



Rapport du stage effectué du 1<sup>er</sup> mars au 31 août 2007 :

## Réalisation et optimisation d'un dénitrateur autotrophe à l'Aquarium de La Rochelle

Par  
Charles –Edouard Fusari

Tutrice: Marielle Thomas  
Maître de stage: Pierre Morinière

Ce document est le rapport d'un stage effectué à l'Aquarium de La Rochelle. Néanmoins il s'inscrit logiquement avec les précédents travaux menés sur le même sujet à l'Aquarium de la Porte Dorée. Ce rapport complète donc les précédentes études en apportant des réponses sur le fonctionnement du dénitrateur autotrophe en milieu tempéré.

## **Résumé :**

Les nitrates sont un problème récurrent en aquariologie. Pour les éliminer tout en évitant le renouvellement d'eau, les dénitrificateurs hétérotrophes puis autotrophes ont été mis au point. Avec ce projet, l'Aquarium de La Rochelle souhaite s'équiper d'un dénitrificateur autotrophe sur un bac méditerranéen de 25 m<sup>3</sup>. Une première phase expérimentale montre la mise en place de ce dernier et l'installation de l'activité de dénitrification entre le 4<sup>ème</sup> et le 5<sup>ème</sup> jour. Un taux d'abattement de 100 % est ensuite atteint au bout du 18<sup>ème</sup> jour avec un faible débit (40 l/h). Dans un second temps, une phase expérimentale d'optimisation du dénitrificateur permet une élimination maximale de 1,4 kg de nitrate en huit jours. Pour ce débit, le réacteur à calcaire associé enregistre un rendement de 51 %. Le meilleur rendement (88 %) est obtenu avec un débit de 157 l/h. Ce projet a pour perspective l'installation de dénitrificateur autotrophe sur un ensemble d'aquarium chargé en nitrate.

## **Abstract :**

In aquariologie, nitrate are a recurrent problem. In order to eliminate nitrate without bring new water, heterotrophic and autotrophic denitrification systems were invented. With this training period, L'Aquarium de La Rochelle wants to get an autotrophic denitrification system. First, an experiment shows the launching of the system and the start of denitrification activity between the 4<sup>th</sup> and the 5<sup>th</sup> day. A 100% output is reached at the 18<sup>th</sup> day with a weak flow (40 l/h). Next, an optimisation experiment shows that the autotrophic denitrification system can eliminate 2 kg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/m<sup>3</sup> of sulfur/day. This amount of nitrate is brought at the system by a flow of 315 l/h. With this same flow, the limestone reactor has an output of 51%. The best limestone reactor's output (88 %) is reached with a flow of 126 l/h. In the future, l'Aquarium de La Rochelle wants to equip others tanks with autotrophic denitrification system.

## **Mots clef:**

Dénitrification autotrophe, Nitrate, pH, Rendement, Débit

# B/ Sujet de stage : Mise en place et optimisation d'un dénitrificateur autotrophe

## 1. Introduction

En aquariologie et dans le domaine aquacole en général, une des clefs de la réussite dans la maintenance d'organismes vivants est la qualité de l'eau. En circuit fermé, celle-ci se détériore rapidement. Cela se traduit généralement par l'accumulation de produits azotés tels que les nitrates, nocifs pour les poissons et les invertébrés.

Les recherches en matière d'élimination des nitrates sont de plus en plus nombreuses. Dans un souci écologique et pour lutter contre les faibles disponibilités hydrauliques, il devient nécessaire de recycler l'eau. Depuis une dizaine d'années le processus de dénitrification autotrophe a vu le jour concurrençant le système hétérotrophe. Aujourd'hui il a fait ses preuves et il est utilisé par certains aquariums publics français tels que celui de la Porte Dorée et le grand Aquarium de Saint Malo.

Pour l'Aquarium de La Rochelle, l'objectif de ce projet est de tester l'efficacité du dénitrificateur autotrophe sur leurs aquariums. Il s'agit notamment de dimensionner et de réaliser l'installation. Un travail expérimental d'optimisation est ensuite effectué. Pour cela différents débits sont testés afin d'obtenir un taux d'abattement des nitrates maximum.

## 2. Synthèse bibliographique

### 2.1. Le cycle de l'azote

L'azote est un des éléments rentrant dans la composition des protéines, il est donc fondamental dans la constitution de la matière vivante. Sa forme moléculaire  $N_2$  représente 78% de l'atmosphère terrestre. L'azote transite dans la chaîne alimentaire sous différentes formes. L'ensemble de ces transferts représente le cycle de l'azote (figure 1).

Dans la nature, l'azote atmosphérique est fixé par des bactéries libres du sol (*Azotobacter*, *Clostridium*) et par des bactéries symbiotiques du genre *Rhizobium* en association avec des végétaux de la famille des Légumineuses (Campbell, 1995). Pour les écosystèmes aquatiques, ce sont les cyanobactéries qui fixent le  $N_2$ . L'azote se retrouve ainsi sous forme d'ammoniac ( $NH_3$ ) assimilable par les organismes vivants.

La deuxième étape est l'assimilation de l'azote. Cette étape intervient lors de la consommation de la matière végétale par d'autres organismes vivants. L'azote minéral ( $NH_3$ ) est transformé en organique lors la synthèse protéique. Ces composés azotés organiques se retrouvent ensuite dans les urines, les fèces ou les cadavres (animal ou végétal).

Ces déchets azotés sont ensuite dégradés en ion ammonium ( $NH_4^+$ ) par des bactéries aérobies et anaérobies. Ce processus est l'ammonification.

L'étape suivante, la nitrification se déroule en deux parties et est assurée par des microorganismes chimolithotrophes aérobies stricts. La première réaction est la nitritation. C'est l'oxydation des  $NH_4^+$  en nitrites ( $NO_2^-$ ) sous l'effet de bactéries nitreuses (*Nitrosomonas*, *Nitrosospira*, *Nitrosococcus*). La deuxième réaction est la nitratisation, il s'agit de l'oxydation des nitrites en nitrates ( $NO_3^-$ ) sous l'effet de bactéries nitriques (*Nitrobacter*, *Nitrocystis*).

Le cycle de l'azote se clôt avec la dénitrification. Il s'agit d'une réaction d'oxydo-réduction assurant la transformation des  $\text{NO}_3^-$  en azote moléculaire ( $\text{N}_2$ ). La dénitrification peut être hétérotrophe ou autotrophe. Cette dernière étape sera abordée plus loin.

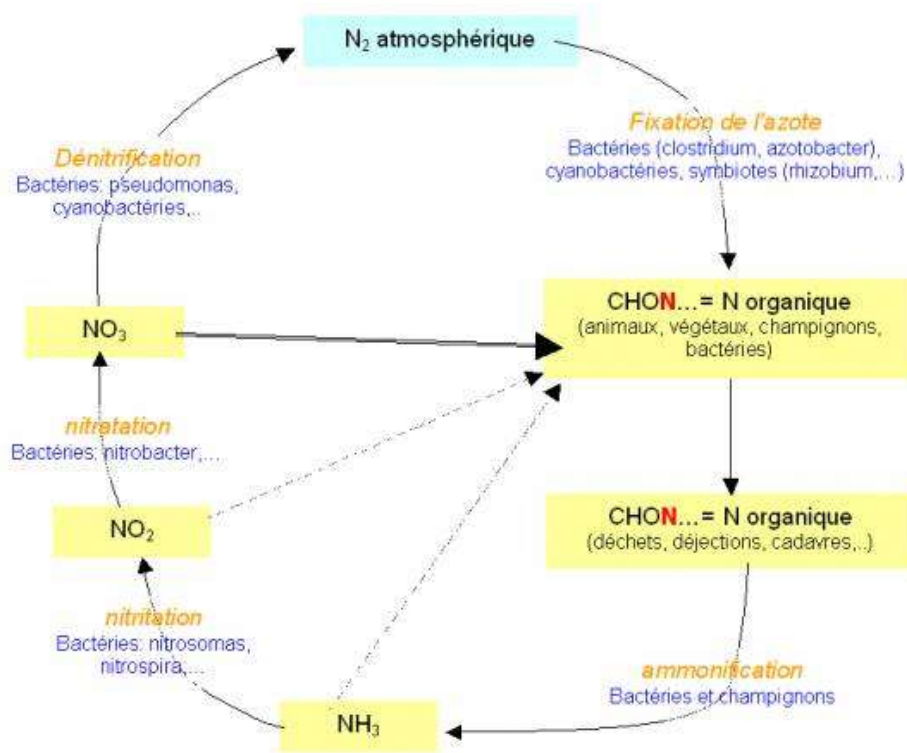


Figure1 : Le cycle de l'azote (webpublic.ac.dijon.fr)

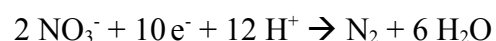
## 2.2. La respiration anaérobie (Prescot et. al., 2003)

Lors de la respiration aérobie les électrons provenant de la métabolisation des sucres sont donnés à un accepteur : l'oxygène. Ce transfert s'effectue à l'aide d'une chaîne de transport d'électrons (réactions d'oxydoréduction) qui fournit l'énergie nécessaire pour la synthèse de l'ATP.

