

Etude des échanges d'azote minéral entre les gels de polyacrylamide et une solution minérale nutritive dans un réacteur biologique de nitrification

BOUAOUN Dunia, AOUN Jawad
Université libanaise, Faculté des sciences II
BP 90656, Fanar, Jdeidet el Metn - Liban
Tél. : 961 3 120976 - 961 3 326455 ; e-mail : aounjawad@hotmail.com

Nous avons étudié la nitrification par voie biologique dans un réacteur triphasique. Au départ, nous avons effectué une sélection des bactéries nitrifiantes à partir d'une solution de boues activées. Cette dernière a été prélevée du bassin d'aération d'une station d'épuration des eaux usées. Ensuite, les bactéries ont été fixées sur un support de polyacrylamide afin de nitrifier des solutions minérales riches en ammonium.

Le suivi analytique de l'élimination de l'ammonium, des nitrites et de la production des nitrates montre un rendement de 98 à 99 % par jour.

Les supports retiennent une quantité importante d'azote minéral présent dans le réacteur. Les échanges de substrats et d'autres éléments minéraux sont permanents entre le gel et la solution. Ainsi, lorsque la concentration en azote ammoniacal diminue dans le milieu de culture, une partie du substrat retenu par le support sera libérée dans la phase liquide, et ce jusqu'à épuisement de l'ammonium du réacteur.

Mots clés : Nitrification, gel de polyacrylamide, échange minéral, réacteur aérobie, bactéries nitrifiantes, ammonium, nitrates, traitement des eaux usées.

We have conducted a study concerning the nitrification in a three phases biological reactor. First, a selection of the nitrifying bacteria was done by using an activated sludge taken from the biological and aerated tank at the waste water treatment plant. Then the nitrifying biomass selected was fixed on a granulated polyacrylamid gel to convert ammonia into nitrate. The chemical analyses show that 98 to 99 per cent and per day of ammonia were converted into nitrate. The immobilisation media absorbs a large quantity of ammonia and nitrates in the reactor. Substrate exchanges and other inorganic elements are continuous between solution and gel. In this way, when ammonia concentration decreases in the solution, a part of substrate absorbed by the media is released in solution until totally ammonia exhausting from reactor.

Keywords : Nitrification, polyacrylamid gel, mineral exchange, aerobic reactor, nitrifying bacteria, ammonia, nitrate, waste water treatment.

INTRODUCTION

L'importance de la composante bactérienne dans l'écologie des écosystèmes aquatiques est étudiée depuis plusieurs années, ainsi que la fixation des micro-organismes et l'étude de leur activité (Kamer et Fuhrman, 1991 ; Rodriguez et coll. 1992 ; Christon, 1997 ; Bouaoun, 2001). Les différents supports souvent utilisés ont été des matériaux particuliers hydrophobes. Leur application avait pour objectif l'amélioration du rendement d'activité et l'augmentation de la fréquence de la division cellulaire (Audic, 1984).

Il est certain que la fixation confère aux bactéries des avantages particuliers, surtout lorsqu'elles sont placées dans un environnement défavorable à leur croissance.

Les bactéries nitrifiantes sont peu exigeantes du point de vue nutritionnel puisqu'elles peuvent se développer dans un milieu minéral simple.

Cette recherche comporte trois objectifs :

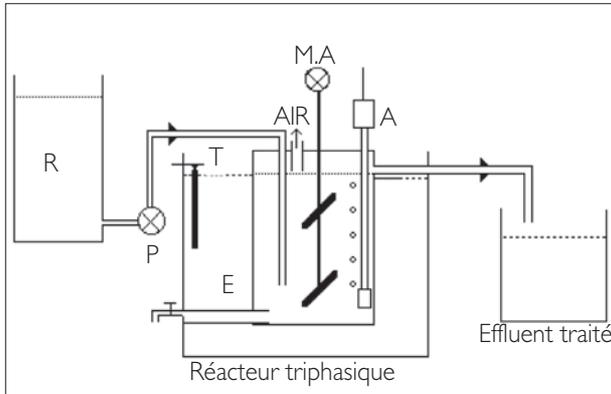
- développer une culture de bactéries nitrifiantes à partir des eaux usées prélevées du bassin biologique d'une station d'épuration classique ;
- utiliser des gels de polyacrylamides comme supports bactériens hydrophiles. Ces propriétés de rétention de l'eau et des sels minéraux nous ont conduit à l'étude de la fixation des bactéries nitrifiantes et de la nitrification dans des bioréacteurs ;
- décrire les flux d'échanges des substances minérales (ammonium et nitrates) entre le gel et le milieu liquide qui l'entoure afin de comprendre la particularité de ce support bactérien utilisé.

