# Republique Algerienne Democratique Et Populaire الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministere De L'enseignement Superieur Et De La Recherche Scientifique

وزارة التعلم العالى والبحث العلمى

Université Ibn Khaldoun – Tiaret – Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine: "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière: "Biologie"

Spécialité: "Biodiversité Et Conservation Des Ecosystèmes Forestiers"

Présenté et soutenu publiquement par

**AZIBI FARID** 

### Thème:

# Utilisation de la Diversite des Microalgues dans l'Epuration des Eaux Useés et l'Elimination de Quelques Bactéries

Mémoire De Master En Biodiversité Et Conservation Des Ecosystèmes Forestiers

### Membres du Jury:

**Président:** OMAR Yamina MCB Faculté SNV Tiaret

**Promoteur:** MAATOUG M'hamed Pr Faculté SNV Tiaret

Co-promotrice: KHALDI Habiba Dr Faculté SNV Tiaret

**Examinatrice:** BERRIAH Mohamed MCB Faculté SNV Tiaret

Année universitaire 2016/2017





# **TABLE DES MATIERES**

Liste des Tableaux et des figures

Liste des abrevéations

Introduction

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### CHAPITRE I: STATION D'EPURATION ET LES EAUX USEES

1- Generalites sur les eaux usees	03
2- Définition des eaux usées	03
3- Origine des eaux usées	04
4- Définition d'une station d'épuration	04
5- Les grandes étapes du traitement	05
5-1- Les prétraitements.	06
5-2- Le traitement primaire	07
5-3- Le traitement secondaire	8
5-4- Traitement tertiaire	11
6- L'autoépuration	12
6-1- Définition	12
6-2- Le processus biologique de l'autoépuration	12
<b>CHAPITRE II: LES MICROORGANISMES</b>	
1- Origine des micro-organismes contenus dans les eaux usées	13
2- Types de micro-organismes contenus dans les eaux usées	13
3- Les bactéries pathogènes contenues dans les eaux usées	15
<b>CHAPITRE III: LES MICROALGUES</b>	
1- Introduction	18
2- Historique	18
3- Présentation générale des microalgues	18
4- Définition des microalgues	19
5- Le milieu de vie	20
6- Diversité et classification	21
7- Utilisation	21
7-1- Applications biotechnologiques des microalgues	22
7-2- Production des lipides	22
7-3- Alimentation animale	22

7-4- Engrais	22
7-5- Traitement des éffluents gazeux CO2.	22
7-6- Production d'énergie	23
PARTIE EXPERIMENTALE	
CHAPITRE IV : ZONE D'ETUDE	
1- Situation Géographique.	24
2- Réseau d'assainissement	25
3- Situation géographique de la station d'épuration des eaux usées de Tiaret	26
<b>CHAPITRE V: MATERIEL ET METHODES</b>	
1- Introduction	28
2- Installation du protocole expérimental.	28
3- Origine et caractéristiques des microalgues utilisées dans les bioréacteurs	29
4- L'intégration de la souche des microalgues	30
5- Prélèvement et transport des échantillons	30
6- But de la manipulation	31
7- Analyse physico-chimique	31
7-1- Le pH	31
7-2- La temperature	32
8- Analyse Microbiologique	33
9- Matériels utilisés	33
10- Milieux de culture	35
11- Méthode de dénombrement des bactéries	35
12- La dilution	35
13- Recherche et dénombrement des germes	37
14- Dénombrement des bactéries.	37
14-1- Dénombrement des <i>coliformes totaux</i> et <i>fécaux</i>	37
14-2- Dénombrement des streptocoques	37
14-3- Dénombrement des staphylococcus aureus	37
15- La préparation des milieux de culture	38
15-1- La Gélose au Tergitol	38
15-1-1- Conservation	38
15-1-2- Préparation	38
15-2- Gelose de Slanetz et Bartley	39
15-2-1- Principe.	39
15-2-2- Conservation	39

15-2-3- Préparation
15-3- Milieu de chapman
15-3-1- Principes
15-3-2- Préparation
15-3-3- Lecture
15-3-4- Coulage des boites
16- Ensemencement en surface41
17- Incubation 41
18- Lecture
19- Récapitulation
20- Calcule standard après simple comptage
21- Analyse statistique
RESULTATS ET DISCUSSION
RESULTATS
1- Le nombre de bactéries en présence de microalgues
2- Rôle de la température dans la réduction de nombre de bactéries en présence de microalgues
3- Rôle du pH dans la réduction de nombre de bactéries en présence de microalgues49
4- Statistique descriptive
DISCUSSION
Discussion
Conclusion
Références Bibliographiques 57
Résumé

# LISTE DES FIGURES

CHAPITRE I: LA STATION D'EPURATION ET LES EAUX USEES	
Figure n° 01: Nature de la pollution des eaux	04
Figure n° 02: Etapes d'une filière de traitement des eaux	05
<b>CHAPITRE III: LES MICROALGUES</b>	
Figure n° 03: Différences morphologiques entre certaines espèces de microalgues	19
CHAPITRE IV : ZONE D'ETUDE	
Figure n° 04: Situation géographique de la wilaya de Tiaret (Conservation des Foret de Tiaret, 2005)	-
Figure n° 05: Schéma directeur des principaux collecteurs de la ville de Tiaret	25
Figure n° 06: Situation géographique de la station d'épuration	26
Figure n° 07: Vue générale de la station d'épuration de Tiaret	27
Figure n° 08: Une maquette de la station d'épuration	27
<b>CHAPITRE V: MATERIEL ET METHODES</b>	
Figure n° 09: L'emplacement sur bioréacteur	28
Figure n° 10: Le bioréacteur.	29
Figure n° 11: La faune et la flore utilisée dans notre étude	30
Figure n° 12: L'intégration de la souche des microalgues	30
Figure n° 13: pH mètre muni d'une sonde de mesure	32
Figure n° 14: pH mètre muni d'une sonde de température	32
Figure n° 15: Bec Bunsen + bécher + agitateur.	33
Figure n° 16: Une pesée	34
Figure n° 17: Agitateur	34
Figure n° 18: Bain marie	34
Figure n° 19: Autoclave	34
Figure n° 20: La préparation du milieu de culture et le coulage des boites	34
Figure n° 21: Les milieux de culture déshydratés	35
Figure n° 22: La préparation de dilution	36
Figure n° 23: Le coulage des boites	41
Figure n° 24: Incubation des boites de petri	41
Figure n° 25 : le denombrement de la colonie sur boite de petri	42
Figure n° 26: Les boites utilisées durant l'expérmentation	55

### RESULTATS

Figure n° 27: résultats moyens du nombre de bactéries dans la premiere e	et la deuxième
semaine.	47
Figure n° 28: Graphe represente l'éffet du ph sur le nombre de bactèries	49
Figure n° 29: graphe represente l'éffet du pH sur le nombre de bactèries	50

# LISTE DES TABLEAUX

### **CHAPITRE II: LES MICROORGANISMES**

Tableau n° 01: Les normes de rejets
<b>CHAPITRE V: MATERIEL ET METHODES</b>
Tableau n° 03: Les germes de bactéries recherchées
RESULTATS
Tableau n° 04: Effets du facteur temps et de la nature des souches bactériennes sur le nombre des bactéries en présence de microalgues
Tableau n° 05: Effets de température sur le nombre de bactéries en présence de microalgues
Tableau n° 06: Effets du pH sur le nombre de bactéries en présence de microalgues50
Tableau 07: description statistiques des bactéries pathogènes traitées

### LISTE D'ABREVIATION

**CF**: Coliformes Fecaux

**cm**: Centimeter

CO2: Dioxyde de carbone

**CT**: Coliformes Totaux

**DBO**: Demande Biochimique En Oxygène

**DCO**: Demande Chimique en Oxygène

**FAO**: FOOD and Agriculture Organization

**HRAP:** Etang D'algues A Haut Débit

**IAPS**: Système Intégré D'étangs D'algues

**MES**: Matière En Suspension

**mL**: Millilitre

NH3: Ammoniac

**O.M.S**: Organisation Mondiale De La Santé

**pH:** Potentiel Hydrogène

**S**: Streptocoque

**SA**: Staphylococcus Aureus

**SO4:** Sulfate

**STEP**: Station De Traitement Des Eaux Polluées

**T**: Temperature

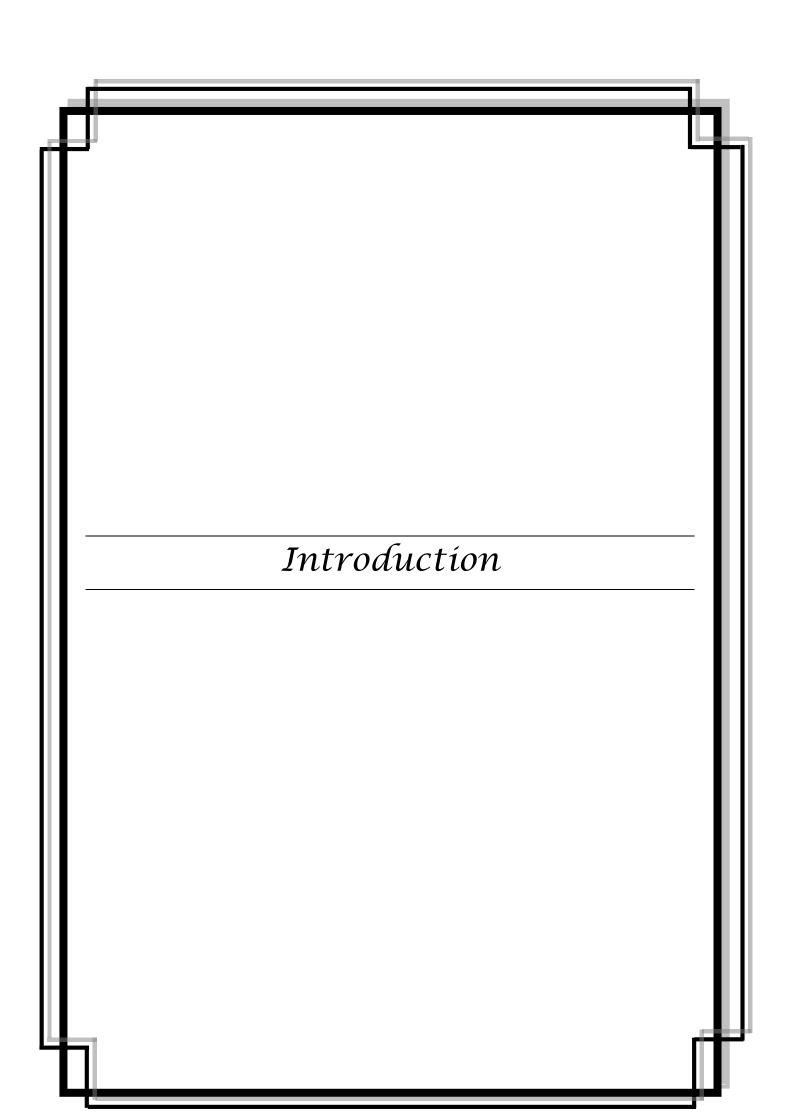
TTC: triphényl-2,3,5-tétrazolium

**UFC**: Unités Formant Colonies

**UV**: Ultraviolet

V: Volume

μL: Microlitre



### 1. Introduction

L'eau ne peut être considérée comme un simple produit commercial, elle doit être classée comme un patrimoine universel qui doit être protégé, défendu et traité comme tel. Elle est une ressource vitale pour l'homme, sa survie, sa santé, son alimentation; elle l'est également pour ses activités agricoles, économiques et la qualité de son environnement en dépend étroitement. Cependant, elle est le réceptacle universel de tout type de pollution.

Bien qu'apparemment inépuisable, l'eau est très inégalement répartie sur la planète. Tous les pays auront, à court ou à long terme, à faire face au problème de sa raréfaction. La mobilisation des eaux superficielles a été de tous les temps une préoccupation majeure des pouvoirs publics (DEVAUX, 1999; ECOSSE, 2001).

L'eau est devenue un enjeu stratégique mondial dont la gestion doit impérativement s'intégrer dans une perspective politique de développement durable. Certains affirment en effet qu'elle sera, au troisième millénaire, un enjeu de guerres comme le pétrole l'a été et l'est encore aujourd'hui (GARCIA-ARMISEN, 2006).

En Algérie, Les disponibilités en eau sont estimées à 17 milliards de m³/an dont 12 milliards de m³ dans les régions Nord (ressources souterraines 2 milliards de m³, ressources superficielles 10 milliards de m³) et 5 milliards de m³ dans le Sud. Sachant que toutes les ressources souterraines du Nord sont mobilisées en plus de 70% des ressources superficielles. Le volume annuel d'eaux usées domestiques rejetées est estimé à 800 millions m³. Ce sont des quantités importantes et facilement localisables que le pays ne peut négliger.

L'épuration des eaux usées s'est donc imposée pour préserver la qualité des milieux naturels et notamment les eaux de surface et souterraines (AMY et al, 1996).

La réutilisation des eaux usées épurées constitue en outre, une alternative aux rejets dans les milieux récepteurs qui peuvent présenter des capacités d'absorption limitées (PAPAIACOVOU, 2001).

Seulement, les techenique d'puration des eaux usées n'ont pas été suffisantes pour atteindre l'objectif de protéger l'environnement d'une manière générale et les ressources hydriques dune manière spécifique.

