

ÉTUDE DE LA BIODÉNITRIFICATION SUR SUPPORT LIGNO-CELLULOSIQUE EN PRÉSENCE DE 4-ÉTHYLPHÉNOL

Rabaa Fdil*, El Kbir Lhadi* et Jean Morvan**

* Université Chouaib Doukkali (Maroc) - ** ENSCR

Les expériences de dénitrification effectuées ont montré que les microorganismes dénitrifiants sont très sensibles à l'action d'inhibiteurs tels que l'accumulation de nitrites ou la présence d'un toxique dans les eaux à dénitrifier. Ces expériences ont consisté à étudier l'effet de concentrations variées de p-éthylphénol sur la dénitrification biologique hétérotrophe, sur substrat cellulosique naturel (la canne de Provence). Les essais sont effectués en flacons ensemencés par un *inoculum* constitué de bactéries indigènes et contenant un substrat carboné, des nitrates, des phosphates et du bicarbonate de potassium, afin que les conditions de croissance bactérienne ne limitent pas la dénitrification. Des prélèvements sont effectués à différents temps, et les échantillons sont analysés pour un suivi de nitrates et de nitrites, et sont dosés en spectrophotométrie UV à 192,27 nm, lors du troisième essai où le p-éthylphénol est utilisé en tant que substrat organique.

En présence du substrat cellulosique, les faibles concentrations en p-éthylphénol (0,3 à 1 mg/L) n'affectent pas de manière significative le processus de dénitrification. Quand la concentration augmente, on constate un effet inhibiteur qui affecte les microorganismes responsables de la réduction des nitrites. Jusqu'à des concentrations de 600 mg/L de p-éthylphénol, la biomasse paraît s'adapter et la dénitrification est menée jusqu'à son terme. Une teneur de 800 mg/L est létale pour les organismes dénitrifiants. En présence de 4-éthylphénol (sans ajout de substrat cellulosique), les résultats obtenus sont comparables à ceux de l'expérimentation précédente ; on constate toutefois un effet inhibiteur de 4-éthylphénol qui se traduit par une diminution sévère du rendement de la dénitrification même à faible concentration avec une accumulation très élevée en nitrites (supérieure à 30 mg/L). Cette différence de comportement s'explique par l'adsorption de l'éthylphénol sur les copeaux de canne apportés par l'*inoculum*.

In some Moroccan areas, ground waters are contaminated with nitrates. The concentrations can reach 100 to 400 mg/L. Such ground waters are the only source for rural people daily demand. Therefore, it is needful to ensure a rustic denitrification treatment.

In the lab, a biodenitrification process has been studied using reed cellulose as carbon source and

reducing agent. Moreover, the denitrified water ($\text{NO}_3^- < 50 \text{ mg/L}$, $\text{NO}_2^- < 0,1 \text{ mg/L}$) contained organic matter. As the last step of treatment chain was chlorination, THMs were formed in levels higher as allowable.

So, reed and the effluent were extracted with organic solvents and a few organic compounds, especially phenols, were identified by gas chromatography coupled to the spectrometry of mass (GC/MS).

Therefore, the aim of this work was the study of the 4-ethylphenol effect on the biodenitrification. This molecule was present in both, reed and denitrified water.

Series of experiments has been conducted as described:

Experiment 1 : reference assay with reed cellulose, Experiment 2 : tests with reed chips and 4-ethylphenol, Experiment 3 : assays with 4-ethylphenol and without reed (table 3),

Some 250 mL vessels were filled with solution containing nutrients (nitrate and phosphate), the pH was adjusted at 7,5 with NaHCO_3 and NaOH . Then the solution was deaerated by nitrogen bubbling for 10 minutes and isolated from atmosphere through a water bath (figure 1). The yield of denitrification was calculated after analysis of nitrate and nitrite ions levels. The organic matter was evaluated from dissolved COD and 4-ethylphenol was quantified by UV spectrometry at 192,3 nm.

For the reference run, a full biodenitrification was observed after 36 hours (figure 2).

If 4-ethylphenol was added (experiment 2), the inhibition effect is detectable only for high concentrations, nitrite accumulation reached 9 and 19,5 mg/L respectively for 250 and 600 mg/L of 4-ethylphenol and the time for complete removal is longer. The lethal level seemed to be 800 mg/L (figure 3). In experiment 3, without reed chips, the dissolved organic matter coming from cellulose hydrolysis was in sufficient amount to allow the denitrification. Indeed, the theoretical amount of 4-ethylphenol necessary to reduce 1 mg of nitrate in gaseous nitrogen is 0,245 mg. Therefore, 4-ethylphenol at low concentrations was not responsible of biodegradation (figure 8).

Results show that the yield of nitrate removal was decreased (figure 6) and the nitrite accumulation was risen above 30 mg/L at low concentration of 4-ethylphenol (figure 7).

This behaviour may be explained by the adsorption of 4-ethylphenol on the reed chips and the nitrite accumulation. Then we measured the adsorption of 4-ethylphenol on the reed chips and found that 1g of organic matter solids adsorb approximately 40 mg of phenol (figure 10). The inhibitory power of nitrite was checked, by adding 10 or 40 mg/L of nitrite in experiment according to run 1. Biodenitrification was slowed down but occurred completely (figures 11 and 12). To conclude, this work shows that 4-ethylphenol is toxic for denitrifying biomass and affects the whole nitrate reducing chain. The reed cellulose can be able to adsorb 4-ethylphenol and then decrease the toxic effect ; the 4-ethylphenol is not biodegraded in our anoxic conditions. The release of adsorbed compounds may be responsible of short life time of continuous flow biodenitrification reactors.

