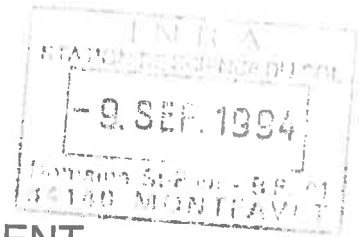


TH - CE7

UNIVERSITES D'AIX-MARSEILLE III, NANCY, PARIS VI,
PARIS VII ET TOULOUSE III

D.E.A.

GEOSCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT



INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

UNITE DE SCIENCE DU SOL DE MONTFAVET

ETUDE DES MECANISMES CHIMIQUES LIES A LA
DENITRIFICATION DANS UN SEDIMENT DE LA VALLEE DE LA
VISTRENQUE (GARD)

par
Sadia OUAR

Responsable: V. VALLES

Année: 1993-1994

RESUME

Les divers travaux qui ont été effectués sur la pollution azotée dans la vallée de la Vistrenque, ont décelé la présence de plusieurs formes d'azote (nitrate, nitrite et ammonium) dans le même aquifère. La répartition de ces espèces semble liée à une dénitrification induite par l'anoxie de certaines zones.

L'objectif de ce travail est d'étudier la dénitrification dans la séquence des différents processus susceptibles de s'enchaîner lors de l'évolution des eaux riches en nitrates vers des conditions anoxiques.

Sachant la diversité des réactions mises en jeu il est paru utile de multiplier les paramètres mesurés et les méthodologies employés.

+ une approche isotopique ^{15}N qui nous a permis d'une part d'identifier la dénitrification et d'autre part de la suivre jusqu'au bout en faisant apparaître à chaque fois les formes sous lesquelles se présente l'azote

+ une approche chimique qui nous a permis de suivre les différents processus liés à l'état d'aération du milieu qui est une condition propice à la dénitrification. Le dosage en des éléments majeurs minéraux ou organique et des métaux dissous, les analyses minéralogiques, les observations et microanalyses effectuées au MEB et le dosage des gaz ont permis de compléter des observations antérieures.

Les résultats ont montré la succession de plusieurs étapes. Une phase de respiration aérobie avec production d'ammonium est suivie de la dénitrification avec production successive de NO_2^- et N_2O . On note lors la production d'hydrogène. L'étape suivante est constituée par une solubilisation du manganèse puis du fer en condition réductrices. Ultérieurement l'activité microbienne libère des acides organiques qui participent à la solubilisation des métaux. Enfin, en condition très réductrices, une production d'hydrogène se produit dans des conditions proches de l'équilibre thermodynamique.

Des concentrations maximales en ammonium ont été observées en fin d'incubation et proviendraient de la destruction de la matière organique d'origine microbienne confirmant ainsi certaines hypothèses sur l'origine de l'ammonium dans la Vistrenque. En revanche, une production particulièrement rapide a été mise en évidence dans les premières heures d'incubation en conditions oxydantes. Sa signature isotopique et la rapidité de son apparition ont montré qu'il s'agissait d'une transformation métabolique du nitrate.

De plus, ce travail a confirmé que les micro-organismes n'agissent pas uniquement sur la modification du Eh et du pH de la solution. Ils participent activement à la chimie globale, en particulier à l'attaque des minéraux, et accélèrent l'altération de la calcite, d'oxydes et de silicates même lors des stades aussi précoces que celui de la dénitrification. Les transformations induites sont suffisamment importante pour affecter le stock d'oxydes de manganèse ou de fer.

La production de N_2O , souvent évoquée lors des études sur la dénitrification, a été confirmée aussi dans cette étude. En revanche, les mesures ont révélé aussi une production d'hydrogène non négligeable depuis le stade de la dénitrification jusqu'aux derniers moments de l'incubation.

Enfin, ce travail a confirmé la complexité des processus liés à la dénitrification dans les situations anoxiques et il paraît opportun de resserrer le pas de temps entre deux incubations pour les expérimentations ultérieures.

AVANT-PROPOS

Une pensée particulière à Yves CHAMBROY qui nous a quitté le mois de mai .
Je n'oublierai jamais sa grande contribution au démarrage de mon expérimentation

Je tiens avant tout à remercier messieurs D. NAHON et L.BRUCKLER responsables respectifs de mon laboratoire d'origine(Geosciences de l'environnement) et du laboratoire d'accueil pour mon stage(science du sol d'Avignon).

Agradezco particularmente al V. VALLES quien me ha enseñado muchísimas cosas en muy poco tiempo (geoquímica, flamenco, sevillana, etc). Solo le reprocho que no me haya hecho probar su famosa paella?????..pero no pierdo las esperanzas.

Toute ma gratitude va vers B GARCIA pour toute l'aide qu'elle m'a apportée et surtout sa patience.

O RIBOLZI ne peut échapper à mes remerciements," heureusement qu'au moment où j'ai eu besoin de son aide il n'avait pas tout le temps mieux à faire."

Je remercie A M de COCKBORNE pour tous ses conseils qui m'ont été d'une grande utilité.

Je suis très reconnaissante à G JAQUEMIN pour sa collaboration pour le dosage des gaz.

Mes remerciements s'adressent aussi à NICOLARDOT du laboratoire de DIJON grâce à qui j'ai pu effectuer mes dosages isotopiques.

Je remercie également M AUGÉ d'avoir bien voulu apporter sa contribution à l'analyse des métaux.

Un grand merci à messieurs L ROGER et R GUYON pour avoir accepté de me recevoir dans leur laboratoire.

Et une gratitude particulière à M M NEHLIL pour son grand dévouement et sa gentillesse .

TABLES DES MATIERES

RESUME.....	2
AVANT-PROPOS.....	3
TABLES DES MATIERES.....	4
INTRODUCTION	5
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	7
1 La dénitrification et les méthodes d'approche	7
2 La dénitrification et les processus d'oxydoréduction	8
MATERIEL ET METHODES	9
1 LOCALISATION DE LA ZONE D'ETUDE:.....	9
1.1 Situation géographique:.....	9
1.2 Géologie et pédologie de la vallée:.....	9
2 PROTOCOLE EXPERIMENTAL	10
2.1 Prélèvement:.....	10
2.2 Préparation des échantillons	10
2.3 Calendrier	10
a) Première expérimentation	11
b) Deuxième expérimentation	11
METHODOLOGIE ANALYTIQUE	12
1 DOSAGE DES GAZ	12
2 MESURE DU pH ET DU Eh	12
3 DOSAGE DES IONS	12
4 DOSAGE DES FRACTIONS ISOTOPIQUES DE L'AZOTE	12
RESULTATS.....	13
1 PREMIERE EXPERIMENTATION.....	13
1.1 Présentation descriptive des résultats	13
a) Observations au cours de la période d'incubation	13
b) Evolution du pH.....	13
c) Evolution du potentiel rédox.....	13
d) Evolution de la composition gazeuse.....	13
Essai réalisé avec le saccharose.....	13
Essai réalisé avec la cellulose	14
e) Evolution des formes inorganiques de l'azote.....	14
1.2 Synthèse sur les variations observées lors de la première expérimentation	14
a) Influence de la salinité	14
b) Influence du substrat.....	15
2 DEUXIEME EXPERIMENTATION.....	17
2.1 Présentation descriptive des résultats	17
a) De 0 à 12 heures:	17
b) Entre 6 et 12 heures:	17
c) Entre 12 et 72 heures:.....	17
f) Entre 72 et 96 heures:	18
g) Entre 96 et 120 heures:	18
h) Entre 120 et 144 heures:	18

i) Entre 144 et 168 heures:.....	18
j) Entre 168 et 240 heures:.....	18
k) Entre 240 et 720 heures:.....	19
2.2 Synthèse sur les variations observées lors de la seconde expérimentation	19
a) Domaine de respiration microbienne:	19
b) Domaine de la dénitrification:.....	20
c) Domaine du passage fer ferrique/fer ferreux	20
d) Domaine du fer ferreux:	21
e) Domaine de la dissolution et de la complexation inorganique des métaux:.....	21
f) Domaine de la complexation organo-metallique	21
g) Domaine de la production d'hydrogène	22
DISCUSSION	23
CONCLUSION	24
BIBLIOGRAPHIE	25
LISTE DES FIGURES.....	29
LISTE DES TABLEAUX	32
ANNEXES	33
SOMMAIRE	47

INTRODUCTION

Le cycle d'un élément est constitué par l'ensemble des formes ou réservoirs sous lesquels il se présente et les changements d'état qu'il peut subir. En général ces transformations sont de nature physico-chimique (dissolution ou précipitations en conditions abiotiques), mais dans certains cas elles ont une origine biologique.

Le cycle de l'azote est un exemple dans lequel l'influence de l'activité biologique est prépondérante. Il en résulte une grande diversité de réactions et de processus sur lesquels nombreux travaux ont été menés.

Les apports anthropiques constituent actuellement une des voies principales d'entrée dans le cycle de l'azote, induisant l'apparition ou l'aggravation de problème de contamination des nappes.

La dénitrification, stimulée par une carence en oxygène dissous, est une réduction biologique des nitrates provoquée par la microflore bactérienne. Elle joue un rôle majeur dans la lutte contre la pollution azotée des eaux.

Cependant ce processus est dépendant de l'état d'aération des solutions, qui peut aussi induire des modifications non négligeables en particulier au niveau de la chimie des métaux (Vizier 1989 et 1990). Certains auteurs tel Fustec *et al.* (1990) ont ainsi montré le lien entre dénitrification et dynamique des métaux dans les nappes. Le lien entre la solubilisation des métaux tels que le manganèse ou le fer et la dénitrification constitue un champ d'investigations. Il semble intéressant de préciser si ces réactions peuvent être couplées ou bien si elles constituent différentes étapes d'un même processus.

De manière plus générale, il apparaît intéressant d'étudier la dénitrification dans son contexte physico-chimique. L'objectif de ce travail est de situer la dénitrification par rapport aux différentes réactions susceptibles de se produire dans le milieu avec les transformations des autres éléments.

Pour atteindre ce but, nous proposons de multiplier les paramètres mesurés et de diversifier les techniques analytiques. La chimie des gaz, des éléments majeurs, des métaux dissous et le traçage isotopique seront couplés afin de préciser le lien existant entre la dénitrification et les autres transformations. L'aspect dynamique, à savoir la simultanéité ou la succession temporelle des différents mécanismes, fera l'objet d'une attention particulière.

La zone retenue est la vallée de la Vistrenque dont l'aquifère est actuellement le lieu d'une étude pluridisciplinaire. Celle-ci a montré une bonne corrélation spatiale entre unité paysagique, régime hydrique, état d'aération des eaux, teneur et spéciation de l'azote.

Les eaux circulant dans les matériaux grossiers sont oxydantes et riches en nitrates alors que les zones plus réductrices correspondant à une moindre perméabilité de l'aquifère présentent des teneurs plus faibles en nitrate au bénéfice de nitrite ou d'ammonium qui ont été décelés en quantités notables. Ainsi une typologie des zones susceptibles de dénitrifier a pu être établie et regroupe des gravières, des zones marécageuses, des rypisilves, des talwegs hydromorphes, etc.. Cependant, l'existence de la dénitrification n'a pas été prouvée et des mesures d'abondance isotopique naturelle sont en cours avec l'aide de l'Université de Paris VI.

De plus, la présence d'ammonium dans les zones anoxiques suscite des interrogations car la dénitrification conduit à la transformation $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2$ gazeux sans formation de NH_4^+ . Dans l'état actuel des connaissances, la présence d'ammonium

dans l'aquifère de la Vistrenque est attribuée à la minéralisation de la matière organique, sans toutefois être démontrée.

L'origine de la production d'ammonium et la mise en évidence de la dénitrification par traçage isotopique constitueront deux des objectifs complémentaires de cette étude.

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1 LA DENITRIFICATION ET LES METHODES D'APPROCHE

La dénitrification est la réduction de l'ion nitrate en azote moléculaire. Ce processus, le plus souvent biologique est produit par l'action des bactéries qui dans des milieux anaérobies, utilisent dans leur chaîne respiratoire de transfert d'électrons, le nitrate comme accepteur final, au lieu de l'oxygène (O₂) dans le processus de respiration: on peut dire que ces bactéries "respirent le nitrate". La microflore dénitrifiante est un ensemble complexe de micro-organismes fonctionnant en synergie pour réaliser une succession d'étapes de réductions :



Réductions assimilative et dissimilative du nitrate en ammonium ne doivent pas être confondues avec la dénitrification (Fazzolari *et al.*, 1990 a et b; Fazzolari 1991, Gordon *et al.*, 1986 ; Knowles, 1982).

De nombreuses bactéries peuvent absorber les nitrates et les réduire en ammonium, utilisé ensuite dans la synthèse des acides aminés: ce processus est appelé réduction assimilative du nitrate (Delwiche, 1953 ; Stanford *et al.*, 1975 ; Strensen, 1978 ; Casey et Tiedje, 1980). La part de nitrate éliminée par cette voie est généralement négligeable concernerait seulement 2% des nitrates éliminés (Sacks et Barker, 1952 ; Bowman et Focht, 1974).

La réduction dissimilative du nitrate en ammonium se produit en milieu anoxique (Fenchel et Blackburn, 1979). Elle peut parfois se traduire par une production élevée d'ammonium lorsque le milieu est salé (Amrani 1990, Dellal et Halitim 1992) en particulier au niveau des marais littoraux et des estuaires (Buresh et Patrick, 1991). En effet, la présence de sel inhibe la plupart des réactions biologiques de transformation de l'azote à l'exception de l'ammonification.

La réduction dissimilative du nitrate peut être de type respiratoire ou bien fermentaire. Elle conduit à un fractionnement isotopique qui est à la base des approches isotopique de la dénitrification. Ces méthodes particulièrement efficaces sont basées sur les mesures de l'abondance naturelle du ¹⁵N. En début de chaîne, le passage NO₃⁻ -> NO₂⁻ provoque la rupture d'une liaison chimique N-O. Ceci entraîne un fractionnement isotopique. En effet, les liaisons établies avec l'isotope léger sont plus facilement brisées que celle établies avec l'isotope lourd du même élément. De nombreux travaux ont observé et quantifié ce fractionnement isotopique lors du processus de dénitrification dans le sol (Black mer et Bermer, 1977 ; Chien *et al.*, 1977 ; Mariotti *et al.*, 1982). Dans toutes les observations effectuées dans des systèmes proches des conditions naturelles ce fractionnement est normal. " L'azote moléculaire qui apparaît est enrichi en isotope léger ¹⁴N, alors que le nitrate restant s'enrichit en isotope ¹⁵N lourd. Au cours de la dénitrification, le δ ¹⁵N de l'azote moléculaire formé est inférieur à celui du nitrate de départ (Vogel *et al.* 1981) et de manière quantitative, la composition isotopique du nitrate en cours de dénitrification augmente proportionnellement au logarithme de la fraction qui n'a pas réagi.

Ainsi, l'étude des variations spatiales et temporelles de la teneur en ¹⁵N permet de différencier les eaux peu nitratées du fait d'une dilution de celles qui ont été réellement épurées par l'activité microbienne (Mariotti 1992).

2 LA DENITRIFICATION ET LES PROCESSUS D'OXYDOREDUCTION

Différents auteurs ont mis en évidence l'importance des caractéristiques physico-chimiques du milieu, et en premier lieu de son état d'aération, sur la dénitrification.

De même, des études ont permis d'établir un lien entre la dénitrification et les transformations des autres éléments tels que le manganèse ou le fer (Fustec *et al.*, 1991). Ces auteurs ont étudié la dynamique de l'azote dans une ripisylve de la Garonne. Ils ont montré des corrélations négatives entre la présence de nitrate et celle de métaux dissous.

De même, Mariotti (1986) montre que "dans un aquifère souterrain captif, en présence de carbone organique, une suite de réactions rédox se produit tel que les espèces oxydées sont réduites selon la séquence: O₂/ NO₃⁻/ Mn(IV)/ Fe(III)/ SO₄⁼ etc.. Ainsi, la dénitrification débute après la disparition de l'oxygène dissous par respiration aérobie et précède l'apparition des ions Mn⁺⁺ et Fe⁺⁺".

Tableau I

Séquence des processus redox

(d'après Mariotti 1992)

Respiration	$\text{CH}_2\text{O} + \text{O}_2 \Rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$
Dénitrification	$\text{CH}_2\text{O} + 4/5\text{NO}_3^- + 4/5\text{H}^+ \Rightarrow \text{CO}_2 + 2/5\text{N}_2 + 7/5\text{H}_2\text{O}$
Respiration de Mn(IV)	$\text{CH}_2\text{O} + 2\text{MnO}_2 + 4\text{H}^+ \Rightarrow 2\text{Mn}^{2+} + 3\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$
Respiration de Fe(III)	$\text{CH}_2\text{O} + 4\text{Fe}(\text{OH})_3 + 8\text{H}^+ \Rightarrow 4\text{Fe}^{2+} + 11\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$
Réduction des sulfates	$\text{CH}_2\text{O} + 1/2\text{SO}_4^{2-} + 1/2\text{H}^+ \Rightarrow 1/2\text{HS}^- + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$
Fermentation méthanique	$\text{CH}_2\text{O} + 1/2\text{CO}_2 \Rightarrow 1/2\text{CH}_4 + \text{CO}_2$

En milieu oxydant, le manganèse précipite sous forme d'oxyde Mn(IV) de type MnO₂. En milieu réducteur et alcalin, il précipite sous forme de carbonates de manganèse ou de carbonates mixtes par intégration dans des réseaux de calcite. La réduction de Mn(IV), s'accompagne de la solubilisation du manganèse. Elle peut être indirecte, liée aux diminutions de pH et Eh ou aux métabolites résultant de l'activité bactérienne (Stone et Morgan 1984). Le rôle de Mn^{IV} comme accepteur d'électron (réduction directe) a été démontré chez de nombreuses bactéries (Lovly 1991). Cependant, la séquence de réduction des différents éléments dépend elle-même des conditions physico-chimiques. Ainsi, la sulfato-réduction et la méthanisation, phénomènes rapides dans les températures chaudes, sont fortement ralenties à basse température.

De même, la nature des relations entre les réductions successives n'est pas clairement établie; en effet, le recoupement temporel des phases de réduction des différents composés n'a pas fait l'objet de nombreux travaux.

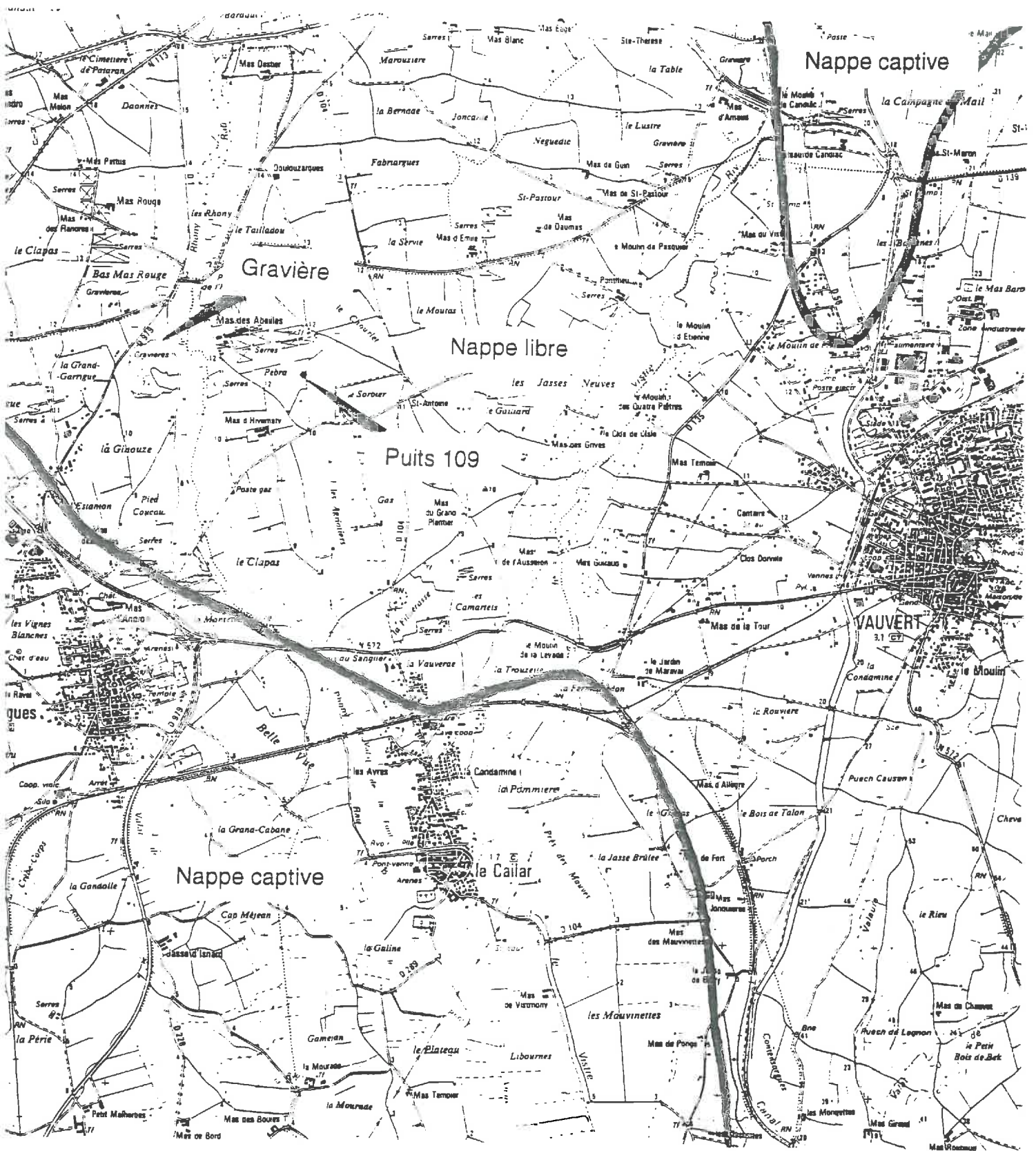


Figure 1: Carte de localisation de la zone d'étude.

MATERIEL ET METHODES

1 LOCALISATION DE LA ZONE D'ETUDE:

La zone étudiée est une zone agricole intensive, particulièrement affectée par le problème de pollution nitratée; Il s'agit de la vallée de la Vistrenque.

1.1 Situation géographique:

La vallée de la Vistrenque est située en bordure de la Méditerranée dans le département du Gard (fig. 1).

C'est un petit bassin d'une dizaine de kilomètres de large qui se trouve entre les garrigues calcaires situées au nord et au sud-est les Costières plateau coiffé de cailloutis Villafranchiens. Sa superficie est d'environ 400 Km². Elle est limitée par les failles de Nîmes et de Vauvert de directions nord-est sud-ouest.

La nappe de la Vistrenque s'étend en amont depuis les contreforts du Gardon, vers marais littoraux et salés de Port-Viel et du Palus en aval.

1.2 Géologie et pédologie de la vallée:

Le substratum de la nappe de la Vistrenque est constitué d'argiles plaisanciennes sur lesquelles reposent des formations détritiques d'origine rhodaniennes; ce sont des cailloutis villafranchiens cristallins et arénisés.

Ces cailloutis se sont partiellement recouverts de dépôts détritiques en provenance:

- du piémont des Garrigues
- du colluvionnement du Vistre et du Vidourle
- du loess sur les Costières

Les sols de la vallée sont essentiellement des rendzines et des lithosols au niveau des Garrigues ainsi que des sols fersiallitiques saturés ou non dans certaines parties de la vallée alluviale et au niveau des Costières.

Les travaux mesures réalisées par la DIREN Languedoc Roussillon (Malefosse 1992, Garcia 1993) ont montré une coïncidence entre les unités paysagiques, les transferts hydriques et la distribution spatiale des formes et des concentrations en azote. Au niveau des zones caillouteuses, la nappe circule facilement et les eaux présentent un caractère oxydant. L'azote est essentiellement sous forme de nitrates dont les concentrations sont particulièrement élevées, jusqu'à 200 mg/l (fig. 2). En aval, au niveau du contact avec des sédiments moins filtrants, l'état d'aération est moins bon et les nitrates disparaissent au profit de nitrites dont les teneurs peuvent atteindre 7 à 8 mg/l. Enfin, les près marécageux littoraux plus ou moins salés des parties basses de la vallée, habitent des eaux stagnantes et réductrices présentant de fortes teneurs en ammonium (jusqu'à 2 ou 3 mg/l).

Enfin, il convient de préciser que des surfaces importantes de la vallée font l'objet d'épandage d'eaux chargées de carbone organique (résidus sucrés de conserveries de fruits, eaux de distilleries,..). Au droit de ces épandages et légèrement en aval, les teneurs de la nappe en nitrates sont particulièrement basses ce qui suggère l'existence d'une dénitrification induite par ces apports.