De ce fait, un nouvel axe de recherche est inauguré récemment devant les scientifiques donnant par conséquence l'opportunité aux humains de rectifier les erreurs

### Introduction

commises au cours de l'évolution de leur civilization: la décontamination des milieux par l'arsenal biologique.

Les microalgues sont utilisées depuis des décennies pour le traitement des eaux usées (LOPES, 2012).

Dans ce contexte, cette étude s'intéressera particulièrement à l'intégration de la culture des microalgues aux stations de traitement d'eaux usées pour observer l'éffet de ces dernières sur quelques bactéries pathogènes et mettre en valeur leur pouvoir épurateur.

Ce travail a pour but d'étudier la possibilité d'utiliser des micros algues, placées dans un bioréacteur des eaux usées brutes de la STEP. L'objectif est de quantifier quelques bactéries pathogènes à savoir: (Coliformes totaux, Coliformes fécaux, Bactéries Thermo tolérantes et Staphylococcus aureus) à fin de valoriser cette diversité biologique des microalgues dans le domaine d'épuration des eaux usées, dans une perspective d'utilisation en irrigation

A fin de suivre les effets du traitement, des eaux usées par le biais des microalgues, différentes analyses ont été menées dans le temps. Les analyse microbiologiques sont des paramètres majeurs jouant sur l'efficacité d'épuration du système : on a entre autres étudié l'effet de la température interne et le pH des eaux usées qui se trouve au niveau du bioreacteur.

- La partie bibliographique est composée essentiellement de trois chapitres:
- Le premier chapitre traite les stations d'épuration et les grandes étapes du traitement des eaux usées.
- Le deuxième chapitre est consacré aux types de micro-organismes contenus dans les eaux usées et leurs origines
- -Le troisième chapitre s'étale sur les microalgues leur origine, définition, classification, historiques et leur utilisation.
- La partie expérimentale comprend deux paties: La zone d'étude et matériel et methodes.

Enfin, nous terminons notre étude par une conclusion générale où sont récapitulés les principaux résultats obtenus.



# Chapitre I Station D'épuration et Eaux Usées

### 1- Généralités sur les eaux usées

Les eaux résiduaires fraîches ont un aspect liquide brun gris avec une odeur typique, mais faible. Durant leur transport, ces eaux se modifient d'autant plus vite que la température est élevée; elles deviennent noires et dégagent une odeur d'œufs pourris, signe de la présence d'hydrogène sulfureux (H2S), dangereux pour les égoutiers et corrosifs pour le béton et les aciers des égouts. Environ un tiers des matières contenues est en suspension, le reste est en solution (DJERMAKOYE, 2005).

### 2- Définition des eaux usées

Les eaux usées sont toutes les eaux qui parviennent dans les canalisations d'eaux usées dont les propriétés naturelles sont transformées par les utilisations domestiques, les entreprises industrielles, agricoles et autres. On englobe, aussi, les eaux de pluie qui s'écoulent dans ces canalisations (BLIEFERT et PERRAUD, 2001).

Les eaux usées sont des milieux extrêmement complexes, altérées par les activités anthropiques à la suite d'un usage domestique, industriel, artisanal, agricole ou autre. Elles sont considérées comme polluées et doivent être donc traitées avant toute réutilisation ou injection dans les milieux naturels récepteurs (SELGHI, 2001).

C'est pourquoi, dans un souci de respect de ces différents milieux naturels récepteurs, des traitements d'abattement ou d'élimination de ces polluants sont effectués sur tous les éffluents urbains ou industriels. Ces traitements peuvent être réalisés de manière colléctive dans une station d'épuration ou de manière individuelle également par des procédés intensifs ou extensifs (PAULSRUD ET HARALDSEN, 1993).

La pollution de l'eau s'entend comme, une modification défavorable ou nocive des propriétés physico-chimiques et biologiques, produite directement ou indirectement par les activités humaines, les rendant impropres à l'utilisation normale établit.

Les eaux usées sont toutes les eaux des activités domestiques, agricoles et industrielles chargées en substances toxiques qui parviennent dans les canalisations d'assainissement. Les eaux usées englobent également les eaux de pluies et leurs charges polluantes, elles engendrent au milieu récepteur toutes sortes de pollution et de nuisance (DUGNIOLLE, 1980; GLANIC et BENNETON, 1989).

### 3- Origine des eaux usées

Selon Eckenfelder, (1982) in DJEDDI, (2011) les eaux usées proviennent de quatre sources principales:

- 1- Les eaux usées domestiques;
- 2- Les eaux usées industrielles;
- 3- Les eaux de pluie et de ruissellement dans les villes;
- 4- Le ruissellement dans les zones agricoles.

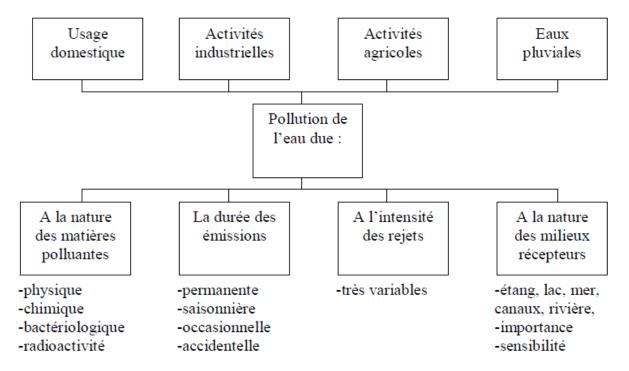


Figure n° 1: Nature de la pollution des eaux in DJEDDI, 2011.

### 4- Définition d'une station d'épuration

Elles constituent une autre voie d'élimination des eaux usées dans la mesure où celles - ci y subissent toute une batterie de traitements avant leur déversement dans le milieu naturel. Une STEP, généralement placée à l'extrémité avale d'un réseau est conçue pour épurer les eaux usées et limiter l'apport en excès de matière organique et dans certains cas, de substances minérales telles que les nitrates et les phosphates dans les milieux récepteurs, sachant que certaines substances contenues dans un effluent, à partir d'une certaine concentration, peuvent constituer un danger pour la communauté aquatique. L'épuration des eaux usées diminue l'impact sur les écosystèmes aquatiques (BRIÈRE, 1994).

### 5- Les grandes étapes du traitement

Suivant son origine la composition d'une eau usée est très diversifiée, chaque installation est par conséquent désigner pour répondre à un besoin spécifique. Les technologies utilisées se développent et se perfectionnent constamment par la recherche de technologies ou de procédés nouveaux et par la mise en place de nombreux automatismes pouvant diminuer efficacement la dégradation environnementale de ressources précieuses en eau et détruire les agents pathogènes humains potentiels (PRESCOTT et al 2007). Les quatre étapes principales du traitement sont détaillées sur la figure 02 et décrites dans les paragraphes suivants:

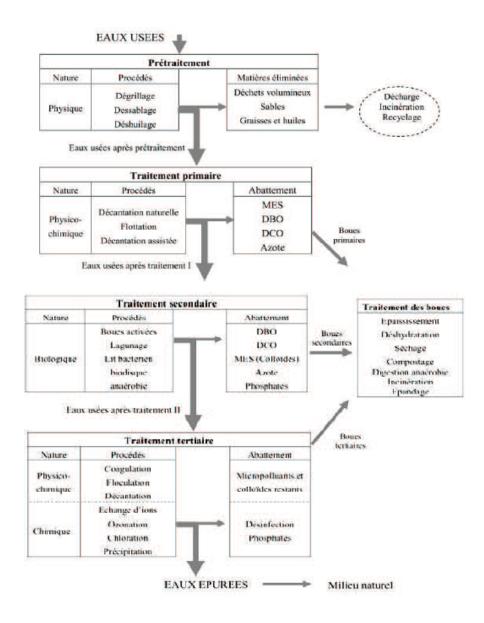


Figure n° 2: Etapes d'une filière de traitement des eaux (HADJ-SADOK, 1999 ; in ATAB, 2011).

### 5-1- Les prétraitements

La première procédure du traitement s'agit de débarrasser les effluents de tout élément susceptible de gêner le fonctionnement des ouvrages (GROSCLAUDE, 1999).

Cette étape de traitement permet d'éliminer les matières les plus grossières, susceptibles d'endommager les organes mécaniques ou de perturber l'efficacité des étapes ultérieures. Ils font appel:

• A des procédés mécaniques, comme des grilles ou des tamis, pour éliminer des grosses particules transportées par les eaux (REJSEK, 2002). Tout d'abord les gros déchets sont éliminés par un dégrilleur constitué de barreaux espacés de 10 à 50 mm suivi d'un dégrilleur plus fin (3 à 10 mm) ou d'un tamisage (0,1 à 3mm) (GROSCLAUDE, 1999).

### 5-1-1- Dégrillage

Le dégrillage et le tamisage ont pour but de retirer de l'eau les déchets insolubles tels que les branches, les plastiques, serviettes hygiéniques, etc. En effet, ces déchets ne pouvant pas être éliminés par un traitement biologique ou physico-chimique, il faut donc les éliminer mécaniquement. Pour ce faire, l'eau usée passe à travers une ou plusieurs grilles dont les mailles sont de plus en plus serrées. Celles-ci sont en général équipées de systèmes automatiques de nettoyage pour éviter leur colmatage, et aussi pour éviter le dysfonctionnement de la pompe (dans les cas où il y aurait un système de pompage).

Le prétraitement est poursuiver par l'élimination des particules abrasiver et denses ; cette étape est souvent couplée avec l'élimination des flottants, et en particulier des graisses, d'après l'ouvrage dégraisseur/dessableur (GROSCLAUDE, 1999). Une fois prétraitées la pollution présente dans les eaux résiduaires se compose d'une fraction de fines particules (les MES) qui n'ont pas été arrêtées par le dégrillage ou le tamisage et des molécules organiques et minérales en solution vraie ou colloïdale.

### 5-1-2- Dessablage

Le dessablage permet d'extraire les graviers, sables et autres particules minérales de diamètres supérieurs à 0,2 mm contenus dans les eaux usées, de façon à éviter les dépôts dans les canaux et conduits à protéger les pompes et les autres appareils contre l'abrasion (DEGRIMENT, 1972). L'écoulement de l'eau à une vitesse réduite dans un bassin appelé « dessabler » entraine leur dépôt au fond de l'ouvrage. Ces particules sont ensuite aspirées par

une pompe. Les sables extraits peuvent être lavés avant d'être mis en décharge, afin de limiter le pourcentage de matières organiques et sa dégradation provoquant des odeurs et une instabilité mécanique du matériau.

### 5-1-3- Déshuilage

Généralement c'est le principe de la flottation qui est utilisé pour l'élimination des huiles suivant le principe basé sur l'injection de fines bulles d'air dans le bassin de déshuilage, permettant de faire remonter rapidement les graisses en surface (les graisses sont hydrophobes). Leur élimination se fait ensuite par raclage de la surface. Il est important de limiter au maximum la quantité de graisse dans les ouvrages en aval pour éviter par exemple un encrassement des ouvrages, notamment des canalisations (BONNIN, 1977).

En règle générale, l'élimination des MES est obtenue par décantation gravitaire alors que celle de la pollution soluble subit une dégradation biologique, mais pour certaines stations d'épuration, l'élimination des MES est réalisée dans l'ouvrage du traitement biologique (GROSCLAUDE, 1999).

### 5-2- Le traitement primaire

Il consiste le plus souvent d'une décantation qui permet en deux heures d'éliminer les matières en suspension décantables. L'utilisation de réactifs chimiques pour éliminer des particules plus fines s'a un traitement physico-chimique. Ce traitement permet donc essentiellement l'élimination de la pollution particulaire et d'une partie de la pollution organique sous forme particulaire (de l'ordre de 65 à 80% de la DCO avec un traitement physico-chimique) (REJSEK, 2002).

Le traitement s'effectue par voie physico-chimique et a pour but d'extraire le maximum de matières en suspension et de matières organiques facilement décantables. Trois voies de traitement sont possibles:

- La décantation (processus physique): le principe de séparation solide-liquide est la pesanteur, les matières en suspension ou colloïdales tendent à se séparer du liquide par sédimentation ;
- La flottation (processus physique): par opposition à la décantation, la flottation est un procédé de séparation solide-liquide ou liquide-liquide qui s'applique à des particules dont la masse volumique réelle ou apparente (flottation assistée) est inférieure à celle du liquide qui les contient;

- La décantation associée à l'utilisation d'un coagulant.
- Floculant (voie physicochimique): le principe ici est de favoriser l'agrégation des molécules en suspension grâce aux techniques de coagulation et de floculation de façon à augmenter la sédimentation grâce à l'obtention de flocs plus gros. Durant la phase de traitement primaire, une quantité importante de la pollution totale est éliminée (abattement des matières en suspension pouvant atteindre 90 % et de la demande biochimique en oxygène de l'ordre de 35 % (CARDOT, 1999).

La DCO et la concentration en azote peuvent également être réduits durant cette phase de traitement. Les matières solides extraites représentent ce que l'on appelle les boues primaires (BASSOMPIERRE, 2007).

Les matières en suspension ont souvent une teneur en matière organique importante (de 70 à 90%) et une densité légèrement supérieure à celle de l'eau. Elles vont se décanter naturellement dans un décanteur primaire en 1 à 2 heures. L'eau ainsi clarifiée s'écoulera par débordement et les MES qui ont décanté au fond du bassin (boues primaires) seront extraites et envoyées vers les ouvrages de traitement des boues (GROSCLAUDE, 1999).

L'élimination des MES peut également être réalisée par flottation naturelle (particule naturellement plus légère que l'eau) ou provoquée (l'injection de microbilles d'air qui se fixent sur les particules réduit leur densité apparente).