La fixation des bactéries sur les polyacrylamides et le suivi de leurs activités nitrifiantes ont été effectués afin de vérifier les propriétés physico-chimiques et hydrodynamiques de ce support bactérien lorsqu'il est immergé dans un réacteur biologique.

Matériel et méthodes

Description de l'installation

L'installation est composée de quatre unités identiques composant chacune un bioréacteur. La figure 1 décrit une unité de traitement de l'installation.



R : réservoir - P : pompe péristaltique - A : aérateur - MA : moteur agitateur - T : thermostat
E : eau

Figure 1 : Description d'une unité de traitement de l'installation expérimentale.

Le bioréacteur est triphasique (O_2 , gel, milieu de culture) et constitue la partie principale de l'installation. Il comprend une cuve cylindrique de 10 litres en plexiglass et un moteur agitateur permettant un brassage régulier de la culture. Le fond de la cuve possède un robinet qui sert à prélever les échantillons pour analyses et le haut, une surverse qui conduit l'effluent nitrifié vers le décanteur. Un diffuseur d'air permet une aération suffisante de la culture. Le taux d'oxygène dissous est maintenu entre 4 et 8 $mg.L^{-1}$.

Le bioréacteur est placé dans un bain thermostaté. La température de la culture est maintenue à $27^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$. L'effluent est acheminé vers le réacteur à l'aide d'une pompe péristaltique. Le débit d'entrée est de $90 mL.h^{-1}$.

Le temps de séjour est de 4 jours ; le volume réel étant de 8,8 litres.

Description du support

Le support utilisé est un gel de polyacrylamide anionique sous forme de cristaux gélatineux de granulométrie $1 < \varnothing < 2$ mm et de dimensions non sphériques. Il est doté d'une surface rugueuse et d'une matière active dont le constituant de base est l'acrylamide.

L'acrylamide est copolymérisé par l'acrylate de sodium en présence d'un agent réticulant pour donner un polymère faiblement chargé (figure 2).

La densité du gel est de 1,05 ; il est maintenu en suspension dans le réacteur.

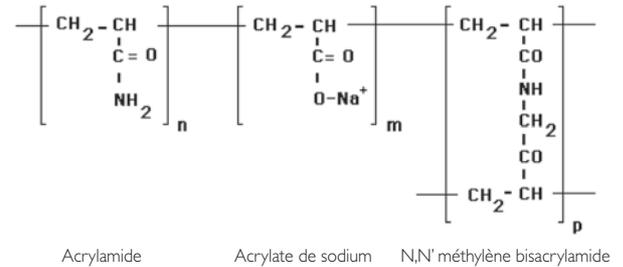


Figure 2 : Structure du gel anionique.

Paramètres mesurés

Les méthodes d'analyses sont celles décrites par les normes Afnor.

Les paramètres suivis sont les suivants :

— azote Kjeldahl : sa détermination permet le dosage des composés non oxydés de l'azote. Il a été mesuré au début et en fin de chaque culture en présence des boues activées.

— ammonium $N-NH_4^+$; nitrites $N-NO_2^-$; nitrates $N-NO_3^-$. Ces trois paramètres ont été mesurés tout au long de l'expérimentation.

— oxygène dissous, température et pH. L' O_2 dissous a été mesuré par oxymètre (Oxy-thermomètre double Ponselle, type O2T2-CE à étalonnage semi-automatique). La température a été fixée à $27^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ à l'aide d'un bain thermostaté dans lequel a été placé le bioréacteur. Le pH de la culture a été maintenu dans une zone favorable à une activité nitrifiante optimale (entre 7 et 8).

