déphosphatation

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

Pour ce faire, nous avons fait circuler à flux ascendant l'alimentation à différentes concentrations en phosphore (40 mg/l et 60 mg/l) en fixant la concentration des nitrates à 100mg/l. La concentration d'acétate utilisée est équivalente à 300 mg/l d'acétate.

Les résultats sont présentés sur les Figures (7.3.a, 7.3.b)

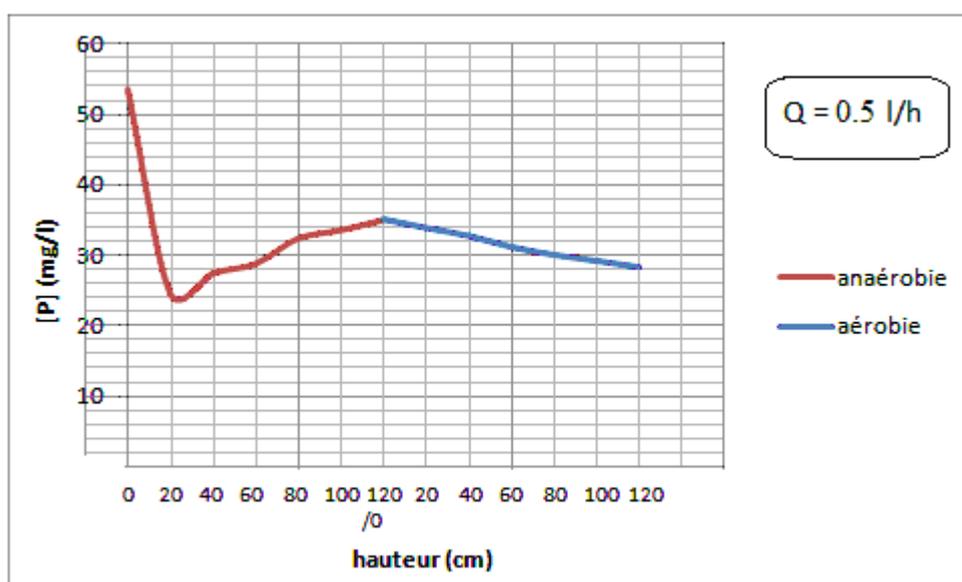


Figure 7.3.a : Evolution des [P] en fonction de la hauteur pour $[P]_i = 60 \text{ mg/l}$

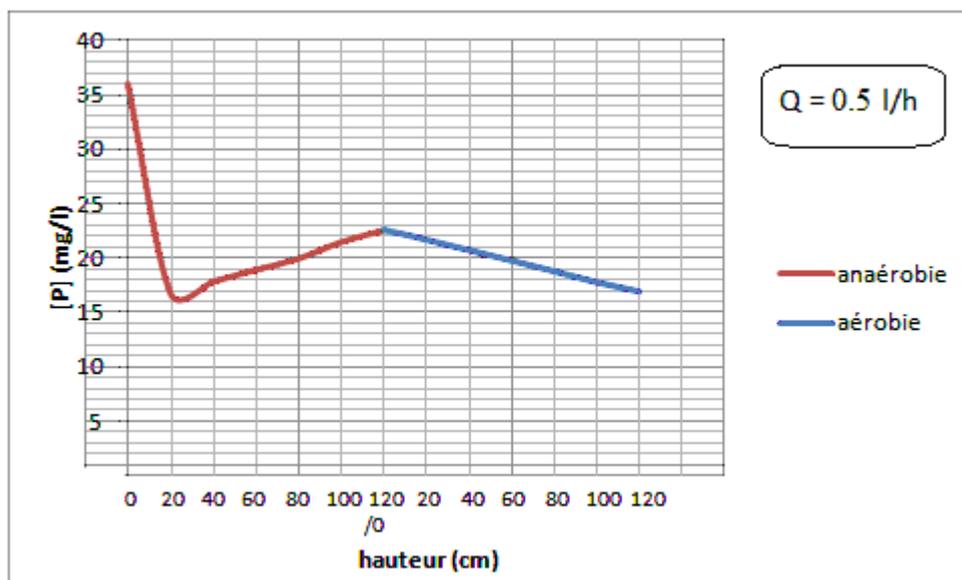


Figure 7.3.b : Evolution des $[P]$ en fonction de la hauteur pour $[P]_i = 40 \text{ mg/l}$

