

Exemples de phénomènes de dénitrification naturelle dans les aquifères sédimentaires

Laurent Le Bideau¹.

La dénitrification naturelle dans les eaux souterraines est un processus relativement peu commun, mais qui contribue, lorsqu'elle est active, à la protection des ressources d'eau potable vis-à-vis des pollutions azotées (nitrates). En effet, les nitrates, et plus particulièrement leurs dérivés dans les organismes vivants (nitrites et nitrosamines), sont reconnus en tant que vecteurs de cancers et sont particulièrement dangereux à fortes concentrations pour les nourrissons (risque de méthémoglobinémie).

La connaissance des paramètres de fonctionnement de la dénitrification naturelle s'avère importante si l'on désire préserver le phénomène, qui présente ses spécificités, variant selon le contexte géologique et hydrogéologique local. Plusieurs études [1, 2, 3, 4] ont été menées ces dernières années afin de mieux comprendre le fonctionnement de ces mécanismes mais également pour mettre en œuvre un protocole d'étude. Les objectifs de ces études étaient de déterminer tous les paramètres de fonctionnement du phénomène et de proposer un système de gestion par rapport à l'exploitation de la nappe.

Le présent article se propose de dresser un bilan des études dans deux aquifères régionaux : les calcaires oxfordiens du Poitou-Charentes et les calcaires bathoniens de la Basse-Normandie.

Mécanismes de la dénitrification

La dénitrification, au sens strict, est la réduction du nitrate (NO_3^-) en azote gazeux (N_2). Ce phénomène, mis en évidence la première fois il y a plus de cent ans [5] et dont on peut prouver qu'il est possible thermodynamiquement, mais de manière très lente et sous certaines conditions, est essentiellement dû à la présence de bactéries dénitrifiantes. Pour que l'équation soit chimiquement équilibrée, une molécule doit être oxydée, la réaction complète étant une oxydo-réduction.

Deux familles de bactéries dénitrifiantes peuvent être distinguées en fonction de l'élément oxydé :

- les bactéries chimiohétérotrophes oxydant un substrat organique ; ce sont les genres *Pseudomonas* et *Azotobacter*. Nous rencontrons ce mécanisme dans les milieux riches en matière organique (ex : tourbes). L'équation globale est :
$$4 \text{NO}_3^- + 5/6 \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 4 \text{H}^+ \rightarrow 2 \text{N}_2 + 5 \text{CO}_2 + 7 \text{H}_2\text{O}$$
- les bactéries chimioautotrophes oxydant un substrat

minéral ; ce sont les genres *Thiobacillus*, *Ferrobacillus*. L'équation globale est :
$$14 \text{NO}_3^- + 5 \text{FeS}_2 + 4 \text{H}^+ \rightarrow 7 \text{N}_2 + 10 \text{SO}_4^{2-} + 5 \text{Fe}^{2+} + 2 \text{H}_2\text{O}$$

Ce deuxième cas, utilisant les sulfures de fer (ex : pyrite : FeS_2) est celui décrit dans le présent article². Il se produit indifféremment dans les formations cristallophylliennes [6] ou sédimentaires [1].

La condition d'apparition de la dénitrification est l'absence ou la présence de faibles proportions d'oxygène dissous dans l'eau du milieu de culture. En effet, les souches telles que *Thiobacillus* et *Micrococcus* sont anaérobies facultatives ; elles utilisent l'oxygène comme oxydant lorsque celui-ci est en quantité suffisante, et n'utilisent l'oxygène de l'ion nitrate qu'en condition d'anaérobiose. L'oxydation par O_2 nécessite moins d'énergie que l'oxydation par NO_3^- . Le pH optimal de développement des souches dénitrifiantes est proche de la neutralité ; en-dessous de $\text{pH} = 6$, l'activité microbienne décroît rapidement. La température optimale de dénitrification est variable selon la souche considérée, mais on note, en règle générale, qu'en-dessous de 3°C , il y a cessation du phénomène. Enfin, sous de fortes concentrations, les nitrites sont des éléments toxiques pour les bactéries dénitrifiantes.