— matières minérales et matières organiques. La quantité de matières organiques fixées sur le gel a été calculée à partir de la concentration en matières volatiles par gramme de matières sèches totales appliquée au volume total du gel. La valeur obtenue a ensuite été corrigée pour la quantité de matières volatiles que représente le gel lui-même.

Les mesures ont été effectuées régulièrement (toutes les 24 à 72 heures) pendant toute la durée des essais.

Composition de la solution nutritive utilisée

Pour développer une culture riche en bactéries nitreuses (Nitrosomonas par exemple), nous avons ajouté au milieu des ions ammonium et des oligo-éléments nécessaires à la multiplication cellulaire et à la formation de l'édifice bactérien. Pour faciliter l'adaptation des bactéries aux conditions du milieu, la concentration de l'ammonium dans l'effluent d'entrée était faible au début de l'expérience puis elle a été augmentée progressivement en fonction du rendement d'oxydation.

Mode opératoire

Les étapes d'expérimentation sont les suivantes :

1. Le support a étéensemencé par des boues activées (3 g d'hydrorétenteur par litre de solution). La culture a été alimentée par la solution minérale enrichie en ammonium dont la concentration en azote ammoniacal était de $100 mg.L^{-1}$ avec un débit de $90 mL.h^{-1}$.

Dans le but de suivre de plus près la croissance des bactéries nitrifiantes et afin d'éviter le lessivage des bactéries existantes, la culture a été maintenue en batch (incubation avec alimentation en discontinu) au départ pendant 17 jours. Un suivi analytique a été effectué pour étudier l'oxydation de l'azote ammoniacal en azote nitreux puis nitrique.

2. Après avoir développé une culture nitrifiante à partir des boues activées, nous avons procédé à la séparation de l'hydrogel qui est le support gélifié par la solution de boues activées et le milieu nutritif enrichi en ammonium. Ainsi, le support colonisé a été remis dans la cuve propre alimentée en continu avec la solution minérale dont la concentration en $N-NH_4^+$ était de 20 mg.L^{-1} . Cette concentration a été augmentée de 20 mg.L^{-1} tous les 15 jours jusqu'à atteindre 100 mg.L^{-1} de $N-NH_4^+$.

Résultats et discussion

L'oxydation de l'azote ammoniacal a été suivie d'une production de nitrites et de nitrates. La figure 3 qui concerne les étapes de démarrage du réacteur (culture en batch) montre l'existence de quatre phases successives :

1. Un temps de latence jusqu'au 5^e jour ;
2. Jusqu'au jour 11, une production de nitrites très supérieure à celle des nitrates puisqu'une augmentation de leur concentration a été observée alors qu'ils sont simultanément consommés par les bactéries nitratantes pour la formation de nitrates ;
3. Du jour 11 au jour 13, une compensation de la production en nitrites par leur utilisation pour la production de nitrates qui se traduit par un plateau ;
4. Une intensification de l'activité des bactéries nitratantes au point que tous les ions nitrites étaient utilisés au fur et à mesure de leur production.

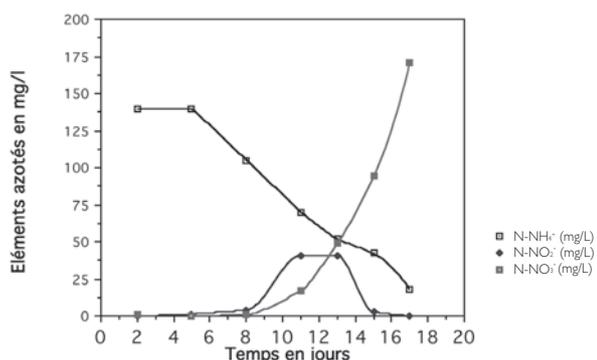


Figure 3 : Evolution de la nitrification dans le réacteur au départ de l'expérimentation lors de la culture en batch.

Il est à noter dans ces résultats la particularité de la phase 2 au cours de laquelle il semble que l'activité des bactéries nitreuses (*Nitrosomonas*) ait été plus intense que celle des bactéries nitratantes (*Nitrobacter*). Ce résultat est contraire à l'observation souvent rapportée d'une rapidité plus grande

de la nitrification vis-à-vis de l'étape de nitritation (Martin 1980 ; Gilles et Bourdon 1985 ; Grasmick et Faup, 1987). Il faut noter cependant que cette observation a généralement été faite lors des phases d'équilibre des réacteurs et non, comme dans notre cas, lors du démarrage des cultures.