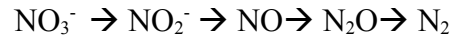
Cependant il existe des bactéries qui utilisent des chaînes de transfert qui ont des accepteurs autres que l' $\text{O}_2$ . Ce processus est appelé la respiration anaérobie. Dans ce cas, les principaux accepteurs d'électrons sont le nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ), le sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) et le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ). Certaines bactéries comme *Pseudomonas*, *Alcaligène*, *Thiobacillus* et *Bacillus* utilisent le nitrate comme accepteur final. On appelle ce phénomène la réduction catabolique du nitrate. Il est ainsi réduit en nitrite grâce à la nitrate réductase.



La croissance des bactéries nécessite une grande quantité de nitrate. Les nitrites ainsi formés sont également toxiques. Pour palier à ce problème, le nitrate est ensuite complètement réduit en azote gazeux.



L'ensemble de ce processus est la dénitrification :

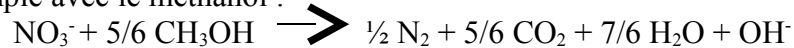


### 2.3. La dénitrification

#### - Hétérotrophe

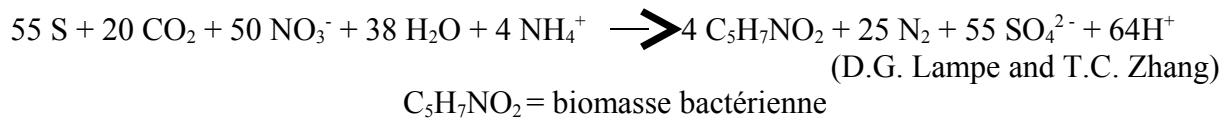
Dans le cycle de l'azote, la dénitrification peut être hétérotrophe ou autotrophe. La première utilise comme source de carbone la matière organique produite par le milieu. En milieu aquatique artificiel cette voie est exploitée mais il est nécessaire d'y ajouter un substrat carboné donneur d'électrons tel que des sucres ou des alcools.

Exemple avec le méthanol :



#### - Autotrophe

La dénitrification autotrophe utilise le soufre comme source d'énergie. En parallèle de la réduction de l'ion nitrate en azote moléculaire, il se produit l'oxydation du soufre en sulfates. Dans ce cas, le nitrate est l'accepteur final des électrons provenant de l'oxydation du soufre. L'ATP ainsi fourni est utilisé pour la biosynthèse bactérienne (HIGNETTE et al, 1996).



La quantité de sulfate produite par cette réaction, à raison de 1,1 mole de  $\text{SO}_4^{2-}$  par mole de  $\text{NO}_3^-$ , est importante. Cette production n'est pas néfaste pour un aquarium compte tenu de la teneur initiale de l'eau de mer en sulfates (885 mg/l). Il est à noter que l'élimination d'une mole de nitrate entraîne une consommation de 0,41 mole de bicarbonate ( $\text{HCO}_3^-$ ) provoquant une baisse de l'alcalinité (HIGNETTE et al, 1996). De plus, à l'issue de la réaction, 0,962 moles d' $\text{H}^+$  sont produites. Ces deux phénomènes provoquent une acidification du milieu.

Les bactéries impliquées dans la dénitrification autotrophe sont principalement les Thiobacilles tel *Thiobacillus dénitrificans*. Les Thiobacilles sont des bacilles Gram - pouvant supporter des pH acides ([www.univ-ubs.fr/ecologie/metabolbacter.html](http://www.univ-ubs.fr/ecologie/metabolbacter.html)). Les conditions optimales de multiplication sont une température de 30°C et un pH de 7,5 à 8. Ils sont chimiolithotrophes stricts ou facultatifs ([membres.lycos.fr/.../Groupes%20Bacteriens](http://membres.lycos.fr/.../Groupes%20Bacteriens)).

## 2.4. Le dénitrificateur autotrophe (Langouet, 2000).

### - Historique et principe

La première expérience fut réalisée par Marc Langouet en 1991 sur un aquarium de 200 litres. Le dénitrificateur se compose alors d'un cylindre de 40 cm de haut et 7,5 cm de large dans lequel il est introduit 2 kg de soufre. L'observation d'une chute de pH suite au fonctionnement du dénitrificateur nécessite l'ajout de 10 cm de maërl au dessus du soufre. Lors des premiers jours d'utilisation, la mise en place des populations bactériennes adéquates et des foyers anaérobies entraîne une production de nitrites. Il est donc nécessaire de procéder à une phase de démarrage où le débit sera réduit (60 ml/h = 10 gouttes/min). Après trois jours de fonctionnement, les nitrites disparaissent et le débit est augmenté jusqu'à la vitesse de 2 l/h.

Le principe du dénitrificateur sur soufre est simple. Il consiste à faire passer l'eau à traiter dans une colonne contenant du soufre puis dans un réacteur à calcaire. Le soufre est le siège de la dénitrification et le réacteur à calcaire réajuste le pH. Cependant, un bon dimensionnement des différentes colonnes est nécessaire.

### - Dimensionnement

Pour des concentrations en nitrates inférieures à 50 mg/l le volume de soufre représente 1% du volume du bac. Si le taux de nitrates dépasse 50 mg/l le volume de soufre s'élève alors à 2%. Pour éviter la surestimation du volume de soufre à utiliser un changement d'eau peut être effectué pour descendre le taux de nitrate en dessous de 50 mg/l.

Pour éviter les chemins préférentiels de l'eau à travers le soufre, il est conseillé d'utiliser un tube dont la hauteur est 5 fois supérieure au diamètre. Le flux d'eau s'effectue de bas en haut ce qui a notamment pour but d'aider à l'évacuation de l'azote gazeux produit lors de la dénitrification.

La réaction de dénitrification produit  $9,62 \text{ mol d'H}^+$  et consomme  $4,1 \text{ mol de HCO}_3^-$ , cela entraîne la diminution du pH. Delaporte et Hignette (2001) obtiennent des pH voisins de 6 en sortie de dénitrificateur.

Pour palier à cette chute, un réacteur à calcaire est branché à la suite de la colonne de soufre. Le média utilisé pour ce réacteur à calcaire est la calcite ou l'aragonite. Ces deux substrats sont des formes cristallines du carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ). En aquariologie la calcite est utilisé sous forme de maërl. L'aragonite est préférée au maërl car ce dernier se dissout à un pH de 6,5 contre 7,5 pour l'aragonite (mars.reefkeepers.net). De plus le maërl a tendance à libérer des phosphates (Vernay, 2000)

Le réacteur à calcaire fait un à deux fois le volume du soufre, la granulométrie du média employé est de 1 à 5 mm pour éviter le colmatage précoce de la colonne. D'après une étude menée par A Darbi, T Viraraghavan, R Butler et D Corkal (2002), le ratio optimum entre le soufre et le calcaire serait de 1/1.

En ce qui concerne le débit, M. Langouet préconise 1 goutte/s pour 2 l de soufre pour la phase de démarrage et 1 l/h pour un litre de soufre pour le début de la vitesse de fonctionnement.

Pour le dimensionnement d'un dénitrificateur autotrophe, différents paramètres sont à prendre en compte : le rendement ( $\rho$ ) et la charge volumique ( $C_v$ ) exprimée en  $\text{kg NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour. Le Cloirec et Martin (1988) ont modélisé le rendement en fonction de la charge volumique :

$$\rho = 1 - e^{-3,3/C_v}$$

Une reformulation de Sant'anna, Martin et Taha (1996) prend en compte l'inhibition du rendement par le NaCl :

$$\rho = 1 - e^{-143,5 / C_v (41+I)} \quad \text{avec } I = \text{concentration en NaCl (g/l)}$$

D'après Hignette (1996) des rendements importants sont obtenus jusqu'à des charges volumiques de  $1,5 \text{ kg NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour. Dans une étude suivante réalisée à l'Aquarium de la Porte Dorée, Delaporte et Hignette calculent leur débit sur la base d'une charge de  $2 \text{ kg NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour.

La formule suivante mise au point par Zhang (2004) exprime la concentration de nitrate en sortie du dénitrificateur ( $Y$ ) en fonction de la concentration de nitrate avant le dénitrificateur ( $X_1$ ) et du temps de rétention de l'eau dans le réacteur ( $X_2$ ). Cette formule a été établie suite à des expériences menées sur des réacteurs contenant 1 L de soufre et 0,5 litres de calcite.

$$Y = 21.5714 + 0.31171 * X_1 - 8.48835 * X_2 + 0.0076386 * X_1 * X_1 + 0.79334 * X_2^2 - 0.10691 * X_1 * X_2$$

## **2.5. Autres moyens d'élimination des nitrates en aquarium**

La méthode la plus couramment utilisée est le renouvellement d'eau. Il peut être continu sous la forme d'un goutte à goutte ou ponctuel à l'occasion de changement d'eau. Ce système a l'avantage d'éviter l'appauvrissement en oligo-éléments.