INTRODUCTION

L'explosion démographique et le développement de l'agriculture et de l'industrie, depuis quelques décennies, ont modifié le cycle bio-géo-chimique de l'azote vers une production accrue de nitrates qui sont entraînés vers les eaux souterraines. Depuis quelques années, il a été observé une élévation lente mais inexorable et sans amorce de stabilisation de la teneur en nitrates des eaux souterraines et superficielles de certaines régions ; celle-ci est souvent liée au développement des élevages, à une fertilisation excessive des zones agricoles par les engrais, les fientes, fumiers (déjections + litières) et lisiers (déjections seules) divers, voire les boues de stations d'épuration (oxydation de l'azote organique et ammoniacal en nitrates). Les rejets des collectivités et occasionnellement de certaines industries (engrais chimiques azotés, oxydants) peuvent aussi concourir à l'enrichissement des eaux en nitrates.

Les projections actuelles montrent que d'ici 30 à 60 ans, à pratiques agricoles comparables, les concentrations maximales admissibles de nitrates dans les eaux souterraines seront largement dépassées. Il s'agit donc de réagir rapidement avant que le front des nitrates gagne l'ensemble des aquifères, en développant des techniques préventives, mais aussi en mettant à disposition des techniques curatives fiables, à mise en œuvre aisée et rapide.

C'est principalement dans ce but que des études ont été menées au Laboratoire de l'eau et de l'environnement [1]; elles ont consisté à mettre en œuvre une technique de dénitrification biologique hétérotrophe, appliquée à des eaux souterraines contenant des teneurs en nitrates supérieures ou égales à 100 mg/L. Ces études ont été basées particulièrement sur l'utilisation dans le procédé de la canne de Provence comme support et source de carbone pour les microorganismes dénitrifiants.

Durant la période de fonctionnement optimal de ce procédé, les eaux dénitrifiées produites répondent aux contraintes des normes de l'OMS [2] en ce qui concerne les teneurs résiduelles en nitrates et en nitrites ($\text{NO}_3^- < 50 \text{ mg/L}$, NO_2^-

$< 0,1 \text{ mg/L}$), mais les teneurs en matière organique sont relativement élevées et atteignent jusqu'à 10 mg O_2/L , en terme d'oxydabilité [1], dans l'eau traitée en réacteur dénitrifiant. Par ailleurs, et afin d'assurer l'innocuité bactérienne de l'eau traitée, un soin particulier est apporté à l'étape de la désinfection. Une chloration à l'eau de Javel effectuée en aval de la chaîne de traitement a permis d'améliorer la qualité physico-chimique des eaux dénitrifiées ; elle n'est cependant pas satisfaisante, des analyses fines ayant mis en évidence la présence de composés organochlorés, particulièrement les trihalométhanes, à des concentrations atteignant jusqu'à 67 $\mu \text{g/L}$ dans les eaux dénitrifiées [1]. La prévention de la formation des composés organochlorés, voir leur suppression, nécessite une meilleure connaissance des composés consommateurs de chlore à long terme et présents dans l'eau en fin de filière de traitement. L'étude qualitative, réalisée auparavant par Fdil et al. [3], de la fraction phénolique dans les eaux traitées et dans le substrat carboné, notamment la canne de Provence, a mis en évidence la présence d'une diversité de composés phénoliques forts consommateurs de chlore dont le 4-éthylphénol.

Le présent travail est la suite de l'étude décrite dans l'article « **La matière organique dans une filière de biodénitrification sur substrat ligno-cellulosique : composition, évolution et demande en chlore** » déjà publié dans la revue « *Déchets Sciences et Techniques* » [3]. L'objectif de ce travail est d'examiner l'influence, sur les performances dénitrifiantes du procédé hétérotrophe, de concentrations variables en p-éthylphénol. Ce composé phénolique a été choisi pour les raisons suivantes :

- À partir des informations recueillies après analyse qualitative [3], le 4-éthylphénol est la molécule phénolique la plus retrouvée dans les différentes étapes du traitement ;
- Les composés phénoliques à bas poids moléculaires tels que la vanilline, l'acide p-coumarique et l'acide férulique ont des effets inhibiteurs sur l'activité cellulolytique des bactéries. Selon Deschamps et al. [4], ces composés phénoliques semblent compromettre l'adhésion des microorganismes au substrat.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Essais en réacteur statique

Trois essais ont été menés en parallèle sur des unités de laboratoires, constituées de flacons teintés de capacité 250 mL, sous agitation discontinue et douce.

Essai 1 : cet essai, conduit en présence de la canne, dans un flacon n'ayant pas reçu de p-éthylphénol, a servi de témoin pour les tests, afin de vérifier l'influence sur la biodénitrification d'un apport croissant en p-éthylphénol.

Essai 2 : le procédé de dénitrification est conduit à différentes concentrations en p-éthylphénol et en présence du matériau ligno-cellulosique notamment la canne de Provence. Essai 3 : il est effectué à différentes teneurs en p-éthylphénol, employé en tant que substrat carboné, et après que sa biodégradabilité eut été auparavant vérifiée par la détermination, selon les normes Afnor [5], de sa demande biochi-

Tableau 1 : Composition de la solution nutritive pour préparer l'inoculum

Nutriments	Concentration (g/L)
Substrat carboné (canne)	10
KNO ₃	2
CaCO ₃	0,5
KH ₂ PO ₄	0,25
MgSO ₄ .7 H ₂ O	0,125
NaCl	2.10 ⁻³
FeCl ₃	5.10 ⁻⁵
FeSO ₄	5.10 ⁻⁵
CuSO ₄	5.10 ⁻⁵

mique en oxygène (DBO5).