Au cours de cette étape, le pH passe de 7,8 à 5,6. Cette diminution est due à la libération des ions H^+ dans le milieu suite à l'oxydation de l'ammonium en nitrites.

Après 10 jours, environ 98 % du NTK disparaît dans le milieu dans le cas d'une culture en continu.

Les valeurs d'azote mesuré correspondent aux concentrations dans la phase liquide du bioréacteur.

Lorsque le support colonisé a été remis dans le bioréacteur avec alimentation en continu par le milieu nutritif minéral (dont la concentration en $N-NH_4^+$ était de 20 mg.L^{-1}), un relargage d'une partie de nitrates retenus par le gel lors de la culture précédente (culture en batch) a été observé dans la phase liquide ($N-NO_3^- = 53 \text{ mg.L}^{-1}$). Cette valeur a diminué avec le temps pour atteindre 25 mg.L^{-1} au 14^e jour.

La figure 4 montre les concentrations en nitrates dans le bioréacteur qui doivent s'établir en correspondance avec les 40 et 60 mg.L^{-1} de $N-NH_4^+$ de l'alimentation (cette concentration d'équilibre s'établissait d'ailleurs systématiquement au-dessus de la concentration en $N-NH_4^+$ dans le réacteur).

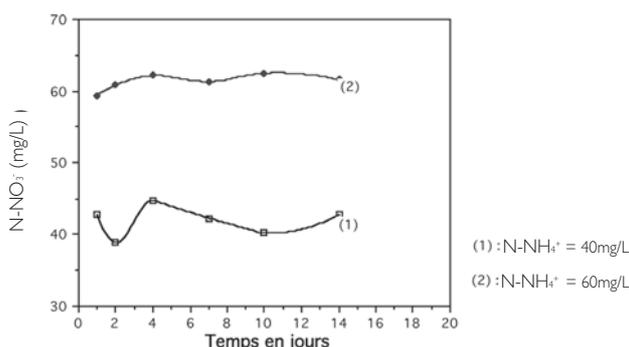


Figure 4 : Suivi d'activité des boues activées dans le réacteur alimenté en continu avec le milieu nutritif enrichi en ammonium.

Les figures 4 et 5 montrent l'évolution de l'activité nitrifiante pour les différentes concentrations en $N-NH_4^+$ de la solution nutritive. Elles font toutes apparaître deux phases successives, l'une pendant laquelle se produit une augmentation de la concentration en $N-NO_3^-$, l'autre correspondant à une stabilisation de cette concentration.

Bien qu'il soit difficile dans ce cas d'établir les courbes moyennes d'évolution des nitrates, la figure 5 (courbe 1) montre une augmentation de leur concentration (point 1 jour) par rapport au dernier point (point 13 jours) de la figure 4 (courbe 2). Ce décalage traduit un relargage de nitrates par le gel dans le milieu de culture après son remplacement progressif par du milieu nutritif frais (de concentration en $N-NH_4^+$ de 80 mg.L^{-1}). Il est à noter cependant que cette concentration est voisine de celle de l'ammonium du milieu nutritif avec lequel le réacteur est alimenté à ce stade.

La courbe 2 de la figure 5 qui concerne l'injection dans le réacteur de milieu nutritif contenant 100 mg.L^{-1} de N-NH_4^+ apparaît d'emblée très différente de celles des cultures précédentes par l'absence de phase plateau. Cette phase est remplacée par une phase de décroissance de la concentration en nitrates qui traduit probablement une inhibition de l'activité bactérienne consécutive à une concentration excessive des ions ammonium et nitrates. La concentration en nitrites est restée nulle dans la phase liquide du bioréacteur. La quantité de matières organiques fixée sur le gel mesurée était de l'ordre de 2,12 %.