Le système Jaubert consiste en une couche d'eau anaérobie siège de la dénitrification. Cette zone anaérobie repose sur l'existence d'une épaisse couche de substrat à granulométrie précise.

Le réfugium à caulerpes développé par le docteur Adey repose sur l'assimilation des nitrates par les caulerpes. Cependant, la quantité de nitrate absorbée par les plantes n'est pas assez importante pour assurer une faible concentration (Minguez, 1998).

## **3. Objectifs du stage et résultats attendus**

L'objectif de ce sujet de stage est d'optimiser l'utilisation d'un dénitrificateur autotrophe installé sur un bac de présentation de  $25 \text{ m}^3$  à l'Aquarium de La Rochelle. Autrement dit, l'objectif est d'obtenir un rendement maximum de ce dénitrificateur.

Le paramètre qui nous intéresse ici est la charge volumique qui va déterminer le rendement de notre dénitrificateur. Ce paramètre varie en fonction de la concentration en nitrate présente initialement dans le bac, du débit et de la quantité de soufre dans le réacteur. Les bases de dimensionnement donnent la quantité de soufre nécessaire. La concentration en

nitrate est obtenue après analyse. La variable qualitative à tester est donc le débit. La question à se poser est alors la suivante :

Jusqu'à quel débit le rendement du dénitrificateur est-il maximal ?

L'étude bibliographique montre plusieurs possibilités. Michel Hignette (1996) obtient des rendements proche de 100% jusqu'à des charges volumique de 1,5 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour. Sébastien Delaporte, quant à lui, prend en compte une charge volumique de 2 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour.

Les quatre modalités de traitements choisies pour notre dénitrificateur sont :

- 1 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour soit un débit de 157 l/h
- 1,5 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour soit un débit de 236 l/h
- 2 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour soit un débit de 315 l/h
- 2,5 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour soit un débit de 394 l/h

En terme de résultat, une différence significative des rendements obtenus pour chaque débit est attendue. L'objectif final est d'appliquer un débit permettant un taux d'abattement maximum des nitrates.

Les perspectives de ce sujet de stage sont l'application de ce système de dénitrification à d'autres bacs d'expositions de l'Aquarium de La Rochelle afin de limiter le renouvellement d'eau.

Outre le côté expérimental du sujet, il faudra dimensionner et réaliser le dénitrificateur autotrophe et le réacteur à calcaire associé.

#### 4. Dimensionnement et réalisation

Le dénitrificateur autotrophe de l'aquarium n°35 est réalisé selon les bases de dimensionnement données par Marc Langouet.

##### - Colonne de soufre :

Pour des raisons de circulation d'eau par gravitation, la sortie du tube se situe au dessus de la surface de l'aquarium. Dans notre cas, le tube en PVC pression mesure 3 mètres de haut pour un diamètre de 400 mm.

La quantité de soufre à utiliser représente 1 % du volume total c'est à dire 25000 l. Il faut donc 250 l de soufre.

##### - Réacteur à Calcaire (RAC)

Pour le réacteur à calcaire, un tube de méthacrylate déjà sera utilisé. Il mesure 2 m de haut pour 400 mm de diamètre. Sa transparence est adéquate pour observer le colmatage de l'aragonite afin de réaliser les back-wash. Pour la réalisation de ces derniers une pompe est installée en parallèle du tube de méthacrylate. Elle permet un brassage et un décolmatage de l'aragonite.

Le rapport de volume entre l'aragonite et le soufre étant de 1/1, le volume d'aragonite est de 250 l.

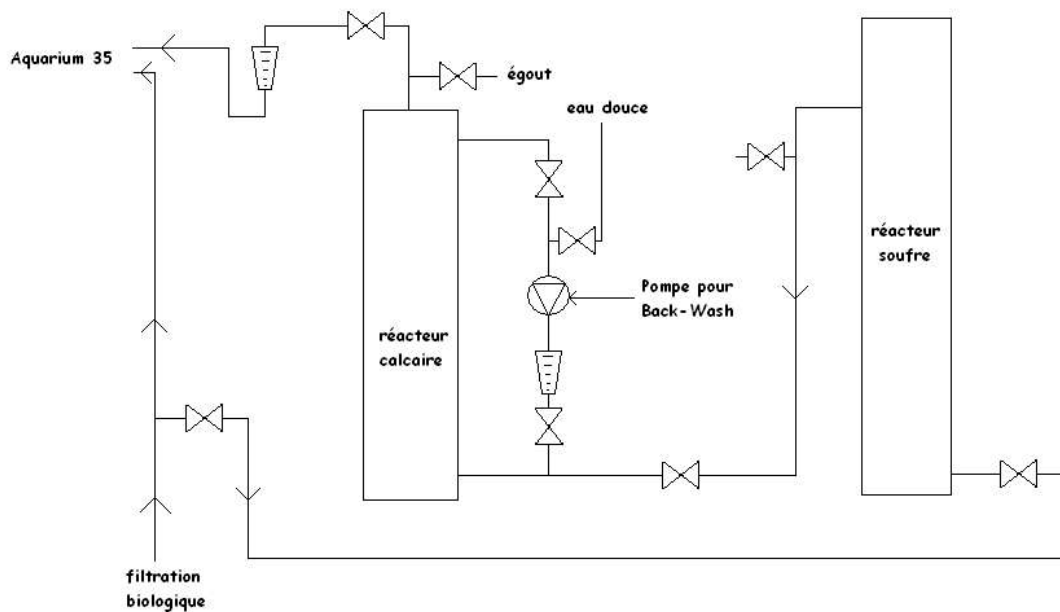


Figure 2 : Schéma du dénitrateur autotrophe de l'aquarium 35

## 5. Matériels et méthodes

### - Matériel Biologique

Pour mener à bien cette étude, le bac n°35 de l'Aquarium de La Rochelle est mis à disposition.

Ce bac de type méditerranéen, d'un volume de 25 m<sup>3</sup>, abrite une faune composée de Murènes, Balistes, Sars et Mérous (Annexe.. 2). Il possède une température de 20°C, un pH de 7,90, un taux de nitrates de 66 mg/l et une concentration en oxygène de 6,8 mg/l.

### - Outils d'analyse :

**NO<sub>3</sub><sup>-</sup>** : un spectrophotomètre HACH DR/400 est utilisé pour quantifier les nitrates. Le programme utilisé (HACH 2500) permet détection de 0 à 45 mg/l. Au-delà de 45 mg/l, une dilution est effectuée. Les résultats sont donnés avec une fiabilité de ± 1mg/l. La lecture s'effectue par deux lampes UV aux longueurs d'onde de 220 et 275 nm.

**pH** : un pH-mètre WTW 340 est utilisé. Ce dernier donne des résultats avec une précision de ± 0,5.

**O<sub>2</sub>** : Les valeurs en oxygène dissous sont mesurées avec un oxy-mètre OxyGuard Handy. Cet appareil permet des mesures de 0 à 50 ppm et de 0 à 600 % sat.

**NO<sub>2</sub><sup>-</sup>** : Une méthode colorimétrique Tétratest est utilisée. La plage de mesure possible est <0,3 – 3,3 mg/l. au-delà de 3,3 mg/L, une dilution est effectué.

## 1.1. Expérience préliminaire

Afin d'estimer l'élimination des nitrates uniquement par le dénitrificateur autotrophe, le renouvellement d'eau par le goutte à goutte est arrêté sur l'aquarium 35.

La population de l'aquarium est source de nitrate de part son excrétion. Cette production de nitrate via le cycle de l'azote va donc s'opposer à l'élimination des nitrates par le dénitrificateur autotrophe. C'est pourquoi une expérience préliminaire est réalisée pour estimer la production de nitrate par la population de l'aquarium.

Pour cela le renouvellement d'eau est arrêté et une mesure de la concentration en nitrate est effectuée quotidiennement à horaire fixe. Ainsi il est possible d'apprécier l'accumulation des nitrates au cours du temps. La durée de l'expérience est fixée à 20 jours.

La quantité de nourriture apportée à l'aquarium n'est pas fixée mais dépend de l'appétit des poissons. On considère cependant qu'en moyenne la même quantité de nourriture est apportée

Méthode de calcul de la production de nitrates :

$$([\text{NO}_3^-]_{j20} - [\text{NO}_3^-]_{j0}) / \text{nombre de jour} = \text{Production de nitrates}$$

Le résultat est exprimé en mg/l de  $\text{NO}_3^-$ /jour.

## 1.2. Suivi de la mise en route du dénitrificateur autotrophe

Lors des suivis de mise en route et d'optimisation du dénitrificateur autotrophe, le bac est mis en circuit fermé sans renouvellement d'eau. La quantité de nourriture apportée à l'aquarium est considérée comme constante, la totalité de la nourriture distribuée est ingérée.