Lors des essais effectués, plusieurs concentrations en p-éthylphénol ont été testées: 0,3; 0,6; 1; 250; 600 et 800 mg/L. Les trois premières correspondent aux teneurs susceptibles d'être rencontrées dans les eaux dénitrifiées, les secondes sont étudiées pour juger de l'inhibition [6].

La biomasse utilisée dans ces essais est une biomasse déjà constituée sous anoxie lors d'essais en régime dynamique en laboratoire. Cette biomasse a été développée à partir d'un prélèvement d'humus mis en présence d'une solution synthétique de nitrates. La composition de la solution nutritive pour préparer l'inoculum est indiquée au tableau 1 [7]. Après une période d'incubation de 15 jours, cet inoculum (tableau 2) est utilisé pour l'ensemencement des différents flacons. Une eau synthétique contenant du phosphate mono-potassique (7,2 mg/L) et di-potassique (9,2 mg/L)(servant également de tampon pour l'eau) ; NaHCO₃, 400 mg/L ; MgSO₄.7 H₂O, 5 mg/L et d'autres éléments à l'état de traces (FeCl₂, 0,5 mg/L ; CaCl₂, 0,5 mg/L ; KCl, 0,5 mg/L et CoCl₂, 0,1 mg/L) est introduite dans les différents flacons [8, 9]. Chaque flacon contient 200 mL de milieu synthétique et 50 mL d'inoculum pour un volume total d'eau à traiter de 250 mL. Dans chaque flacon, 50 mg KNO₃ (correspondant à 122,7 mg NO₃⁻/L dans 250 mL de solution) sont ajoutés en dernier lieu.

Afin de préserver l'anoxie du milieu réactionnel, établie par un dégazage à l'aide de l'azote pendant 5 à 10 min, chaque flacon bouché a été surmonté d'un tube en verre plongeant dans de l'eau distillée (figure 1). Le tableau 3 rassemble les caractéristiques des eaux à traiter lors des essais 1, 2 et 3.

Méthodes analytiques

Après un temps d'agitation court permettant d'homogénéiser le milieu, des échantillons ont été prélevés, à l'aide d'une seringue, et à différents temps

Tableau 2 : Caractéristiques de l'inoculum après 15 jours d'incubation

DCO mg/L	2250
MVS mg/L	238
NO ₃ ⁻ mg/L	non détecté
NO ₂ ⁻ mg/L	non détecté

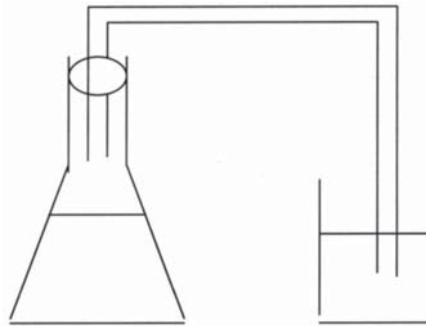


Figure 1 : Pilote de dénitrification

pour être immédiatement analysés. Les nitrates sont dosés par la méthode de réduction des nitrates en nitrites sur colonne de cadmium et dosage des nitrites, décrite dans Standard methods [10]. Les nitrites sont dosés par la méthode de spectrophotométrie, après diazotation, également décrite dans Standard methods [10].

Les analyses relatives à la biodégradation et à l'adsorption de 4-éthylphénol sont réalisées sur un spectrophotomètre à détection UV : Cary IE, UV.Visible et pour une longueur d'onde d'absorption maximale λ_{max} = 192,3 nm. La courbe d'étalonnage a été effectuée sur des solutions étalons de p-éthylphénol préparées dans de l'eau distillée.

La matière organique dissoute a été mesurée après filtration, sous forme de demande chimique en oxygène (DCO) selon les normes Afnor [5].

RÉSULTATS

La température et le pH étant deux paramètres déterminants pour les procédés biologiques, avant incubation à 25°C, le pH de chaque flacon est ajusté à 7,5 en utilisant une solution 10 N de NaOH.

Les nitrates résiduels sont exprimés et calculés comme l'indique l'équation (1) en fonction de l'azote total (N-NO_x) et de l'azote nitreux (N-NO₂) :

$$NO_3^- \text{ (mg/L)} = ((N-NO_x) \text{ mg/L} - (N-NO_2) \text{ mg/L}) \cdot 4,43 \quad (1)$$

Essai 1 : dénitrification en présence de substrat cellulosique

Le suivi de l'abattement en nitrates et des nitrites résiduels (figure 2) montre que :

- les nitrates sont enlevés à 100 % ;
- les nitrites augmentent au démarrage jusqu'à 1,8 mg/L,

Tableau 3 : Caractéristiques des eaux à traiter pour les essais 1, 2 et 3.