Ce procédé appelé flottation est principalement utilisé dans le traitement des eaux résiduaires industrielles (élimination des MES sur les effluents hautement fermentescibles, ex: agroalimentaire), pour l'élimination des graisses au niveau du prétraitement, ou encore pour la concentration des boues biologiques (GROSCLAUDE, 1999).

### 5-3- Le traitement secondaire

L'élimination des matières organiques implique le recours à des traitements biologiques qui font intervenir des organismes vivants, essentiellement des bactéries (REJSEK, 2002).

Ces traitements sont basés sur la capacité des micro-organismes à oxyder la matière minérale (NH3....) et les matières constitutives de la DCO et de la DBO d'une part (aérobiose), et à réduire d'autre part les molécules comportant de l'oxygène: NO3 (anoxie), SO4 et CO2 (anaérobie). Ils vont permettre ainsi d'éliminer la pollution soluble biodégradable et une partie des MES (GROSCLAUDE, 1999).

### 5-3-1- Procédés de traitement des eaux usées (Dekhil et Zaibat, 2012)

- 1- La voie anaérobie: si les réactions s'effectuent à l' abri de l'air, en milieu réducteur. Le carbone organique, après dégradation, se retrouve sous forme de CO2, méthane et biomasse. Ce type de traitement appelé « digestion anaérobie » n'est utilisé que pour des effluents très concentrés en pollution carbonée, de type industriel (basserie, sucrerie, conserverie...).
- **2-** La voie aérobie: si l'oxygène est associé aux réactions. Cette voie est celle qui s'instaure spontanément dans les eaux suffisamment aérées. Le carbone organique se retrouve sous forme de CO<sub>2</sub> et de biomasse (DÉGRÉMONT, 1972).

L'épuration biologique des eaux usées peut être mise en ouvre dans les microorganismes se développant en suspension dans l'eau (boues activées), ou encore dans des réacteurs à biomasse fixés dans lesquels les micro-organismes se développent sur un support grossier ou sur garnissage plastique (lit bactérien) ou bien sur des disques (disques biologiques).

### 5-3-2- Traitement biologique

Enlèvement des matières organiques solubles et des matières en suspension des eaux usées traitées primaires (FAO, 2003).

Les procédés d'épuration secondaire (ou biologique) comprennent des procédés biologiques, naturels ou artificiels, faisant intervenir des microorganismes aérobies pour décomposer les matières organiques dissoutes ou finement disperses (DESJARDINS, 1997).

La dégradation peut se réaliser par voie aérobie (en présence d'oxygène) ou anaérobie (en l'absence d'oxygène).

### **5-3-2-1- Lagunage**

Est un procédé naturel d'épuration des eaux usées qui permet une séparation des élements solides de la phase liquide par sédimentation, et une épuration biologique due essentiellement à l'action des bactéries. Les bassins de lagunage sont généralement aux nombres de trois. Ils sont destinés à recevoir de l'eau, la traiter pendant un certain temps pour la restituer ensuite au milieu récepteur. Un bassin de lagunage, s'il est assez simple dans sa réalisation et dans son aspect extérieur, est en réalité un système d'épuration où entrent en jeu toute une série de processus physiques, chimiques et biologiques extrêmement complexes. Le fonctionnement repose sur la constitution d'une chaîne alimentaire complète, il est basé sur la symbiose entre de véritables êtres vivants: les algues et les bactéries. L'écosystème est très complexe car l'action des êtres vivants est dépendante de très nombreux facteurs non-maîtrisables: la température, l'ensoleillement...

### 5-3-2-2- Boues activés

Les traitements éfféctuant en station d'épuration consistent à dégrader et séparer les polluants de l'eau (particules, substances dissoutes, microorganismes) par des procédés physiques, chimiques et biologiques pour ne restituer au milieu aquatique qu'une eau de qualité suffisante au regard du milieu récepteur. Le résultat de ces opérations est la production de boues qui est le principal sous-produit du cycle de traitement de l'eau. Donc les boues d'épuration urbaines résultent du traitement des eaux usées domestiques qui proviennent de l'activité des particuliers et éventuellement des rejets industriels dans les réseaux des collectivités après avoir suivi un prétraitement obligatoire (PERNIN, 2003).

### 5-3-2-3- Lit bactérien

Le principe de fonctionnement d'un lit bactérien consiste à faire ruisseler les eaux usées, préalablement décantées sur une masse de matériaux poreux ou caverneux qui sert de support aux micro-organismes (bactéries) épurateurs. Une aération est pratiquée soit par tirage naturel soit par ventilation forcée. Il s'agit d'apporter l'oxygène nécessaire pour le maintien des bactéries aérobies en bon état de fonctionnement. Les matières polluantes contenues dans l'eau et l'oxygène de l'air diffusent, à contre courant, à travers le film biologique jusqu'aux micro-organismes assimilateurs

Le film biologique comporte des bactéries aérobies à la surface et des bactéries anaérobies près du fond. Les sous-produits et le gaz carbonique produits par l'épuration s'évacuent dans les fluides liquides et gazeux. Le rendement maximum de cette technique est de 80 % d'élimination de la DBO (BRODART et al, 1989).

### 5-4- Traitement tertiaire (Dekhi et Zaibet, 2012)

À l'issue des procédés décrits précédemment, les eaux sont normalement rejetées dans le milieu naturel. Dans le cadre d'une réutilisation des eaux usées épurées (REUE), les eaux usées nécessitent des traitements supplémentaires.

### 5-4-1- Traitement bactériologique par rayonnement UV (Dekhil et Zaibet,, 2012)

Le traitement par rayons ultraviolets utilise des lampes à mercure disposées parallèlement ou perpendiculairement au flux d'eau. Leur rayonnement s'attaque directement aux microorganismes. Ce traitement est très simple à mettre en oeuvre, car il n'y a ni stockage, ni manipulation de substances chimiques et les caractéristiques chimiques de l'effluent ne sont pas modifiées. La durée d'exposition nécessaire est très courte (20 à 30 s).

### 5-4-2- Traitement par voie physico-chimique (Dekhil et Zaibet,, 2012)

Le traitement tertiaire inclut un ou plusieurs des processus suivants:

- Désinfection par le chlore ou l'ozone (pour éliminer les germes pathogènes).
- Neutralisation des métaux en solution dans l'eau: en faisant varier de l'eau dans certaines plages, on obtient une décantation de ces polluants.

### 5-4-3- Traitement des odeurs

Pour que les mauvaises odeurs ne se répandent pas dans l'environnement de la station, les premières phases du traitement, le dégrillage, le dessablage/déshuilage et la phase anaérobie du traitement biologique sont généralement confinées dans des bâtiments plus ou moins étanches. Ce qui provoquerait des nuisances olfactives inacceptables par les riverains. Cet air nauséabond est collecté et traité. Il passe par trois tours de lavage: un d'acide sulfurique (H2SO4), un de Javel et un de soude (ALLOUCHE, 1999).

### 6- L'autoépuration

### 6-1- Définition

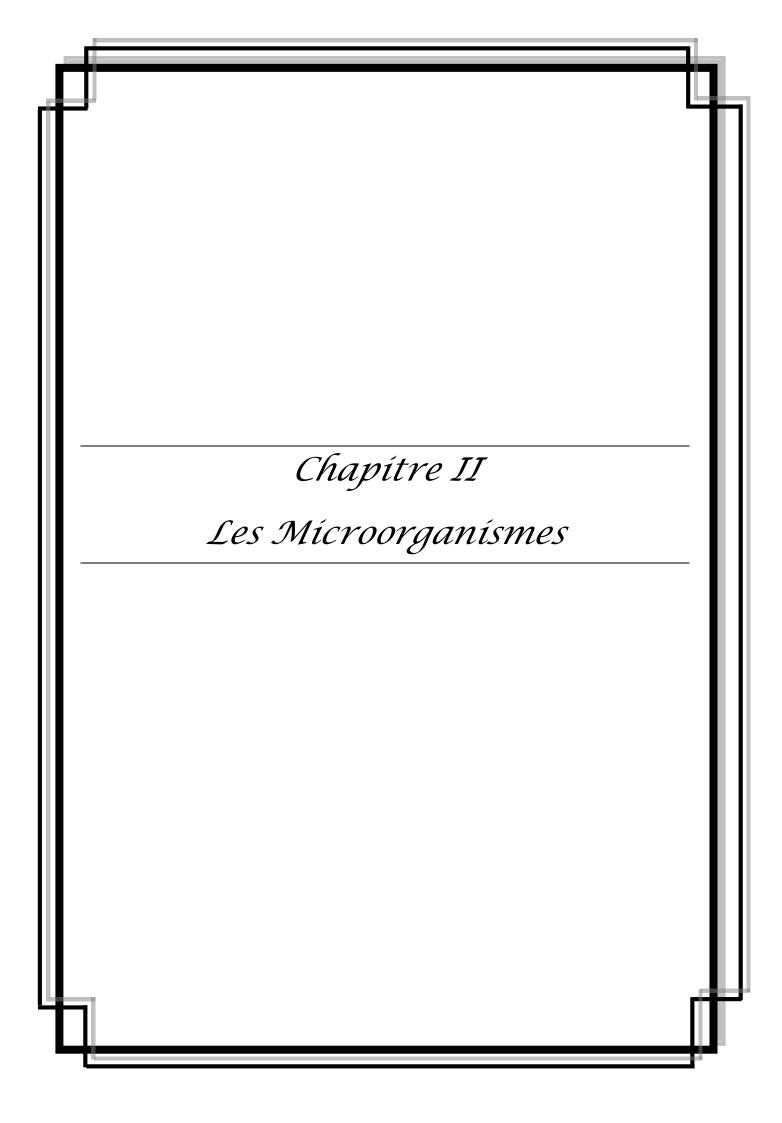
La purification naturelle est définie comme étant la somme de tous les processus physiques, chimiques et biologiques réduisant la charge et la concentration des polluants dans une masse d'eau (KUMMERT et STUMM, 1989). Son pouvoir est donc un paramètre principal pour la description de la fonctionnalité de l'écosystème.

### 6-2- Le processus biologique de l'autoépuration

L'autoépuration des écosystèmes aquatiques implique les groupes de microorganismes, phytoplanctons, les plantes supérieures, les invertébrés et les poissons. Chacun d'eux intervient dans un processus ou plus, et ils sont tous aussi importants pour le bon fonctionnement du mécanisme de l'autoépuration (OSTROUMOV, 2008).

L'assimilation des éléments nutritifs et des substances organiques dissoutes présents dans l'eau par les bactéries, les plantes et les animaux, ainsi que les processus de dilution et celui de mélange sont assignés à l'autoépuration (HEIDENWAG *et al.*, 2001).

Les cycles des éléments naturels qui sont fortement déclenchés par les activités du métabolisme microbien sont la base du potontiel biologique d'épuration. Ces processus microbiens sont une part importante du recyclage des composés chimiques dans l'environnement et sont aussi la première étape dans le milieu aquatique et d'autres chaînes alimentaires. Ainsi, le potentiel biologique de l'épuration peut être simplifié en une hydrolyse ou d'autres réactions de clivage enzymatique des substances chimiques, déclenché par des processus microbiens (LORCH, 1994).



### 1- Origine des micro-organismes contenus dans les eaux usées

Les stations d'épuration domestiques reçoivent divers influents tels que des eaux résiduelles industrielles répondant aux normes de rejet en égouts ou les eaux domestiques usées provenant des cuisines et des sanitaires.

C'est dans ces eaux de sanitaires que se concentrent la plupart des microorganisms, ils proviennent principalement des matières fécales.

### 2- Types de micro-organismes contenus dans les eaux usées

Les micro-organismes pathogènes comprennent principalement, par ordre croissant de taille: les virus, les bactéries, les protozoaires et les helminthes. Ils ont des effets divers sur la santé. Ils sont la cause d'infections bénignes comme la gastro-entérite mais aussi de maladies mortelles comme le choléra.

Les eaux usées contiennent tous les microorganismes excrétés avec les matières fécales. Cette flore entérique normale est accompagnée d'organismes pathogènes. L'ensemble de ces organismes peut être classé en quatre grands groupes : les bactéries, les protozoaires, les virus et les helminthes

### 2-1- Les bactéries

les microorganismes les plus communément rencontrés et les plus abadants dans les eaux usées sont les bacteries. Elles contiennent environ 106 à 107 bactéries/100 ml dont la plupart sont des proteus et des entérobactéries, 103 à 104 des Streptocoques et de 102 à 103 des Clostridium. La concentration en bactéries pathogènes est très variable et peut atteindre 104 germes par litre. Parmi les pathogènes les plus détectées, les Salmonelles, dont celles responsables de la typhoïde, des paratyphoïdes et des troubles intestinaux. Les coliformes thermotolérants sont des germes témoins de contamination fécale le plus souvants sont utilisés pour contrôler la qualité relative d'une eau (TOZE, 1999 ; in BELAHMADI, 2011).

En plus de ces germes, les eaux usées d'une station d'épuration contiennent des espèces autochtones considérées comme acteurs majeurs des biodégradations telles que: *Pseudomonas, Alcaligenes, Micrococcus, Flavobacterium* et d'autres (PELMONT, 2005; in BELAHMADI, 2011).