AQUA formes azotées

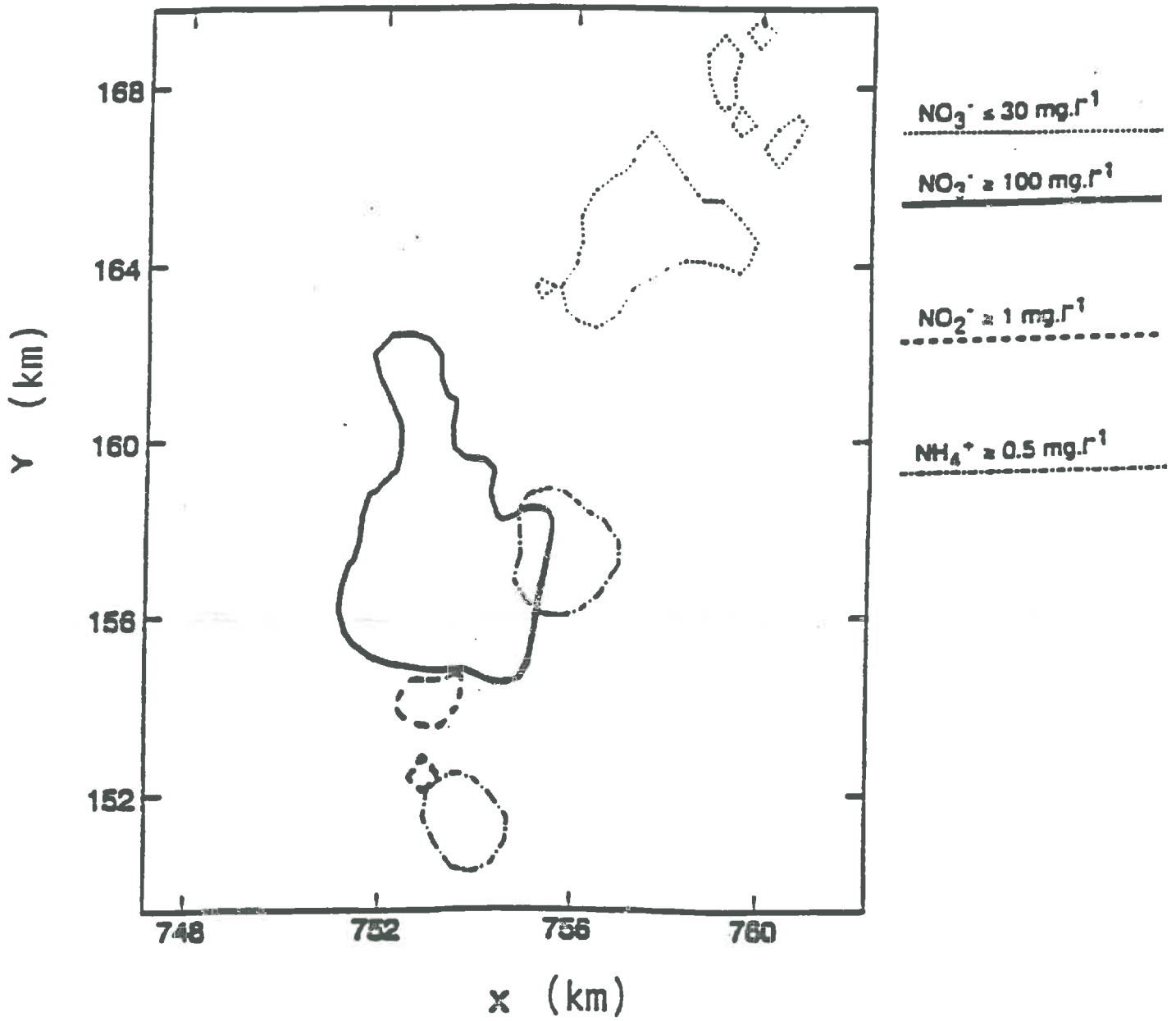


Figure 2: Distribution spatiale du nitrate, du nitrite et de l'ammonium dans l'aquifère de la Vistrenque.

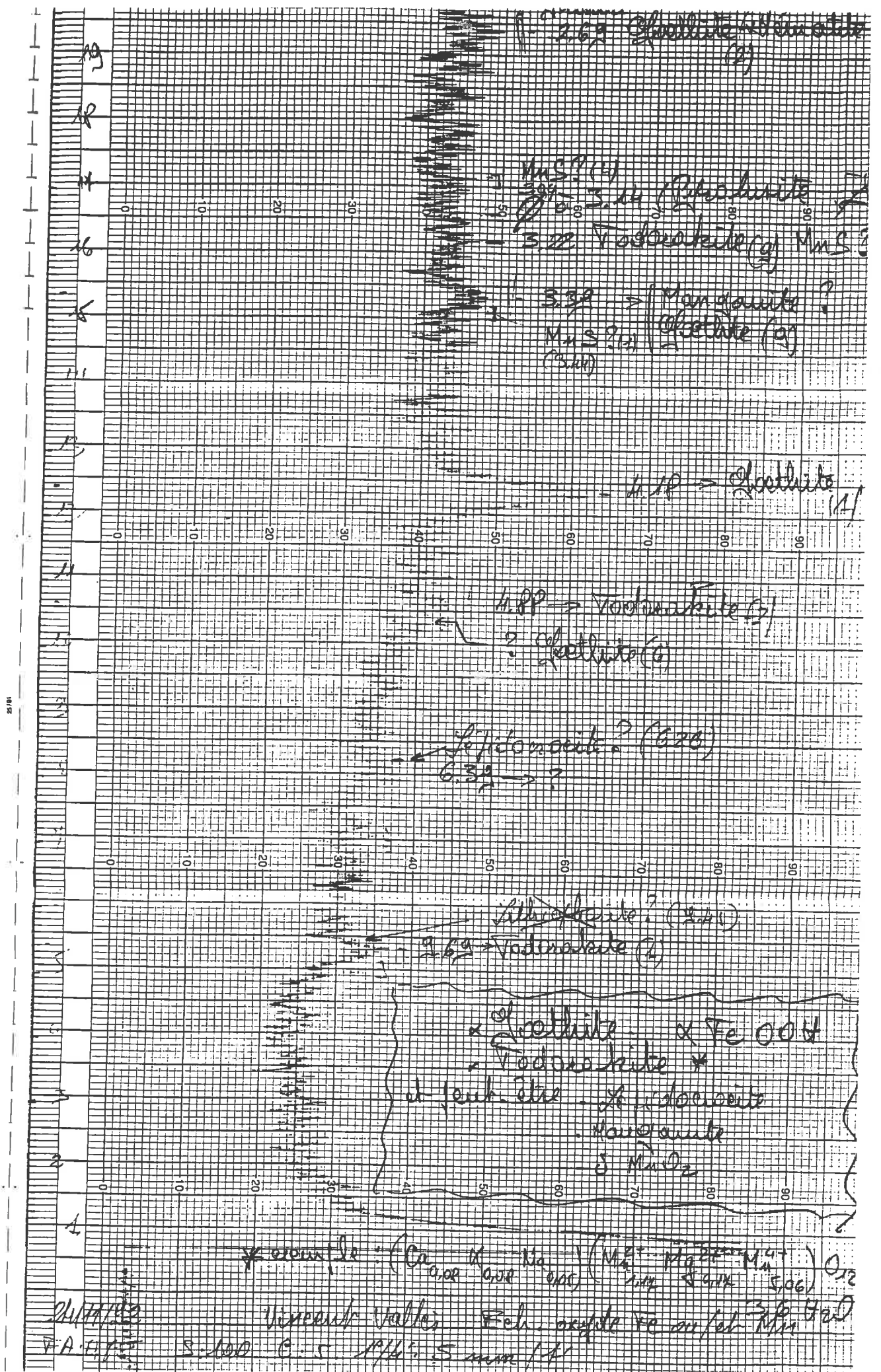


Figure 3: Diffractogramme des rayons X appliqué au sédiment avant incubation.

2 PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Les expérimentations consistent à provoquer un état d'anoxie afin de pouvoir suivre les différentes étapes de la dénitrification et les transformations affectant les autres éléments chimiques.

Pour cela, le sédiment et l'eau de la Vistrenque sont incubés en présence d'une source de carbone organique afin de stimuler le développement des micro-organismes.

L'ouverture de flacons après des temps d'incubation différents permet de suivre les évolutions temporelles des processus.

Deux séries de mesures ont été réalisées avec des objectifs scientifiques différents:

- La première réalisée par R. Querolle, stagiaire INRA, a cherché à préciser le rôle du type de source carbonée sur la vitesse des processus et l'influence éventuelle de la salinité sur les processus de dénitrification. Elle a fait l'objet d'un nombre relativement restreint de paramètres mesurés. En revanche trois niveaux de salinité ont été testés.
- La seconde a pour objectif le traçage de l'azote afin de suivre les différentes étapes de transformation. Elle constitue la partie principale de ce travail et a permis de suivre un nombre plus élevé de paramètres chimiques concernant aussi bien les phases liquide ou gazeuse que solides, avec des techniques plus appropriées. Cette seconde expérimentation vise aussi à étendre la gamme des mesures à d'autres composés non azotés produits par les processus liés à la dénitrification.

2.1 Prélèvement:

Le sédiment villafranchien a été prélevé dans une gravière au niveau du front d'extraction, ce qui permet d'accéder à un matériau exempt de matière organique superficielle et peu perturbé par l'atmosphère. Il a été prélevé au niveau de la nappe phréatique puis conservé à basse température (4°C) et à l'abri de la lumière.

Pour la seconde expérimentation, le sédiment présentait une teneur notable de calcite.

La diffraction de rayons X (fig.3) indique que ce sédiment est constitué principalement de feldspaths calco-sodique, micas et argiles micacées, quartz et d'oxydes de fer (goethite et probablement hématite et magnétite) et todorokite (Oxyde de Manganèse), kaolinite, gibbsite ainsi que des argiles à 14 Å.

L'analyse à la micro-sonde révèle la présence de dendrites d'oxydes de manganèse à proximité des oxydes ferriques (figure 4).

L'eau vient du puits 109, fortement contaminé par les nitrates, avec des teneurs voisines de 210 mg/l. et situé à proximité de la gravière.

2.2 Préparation des échantillons

L'incubation s'est faite dans des bouteilles hermétiquement fermées dans lesquelles la même masse d'eau et de sédiment sont placés. Ces flacons sont soumis aux mêmes conditions de milieu que la nappe, c'est à dire en absence de lumière et en conditions thermostatées à 15°C à 1 degré près, température moyenne annuelle de la nappe.

Les durées d'incubation ont été fixées de manière à ce que l'on puisse bien observer les premières transformations de la physico-chimie du milieu. Autrement dit, les premières sont très rapprochées et par la suite elles sont éloignées.

2.3 Calendrier

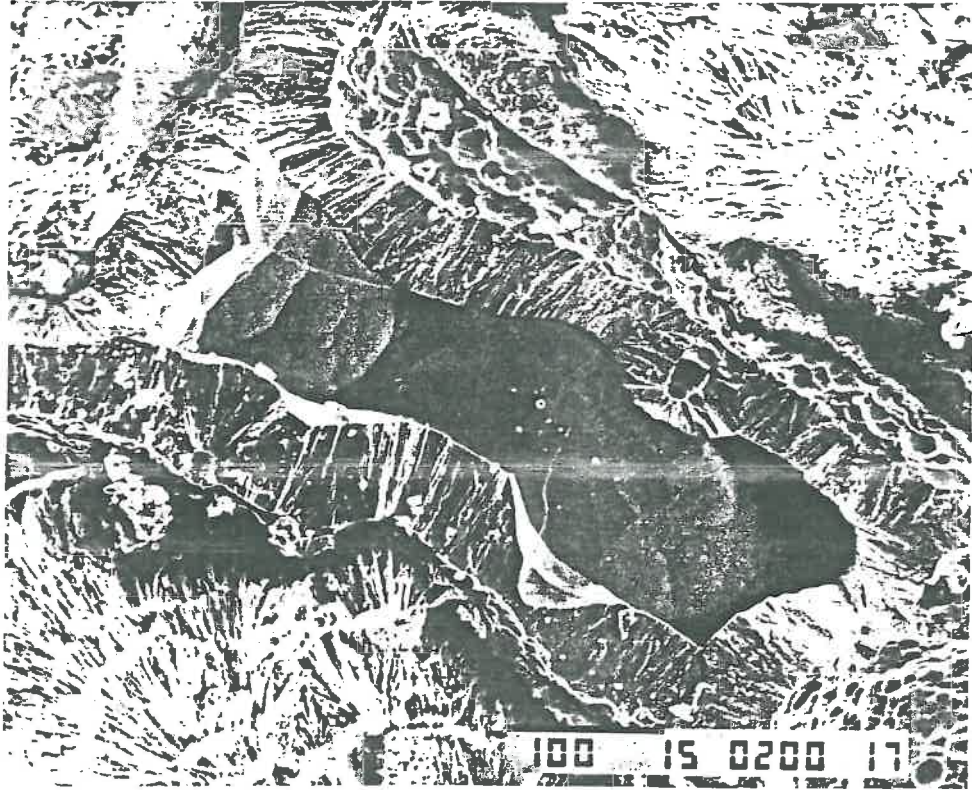


Figure 4: Photographie M.E.B. sur des oxydes de manganèse purs (forme dendritique) et oxydes de fer obtenus sur le sédiment avant incubation.

a) Première expérimentation

La période maximale d'incubation a été fixée à 61 jours. Le calendrier a été établi de manière à ce que la période séparant les échantillons diminue avec la durée d'incubation. Aux dates précisées dans le calendrier, 6 bouteilles ont été remplies avec 700 g. de sédiment et 700 g. d'eau. Trois d'entre elles ont reçu un apport de 10 g. de saccharose et es trois autres dix grammes de cellulose. Afin d'étudier l'incidence de la salinité sur la production d'ammonium, un ajout de chlorure de sodium a permis d'atteindre les conductivités de 5 mS/cm. valeur maximale observée dans le sud de la vallée, à 3 kilomètres du point de prélèvement qui se situe pour sa part à 1.3 mS/cm.. Une série a été portée à la conductivité électrique de 10 mS/cm. valeur très plausible dans les marais littoraux à proximité desquels a été constatée la présence d'ammonium.

b) Deuxième expérimentation

500 g. de sédiment et 500 g. d'eau riche en nitrate ont été placés dans des bouteilles de 1 litre. La source de carbone ajoutée est le saccharose a raison de 7 g. par litre.

Afin de suivre les transformations de l'azote, 15 mg de nitrate marqué ^{15}N ont été introduits. Chaque échantillon a fait l'objet de trois répétitions pour apprécier la variabilité.

Les bouteilles ont été hermétiquement fermées, enveloppées dans du papier aluminium et placées dans une enceinte climatique à température constante de 15° .

La deuxième incubation a débuté le 24/03/1994; les durées d'incubation s'échelonnent de 6 à 720 heures.

Pour pouvoir effectuer tous les dosages dans les heures qui suivent l'ouverture, le calendrier a été fait de sorte à ouvrir au maximum six bouteilles à la fois.

TABLEAU II

Référence des échantillons correspondants aux différents temps d'incubation de la seconde expérimentation

Durée (heures)	6	12	24	48	72	96	120	144	168	240	360	720
1 ^{ère} Répétition	6.1	12.1	24.1	48.1	72.1	96.1	120.1	144.1	168.1	240.1	360.1	720.1
2 ^{ème} Répétition	6.2	12.2	24.2	48.2	72.2	96.2	120.2	144.2	168.2	240.2	360.2	720.2
3 ^{ème} Répétition	6.3	12.3	24.3	48.3	72.3	96.3	120.3	144.3	168.3	240.3	360.3	720.3

METHODOLOGIE ANALYTIQUE

Les observations et analyses qui ont été faites sont les suivantes:

- anions : nitrites, nitrates, chlorures et sulfates.
- cations: ammonium, calcium, sodium, magnésium et manganèse.
- gaz: CO₂, O₂, H₂, N₂O, N₂
- métaux: fer et manganèse libres par électrophorèse capillaire et totaux par absorption atomique.
- azote 15 : ¹⁵NO₃⁻, ¹⁵NO₂⁻ et ¹⁵NH₄⁺
- étude minéralogique du sédiment par diffractométrie Rayons X
- observation et microanalyse au microscope électronique à balayage

1 DOSAGE DES GAZ

Les gaz ont été dosés avec un Chromatographe Shimadzu GC équipé de deux colonnes , avant l'ouverture des bouteilles .

2 MESURE DU PH ET DU EH

Les mesures du potentiel redox et du pH ont été effectuées immédiatement après ouverture des bouteilles afin d'éviter toute erreur liée à une évolution rapide par dégazage ou oxydation. De plus, lors de la première expérimentation, les mesures de Eh ont été effectuées dans des solutions se succédant dans le temps, afin de faciliter la stabilité de l'électrode.

Le matériel utilisé est constitué d'un pH-mètre 93314 BIOBLOCK d'une électrode Eh platine INGOLD Pt-4805-S7.

3 DOSAGE DES IONS

L'analyse des différents ions a été effectuée après filtration de la solution recueillie dans chaque bouteille.

Le dosage des anions et des cations a été effectués par distillation pour NH₄ et NO₂⁻, et électrode spécifique pour NO₃⁻ dans le cas de la première expérimentation ; et au moyen d'une électrophorèse capillaire WATERS (électrolyte OFM BT pour les anions et UV CAT2 pour les cations) dans le cas de la seconde expérimentation.

Les métaux ont été dosés par spectrométrie d'absorption atomique(PERKIN-ELMER,2100) après micro filtration.

4 DOSAGE DES FRACTIONS ISOTOPIQUES DE L'AZOTE

Les fractions isotopiques de l'azote ont été mesurées par spectromètre optique (PROMOCHEM NOI-PC computerized ¹⁵N-analytical system:FAN Fischer ANALYSEN instrument GmbH) après distillation, c'est à dire entraînement à la vapeur de NH₃ formé, puis piégeage par H₂SO₄ et évaporation.

SACCHAROSE

pH à 1.3, 5, 10 mS/cm

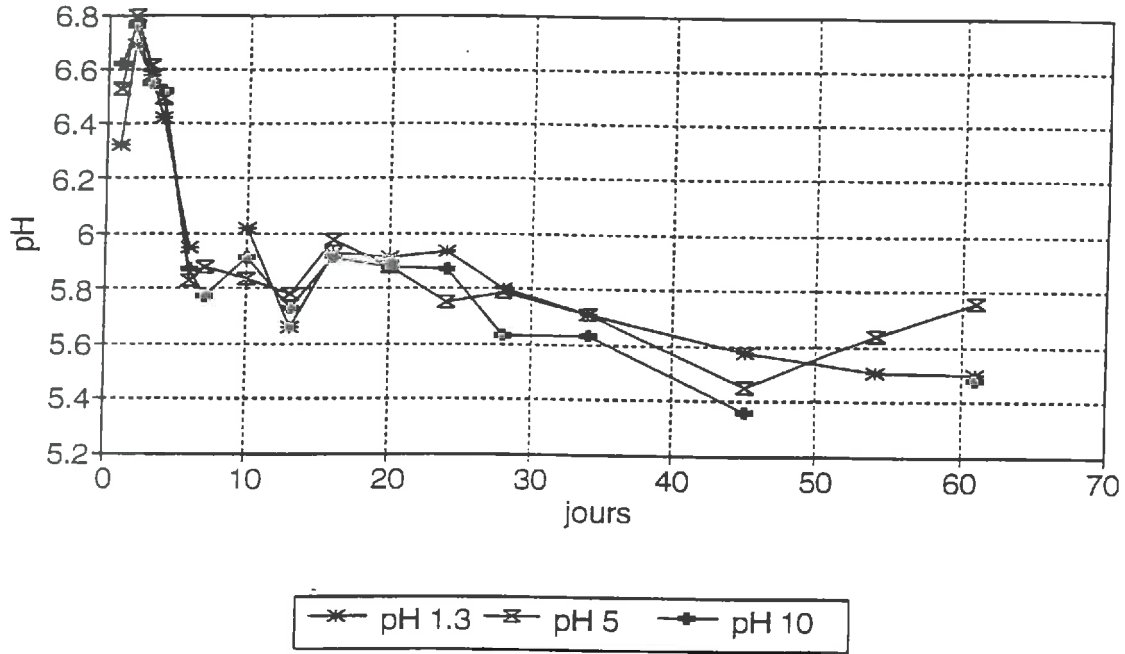


Figure 5: Evolution du pH pour l'essai saccharose lors de la première expérimentation.

CELLULOSE

pH à 1.3, 5, 10 mS/cm

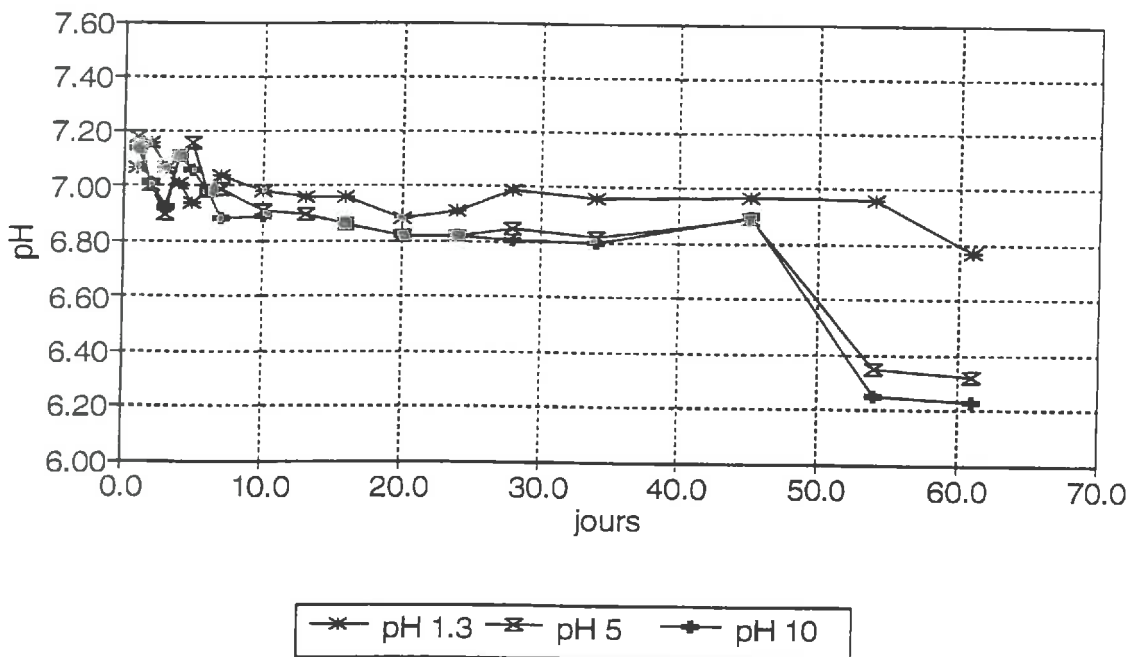


Figure 6: Evolution du pH pour l'essai cellulose lors de la première expérimentation.

SACCHAROSE

Eh à 1.3, 5, 10 mS/cm

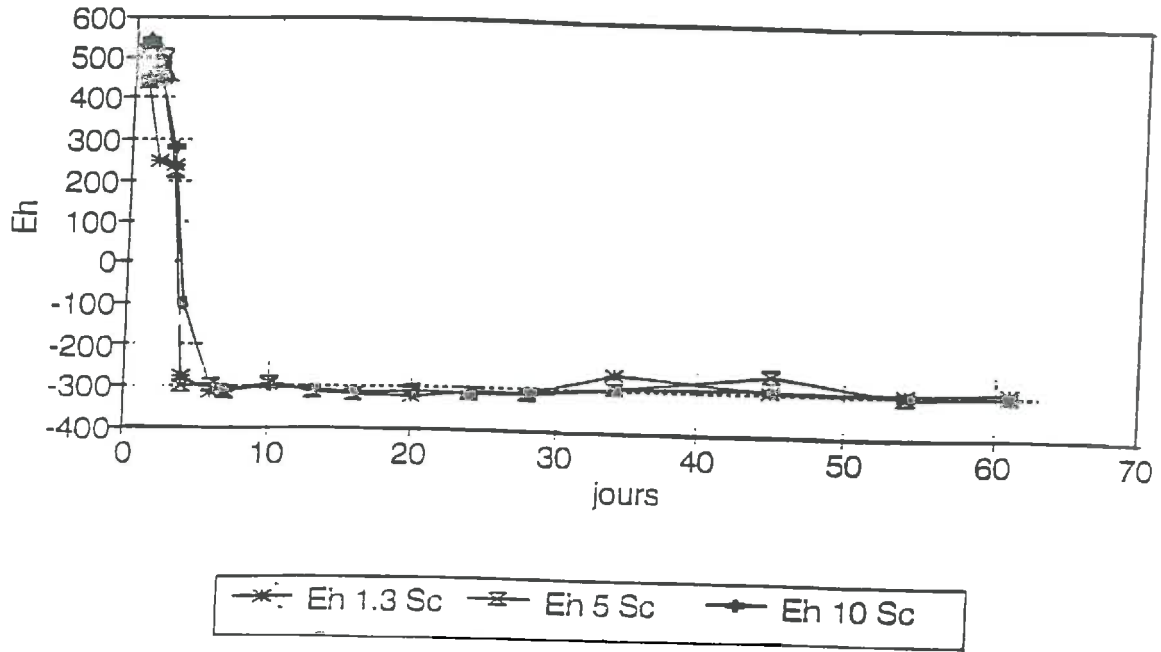


Figure 7: Evolution du Eh pour l'essai saccharose lors de la première expérimentation.