	Essai 1							Essai 2							Essai 3										
Volume total (mL)	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250	250		
Ethylphénol (mg/L)	0	0,3	0,6	1	250	600	800	0,3	0,6	1	250	600	800	0,3	0,6	1	250	600	800	0,3	0,6	1	250	600	800
Canne (mg/L)	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000	2000
NO-3 (mg/L)	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7	122,7
NO-2 (mg/L)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

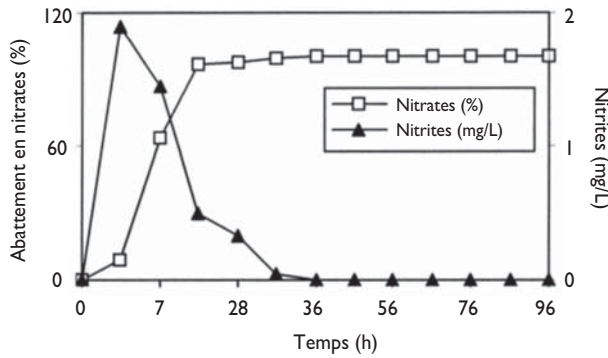


Figure 2 : Évolution des nitrites produits et de l'abattement en nitrates durant l'essai 1

puis disparaissent. Ce comportement est identique à celui observé dans les réacteurs en continu [1].

Essai 2 : dénitrification en présence de substrat cellulosique et de p-éthylphénol

Les évolutions de l'abattement en nitrates et des nitrites produits en fonction du temps ou des concentrations appliquées en p-éthylphénol sont rapportées respectivement aux figures 3, 4 et 5. Pour des concentrations en p-éthylphénol variant de 0,3 à 1 mg/L, on constate une phase préliminaire, environ une demi-heure après le démarrage, durant laquelle des problèmes particuliers aux procédés de dénitrification sont observés [11, 12] :

- augmentation progressive des rendements d'élimination des nitrates,
- production de nitrites atteignant jusqu'à environ 1,8 mg/L. Pour ces mêmes concentrations, les figures 3 et 4 permettent de constater une seconde phase, environ 28 heures après le démarrage des essais, durant laquelle la dénitrification ne semble pas être affectée par l'apport du p-éthylphénol :
- les rendements d'élimination des nitrates varient de 95 à pratiquement 100 %,
- les concentrations de nitrites atteignent une valeur normale qui est inférieure à 0,5 mg/L puis diminuent pour devenir nulles.

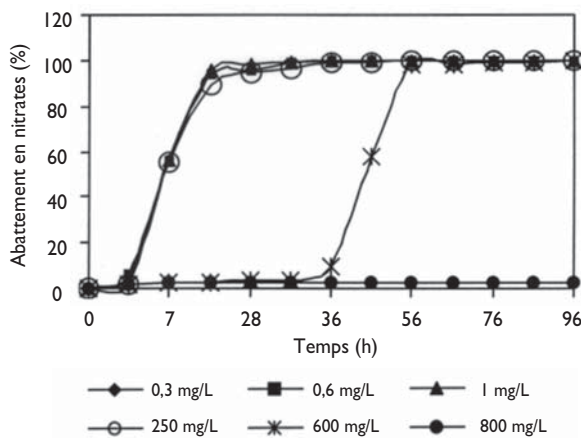


Figure 3 : Évolution de l'abattement en nitrates durant l'essai 2

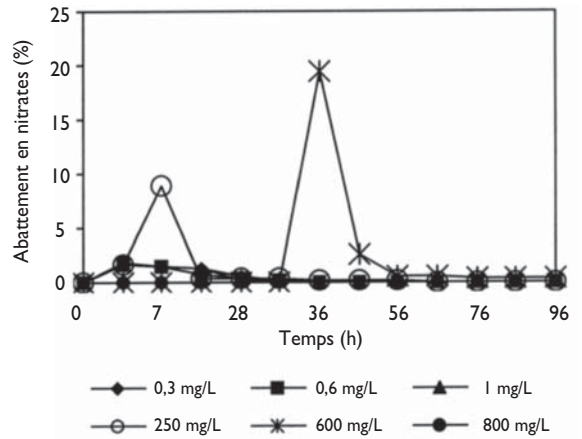


Figure 4 : Suivi des nitrites produits durant l'essai 2

Pour des concentrations variant de 250 à 600 mg/L, les performances dénitrifiantes du processus commencent à se détériorer :

- la production de nitrites est accrue (hausses fréquentes des concentrations de nitrites), elle atteint environ 9 mg/L, 7 heures après le démarrage, pour une concentration de 250 mg/L et environ 19,5 mg/L, 36 heures après le démarrage, pour une concentration de 600 mg/L en p-éthylphénol,
- concernant les nitrates, il a fallu environ 36 heures et/ou 56 heures, pour que 95 % des nitrates contenus respectivement dans les solutions à 250 et 600 mg/L soient éliminés. Au-delà de 600 mg/L, pour une teneur de 800 mg/L de p-éthylphénol, le suivi des nitrates et des nitrites en fonction du temps, montre que la réaction de dénitrification est totalement inhibée.