Tableau 7.2 : Influence de $[P]_i$ sur les différents rendements dans le réacteur

	Rendement du relargage		Rendement de consommation		Rendement de déphosphatation	
	(mg/L)	(%)	(mg/L)	(%)	(mg/L)	(%)
$[P]_i = 60 \text{ mg/L}$	10.46	17.43	6.81	11.35	25.44	42.4
$[P]_i = 40 \text{ mg/L}$	5.75	15.98	5.63	15.65	19.02	52.9

De la même manière nous observons une consommation du phosphore dans les 20 premiers centimètres que l'on attribue à l'activité des bactéries dénitrifiantes. Le profil des phosphates est similaire à celui obtenu pour la concentration de 20 mg/L (**Figure 7.1.c**).

Au-delà des 20 premiers centimètres il se produit un relargage progressif jusqu'à une hauteur de 1.20 m suivi d'une consommation moindre en phase aérobie comparativement au résultat précédent.

Les bactéries dénitrifiantes non-déphosphatantes s'ajoutent aux déphosphatantes dénitrifiantes et aux déphosphatantes non-dénitrifiantes. Dans les 20 premiers centimètres la présence des dénitrifiantes non déphosphatantes permet la dénitrification, elles entrent en compétition directe avec les déphosphatantes pour l'acétate.

Le fait de consommer la matière organique laisse moins de substrat aux déphosphatantes qui l'accumulent sous forme de PHA. On ayant moins de substrat une moins grande quantité de phosphate en solution est assimilée par les déphosphatantes non dénitrifiantes lors de la phase aérobie ou par les déphosphatantes dénitrifiantes lors d'une phase anoxie.

Ce résultat est illustré sur le tableau... suivant où on remarque que pour toutes les concentrations de phosphore utilisés (20, 40, 60 mg/L). La quantité de phosphore réabsorbée est pratiquement la même suite à la compétition des bactéries présentes vis-à-vis du substrat disponible : l'acétate.

Conclusion générale

L'objectif de ce travail était faisabilité d'un procédé de déphosphatation biologique par une culture fixée.

Pour cela, nous avons commencé par la réalisation de toutes les conditions favorables pour le développement d'une biomasse déphosphatante. Ensuite nous avons mis en évidence l'influence de la vitesse d'écoulement et de la concentration initiale en phosphore sur le rendement de la déphosphatation biologique.

Les essais effectués sur pilote de laboratoire avec un effluent synthétique à différentes vitesses (0,1 ; 0,2 ; et 0,5 m/h) ont permis d'avoir des rendements moyens de déphosphatation, de 65 % pour une concentration de 20 mg/L en phosphore. Des rendements de déphosphatation de 52 % et 42 % sont obtenus pour un effluent contenant des concentrations en phosphore de 40 et 60 mg/L respectivement et une vitesse de 0.5 m/h.

Donc le fait de soumettre la biomasse à une séquence anaérobie/aérobie s'avère essentiel pour la déphosphatation biologique et les résultats obtenus montrent que l'élimination biologique du phosphore sur biofilm est possible il est cependant important en présence de nitrates d'ajuster le substrat disponible (l'acétate) de manière à éviter la compétition des bactéries dénitrifiantes et des bactéries déphosphatantes vis-à-vis du substrat.