CELLULOSE

Eh à 1.3, 5, 10 mS/cm

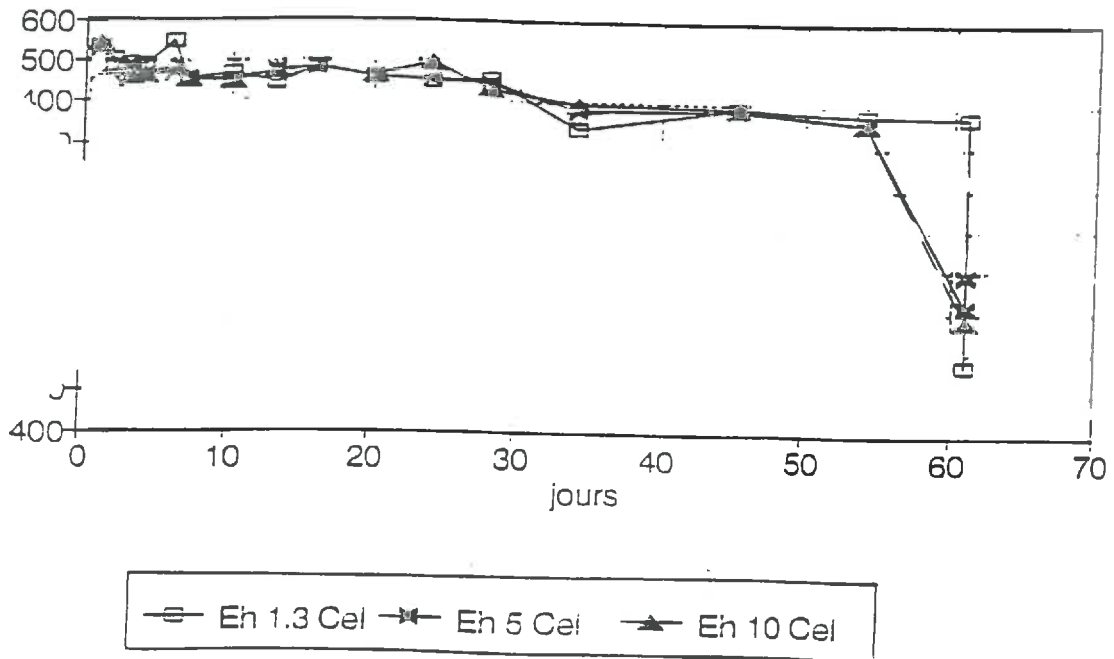


Figure 8: Evolution du Eh pour l'essai cellulose lors de la première expérimentation.

RESULTATS

1 PREMIERE EXPERIMENTATION

1.1 Présentation descriptive des résultats

a) Observations au cours de la période d'incubation

Pour les échantillons de la série du saccharose, des changements d'aspects des flacons ont pu être remarqués au bout de quelques jours d'incubation; il s'agit en particulier:

- d'une augmentation de la pression gazeuse provoquée par l'activité bactérienne.
- du changement de couleur du sédiment; initialement orangé, il a viré progressivement au gris puis au vert foncé. Ce changement de couleur a certainement été provoqué par la réduction du fer initialement sous forme d'oxydes ferrique (couleur rouille) en fer ferreux (couleur gris-verte).
- d'une odeur désagréable à l'ouverture des flacons indiquant la production d'acides organiques plus ou moins volatils.

Pour la série de la cellulose de tels changements n'ont pu être observés si ce n'est dans de moindres proportions.

b) Evolution du pH

Quelle que soit la source carbonée, le pH diminue.

Dans le cas du saccharose, aux trois conductivités électriques, le pH chute brutalement dès la première semaine (fig. 5). La variation est de l'ordre de 0.4 à 0.8 unité pH selon le cas. Par la suite, il continue à décroître mais de façon plus lente et plus régulière. Il semblerait cependant que l'intensité de cette décroissance soit corrélée positivement à la salinité.

Dans le cas de la cellulose, le pH décroît légèrement les premiers jours. Il est ensuite relativement stable pendant une période d'un mois environ (du jour 10 au jour 45), puis il chute rapidement. Cette décroissance semble être moins rapide pour la conductivité la plus faible. Dans les deux autres cas la diminution paraît être identique (Fig. 6).

\ Evolution du potentiel rédox

Pour les séries du saccharose, le potentiel rédox diminue brutalement dans les premiers jours pour atteindre des valeurs extrêmement basses (Fig. 7).

En ce qui concerne la cellulose, le potentiel reste relativement stable pendant les premiers jours. Au delà le potentiel s'écroule et atteint des valeurs très basses (Fig. 8).

Effets éventuels de la salinité sur les valeurs du potentiel rédox ne sont pas étudiés et ce, quelle que soit la source carbonée.

Evolution de la composition gazeuse

Essai réalisé avec le saccharose

Pour les trois conductivités électriques, l'oxygène disparaît très rapidement dans le cas d'apport de saccharose. Cette disparition s'accompagne d'une augmentation de la teneur en gaz carbonique. Après une brève augmentation, la teneur en azote chute rapidement. Enfin, à partir du sixième jour, l'hydrogène commence à

SACCHAROSE

gaz 1.3 mS/cm

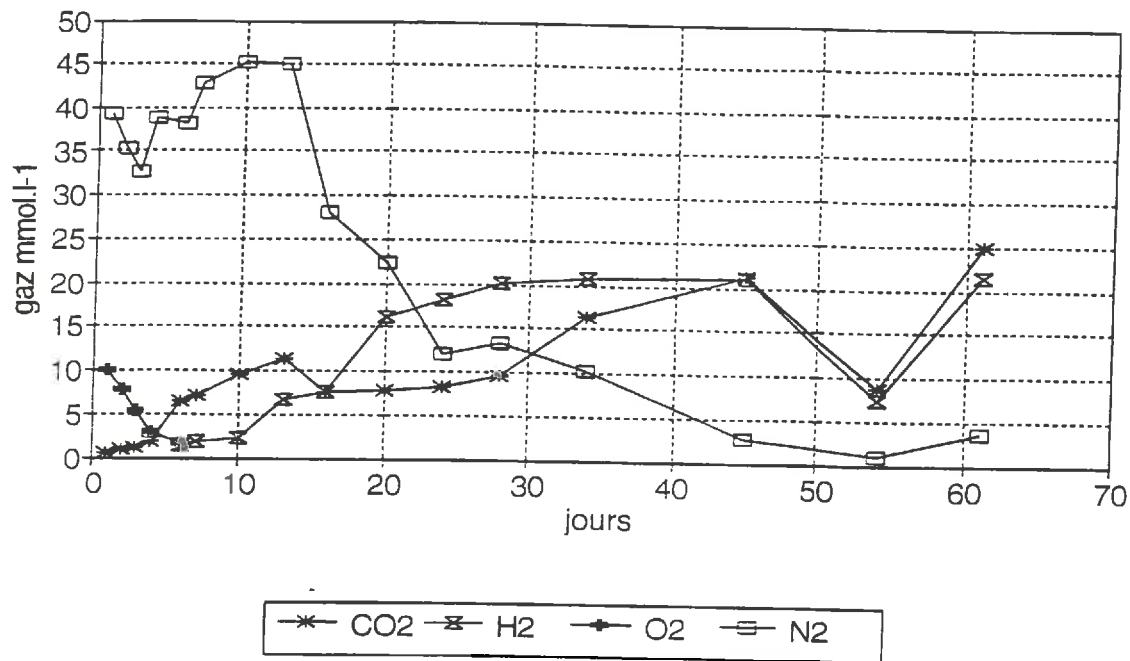


Figure 9: Evolution de la composition de la phase gazeuse pour l'essai saccharose lors de la première expérimentation.

CELLULOSE

gaz 1.3 mS/cm

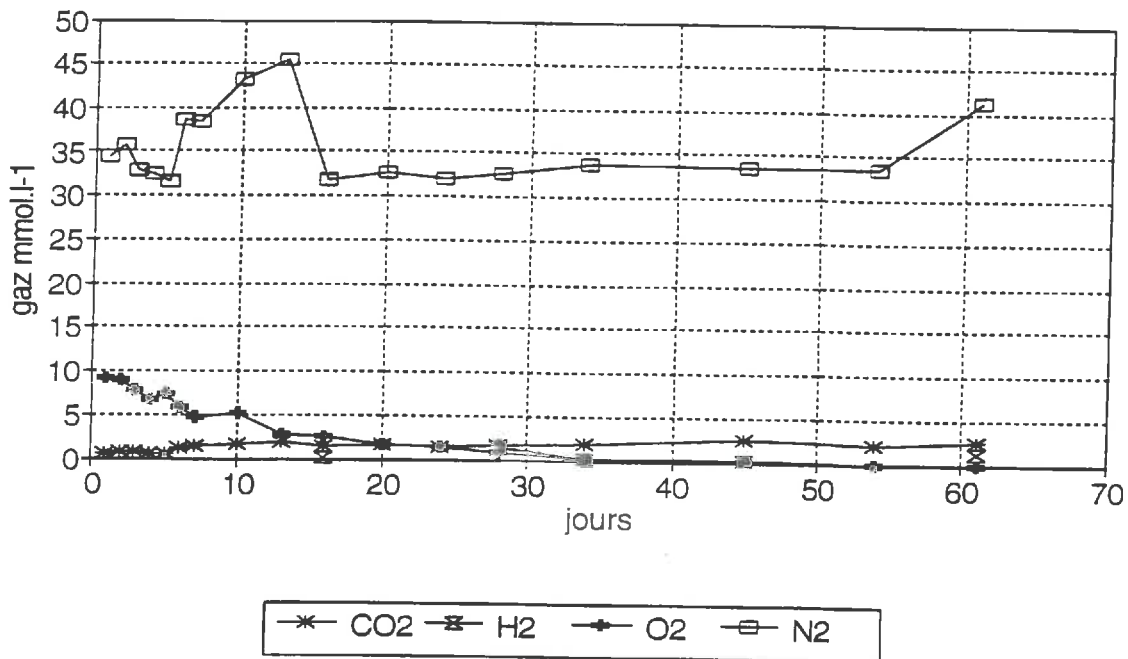


Figure 10: Evolution de la composition de la phase gazeuse pour l'essai cellulose lors de la première expérimentation.

SACCHAROSE

formes de l'azote à 1.3 mS/cm

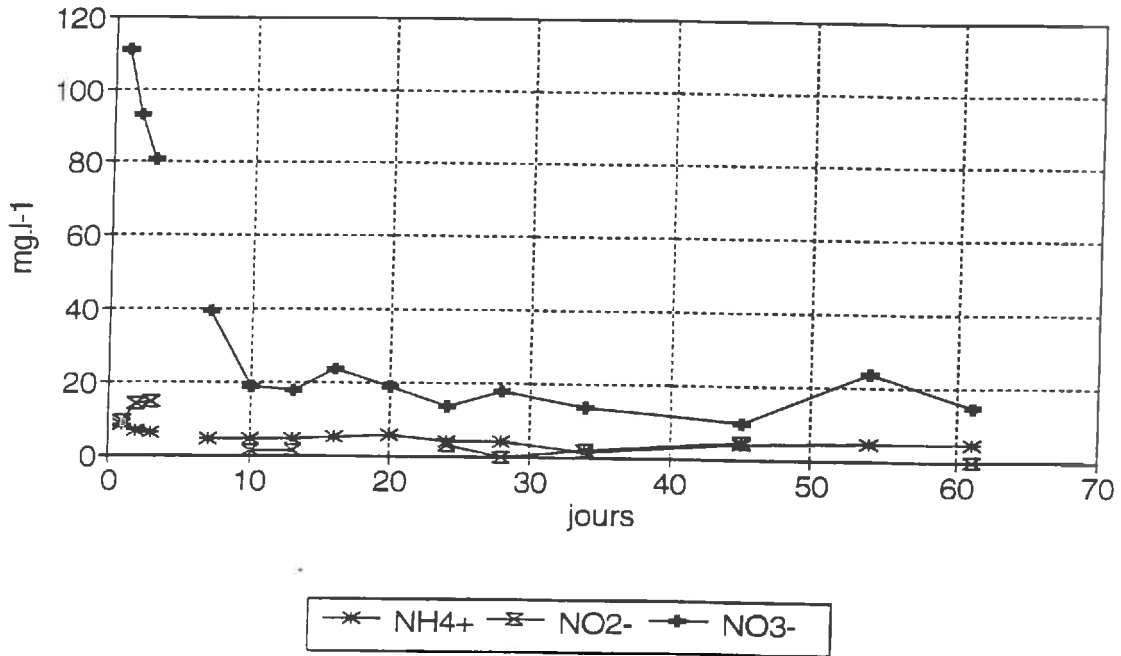


Figure 11: Evolution des formes inorganique de l'azote à 1.3 mS/cm lors de l'essai saccharose de la première expérimentation.

CELLULOSE

formes de l'azote à 1.3 mS/cm

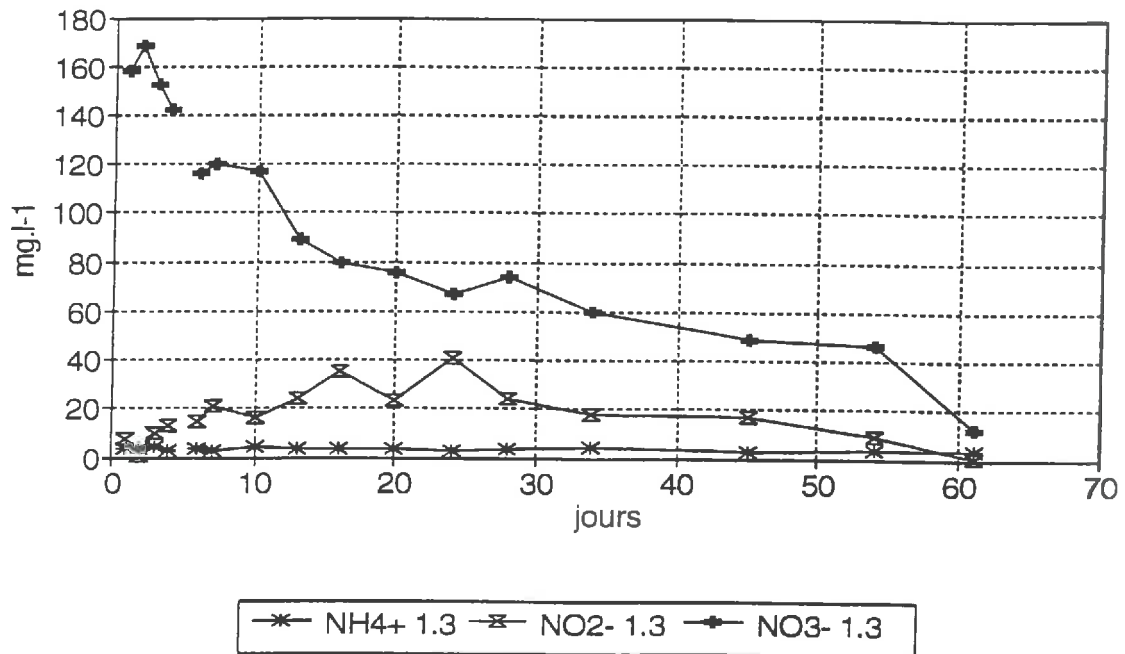


Figure 12: Evolution des formes inorganique de l'azote à 1.3 mS/cm lors de l'essai cellulose de la première expérimentation.

apparaître. Sa proportion augmente assez vite, indiquant un milieu fortement réducteur (Fig. 9).

Essai réalisé avec la cellulose

Pour les trois conductivités électriques (fig.10), la teneur en oxygène diminue de manière relativement modérée. L'épuisement est pratiquement atteint au bout des soixante et un jours d'incubation. Simultanément, la proportion en dioxyde de carbone augmente lentement.

La quantité d'azote varie assez peu, elle remonte même à partir du vingt-quatrième jour. Dans ce cas l'hydrogène apparaît très tard puisqu'on ne le détecte que dans les derniers jours.

e) Evolution des formes inorganiques de l'azote

La teneur en nitrate chute très rapidement quelle que soit la salinité pour les apports de saccharose. Elle passe de 180 mg/l à 20 mg/l environ en une dizaine de jours. Pour l'ammonium on observe une certaine stabilité tout au long de la période d'incubation.

Par contre en ce qui concerne les nitrites, on constate dans tous les cas une accumulation lors de cette période. A long terme ils sont réduits à leur tour (Fig. 11).

Lorsque la source carbonée est la cellulose (fig.12), la teneur en nitrate diminue assez lentement. Cependant, le phénomène est suffisant pour induire des teneurs en nitrate relativement basses, au bout d'une soixantaine de jours. Comme dans le cas précédent on remarque une certaine stabilité des teneurs en ammonium. Les nitrites par contre ont tendance à s'accumuler au cours de cette période pour atteindre des teneurs non négligeables (jusqu'à 40 mg/l pour les conductivités les plus faibles). Ils disparaissent pratiquement par la suite.

1.2 Synthèse sur les variations observées lors de la première expérimentation

a) Influence de la salinité

Pour les essais conduits avec le saccharose cette série de mesures a permis d'observer que les effets de la salinité sont négligeables sur le processus de dénitrification. Notre gamme de concentration en NaCl est située très en deçà des valeurs observées dans les sols salés expliquant ainsi l'opposition apparente avec les conclusions de AMRANI (1993). Par contre il semblerait que des concentrations croissantes en chlorure de sodium accélèrent la diminution du pH dans le milieu. En ce qui concerne le potentiel rédox et les évolutions gazeuses, les effets de la salinité n'ont pu être mis clairement en évidence. La rapidité de la période de dénitrification ainsi que le nombre peu élevé d'échantillons dans cette période en sont certainement les causes principales.

Pour la cellulose, les différences de comportement vis à vis de la salinité sont plus marquées. On observe une réelle différence entre les échantillons portés à la conductivité de 1.3 mS/cm et les deux autres séries réunies. Pour la conductivité naturelle de la nappe, le pH décroît moins rapidement (fig. 6). Le processus de dénitrification est également plus lent. Pour la série à conductivité maximale (10 mS/cm) la disparition des ions nitrate est plus rapide ainsi que la diminution du pH. On remarquera que lors de la période de dénitrification les quantités de nitrite atteintes sont beaucoup plus faibles lorsque la salinité est plus forte. Les concentrations maximales en NO_2^- sont de l'ordre de 20 mg/l contre 40 mg/l pour les conductivités inférieures. La série portée à la conductivité de 5 mS/cm a un comportement très similaire à celui des flacons portés à 10 mS/cm

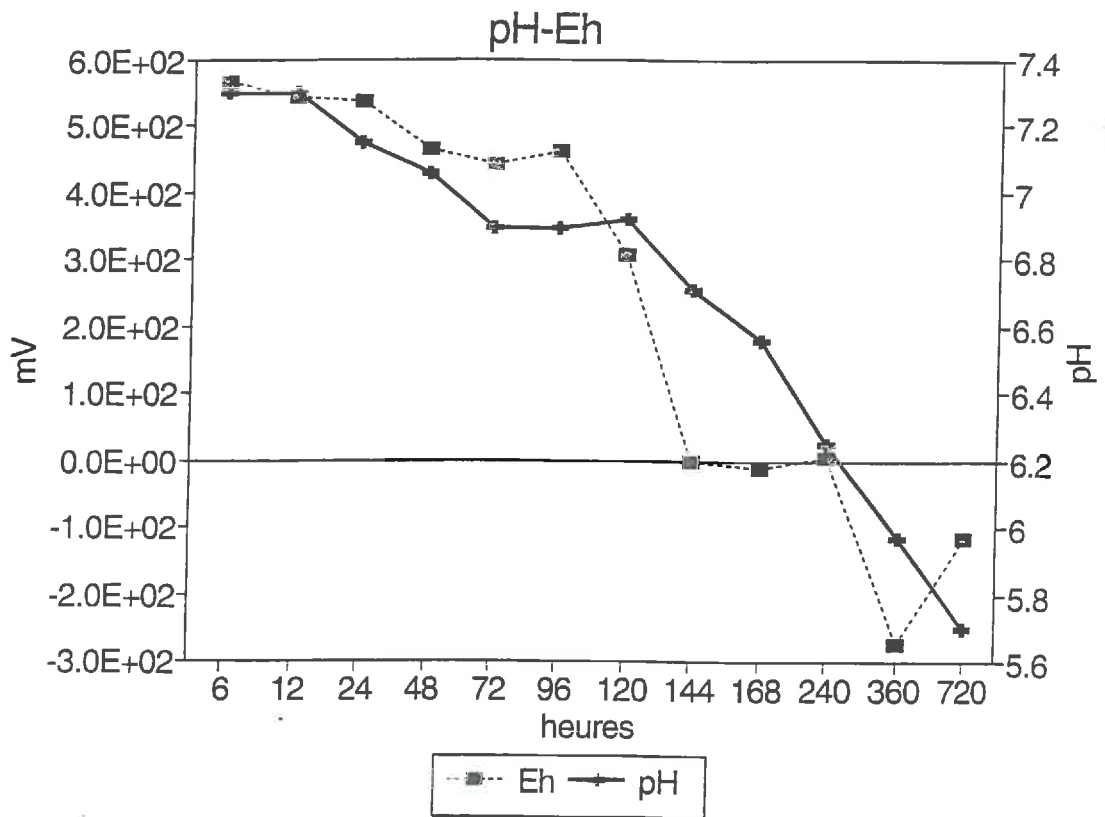


Figure 13: Evolution du pH et du Eh lors de la seconde expérimentation (valeurs maximales obtenues).

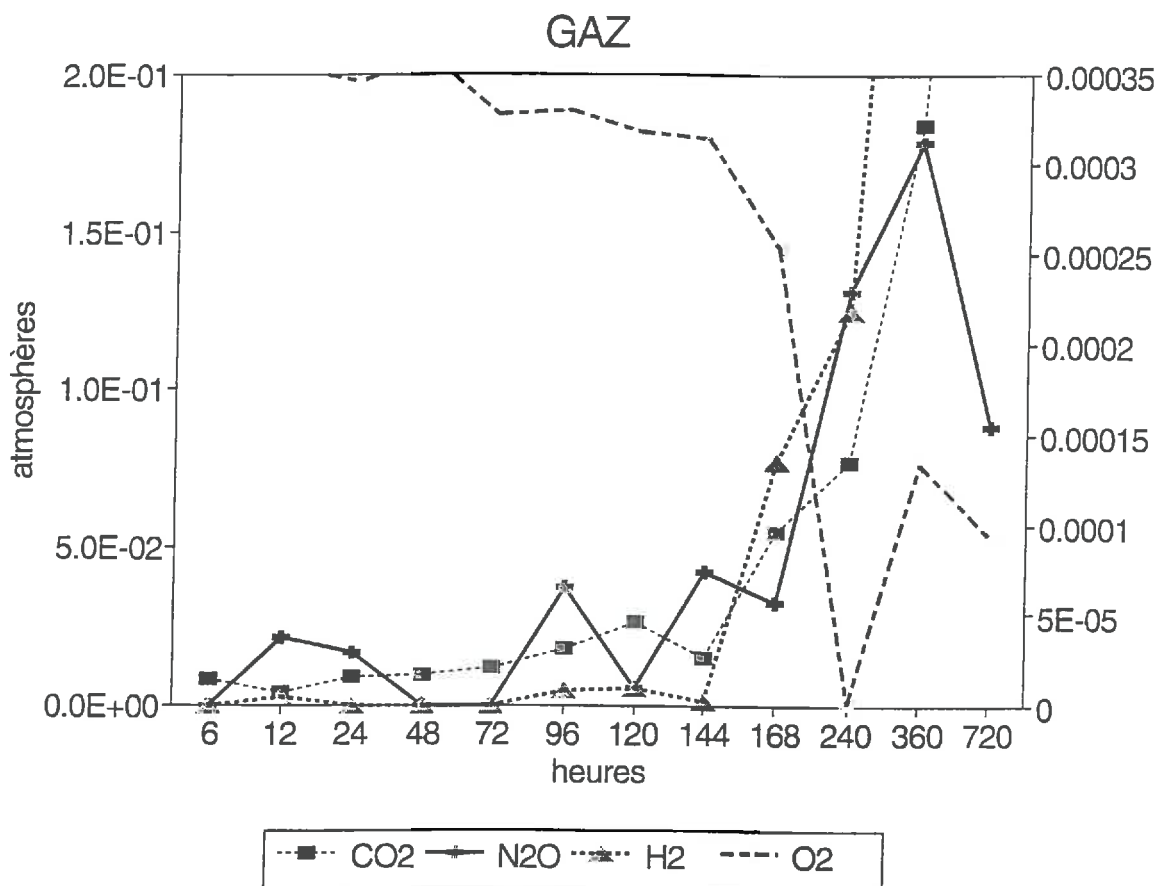


Figure 14: Evolution des pressions partielles des principaux gaz lors de la seconde expérimentation (valeurs maximales obtenues).