Dénitrification dans les calcaires oxfordiens du nord de Loudun (86)

Constat

Le site d'étude est localisé sur la commune de Beuxes, au nord de Loudun. La figure 1 consigne la coupe géologique, orientée Sud-Nord, le long de laquelle se produit le mécanisme dénitrifiant. L'ancien captage de Beuxes (noté A.C), qui exploite les eaux des calcaires oxfordiens et des sables ferrifères du Cénomani basal, a montré des concentrations croissantes en nitrate, dépassant régulièrement 100-120 mg/l dès le début des années 90. Un nouveau forage d'exploitation (N.C) a ensuite été réalisé dans la partie aval de la nappe (à 1 200 mètres du premier captage) ; l'eau captée s'est alors avérée totalement exempte de nitrate ($< 0,1 \text{ mg/l}$).

Cette disparition de l'ion nitrate s'accompagne d'une augmentation de la concentration en fer et en

1. Société Terre et Habitat, 66 rue de Nantes, 44320 Arthon-en-Retz.

Tél/fax : 02 40 21 30 23. Courriel : terre-habitat@wanadoo.fr

2. Nous remercions la société SOGREAH Consultants pour avoir autorisé l'utilisation des résultats des études.

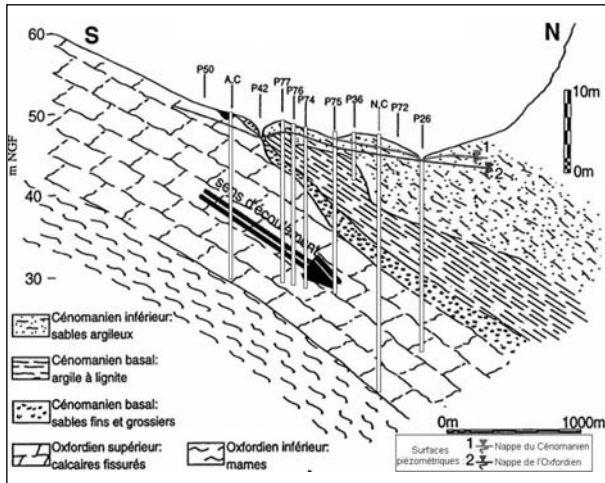


Figure 1. Coupe géologique du site de Beuxes.

sulfate ainsi que de la diminution de l’oxygène dissous. Outre ces variations de composition chimique, la principale différence entre les deux captages est d’ordre lithologique ; elle se manifeste, dans le nouveau captage, par une couche d’argile recouvrant l’aquifère exploité. La nappe des calcaires y est donc captive, alors qu’elle est libre dans l’ancien captage.

Méthode d’étude

Plusieurs piézomètres (voir figure 1) ainsi qu’une source existante (P42) ont été suivis afin de tenter de positionner l’apparition du phénomène le long de l’écoulement souterrain. Parallèlement, des échantillons des terrains ont été prélevés par carottage pour la réalisation d’analyses pétrographiques et mise en culture bactériologique des terrains.

Chimie des eaux

Un suivi chimique a été réalisé sur les huit points du profil d’étude, dans le sens de l’écoulement souterrain³ ; les valeurs moyennes permettent de distinguer deux types de comportements des éléments analysés (Tabl. 1) :

- le premier ensemble d’éléments, regroupant le pH, le TAC⁴, HCO³⁻, Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, K⁺, et le Cl⁻, ne montre pas d’évolutions significatives en fonction de la distance ;
- le second ensemble regroupant NO³⁻, O₂, SO₄²⁻, Fe²⁺ et NH₄⁺ est caractérisé par des évolutions très nettes dans les 200 mètres qui suivent la mise en captivité de la nappe (Fig. 2). La disparition du nitrate est totale à partir du point P76. Elle commence légèrement avant le point P42. Les évolutions de l’oxygène dissous, du sulfate et du fer sont également fortement liées à la mise en captivité de la nappe. Ces évolutions sont rapides, entre 400 et 700 m après l’ancien captage (A.C), et stagnent au delà de 700 m car l’ensemble du nitrate a été consommé. L’augmentation de la concentration de l’ion ammonium (NH₄⁺) est liée au fait que les conditions réductrices régnant dans la partie captive sont compatibles avec sa stabilité.

La présence de dégagements gazeux quasi-continus a été constatée sur les points P42 (source de Maumont) et P73 (mare situé à une distance équivalente au point P74), c’est à dire dans la partie captive de la nappe. La composition de ces gaz a été analysée et comparée à celle de l’air ambiant. Les mesures montrent une augmentation notable du pourcentage d’azote en relation avec la captivité (Tabl. 2). Les teneurs en azote dans les gaz analysés passent de 79,5% (dans l’air) à 98% (P73).