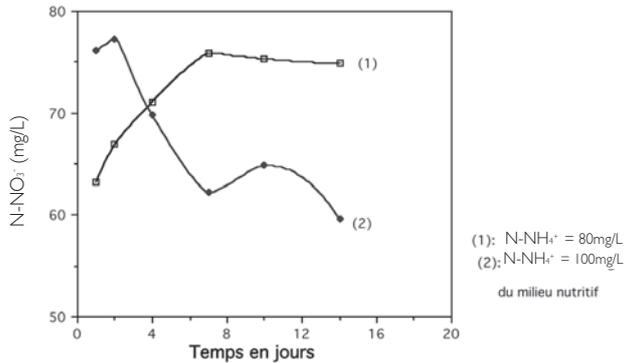


Figure 5 : Suivi d'activité dans le réacteur dans le cas d'une concentration initiale du milieu nutritif en N-NH_4^+ de 80 et 100 mg/L .

Il est intéressant de revenir ici sur l'interprétation des niveaux auxquels s'établissent les plateaux de stabilisation des productions en nitrates des cultures. Nous avons noté en effet que pour les cultures alimentées par du milieu nutritif à 40 et 60 mg.L^{-1} en particulier, ce plateau s'établit à une concentration en N-NO_3^- supérieure à celle de la concentration en N-NH_4^+ de la solution d'alimentation des cultures. L'hypothèse que nous formons à propos de ces résultats est la suivante : les différents flux qui régissent les échanges entre les compartiments du système étudié (gel, phase liquide et milieu extérieur au réacteur) peuvent être résumés dans l'équation suivante (voir aussi figure 6) :

$$\frac{dN}{dt} = Qc_e + F_b + F_{gr} - f_{ga} - Qc_s$$

Où :

Q est le débit d'entrée du milieu nutritif égal au débit de sortie de la solution du réacteur (L.j^{-1})

c_e est la concentration en N-NH_4^+ du milieu nutritif à l'entrée du réacteur (mg.L^{-1})

c_s est la concentration en N-NO_3^- à la sortie du réacteur (mg.L^{-1})

F_b est le flux de nitrates produits par les bactéries (mg.L^{-1})

f_{ga} est le flux d'ammonium absorbé par le gel (mg.L^{-1})

F_{gr} est le flux de nitrates relargué par le gel (mg.L^{-1})

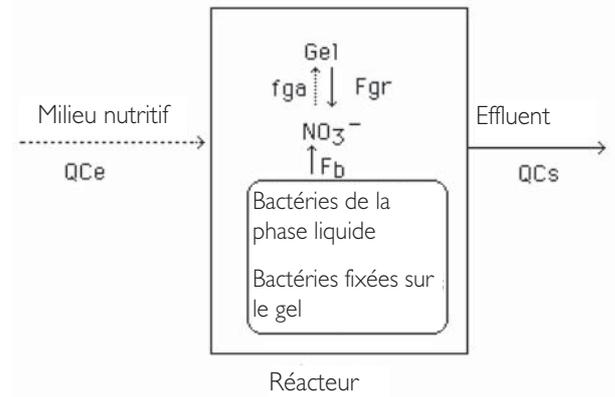


Figure 6 : Représentation schématique des échanges de nitrates entre le gel et le milieu de culture.

Les deux périodes qui apparaissent dans chacune des deux figures 4 et 5 de l'évolution du flux de nitrates en sortie du réacteur doivent être analysées séparément.

La première est une phase d'accroissement du flux en nitrates à la sortie du réacteur qui suit les changements imposés à l'entrée du réacteur (augmentation du flux par augmentation de la concentration du milieu de culture en N-NH_4^+) au début de chaque expérimentation (rappelons qu'elles correspondent au passage de la concentration du milieu de culture de 40 à 60 puis 80 puis 100 mg.L^{-1}).

Cet accroissement et la durée totale de cette phase répondent pour partie au comportement d'un réacteur, alimenté en continu, parfaitement agité, dont on fait varier brutalement le flux d'entrée en N-NH_4^+ tel qu'il peut être décrit par le modèle simplifié suivant :

$$C = (C_0 - \frac{f_e}{Q}) e^{-\frac{t}{t_s}} + \frac{f_e}{Q}$$

Où :

C_0 est la concentration en nitrates au temps zéro (mg.L^{-1})

f_e est le flux d'azote ammoniacal à l'entrée du réacteur (mg.L^{-1})

t_s est le temps de séjour (j).