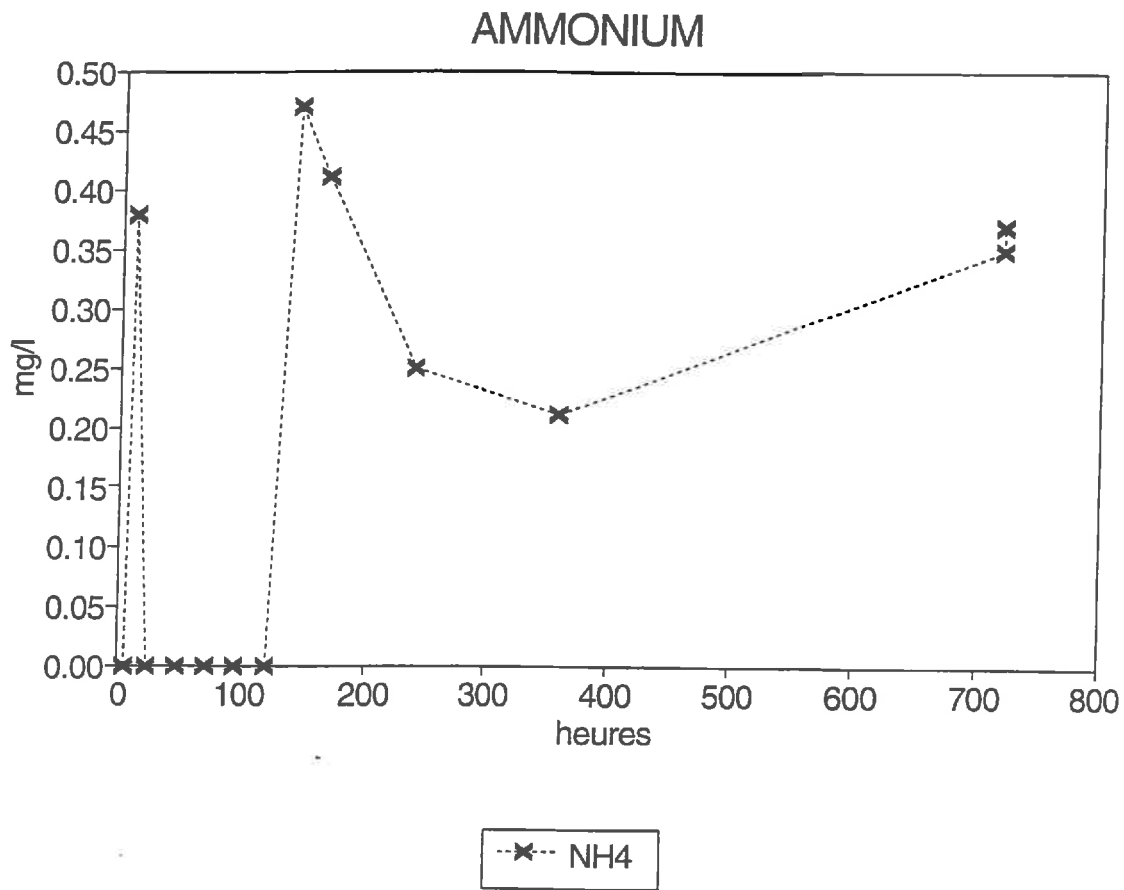


Figure 15: Evolution des teneurs en ammonium lors de la seconde expérimentation (valeurs maximales obtenues).

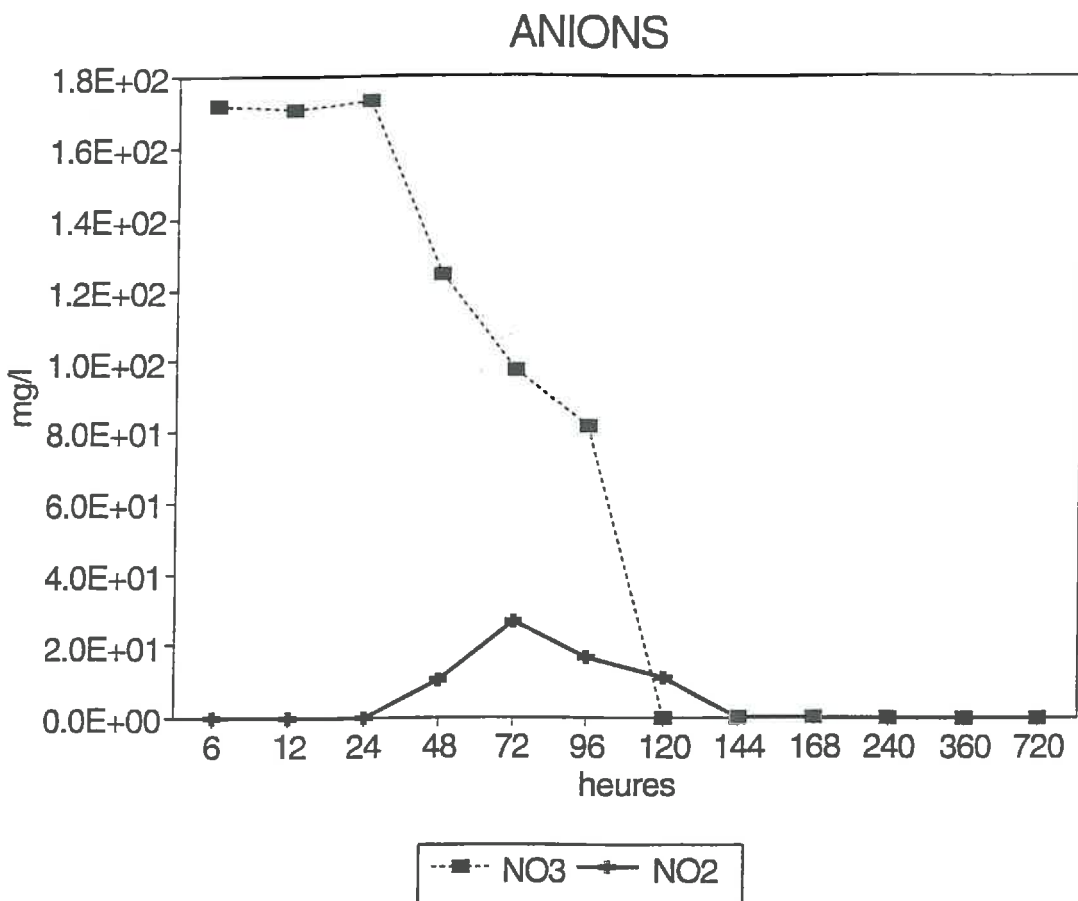


Figure 16: Evolution des teneurs en nitrate et nitrite lors de la seconde expérimentation (valeurs maximales obtenues).

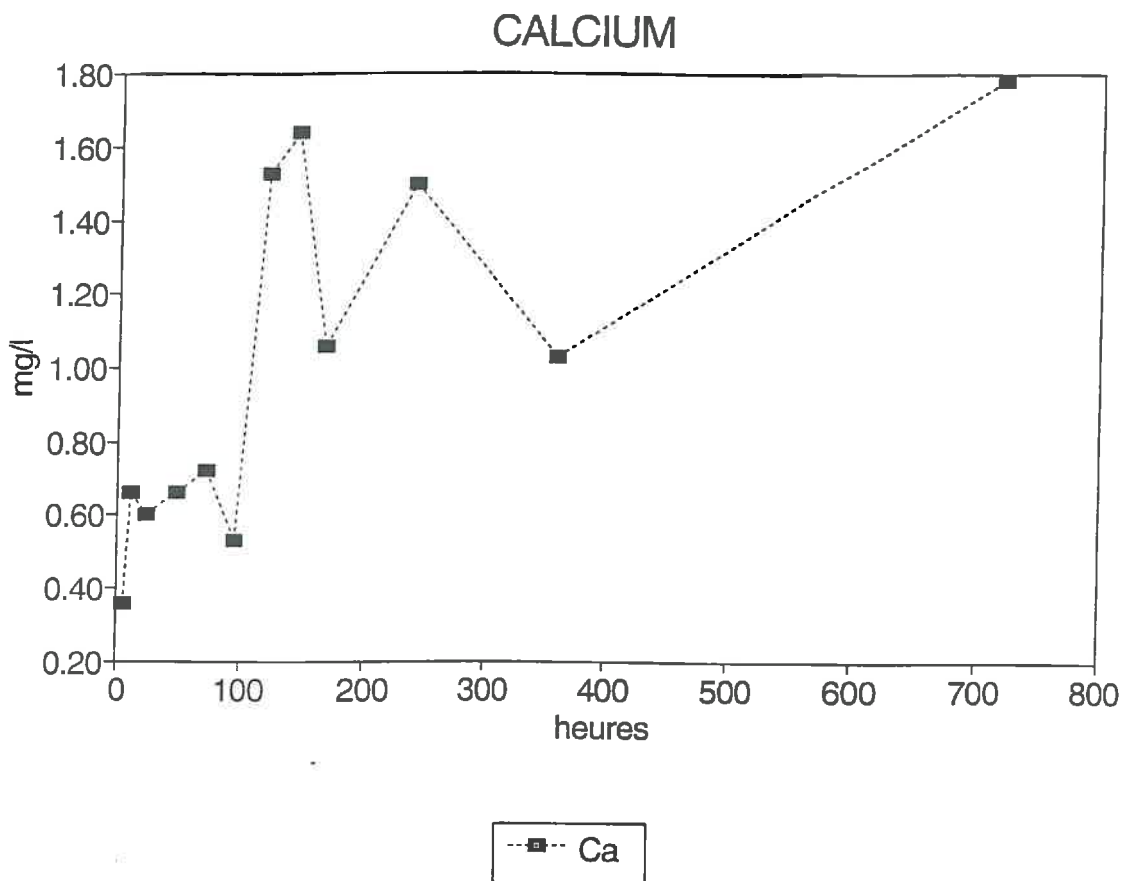


Figure 17: Variations temporelles du calcium dissous dans la seconde experimentation (valeurs maximales obtenues).

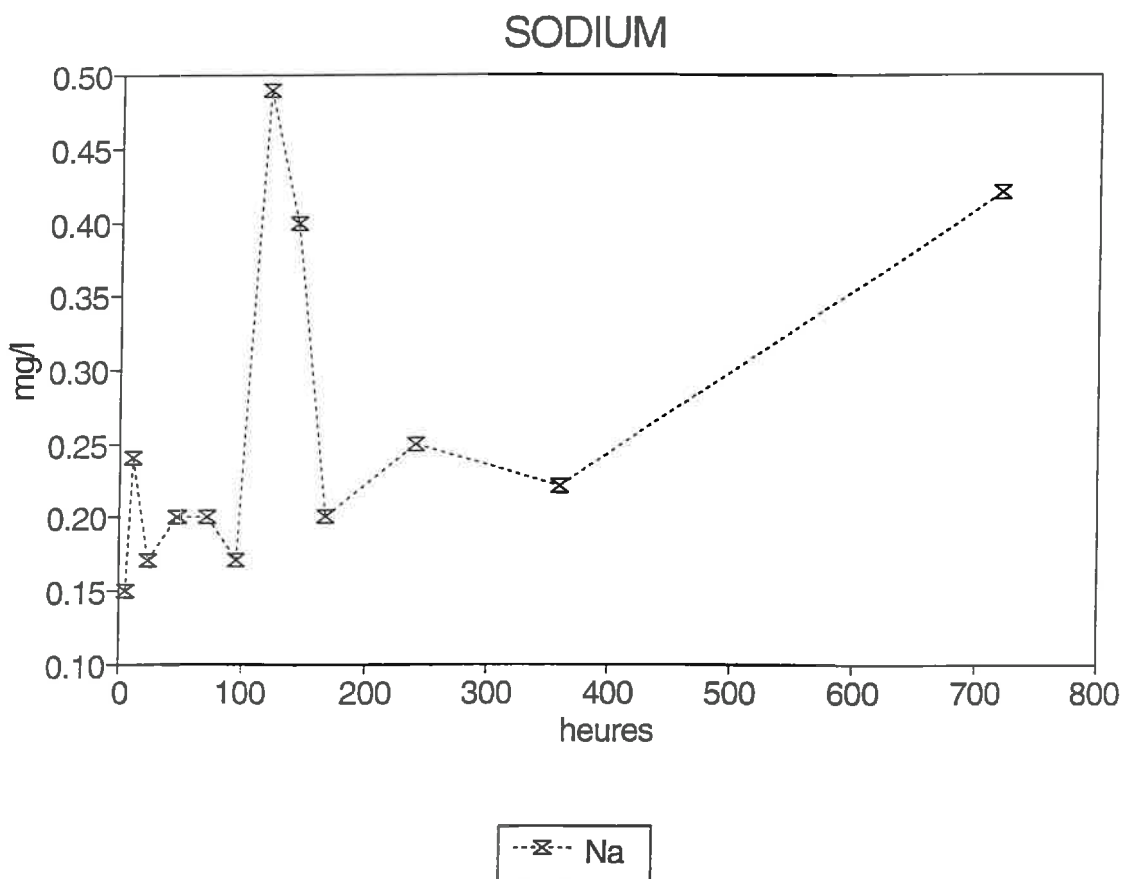


Figure 18: Variations temporelles du sodium dissous dans la seconde experimentation (valeurs maximales obtenues).

Pour les mesures de potentiel rédox ainsi que pour les évolutions gazeuses, aucune différence quant aux effets de la salinité n'est notable aussi bien pour l'apport de cellulose que celui de saccharose.

Peu de résultats auront été obtenus sur l'influence des concentrations en chlorure de sodium sur le processus de dénitrification. On retiendra toutefois que cette dernière semble plus rapide pour des concentrations élevées.

b) Influence du substrat

Les différences de comportement de la micro-flore bactérienne vis selon la nature de la source carbonée, sont très bien marquées.

En présence de cellulose, les micro-organismes réagissent et se développent beaucoup plus lentement qu'avec le saccharose. Il leur faut une soixantaine de jours pour épuiser l'oxygène présent dans le milieu alors qu'en présence de saccharose six jours leur suffisent. Ceci explique l'évolution du potentiel rédox. Pour le saccharose, le potentiel s'écroule brutalement, peu de temps après le début de l'incubation, pour atteindre des valeurs fortement négatives de l'ordre de -300 mV. Au contraire pour la cellulose, le potentiel se maintient aux environs de 400 mV pendant une quarantaine de jours pour ensuite chuter vers des valeurs négatives voisines de -100 mV moins réductrices que dans le cas précédent

Cette différence est illustrée par les diagrammes de Pourbaix :

- dans le cas du saccharose seuls deux échantillons sont situés dans le domaine de stabilité des nitrates (fig. 23). Leur potentiel rédox est supérieur à 400 mV. La dénitrification étant très rapide, on passe ensuite très vite à la réduction des oxydes de manganèse en Mn^{2+} . Ceux-ci présents en petite quantité dans le milieu, on assiste pratiquement simultanément à la réduction des formes du fer ferrique rouille en fer ferreux vert. Ceci explique le changement de couleur observé dans les flacons au bout de quelques jours d'incubation.

A ce stade (fig. 24) le pH est tamponné par l'intermédiaire de l'équilibre entre Fe^{2+} et $FeOH^+$ (jours 3 et 4). Au fur et à mesure de la mise en solution du fer le Eh diminue alors que le pH reste stable. Ceci ne peut être observé sur les courbes d'évolution du pH à cause de la rapidité du phénomène et du manque d'échantillons dans cette période. Par la suite, les valeurs du potentiel rédox deviennent très basses et passent par le domaine de stabilité des sulfures (fig. 25) pour se rapprocher très vite de celui de l'hydrogène dès le sixième jour. Les échantillons se répartissent alors le long d'une droite parallèle et voisine à la droite de dissociation de l'eau en hydrogène. Il y a, à ce moment-là, simultanément diminution du pH et légère augmentation du Eh afin de longer cette dernière. La diminution du pH peut être observée sur le graphe d'évolution du pH. L'augmentation du potentiel rédox, par contre, est trop faible pour être observée sur le graphe d'évolution du Eh. Il convient de remarquer que le Eh estimé à partir du pH, de la pression partielle en hydrogène et de l'équation de dissociation de l'eau ($2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2(g)$ avec $p_{H_2}=1 \text{ atm}$) est très proche des valeurs Eh mesurées ce qui indique que dans cette phase du processus, le Eh est en quasi-équilibre thermodynamique (fig.26). Ceci est peut fréquent pour les réactions rédox et pourrait être mis à profit ultérieurement pour une simulation thermodynamique.

Les diagrammes d'évolution de la composition de la phase gazeuse montrent alors l'apparition de l'hydrogène.

Les diagrammes de Pourbaix relatifs à la cellulose sont tout à fait différents. La quasi totalité des points, du premier au quarante cinq jours, sont situés à cheval sur la droite d'équilibre entre les ions nitrate et les ions nitrite (fig. 27). Durant cette période le pH reste relativement stable et le potentiel rédox diminue peu. Les valeurs atteintes sont insuffisamment basses pour assurer la réduction du fer ferrique (fig.28). Aussi pour

Variations des teneurs en manganèse

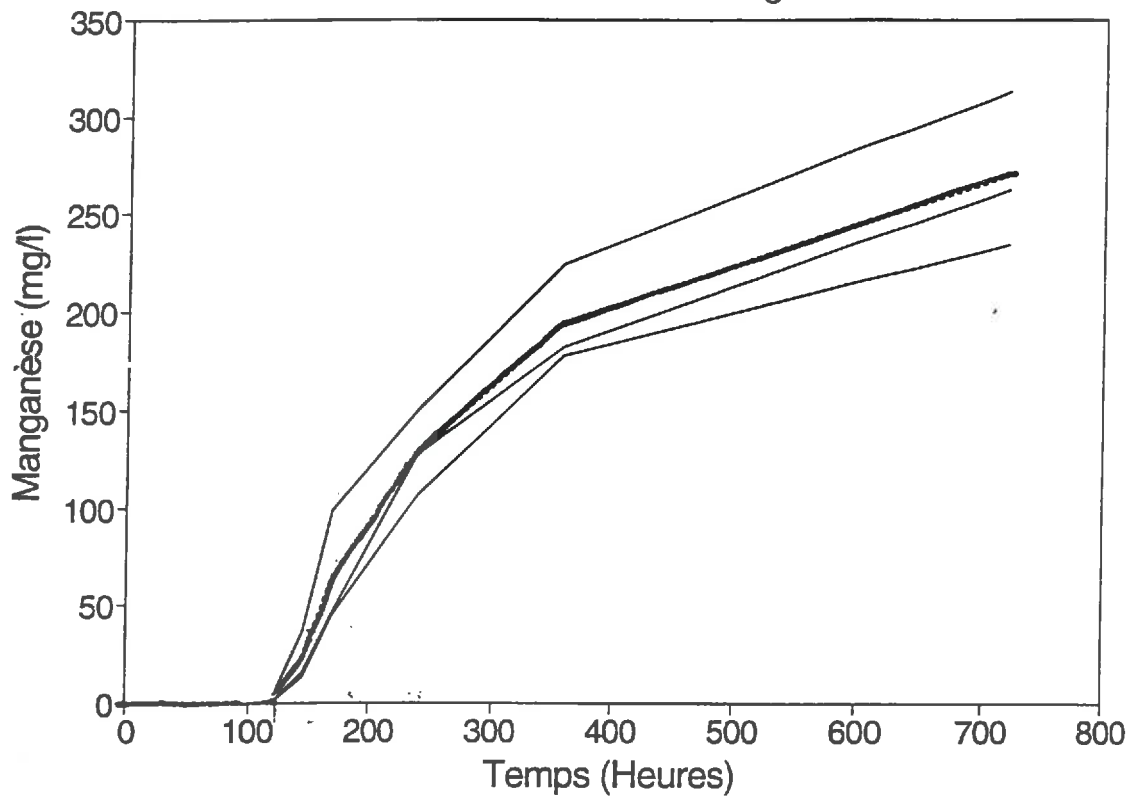


Figure 19: Variations temporelles du manganèse total dissous dans la seconde expérimentation (valeurs minimales, intermédiaires et maximales observées).

Variations des teneurs en fer dissous

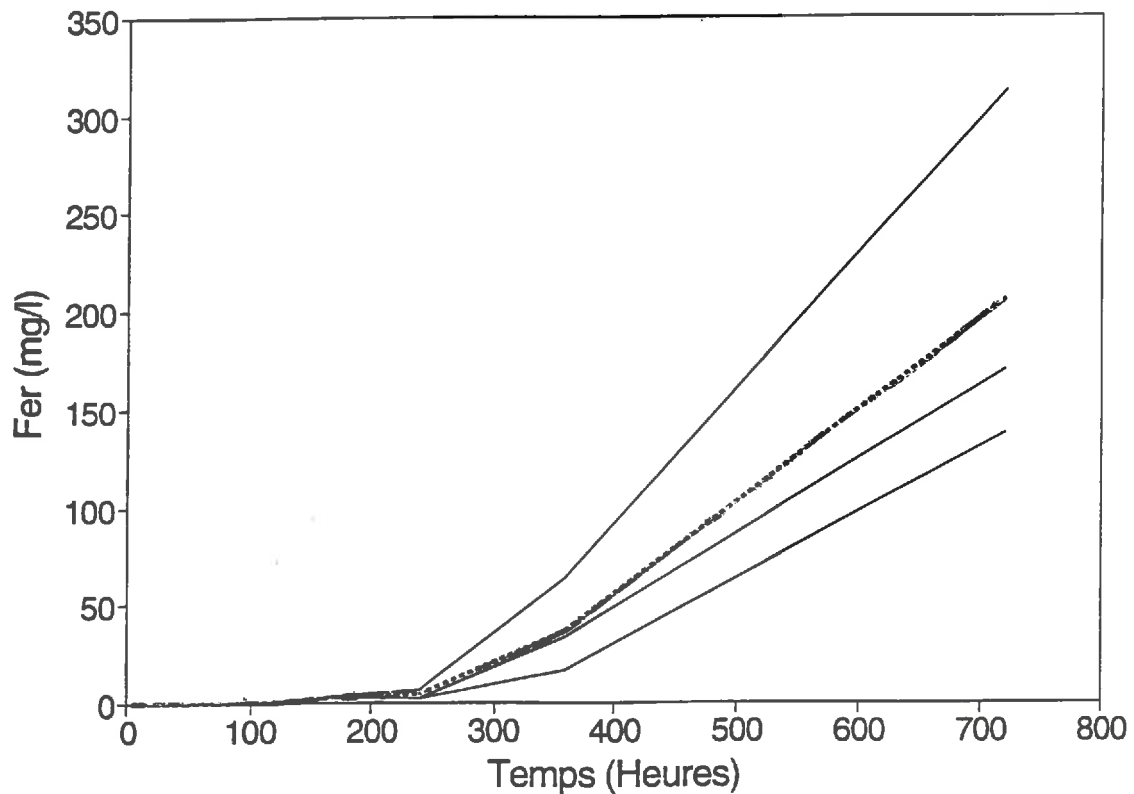


Figure 20: Variations temporelles des teneurs en fer total dissous dans la seconde expérimentation (valeurs minimales, intermédiaires et maximales observées).

les flacons contenant de la cellulose aucun changement de couleur du sédiment n'a pu être constaté sauf une légère tendance verte dans les derniers jours d'incubation.

Pour les échantillons correspondant au temps d'incubation les plus longs, cinquante-quatre et soixante et un jours, les valeurs de Eh sont beaucoup plus basses. On se place dans le domaine de stabilité du fer ferreux et des sulfates. On se rapproche de celui des sulfures et de la droite de dissociation de l'eau. Sur les courbes donnant l'évolution gazeuse on voit alors apparaître l'hydrogène.

Les temps d'incubation n'ont pas été suffisants pour atteindre des valeurs de potentiel aussi basses que dans le cas du saccharose. Aussi devrions-nous dans le temps assister à un changement de couleur du sédiment ainsi qu'à une apparition plus massive d'hydrogène.

Dans les deux cas, par contre, les valeurs de potentiel obtenues sont suffisamment basses pour que l'on se trouve dans le domaine de stabilité du méthane. L'apparition de ce gaz n'a pourtant pas eu lieu. Ceci est certainement dû à une température trop faible. En effet les bactéries méthanisantes ne sont activées qu'au delà d'une trentaine de degrés celsius.

Si les teneurs en oxygène jouent sur les valeurs du potentiel rédox, les teneurs en dioxyde de carbone jouent quant à elles sur les valeurs du pH. La dissolution de gaz carbonique dans une eau contribue à en faire diminuer son pH. En revanche les équilibres entre les différentes formes de carbonate ont tendance à tamponner la solution.

Dans le cas du saccharose l'activité bactérienne est très rapidement importante. Il y a cependant dans les premiers jours un temps d'adaptation au cours duquel la teneur en CO₂ croît relativement peu. Cette période correspond sur le graphe d'évolution du pH à une légère décroissance (jours 2 et 3). Durant cette période une grande partie de l'oxygène a déjà été consommée, on passe donc en milieu plus réducteur. On se situe dans le domaine de stabilité du fer ferrique.

Le milieu est alors tamponné par l'équilibre entre Fe²⁺ et FeOH⁺. Le pH reste ainsi relativement stable du quatrième au sixième jour. Par la suite, le potentiel continuant à diminuer fortement le milieu n'est plus tamponné par aucun équilibre. La dissolution du dioxyde de carbone peut alors contribuer à la diminution du pH. Celle-ci est lente et régulière, on peut le constater sur le graphe d'évolution du pH.

Pour la cellulose, l'activité bactérienne et donc le dégagement de gaz carbonique sont beaucoup moins importants pendant de l'incubation. En conséquence sur le graphe d'évolution du pH correspondant on peut observer la stabilité du pH pendant les quarante-cinq premiers jours.

Pour la cellulose on retiendra donc une plus grande stabilité du pH. Celle-ci provenant du fait que les phénomènes bactériens sont beaucoup plus lents.

Enfin, la nature de la source carbonée a une influence considérable sur le processus de dénitrification. Dans les deux cas, saccharose comme cellulose, les teneurs en ion nitrate atteintes en fin de période d'incubation sont les mêmes : environ 10 mg/l. Par contre les temps pour les atteindre sont totalement différents.

Pour le saccharose la période de dénitrification est de l'ordre d'une semaine. Les teneurs en ion nitrate chutent rapidement. On remarquera également cette semaine-là lors de la dénitrification qu'il y a apparition d'ions nitrite. Celle-ci n'est que temporaire mais elle atteint des proportions importantes. Les quantités obtenues sont de l'ordre de 20 mg/l. Par la suite les nitrites sont à leur tour réduits.