Points :	A.C.	P42	P77	P76	P74	P75	N.C	P26
Distance/A.C (m) :	0	450	575	660	750	875	1 200	1 630
pH	7,3	7,38	7,37	7,73	7,42	7,54	7,5	7,47
Oxygène dissous (mg/l)	8,9	9,0	3,6	2,8	1,3	1,3	1,6	1,1
HCO ³⁻ (mg/l)	278	282	300	299	294	303	312	271
Calcium (mg/l)	130	130	154	145	132,0	126,0	120	131,0
Magnésium (mg/l)	5,6	4,1	4,4	4,7	5,0	7,0	7,3	12,4
Sodium (mg/l)	15	9,5	10,0	10,0	10,0	10,0	12,4	20,0
Fer total (mg/l)	0,012	0,03	0,22	0,83	1,23	0,56	1,15	1,44
Potassium (mg/l)	3,4	2,8	3,1	3,5	5,0	3,2	2,5	3,6
Chlorure (mg/l)	31,7	37,6	29,8	30,0	30,2	30,5	29,5	30,8
Sulfate (mg/l)	5,7	17,0	51,0	106,0	101,0	95,0	67,0	112,0
Ammonium (mg/l)	0,0	< 0,01	< 0,01	0,04	0,06	0,05	0,04	0,17
Nitrates (mg/l)	96,0	63,0	32,0	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 0,2

Tableau 1. Chimie des points du profil d’étude.

3. Les distances sont exprimées par rapport à l’ancien captage (A.C) situé en partie libre de la nappe.

4. Titre alcalimétrique complet ; teneur en hydroxydes, carbonates et hydrogencarbonates alcalins et alcalino-terreux.

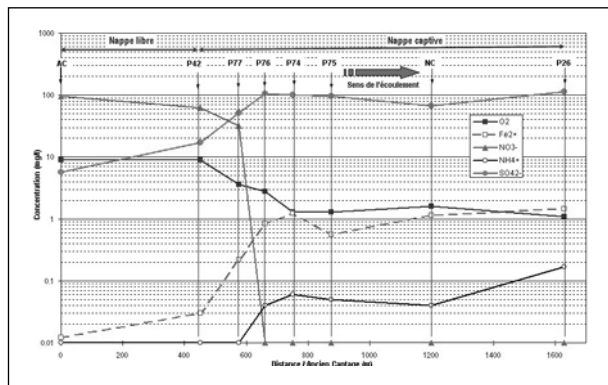


Figure 2. Évolution de la chimie des eaux le long de l'écoulement.

Échantillon	Air	P42	P73
Distance/début captivité	---	~50 m	> 750 m
% N ₂	79,5	84,3	98,0
% O ₂	20,5	15,7	2,0

Tableau 2. Évolution des compositions des dégagements gazeux.

Analyse bactériologique

Des extraits des échantillons des forages P76 et P77 ont été mis en culture afin de mettre en évidence la présence de la souche bactérienne *Thiobacillus denitrificans*. Le milieu de culture a été élaboré à partir de celui indiqué par Chantereau [7]. Après deux semaines d'incubation, des phénomènes sont observables dans les tubes anaérobies (disparition totale des nitrates et forte augmentation des sulfates). Les caractéristiques des souches bactériennes observées dans les tubes à essai anaérobies sont compatibles avec *Thiobacillus denitrificans* [8, 9].

Analyse pétrographique

Les analyses pétrographiques effectuées sur les calcaires oxfordiens ont permis de mettre en évidence la présence de pyrite, qui constitue le « carburant » de la

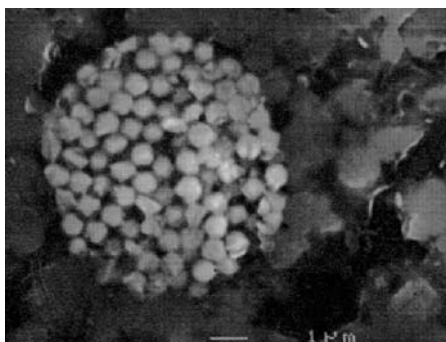


Figure 3. Framboïde de pyrite.

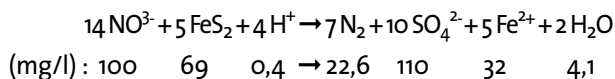
dénitrification bactérienne, soit sous forme d'amas framboïdaux dans la matrice calcaire (Fig. 3), soit présente en plaquages sur les épontes de fractures.