Essai 3 : utilisation du p-éthylphénol comme substrat

Les figures 6 et 7 montrent l'évolution de l'abattement en nitrates et des nitrites résiduels pour des concentrations en p-éthylphénol semblables à celles testées lors du second essai. Au premier examen des suivis en nitrites produits et en nitrates éliminés, nous pouvons noter que la dénitrifica-

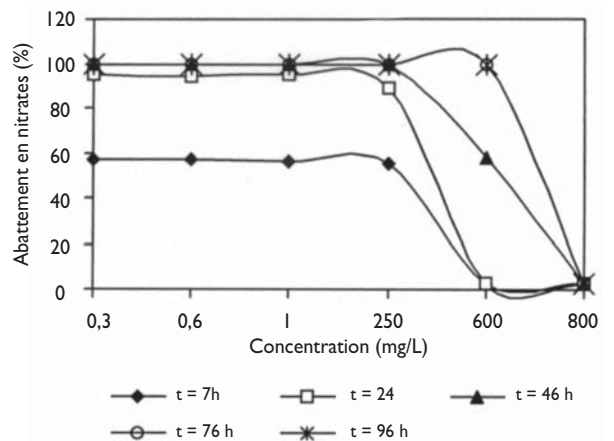


Figure 5 : Évolution de l'abattement en nitrates en fonction des concentrations en 4-éthylphénol à différents temps de fonctionnement de l'essai 2

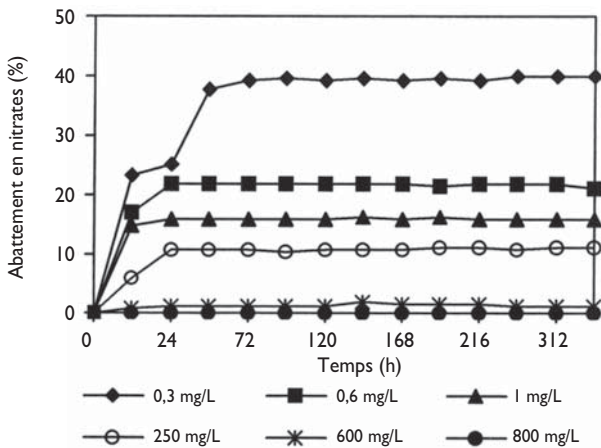


Figure 6 : Évolution de l'abattement en nitrates durant l'essai 3

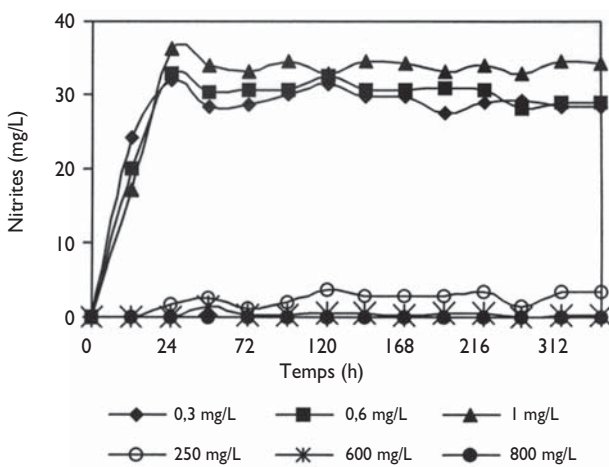


Figure 7 : Suivi des nitrites produits durant l'essai 3

tion est très affectée par la présence du p-éthylphénol en tant que substrat carboné. Pour des concentrations variant de 0,3 à 1 mg/L :

- les nitrates sont réduits avec des rendements qui ne dépassent pas 40 %,
- une forte production de nitrites est observée pendant les premières heures qui suivent le démarrage, ils atteignent jusqu'à 34,5 mg/L pour une concentration de 1 mg/L en p-éthylphénol, sans toutefois retrouver une valeur normale qui est inférieure à 1 mg/L.

A une concentration de 250 mg/L, on note également une mauvaise dénitrification :

- baisse du rendement d'élimination des nitrates qui est inférieur à 12 %,
- concentration en nitrites élevée, atteignant jusqu'à 3,5 mg/L et qui ne semble pas évoluer pendant le temps de l'expérimentation.

Au-delà de 250 mg/L, on constate un arrêt total de la dénitrification.

A côté de l'analyse réalisée pour les nitrates et les nitrites, une éventuelle biodégradabilité du p-éthylphénol est étudiée dans les mêmes conditions anoxiques de la dénitrification hétérotrophe. L'évolution de la concentration du p-éthyl-

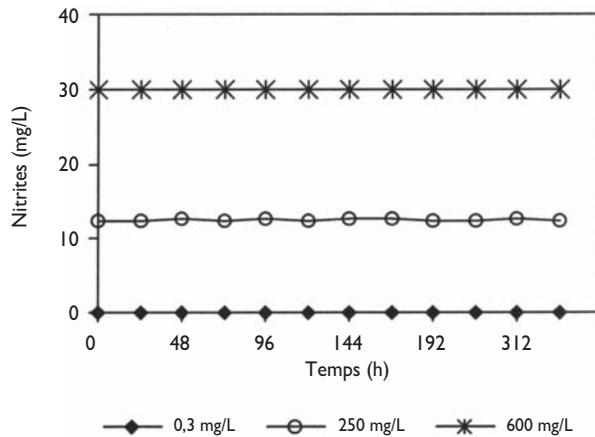


Figure 8 : Cinétique de biodégradation de 4-éthylphénol

phénol en fonction du temps est donnée à la figure 8. La stabilité du composé est ainsi prouvée.

DISCUSSION GÉNÉRALE

Essai en présence de substrat cellulosique et de p-éthylphénol.

Les faibles concentrations en p-éthylphénol ne modifient pas, de manière significative, le processus de dénitrification. Ce constat est rassurant en ce qui concerne sa viabilité puisque nous sommes dans un cas de figure représentant la situation réelle. Des concentrations plus élevées sont difficilement envisageables.

Pour avoir une idée de notre marge de manœuvre nous avons poursuivi l'étude avec des taux de contamination plus élevés.