Pour la cellulose, la période de dénitrification est beaucoup plus longue, elle s'étale sur la quasi totalité de la période d'incubation. On soulignera également, dans ce cas, qu'il y a apparition de nitrites. Ils persistent cette fois beaucoup plus longtemps et atteignent des teneurs plus importantes puisqu'elles dépassent les 40 mg/l pour les échantillons portés aux conductivités 5 et 10 mS/cm. Dans un deuxième temps ces

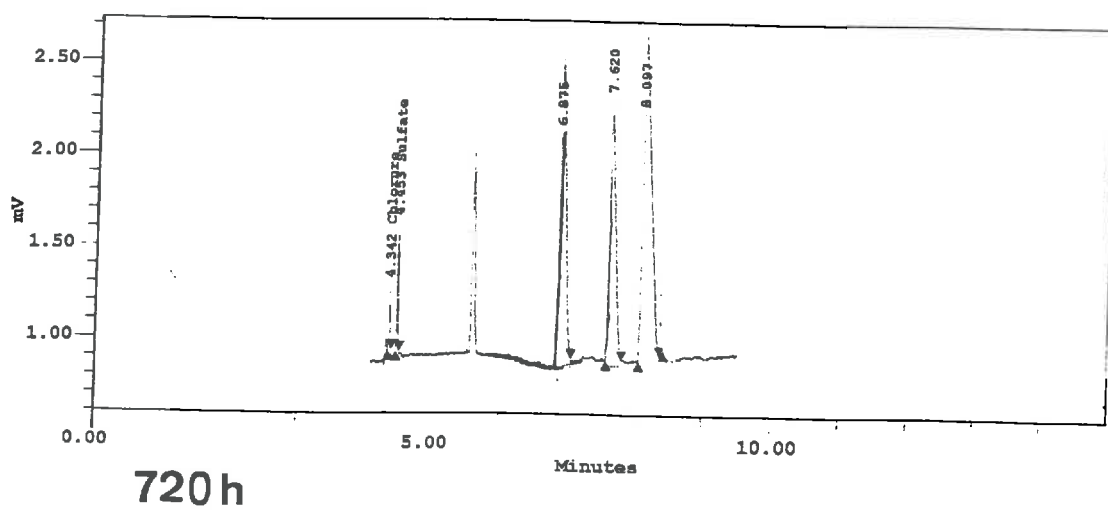
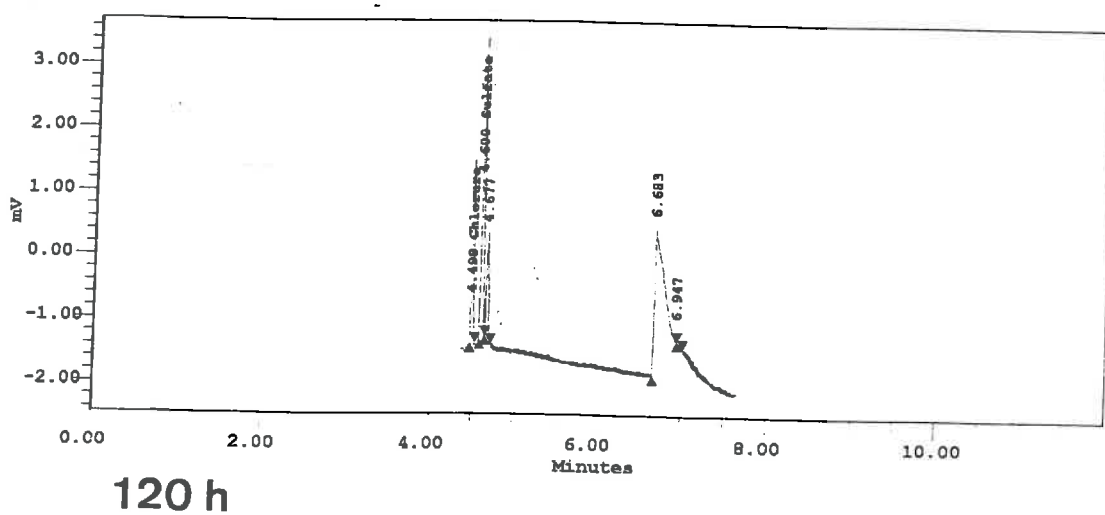
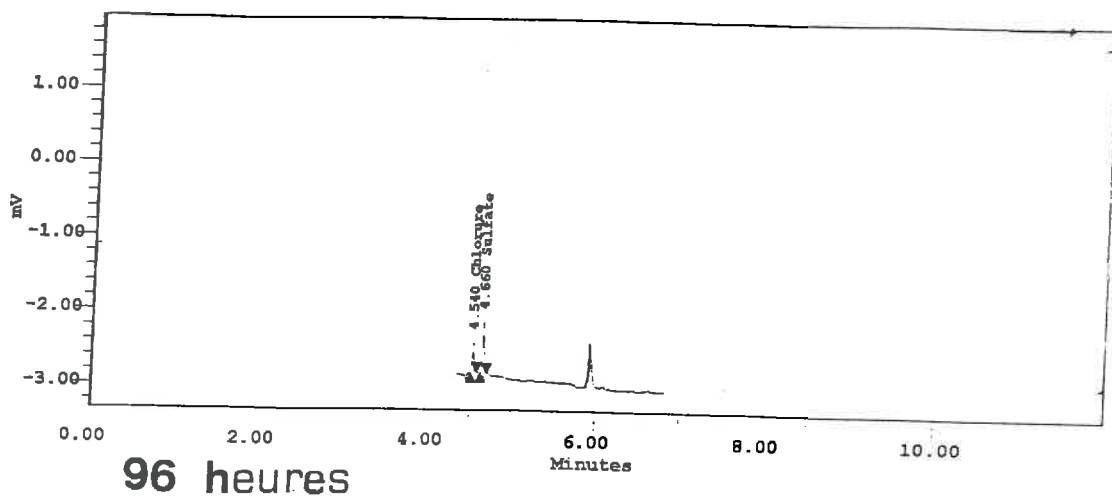


Figure 21: Illustration de la présence d'anions organiques lors des dosages par électrophorèse. a) 96 heures; b) 120 heures; c) 720 heures d'incubation.

teneurs diminuent pour enfin devenir négligeables. D'après un certains nombre d'auteurs (BEPPU *et al.*, 1978 ; HISCOCK *et al.*, 1991) ceci pourrait s'expliquer par le fait que l'oxygène, ainsi que les nitrates, même en faible quantité peuvent supprimer l'activité de l'enzyme bactérienne qui est responsable de la réduction de NO en N₂O. Il y a donc accumulation de nitrites qui sont à leur tour réduits lorsque la quantité de nitrate est suffisamment faible.

Pour les deux sources de carbone utilisées on remarquera, par contre, que les teneurs en ammonium semblent rester relativement stables mais faibles compte tenu des méthodes analytiques rustiques utilisées.

Deux hypothèses peuvent alors être avancées pour expliquer cette présence et cette faible quantité d'ammonium.

- D'une part, l'ammonium formé, chargé positivement peut être adsorbé sur les colloïdes électronégatifs du sol ainsi que les argiles. Lors de la séparation de l'eau et des sédiments, les ions positifs seraient alors restés fixés à ces derniers et donc non dosés. Mais dans le cas du saccharose, le milieu étant très réducteur et le pH inférieur à six on se trouve dans le domaine de stabilité de l'ammonium. Celui-ci dans de telles conditions, persiste théoriquement dans la solution du sol. Dans ce cas aussi les teneurs en ammonium obtenues sont toujours aussi faibles.
- La seconde hypothèse résiderait dans l'instabilité de l'ammonium susceptible d'être repris par le métabolisme microbien.

2 DEUXIEME EXPERIMENTATION

2.1 Présentation descriptive des résultats

a) De 0 à 12 heures:

On observe déjà quelques modifications. Le Eh a légèrement baissé (fig.13), alors que le pH demeure stable (Fig.13). On note une production de gaz carbonique alors que la pression partielle oxygène est resté stable. Les nitrates ont connu une légère baisse et il n'y a pas trace de nitrites ni d'ammonium

b) Entre 6 et 12 heures:

Le Eh continue à diminuer de manière progressive. Le pH varie et passe de 7.2 à 7 stable. En ce qui concerne les gaz, il y a eu production de CO₂ et la teneur en oxygène reste inchangée (fig.14).

Pour les différentes formes d'azote nous constatons une brève apparition de l'ammonium, une légère diminution de la concentration en nitrates et une absence totale de l'ion nitrite.(fig.15 et 16).

Certains cations présentent une augmentation aussi brève que l'apparition de l'ammonium. Il s'agit en particulier du calcium et du sodium (fig. 17 et 18). Le manganèse total dissous, apparaît en très faible quantité (fig. 19), alors qu'aucune trace de fer total dissous en solution n'a été décelée (fig. 20).

c) Entre 12 et 72 heures:

Ce qui caractérise cette étape c'est la diminution de l'ammonium (fig. 15) jusqu'à sa disparition complète au bout de 24 heures. Les nitrates diminuent eux aussi progressivement jusqu'à 24 heures puis plus rapidement au profit des nitrites dont la concentration augmente.

Le sodium et le calcium ont diminué avec la disparition de l'ammonium (fig. 17 et 18).

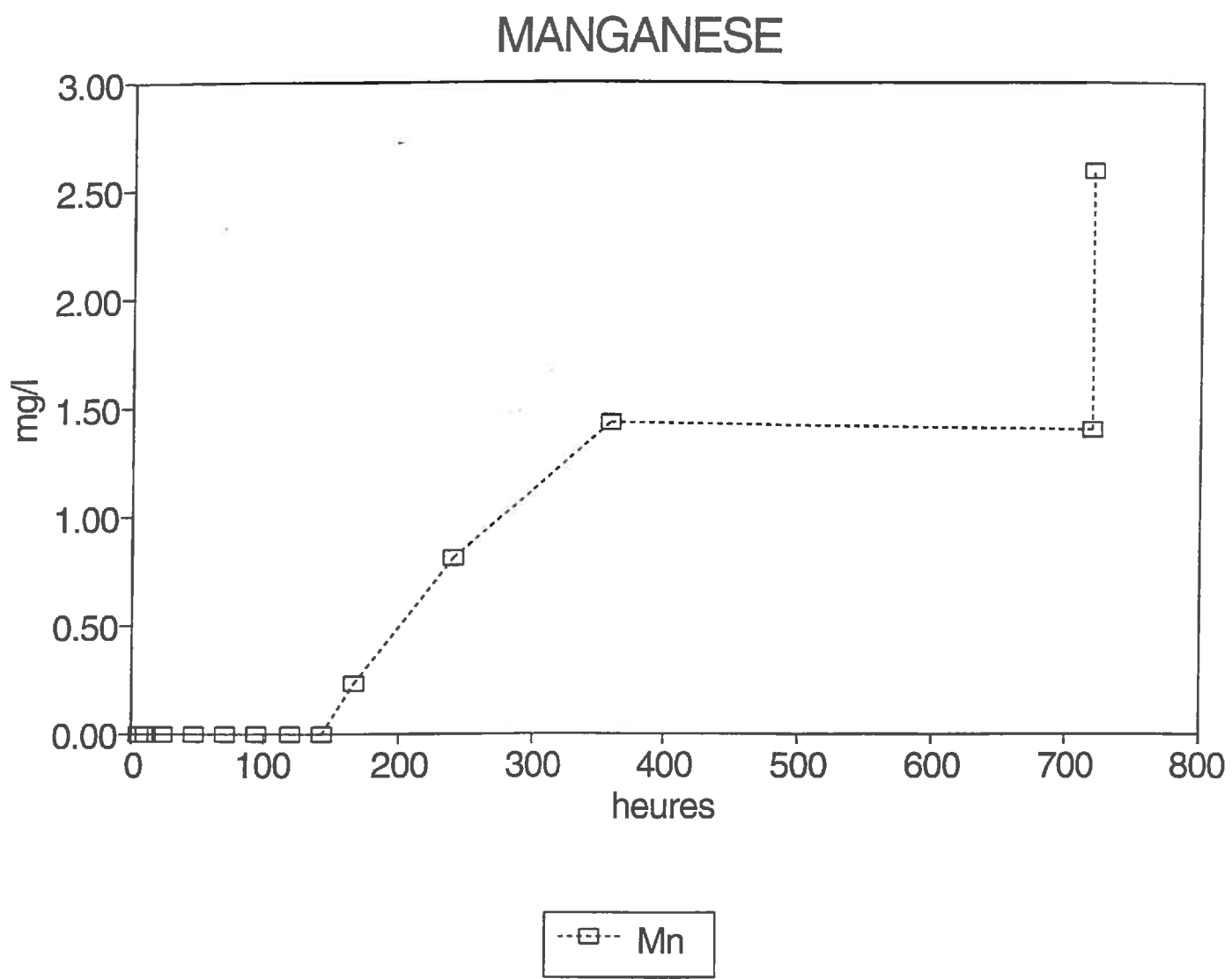


Figure 22: Variations temporelles des teneurs en manganèse libre dissous dans la seconde expérimentation (valeurs maximales observées).

Le Eh continue à baisser progressivement alors que le pH baisse de manière plus marquée. La composition gazeuse est presque la même que précédemment excepté que la quantité de gaz carbonique a augmenté.

Le manganèse, présent mais en très faible quantité (fig.19) ne subit pas de variations importantes de concentration..

f) Entre 72 et 96 heures:

Cette étape est caractérisée par l'apparition d'un anion organique (fig. 21 a).

Le Eh reste stable ainsi que le pH. La quantité de gaz carbonique dans les bouteilles augmente et celle de l'oxygène diminue. Les nitrites diminuent avec les nitrates et ce qui est le plus important à noter c'est que la diminution s'effectue au même rythme pour les deux éléments.

L'ammonium est toujours inexistant. Calcium et sodium régressent légèrement.

Le manganèse est à peu près stable alors que le fer n'apparaît pas.

g) Entre 96 et 120 heures:

La teneur en nitrates diminue de manière très considérable et va jusqu'à s'annuler à 120 heures (fig 5).

Les nitrites par contre continuent à diminuer mais ne disparaissent pas encore. L'autre trait important de ce stade c'est l'apparition subite de l'ammonium au bout de 120 heures (fig 6) et surtout l'apparition d'anions organiques.

Aussi, au niveau de la composition cationique, de nouveaux traits ont apparus : il y a brusque apparition de magnésium au bout de 120 heures .

Le calcium et le sodium ont connu une brusque augmentation eux aussi au bout de 120 heures.

Le manganèse total a commencé à augmenter à 120 heures (fig 9) .

Le Eh diminue brusquement et le pH reste stable. Cette étape est marquée par l'apparition de l'hydrogène avec l'augmentation plus marquée de la pression en CO₂. A ce stade, la pression partielle en O₂ reste stable.

h) Entre 120 et 144 heures:

Lors de cette étape, on obtient des quantités non négligeables de manganèse total et enfin l'apparition du fer total dissous (fig. 19 et 20).

Le Eh chute jusqu'à atteindre des valeurs voisines de 0. Le pH baisse alors que la composition de la phase gazeuse reste stable.

La présence de nitrites prend fin au bout de 144 heures. Par contre la quantité d'anions organiques a augmenté.

L'ammonium diminue un peu, et les autres cations restent stables mis à part le calcium qui augmente considérablement et le manganèse (Mn⁺⁺) qui augmente de manière très rapide après 144 heures.

i) Entre 144 et 168 heures:

Les anions organiques sont encore présents mais sont assez stables .

Pour ce qui est des cations, l'ammonium baisse encore légèrement. Le calcium augmente ; le sodium et magnésium qui sont toujours présents restent stables.

A partir de 168 heures on constate une accélération dans la solubilisation du Mn⁺⁺ libre (fig. 22). Le fer et le manganèse total augmentent très rapidement.

Le Eh passe à des valeurs avoisinant le zéro et le pH diminue nettement.

Les quantités de CO₂ et d'H₂ augmentent au moment où l'oxygène commence à diminuer c'est à dire après 168 heures d'incubation (fig. 14).

j) Entre 168 et 240 heures:

D'autres anions organiques apparaissent au bout de 240 heures .

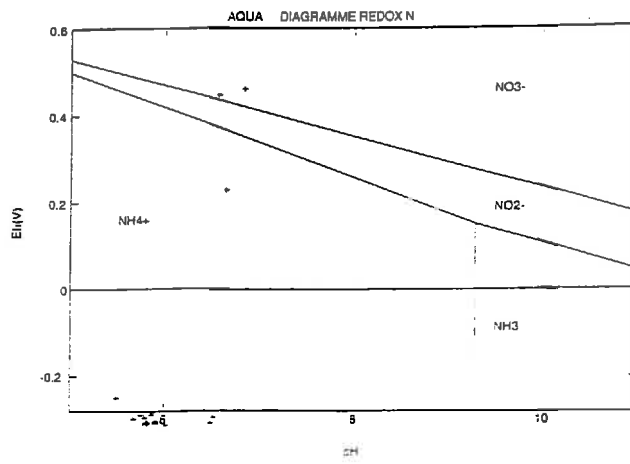


Figure 23: Diagrammes de Pourbaix de l'azote appliqué à l'essai saccharose de la première expérimentation.

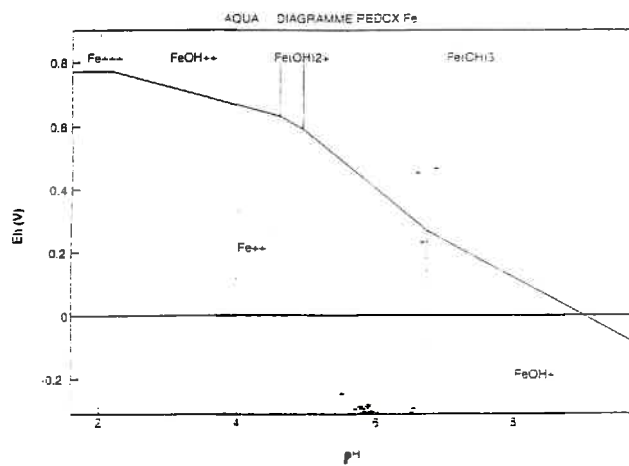


Figure 24: Diagrammes de Pourbaix du fer appliqué à l'essai saccharose de la première expérimentation.

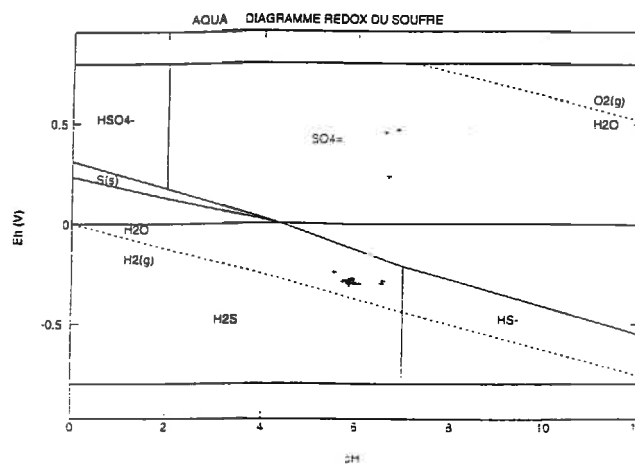


Figure 25: Diagrammes de Pourbaix du soufre appliqué à l'essai saccharose de la première expérimentation.

La teneur en magnésium augmente, parallèlement à celle du calcium et du sodium alors que la concentration en ammonium continue à baisser.

Le Mn^{++} libre atteint son maximum au bout de 240 heures (fig 22).

Le fer augmente lentement alors que le manganèse atteint des teneurs très élevées (fig. 19 et 20).

Le Eh reste stable puis chute et pour prendre des valeurs négatives proche de zéro au bout de 168 heures, la pression partielle en oxygène prennent des valeurs presque nulles au bout de 240 heures; et les pressions partielles en CO_2 et en H_2 augmentent de façon concomitante.

k) Entre 240 et 720 heures:

Ce qui marque cette étape c'est l'apparition de nouveaux acides organiques vers 240 heures, avec la brusque augmentation de la teneur de ceux initialement présents (fig 21 c).

Alors calcium et Mn^{++} reprennent leur cinétique d'accroissement, de même que le sodium. On note une légère augmentation de la quantité de magnésium. En revanche, la teneur en ammonium commence à diminuer

Au bout de 720 heures les teneurs en fer et en manganèse totaux atteignent des valeurs comparables et augmentent à la même vitesse (fig 19 et 20).

Le potentiel redox prend des valeurs très négatives dont les plus basses sont atteintes au bout de 360 heures. Le pH descend jusqu'à 5.6 .

Les pressions de CO_2 et H_2 ont considérablement augmenté alors que celle de l'oxygène est presque nulle.

L'ammonium atteint son maximum .

A partir de cet instant, les variations de concentrations en fer total dissous rattrapent celles du manganèse total dissous (fig. 19 et 20). Les concentrations de ces deux éléments augmentent presque à la même allure.

2.2 Synthèse sur les variations observées lors de la seconde expérimentation

A partir des résultats obtenus, plusieurs phases successives se différencient.

a) Domaine de respiration microbienne:

0-24 heures :

Les solutions se situent dans le domaine de stabilité du NO_3^- (fig. 29) . Le potentiel redox reste stable. La situation est encore oxydante et les bactéries puisent l'oxygène dissous et celui de l'atmosphère des bouteilles pour respirer. Cette respiration conduit à une production de dioxyde de carbone.

Cette dernière est encore faible et n'a pas eu d'incidence sur le stock d'oxygène. Par contre, bien qu'en bilan de masse par rapport à l'oxygène la production de CO_2 soit faible, elle constitue un accroissement d'un facteur 20 à 30 fois par rapport aux conditions initiales de pCO_2 . Ceci induit la solubilisation de la calcite du sédiment et une augmentation de la teneur en calcium:



Pour ce qui est des formes d'azote, il y a eu apparition de l'ammonium dans les trois répétitions après 12 heures d'incubation (fig. 15). Il doit provenir directement du nitrate marqué car sa teneur en ^{15}N est pratiquement la même que celle du nitrate marqué de départ. Cet ammonium a disparu peu de temps après sa formation, sans doute à cause des conditions encore oxydantes (fig. 29) qui sont favorables à la nitrification ($NH_4^+ \rightleftharpoons NO_3^-$).

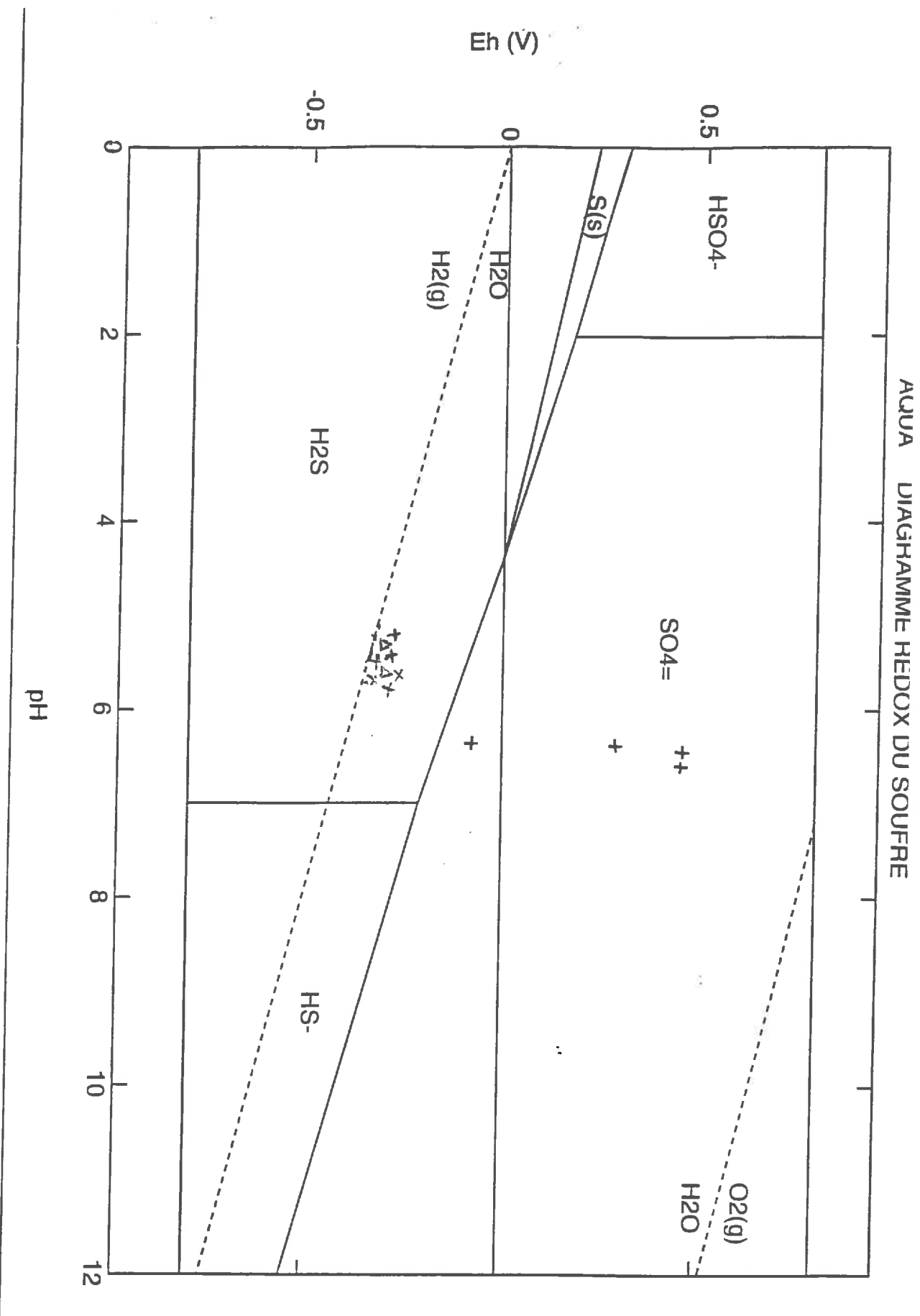


Figure 26: Comparaison entre les valeurs de Eh mesurées et les valeurs estimées à partir de l'équilibre H^+/H_2 .