Les mesures montrent cependant que la porosité de la matrice calcaire (< 1 µm) est trop fine pour permettre le développement de la souche *Thiobacillus denitrificans*. La dénitrification ne peut donc se produire que dans les fissures du calcaire, qui véhiculent cependant la quasi majorité du débit souterrain. Les bactéries dénitrifiantes vivent fixées sur les épontes pyriteuses des fractures et filtrent l'eau qui y circule.

Synthèse

Le phénomène de disparition des nitrates dans la nappe oxfordienne de Beuxes est donc dû à un mécanisme de dénitrification naturelle. L'apparition du processus bactérien est due à la mise en captivité de la nappe sous les argiles cénomaniennes, qui engendre la chute de la concentration en oxygène dissous. La souche impliquée est *Thiobacillus denitrificans* ; elle utilise le substrat pyriteux des fissures des calcaires oxfordiens pour réduire le nitrate en azote gazeux.

Le phénomène engendre la production de fer ferreux (Fe²⁺), de sulfates (SO₄²⁻) selon la formule suivante [10] :



Les rapports stœchiométriques montrent que pour 14 molécules de nitrates, 5 molécules de pyrite sont utilisées. Considérant les masses molaires des molécules et une concentration moyenne en nitrates de 100 mg/l, la réaction produirait 110 mg/l de sulfates et 32 mg/l de fer ferreux. Les concentrations en sulfates observées à l'aval du profil d'étude (P26 = 112 mg/l) sont cohérentes avec la théorie, contrairement au fer ferreux (P26 = 1,4 mg/l). Ceci signifie que le sulfate ne reprécipite pas dans la zone captive et que le fer ferreux reprécipite au sein de l'aquifère oxfordien sous forme d'oxy-hydroxydes de fer.

Enfin, le couplage de la vitesse moyenne effective d'écoulement de la nappe (Ve = 0,864 m/j), et des diminutions de concentrations du nitrate entre les points permet de calculer une vitesse moyenne de dénitrification. Celle-ci est de 0,33 mg/l⁻¹/jour.

Dénitrification dans les calcaires bathoniens de Saint-Pierre-sur-Dives (14)

Constat

De fortes variations des concentrations en nitrates ont été remarquées parmi les ouvrages captant les eaux du Jurassique moyen (Dogger) de la région de Saint-Pierre-sur-Dives⁴. Ainsi, les concentrations en nitrates peuvent atteindre plus de 70 mg/l pour chuter brusquement à moins de 1 mg/l sur des ouvrages distants en aval de moins d'un kilomètre.

La nappe concernée est celle des calcaires oolithiques (oolithe miliaire) du Bathonien et constitue la ressource principale de la région. S'écoulant du sud-ouest vers le nord-est (Fig. 4), elle est limitée à la base par les schistes de l'Ordovicien, libre dans sa majeure partie, et devenant captive vers l'est sous les marnes calloviennes. La nappe des calcaires se divise également en deux sous-aquifères, séparés par une couche marneuse incluse dans les calcaires du Bathonien supérieur. La nappe inférieure devient ainsi captive ou semi-captive.

Variation chimique des eaux

Une campagne physico-chimique a été réalisée sur les piézomètres et forages accessibles du bassin versant d'étude. Pour les **nitrates** (Fig. 5), un gradient de disparition de -8 mg/l/km est constaté à partir de l'apparition de l'horizon marneux jusqu'à la courbe « 0 mg/l ». Pour l'**oxygène dissous**, la mise en captivité de la nappe bathonienne génère sa disparition, avec un gradient de diminution est d'environ -7 mg/l/km, à partir de la présence de l'horizon marneux. Pour les **sulfates** (Fig. 6), le gradient est positif, contrairement aux nitrates, il est d'au moins +10 mg/l/km à partir de l'horizon marneux. Le calcium, le magnésium, le potassium, et le sodium évoluent très peu ; la répartition des concentrations est différente de celles observées pour le nitrate ou le sulfate.

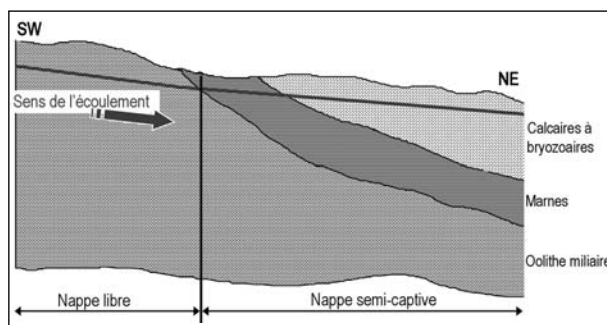


Figure 4. Coupe géologique du site de Saint-Pierre-sur-Dives.