Références bibliographiques

A.E Durrant., M. D. Scrimshaw, I. Stratful, J. N. Lester (1999) : Review of the feasibility of Recovering Phosphate from Wastewater for use as a raw material by the Phosphate Industry, *Journal of Environmental Technology*, 20, p749-758

A. Mouranche, C. Costes (1985) : Hydrolases et dépolymérasés. Ed Gauthier-Villard, Paris.

Armel Guivarch (2001) : Valeur fertilisante à court terme du phosphore des boues de stations d'épuration urbaines, thèse de doctorat d'institut national de la recherche agronomique de Bordeaux, p 29-30.

Blandine Lemercier (2003) : La pollution par les matières phosphorées en Bretagne : sources, transfert et moyens de lutte, rapport de la direction régionale de l'environnement, p 4-6.

Claire Delamare, Delphine Faugeroux, Emmanuelle Goussot, Min Zhou (2010) : Adaptation de la station d'épuration Envermeu au traitement du phosphore, *AgroParisTech*, p21-22.

Claude Aubert (2007) : Le phosphore : élément essentiel à la vie mais avec un impact sur l'environnement lié aux activités humaines, *Tema n° 1*, p 10-11.

Cyril Gomella, Henri Guerrée (1983) : Les eaux usées dans les agglomérations urbaines ou rurales II. Traitement, Edition Eyrolles, p 84-85.

Cycle de kreps, site internet consulté en ligne en 2011 sur l'adresse suivante : http://www.enzyme.wikibis.com/cycle_de_krebs.php

Denis Pandolfi (2006) : Caractérisation morphologique et physiologique de la biomasse des boues activées par analyse d'images, thèse de doctorat l'institut national polytechnique de Lorraine, p 15-16.

Derlon Nicolas (2008) : Analyse de la compétition microbienne entre bactéries autotrophes et hétérotrophes au sein d'un biofilm éliminant l'azote, thèse de doctorat de l'université de Toulouse, p 12-13.

Duchemin J, Dufis J, Paris M (1988) : Nitrates et eaux d'alimentation, *TSM*, N°4, page181-191

EE. Cook, LP.Herning (1978): Shock load attenuation trickling filter. *J. Environ. Eng. Div. ASCE* 104:461-469.

F.Edeline (1980) :L'épuration biologique des eaux résiduaire (théorie et technologie), Édition CEBEDOC, p 90-91.

Frédéric Cabanes (2006) : Déphosphatation des effluents : précipitation et valorisation du phosphore, thèse de doctorat l'institut national polytechnique de Toulouse, p 30-31.

G. A.Ekama, I. P.Siebritz, G. V. R.Marais (1983): Considerations in the process design of nutrient removal activated sludge processes, *Wat. Sci. Tech.*, 15 283-318.

G. Deronzier, J.-M. Choubert (2004) : Traitement du phosphore dans les petites stations d'épuration à boues activées. Antony: Cemagref Editions, p 30-40.

Gérard Grosclaude (1999) : L'eau : usage est polluant, p 184.

CH.Yoon, SM.Suzuki (1990): Phosphorus removal from wastewater by using fixed biofilm under anaerobic and aerobic conditions, p. 501–503. IAWPRC 15th Biennial Conference, Kyoto, Japan.

G.Martin (1979) : Le problème de l'azote dans les eaux. Technique et Documentation.

G.Martin (1987) : Point sur l'épuration et le traitement des effluents (eau air), volume 3, p 245-249, (technique et documentation (Lavoisier) France).

Guide des analyses en pédologie (1992) : 2 eme édition revue et augmentée, p 126128.

Isabelle Beaudin (2006): La mobilité du phosphore, rapport du centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec.

Jean-claude Lacaze (1996) : L'eutrophisation des eaux marines et continentales. Ellipses éditions, p191-193.

Jean-François Haulon (2008) : le phosphore : limiter l'impact sur l'environnement, article du département agronomie-machinisme de la chambre d'agriculture.

Jean-Luc Laurent (1994) : L'assainissement des agglomérations : techniques d'épuration actuelles et évolutions, p 100-110.