### 2-2- Les protozoaires

Les protozoaires passent par une forme de résistance Au cours de leur cycle vital, qui peuvent être véhiculés par les eaux résiduaires.

selon les conditions du milieu, ils peuvent survivre plusieurs semaines, voire même plusieurs années, ces parasites sont très persistants. (CAMPO, 2008; in BELAHMADI, 2011). Plusieurs protozoaires pathogènes ont été identifiés dans les eaux usées (GENNACCARO et al, 2003; in BELAHMADI, 2011). Parmi les plus importants du point de vue sanitaire, il faut citer *Entamoeba histolytica*, responsable de la *Dysenterie amibienne*, *Giardia lamblia* et *Cryptosporidium parvum* (TOZE, 2006; in BELAHMADI, 2011). Parmi les recherche qui ont été faitent seulement 10 à 30 kystes forment une dose suffisante pour causer des troubles sanitaires (CAMPO, 2008; in BELAHMADI, 2011).

### 2-3- Les virus

On les appele parasites intracellulaires obligatoires ou virus qui ne peuvent se multiplier que dans leur cellule hôte. dans les eaux usées urbaines leur concentration estimée est comprise entre 103 et 104 particules par litre. Il est deficile de les isolées et de les denombrées dans les eaux usée , ce qui conduit vrai semblablement à une sous estimation de leur nombre réel. Il semble que les virus soient plus résistants dans l'environnement que les bactéries, du fait qu'au cours de processus de traitement des eaux usées il faut signialer que les virus sont plus difficiles à éliminer que les bactéries classiques le plus souvant utilisées comme indicateurs de la qualité bactériologique des eaux (TOZE, 2006; in BELAHMADI, 2011).

### 2-4- Les helminthes

on les recontre beaucoup plus dans les eaux résiduaires et les eaux usées urbaines. Les helminthes sont des parasites intestinaux, , le nombre d'oeufs d'helminthes peut être évalué entre 10 et 103 germes/l. le cycles de vie des helminthes est complexes en comprenant un passage obligatoire par une hôte intermédiaire (AULICINO, 1996; in BELAHMADI, 2011). On peut observer chez certain helminthes que le stade infectieux est l'organisme adulte ou larve, alors que pour d'autres, ce sont les oeufs. Sachant que Les oeufs et les larves sont résistants dans l'environnement et le risque lié à leur présence est à considérer pour le traitement et la réutilisation des eaux résiduaires. En effet, leur reproduction est due la persistance de ces organismes à différentes conditions environnementales, ce qui constitue un risque potentiel. Les helminthes pathogènes rencontrés le plus fréquemment dans les eaux usées sont: *Ascaris lumbricades*, (CAMPO, 2008; in BELAHMADI, 2011).

### 3- Les bactéries pathogènes contenues dans les eaux usées

### 3-1- Coliformes totaux

Les coliformes totaux sont des entérobactéries qui incluent des espèces bactériennes qui vivent dans l'intestin des animaux homéothermes, mais aussi dans l'environnement en général (sols, végétation et eau). Ce groupe bactérien est utilisé comme indicateur de la qualité microbienne de l'eau parce qu'il contient notamment des bactéries d'origine fécale, comme *Escherichia coli* (CEAEQ, 2009; in BELAHMADI, 2011). Ce sont des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives, possédant l'enzyme β-galactosidase qui permet de libérer un agent chromogène utilisé dans des milieux de culture servant à les identifier (ARCHIBALD, 2000; CEAEQ, 2009b; EDBERG *et al.*, 2000; SANTE CANADA, 2012; WHO, 2011).

bactériens inclus groupe Les principaux genres dans le sont: Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella et Serratia (CEAEQ, 2009; SANTE CANADA, 2012; WHO, 2011). La presque totalité des espèces sont non pathogènes et ne représentent pas de risque direct pour la santé (EDBERG et al., 2000; WHO, 2011), à l'exception de certaines souches d'*Escherichia coli*, ainsi que de rares bactéries pathogènes opportunistes.

### 3-2- Coliformes fécaux

Les coliformes fécaux, ou coliformes thermotolérants, sont un sous-groupe des coliformes totaux capables de fermenter le lactose à une température de 44,5 °C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est l'*Escherichia coli* (*E. coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (ELMUND *et al.*, 1999; SANTE CANADA, 1991; EDBERG *et al.*, 2000).

La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des coliformes thermotolérants détectés (BARTHE *et al.*, 1998; EDBERG *et al.*, 2000). Bien que la présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs coliformes fécaux ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux enrichies en matière organique, tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de la transformation alimentaire (BARTHE *et al.*, 1998; OMS, 2000). C'est pourquoi il serait plus approprié d'utiliser le terme générique « coliformes thermotolérants » plutôt que celui de « coliformes fécaux » (OMS, 1994; ROBERTSON, 1995). L'intérêt de la détection de ces coliformes, à titre d'organismes indicateurs, réside dans le fait que leur survie dans l'environnement est généralement

équivalente à celle des bactéries pathogènes et que leur densité est généralement proportionnelle au degré de pollution produite par les matières fécales (CEAEQ, 2000). Par ailleurs, puisque les coliformes fécaux ne prolifèrent habituellement pas dans un réseau de distribution, ils sont utiles pour vérifier son étanchéité, permettant de détecter une contamination fécale découlant par exemple d'infiltrations d'eau polluée dans les canalisations (AWWA, 1990). Ils sont aussi de bons indicateurs de l'efficacité du traitement de l'eau, mais comme leur nombre est moins élevé que celui des coliformes totaux, ces derniers leur sont préférables pour cette fonction (ROBERTSON, 1995).

### 3-3- Les staphylocoques

Les staphylocoques sont des cellules sphériques de 0.5 à 25 um généralement regroupées en amas, ils sont immobiles et ne forment pas de spores ; ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs, Gram (+), catalase (+), fermentent les sucres en produisant de l'acide lactique (LECLERC et al ,1995).

L'espèce *Staphylococcus aureus* ou « staphylocoque doré » possède toutes ces caractéristiques, ajoutant à cela qu'elle est coagulase (+), il est à noter que les staphylocoques sont ubiquistes, très largement distribués dans l'environnement (LECLERC et al, 1995).

Cette famille comprend les genres suivants : *Planococcus, Micrococcus* et *Staphylococcus*. Kloos et Schleifer (1975) ont pu identifier 11 espèces au sein du genre *Staphylococcus*, en 1984, ils ont pu distinguer 19 espèces (MANUEL DE BERGEY, 1984).

La recherche des *staphylocoques* présente un intérêt pratique surtout dans les eaux destinées à la baignade (GAUJOUS, 1995 et RODI et *al*, 1996).

### 3-4- Les streptocoques

Les streptocoques constituent la famille de streptococcaceae qui regroupe des Genres très fréquents dans l'industrie alimentaire comme contaminants et surtout comme agents de fermentations lactique.

Les *streptococcaceae* sont des coques gram positif, a sporulées généralement groupées en paires ou surtout en chaîne de longueur variable, généralement immobiles. Ils sont catalase négatives, certains pédiocoques possèdent un pseudo catalase et peuvent apparaître catalase positives.

La différenciation entre genres est basée sur l'arrangement des cellules et sur le type de fermentation lactique (homo ou hétéro lactique) (GUIRAUD et GALZY, 1980 ; in Dekhil et Zaibat 2013).

## 4- Les normes de rejets selon l'OMS; 2011.

Le genre	Les normes
Les coliformes fecaux et totaux	Absence /100ml
Streptocoques fécaux	Absence /100ml
Flore aérobie mésophile	102/ml
Les streptocoques fécaux	Absence /100ml
Staphylococcus aureus	Absence /100ml
Flore fongique	Absence /100ml

# Chapitre III Les Microalgues

Chapitre III Les Microalgues

### 1- Introduction

Les microalgues suscitent aujourd'hui un intérêt grandissant, les applications qui convergent autour de ces cellules sont nombreuses. De la production d'énergie, à la nutrition humaine et animale, en passant par le traitement des rejets anthropiques, chercheurs et industriels s'investissent dans ces vastes domaines d'application. Il y a aujourd'hui une multitude de verrous scientifiques et technologiques qui méritent d'être levés, carrefours d'innovations entre approche agro-écologiques et vision techno-économiques.

### 2- Historique

La science et L'étude et l'utilisation des algues ne datent pas d'hier bien au contraire remonte aux années 1950. La première utilisation des microalgues par l'humain remonte à 2000 ans en Chine, où Nostocaida à survivre à la famine (SPOLAORE et *al.*, 2005).

D'autres exemples historiques pourraient être: l' utilisation des algues brunes durant le 18ème siècle pour l'iode et le soda, l'utilisation par Alfred Nobel de biomasse fossilisée de diatomées dans la confection de la dynamite (adsorption de la nitroglycérine) et l'une des espèces cultivées de nos jours à grande échelle, la cyanobactérie *Spirulina arthrospira*, était déjà connue de la population aztèque (PULZ et GROSS, 2004).

Les cultures pionnières d'algues unicellulaires (avec *Chlorela vulgaris*) ont été réalisées par Beijerinck en 1890, et l'utilisation de telles cultures pour l'étude de la physiologie végétale a été développée au début des années 1900 par Warburg (BOROWITZKA, 1999). En somme, plusieurs de ces techniques et méthodes et milieux de culture de base sont encore utilisés aujourd'hui. Et ils s'ont été développés à la fin des années 1800 et au début des années 1900 (ANDERSEN, 2005).

### 3- Présentation générale des microalgues

Le terme « microalgues » regroupe les algues microscopiques et les cyanobactéries, Ces dernières sont des organismes photosynthétiques procaryotes (bactéries effectuant la photosynthèse), alors que les microalgues sont des organismes photosynthétiques eucaryotes unicellulaires ou pluricellulaires indifférenciés.

Le terme phytoplancton s'avère plus juste lorsqu' il est question à la fois d'algues et de cyanobactéries. Dans l'environnement naturel, les algues peuvent coloniser (les eaux douces et marines, aussi le sol et des simples surfaces humides), à une seule condition la lumière y parvienne. On en retrouve même près des sources hydrothennales, et elles peuvent coloniser la neige et les couverts de glace (BÉLAIR *et al.*, 2012).

La diversité des microalgues est très importante, ce qui se reflète par une panoplie de formes, de grosseurs et d'arrangements des cellules. La présence ou non de flagelles peut caractériser certaines espèces: à cet effet durant leur stade motile, la plupart des algues possèdent deux ou plusieurs flagelles, bien que quelques lignées aient perdu cette caractéristique soit d'un coup dès le début de leur évolution (*Rhodophyta*) (BHATTACHARYA et MEDLIN, 1998). Aussi, les différentes thèques (plaques rigides de cellulose incrustée de silice) que produisent les diatomées, permettent d'en distinguer les différentes espèces. (BARSANTI et GUALTIERI, 2006).

On peut voir sur la figure 03 différentes morphologies de certaines espèces de microalgues.

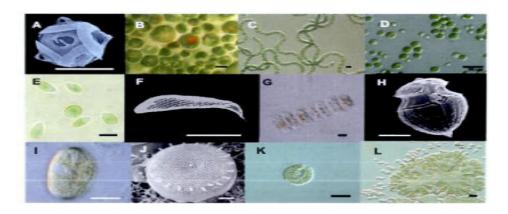


Figure n° 3: Différences morphologiques entre certaines espèces de microalgues (A, F, H et J = microscopie électronique à balayage; B, C, D, E, G, 1, K et L "microscopie optique; bar 10 μm" (d'après BÉLAIR *et al*, 2012 *in* LOUKA 2013)

A: Gephyrocopsa G: Choetoceros calcitrons

B: Haematococcus lacustris H: Dinaphysis acuminate

C: Spirulina platensis 1: Alexandrim

D: Chlorello vulgaris

J: Bocillariophyceoe

E: Dunaliella tertiolecto K: Raphydophyceae

### 4- Définition des microalgues

Une microalgue est un organisme photosynthétique unicellulaire délimité par une membrane plasmique, qui contient au sein de son cytoplasme de nombreux organites Chapitre III Les Microalgues

nécessaires à son fonctionnement et à son métabolisme: chloroplastes, amyloplastes, oléoplastes, mitochondries et son noyau entouré de son enveloppe.

Les algues désignent un ensemble d'organismes que l'on retrouve préférentiellement dans les milieux aquatiques.

Ces dernières, dénommées également phytoplanctons, sont définies comme étant des organismes unicellulaires ou pluricellulaires indifférenciés. Sous cette désignation, elles constituent un sous-ordre des Eucaryotes ou des Procaryotes. Dans ce dernier règne, les représentants des microalgues sont regroupés dans la sous-classe des *Cyanobactéries*.

Les algues vertes (*Chlorophyta*) sont des organismes eucaryotes photosynthétiques caractérisés par la présence de chloroplastes contenant deux enveloppes membranaires, des thylakoïdes empilés (grana) et des chlorophylles a et b. Toutes les algues vertes produisent de l'amidon comme réserve principale de polysaccharides, s'accumulant dans les plastides (PROSCHOLD et LELIAERT, 2007).

Les plastides sont des organites cellulaires des végétaux contenant souvent un pigment ou de la nourriture.

Bien que les différentes espèces ne les possèdent pas toutes, on peut résumer les principales composantes des microalgues vertes à un noyau bien défini, une paroi cellulaire, des chloroplastes contenant chlorophylles et autres pigments, une région contenant en surface une forte densité de grains d'amidon, des stigmas et des flagelles (SINGHET SHANNA, 2012)

À propos, le stigma est une tache orangée agissant comme photorécepteur, sorte d'oeil primitif qui réagit à la lumière pour guider la cellule dans ses déplacements

### 5- Le Milieu de vie

Le milieu de vie des microalgues, la ou on leur retrouvent en abondance c'est dans les milieux fortement aqueux. Il existe 1100 genres de microalgues dont 14000 espèces d'eau douce et 14000 d'eau salée. Ce sont des êtres photosynthétiques, c'est-à-dire qu'elles sont capables de produire de la matière organique à partir d'éléments minéraux grâce aux processus d'assimilation photosynthétique.