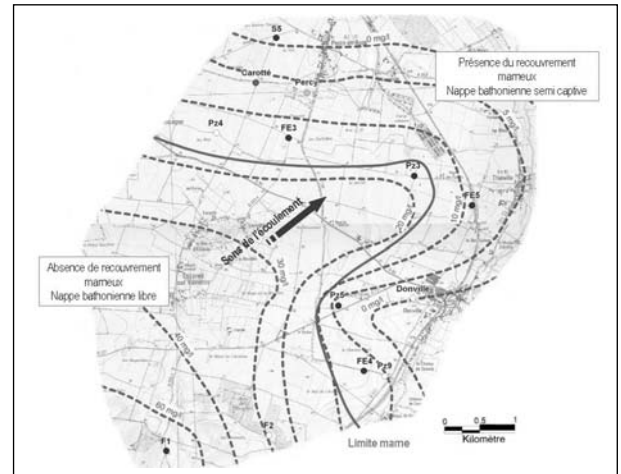


Figure 5. Répartition spatiale des concentrations en nitrates.

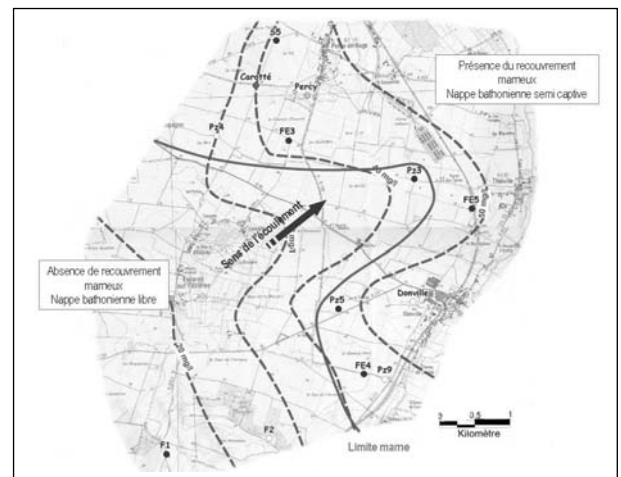


Figure 6. Répartition spatiale des concentrations en sulfates.

Étude bactériologique et pétrographique

La mise en culture, en laboratoire, de carottes de calcaire a permis de mettre en évidence la présence de bactéries dénitrifiantes ; il s'agit majoritairement du type *Thiobacillus denitrificans*. D'autre part, les observations en microscopie optique ont montré la présence de pyrite mais également de matière organique. Les pyrites de plus grosse taille sont localisées entre les oolithes, dans la matrice, mais également en plus petite taille au sein même des oolithes (Fig. 7). Les quantifications donnent entre 0,7 et 1,7% (pondéral) de matière organique. Par contre, les teneurs en pyrite sont inférieures ou proches de 0,5%.

Synthèse

L'expression de l'équation théorique de la dénitrification naturelle, en utilisant les masses molaires

4. Cette étude a été financée par le Conseil général du Calvados.

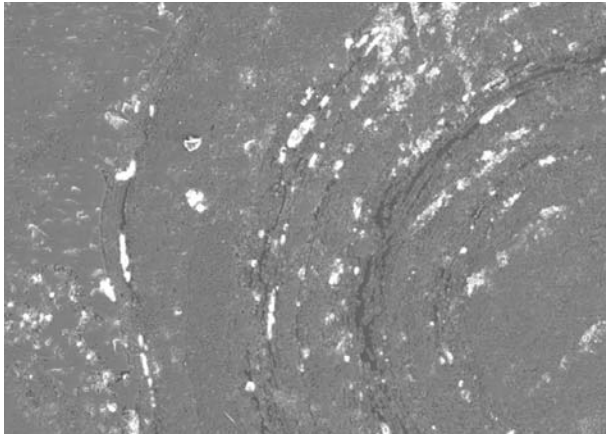
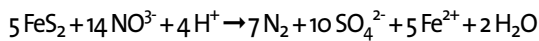
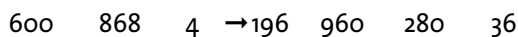


Figure 7. Présence de pyrite (en clair) dans les oolites.

respectives de chacun des éléments donne :



En masse (g) :



La réduction de 868 g de nitrate génère 960 g de sulfates, le rapport $[\text{NO}_3^-]/[\text{SO}_4^{2-}]$ est de 1,1. Ce rapport est proche du rapport des gradients de concentrations (en valeurs absolues) observé à l'aide des cartes :

$$\frac{\vec{I}_{\text{SO}_4}}{\vec{I}_{\text{NO}_3}} = 1,2$$

Le phénomène est donc bien dû à un mécanisme de dénitrification naturelle, utilisant un substrat pyriteux. Ce phénomène apparaît à l'occasion de la mise en semi-captivité de la nappe bathonienne sous un horizon marneux intermédiaire.