Les flux d'échanges entre liquide et gel ont volontairement été exclus du modèle parce qu'il s'agit des seuls termes pour lesquels l'attribution des valeurs numériques est la plus hypothétique. Nous avons considéré qu'il n'en était pas de même pour le flux de production en nitrates des bactéries (F_b) en faisant l'hypothèse qu'elles absorbent à chaque instant la totalité d'ammonium du flux d'entrée. La durée de cette phase précédant l'établissement d'un plateau est donc une fonction directe du taux de renouvellement du réacteur. La figure 7 donne deux exemples de cette évolution théorique du flux de sortie des nitrates du réacteur. Elle montre notamment que dans les deux cas, le délai d'apparition du plateau est le même, en correspondance avec la constance du taux de renouvellement (t_s) du réacteur dans toutes les expérimentations. On note cependant que ce délai théorique est toujours supérieur à celui observé sur les courbes expérimentales (figures 4 et 5).

Notre hypothèse est que dans les toutes premières heures de chacune des expérimentations, le gel absorbe de l'ammonium en réaction à l'augmentation de la concentration du milieu nutritif vierge et qu'en correspondance, il relargue une partie des nitrates qu'il a accumulés au cours de la culture précédente. Ce phénomène est exprimé par l'augmentation des concentrations en nitrates du flux de sortie du réacteur. Les délais d'apparition de la phase plateau sont ainsi respectivement réduits à 7, 11 et 8 jours pour les expérimentations des cultures alimentées par le milieu nutritif de concentration en $N-NH_4^+$ de 40, 60 et 80 $mg.L^{-1}$.

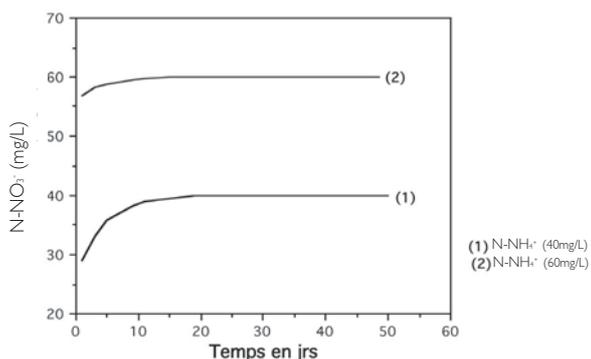


Figure 7 : Courbes théoriques des productions de nitrates par le réacteur alimenté en continu par le milieu nutritif enrichi en ammonium ($N-NH_4^+ = 40$ ou 60 mg/L).

Le modèle décrit précédemment montre également qu'à l'équilibre, le flux de sortie des nitrates devrait être égal au flux d'entrée en $N-NH_4^+$. Les courbes expérimentales (figures 4 et 5) montrent qu'en réalité, cette deuxième phase s'établit au-dessus du plateau théorique (au moins pour les expérimentations des cultures alimentées par le milieu nutritif de concentration en $N-NH_4^+$ de 40, 60 et 80 $mg.L^{-1}$). Cette deuxième phase du fonctionnement du réacteur débute lorsque la concentration en $N-NH_4^+$ de la phase liquide s'annule par le jeu combiné de cette rétention de l'ammonium par le gel, et de leur consommation par les bactéries nitrifiantes. A ce stade, l'augmentation de la concentration en nitrates de la phase liquide du fait de la production bactérienne a pour conséquence le début d'une phase de rétention de nitrates par le gel qui, en correspondance, relargue des ions ammonium. Notre hypothèse pour expliquer le niveau auquel s'établit le plateau est que lors de cet équilibre, les bactéries utilisent soit directement, soit à partir du relargage effectué par le gel, l'équivalent du flux d'entrée en $N-NH_4^+$, auquel s'ajoute un complément d'ions ammonium lui aussi relargué par le gel à partir du stock qu'il a constitué durant la phase initiale de la culture (phase durant laquelle le prélèvement direct des bactéries sur la ressource était négligeable).

En effet, ces gels sont munis d'un grand pouvoir de rétention d'eau et des éléments dissous proportionnellement aux concentrations du milieu environnant (Aoun J., Bouaoun D., 2003).