Jean-Luc Laurent (1999) : Réduction de l'azote et du phosphore contenus dans les eaux usées urbaines, document réaliser par les agences de l'eau et le Ministère de l'environnement, p 10-12.

Jean Rodier (2009) : L'analyse de l'eau, 9 e Édition, p 336-337.

Julien Némery (2003) : Origine et devenir du phosphore dans le continuum aquatique de la seine des petits bassins amont a l'estuaire : Rôle du phosphore échangeable sur l'eutrophisation, thèse de doctorat de l'université paris VI, p 6-10.

Kuba, Van Loosdrecht Mc.M, et Heijnen J (1996) : Phosphorus and nitrogen removal with minimal COD requirement by integration of denitrification, dephosphatation and nitrification in a two-sludge system. *WatRein*, 30(6), 1702-1710.

Laurent Julien (2006) : Etude du fonctionnement d'un réacteur à lit fluidisé et à alimentation séquentielle, thèse de doctorat de l'université de Limoges, p 2-3.

Lenntech Purification et traitement de l'eau Holding B.V : (1998,2009), "Phosphore_P Propriétés chimiques - Impact du phosphore sur la santé - Impact du phosphore sur l'environnement." Site internet consulté en ligne en 2011 à l'adresse: <http://www.lenntech.com/fran%C3%A7ais/data-perio/P.htm>

Liu, W. T., Mino, T., Matsuo, T., Nakamura, K., (1996): Biological phosphorus removal processes effect of pH on anaerobic substrate metabolism, *Wat. Sci. Tech.* 34 (1-2) 25-32.

Maria do Carmo Lourenço da Silva (2008): effet de variabilité de fractionnement de la pollution carbonée sur le comportement des systèmes de traitement des eaux usées par boues activées, thèse de doctorat l'institut national polytechnique de Lorraine, p 14-15

Marie-Line Daumer (2007) : Analyse des transformations du phosphore lors du traitement biologique et physico-chimique des lisiers de porc en vue d'un recyclage, thèse de doctorat de l'institut national des sciences appliquées de Toulouse, p 22-25.

Marie-Odile Ratel (2000) : Elimination des nitrates des eaux, document technique publié par l'Office International de l'Eau.

M. Frédéric SÉGURET (1998) : Etude de l'hydrodynamique des procédés de traitement des eaux usées à biomasse fixée : Application aux lits bactériens et aux biofiltres, p 55-56.

M. Wagner, A. Loy, R. Nogueira, U. Purkhold, N. Lee, H. Daims (2002); Microbial community composition and function in wastewater treatment plants, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 81:665-680

N.Bornnard, M-T.Brondeau, M.Falcy , D.Jargot, O.Schneider, P.Serre (2007) : Fiche toxicologique FT 100, institut national de recherche et de sécurité pour la prévention des accidents de travail et des maladies professionnelles

O.Wanner, H. Eberl, E.Morgenroth, D. Noguera, C. Picioreanu, B.Rittmann, and M. Van Loosdrecht (2006) :Mathematical modelling of biofilms. IWA Scientific and Technical Report No.18, IWA Publishing, ISBN 1843390876.

R.F. Gonçalves, F.Rogalla (1992): Continuous biological phosphorus removal in a biofilm reactor. *Water Sci. Technol.* 26:2027–2030.

R. W. William, E. Henry (1987): Hemicellulose digestibilité by steers fed cured hay and drum- dehydrated Alfafa and Coastal Bermuda grass. *J. Agric. Food. Chem.*, , 35, 698-704..

Richard Villemuri, Yves Comeau et Grant Vandenberg (2009) : développement d'un traitement biologisue de bassin d'eau en circuit fermé pour l'enlèvement du phosphore, document de recherche N° 2009.2, p 1-3.

Rithya Caroline Ky (1999): Modélisation de l'enlèvement du phosphore d'un effluent agro-alimentaire traité par réacteur biologique, thèse de doctorat de l'école polytechnique de Montréal, p 11-14.