Les microalgues possèdent plusieurs aspects cellulaires différents et divers cycles de vie, les algues colonisent une multitude d'habitats (BHATTACHARYA et MEDLIN, 1998). On les retrouve presque partout dans les sources d'eau fraîches jusque dans les eaux salées (avec une tolérance pour une large gamme de pH, température, turbidité et concentration d'0<sub>2</sub> et de C0<sub>2</sub>) ou subaériennes (exposées à l'atmosphère plutôt que submergées). Elles peuvent

Chapitre III Les Microalgues

être planctoniques (comme la plupart des espèces unicellulaires) ou benthiques (vivant sur ou dans les sédiments). Les algues benthiques peuvent se retrouver attachées sur la pierre (épi lithiques), sur le sable ou la boue (épidémiques), sur d'autres algues ou plantes (épiphytiques) ou sur des animaux (épizoïques) (BARSANTI et GUALTIERI, 2006).

### 6- Diversité et classification

Le groupe des microalgues est extrêmement hétérogène rassemblé autour d'une cohérence physiologique : la photosynthèse oxygénique (ANDERSEN, 1992). Selon les estimations, parmi lesquelles 47000 espèces sont décrites .certaine famille rassemblerait de plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions d'espèces (ANDERSEN *et al*, 1997 ; SHARMA et RAI, 2011).

Par comparaison, la diversité des plantes supérieures est de l'ordre de 400 000 espèces. La classification (Tableau 02) de cette diversité est complexe et la taxonomie est sujette à de fréquents bouleversements du fait notamment de l'utilisation des techniques de phylogénie moléculaire.

Tableau n° 02: Diversité des microalgues eucaryotes et procaryotes marines et d'eau douce (d'après, Syalve et Stayer., 2013).

Règne	Embranchement/Classe
Procaryotes	Cyanophytes
	Prochlorophytes
Eucaryotes	Bacillariphytes
	Charophytes
	Chlorophytes
	Chrysophytes
	Cryptophytes
	Dinophytes
	Euglenophytes
	Glaucophytes
	Haptophytes
	Phaeophytes
	Rhodophytes

### 7- Utilisation

Aujourd'hui, les vertus biotechnologie des microalgues est en émergence et expansion, vu tout ce qu'on peut tirer de ces microorganismes: biomasse à des fins de nourriture ou de fourrage, produits extraits de la biomasse incluant des triglycérides qui peuvent être convertis en biodiésel, pigments utilisés dans plusieurs domaines (cosmétique),

Chapitre III Les Microalgues

etc. Bien qu'en plein développement, en plus les procédés de production est économique, (HARUN et *al.*, 2010).

# 7-1- Applications biotechnologiques des microalgues

Les microalgues sont utilisées en industrie dans les domaines énergétiques, pharmaceutiques, nutraceutiques, cosmétiques et alimentaires. Sous des conditions spécifiques, ces microorganismes sont en mesure de biosynthétiser des molécules de grand intérêt.

# 7-2- Production des lipides

Les microalgues peuvent accumuler, dans certaines conditions de culture, le carbone fixé, sous forme de lipides appelés triglycérides. Les lipides stockés constituent alors une réserve de carbone pour la microalgue. les lipides sont principalement constitués de phospholipides et de glycolipides (constituants des membranes). Cependant certaines espèces sont capables d'accumuler jusqu'à 80 % de leur poids sec en lipides (BIGOGNO et al., 2002; CHISTI, 2007).

#### 7-3- Alimentation animale

La base du réseau trophique en milieu marin c'est les microalgues. De ce fait il apparaît qu'elles peuvent être intégrées à l'alimentation en aquaculture marine. Elles sont notamment utilisées dans les élevages les larves de poissons et de crustacés. (Milledge., 2011).

#### 7-4- Engrais

Les microalgues peuvent assurer le rôle d'un bon fertilisant des sols pauvres puisqu'elles apportent notamment du potassium, de l'azote, éléments essentiels à la croissance végétale. Elles permettent aussi de capturer et de garder l'humidité. Enfin, elles accélèrent la pousse des cultures et les protègent en limitant la prolifération des épiphytes et des parasites.

# 7-5- Traitement des effluents gazeux CO<sub>2</sub>

L'utilisation de la photosynthèse pour la fixation de CO<sub>2</sub> d'origine anthropique répond ainsi à la fois à un enjeu environnemental du point de vue des activités industrielles particulièrement émettrices et à un enjeu économique sur le versant culture de masse des microalgues.

Chapitre III Les Microalgues

L'augmentation du gaz à l'effet de serre dans l'atmosphère depuis la révolution industrielle, avec un impact avéré sur le réchauffement climatique, cette problématique a notamment motivé la recherche puiseurs solutions de piégeage de ce gaz avant sa libération et sa dilution dans l'atmosphère. Parmi ces technologies envisageables, les procédés physiques (capture et stockage du CO2) et les solutions biologiques de fixation. Sachant que les solutions physiques de capture et de stockage sont particulièrement coûteuses

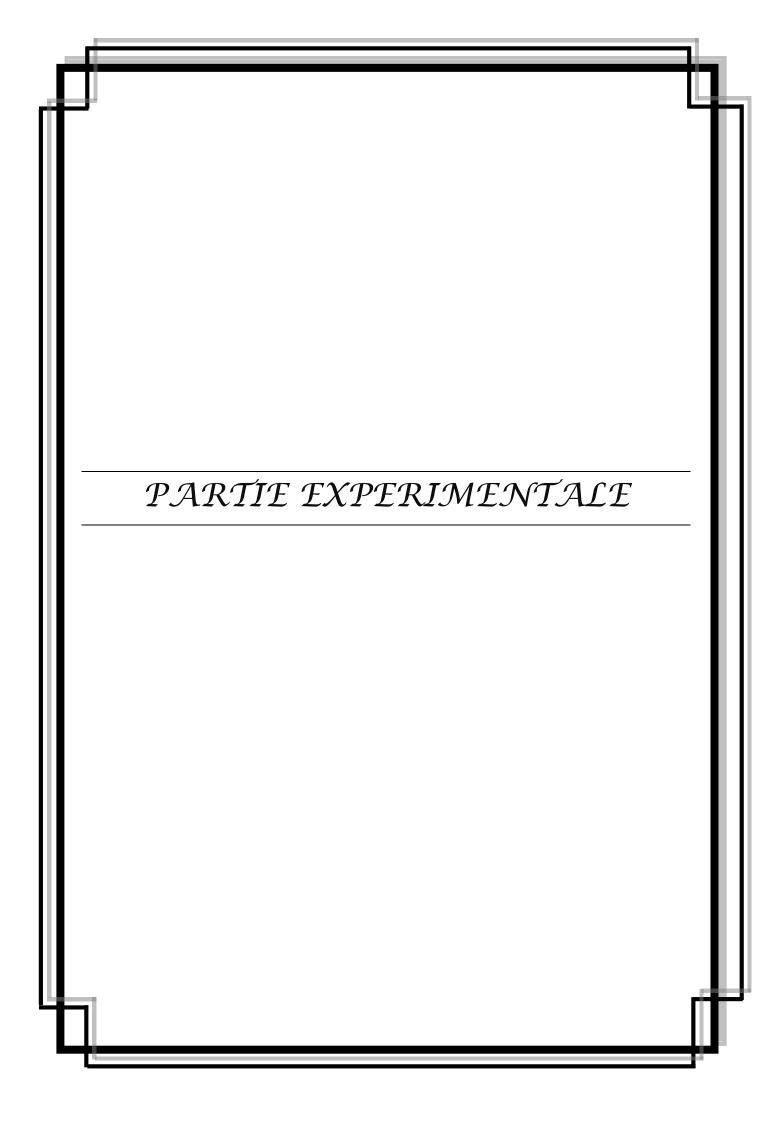
La croissance des microalgues en conditions non-limitantes en carbone compte parmi les enjeux clés de la production de masse (BENEMANN et WOERTZ, 2012).

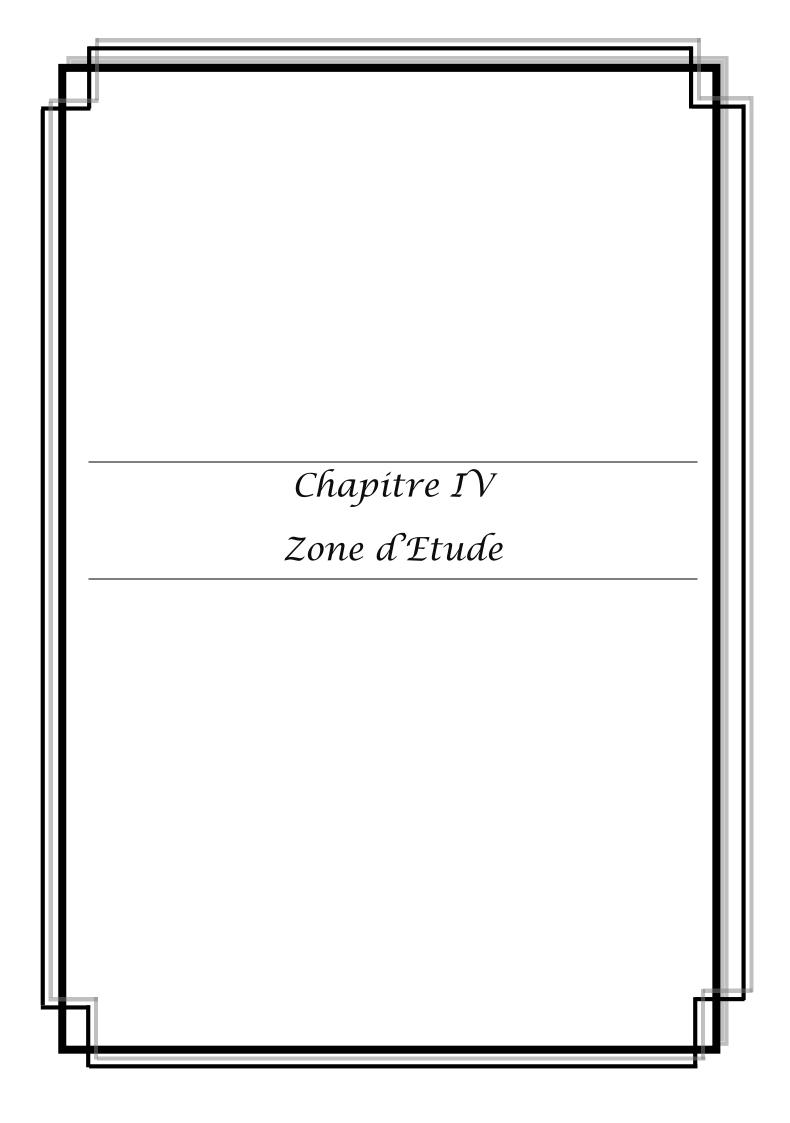
# 7-6- Production d'énergie

Le potentiel offert par les microalgues en vue de production d'énergie est sans aucun doute le moteur de l'engouement et des activités de recherches croissantes mobilisées autour ces organismes depuis le début du XXIème siècle.

Ces organismes permettent de produire un biocarburant gazeux ou une « huile » brute par conversion thermochimique (Mac Kendry, 2002).

A titre illustratif, la biomasse sèche peut servir à produire de l'énergie par combustion directe (Kadam., 2002).





# 1- Situation Géographique

La wilaya de Tiaret se situe au centre-ouest de la région des hauts plateaux du pays. Elle s'ettend sur une superficie de 20.050,50 Km<sup>2</sup>. Elle est limitée par plusieurs wilayas à savoir (Figure.n° 4) (ADJOUJ, 2013) :

- Au nord, par les wilayas de Tissemsilt et de Relizane;
- Au sud, par les wilayas de Laghouat et de el Bayadh;
- A l'ouest, par les wilayas de Mascara et de Saïda;
- A l'est, par la wilaya de Djelfa.

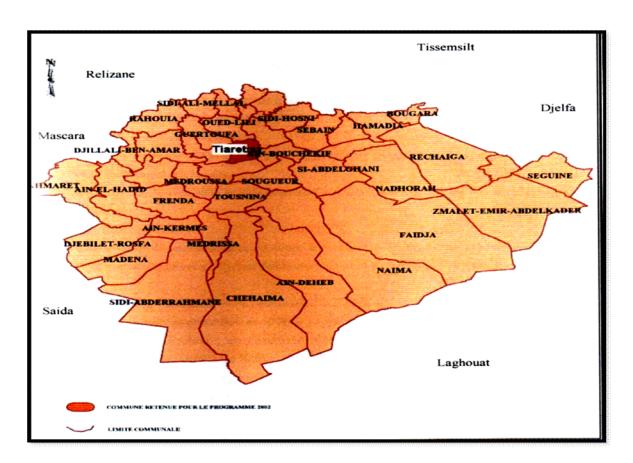


Figure n°4: Situation géographique de la wilaya de Tiaret (Conservation des Foret wilaya de Tiaret, 2005 ; in Adjouj, 2013).