Lors de la mise place d'un dénitrificateur autotrophe, un faible débit (environ 40 l/h) est appliqué pour mettre le réacteur dans des conditions anaérobiques et minimiser la poussée de nitrites.

Habituellement, le dénitrificateur est mis en route dans une cuve sans population prévue à cet effet. Cela évite de faire monter le taux de nitrites à des concentrations dangereuses pour des organismes aquatiques. Dans notre cas, la colonne de soufre est directement branchée sur l'aquarium d'exposition n° 35. En effet l'eau sortant du dénitrificateur est ensuite envoyée dans le filtre avant de revenir dans l'aquarium. De plus, le bac fonctionne depuis l'ouverture de L'Aquarium et la forte biomasse qu'il accueille suppose que la population bactérienne nécessaire à la dénitrification est abondamment présente.

Pour toutes ces raisons, le dénitrificateur n'a pas été isolé lors de sa mise en route. La concentration des nitrites est cependant suivie dans le bac et à la sortie du dénitrificateur.

Pour apprécier la mise en place des conditions anaérobiques, un suivi de la concentration en  $\text{O}_2$  dissous dans le tube est effectué. La mise en place du pouvoir dénitrificateur du réacteur est observé en effectuant un suivi du taux de nitrates à la sortie du tube et dans le bac. Le pH du bac et à la sortie du dénitrificateur est également mesuré. Chaque mesure est effectuée quotidiennement à une heure précise.

### 5.3. Expérience d'optimisation

Pour cette expérience le réacteur à calcaire est indispensable. En effet en son absence, l'application de fort débit risquerait de provoquer une chute importante du pH dans l'aquarium.

Ici, le but de l'expérience est de trouver le débit pour lequel on possède une synergie maximale entre le dénitrificateur et le réacteur à calcaire.

De l'étude bibliographique ressort 4 débits qui sont appliqués sur la période de 8 jours :

- 157 l/h soit une charge de 1 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour
- 236 l/h soit une charge de 1,5 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour
- 315 l/h soit une charge de 2 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour
- 394 l/h soit une charge de 2,5 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour

Durant cette période de multiples analyses seront effectuées :

- $[\text{NO}_3^-]$  dans le bac
- $[\text{NO}_3^-]$  à la sortie du dénitrificateur
- pH dans le bac
- pH à la sortie du dénitrificateur
- pH à la sortie du réacteur à calcaire
- $[\text{O}_2]$  dissous dans le dénitrificateur

Les données recueillies permettent ensuite de calculer le rendement de chaque réacteur et d'observer les cinétiques de décroissance des nitrates dans l'aquarium.

$$\text{rendement du dénitrificateur} = \frac{([\text{NO}_3^-] \text{ dans le bac} - [\text{NO}_3^-] \text{ à la sortie du dénitrificateur})}{[\text{NO}_3^-] \text{ dans le bac}} \times 100$$

$$\text{rendement du RAC} = \frac{|\text{pH à la sortie du dénitrificateur} - \text{pH à la sortie du RAC}|}{|\text{pH à la sortie du bac} - \text{pH à la sortie du dénitrificateur}|} \times 100$$

Le dénominateur de la formule du rendement du RAC détermine la chute du pH entraînée par la colonne de soufre. Le numérateur, quant à lui, indique la correction exercée par le RAC.

L'analyse de l' $\text{O}_2$  dissous permet de surveiller le fait que le débit appliqué ne perturbe pas le milieu anaérobie du dénitrificateur.

Entre chaque débit testé, la concentration en nitrate est remise à sa valeur de départ (66 mg/l). Pour ce faire, une solution mère d'acide nitrique et d'eau de mer neuve est préalablement préparée dans deux cuves de 200 litres.

Pour compenser la chute de pH due à l'acide nitrique, du carbonate de sodium est ajouté de manière à obtenir un pH voisin de 8. Ensuite cette solution est ajoutée à l'aquarium via le filtre biologique. Cette opération est nécessaire pour bien respecter les charges volumiques (Cv) correspondants aux débits.

## 2. Résultats

### 6.1. Expérience préliminaire

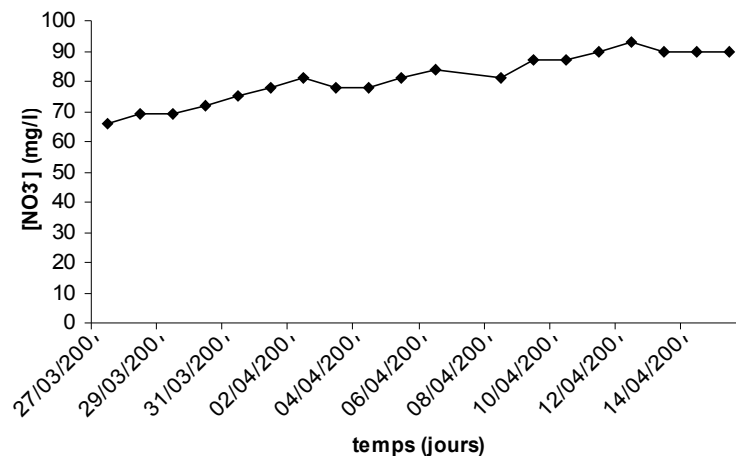


Figure 3 : Evolution de la concentration des nitrates en circuit fermé dans l'Aquarium n°35

Après l'arrêt du renouvellement d'eau, une augmentation de la concentration en nitrate de 66 mg/l à 90 mg/l est observée en 20 jours d'expérience.

### 6.2. Suivi de la mise en route du dénitrificateur autotrophe

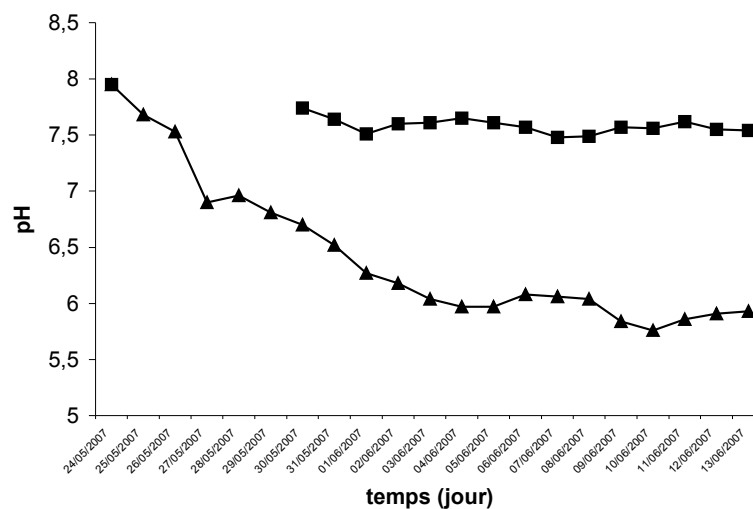


Figure 4 : Evolution du pH dans le bac (■) et à la sortie du dénitrificateur (▲) lors de la mise en route de ce dernier

Lors de la mise en route du dénitrateur, une chute du pH en sortie du dénitrateur est observée jusqu'à des valeurs voisines de 6. Dans l'aquarium, le pH diminue légèrement de 8 à 7,6 puis se stabilise.

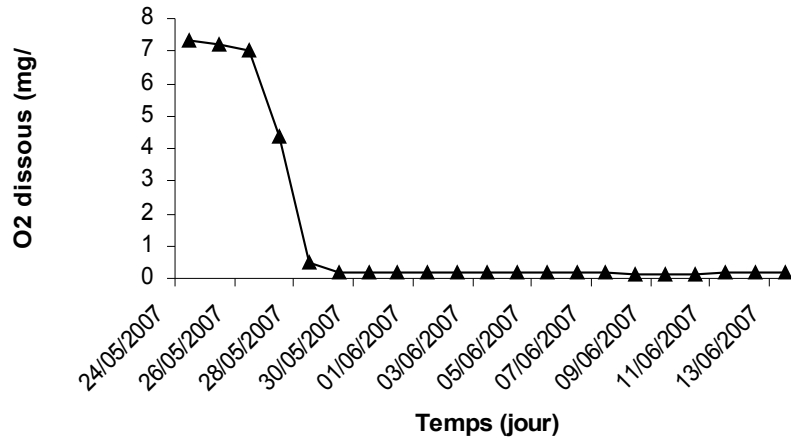


Figure 5 : Evolution de la concentration en oxygène dans le dénitrateur lors de sa mise en route.

Suite à la mise en route du dénitrateur, au bout du 3<sup>ème</sup> jour une chute de la concentration en oxygène dissous de 7,3 à 0,1 apparaît.