Lorsque la concentration augmente de manière importante, nous pouvons constater un effet inhibiteur sur la dénitrification. Cette inhibition affecte la première étape de la dénitrification. La production maximale de nitrite, indice du démarrage du processus biologique [11, 12], est de plus en plus décalée dans le temps et la concentration en nitrites dans le milieu augmente d'autant.

Les microorganismes responsables de la réduction des nitrites sont donc inhibés par le p-éthylphénol puisque sa présence en grande quantité induit une accumulation de la forme nitrite intermédiaire.

Nous ne pouvons pas nous prononcer sur le temps de latence observé qui peut être expliqué aussi bien par l'inhibition des microorganismes responsables de la réduction des nitrates que par celle des bactéries cellulolytiques impliquées dans la dégradation du substrat ligno-cellulosique. Jusqu'à des concentrations de 600 mg/L de p-éthylphénol, la biomasse paraît s'adapter et la dénitrification est menée jusqu'à son terme.

La valeur de 800 mg/L semble être létale pour les organismes dénitrifiants.

Afin de vérifier l'adaptation de la biomasse au p-éthylphénol, l'essai à 600 mg/L a été repris dans les mêmes conditions expérimentales (tableau 3, essai 2). Après dénitrification

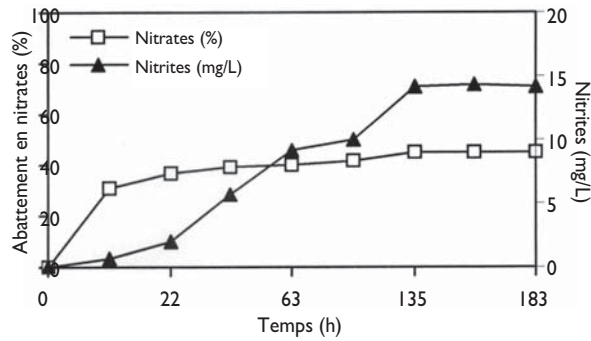


Figure 9 : Suivi des nitrites et de l'abattement en nitrates pour une teneur de 800 mg/L en 4-éthylphénol

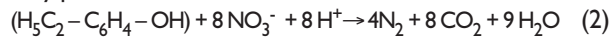
totale, 50 mg de p-éthylphénol (quantité nécessaire pour arriver à 800 mg/L), 122 mg de KNO₃ (correspondant à 299,6 mg NO₃⁻/L) et 1 gramme de substrat cellulosique sont rajoutés dans le flacon.

Les résultats obtenus (figure 9) montrent, qu'en présence de la nouvelle teneur en 4-éthylphénol (800 mg/L), la biomasse n'arrive plus à poursuivre une activité dénitrifiante normale. La dénitrification est inhibée 135 h après le démarrage. Durant cette période, il y a environ 45 % de nitrates éliminés et 14,25 mg/L de nitrites accumulés.

La valeur de DCO mesurée 183 heures après le démarrage étant de 1713 mg/L, nous confirmons ainsi que la teneur de 800 mg/L de p-éthylphénol est une dose létale pour les organismes dénitrifiants.

Essai sans ajout de substrat cellulosique

La première constatation vient du fait que l'*inoculum* ajouté apporte suffisamment de matière organique pour permettre une bonne dénitrification. En effet, l'équation théorique (2) de la réaction de dénitrification utilisant le 4-éthylphénol comme donneur d'électron montre que la réduction de 1 mg de nitrate en azote gazeux nécessite 0,245 mg de 4-éthylphénol :



Par ailleurs, les résultats obtenus sont comparables à ceux de l'expérimentation précédente. La différence constatée est relative à un effet inhibiteur du 4-éthylphénol qui se traduit par une diminution sévère du rendement de la dénitrification même à faible concentration avec une accumulation très élevée en ions nitrites qui dépassent 30 mg/L.

Les informations que nous pouvons tirer sont les suivantes : alors qu'en présence de copeaux de canne, l'inhibition n'est perceptible que pour des concentrations fortes, dans cette série d'essais elle se manifeste très tôt. Cette différence de comportement fait penser à une adsorption de l'éthylphénol sur le substrat cellulosique, le produit n'étant plus en contact avec la biomasse celle-ci reste active si la concentration reste raisonnable.

Tableau 4 : Essais d'adsorption de 4-éthylphénol sur la canne

4-Ethylphénol (mg/L)	0	20	50
Canne (mg /L)	500	500	500
Volume total (mL)	100	100	100

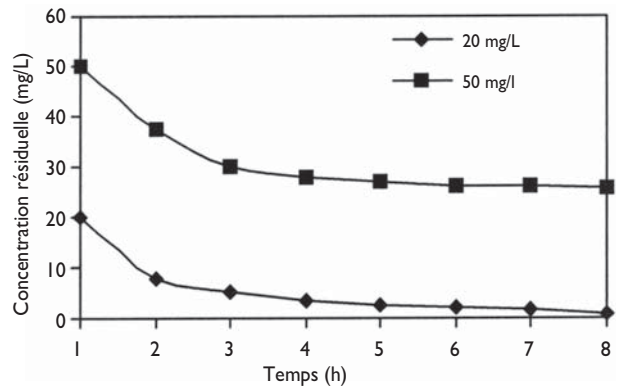


Figure 10 : Cinétique de biodégradation de 4-éthylphénol sur les copeaux de canne

Pour vérifier l'éventuelle adsorption de 4-éthylphénol sur les copeaux de canne de Provence, deux essais ont été effectués, utilisant deux concentrations de 4-éthylphénol: 20 et 50 mg/L d'eau distillée. Un blanc a été effectué dans les mêmes conditions (tableau 4); la valeur d'absorbance observée sur ce blanc est déduite des valeurs d'absorbances observées pour les solutions étudiées.