#### 2- Réseau d'assainissement

L'assainissement Désigne l'ensemble des moyens de collecte, de transport et de traitement d'épuration des eaux usées avant leur rejet dans les rivières ou dans le sol. On parle d'assainissement collectif pour les zones raccordées au réseau d'égout et équipées d'une station d'épuration traitant des rejets urbains.

Selon Mekkakia, (2001) in Adjouj, (2013), Tiaret est assainie grâce à un réseau de type unitaire totalisant une longueur de 137Km.

La collecte s'effectue par l'évacuation des eaux usées domestiques, (et éventuellement industrielles ou pluviales) dans les canalisations d'un réseau d'assainissement appelé aussi collecteur qui se fait en général par gravité, c'est--dire sous l'effet de leur poids. Il peut parfois s'effectuer par refoulement, sous pression ou sous dépression (Figure n° 05).

Les canalisations sont en ciment, parfois en fonte ou en PVC, plus rarement en grés ou en acier (ONA, 2008; STEP, 2007 ; in Adjouj, 2013).

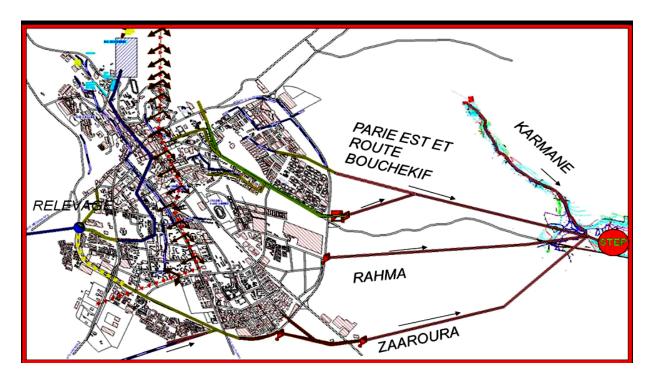


Figure n° 05: Schéma directeur des principaux collecteurs de la ville de Tiaret (STEP, 2007 ; in Adjouj, 2013).

#### 3- Situation géographique de la station d'épuration des eaux usées de Tiaret

La station d'épuration est localisée dans la commune d'Ain Bouchakif, à 6 km de la ville de Tiaret (Figure.n° 06), elle est accessible par une route qui débauche directement dans le chemin de wilaya: cw n° 07.

Cette station d'épuration s'étale sur une superficie de 9.47 hectares, destinée au traitement des eaux usées provenant des communes de Tiaret (Sougueur, Dahmouni et Ain bouchakif). Elle a pour objectif de traiter une capacité d'eau de l'ordre de 390.000 Eh (équivalents-habitants), soient 38.000 m³ des eaux usées traitées par jour. Elle est caractérisée par une activité agricole due à la présence d'Oued Ouassel (Nouria) qui verse directement dans le Barrage de Dahmouni (AZIBI, 2015).

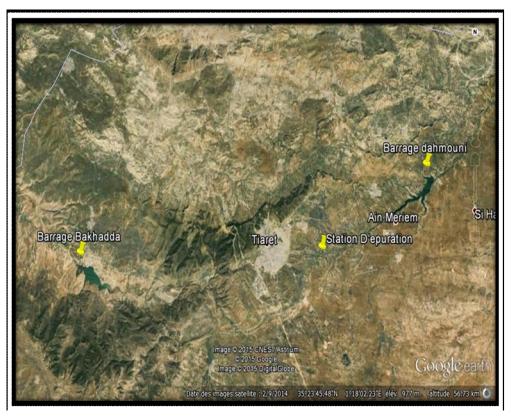


Figure n° 06: Situation géographique de la station d'épuration (Google earth ; in Azibi, 2015).



Figure n° 07: Vue générale de la station d'épuration de Tiaret (AZIBI, 2015).



Figure n° 08: Une maquette de la station d'épuration (AZIBI, 2015).

# Chapitre V Matériel et Méthodes

#### 1- Introduction

Au cours de ce chapitre, on va procéder au prélèvement et à l'échantillonnage à fin d'analyser les eaux usées brutes contenues dans un bioréacteur dans lequel on intègre la culture des microalgues. L'analyse effectuée touche les paramètres microbiologiques et physico-chimiques dans le but de voir l'efficacité et l'effet de ces microalgues sur le taux de réduction de quelques bactéries pathogènes, à fin de valoriser cette diversité biologique des algues dans le domaine d'épuration des eaux usées.

# 2- Installation du protocole expérimentale

Un bioréacteur des eaux usées d'environ 60 L de volume a été installé au niveau de la station d'épuration de Tiaret (STEP) (Figure n°09). Il se trouve au milieu des deux bassins de combinaison plus precisement au flan droit du premier bassin de combinaison.



du dispositif expérimental ( bioreacteur)

Figure n° 09: L'emplacement du bioréacteur

Le bioréacteur est muni d'un agitateur qui permet l'apport de l'oxygène indispensable pour la survie des microalgues et qui sert à l'homogénéisation de la solution (eaux usées et microalgues) durant toute la période d'étude pour que l'échantillonnage soit représentatif et efficace.



Figure n° 10: Bioréacteur. (Cliché: AZIBI Farid; 2017)

# 3- Origine et caractéristiques des microalgues utilisées dans les bioréacteurs

Les microalgues utilisées dans cette étude proviennent du HRAP (étang d'algues à haut débit) qui fait partie d'IAPS (système intégré d'étangs d'algues) pour le traitement des eaux usées, construit à la station expérimentale de biotechnologie environnementale de Rhodes, Grahamstown, révèle une diversité de micro flore et de faune (Figure n° 11) (H. Johnson, 2010, Université de Rhodes).

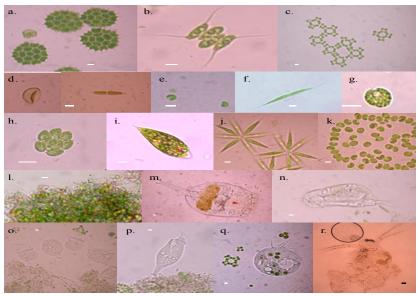


Figure n° 11: La faune et la flore utilisées dans l'étude (H. Johnson, 2010, Université de Rhodes): a.Pediastrum,b. Scenedesmus, c.Micractiniumd.Diatoms, eChlorella, f.Closterium,g. Chlamydomonas, h.Pyrobotrys,i.Euglena, j.Actinastrum, k.Dictyosphaerium, l.Bluegreens. Zooplankton: m.Brachionus, n.Lecane, o.Conochilus, p.Philodina, q.Cyclidium, r.Daphnia

# 4- L'intégration de la souche des microalgues

L'expérimentation a été réalisée durant une période d'étude de 16 jours. Avant l'ajout des microalgues, une analyse microbiologique été éfféctuée sur les eaux usées brutes du bioréacteur, lors du deuxième jour, nous avons intégré la culture des microalgues dans le bioréacteur.

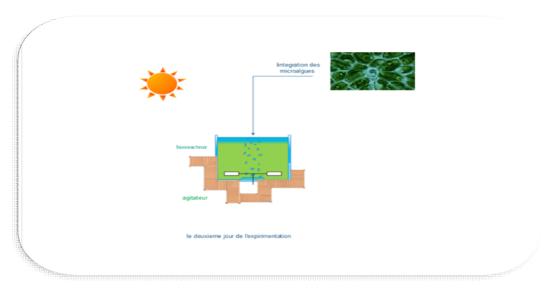


Figure n° 12: L'intégration de la souche des microalgues. (Cliché: AZIBI Farid; 2017)

# 5- Prélèvement et transport des échantillons

Le prélèvement des échantillons est l'une des étapes les plus importantes pour l'évaluation de la qualité de l'eau. Il est donc essentiel que l'échantillonnage soit effectué avec prudence afin d'éviter toutes les sources de contamination possibles.

Des prélèvements hebdomadaires le matin entre 09h et 10h ont été régulièrement effectués durant une période d'étude de 16 jours. Les échantillons d'eau doivent être prélevés dans des conditions d'asepsie.

Il se fait dans un flacon en verre qui a été stérilisé dans un autoclave à une température de 120°C pendant 15min. Les échantillons sont ramenés dans les brefs délais au laboratoire, l'analyse doit être effectuée dans un délai maximal de 4 heures. A chaque prélèvement, deux flacons ont été remplis et destinés séparément à l'analyse microbiologique pour assurer une répétition et une fiabilité dans les résultats.

# 6- But de la manipulation

Le but est d'observer le taux de diminution de quelques bactéries pathogènes présentes dans l'eau usée en présence des microalgues. Le premier échantillon consiste à prendre l'effluent, c'est à dire l'eau usée brute non encore en contact avec les microalgues et qui sert de témoin.

# 7- Analyse physico-chimique

# 7-1- Le pH

Le pH (potentiel hydrogène), est le reflet de la concentration d'une eau en ions H+. Il indique l'alcalinité des eaux usées, son rôle est capital pour la croissance des microorganismes qui ont généralement un pH optimum variant de 6, 5 à 8. Lorsque le pH est inférieur à 5 ou supérieur à 8, 5, la croissance des microorganismes est directement affectée.

Le pH des echantillons a été mesuré à l'aide d'un pH mètre de laboratoire (Figure n° 5-5). L'électrode en verre est rincée après chaque manipulation avec l'eau distillée.



Figure n° 13: pH mètre muni d'une sonde de mesure. (Cliché: AZIBI Farid; 2017)

# 7-2- La température

La température joue un rôle important en ce qui concerne la solubilité des sels et des gaz. Par ailleurs, elle détermine le taux et la vitesse des réactions de dégradation biochimique. Plus la température est importante, plus les réactions sont rapides. La température des eaux usées influe beaucoup sur l'efficacité du procédé de traitement. Par exemple, la décantation est plus efficace à des températures élevées.

La température des échantillons d'eau usée a été mesurée ainsi à l'aide d'un pH mètre muni d'une sonde de temperature (Figure n° 14).



Figure n° 14: pH mètre muni d'une sonde de temperature. (Cliché: AZIBI Farid; 2017)

# 8- Analyse Microbiologique

Le principe général des techniques des analyses bactériologiques des eaux consiste à ensemencer une quantité connue d'eau à analyser sur un milieu de culture adapté, solide ou liquide. On suppose que pendant l'incubation, chaque microorganisme présent se développe pour donner soit une colonie visible sur un milieu solide, soit des changements d'apparence dans un milieu liquide essentiellement un trouble de celui -ci.

Le choix d'une technique d'ensemencement dépend de la nature des microorganismes recherchés, de celle de l'eau et des raisons qui ont conduit à l'analyse

#### 9- Matériels utilisés

- Agitateur type Vortex.
- Barreau magnétique.
- Bain marie.
- Bec Bunsen.
- Boîtes de pétri stériles.
- Entonnoir.
- Eprouvette.
- Portoir pour tubes à essai.

- Erlenmeyer.
- Fiole jaugé.
- Flacons stériles pour échantillons.
- Autoclave.
- Etuve.
- Pipettes pasteur.
- Pipettes pasteur.
- Tubes à essais.
- Micropipettes + embouts de 100 uL stériles, et 1000 uL.



Figure n° 15 : Bec Bunsen + bécher + agitateur.



Figure n° 16: Une pesée.



Figure n° 17: Agitateur.



Figure n° 18: Bain marie.



Figure n° 19: Autoclave.

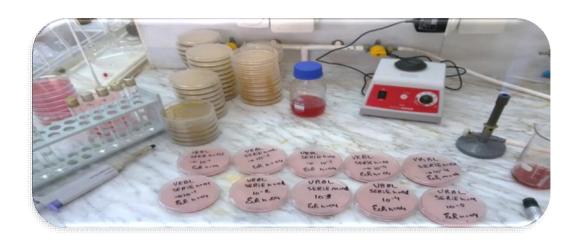


Figure n° 20: Préparation du milieu de culture et coulage des boites.

#### 10- Milieux de culture

- Tergitol
- Slantez
- chapman



Figure n° 21: Les milieux de culture déshydratés.

#### 11-Méthode de dénombrement des bactéries

# Protocole expérimental d'une dilution successive

Vu que l'échantillon d'eau usée est trop chargé en microorganismes, une dilution de ce dernier doit être effectuée. Elle sert aux objectifs suivants:

- Faire des lectures et des observations lisibles.
- La netteté des colonies et la possibilité de faire la quantification.

#### 12-La dilution

Préparation des dilutions à partir de la solution mère (10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup>, 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup>).

# Tube n 01:

- Homogénéiser la suspension microbienne à prélever (agitation par mouvements circulaires pendant 10 secondes environ ou à l'aide d'un vortex).
- Prélever 1mL de suspension à l'aide de la pipette stérile (ne pas introduire la pipette dans la suspension de plus de 1cm).
- Flamber et refermer le tube.
- Ouvrir le premier tube de 9 ml de diluant, flamber l'ouverture et y introduire le volume prélevé (éviter tout contact entre la pipette contenant l'inoculum et le diluant stérile).
- Flamber et refermer le tube.
- Jeter la pipette souillée dans le bac à eau de javel.

- La dilution suivante s'effectue comme la dilution décrite ci-dessus mais en partant du tube de la dilution précédente.

#### Tube n 02:

- Pipeter 1 ml à partir du tube 1 et le verser sur le tube de l'eau physiologique.

# Tube n 03:

- Pipeter 1 ml à partir du tube 2 et le verser sur le tube de l'eau physiologique

#### Tube n 04:

- Pipeter 1 ml à partir du tube 3 et le verser sur le tube de l'eau physiologique.