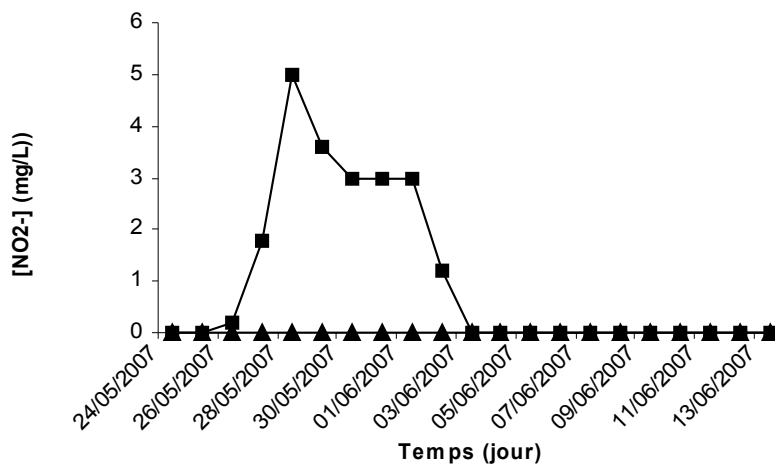


Figure 6 : Evolution des nitrites dans le bac (▲) et à la sortie du dénitrateur (■) lors de sa mise en route.

Lors de la mise en route du dénitrateur, un pic de à sa sortie est observée du 3<sup>ème</sup> au 11<sup>ème</sup> jour. Dans le bac, la présence de nitrite n'est pas détectée.

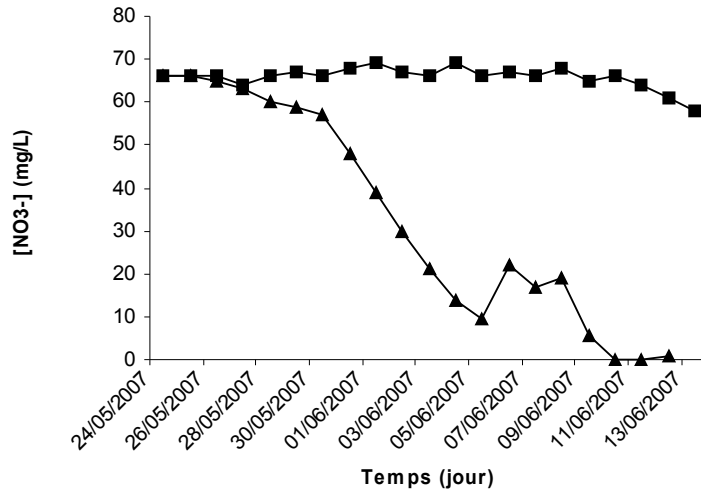


Figure 7 : Evolution de la concentration en nitrate dans le bac (■) et à la sortie du dénitrificateur (▲) lors de sa mise en route.

La figure 7 montre une chute de la concentration en nitrate à la sortie du dénitrificateur. La concentration évolue de 66 mg/l le 3<sup>ème</sup> jour à 0 mg/l le 18<sup>ème</sup> jour. Dans le bac elle reste stable autour de 66mg/l.

### 6.3. Expérience d'optimisation

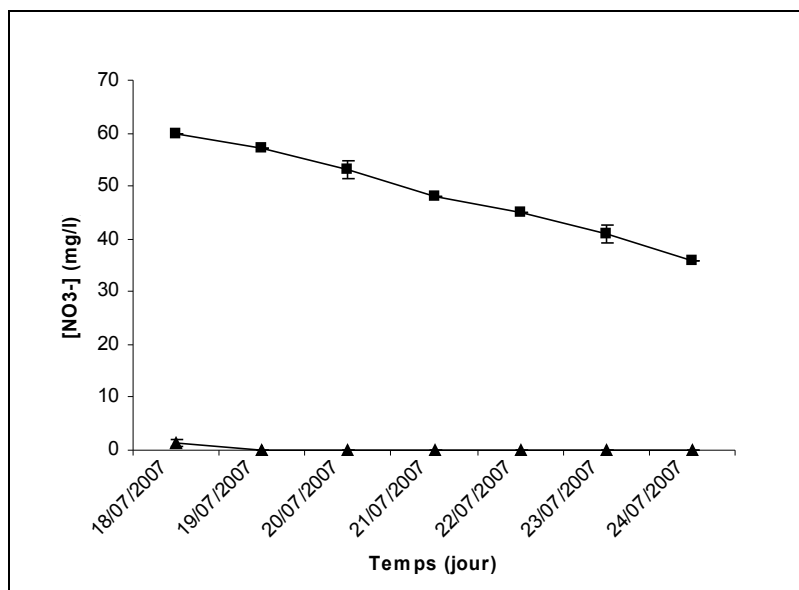


Figure 8 : Evolution de la concentration en nitrate dans le bac (■) et à la sortie du dénitrificateur (▲) avec un débit de 157 l/h.

Le premier débit (157 l/h) entraîne une réduction des nitrates de 63 mg/l à 36 mg/l en huit jours.

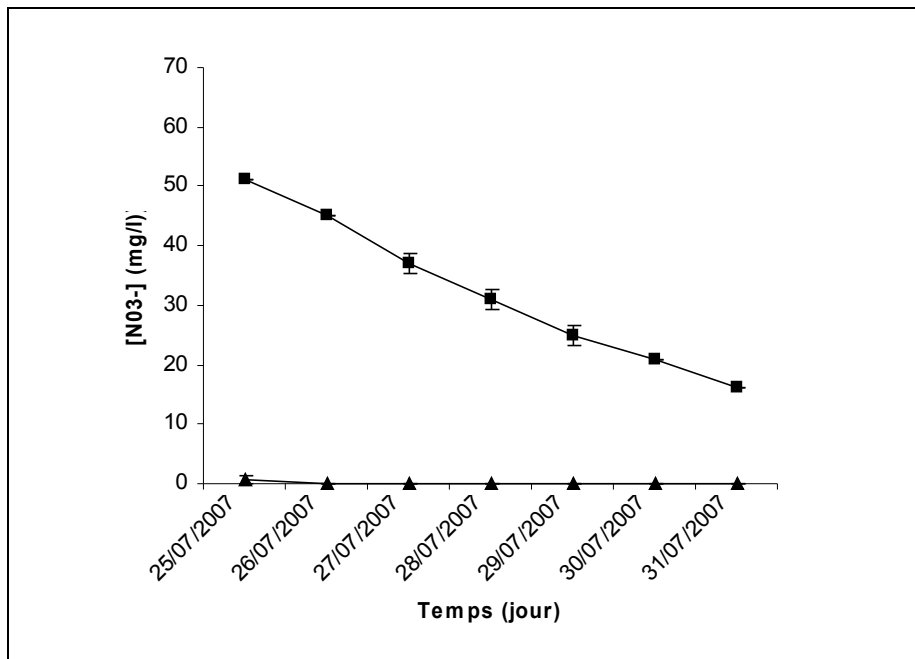


Figure 9 : Evolution de la concentration en nitrate dans le bac (■) et à la sortie du dénitrificateur (▲) avec un débit de 236 l/h.

Le deuxième débit expérimental (236 l/h) permet d'observer une chute de la concentration en nitrate de 63 mg/l à 16 mg/l en 8 jours.

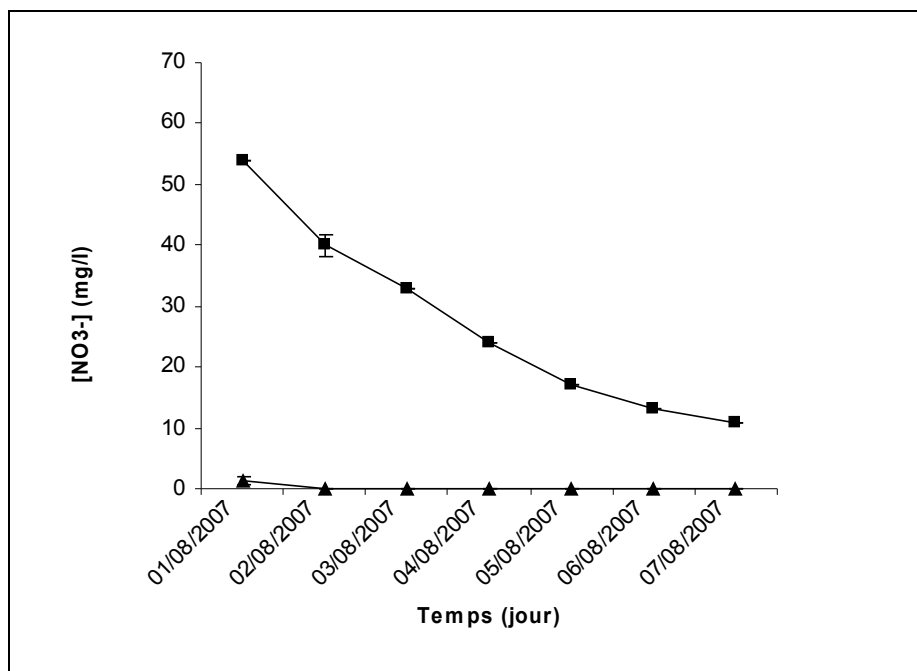


Figure 10 : Evolution de la concentration en nitrate dans le bac (■) et à la sortie du dénitrificateur (▲) avec un débit de 315 l/h.