Les résultats obtenus (figure 10) montrent une diminution en fonction du temps de la concentration résiduelle en p-éthylphénol, confirmant ainsi l'hypothèse d'adsorption de 4-éthylphénol sur les copeaux de canne.

La production de fortes concentrations de nitrites paraît aussi inhiber la suite du processus de dénitrification. Il semble y avoir à la fois inhibition des enzymes responsables de la réduction des nitrates et de celles réduisant les nitrites intermédiaires.

Dans la littérature, plusieurs chercheurs ont étudié l'inhibition de la dénitrification en présence de forte concentration en nitrites [13]. Les résultats obtenus montrent qu'à priori, l'inhibition est due à la toxicité des nitrites accumulés [14, 15, 16 et 17]. Récemment, Glass et Silverstein [11] ont trouvé qu'à des valeurs de pH voisines de la neutralité (6 et 7), des concentrations en nitrites respectivement de 30 et 250 mg N-NO₂⁻/L peuvent inhiber la dénitrification.

Pour avoir une idée sur la contribution des nitrites accumulés à l'inhibition du processus de dénitrification, nous avons réalisé deux essais dans des conditions expérimentales semblables à celles des essais 1, 2 et 3 en utilisant deux concentrations en nitrites : 10 et 40 mg NO₂⁻/L, correspondant respectivement à 15 et 60 mg NaNO₂/L. Le tableau 5 indique les caractéristiques des eaux à dénitrifier au temps 0 h.

Tableau 5 : Caractéristiques des eaux à traiter à différentes teneurs en ions nitrites (Température = 25°C, pH = 7,5)

	250	250
Volume total (mL)	250	250
Canne (mg /L)	2000	2000
NO ₃ ⁻ (mg/L)	122,7	122,7
NO ₂ ⁻ (mg/L)	10	40

La figure 10 montre que pour la concentration de 10 mg NO₂⁻/L, la réduction des nitrates commence plus tôt qu'avec la concentration de 40 mg NO₂⁻/L. Par comparaison avec l'essai témoin (figure 2) la conversion des nitrates est moins rapide

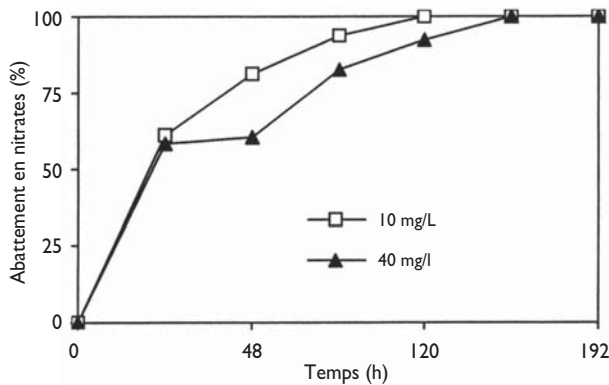


Figure 11 : Évolution de l'abattement en nitrates pour différentes concentrations en nitrites introduits

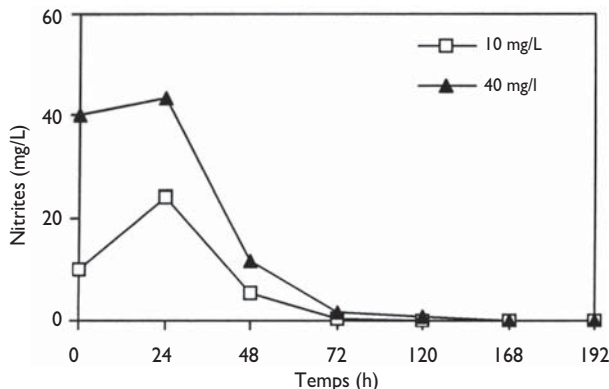


Figure 12 : Accumulation et réduction des nitrites

aussi bien pour l'essai à 10 mg NO_2^-/L que pour celui à 40 mg NO_2^-/L . Après 120 h, pour l'essai à 10 mg NO_2^-/L , la dénitrification est menée jusqu'à son terme (figures 11 et 12). Pour l'essai à 40 mg NO_2^-/L , à 120 h, les nitrates sont éliminés à environ 92 % (figure 11) avec un résiduel de nitrites d'environ 0,75 mg/L qui finissent par disparaître au bout des 24 heures qui suivent (figure 12).

Pour les deux concentrations en nitrites étudiées (10 et 40 mg NO_2^-/L), la dénitrification est donc conduite jusqu'à son terme. Les informations acquises et les résultats obtenus à la figure 8, montrent que les bactéries dénitrifiantes n'ont pas pu utiliser le p-éthylphénol comme substrat énergétique aussi bien pour les faibles (0,3 mg/L) que pour les fortes concentrations en p-éthylphénol (250 et 600 mg/L).

CONCLUSION

Les essais de dénitrifications effectués ont permis d'acquies des informations sur le procédé hétérotrophe, qui comme tout phénomène biologique, est très sensible à l'action d'inhibiteurs tels que l'accumulation de nitrites ou la présence d'un toxique dans l'eau à dénitrifier.