# **Tube n 05:**

- Pipeter 1 ml à partir du tube 4 et le verser sur le tube de l'eau physiologique.

#### Tube n 06:

- Pipeter 1 ml à partir du tube 5 et le verser sur le tube de l'eau physiologique.

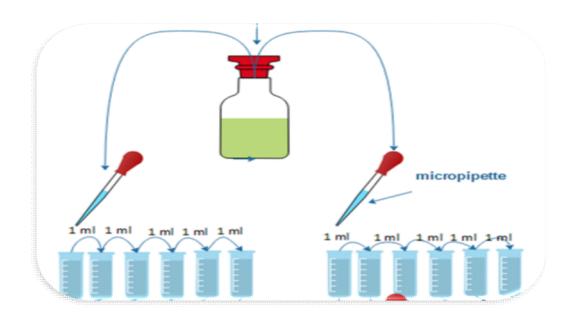


Figure n° 22: Préparation de la dilution. (Cliché: AZIBI Farid; 2017)

# 13-Recherche et dénombrement des germes :

Les germes recherchés sont les *coliformes totaux*, les *coliformes fécaux*, les *streptocoques* et les *staphylococcus aureus*. Ces germes sont peu ou pas pathogènes, ils sont révélateurs de contamination fécale et entrainent par leur abondance une présomption de contamination plus dangereuse.

Milieux de culturesBactériesTempérature d'incubationTERGITOLColiformes totaux $36 \pm 2$  °C pendant 24 hTERGITOLColiformes fécaux $44 \pm 4$  °C pendant 48 hSLANTEZStreptocoques $36 \pm 2$  °C pendant  $44 \pm 4$  h.CHAPMANStaphylocoques aureus $36 \pm 2$  °C pendant 48 h

Tableau n° 03: Les germes de bactéries recherchées.

#### 14-Dénombrement des bactéries

Après prélèvement aseptique des échantillons et la préparation des dilutions des eaux usées de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-6</sup>, 0.1 ml de chaque dilution est ensemencé par étalement en surface sur le milieu de culture adapté (Tableau n° 04).

# 14-1- Dénombrement des coliformes totaux et fécaux

Le milieu de culture utilisé pour le dénombrement des coliformes est le TERITOL

- Une incubation de 24h à 37 °C est effectuée pour le dénombrement des *coliformes totaux*.
- Une incubation de 48h à 44°C est effectuée pour le dénombrement des coliformes fécaux.

#### 14-2- Dénombrement des streptocoques

Le milieu de culture utilisé est le SLANTEZ, Une incubation de 44h à 36 °C est effectuée pour le dénombrement des *streptocoques*.

# 14-3- Dénombrement des staphylococcus aureus

Le milieu de culture utilisé est le milieu CHAPMAN, Une incubation de 48h à 36 °C est effectuée pour le dénombrement des *staphylococcus aureus*.

# 15-La préparation des milieux de culture

# 15-1- La Gélose au Tergitol

Elle est utilisée pour l'isolement et le dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux (thermotolérants) dans les eaux, les denrées alimentaires et autres types de prélèvements par la technique de membranes filtrantes ou étalement sur boîtes de Pétri.

#### 15-1-1- Conservation

- Boites: 2 - 8°C

- Flacons: 15 - 25°C

- Milieu déshydraté: 2 - 30°C

- La date d'expiration est indiquée sur l'emballage.

## 15-1-2- Préparation

# a- Pour le milieu déshydraté

1. Dissoudre 56,2 grammes dans 1 litre d'eau pure.

2. Chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir 1 minute pour dissoudre complètement la suspension.

3. Bien mélanger, laisser refroidir à 45-50°C et ajouter aseptiquement une solution stérile contenant 25 mg de T.T.C. (triphényl-2,3,5-tétrazolium) et 5 ml d'une solution stérile de Tergitol 7 à 0,2% par litre de base.

4. Répartir immédiatement en boîtes.

# b- Pour le milieu en flacons

1. Liquéfier le milieu à 100°C au bain-marie.

2. Bien mélanger, laisser refroidir à 45-50°C. Ajouter aseptiquement une solution stérile contenant 25 mg de T.T.C. (triphényl-2, 3, 5-tétrazolium) et 5 ml d'une solution stérile de Tergitol 7 à 0,2% par litre de base. Bien homogénéiser. Ne pas réchauffer après addition du TTC.

3. Répartir immédiatement en boîtes.

# 15-2- Gelose de Slanetz et Bartley

# **15-2-1- Principe**

La Gélose de Slanetz et Bartley est utilisée pour l'isolement et le dénombrement des entérocoques dans les eaux, les denrées alimentaires et autres types de prélèvements par la technique de membranes filtrantes ou étalement sur boîtes de Pétri.

#### 15-2-2- Conservation

- Boites: 2 - 8°C

- Flacons: 15 - 25°C

- Milieu déshydraté: 2 - 30°C

- La date d'expiration est indiquée sur l'emballage.

## 15-2-3- Préparation

# a- Pour le milieu déshydraté

1. Dissoudre 42 grammes dans 1 litre d'eau pure.

2. Chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir 1 minute pour dissoudre complètement la suspension. Ne Pas Surchauffer - Ne Pas Autoclaver.

3. Bien mélanger, laisser refroidir à 45-50°C et répartir immédiatement en boîtes.

#### b- Pour le milieu en flacons

1. Liquéfier le milieu à 100°C au bain-marie.

2. Bien mélanger, laisser refroidir à 45-50°C. Ajouter aseptiquement une solution stérile contenant 100 mg de T.T.C. (triphényl-2, 3, 5-tétrazolium) par litre de base. Bien homogénéiser.

3. Répartir immédiatement en boîtes.

#### 15-3- Milieu de chapman

## **15-3-1- Principes**

- La forte concentration en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des bactéries autres que les staphylocoques.

- La fermentation du mannitol, mise en évidence par le virage au jaune de l'indicateur pH (rouge de phénol), permet d'orienter le diagnostic.
- La mise en évidence des staphylocoques pathogènes devra être confirmée par la recherche de la coagulasse et éventuellement, de la désoxyribonucléase et de la phosphatase.

# 15-3-2- Préparation

- Mettre en suspension 111,0 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou Déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

#### 15-3-3- Lecture

Les staphylocoques pathogènes forment des colonies luxuriantes, pigmentées, entourées d'un eauréole jaune due à la fermentation du mannitol.

Les staphylocoques non-pathogènes forment en général de petites colonies rouges qui ne modifient pas la teinte du milieu. Quelques souches de *Staphylococcus epidermidis* sont capables de fermenter le mannitol. Après 24-48 heures d'incubation.

# 15-3-4- Coulage des boites

Après la préparation des milieux des cultures, on les laisse refroidire à une température embiante, en entrouvert dans la pomme des main les boites de petri tout en ayant une zone d'aseptie assurer bec bunsen.



Figure n° 23: Coulage des boites.

#### 16-Ensemencement en surface

- Prélever un volume précis de 0,1 ml à l'aide de la pipette graduée de 1 ml stérile, puis déposer ce volume au centre de la gélose solide;
- Étaler à l'aide d'une pipette râteau, d'un étaleur plastique, ou de bille de verre le volume sur toute la gélose;
- Attention à ne pas trop étaler le volume sur la paroi de la boîte, ce qui gênera pour la suite des analyses au dénombrement des UFC.

#### 17-Incubation

La température d'incubation est variable suivant les micro-organismes à dénombrer (exemple: coliformes totaux à 30 °C, coliformes thermotolérants à 44 °C).

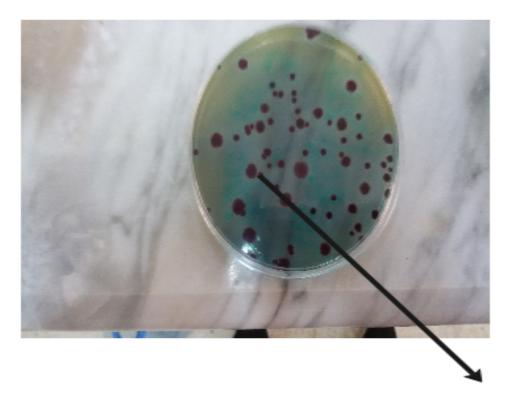


Figure n° 24: Incubation des boites de petri.

#### 18-Lecture

Le comptage des UFC ne doit pas être réalisé au hasard. Il est conseillé de délimiter des ensembles au marqueur sur le fond de la boîte de Petri toutes les 20 UFC comptées ou de séparer par quartier en marquant une croix au dos de la boîte. Il faut que le nombre d'UFC soit significatif entre 30 et 300 (ou 150 en cas d'agent de différenciation des colonies).

Cet intervalle est défini pour éviter des erreurs de contaminations extérieures pour un nombre d'UFC assez faible et on définit un seuil afin de faciliter le dénombrement des boites et d'éviter les erreurs de comptage.



colonie des coliformes totaux

Figure n° 25 : Le denombrement de la colonie sur boite de petri. (Cliché: AZIBI Farid; 2017)

# 19-Récapitulation

Ce procédé est avant tout destiné pour connaître la présence ou non de germes pathogènes et leur dénombrement dans les eaux usées de la station d'épuration de la wilaya de Tiaret. Pour procéder aux analyses, il faut tout d'abord procéder à la préparation des échantillons et à différentes dilutions.

Après avoir préparé le milieu de culture (gélose), on commence à couler les boites de pétri avec le plus grand soin de respecter les conditions. Pour ne pas avoir une éventuelle contamination par rapport au milieu extérieur.

Sachant qu'on a effectué le dénombrement de 04 colonies différentes avec des milieux de culture distincts à travèrs 15 échantillons en plus des témoins (les eaux usées brutes).

On procède tous les jours aux mêmes opérations pour les analyses microbiologiques des 16 echantillions sachant qu'on a effectué 02 répétitions pour chaque dilution, c'est à dire qu'on a 12 boites de pétri pour chaque bactérie dénombrée, plus exactement 48 boites de pétri pour chaque échantillon, c'est-à-dire 768 boites de pétri pour l'ensemble de l'expérience.



Figure n° 26: Les boites utilisées durant l'expérimentation. (Cliché: AZIBI Farid; 2017)

#### 20- Calcul standard après simple comptage

Calcul de la quantité de substances sur le dispositif :

#### 20-1- Expression des resultats

Cas général: entre 15 à 300 colonies visibles à la surface du milieu de culture.

Le cas général s'applique lorsqu'au moins une boite de Pétri présente au minimum 15 colonies visibles à la surface du milieu de culture après incubation.

Sélectionner les boites de Pétri exploitables pour le calcul. Ces boites correspondent à celles provenant de deux dilutions successives et dont au moins une boîte présente au minimum 15 colonies visibles à la surface du milieu de culture après incubation (soit au maximum 4 boites). Les boites présentant plus de 300 colonies visibles à la surface du milieu de culture après incubation ne sont pas exploitables.

Calculer le nombre « C » d'UFC (Unités Formant Colonies) sur les boites exploitables correspondantes à l'aide de la formule suivante :

Avec: 
$$\sum_{i=1}^{i=6} C_i$$

Somme des colonies comptées sur l'ensemble des boîtes de Pétri sélectionnées et exploitables (boites provenant de deux dilutions successiveset dont au moins une contient 15 colonies.

Seules les boites correspondant à un nombre d'UFC inférieur ou égal à 300 sont considérées dans le calcul).

Calculer la concentration « N p » (UFC/mL) en microorganismes cultivables dans la prise d'essai de l'échantillon à l'aide de la formule suivante:

$$N = \frac{\sum C}{v(n_1 + 0.1n_2)d}$$

C: nombre d'UFC (unités formant colonies) observées sur l'ensemble des boites sélectionnées et exploitables (boites provenant de deux dilutions successives dont au moins une contient 15 colonies ; seules les boites correspondant à un nombre d'UFC inférieur ou égal à 300 sont considérées dans le calcul).

- v : volume de la suspension étalée à la surface des milieux en mL (par exemple 0,1 mL).
- n1 : Nombre de boîtes retenues à la première dilution (la plus faible).
- n2 : Nombre de boîtes retenues à la seconde dilution (la plus forte).
- d : Taux de dilution correspondant à la dilution la plus faible retenue (d = 1

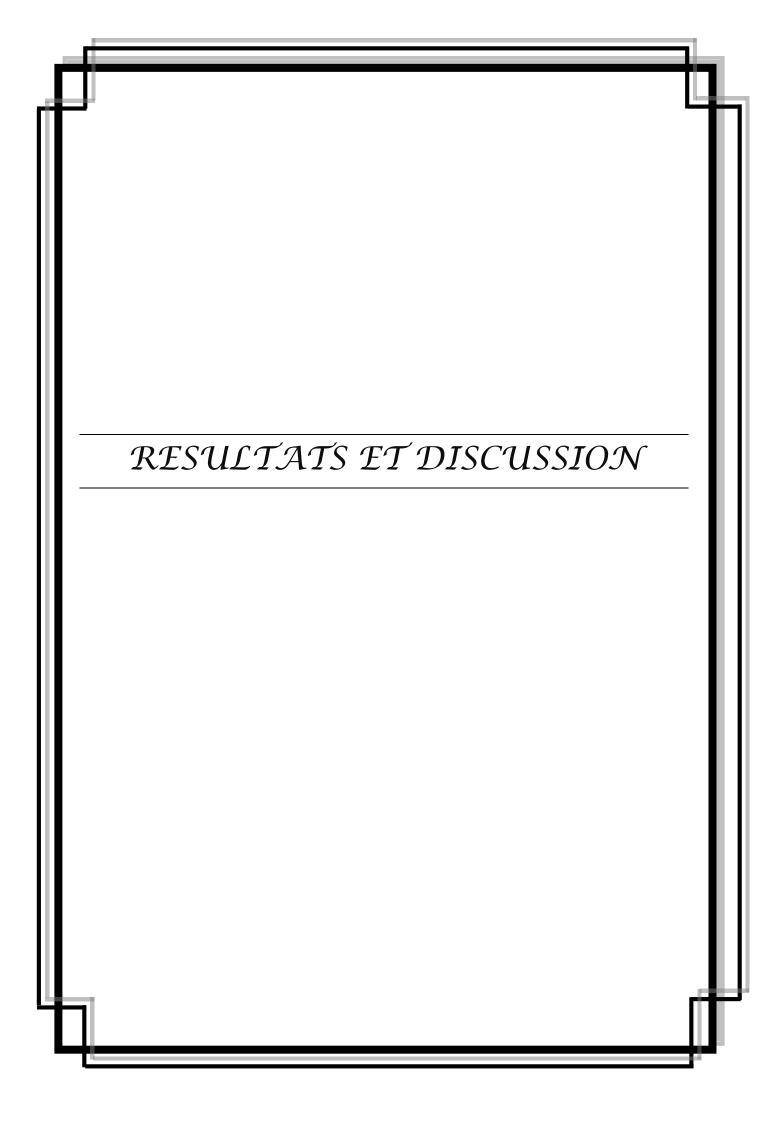
Pour l'échantillon non dilué).