Cet ammonium aurait une origine respiratoire car ce processus, très rapide, ne peut être assimilé à une production de NH_4^+ contenu dans les bactéries et libéré après leur mort. D'autre part, l'apparition du N_2O est corrélée avec celle de l'ammonium, ce qui confirmerait bien son origine métabolique.

b) Domaine de la dénitrification:

24-72 heures:

Le pH subit une légère variation. Celle-ci est en parfaite corrélation avec l'augmentation du CO_2 . Le potentiel redox est resté stable au départ mais finit par chuter vers 72 heures, ce qui situe les solutions dans la frontière de stabilité $\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ (fig. 29).

À ce moment, la teneur en nitrate chute au profit de celle du nitrite qui atteint son maximum au bout de 72 heures (fig. 16). Les valeurs atteintes sont supérieures à celles observées dans les vallées de la Vistrenque en conditions naturelles au sud du Cairar (8 mg/l) mais peuvent être considérées comme étant du même ordre de grandeur. La supériorité des valeurs obtenues en laboratoire s'explique par l'abondance initiale du nitrate et la forte quantité transformée en un laps de temps suffisamment court pour que la réduction des nitrites soit faible.

Les nitrites proviennent vraisemblablement de la consommation par les bactéries de l'oxygène du nitrate, seule source d'azote dans les flacons. Il s'agirait donc d'une transformation caractéristique du processus de dénitrification. Le dosage direct de la teneur isotopique des nitrites aurait permis de confirmer cette hypothèse.

À ce stade la diminution de pression partielle en oxygène est nette. Elle est en corrélation avec l'augmentation de la pression partielle en dioxyde de carbone qui accélère la solubilisation de la calcite du sédiment.

La pression partielle en N_2O est faible voire nulle à la fin de cette étape (fig. 30).

c) Domaine du passage fer ferrique/fer ferreux

72-120 heures :

Cette phase est marquée par une forte chute du Eh et les solutions se situent au point triple d'équilibre $\text{Fe}(\text{OH})_3 / \text{Fe}^{++} / \text{Fe OH}^+$ (fig. 31). La pression partielle en CO_2 a augmenté alors que le pH reste stable; la dissolution de calcite élève l'alcalinité de la solution ce qui induit un effet tampon important.

La pression partielle de l'oxygène diminue au profit de celle du CO_2 provoquant une forte solubilisation de calcite à 120 heures.

À ce stade, le processus de dénitrification est très avancé. Le nitrate disparaît au bout de 120 heures alors que le nitrite NO_2^- persiste encore et a tendance à diminuer au profit du N_2O qui le succède dans la chaîne de dénitrification (fig. 30).

En ce qui concerne l'ammonium, il réapparaît une seconde fois sous forme marquée et sa teneur augmente au bout de 120 heures. Pour expliquer cette seconde apparition, il est possible d'envisager que les bactéries qui se sont développées en début d'expérimentation ont consommé du nitrate marqué et les protéines les constituant ont donc été marquées par ^{15}N (fig. 32). Après la mort de premiers micro-organismes, les protéines seraient dégradées en conditions anoxiques libérant de l'ammonium marqué.

À ce stade, il y a déjà production d'acides organiques (fig. 21 a); ceci est imputable aux bactéries qui n'ayant pas assez d'oxygène pour dégrader complètement le carbone organique en CO_2 , interrompent ce processus et accumulent des acides tels l'acide lactique si le substrat carboné est du glucose. À la fin de cette période, l'hydrogène fait apparition dans l'atmosphère des bouteilles (fig. 14). Une petite quantité

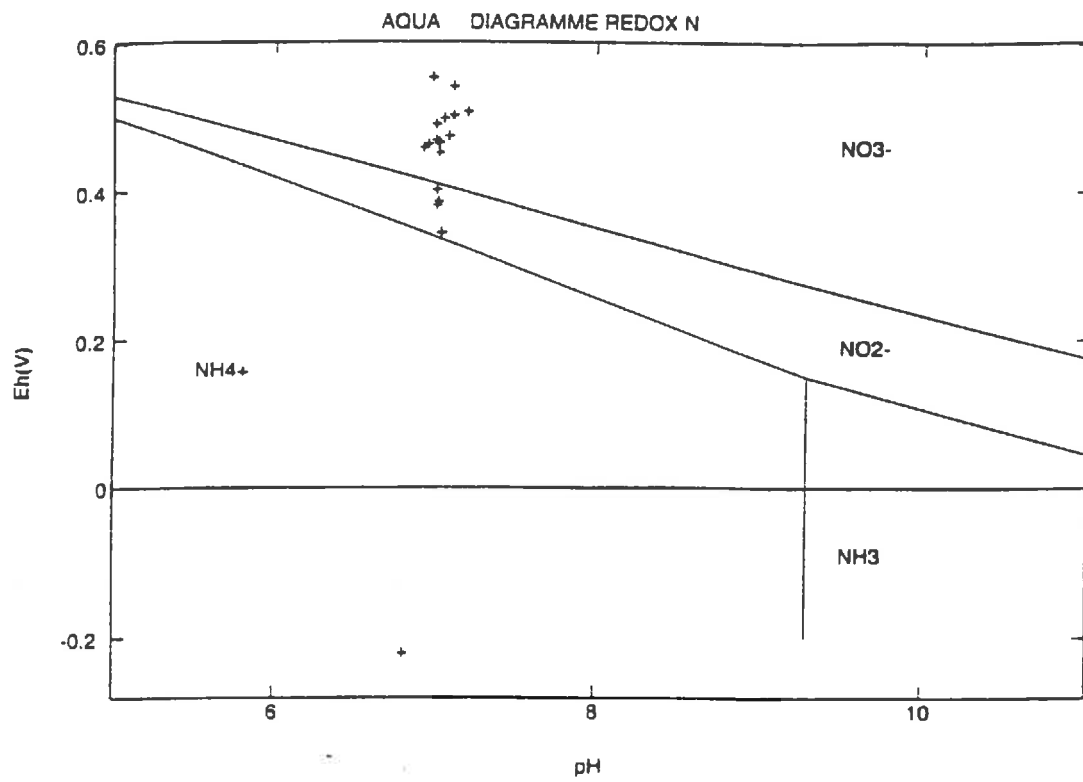


Figure 27: Diagrammes de Pourbaix de l'azote appliqué à l'essai cellulose de la première expérimentation.

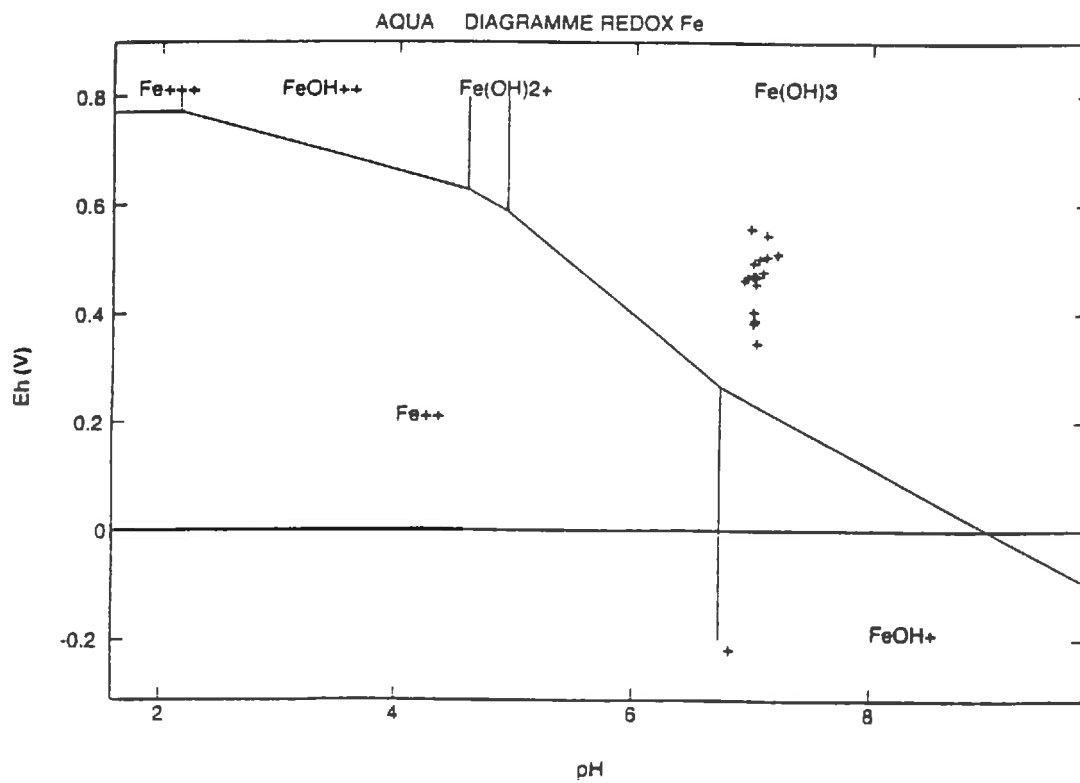


Figure 28: Diagrammes de Pourbaix du fer appliqué à l'essai cellulose de la première expérimentation.

de manganèse total apparaît en solution: ceci aurait un rapport avec la production d'acides organiques qui même à faible teneur commencent à solubiliser ce métal

d) Domaine du fer ferreux:

120-144 heures:

Les solutions entrent dans le domaine de stabilité thermodynamique du fer réduit (fig. 31), en particulier dans la zone d'équilibre $\text{Fe}^{++} / \text{Fe}(\text{OH}^+)$; à ce stade les métaux sont susceptibles d'être solubilisés; le Eh chute et prend des valeurs négatives, le milieu devient réducteur et chronologiquement c'est le manganèse qui se solubilise le premier, conformément aux travaux de Mariotti (1992).

La pression partielle en CO_2 ayant fortement augmenté, le pH commence à diminuer mais reste voisin de la neutralité (fig. 13). Dans ce cas la réduction du fer et la forte solubilisation de la calcite tamponnent le pH au voisinage de la neutralité comme dans la première expérimentation.

La pression partielle en hydrogène continue à augmenter ainsi que celle du CO_2 et de N_2O , pendant que celle de l'oxygène diminue.

L'ammonium diminue par rapport à la période précédente. Mais sa variation est faible. Ce résultat doit être rapproché des travaux de MOOR *et al*, (1992) qui ont constaté que la teneur en NH_4^+ variait très peu lorsque l'aération du milieu est très faible ou nulle.

La teneur en acides organiques a légèrement augmenté (fig. 21 c).

La diminution des teneurs en ^{15}N à ce stade pourrait s'expliquer par une dilution isotopique: il y aurait eu des échanges entre les formes azotées de l'atmosphère de la bouteille avec celles de la solution. (Nicolardot par communication).

e) Domaine de la dissolution et de la complexation inorganique des métaux:

144-168 heures:

Cette étape est essentiellement caractérisée par des modifications dans la chimie des métaux.

Les solutions sont encore situées dans le domaine de l'équilibre du Fer ferreux ($\text{Fe}^{++} / \text{Fe}(\text{OH}^+)$). Cette étape coïncide avec l'apparition de quantités notables de fer dissous, bien qu'inférieures à celles du manganèse.

Jusqu'à ce stade les teneurs en manganèse total et en manganèse libre augmentent proportionnellement (fig. 33). Le taux de complexation du manganèse très élevé (99%) doit être attribué à la complexation sous forme MnCO_3^0 .

Les teneurs en acides organiques se stabilisent et varient très peu durant cette période.

La composition de la phase gazeuse est totalement différente que celle de départ par rapport déjà à la nature des gaz et surtout aux pressions partielles atteintes par le CO_2 et H_2 alors que la pression partielle en oxygène a chuté considérablement. Il n'y a plus de N_2O ce qui s'explique par le fait qu'il n'y ait plus de nitrate ni de nitrite susceptibles de se transformer en N_2O , ces composés ayant été entièrement dénitrifiés.

La teneur en ammonium est restée constante, résultat en accord avec les conditions pH/Eh de stabilité thermodynamique de cette espèce chimique.

f) Domaine de la complexation organo-metallique

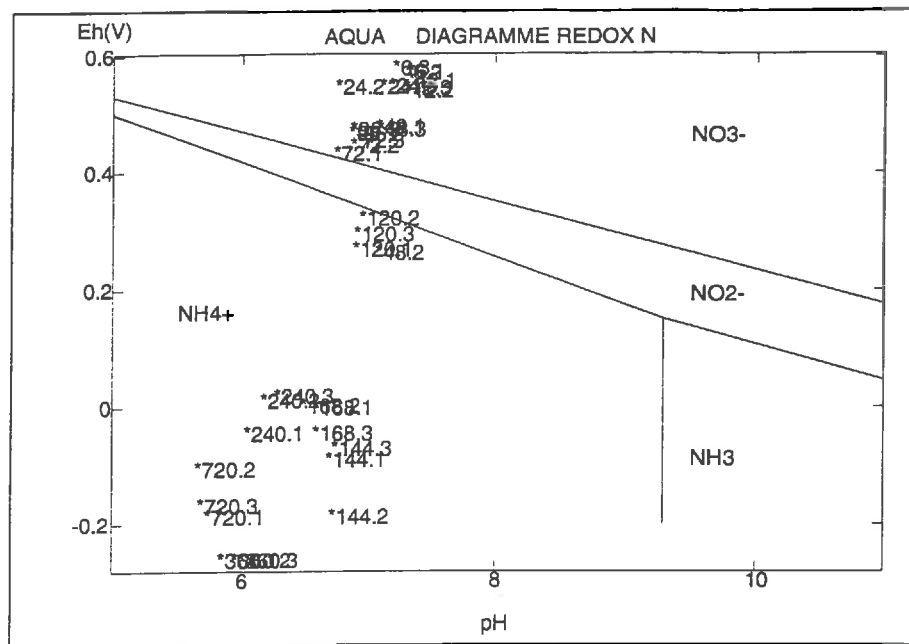


Figure 29: Diagrammes de Pourbaix de l'azote appliqué à la seconde expérimentation.

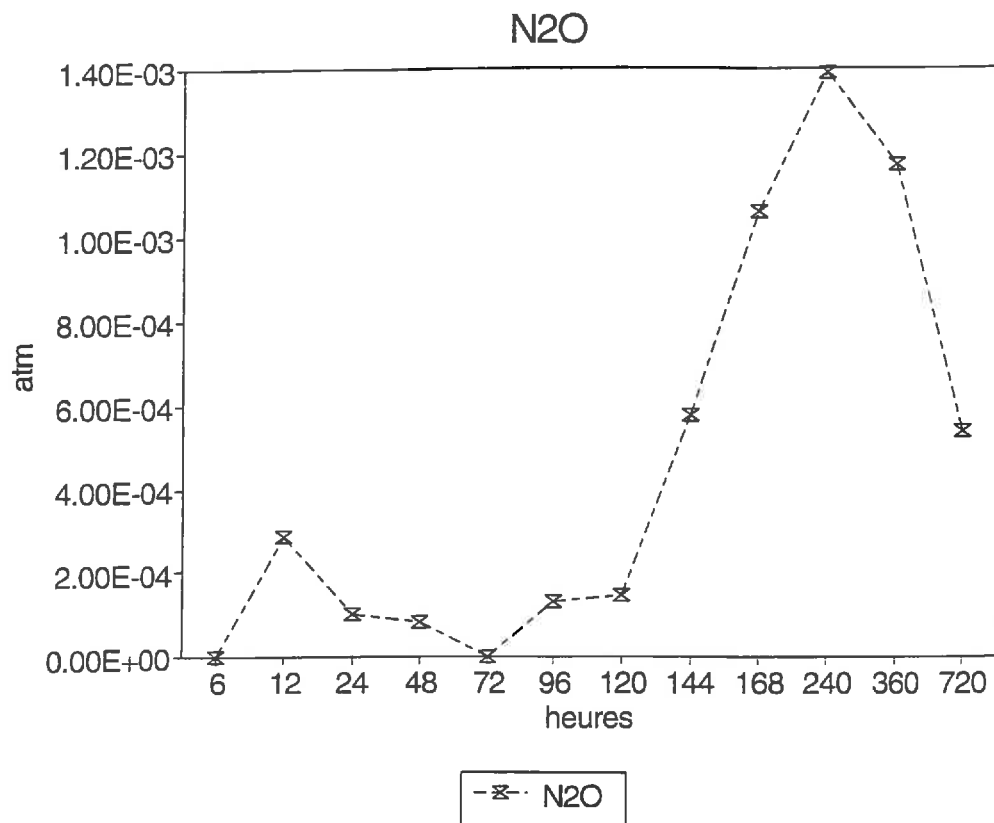


Figure 30: Variations de la pression partielle en N₂O lors de la deuxième expérimentation.

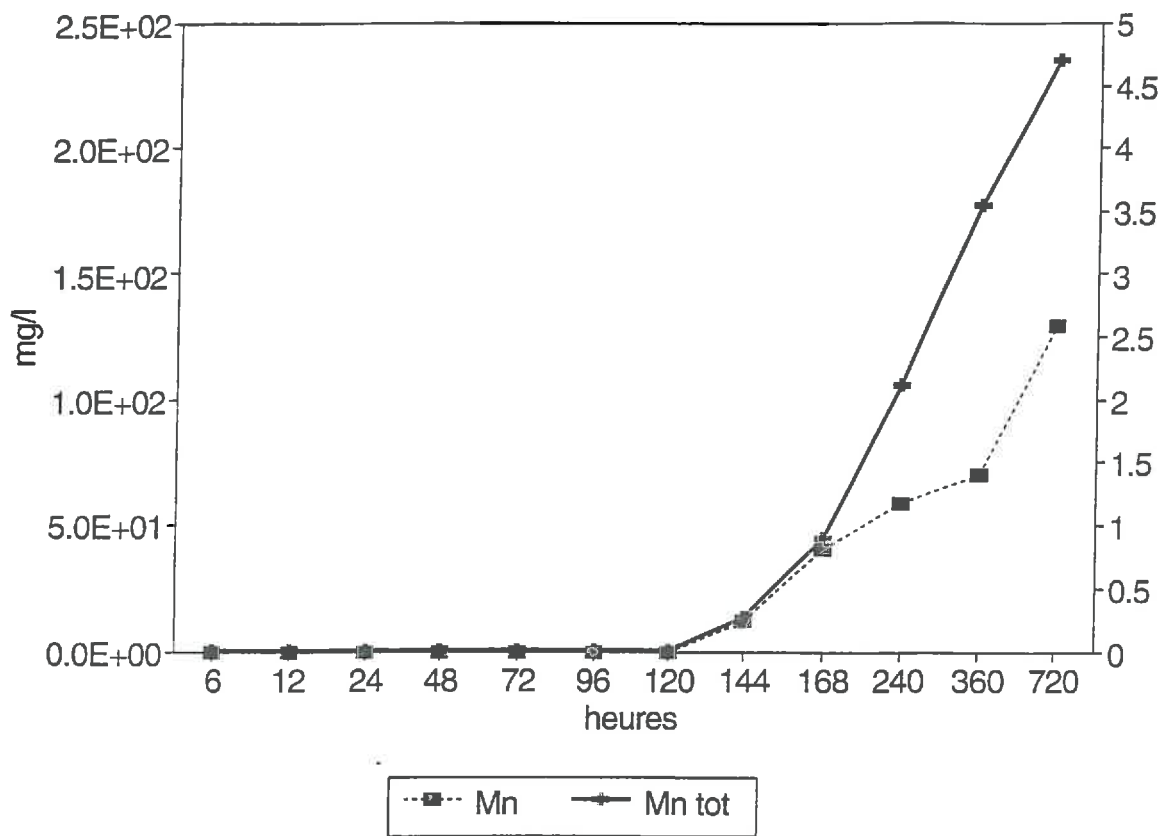


Figure 33: Variations temporelles des teneurs en manganèse libre et total dissous (valeurs maximales observées).

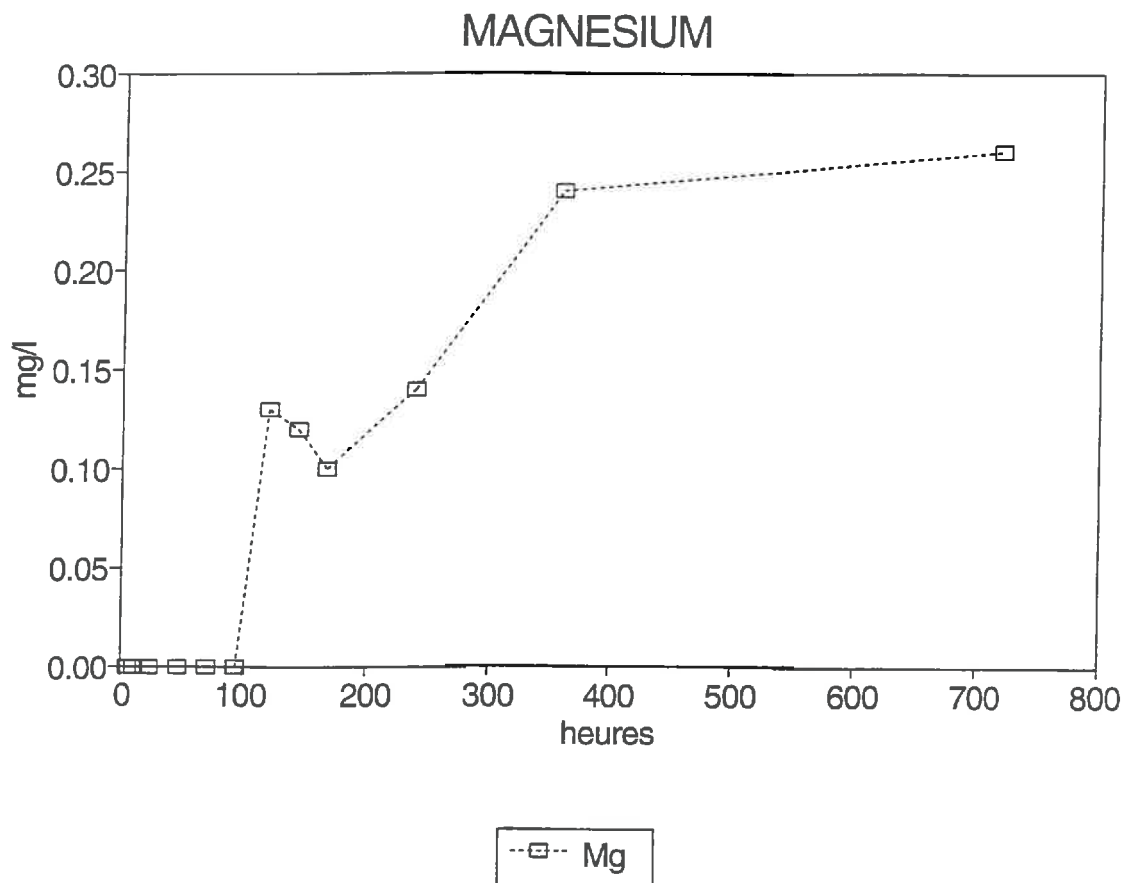


Figure 34: Variation des teneurs en magnésium dissous (valeurs maximales observées)

168-240 heures:

Les solutions sortent du domaine d'équilibre entre formes du fer ferreux. Le Eh est presque nul et le pH a chuté considérablement. Ceci est attribuable à la très forte concentration en CO₂ de l'atmosphère des bouteilles. La pression partielle en oxygène est quasiment nulle .

En revanche, la pression partielle en hydrogène augmente toujours.

La teneur en fer est à peu près stable contrairement à celle du manganèse qui augmente. Pour la chimie du manganèse, cette étape se caractérise par la divergence des courbes du manganèse total et du manganèse libre et par leur vitesse et taux d'accroissement (fig. 33). Le manganèse total se trouve en quantité proportionnellement plus élevée que celle du libre et augmente beaucoup plus rapidement et plus tôt que la molalité en manganèse libre. Dans la phase précédente, les teneurs en acides organiques sont restées stables de même que le taux de complexation du manganèse. En revanche la période 168-240 heures se caractérise par une augmentation du rapport entre manganèse total et manganèse libre, ce qui traduit l'apparition d'un nouveau type de complexe du manganèse. Certains acides organiques constitueraient peut être une source de complexation de ce métal car ces modifications coïncident avec l'apparition de nouveaux acides.

L'augmentation de la teneur en Mn dissous coïncide avec l'élévation de la teneur en magnésium (fig. 34), ce qui pourrait traduire une altération de micas. L'augmentation des teneurs en sodium (Fig. 18) traduit vraisemblablement la dissolution de feldspaths calco-sodiques abondants dans le sédiment et principale source de sodium.

Il convient de remarquer que la quantité de manganèse libre a aussi augmenté mais moins rapidement que le Mn total. Ainsi, parmi les acides nouvellement produits, certains complexeraient plus facilement ce métal. En conditions hydromorphes la fermentation et la respiration anaérobies sont favorisées et l'acide lactique peut être produit en grande quantité (BERTHELIN et KOGBLEVI, 1974; VEDY et BRUCKERT, 1979). Cependant , celui ci a un pouvoir complexant faible. Le taux de complexation calculé s'est élevé ce qui attribuerait le pouvoir complexant aux autres acides organiques produits qui auraient alors ralenti la solubilisation du Mn⁺⁺et avantagé celle du manganèse total.

Enfin , la forte augmentation de la pression partielle en N₂O succède à la phase de disparition de nitrites entre 72 et 120 heures.

g) Domaine de la production d'hydrogène

240-720 heures:

Le Eh est très bas et le milieu est fortement réducteur. Les pressions partielles en CO₂ et en hydrogène sont extrêmement élevées et ne cessent de croître. Les solutions évoluent vers les conditions thermodynamiques de dissociation de l'eau en H₂ (Fig. 35). Il est probable que dans des conditions de température beaucoup plus élevées (30° ou plus), la présence d'hydrogène serait substituée par celle du méthane.