En présence du substrat cellulosique, la biomasse s'est adaptée à la teneur de 600 mg/L de p-éthylphénol et la dénitrification est conduite jusqu'à son terme ; au-delà de cette concentration, la dénitrification est inhibée. Ce constat est rassurant en ce qui concerne sa viabilité puisque nous sommes dans un cas de figure représentant la situation réelle ; des

concentrations plus élevées sont difficilement envisageables. En absence du substrat cellulosique, il y a eu dénitrification avec une diminution sévère des rendements d'élimination des nitrates et une forte accumulation de nitrites, traduisant l'effet inhibiteur du p-éthylphénol à partir même de faibles concentrations (0,3 mg/L) ; les faibles rendements de dénitrification observés sont dus à la matière organique en faible quantité, apportée par l'inoculum.

Le substrat cellulosique peut être capable d'adsorber le 4-éthylphénol diminuant ainsi son effet toxique ; ceci peut à priori expliquer la durée de vie, relativement courte, des réacteurs en continu de biodénitrification sur substrat cellulosique [1, 18].

Par ailleurs, dans les conditions anoxiques de biodénitrification, la biomasse est incapable d'utiliser le p-éthylphénol comme source de carbone donc de le biodégrader.

À l'issue des résultats obtenus lors de ce travail, on peut conclure qu'il n'y a pas trop de crainte à avoir sur la présence, en faibles quantités, de 4-éthylphénol dans les eaux traitées par la filière ce qui constitue un argument fort pour son développement futur et son application à l'échelle industrielle.

***Rabaa Fdil, El Kbir Lhadi**

Université Chouaib Doukkali - Faculté des Sciences, Département de Chimie, Laboratoire de l'eau et de l'environnement. BP 20. EL Jadida-Maroc.

****Jean Morvan**

ENSCR - Avenue du Général Leclerc, 35700 Rennes-Beaulieu-France.

Bibliographie

- glucose, glycerol, acetic acid, lactic acid and methanol. *Wat. Res.* 27, 8, 1303-1312.
- [1] El fakhi N., 2000. *Étude de la dénitrification biologique hétérotrophe sur substrat cellulosique naturel-Post-traitement et qualité de l'eau*. Thèse de 3^{ème} cycle, Université choaib Doukkali. EL- Jadida (Maroc).
- [2] WHO, 1984. *Guidelines for Drinking Water Quality*. Vol. 1. R. Recommandations WHO, Geneva.
- [3] Fdil R., Lhadi E. K., Morvan J et Khamliche L., 2001. *La matière organique dans une filière de biodénitrification sur substrat ligno-cellulosique: composition, évolution et demande en chlore*. Déchets, Sciences et Techniques, N° 24- 4^{ème} trimestre.
- [4] Deschamps F. C., Ramos L. P. et Fontana J. D., 1996. *Pretreatment of sugar cane bagasse for enhanced ruminal digestion*. *Applied Biochem. And Biotech.* 57/58, 171-182.
- [5] Afnor, 1994. *Recueil de normes françaises*. Qualité de l'eau. Environnement.
- [6] Sineiro J., Dominguez H., Nunez M.J., and Lema J.M., 1997. *Inhibition of cellulase activity by sunflower polyphenols*. *Biotechnology Letters*, 19, 6, 521-524.
- [7] Chevron F., Defives C. et Dubbour Guier H. C., 1997. *Dénitrification of high nitrate and ammoniac waters using fixed-biofilms reactors on natural supports*. *Environ. Technol.* 18, 171-178.
- [8] Akkuna J. C., Biseau C. et Moletta R., 1994. *Nitrate reduction by anaerobic sludge using glucose at various nitrate concentrations*. *Environ. Technol.*, 15, 41-49.
- [9] Akkuna J. C., Biseau C. et Moletta R., 1993. *Nitrate and nitrites reduction with anaerobic sludge using various carbon sources : glucose, glycerol, acetic acid, lactic acid and methanol*. *Wat. Res.* 27, 8, 1303-1312.
- [10] Alpha-Awwa-Wpfc, 1989. 17^{ème} édition, *standard methods for the examination of water and wastewater*.
- [11] Glass C. et Silverstein J., 1998. *Dénitrification Kinetics of high nitrate concentration water : pH effect on inhibition and nitrite accumulation*. *Wat. Res.* 32, 3, 831-839.
- [12] Glass C. et Silverstein J., 1999. *Dénitrification of high -nitrate, high-salinity wastewater*. *Wat. Res.* 33, 1, 223-229.
- [13] Francis C. et Mankin J., 1977. *High nitrate denitrification in continuous flow-stirred reactors*. *Wat. Res.* 11, 289-294.
- [14] Van Versefeld H., Meijer E. et Stouthamer A., 1977. *Energy conservation during nitrate respiration in. Parococcus denitrificans*. *Arch. Microbiol.* 112, 17-23.
- [15] Horseley R., Roscoe J., et Talling I., 1982. *Nitrate reduction by Pseudomonas spp : antagonism by fermentative bacteria*. *Appl. Environ. Micro.* 53, 57-66.
- [16] Beccari M., Passion R., Ramadori R. and Tandoi V., 1983. *Kinetics of dissimilatory nitrate and nitrite reduction in suspended growth culture*. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* 55, 58-64.
- [17] Chen S., Juaw C. and Cheng S., 1991. *Nitrification and denitrification of high-strength ammonium and nitrite wastewater with biofilm reactors*. *Wat. Sci. Technol.* 23, 1417-1425.
- [18] Volokita M., Belkii S., Abeliiovitch A., Inês M. et Soares M., 1996. *Biological denitrification of drinking water using news paper*. *Wat. Res.*, 30, 965-971.