S. Gonzalez-Martinez, PA.Wilderer (1991): Phosphate removal in a biofilm reactor. *Water Sci. Technol.* 23:1405–1415.

S. Pilet. Les parois cellulaires: Structure et fonctions cellulaires. Ed Masson (1971).

Sébastien Devidal (2007) : solutions curatives pour la restauration de lacs presentant des signes d'eutrophisation, Master environnement de l'université de Rouen, p 5-7.

Sébastien Sauvé, Carmen Donisa, André G. Roy, François Courchesne, Claudine Boyer, Marie-Claude (2007): Turmel, Matthieu FrançoisCaractérisation de la dynamique du phosphore dans une pisciculture de salmonidés en étangs, Rapport final préparé pour la Pisciculture Pierre Vézina et la SORDAC.

Tanja Baljic- Zelovic et Roland Leduc (2002) : L'enlèvement biologique du phosphore dans les technologies à biofilm : une synthèse de la problématique, *Water Quality Research Journal of Canada*, Volume 37, No. 2, 327–351.

Van Loosdrecht, CM. Hooijmans, D. Brdjanovic, JJ.Heijnen (1997): Biological phosphate removal processes. *Applied Microbiology and Biotechnology* 48, 189-296.

Vincent PORRES : Fédération nationale de l'industrie des engrais.

Yves Comeau (1997) : Procédé et conception de filière de déphosphatation biologique (Ecole Polytechnique de Montreal,Canada) :journée internationale d'étude des eaux, p 5-6.

Zanoni (1976): Phosphorus uptake by biological slimes. *J. Environ. Eng. Div. ASCE* 102:1229–1237.

Liste des annexes

Annexe 1 : Dosage des Nitrates (NO_3^-)

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

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

Appareil : Spectrophotomètre UV-Visible.

Réactifs :

1. Réactif sulfophénique :

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

2. Ammoniaque.

Mode opératoire :

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

Annexe 2 : Dosage des Nitrites (NO_2^-)

Méthode au réactif de diazotation (Norme AFNOR NF T 90 013)

Principe: Les nitrites réagissent avec le Sulfanilamide pour former un composé diazoïque qui, après copulation avec le N1 Naphtyléthylènediamine dichlorure donne naissance à une coloration rose mesurée à 543nm.

Appareil : Spectrophotomètre UV-Visible.

Réactifs

1. Réactif de diazotation

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

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

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

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

Mode opératoire

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

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

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

Appareil : Spectrophotomètre UV- Visible

Réactifs :

1. Réactif Mixte :

Heptamolybdate d'ammonium 13 g.

Eau distillée 100 ml.

Tartrate d'antimoine 0.35 g.

Eau distillée 100 ml.

Acide sulfurique pur 150 ml

Eau distillée 150 ml.