Cette croissance de la pression en CO₂ est responsable de la dissolution de calcite et de la croissance des teneurs en calcium. Le nombre d'acides organiques et leur concentration ont augmenté . Leur incidence sur la solubilisation des métaux est telle que fer et manganèse, dont les concentrations en élément libre augmentent, se retrouvent en solution en très fortes teneurs. La solubilisation du sodium traduirait une altération de feldspaths calco-sodique.

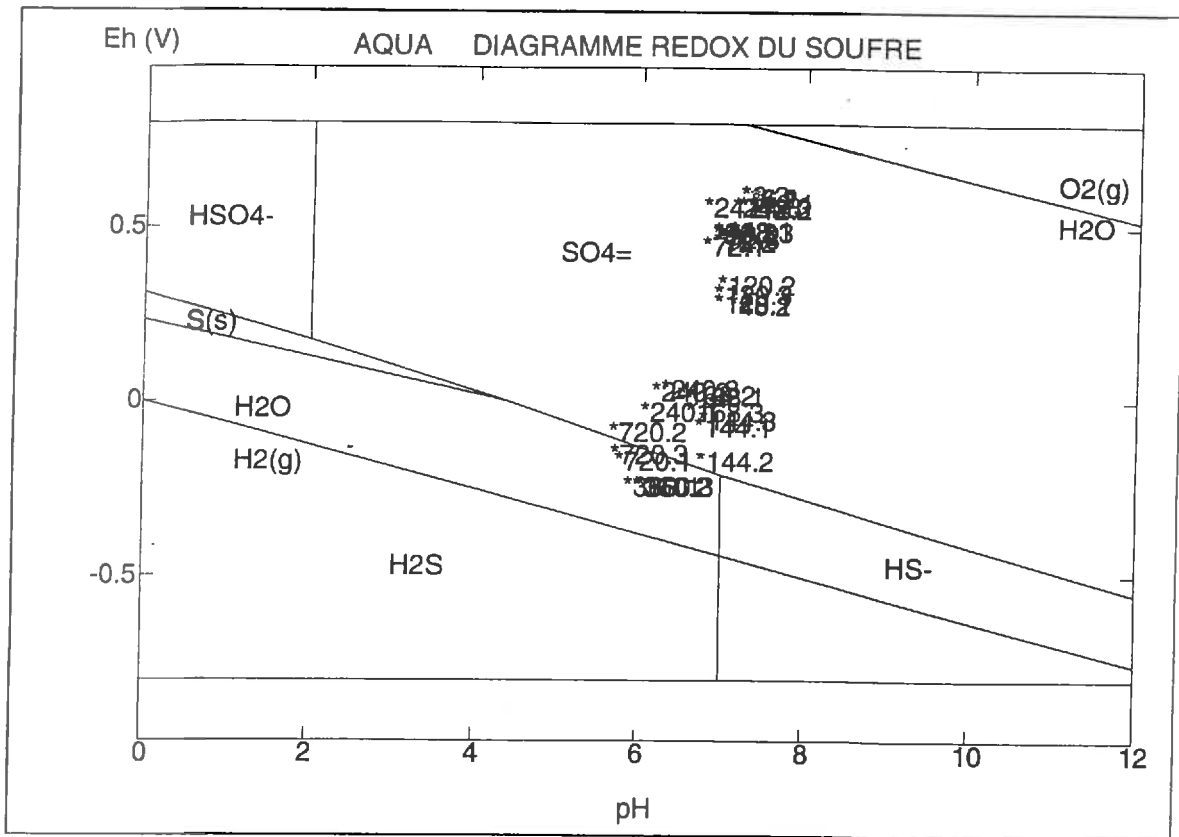


Figure 35: Diagramme de Pourbaix du soufre pour la seconde expérimentation.

DISCUSSION

La première phase est constituée par une respiration aérobie qui conduit à une production de CO_2 et une légère solubilisation de calcite et une légère acidification. Curieusement, l'activité métabolique conduit à une production éphémère d'ammonium, déjà présente lors de la première expérimentation mais incertaine du fait de l'imprécision des techniques analytiques utilisées alors.

La seconde phase est constituée par la transformation de l'azote. Il s'agit d'une dénitrification avec production de N_2O dont le maximum de teneur succède à celui des nitrites. Ainsi, la chronologie des formes azotées dominantes est NO_3^- , $\text{NO}_2^-/\text{N}_2\text{O}$ ce qui correspond à la séquence classique forme oxydante \rightarrow forme réduite. La forme ammoniacale échappe à ce schéma car elle se forme soit au début de l'expérimentation soit à la fin. Aussi, cette espèce chimique semble être dissociée du processus principal de dénitrification.

La troisième phase se caractérise par la solubilisation du manganèse puis du fer du fait des conditions qui deviennent plus réductrices. Les mesures du manganèse libre par électrophorèse capillaire ont permis d'étudier l'évolution temporelle du taux de complexation de cet élément. Les oxydes, notamment la todorokite, peu abondante en proportion de la masse totale, semblent disparaître lors de cette dissolution.

Cette phase est justement caractérisée par la production d'acides organiques, ce qui avait été pressenti à l'issue de la première expérimentation. Le nombre et la quantité d'acides organiques sont faibles au départ. Plus tard l'augmentation de leur teneur et l'apparition de nouvelles formes ont permis d'expliquer un nouveau type de complexation du manganèse qui était absente lors de l'étape de réduction des nitrates ou de la solubilisation initiale du métal. Cette production d'acides organiques accélère la solubilisation des métaux. Ce phénomène semble suffisamment puissant pour affecter le stock d'oxydes de manganèse voire de fer (Tableau III).

La quatrième phase est caractérisée par la production abondante d'hydrogène qui se réalise au voisinage de l'équilibre thermodynamique $\text{H}_2\text{O}/\text{H}_2(\text{g})$ ce qui confirme les résultats obtenus lors de la première expérimentation.

Cependant, il convient de constater que ces différentes étapes ne se succèdent pas toujours mais peuvent avoir des périodes de recoupement. Ainsi, l'hydrogène apparaît bien avant la phase de réductions des métaux. Deux hypothèses non contradictoires peuvent être avancées:

- La situation hors équilibre thermodynamique qui est fréquente dans les réactions d'oxydoréduction est responsable de la coexistence de formes relativement oxydante et réduites dans le même flacon.

- L'existence d'une hétérogénéité au niveau du sédiment serait liée à la présence de "points chauds", à savoir de micro-sites dans lesquels la juxtaposition des micro-organismes, de carbone organique et des nutriments nécessaires à l'activité microbienne créent un volume particulièrement actif de la réduction. L'existence de ces "points chauds" a été mise en évidence par de nombreux auteurs lors de travaux récents, aussi bien dans des conditions naturelles ou similaires (Christensen *et al.* 1990 a et b; Parkin 1987 et 1993, Parkin *et al.* 1987) que dans des milieux fortement artificialisés (Rice *et al.* 1988).

CONCLUSION

L'abondance naturelle des isotopes constitue un moyen privilégié de caractérisation du phénomène de dénitrification dans les sols ou les aquifères tel que celui de la Vistrenque. De même, en laboratoire le traçage isotopique en excès peut aider à identifier de manière précise l'origine des espèces azotées.

La présence de l'ammonium dans la vallée de la Vistrenque a suscité des questions quant à son origine. Grâce au traçage isotopique en excès réalisé en laboratoire, nous avons pu montrer que l'origine de cet élément était attribuable au moins en partie au nitrate. Les concentrations maximales en ammonium ont été observées en fin d'incubation et proviendraient de la destruction de la matière organique d'origine microbienne. Ceci constitue la confirmation d'hypothèses avancées avant ce travail. Cependant, une production particulièrement rapide a été mise en évidence dans les premières heures d'incubation. Sa signature isotopique et la rapidité de son apparition ont montré qu'il s'agissait d'une transformation métabolique du nitrate. La salinité ne semble pas impliquée dans cette production ammoniacale dans la gamme de salinités étudiée.

D'autre part, la fugacité de l'ion nitrite est confirmée lors des différentes expérimentations. La présence constante de cet élément dans la vallée de la Vistrenque suggère donc qu'il existe un transfert et une dégradation constants de nitrate depuis zones amont vers les zones nitritées. Ceci devra être confirmé par des études hydrodynamiques.

La liaison étroite existant entre la nature de la source carbonée et la vitesse de dénitrification conforte l'hypothèse d'une implication des épandages des eaux usées de conserveries dans les faibles teneurs en nitrates observées à leur niveau. Toutefois, la production d'acides organiques peut engendrer une solubilisation des métaux tels que le manganèse ou le fer, en particulier par complexation. En effet, nous avons observé que les microorganismes n'agissent pas uniquement sur la modification du Eh et du pH de la solution. Ils participent activement à la chimie globale, en particulier à l'attaque des minéraux, et accélèrent l'altération de la calcite, d'oxydes et de silicates même lors des stades aussi précoces que celui de la dénitrification. Les transformations induites sont suffisamment importantes pour affecter le stock d'oxydes de manganèse ou de fer.

Cependant, au cours de l'expérimentation, nous avons observé une diminution de la quantité de ^{15}N pouvant s'expliquer par une dilution isotopique. Pour vérifier cette hypothèse, il serait souhaitable d'effectuer le dosage isotopique du ^{15}N gazeux. De même, le suivi du ^{15}N organique pour étudier le passage de l'azote dans le compartiment des substances organiques insolubles constitue une des perspectives d'amélioration du protocole.

La production de N_2O , souvent évoquée lors des études sur la dénitrification, a été confirmée aussi dans cette étude. En revanche, la production d'hydrogène à partir de l'étape de la dénitrification est plus rarement citée car les travaux se sont surtout intéressés à la méthanisation.

Enfin, ce travail a confirmé la complexité des processus liés à la dénitrification dans les situations anoxiques et il paraît opportun de resserrer le pas de temps entre deux incubations pour les expérimentations ultérieures.

BIBLIOGRAPHIE

- AMRANI M., 1990. "Evaluation de l'effet de la salure globale et de la nature des sels sur l'ammonification et la nitrification." Mémoire de troisième cycle Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II Rabat, 117p.
- BOWMAN R. et D. FOCHT, 1974, The influence of glucose and nitrate concentrations upon denitrification rates in sandy soils. *Soil Biol. Biochem.*, 6, 297-301.
- BERTHELIN J. et L.A. KOGB, 1974, Influence de l'engorgement sur l'altération microbienne des minéraux dans les sols. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, 11, 499-509.
- BEPPU T., KAKUTANI T. et T. ARIMA, 1978. Regulatory mechanisms of nitrite reductase in denitrifying bacteria : 272-279 in *Microbiology for Environment Cleaning*, Ed. Dept. Agric. Chem., Univ. Tokyo.
- BLACMER A.M. et BEMMER J.M., 1977. Nitrogen isotope discrimination in denitrification of nitrates in soils. *Soil Biol. Biochem*, 9, 73-77.
- BURESH R.J., PATRICK Jr W.H., 1981. "Nitrate reduction to ammonium and organic nitrogen in an estuarine sediment." *Soil Biol. Biochem.* ,13, 279-283.
- CASEY W. et J. TEIDJE, 1980. The reduction of nitrate to ammonium by a *Clostridium* sp. isolated from soil. *J. Gen. Microbiol.*, 119, 217-223;
- CHIENS S.H., SHEARER G. et D.H. KOHL. 1977. The nitrogen isotope effect associated with nitrate and nitrite loss from water logged soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*,41,63-69.
- CHRISTENSEN S., S. SIMKINS et J. TIEDJE, 1990 a, Spatial variation in denitrification: dependency of activity centers on the soil environment. *Soil Sci. Soc. Am.J.* , 54, 1614-1618.
- CHRISTENSEN S., S. SIMKINS et J. TIEDJE, 1990 b, Temporal patterns of soil denitrification: their stability and cause. *Soil Sci. Soc. Am.J.* , 54, 1614-1618.
- DELLAL A., HALITIM A., 1992. "Activités microbiologiques en conditions salines : cas de quelques sols salés de la région de Relizane (Algérie)." *Cahiers Agricultures* 1992; 1, 335-340.
- DELWICHE C., 1953. Denitrification , a symposium oof ornaiic Nitrogne Metabolism. Ed. Mc Elroy C68 Glass, Baltimore Md, 253 p.
- FAZZOLARI E. , A. MARIOTTI et J.C. GERMON , 1990 a. Nitrate reduction to ammonium: a dissimilatory process in enterobacter amnigenus. *Can.J. Microb.*,36, 779-785.
- FAZZOLARI E. , A. MARIOTTI et J.C. GERMON, 1990 b. Dissimilatory ammonia production vs. denitrification in vitro and in inoculated soils samples. *Can.J. Microb.*,36, 786-793.

- FAZZOLARI CORREA E., GERMON J.C., 1991. "Dissimilative nitrate reduction to ammonium in different soils in waterlogged conditions." Berthelin, 1991. Developments in Geochemistry Diversity of Environmental Biochemistry. Elsevier Amsterdam, 537p.
- FENCHEL T. et T. BLACKBURN, 1979, The nitrogen cycle, in "Bacteria mineral cycling". Ed. Academic Press, New-York, 118-125.
- FUSTEC E., A. MARIOTTI, X. GRILLO et J. SAJUS, 1991 Nitrate removal by denitrification in alluvial groundwater: role of a former channel. J. Hydrol., 123, 337-354.
- GORDON A.S., W.J. COOPER et D.J. SCHEIDT, 1986, Denitrification in marl and peat sediments in the Florida Everglades. Appl. J. Envir. microbiol, 52, 987-991.
- GUILLEMIN C., ROUX J.C., 1990. "Pollution des eaux souterraines en France." Manuel et Méthodes B.R.M Orléans, 258p.
- HISCOCK K.M., LLOYD J.W., LERNER D.N., 1991. "Review of natural and artificial denitrification of groundwater." Wat. Res. Vol. 25. No. 9. 1099-1111.
- KNOWLES R. 1982 Denitrification. Microbiology Reviews, 46,1; 43-70.
- LAURA R.D., 1974. "Effects of neutral salts on carbon and nitrogen mineralisation of organic matter in soil." Plant and Soil 41. 113-127.
- LOVLY D. 1991, Dissimilative Fe(III) and Mn(IV) reduction. Microbiological Reviews. 259-287.
- MALEFOSSE A., 1992. "Cartographie et analyse de la pollution par les nitrates en Vistrenque." DEA National d'Hydrologie. 53p.
- MARIOTTI A., 1986. La denitrification dans les eaux souterraines, principes et méthode de son identification: une revue. J of hydrol., 88, 1-23.
- MARIOTTI A., J.C. GERMON, P. HUBERT, P. KAISER, R. LETOLLE, A. TARDIEUX et P. TARDIEUX, 1982, Nitrogen isotope fractionation associated with the $\text{NO}_2^- \rightarrow \text{N}_2\text{O}$ step of denitrification in soils. Can. J. Soil. Sci., 62, 227-241.
- MARIOTTI A., 1992. "La dénitrification *in situ* dans les eaux souterraines processus naturels ou provoqués." Rapport du SRETIE. 61p.
- Mc CLUNG G., FRANKENBERGER Jr W.T., 1985. "Soil nitrogen transformations as affected by salinity." Soil Science. Vol. 139. No. 5. 405-411.
- NEIDHARDT F.C., INGRAHAM J.L., SCHAECHTER M., 1990. "Physiology of the bacterial cell : a molecular approach." Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts. 506p.
- PARKIN T.B., 1987, Soil microsites as a source of denitrification variability. Soil Sci. Soc. Am. J. , 51, 1194-1199.
- PARKIN T.B. 1993 Spatial variability of microbial processes in soil. A review. J. Environ. Qual., 22, 409-417.

- PARKIN T.B., J.L. STARR et J.J MEISINGER, 1987 Influence of sample volume on measurement of soil denitrification. *Soil Sci. Soc. AM. J.* , 51, 1492-1501.
- PATRICK Jr W.H., JUGSUJINDA A., 1992. "Sequential reduction and oxidation of inorganic nitrogen, manganese, and iron in flooded soil." *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56. 1071-1073.
- POURBAIX M. 1966. *Atlas of Electrochemical Equilibria*. Pergamon Press (ed.), New York.
- RICE C.W., P.E. SIERZEGA , J.M. TIEDJE et L.W. JACOBS, 1988 Stimulated denitrification in the microenvironment of a biodegradable organic waste injected into soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* , 52, 102-108.
- SACKS L. et H. BARKER, 1952. Substrate oxidation and nitrous oxide utilisation in denitrification. *J. Bact.*, 64, 247-252.
- SORENSEN J., 1978. "Capacity for denitrification and reduction of nitrate to ammonia in a coastal marine sediment." *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 35. No. 2. 301-305.
- STANFOR D.G. 1975a. Denitrification and associated nitrogen transformation in soils. *Soil Sci.*, 120, 147-152.
- STONE A.T. et J.J. MORGAN 1984, Reduction and dissolution of Manganese (III) and manganese (IV) oxides by organics. 2: Survey of the reactivity of organics ., *Environ. Science Technology*, 18, 617-624.
- VEDY J.C. et S. BRUCKERT, 1979, Les solutions du sol. Composition et signification pedogenetique. In: *Pedologie, Tome II "Constituants et propriétés du sol"*, M. Bonneau et B. Souchiert, Ed. Masson, Paris, 161-186.
- VIZIER J.F., 1989. "Etude du fonctionnement des milieux saturés d'eau. Une démarche physico-chimique." *Cah. ORSTOM, sér. Pédol.* Vol. XXV. No. 4. 431-442.
- VIZIER, J.F. 1990. Etude du fonctionnement des milieux saturés d'eau. Une démarche physico-chimique. *Cah. ORSTOM, sér. Pédol.*, 25 (4) : 431-442.
- VOGEL J.C., A.S. TALMA et T.H.E. HEATON, 1981, Gaseous nitrogen as evidence for denitrification in groundwater. *J. of Hydrol.*, 50, 191-200.

LISTE DES FIGURES

- Figure 1: Carte de localisation de la zone d'étude.
- Figure 2: Distribution spatiale du nitrate, du nitrite et de l'ammonium dans l'aquifère de la Vistrenque.
- Figure 3: Diffractogramme des rayons X appliqué au sédiment avant incubation.
- Figure 4: Photographie M.E.B. sur des oxydes de manganèse purs (forme dendritique) et oxydes de fer obtenus sur le sédiment avant incubation.
- Figure 5: Evolution du pH pour l'essai saccharose lors de la première expérimentation.
- Figure 6: Evolution du pH pour l'essai cellulose lors de la première expérimentation.
- Figure 7: Evolution du Eh pour l'essai saccharose lors de la première expérimentation.
- Figure 8: Evolution du Eh pour l'essai cellulose lors de la première expérimentation.
- Figure 9: Evolution de la composition de la phase gazeuse pour l'essai saccharose lors de la première expérimentation.
- Figure 10: Evolution de la composition de la phase gazeuse pour l'essai cellulose lors de la première expérimentation.
- Figure 11: Evolution des formes inorganique de l'azote à 1.3 mS/cm lors de l'essai saccharose de la première expérimentation.
- Figure 12: Evolution des formes inorganique de l'azote à 1.3 mS/cm lors de l'essai cellulose de la première expérimentation.
- Figure 13: Evolution du pH et du Eh lors de la seconde expérimentation (valeurs maximales obtenues).
- Figure 14: Evolution des pressions partielles des principaux gaz lors de la seconde expérimentation (valeurs maximales obtenues).

- Figure 15: Evolution des teneurs en ammonium lors de la seconde expérimentation (valeurs maximales obtenues).
- Figure 16: Evolution des teneurs en nitrate et nitrite lors de la seconde expérimentation (valeurs maximales obtenues).
- Figure 17: Variations temporelles du calcium dissous dans la seconde expérimentation (valeurs maximales obtenues).
- Figure 18: Variations temporelles du sodium dissous dans la seconde expérimentation (valeurs maximales obtenues).
- Figure 19: Variations temporelles du manganèse total dissous dans la seconde expérimentation (valeurs minimales, intermédiaires et maximales observées).
- Figure 20: Variations temporelles des teneurs en fer total dissous dans la seconde expérimentation (valeurs minimales, intermédiaires et maximales observées).
- Figure 21: Illustration de la présence d'anions organiques lors des dosages par électrophorèse. a) 96 heures; b) 120 heures; c) 720 heures d'incubation.
- Figure 22: Variations temporelles des teneurs en manganèse libre dissous dans la seconde expérimentation (valeurs maximales observées).
- Figure 23: Diagrammes de Pourbaix de l'azote appliqué à l'essai saccharose de la première expérimentation.
- Figure 24: Diagrammes de Pourbaix du fer appliqué à l'essai saccharose de la première expérimentation.
- Figure 25: Diagrammes de Pourbaix du soufre appliqué à l'essai saccharose de la première expérimentation.
- Figure 26: Comparaison entre les valeurs de Eh mesurées et les valeurs estimées à partir de l'équilibre H^+/H_2 .
- Figure 27: Diagrammes de Pourbaix de l'azote appliqué à l'essai cellulose de la première expérimentation.
- Figure 28: Diagrammes de Pourbaix du fer appliqué à l'essai cellulose de la première expérimentation.

- Figure 29: Diagrammes de Pourbaix de l'azote appliqué à la seconde expérimentation.
- Figure 30: Variations de la pression partielle en N_2O lors de la deuxième expérimentation.
- Figure 31: Diagrammes de Pourbaix du fer appliqué à la seconde expérimentation.
- Figure 32: Variations des teneurs en ^{15}N dans NO_3^- et NH_4^+ , Variations des quantités de ^{15}N dans les nitrites
- Figure 33: Variations temporelles des teneurs en manganèse libre et total dissous (valeurs maximales observées).
- Figure 34: Variation des teneurs en magnésium dissous (valeurs maximales observées)
- Figure 35: Diagramme de Pourbaix du soufre pour la seconde expérimentation.

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau I: Séquence des processus redox (d'après Mariotti, 1992).
- Tableau II: Référence des échantillons correspondants aux différents temps d'incubation de la seconde expérimentation
- Tableau III: Evolution de la minéralogie du sédiment lors des différentes incubations.
- Tableau IV: Quantité en isotope lourd de l'azote sous forme de nitrate, nitrite et ammonium lors des différentes incubations.
- Tableau V: Pressions partielles des différentes compositions gazeuses dosées lors de la deuxième expérimentation.
- Tableau VI: Evolution du pH et du Eh du milieu.
- Tableau VII: Variation des différentes teneurs en anions dans le milieu.
- Tableau VIII: Variation de la composition cationnique du milieu.
- Tableau IX: Teneurs en fer et manganèse totaux dissous.

ANNEXES

TABLEAU I:
SEQUENCE DES PROCESSUS REDOX (D'APRES MARIOTTI, 1992).

		$\Delta G^\circ (w)^a$	
Respiration aérobie	$CH_2O + O_2 \rightarrow CO_2 + H_2O$	-502,1	[4]
Dénitrification	$CH_2O + 4/5 NO_3^- + 4/5 H^+ \rightarrow CO_2 + 2/5 N_2 + 7/5 H_2O$	-476,6	[2]
Réduction de Mn(IV)	$CH_2O + 2 MnO_2 + 4H^+ \rightarrow 2 Mn^{2+} + 3 H_2O + CO_2$	-340,2	[5]
Réduction de Fe(III)	$CH_2O + 4 Fe(OH)_3 + 8 H^+ \rightarrow 4 Fe^{2+} + 11 H_2O + CO_2$	-115,9	[6]
Réduction des sulfates	$CH_2O + 1/2 SO_4^{2-} + 1/2 H^+ \rightarrow 1/2 HS^- + H_2O + CO_2$	-104,6	[7]
Fermentation méthanique	$CH_2O + 1/2 CO_2 \rightarrow 1/2 CH_4 + CO_2$	-92,9	[8]

^a : $\Delta G^\circ(w) = \Delta G^\circ - RT \ln[H^+]^p$, avec $[H^+] = 10^{-7}$ mole.l⁻¹ et p = coefficient stœchiométrique de $[H^+]$

TABLEAU II:

REFERENCE DES ECHANTILLONS CORRESPONDANTS AUX DIFFERENTS TEMPS D'INCUBATION DE LA SECONDE EXPERIMENTATION

Durée (heures)	6	12	24	48	72	96	120	144	168	240	360	720
1 ^{ère} Répétition	6.1	12.1	24.1	48.1	72.1	96.1	120.1	144.1	168.1	240.1	360.1	720.1
2 ^{ème} Répétition	6.2	12.2	24.2	48.2	72.2	96.2	120.2	144.2	168.2	240.2	360.2	720.2
3 ^{ème} Répétition	6.3	12.3	24.3	48.3	72.3	96.3	120.3	144.3	168.3	240.3	360.3	720.3

TABLEAU VIII:

VARIATION DE LA COMPOSITION CATIONNIQUE DU MILIEU.