En ce qui concerne le débit de 315 l/h, en 8 jours le taux de nitrate passe de 66 mg/l à 11 mg/l.

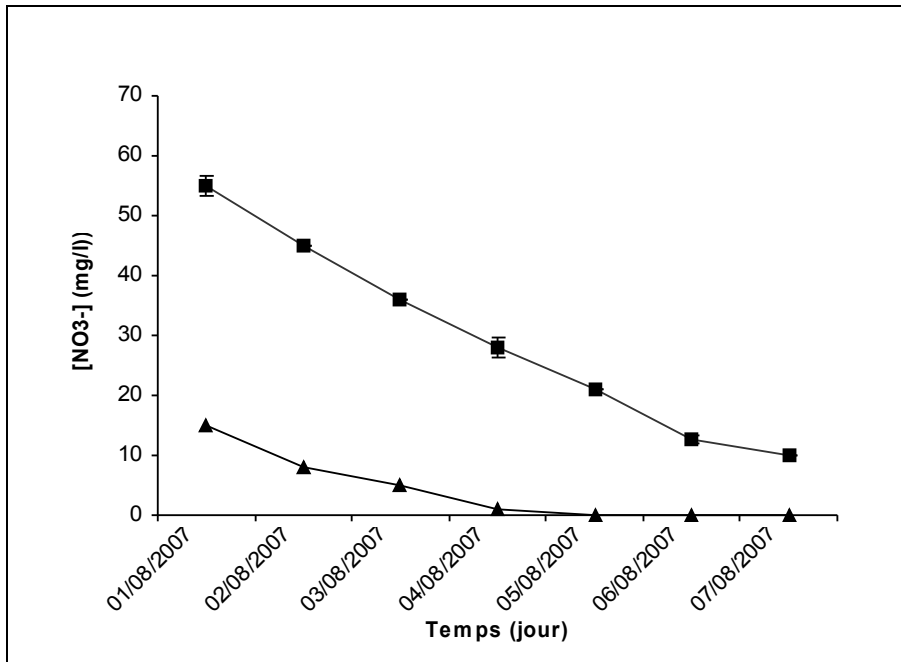


Figure 11 : Evolution de la concentration en nitrate dans le bac (■) et à la sortie du dénitrateur (▲) avec un débit de 394 l/h.

A 394 l/h, la concentration en nitrate de l'aquarium évolue de 66 mg/l à 10 mg/l en 8 jours.

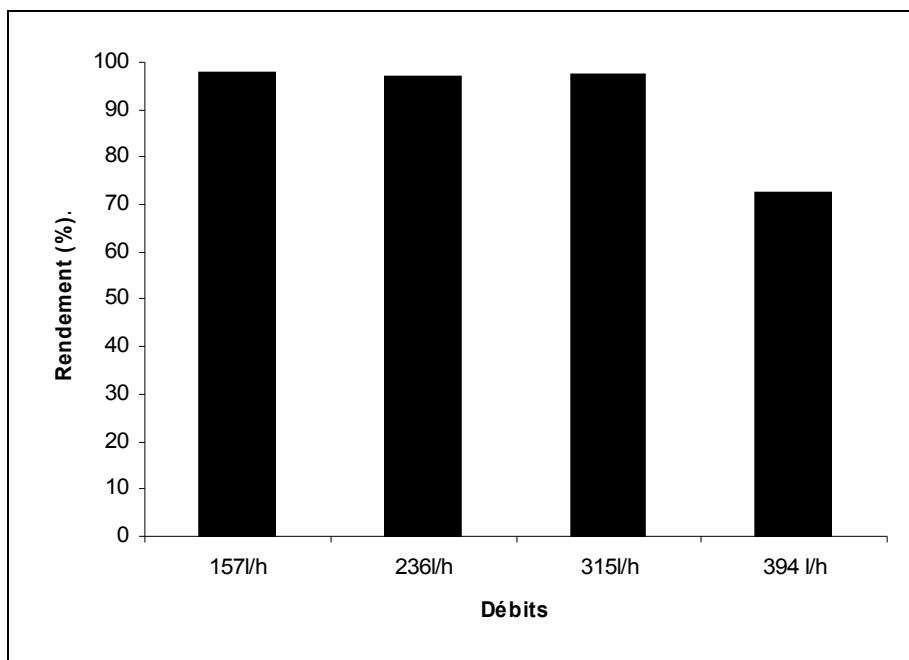


Figure 11 : Rendement du dénitrateur en fonction du débit.

Lors des première heures de test chaque débit correspond à une charge donnée. Ainsi pour des charges de 1; 1,5 et 2 kg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/m<sup>3</sup> de soufre/jour (157, 236, 315 l/h) un rendement proche de 100 % est observé. Pour une charge de 2,5 kg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/m<sup>3</sup> de soufre/jour un rendement de 70 % est obtenu.

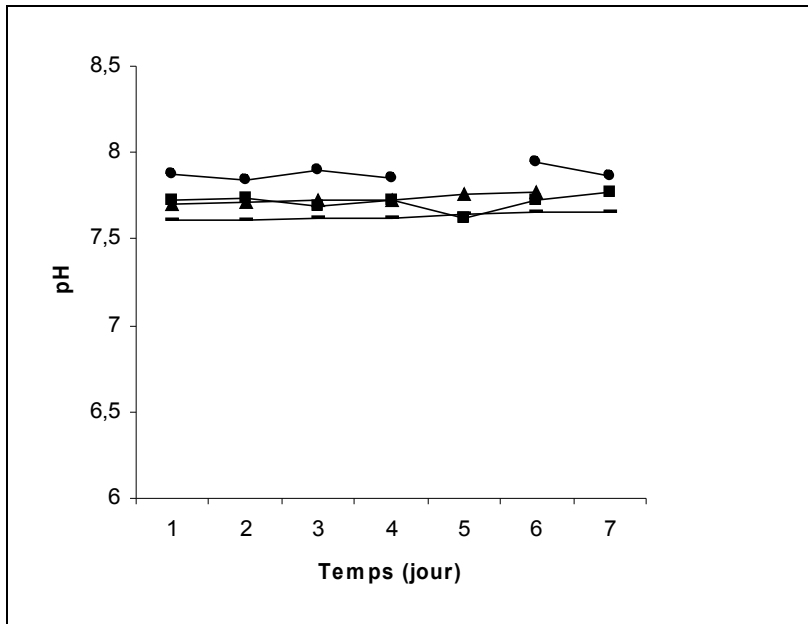


Figure 12: Evolution du pH dans l'aquarium pour chaque débit testé (▲ : 236 l/h; — : 157 l/h; ■ : 315 l/h; ● : 394 l/h).

Pour chaque débit le pH du bac reste stable tout au long de l'expérience.

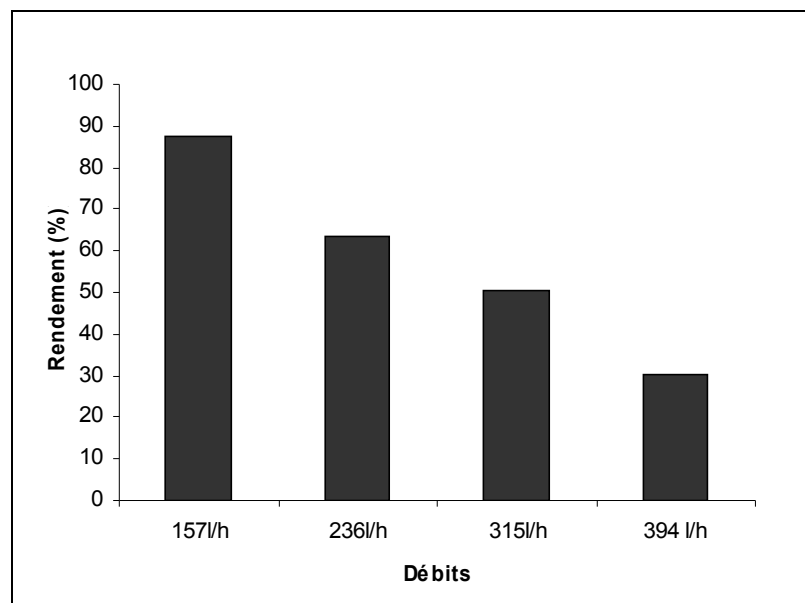


Figure 13 : Rendement du réacteur à calcaire en fonction des débits.

Pour le réacteur à calcaire un rendement de 88 % est obtenu avec un débit de 157 l/h, 63 % avec 236 l/h, 51 % avec 315 l/h et 30 % avec 394 l/h.