CONCLUSION

L'isolement et le développement des cultures bactériennes fixées ont montré une bonne accoutumance de ces dernières sur les polyacrylamides. L'intérêt de ces supports réside dans leurs caractéristiques physico-chimiques et hydrodynamiques. En effet, leur capacité de rétention du nutriment enrichi en ammonium assure les besoins des bactéries et assure leur bonne croissance. Ajoutons à cela que leur pouvoir de rétention des nitrates dans la solution évite une inhibition des bactéries par excès de substrat oxydé. Ainsi, les nitrates produits sont partagés en une partie libre dans la solution et une autre partie retenue par l'hydrogel. Le volume de l'hydrogel varie en fonction de la concentration du milieu en ions minéraux. Cependant, plus ce volume est développé, plus la surface disponible est importante. Il faut ajouter que même si le volume de l'hydrogel était faible, les bactéries se fixent à la surface en plusieurs couches de plusieurs μm d'épaisseur environ, formant ainsi un biofilm (Bouaoun, Aoun, 2001). En ce qui concerne les bactéries libres, elles présentent une activité nitrifiante assez importante. Le temps de séjour étant de 4 jours dans le bioréacteur, la biomasse produite compense la perte des bactéries acheminées vers le décanteur. Cependant, les bactéries fixées sur le support forment un biofilm de plusieurs microns d'épaisseur (Bouaoun, 2001). En effet, nous avons remarqué que seulement les bactéries disposées à la surface du biofilm se libèrent lors du lavage du support dans l'eau distillée ou bien lors du changement de la solution (Bouaoun, 2002). L'application de ce support à grande échelle, dans le traitement des eaux industrielles par exemple ou bien des effluents spécifiques riches en ammonium, demeure intéressante et réalisable.

Bibliographie

- Afnor (1986) : Eaux méthodes d'essai, éd. Afnor.
- Aoun J., Bouaoun D. (2003) : Etude des caractéristiques physico-chimique des gels de polyacrylamides. Déchets, Sciences et Techniques, n° 32, p. 37-43.
- Audic J.-M., Faup G.-M., Navarro J.-M. (1984) : Specific activity of Nitrobacter through attachment on granular media. Water Res., 18, (6), p. 45-750.
- Barker D.-J., Stucky D.-C. (1999) : A review of soluble microbial products (SMP) in wastewater treatment systems. Wat. Res., vol. 33, (14), p. 3063-3082.
- Bouaoun D. et Aoun J. (2001) : Etude en microscopie électronique et application d'une biomasse nitrifiante sur gels de polyacrylamide. Année biol., 40, p. 43-54.
- Bouaoun D., Aoun J. (2002) : Elimination des nitrites par bactéries fixées dans un réacteur biologique. Etude physico-chimique du support. L'Eau, l'Industrie, les Nuisances, n° 253, p. 63-69.
- Christon J.H. (éd.) (1997) : Manual of Environmental Microbiology, p. 894. ASM Press Washington, DC.
- Gilles P. et Bourdon Y. (1985) : Nitrification-dénitrification par bactéries fixées à la station d'épuration de Valbonne Sophia-Antipolis. L'Eau, l'Industrie, les Nuisances, 93 : p : 6-7.
- Grasmick A., Faup G.M. (1987) : Un pas en avant dans l'intensification des procédés biologiques : la biofiltration. Modélisation et mise en œuvre. Trib. Cebedeau 528 (40) p : 47-54.
- Kamer M., Fuhrman T. (1997) : Determination of active bacterioplankton : a comparison of universal 16 Sr RNA probes, autoradiography and nucleoid staining. Appl. Environ. Microbiol., 63 (4), p. 208-1213.
- Martin G. (1980) : Nitrification et dénitrification par bactéries fixées. Les filtres biologiques. Séminaire GRUTTEE.
- Rodriguez G.G. et al. (1992) : Use of fluorescent redox probe for direct visualization of actively respiring bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 58 (6), p. 1801-1808.
- Rostron W.M., Stuckey D.C., Young A.A. (2001) : Nitrification of high strength ammonia wastewaters : comparative study of immobilisation media. Wat. Res., vol. 35, (5), p. 1169-1178.