CATIONS (mg/l)

heures	NH4	Ca	Na	Mg	Mn
					0.00
6.1	0.00	0.58	0.15	0.00	0.00
6.2	0.00	0.36	0.16	0.00	0.00
6.3	0.00	0.53	0.18	0.00	0.00
12.1	0.40	0.95	0.32	0.00	0.00
12.2	0.38	0.66	0.24	0.00	0.00
12.3	0.40	0.93	0.30	0.00	0.00
24.1	0.00	0.76	0.22	0.00	0.00
24.2	0.00	0.60	0.18	0.00	0.00
24.3	0.00	0.62	0.17	0.00	0.00
48.1	0.00	0.70	0.24	0.00	0.00
48.2	0.00	0.66	0.20	0.00	0.00
48.3	0.00	0.74	0.20	0.00	0.00
72.1	0.00	0.76	0.21	0.00	0.00
72.2	0.00	0.84	0.23	0.00	0.00
72.3	0.00	0.72	0.20	0.00	0.00
96.1	0.00	0.61	0.17	0.00	0.00
96.2	0.00	0.53	0.17	0.00	0.00
96.3	0.00	0.60	0.17	0.00	0.00
120.1	0.67	1.53	0.61	0.22	0.00
120.2	0.67	1.72	0.68	0.22	0.00
120.3	0.47	1.65	0.49	0.13	0.23
144.1	0.47	1.64	0.40	0.12	0.29
144.2	0.45	2.44	0.65	0.18	0.56
144.3	0.41	1.75	0.43	0.14	1.02
168.1	0.25	2.93	0.54	0.23	0.81
168.2	0.42	1.06	0.20	0.10	1.17
168.3	0.30	2.79	0.47	0.20	4.42
240.1	0.21	3.83	0.70	0.34	2.30
240.2	0.32	2.21	0.40	0.20	1.43
240.3	0.40	1.50	0.25	0.14	1.41
360.1	0.84	1.83	0.35	0.32	1.40
360.2	0.40	1.03	0.23	0.45	2.36
360.3	0.35	1.08	0.22	0.24	2.59
720.1	0.42	1.78	0.67	0.32	3.17
720.2	0.90	2.09	0.51	0.42	2.70
720.3	0.37	1.95	0.42	0.26	2.70

TABLEAU IX:
TENEURS EN FER ET MANGANESE TOTAUX DISSOUS.

METAUX (mg/l)

heures	fer tot	Mn tot
6.1	0.01	0.01
6.2	0.01	0.01
6.3	0.00	0.02
12.1	0.00	0.01
12.2	0.00	0.01
12.3	0.00	0.01
24.1	0.00	0.01
24.2	0.00	0.01
24.3	0.00	0.03
48.1	0.01	0.02
48.2	0.01	0.05
48.3	0.00	0.02
72.1	0.01	0.05
72.2	0.04	0.10
72.3	0.04	0.01
96.1	0.00	0.06
96.2	0.00	0.02
96.3	0.00	0.03
120.1	0.00	1.63
120.2	0.00	0.23
120.3	0.00	0.29
144.1	2.31	37.00
144.2	1.95	16.20
144.3	1.21	13.80
168.1	3.20	44.80
168.2	3.39	98.80
168.3	3.81	46.00
240.1	6.43	150.00
240.2	3.05	106.40
240.3	2.87	128.00
360.1	64.00	224.00
360.2	33.00	182.00
360.3	16.50	178.00
720.1	170.00	235.00
720.2	137.00	262.00
720.3	311.00	313.00

TABLEAU III:

EVOLUTION DE LA MINERALOGIE DU SEDIMENT LORS DES DIFFERENTES INCUBATIONS.

Résultats obtenus par diffractométrie Rayons X

(+: abondance; -: absence; e: faible quantité)

Minéral	0-6 h	6-12h	12-24 h	24-48 h	48-72 h	72-96 h	96-120 h	120-144 h	144-168 h
Quartz	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Feldspath	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Calcite	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Argile 14A	+	+	+	+	+	+	+	+	+
"Micas"	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kaolinite	+	+	+	+	+	+	+	e	+
Amphiboles	e	-	e	e	-	-	-	-	-
Pyroxènes	e	-	e	e	e	-	e	e	e
Peridots	-	-	e	e	e	-	e	e	e
Goethite	+	-	+	+	-	-	-	-	-
Magnetite	-	-	e	e	-	-	-	-	e
	-	-	e	e	-	-	-	-	e
Hématite-	-	-	e	e	-	-	-	-	-
Ilménite	-	-	e	-	e	-	-	-	e
Brookite	e	-	e	e	-	-	-	-	-
Gibbsite	e	-	e	e	-	-	e	-	-
Todorokite	e	e	-	-	-	-	-	-	-
	e	-	e	-	-	-	e	-	-

TABLEAU IV:

QUANTITE EN ISOTOPE LOURD DE L'AZOTE SOUS FORME DE NITRATE,
NITRITE ET AMMONIUM LORS DES DIFFERENTES INCUBATIONS.

Temps (heures)	qt 15N- NO ₃ (mg/l)	qt 15N- NO ₂ (mg/l)	qte15N-NH ₄ (mg/l)
6.1	3.42	0.00	0.00E+00
6.2	3.25	0.00	0.00E+00
6.3	2.91	0.00	0.00E+00
12.1	3.20	0.00	4.73E-03
12.2	3.27	0.00	7.95E-03
12.3	3.10	0.00	8.28E-03
24.1	3.44	0.00	0.00E+00
24.2	3.21	0.02	0.00E+00
24.3	2.66	0.16	0.00E+00
48.1	2.41	0.25	0.00E+00
48.2	2.41	0.22	0.00E+00
48.3	2.35	0.21	0.00E+00
72.1	1.90	0.54	0.00E+00
72.2	1.43	0.71	0.00E+00
72.3	1.36	0.67	0.00E+00
96.1	0.92	0.50	0.00E+00
96.2	1.32	0.40	0.00E+00
96.3	1.38	0.26	0.00E+00
120.1			3.54E-03
120.2			2.97E-03
120.3			2.56E-03
144.1			2.08E-03
144.2			2.28E-03
144.3			0.00E+00
168.1			1.17E-03
168.2			1.99E-03
168.3			1.28E-03
240.1			9.31E-04
240.2			1.34E-03
240.3			1.71E-03
360.1			5.29E-03
360.2			0.00E+00
360.3			0.00E+00
720.1			0.00E+00
720.2			0
720.3			0

TABLEAU V:

PRESSIONS PARTIELLES DES DIFFERENTES COMPOSITIONS GAZEUSES
DOSEES LORS DE LA DEUXIEME EXPERIMENTATION.

PRESSIONS PARTIELLES (atm)

heures	CO2	N2O	H2	O2	N2
6.1	8.2094E-03			2.1044E-01	0.75
6.2	7.7902E-03			2.0981E-01	0.75
6.3	1.0802E-02			2.0537E-01	0.75
12.1	7.9569E-03	2.8656E-04	4.0119E-03	2.0238E-01	0.75
12.2	3.5640E-03	3.7915E-05	4.1991E-03	2.0231E-01	0.75
12.3	7.1468E-03	8.4857E-05	2.6966E-03	2.0256E-01	0.75
24.1	9.9868E-03	9.9968E-05	0.0000E+00	1.9915E-01	0.75
24.2	9.7052E-03	4.8333E-05	0.0000E+00	1.9795E-01	0.75
24.3	9.0234E-03	2.8676E-05	3.9754E-05	2.0064E-01	0.75
48.1	8.9790E-03	5.6889E-05	0.0000E+00	2.0739E-01	0.75
48.2	9.5616E-03	0.0000E+00	1.5771E-02	2.0598E-01	0.75
48.3	9.4027E-03	7.9853E-05	3.9727E-03	2.0569E-01	0.75
72.1	1.1319E-02	0.0000E+00	0.0000E+00	1.9690E-01	0.75
72.3	1.1213E-02	0.0000E+00	0.0000E+00	1.8738E-01	0.75
96.1	2.1483E-02	0.0000E+00	0.0000E+00	1.9362E-01	0.75
96.2	1.7945E-02	6.5425E-05	1.9076E-02	1.9797E-01	0.75
96.3	1.8512E-02	1.3063E-04	2.6797E-02	1.9702E-01	0.75
120.1	3.0257E-02	1.4568E-04	4.1247E-03	1.8905E-01	0.75
120.2	2.6126E-02	2.7764E-05	1.2975E-02	1.9380E-01	0.75
120.3	2.6141E-02	9.1369E-06	7.5927E-03	1.9016E-01	0.75
144.1	3.3630E-02	2.8719E-04	5.5236E-03	1.8216E-01	0.75
144.2	3.2412E-02	1.0749E-04	2.0208E-02	1.8250E-01	0.75
144.3	3.4989E-02	5.7689E-04	9.9033E-04	1.8024E-01	0.75
168.1	1.4881E-02	7.3409E-05	1.4808E-02	1.9136E-01	0.75
168.2	6.4164E-02	1.0634E-03	7.7031E-02	1.6662E-01	0.75
168.3	5.4784E-02	5.6901E-05	1.1200E-01	1.7360E-01	0.75
240.1	1.4752E-01	1.3863E-03	2.7107E-01	1.4521E-01	0.75
240.2	7.6985E-02	5.7238E-04	1.2499E-01	2.6017E-04	0.75
240.3	8.2396E-02	7.1139E-04	1.4520E-01	1.6225E-04	0.75
360.1	3.3297E-01	2.2915E-04	5.1077E-01	9.2824E-02	0.75
360.2	2.6199E-01	1.1728E-03	4.1554E-01	1.0599E-01	0.75
360.3	1.8387E-01	5.2080E-04	4.1561E-01	1.0685E-01	0.75
720.1	8.6026E-01	3.1173E-04	1.2242E+00	7.6655E-02	0.75
720.2	6.0251E-01	1.5484E-04	1.0364E+00	6.7987E-02	0.75
720.3	9.5869E-01	5.3486E-04	1.5218E+00	5.3511E-02	0.75

TABLEAU VI:
EVOLUTION DU PH ET DU EH DU MILIEU.

heures	pH	Eh(mv)	EH.cor
6.1	7.30	330.90	558.90
6.2	7.28	330.00	558.00
6.3	7.18	338.00	566.00
12.1	7.30	316.00	544.00
12.2	7.28	298.60	526.60
12.3	7.26	302.50	530.50
24.1	7.08	305.40	533.40
24.2	6.73	304.80	532.80
24.3	7.15	307.10	535.10
48.1	7.05	237.30	465.30
48.2	7.05	22.20	250.20
48.3	7.06	232.60	460.60
72.1	6.72	191.40	419.40
72.2	6.85	205.00	433.00
72.3	6.89	214.30	442.30
96.1	6.84	226.00	454.00
96.2	6.89	225.10	453.10
96.3	6.85	232.50	460.50
120.1	6.87	28.20	256.20
120.2	6.92	80.30	308.30
120.3	6.88	54.80	282.80
144.1	6.66	-329.90	-101.90
144.2	6.69	-228.20	-0.20
144.3	6.71	-310.70	-82.70
168.1	6.56	-241.60	-13.60
168.2	6.46	-239.20	-11.20
168.3	6.56	-286.10	-58.10
240.1	6.01	-285.70	-57.70
240.2	6.14	-230.20	-2.20
240.3	6.25	-222.40	5.60
360.1	5.81	-502.00	-274.00
360.2	5.92	-501.00	-273.00
360.3	5.97	-502.00	-274.00
720.1	5.70	-428.00	-200.00
720.2	5.63	-345.60	-117.60
720.3	5.65	-409.00	-181.00

TABLEAU VII:

VARIATION DES DIFFERENTES TENEURS EN ANIONS DANS LE MILIEU.

ANIONS (mg/l)

incub en heure	sulfates	nitrites	nitrates	chlorures
6.1	147.141	0	171.725	55.711
6.2	146.008	0	169.477	56.493
6.3	123.273	0	144.801	46.798
12.1	148.07	0	170.762	55.198
12.2	146.231	0	168.59	55.285
12.3	136.594	0	156.984	51.66
24.1	154.532	0	173.209	59.038
24.2	147.91	0	162.929	56.412
24.3	124.027	0	143.081	50.025
48.1	147.037	8.795	123.936	58.586
48.2	115.799	9.213	121.765	60.755
48.3	124.525	10.514	120.89	52.779
72.1	142.418	22.191	96.948	55.642
72.2	138.936	26.318	74.679	56.512
72.3	151.55	20.11	95.917	60.929
96.1	125.493	17.024	60.888	59.753
96.2	129.469	12.658	81.134	57.804
96.3	127.512	13.77	72.666	59.802
120.1	129.711	10.25	0	53.204
120.2	121.687	11.273	0	50.121
120.3	99.255	8.775	0	40.303
144.1	139.369	0	0	85.465
144.2	124.732	0	0	72.317
144.3	132.941	0	0	75.896
168.1	159.075	0	0	64.216
168.2	154.969	0	0	26.75
168.3	151.126	0	0	66.524
240.1	157.692	0	0	73.18
240.2	146.001	0	0	96.517
240.3	106.77	0	0	84.598
360.1	116.302	0	0	60.43
360.2	114.335	0	0	71.939
360.3	94.368	0	0	72.569
720.1	116.336	0	0	36.338
720.2	129.128	0	0	10.061

SACCHAROSE

5 mS/cm

incubation en jours	P (atm) lue	T °C	Eh lu	Eh corr.	pH
1	0	20.9	217.50	439.70	6.53
2	0	22.6	230.80	453.00	6.80
3	0	22.8	-1.10	221.10	6.61
4	0	20.7	-524.00	-301.80	6.49
6	0.13	14.9	-518.00	-295.80	5.83
7	0.35	14.5	-537.00	-314.80	5.88
10	0.18	14.5	-513.00	-290.80	5.84
13	0.41	18.4	-535.00	-312.80	5.78
16	0.61	22.4	-541.00	-318.80	5.98
20	0.75	19.7	-534.00	-311.80	5.88
24	0.14	13.1	-539.00	-316.80	5.75
28	1.45	12.5	-538.00	-315.80	5.79
34	1.7	16	-519.00	-296.80	5.71
45	0.46	13.9	-480.00	-257.80	5.45
54	0.99	15.1	-527.00	-304.80	5.64
61	0.1	17.3	-525.00	-302.80	5.76

incubation en jours	CO2 mmol/l	H2 mmol/l	O2 mmol/l	N2 mmol/l	NH4+ mg/l	NO2- mg/l	NO3- mg/l
1	0.522		9.156	35.735	9	10.12	104.16
2	0.790		7.410	34.151	4.68	15.64	100.44
3	1.341		5.672	32.166	9.93	0	44.64
4	1.598		3.315	35.301	0.72	0	11.16
6	6.298	1.511	1.823	41.186	3.24	1.84	18.6
7	7.180	4.445		33.743	9.72		8.68
10	12.631	2.233		44.517	4.32	0.92	12.4
13	9.479	6.099		36.737	4.68	1.84	9.92
16	7.397	9.396		32.099	4.32		17.36
20	9.215	12.037		25.099	5.76	0.92	18.6
24	8.161	18.047		14.920	3.96	1.04	13.64
28	10.592	21.912		10.291	3.6		17.36
34	11.996	21.815		18.385	7.2	1.84	11.16
45	21.892	26.950			5.4		14.88
54	3.189	1.721		0.336	2.16	0	14.88
61	29.054	15.142		1.679	5.4		21.08

SACCHAROSE

1.3 mS/cm

incubation en jours	P(atm) lue	T °C	Eh lu mV	Eh cor. mV	pH
1	0	21.2	213.50	435.70	6.32
2	0	20.8	22.60	244.80	6.69
3	0	20.9	13.60	235.80	6.58
4	0	22.2	-499.00	-276.80	6.42
6	0.16	23.8	-536.00	-313.80	5.95
7	0.23				
10	0.25	14.4	-520.00	-297.80	6.02
13	0.37	18.2	-537.00	-314.80	5.66
16	0.51	21.2	-545.00	-322.80	5.93
20	0.59	21.1	-546.00	-323.80	5.92
24	0.29	20.9	-534.00	-311.80	5.94
28	0.5	10.9	-533.00	-310.80	5.80
34	1.05	15	-482.00	-259.80	5.71
45	1.1	15.6	-518.00	-295.80	5.58
54	1.12	21	-516.00	-293.80	5.51
61	0.45	22.1	-514.00	-291.80	5.50

incubation en jours	CO2 mmol/l	H2 mmol/l	O2 mmol/l	N2 mmol/l	NH4+ mg/l	NO2- mg/l	NO3- mg/l
1	0,588		10.066	39.361	7,92	9.2	111
2	0.903		7,744	35.430	6,84	13.8	93
3	1.287		5,430	32.628	6.12	14.72	80.6
4	1.980		2.917	38,930			
6	6.472	1,491	1,657	38,164			
7	7,192	1,770		42,890	4,68		39,68
10	9,687	2,346		45,258	4,68	0,92	18,6
13	11,260	6,681		44,923	4,32	0,92	17,36
16	7,485	7,467		28,101	5,04		23,6
20	7,842	16,063		22,416	5,4		18,6
24	8,203	18,036		12,036	3,960	2,76	13,64
28	9,548	20,203		13,268	3,6	0	17,36
34	16,352	20,683		10,106	1,08	1,84	13,64
45	21,265	21,076		2,650	3,6	4,61	9,92
54	8,675	7,309		1,007	4,32		23,56
61	25,124	21,507		3,693	4,68	0	14,88

SACCHAROSE

10 mS/cm

incubation en jours	P (atm) lue	Eh lu mV	Eh corr. mV	pH
1	0	227.50	449.70	6.62
2	0	225.00	447.20	6.76
3	0	56.40	278.60	6.55
4	0	-320.50	-98.30	6.52
6	0.1	-521.00	-298.80	5.87
7	0.31	-533.00	-310.80	5.77
10	0.2	-521.00	-298.80	5.92
13	0.35	-530.00	-307.80	5.73
16	0.22	-536.00	-313.80	5.92
20	0.6	-533.00	-310.80	5.88
24	0.79	-537.00	-314.80	5.87
28	1.05	-534.00	-311.80	5.63
34	0.45	-519.00	-296.80	5.63
45	1.06	-511.00	-288.80	5.36
54				
61	1.18	-522.00	-299.80	5,48

incubation en jours	CO2 mmol/l	H2 mmol/l	O2 mmol/l	N2 mmol/l	NH4+ mg/l	NO2- mg/l	NO3- mg/l
1	0.522		8.795	35.481	7.56	7.36	117.8
2	0.888		8.568	38.991	4.32	16.56	112.84
3	1.464		6.275	35.853	9.95	0	54.56
4	2.012		4.150	47.019	10.44	3,68	32.24
6	5.485	1.272	1.574	34.966	9.72	0	17.36
7	7.273	4.309		33,493	3.42	1,38	15.5
10	7.523	1.679		32.056	9.72		12.4
13	11.291	5.284		41.693	4.68	0.92	12.4
16	6.137	7.174		31.255	1.8	0.92	22.32
20	9.342	10.833		27.856	3,96	0	19.8
24	8.350	11.491		24.197	4,68	0	17.36
28	14.169	23.418		4,700	3,96	0	14.88
34	12.434	23.587		5.619	5,4	1.84	14.88
45	50.586	22.527		2.350	3,6	2,76	12,4
54							
61	23.580	25.346		3.693	6,13		16,12

CELLULOSE

1.3 mS/cm

incubation en jours	P (atm) lue	T °C	Eh lu mV	Eh corr. mV	pH
1	0	26.2	313	535	7.07
2	0	9.6	279	501	7.16
3	0	13.9	274	496	7.07
4	0	10.7	270	492	7.01
5	0	14.1	325	547	6,94
6	0	20.0	237	459	6,98
7	0	14.4	246	468	7,04
10	0	11.9	223	445	6,98
13	0	11.0	262	484	6,96
16	0	15.8	240	462	6,96
20	0	17.1	230	452	6,88
24	0	13.7	235	457	6,91
28	0	15.3	115	337	6,99
34	0	11.4	173	395	6,96
45	0	13.9	157	379	6,97
54	0	13.1	152	374	6,96
61	0.05	14.1	-450	-228	6,77

incubation en jours	CO2 mmol/l	H2 mmol/l	O2 mmol/l	N2 mmol/l	NH4+ mg/l	NO2- mg/l	NO3- mg/l
1	0.456		9.080	34.568	3.49	7,63	158
2	0.669		8.853	35.780	3,24	0,27	168.02
3	0.808		7.765	32.930	4,17	9,84	152.5
4	0.615		6.827	32.547	2,92	12,78	142.6
5	0,454		7.338	31.685			
6	1,150		5.962	38.615	3,3	14,44	115.94
7	1,460		4.794	38,474	2,99	20,79	120.03
10	1,592		5.176	43.285	4,82	16,28	117,06
13	1,894		2.843	45.470	3,49	24,47	89,4
16	1,433	0,044	2.379	31.720	3,31	34,96	79,85
20	1,525		1.643	32.695	3,7	23,55	76,01
24	1,478		1,489	32.062	3,06	40,48	66,96
28	1,697	1,441	0.861	32.724	3,74	23,83	73,9
34	1,856	0,038	0.245	33,809	4,39	17,57	59,64
45	2,563	0,095	0.225	33.504	2,8	16,74	49,23
54	2,134		0.000	33.621	3,49	8,65	46,5
61	2,514	1,323	0.000	41.286	3,49	0,55	11,9

CELLULOSE

5mS/cm

incubation en jours	P (atm) lue	T °C	Eh lu mV	Eh corr. mV	pH
1	0	9.5	304.9	526.9	7,18
2	0	15.2	264	486,0	7,00
3	0	11.2	270	492.0	6,90
4	0	19.7	241	463.0	7,11
5	0	14.0	250	472.0	7,16
6	0	20.2	233	455.0	6,98
7	0	15.8	235	457,0	6,99
10	0	12.3	253	475.0	6,91
13	0	11.6	264	486.0	6,90
16	0	16.9	238	460.0	6,86
20	0	19.8	233	455.0	6,82
24	0	14.7	222	444.0	6,82
28	0	15.8	163	385.0	6,85
34	0	12.7	168	390.0	6,82
45	0	14.5	135	357.0	6,89
54	0.1	13.5	-310	-88.0	6,35
61	0.15	14.6	-230	-8,0	6,32

incubation en jours	CO2 mmol/l	H2 mmol/l	O2 mmol/l	N2 mmol/l	NH4+ mg/l	NO2- mg/l	NO3- mg/l
1			8,751	33,284	3,27	1,38	142.6
2	0.788		10,993	43,996	3,27	12,97	150.66
3	1.031		8,822	37,619	3,24	11,68	148.05
4	0.891		7,094	33,738	3,42	17,57	132.4
5	0.44		8,363	35,535	4,46	6,8	107,14
6	1,004		5,457	35,639	3,06	2,48	100,81
7	1,124		4,894	35,017	3,45	25,57	115,94
10	1,625		5,202	44,932	3,38	13,98	106,51
13	1,543		3,142	35,92	3,67	42,5	62,24
16	1,488		2,615	34,673	3,13	28,15	55,3
20	1,414		2,075	32,563	3,82	34,31	78,24
24	1,599		1,464	31,847	3,78	47,47	48,98
28	1,63		0,837	30,556	3,13	22,72	54,81
34	1,936		0,464	31,869	3,64	21,8	30,75
45	2,315	0.048	0,411	37,348	3,24	4,78	16,74
54	5,542		0	41,044	6,91	2,02	11,9
61	6,778	0.019	0	43,708	2,55	1,28	10,29

CELLULOSE

10mS/cm

incubation en jours	P (atm) lue	T °C	Eh lu mV	Eh corr. mV	pH
1	0	9.1	322	544	7.14
2	0	13.7	269	491	7,01
3	0	18.8	240	462	6.93
4	0	19.4	243	465	7.11
5	0	12.0	269	491	7.06
6	0	20.2	237	459	6.98
7	0	15.3	230	452	6.88
10	0	10.6	254	476	6.89
13	0				
16	0	15.1	244	466	6.86
20	0	18.3	276	498	6.82
24	0	15.2	210	432	6,82
28	0	15.7	176	398	6.81
34	0	13.7	169	391	6.80
45	0	154.0	137	359	6.90
54	0.12	14.5	-340	-118	6.25
61	0.075	15.6	-340	-118	6,23

incubation en jours	CO2 mmol/l	H2 mmol/l	O2 mmol/l	N2 mmol/l	NH4+ mg/l	NO2- mg/l	NO3- mg/l
1	0.46		9.805	37.289	11.63	2.76	119.3
2	0.755		10.512	43.814	3,6	5.52	139.37
3	0.871		8.754	37.039	3,53	4.97	89.65
4	0.602		6.652	32.782	2.92	1,47	87.54
5			7.831	33.823			
6	0.812		5.866	33.665	3,13	13,06	57.04
7	1.605		6.335	45.625	4,68	21.16	71.92
10	1.72		4.602	44.093	3,63		77.38
13	1.418		4.42	37.26			
16	1.432		4.157	37.094	4,61	11,77	48.24
20	1.404		1.433	31.494	2,77	20,15	39.31
24	1.643		1.372	31.421	3.06	20.61	22.44
28	1.688		0.781	31.497	2.59	13.71	24.18
34	1.788		0.245	31.542	3,6	11.04	31.25
45	2.261		0	33.836	4,32	8.28	13.14
54	5.931	0.526	0	41.389	2,7	0.83	10.54
61	7.791	0,033	0	43.297	2.56	0,09	10.42

SOMMAIRE

RESUME	2
AVANT-PROPOS	3
TABLES DES MATIERES	4
INTRODUCTION	5
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	7
1 La dénitrification et les méthodes d'approche	7
2 La dénitrification et les processus d'oxydoréduction	8
MATERIEL ET METHODES	9
1 LOCALISATION DE LA ZONE D'ETUDE:	9
2 PROTOCOLE EXPERIMENTAL	10
METHODOLOGIE ANALYTIQUE	12
1 DOSAGE DES GAZ	12
2 MESURE DU pH ET DU Eh	12
3 DOSAGE DES IONS	12
4 DOSAGE DES FRACTIONS ISOTOPIQUES DE L'AZOTE	12
RESULTATS	13
1 PREMIERE EXPERIMENTATION	13
2 DEUXIEME EXPERIMENTATION	17
DISCUSSION	23
CONCLUSION	24
BIBLIOGRAPHIE	25
LISTE DES FIGURES	29
LISTE DES TABLEAUX	32
ANNEXES	33
SOMMAIRE	47