### 3. Discussion, conclusion

#### - Evolution de la concentration en nitrates en circuit fermé

Les résultats montrent une augmentation de 1,2 mg de nitrate/l/jour. Cela correspond à celui trouvé lors d'une étude précédente par Benoît d'Herve en 2004 sur le même aquarium (1mg/l/jour). Cependant la biomasse estimée de l'aquarium en 2004 était de 98,6 kg alors qu'aujourd'hui elle est de 73,6 kg. Cette différence de résultats peut sans doute s'expliquer par la durée de l'expérience qui fut de 36 jours pour Benoît d'Herve et de 20 jours pour ma part. Le résultat de 2004 est certainement plus fiable que celui obtenu dernièrement. Néanmoins, celui-ci permet de confirmer que l'augmentation est d'environ 1mg de nitrate/l/jours dans l'aquarium n°35.

Cette production de nitrates qui s'explique par l'excrétion et la nourriture non ingérée va donc s'opposer à la réduction des nitrates engendrés par le dénitrificateur. Par jour, environ 25g de nitrates sont produits. Pour contrer cette production de nitrates et maintenir l'aquarium à une concentration de 66 mg/l il faudra donc que le dénitrificateur élimine ces 25g chaque jour.

#### - Mise en route du dénitrificateur

Les résultats des différents paramètres montrent une évolution générale qui suit ceux des études précédentes menées par Delaporte et Hignette (2001). Cependant le taux de nitrites dans le bac est resté à 0mg/l durant toute la durée de la mise en route. Cela accrédite le fait que la population bactérienne et le filtre de l'aquarium ont empêché le pic de nitrites de part leur activité dénitrifiante. Un pic est toutefois observé dans le réacteur du 3<sup>ème</sup> au 11<sup>ème</sup> jour avec un maximum de 5 mg/l le 5<sup>ème</sup> jour.

Concernant la concentration en oxygène dissous, elle chute de manière importante entre le 3<sup>ème</sup> et le 5<sup>ème</sup> jour passant de 7mg/l à 0,5mg/l et se stabilisant par la suite à 0,2mg/l. La production de nitrites commence avec la mise en place des conditions anaérobies. Ceci pourrait s'expliquer par la mise en place de la population bactérienne rendue possible par la condition anaérobique.

Le pH mesuré en sortie du dénitrificateur décroît de 7,68 le 2<sup>ème</sup> jour à 5,97 le 12<sup>ème</sup> jour. Cette diminution du pH représente la consommation de bicarbonate et la production de protons lors de la réaction de dénitrification.

Lors de la mise en route du dénitrificateur, le réacteur à calcaire prévu pour rehausser le pH n'a pu être installé. Ce contre-temps explique la diminution du pH dans l'aquarium. Pour éviter que le pH ne descende trop, un petit réacteur à calcaire a été réalisé dans un saut de 15 l. Il a permis de maintenir l'aquarium à des pH voisins de 7,5 avec des débits de l'ordre de 45 l/h. Un tel pH pourrait paraître bas pour un bac marin mais il faut savoir qu'habituellement cette aquarium tourne avec un pH d'environ 7,90.

Durant cette mise en route, la concentration de nitrates sortant du tube de soufre a significativement diminué. Dans les trois premiers jours, elle est sensiblement la même que celle de l'aquarium (66mg/l). Elle diminue fortement pour atteindre 14mg/l de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> le 12<sup>ème</sup> jour. Après 18 jours de mise en service, le dénitrificateur atteint un rendement de 100% avec une concentration de 0mg/l à sa sortie. Notons que la concentration de nitrate dans l'aquarium reste inchangée durant ces 18 premiers jours. Ce n'est qu'au 20<sup>ème</sup> jour qu'il est possible d'observer une faible diminution du taux de nitrates. Le faible débit appliqué au dénitrificateur suffit donc pour s'opposer la production de nitrates du bac mais n'est pas assez important pour observer une diminution significative.

## -Expérience d'optimisation

Chaque débit testé permet d'observer différents points : la cinétique de décroissance des nitrates, le rendement du dénitrificateur et le rendement du réacteur à calcaire.

Concernant les cinétiques de décroissance du taux de nitrate, les résultats montrent une différence notable entre les débits. Suite au huit jours d'expérience, le premier débit de 157 l/h enregistre une diminution de 27 mg/l. Le second débit de 236 l/h permet d'observer une chute de 47 mg/l. Les deux derniers débits de 315 l/h et 394 l/h permettent une diminution respective de 55 mg/l et 56 mg/l.

La comparaison des rendements du dénitrificateur en fonction des différentes charges montre que des rendements proches de 100 % sont obtenus pour des charges de 1; 1,5 ; 2 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour (figure 11). Un rendement de 70 % est obtenu avec une charge de 2,5 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour correspondant au débit de 394 l/h. Notons que cette diminution du rendement ne peut s'expliquer par une perturbation du milieu anaérobie. En effet la concentration en oxygène dissous reste inchangée sur les quatre débits et avoisine la valeur de 0,1 mg/l (annexe 3). Le rendement est proche de 100 % jusqu'à des charges de 2 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour alors que Michel Hignette(1996) annonçait des rendements importants jusqu'à des charges de 1,5 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour.

Le débit de 394 l/h enregistrant un rendement de 70 % présente une même diminution du taux de nitrate (56 mg/l) que le débit de 315 l/h qui présente un rendement de 100 %. Ceci peut s'expliquer par le fait que le déficit du rendement soit compensé par un débit plus élevé permettant de traiter une plus grande quantité d'eau.

La question qui se pose alors est de savoir quel débit choisir entre 315 l/h et 394 l/h. faut-il privilégier le rendement ou la quantité d'eau traitée?

Les résultats des rendements du réacteur à calcaire montrent une diminution de celui-ci avec l'augmentation du débit (figure 13). Le plus fort rendement de 88 % est enregistré avec le plus faible débit (157 l/h).

Pour un fonctionnement optimum de la colonne de soufre, le débit doit être réglé à 315 l/h ou 394 l/h. Cela correspond à un rendement respectivement de 51 % et 30 % du RAC.

Il est intéressant de remarquer que malgré un rendement inférieur à 100% sur les 4 débits, le pH du bac reste stable durant les 8 jours d'expérience (figure 12). Pour comprendre ce phénomène, une expérience additionnelle a été mise en place. L'eau en sortie du réacteur à calcaire a été soumise à une aération par bullage. Pour les 4 débits, l'aération a rehaussé le pH jusqu'à des valeurs de 8,3. Dans le cas du dénitrificateur de l'aquarium n°35 l'eau sortant du réacteur à calcaire passe par le trop plein de l'aquarium pour rejoindre le filtre dans les sous-sols de l'Aquarium. Le cheminement de l'eau vers le filtre entraîne sans doute cette aération qui permet de maintenir le pH du bac.

L'hypothèse suivante peut être émise : le réacteur à calcaire mis en place semble rectifier l'acidité engendrée par la consommation des bicarbonates mais pas celle engendrée par le  $\text{CO}_2$ . Un bullage exercé en sortie de RAC permettrait un dégazage du  $\text{CO}_2$  réajustant complètement le pH.

### -Réglages

Pour conclure, il est possible de se demander quel débit choisir pour faire fonctionner de manière optimale le dénitrificateur installé sur l'aquarium n° 35. Le réglage de l'appareil peut être divisé en deux phases. Une phase de décroissance de la teneur en nitrate. Cette phase à pour objectif de faire chuter la concentration en nitrate, pour cela le débit de 315 l/h est appliqué. Une seconde phase permettrait de maintenir la concentration à de faibles valeurs. Pour cela il suffit de calculer le débit qui nous permettrait de contrer la production de nitrate engendrée par la population (25 mg/l/jours). Par exemple, pour maintenir la concentration à 10 mg/l, un débit de 104 l/h serait suffisant.

### -Dimensionnement

La quantité de soufre utilisée sur l'installation semble surdimensionnée. En effet, en huit jours une forte diminution du taux de nitrate est observée. Le résultat de 2 kg  $\text{NO}_3^-/\text{m}^3$  de soufre/jour peut-il être utilisé pour établir une nouvelle base de dimensionnement ? Si 1000 litres de soufre sont capables d'éliminer 2 kg de nitrates alors 12,5 litres de soufre sont nécessaires pour éliminer les 25 g produit par la population en une journée. Cependant, le débit nécessaire de 104 l/h ne permettra pas l'établissement d'une zone anaérobie.

Une expérience est alors envisageable pour établir une nouvelle base de dimensionnement. Elle consisterait à ajouter du soufre aux 12,5 litres déjà présent jusqu'à obtention d'une zone anaérobie active permettant d'éliminer les 25 g de nitrate en une journée.