Conclusions

Les phénomènes dénitrifiants décrits précédemment assurent une protection efficace des aquifères contre les invasions nitratées. Le facteur déclenchant est la mise en captivité de la nappe sous des formations argileuses, pour autant que le carburant (sulfure de fer) soit présent en quantité suffisante.

Trois conditions peuvent atténuer ou faire disparaître le phénomène :

- la baisse de la nappe provoquant un décalage de la zone captive vers l'aval hydraulique, induisant des entrées potentielles d'oxygène dans la nappe et donc également un décalage vers l'aval du phénomène dénitrifiant ;
- l'augmentation des vitesses de percolation de la nappe par augmentation du gradient hydraulique (cas d'une surexploitation de la nappe). Si la vitesse de percola-

tion devient trop importante par rapport à la vitesse de dénitrification, des risques d'atténuation des effets sont possibles ;

- la consommation totale du carburant pyriteux par les bactéries. Les calculs effectués dans les études précédentes montrent que le phénomène est susceptible d'entraîner des perturbations pendant plus centaines d'années encore. Cependant, la prévention étant préférable au traitement, même naturel, il serait souhaitable de réduire les intrants nitrates, par des actions de cultures raisonnées sur le bassin versant libre, ce qui permettra d'économiser le carburant source de la dénitrification.

Bibliographie

- [1] Le Bideau L., 1996 : Mécanismes de dénitrification de la nappe de l'Oxfordien supérieur au droit du site de Beuxes (Vienne). Thèse 3^{ème} cycle, Poitiers, 329 p.
- [2] SOGREAH Ingénierie, 1996 : Étude des mécanismes de dénitrification de la nappe du Jurassique supérieur sur le site de Beuxes-Comprigny (86). Rapport phase 3, n° 100145.R3, novembre 1996.
- [3] SOGREAH Ingénierie, 1998 : Étude du phénomène de dénitrification naturelle dans la craie sénonienne à l'ouest de Béthune (62). Étude réalisée pour le syndicat mixte pour le schéma directeur de l'arrondissement de Béthune. Rapport n° 100550.R3, septembre 1998.
- [4] SOGREAH Consultants, 2000 : Étude des mécanismes de dénitrification naturelle de l'aquifère bathonien dans la région de Saint-Pierre-sur-Dives (14). Étude pour le Conseil général du Calvados. Rapport phase 3, n° 100641.R3, avril 2000.
- [5] Deherain P.-P., Maquenne L., 1882 : Sur la réduction des nitrates dans la terre arable. C.R. Acad. Sci., 95, 691-693.
- [6] Touchard F., 1999 : Caractérisation hydrogéologique d'un aquifère en socle fracturé : site de Ploemeur (Morbihan). Thèse 3^{ème} cycle, 1999, Univ. Rennes 1, 297 p.
- [7] Chantereau J., 1980 : Corrosion bactérienne. Bactéries de la corrosion. Coll : Techniques et documentation, 262 p.
- [8] Beijerinck M. W., 1904 : Phénomènes de réduction produits par les microbes. Arch. Néerland. Sci. Exactes et Naturelles, 2, 9, 131-157.
- [9] Baalsrud K., Kaalsrud K. S., 1954 : Studies on *Thiobacillus denitrificans*. Archiv. für Mikrobiologie, 20, 34-62.
- [10] Kölle W., Strebel O, Bottcher J., 1985 : Formation of sulfate by microbial denitrification in a reducing aquifer. Water Supply, Berlin, Vol 3, B, 35-40.
- [11] Faillat J.-P., Somlette L., Sicard T., 1999 : Contrôles redox et hydrodynamiques des nitrates et zonation hydrochimique verticale des nappes de fissures du socle. Possibilité de généralisation. Bull. Soc. Géol. France, T. 170 n°2, 229-240.
- [12] Mariotti A., 1994 : Dénitrification *in situ* dans les eaux souterraines. Hydrogéologie 3, 43-68.