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

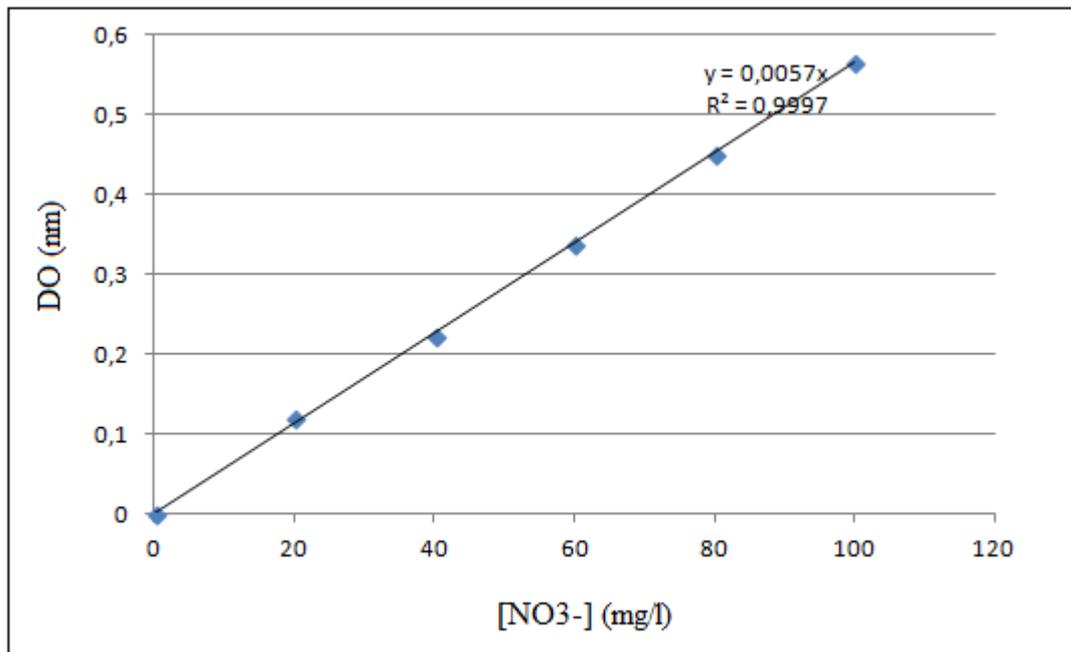
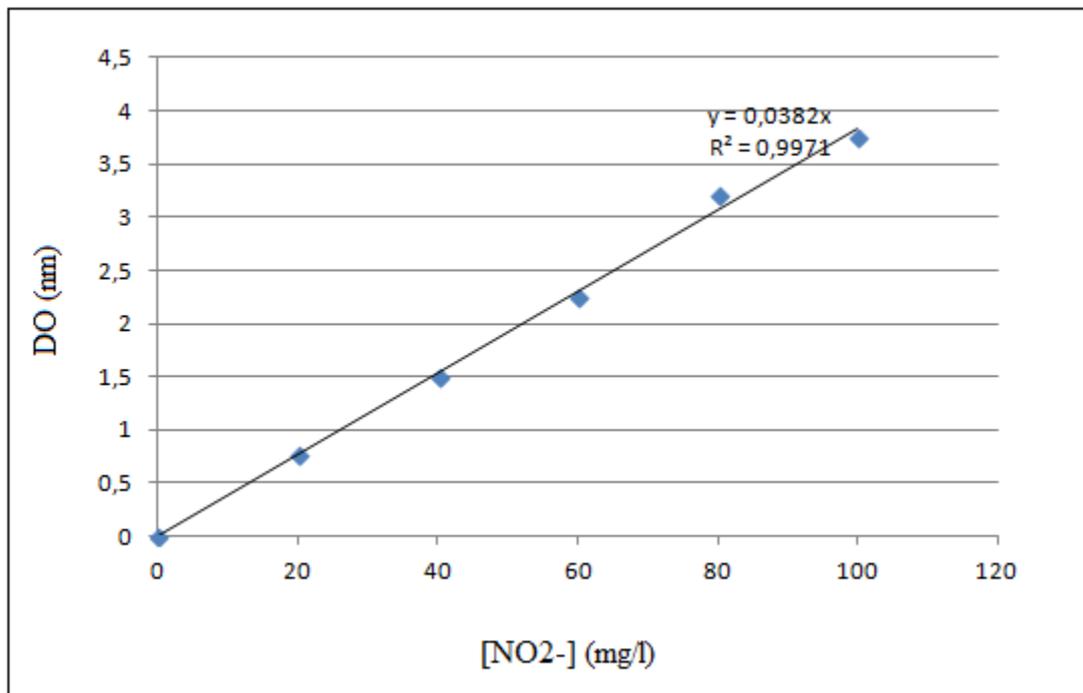
2. Acide ascorbique à 10 % :

Acide ascorbique.....10g.

Eau distillée100ml.