## **Bibliographie :**

### Sites internet

- mars.reefkeepers.net/Articles/CO2SYS/co2sys.html
- www.univ-ubs.fr/ecologie/metabolbacter.html
- webpublic.ac.dijon.fr

### Rapports de stage

- Vernay Valérie, 2000, « Le calcium en aquarium récifal, comparaison de l'efficacité de deux appareils:le réacteur à calcium et le réacteur à calcaire ».CREUFOP
- D'Herve Benoît, 2004, « Mise en place d'un réacteur dénitrifiant utilisant des polymères biodégradables. Etude de l'influence de la taille des poissons sur l'accumulation de nitrates », Université de Rennes
- Tian C. Zhang, 2004, DEVELOPMENT OF SULFUR-LIMESTONE AUTOTROPHIC DENITRIFICATION PROCESSES FOR TREATMENT OF NITRATE-CONTAMINATED GROUNDWATER IN SMALL COMMUNITIES, Civil Engineering Department, University of Nebraska-Lincoln, Omaha
- Minguez X.,1998, Estimation de la production de nitrates en circuit fermé. Optimisation des paramètres de fonctionnement de filtre dénitrifiant, Rapport de stage à l'Aquarium de La Rochelle.

### Livres

- Prescot, Harley, Klein, 2003, MICROBIOLOGIE, De Boeck, p 190-191
- Campbell, 1995, BIOLOGIE, De Boeck, p 1143-1144

### Publications

- D.G. Lampe, T.C. Zhang, EVALUATION OF SULFUR-BASED AUTOTROPHIC DENITRIFICATION
- Batch A Darbi, T Viraraghavan, R Butler et D Corkal, studies on nitrate removal from potable water, Water SA Vol. 28 No. 3 Juillet 2002
- Marc Langouet, 2000, La biodénitratation autotrophe sur soufre en aquarium marin
- M. Hignette, B. Lamort, M. Langouet, G. Martin, 1996, Elimination des nitrates par filtration biologique autotrophe sur soufre en aquariologie marine, Mém. Inst. Océano. P. Ricard, pp: 7-13
- S. Delaporte, M. Hignette, 2001, La dénitrification sur soufre à l'Aquarium du MAAO, Bulletin de l'Institut océanographique, Monaco n° spécial 20, fascicule 1

# Annexes

## Annexe 2 : liste des poissons de l'Aquarium n°35

		Tailles-Poids		Aquarium La Rochelle 2007	
NomLatin	NomCommun	Sexe	Taille-cm	Poids-g	
BALISTES CAPRISCUS	BALISTE CABRI		0	0	
	BALISTE CABRI		0	0	
DIPLODUS PUNTAZZO	SAR A MUSEAU POINTU		0	0	
	SAR A MUSEAU POINTU		0	0	
	SAR A MUSEAU POINTU		0	0	
	SAR A MUSEAU POINTU		0	0	
DIPLODUS SARGUS	SAR COMMUN		0	0	
	SAR COMMUN		0	0	
	SAR COMMUN		0	0	
	SAR COMMUN		0	0	
	SAR COMMUN		0	0	
	SAR COMMUN		0	0	
EPINEPHELUS GUAZA	MEROU		0	0	
	MEROU	I	66	0	
MURAENA HELENA	MURENE		0	0	
	MURENE		0	0	
	MURENE		0	0	
	MURENE		0	0	
	MURENE		0	0	
	MURENE		0	0	
	MURENE		0	0	
	MURENE		0	0	
	MURENE		0	0	
	MURENE		0	0	
	MURENE		0	0	
POMADASYS BENETTI	GATERIN		42	1430	
	GATERIN		42	1430	
	GATERIN		42	1430	
	GATERIN		0	0	

## Annexe 3 : Tableaux de données

### Mise en route du dénitrificateur

date	Débit (l/h)	NO2- (mg/l)	NO2- (BAC)	pH (sortie dénitrificateur)	pH (bac)	O2 (mg/l) (sortie dénitrificateur)	pH sortie RAC
24-mai	30	0	0	7,95	7,95	7,3	
25-mai	30	0	0	7,68		7,2	
26-mai	30	0,2	0	7,53		7	
27-mai	30	1,8	0	6,9		4,4	
28-mai	30	5	0	6,96		0,5	
29-mai	54	3,6	0	6,81		0,2	
30-mai	48	3	0	6,7	7,74	0,2	
31-mai	42	3	0	6,52	7,64	0,2	
01-juin	33	3	0	6,27	7,51	0,2	
02-juin	30	1,2	0	6,18	7,6	0,2	
03-juin	27	<0,3	0	6,04	7,61	0,2	
04-juin	25	<0,3	0	5,97	7,65	0,2	
05-juin	60	<0,3	0	5,97	7,61	0,2	
06-juin	48	<0,3	0	6,08	7,57	0,2	
07-juin	48	<0,3	0	6,06	7,48	0,2	
08-juin		<0,3	0	6,04	7,49	0,1	7,39
09-juin	42	<0,3	0	5,84	7,57	0,1	7,18
10-juin	36	<0,3	0	5,76	7,56	0,1	7,07
11-juin	48	<0,3	0	5,86	7,62	0,2	9,91
12-juin	48	<0,3	0	5,91	7,55	0,2	6,9
13-juin	42	<0,3	0	5,93	7,54	0,2	6,9

NO3- dans le bac					date	NO3- à la sortie du déni				
1	2	3	MOYENNE	Ecart type		1	2	3	MOYENNE	Ecart type
66	66	66	66	0,00	24-mai	66	66	66	66	0,00
66	66	66	66	0,00	25-mai	66	66	66	66	0,00
66	66	66	66	0,00	26-mai	63	66	66	65	1,73
66	63	63	64	1,73	27-mai	63	63	63	63	0,00
66	66	66	66	0,00	28-mai	60	60	60	60	0,00
69	66	66	67	1,73	29-mai	60	57	60	59	1,73
66	66	66	66	0,00	30-mai	57	57	57	57	0,00
69	66	69	68	1,73	31-mai	48	48	48	48	0,00
69	69	69	69	0,00	01-juin	39	39	39	39	0,00
69	66	66	67	1,73	02-juin	30	30	30	30	0,00
66	66	66	66	0,00	03-juin	21	21	21	21	0,00
69	69	69	69	0,00	04-juin	14	14	14	14	0,00
66	66	66	66	0,00	05-juin	9	10	9	9	0,58
69	66	66	67	1,73	06-juin	22	22	22	22	0,00
66	66	66	66	0,00	07-juin	17	16	17	17	0,58
66	69	69	68	1,73	08-juin	19	19	19	19	0,00
66	63	66	65	1,73	09-juin	5	6	6	6	0,58
66	66	66	66	0,00	10-juin	0	0	0	0	0,00
63	63	66	64	1,73	11-juin	0	0	0	0	0,00
63	60	60	61	1,73	12-juin	1	1	0	1	0,58
60	57	57	58	1,73	13-juin	2	2	2	2	0,00

## Expérience d'optimisation

157l/h

	pH Bac	pH SD	pH RAC	O2	rendement
18-juil	7,61	5,92	7,52	0,2	95
19-juil	7,61	5,98	7,51	0,2	94
20-juil	7,62	6,17	7,5	0,2	92
21-juil	7,62	6,2	7,43	0,2	87
22-juil	7,64	6,22	7,4	0,1	83
23-juil	7,66	6,34	7,42	0,2	82
24-juil	7,65	6,38	7,41	0,2	81

	NO3- dans le BAC					NO3- SD					Rendement
				moyenne	écart type				moyenne	écart type	
18-juil	60	60	60	60	0,00	1	1	2	1,33	0,58	98
19-juil	57	57	57	57	0,00	0	0	0	0,00	0,00	100
20-juil	54	51	54	53	1,73	0	0	0	0,00	0,00	100
21-juil	48	48	48	48	0,00	0	0	0	0,00	0,00	100
22-juil	45	45	45	45	0,00	0	0	0	0,00	0,00	100
23-juil	42	42	39	41	1,73	0	0	0	0,00	0,00	100
24-juil	36	36	36	36	0,00	0	0	0	0,00	0,00	100

236l/h

	pH Bac	pH SD	pH RAC	O2	rendement
25-juil	7,7	6,61	7,34	0,2	67
26-juil	7,71	6,65	7,35	0,2	66
27-juil	7,73	6,62	7,34	0,2	65
28-juil	7,73	6,67	7,35	0,2	64
29-juil	7,76	6,79	7,39	0,2	62
30-juil	7,77	6,84	7,36	0	56
31-juil					

	NO3- dans le BAC					NO3- SD					Rendement
				moyenne	écart type				moyenne	écart type	
25-juil	54	54	54	54	0,00	2	1	2	1,67	0,58	97
26-juil	45	45	45	45	0,00	0	0	0	0,00	0,00	100
27-juil	39	36	36	37	1,73	0	0	0	0,00	0,00	100
28-juil	33	30	30	31	1,73	0	0	0	0,00	0,00	100
29-juil	27	24	24	25	1,73	0	0	0	0,00	0,00	100
30-juil	21	21	21	21	0,00	0	0	0	0,00	0,00	100
31-juil	16	16	16	16	0,00	0	0	0	0,00	0	100