Mode opératoire :

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

Les courbes d'étalonnage :**Figure 1 : courbe d'étalonnage des nitrates****Figure 2 : courbe d'étalonnage des nitrites**

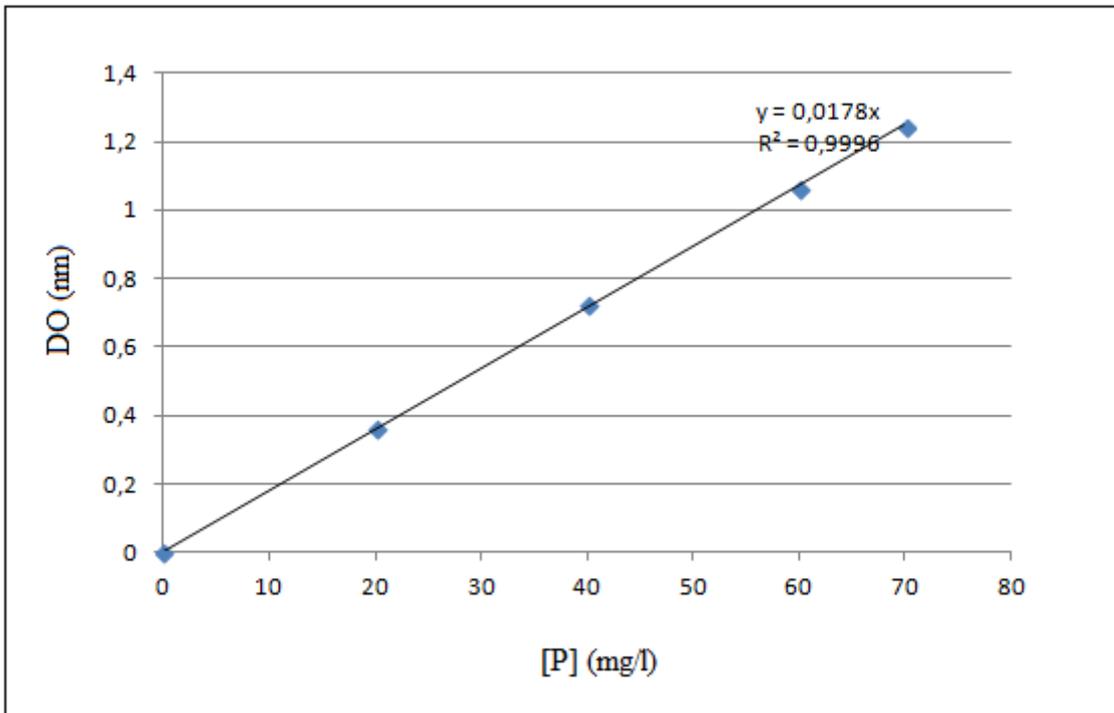


Figure 3 : *courbe d'étalonnage du phosphore*

Annexe 4 : Caractéristique physico-chimiques du grignon d'olive

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

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

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

Tels que :

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

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

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

Le taux de cendres est défini par :

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

Tels que :

m_0 : masse de grignon d'olive.

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

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

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

La porosité est calculée par la relation suivante :

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

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

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

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

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

$$d_r = M_0 \cdot \rho / (P_2 - P_1)$$

Tels que :

M_0 : Masse du produit à analyser (g).

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

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

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

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

$$d_{ap} = M_0 / V$$

Tels que

$M_0 = M_2 - M_1$ Avec :

M_0 : Masse du grignon d'olive

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

M_1 : Masse de l'éprouvette vide (g).

V : Volume de l'éprouvette = 10 ml.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم إمكانية استخدام ثفل الزيتون كوسيلة لدعم تثبيت البكتيريا الهوائية الاختيارية "الديفوسفاتية" المشاركة في عملية نزع النتروجين. في هذه الدراسة تم تحسين العوامل (سرعة التدفق وتركيز الفوسفات) من أجل معرفة تأثيرها على إزالة الفوسفور البيولوجي بواسطة البيوفيلم.

الكلمات المفتاحية:

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

Résumé

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

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

Mots clés :

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

Abstract

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

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

Keywords:

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