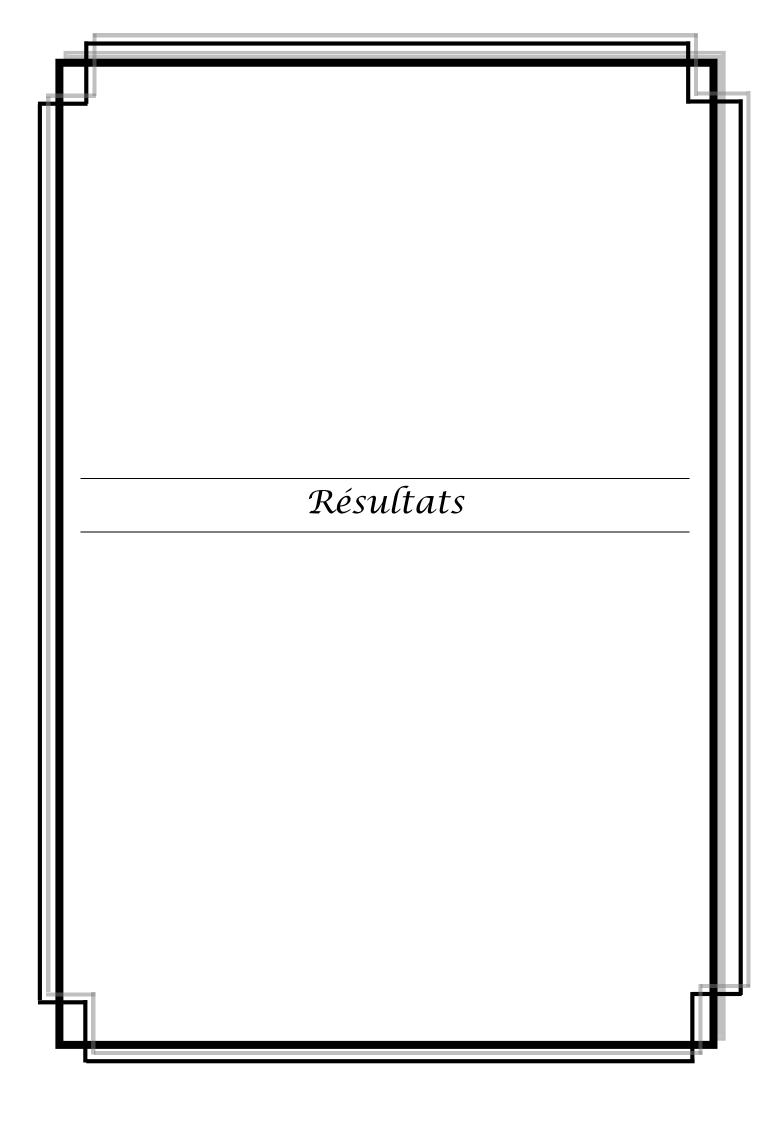
• d = 0.01 pour la dilution au 1/100 ième etc).

Les résultats sont arrondis à deux chiffres significatifs après la virgule et sont exprimés en UFC par mL dans la suspension cellulaire d'origine.

# 21. Analyse statistique

Les données des différents essais expérimentaux ont fait l'objet d'une analyse statistique par STATISTICA Version 8.0.





# 1. Le nombre de bactéries en présence de microalgues

L'analyse des résultats obtenus (Tableau n° 04) dévoile qu'il existe une influence significative des microalgues sur la fluctuation du nombre de bactéries à travers le facteur temps (semaine) (P< 0,05), Le type de la souche bactérienne ne présente aucun effet sur l'élaboration de ce paramètre (P>0,05), induisant ainsi des comportements similaires des différentes bactéries vis-à-vis de la présence des microalgues dans le milieu. L'interaction de ces deux facteurs d'étude na provoquée aucune variation notable sur le nombre des bactéries (p>0,05).

Tableau n° 04 : Effets du facteur temps et de la nature des souches bactériennes sur le nombre des bactéries en présence de microalgues.

Variable	F	P
Souche bactérienne	0,980063 ns	0,425292
Temps (Semaine)	3,692911*	0,046515
Souche*Temps	0,753798 ns	0,559449

ns: non significatif, \*: significatif au seuil de 5%.

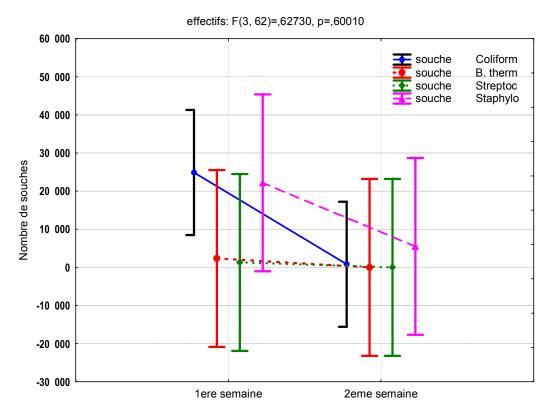


Figure n° 27: Résultats moyens du nombre de bactéries dans la première et la deuxième semaine.

Le graphe représente une étude comparative du nombre de bactéries entre la première et la deuxième semaine de différentes bactéries traitées (*Coliformes totaux*, *Coliformes fécaux*, *Streptocoques* et les *Staphylococcus auréus*).

D'après les résultats moyens obtenus dans cette étude, il est perceptible qu'à la cour de la première semaine, le nombre de bactéries présentes dans les eaux usées brutes été plus élevé chez les *coliformes totaux* et les *staphylococcus auréus* par rapport au nombre des *coliformes fécaux* et des *streptocoques* qui été plus faible.

Après une période d'étude de 16 jours, le suivi quotidien à travers les analyses microbiologiques des eaux usées brutes en intégrant la souche des microalgues à révélé un constat palpable régressif du nombre de bactéries pathogènes au court de la deuxième semaine jusqu'a l'atteinte d'un seuil nul chez les *coliformes totaux*, les *coliformes fécaux* et les *streptocoques*, Pour les bactéries *staphylocoque* l'élimination été faite à 89%.

# 2. Rôle de la température dans la réduction du nombre de bactéries en présence de microalgues

L'analyse de la variance des résultats obtenus (Tableau n° 05), montre que la fluctuation du nombre de bactéries pathogènes dans l'eau usée en contact avec les microalgues s'opère d'une façon indépendante de la température (P>0,05) par consequent, la T°C n'a aucun effet sur l'activité algale, à condition que cette dernière aille de 24 à 34° C.

Tableau n° 05: Effets de température sur le nombre de bactéries en présence de microalgues.

Variable	F	P
T°C	1,395370	0,186211

ns: non significatif

Les résultats moyens affichés sur le graphe indiquent que juste après l'intégration de la souche des microalgues lors de la deuxième journée, le nombre de bactéries a diminué de 54000 UFC/ml jusqu'à presque 5000 UFC/ml. La température de l'eau usée brute contenue dans le bioréacteur fluctue entre une valeur maximale de 34.5 °C mesuréé durant le sixième jour avec un nombre de bactéries d'environ 1000 UFC/ml et une valeur minimale de 22 °C enregistrée durant le 10 ème jour avec un nombre de bactéries de 50 UFC/ml , cet intervalle se limite à une température ambiante permetrant le bon fonctionnement des microalgues et l'abbatement complet des bactéries pathogènes qui a atteint 0 bactéries durant les deux derniers jours.

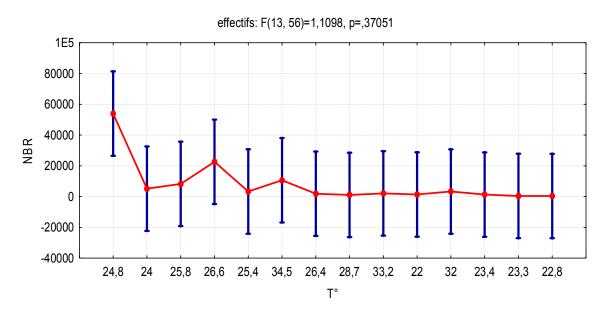


Figure n° 28: Effet de la temperature sur le nombre de bactèries.

# 3. Rôle du pH dans la réduction du nombre de bactéries en présence des microalgues

D'après l'analyse des résultats enregistrés dans le (Tableau n°06), Aucun effet significatif n'émane de la variation du pH sur le nombre de bactéries contenues dans l'eau usée. De ce fait, Le pH n'a aucune influence sur l'activité des microalgues.

Tableau n° 06: Effets du pH sur le nombre de bactéries en présence de microalgues.

Variable	F	P
рН	1,395370	0,186211

ns: non significatif.

Les résultats moyens obtenues (Figue 29) indiquent que le pH de l'eau usée brute contenue dans le bioréacteur varie entre une valeur mainimum de 8.29 avec un nombre de bactéries d'environ 54000 UFC/ml dans le premier jour, et entre une valeur maximale de 10.8 enregistrée durant le 14 ème jour avec un nombre de bactéries presque nul, ce taux de pH est généralement conidéré comme etant un pH basique et qui favorise la disparition des bactéries en présence des microalgues ce qui confirme le nombre de bactéries nul lors des deux dernier jours.

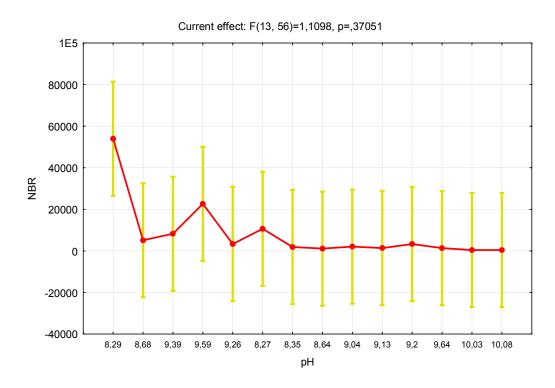


Figure n° 29: Effet du pH sur le nombre de bactèries.

# 4. Statistique descriptive Description statistique des bactéries pathogènes traitées

D'après les résultats obtenus, les valeurs du nombre de bacteries des différents échantillons sont très proches. Elles se situent dans un intervalle qui va de 238095,2 UFC/ml pour les coliformes totaux durant la première semaine à un minimum de 9000 UFC/ml pour les streptocoques durant la première semaine.

La variation du nombre de bacteries est flagrante durant la deuxième semaine. Chez certaines, le nombre de bacterie est nul comme chez le cas des streptocoques.

Le nombre maximal durant la deuxième semaine est de 13818,2 UFC/ml chez *staphylococcus aureus* à un minimum de 2700,0 UFC/ml coliformes totaux, on peut observer que le nombre minimum des bacteries (*coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoque*) est nul durant la deuxième semaine.

#### - La moyenne

D'une manière générale, dans les eaux usées traitées de la STEP de Tiaret, il existe une abondance en CT et en CF, un abaissement et un abbatement des bacteries au cours de la premier semaine mais ceci reste insuffisant car les valeurs dépassent toujours les normes de l'OMS autorisées pour la réutilisation agricole (<1100g/100 ml).

Les abondances en coliformes dans les effluents traités dépendent de la qualité microbiologique des eaux brutes d'une part, et de l'efficacité de la filière de traitement à éliminer les coliformes, d'autre part, la présence de coliformes, résulte de leur abondance dans les matières fécales des animaux à sang chaud et constituent des indicateurs fécaux de première importance (DUPRAY et DERRIEN, 1995).

Pour les coliformes totaux, on peut observer une différence de moyenne entre les deux semaines. La première semaine donne une valeure de 37386,72 UFC/ml et la deuxieme semaine de 678,57 UFC/ml. On peut déduire qu'il ya un abattement du nombre de bactéries.

On remarque que les valeurs de la moyenne des *coliformes fécaux* des eaux traitées de la station d'epuration de Tiaret sont variables selon les semaines, elles oscillent d'une moyenne de 12399,08 UFC/ml durant la premier semaine jusqu'aux valeurs enregistrées de la moyenne de la deuxième semaine.

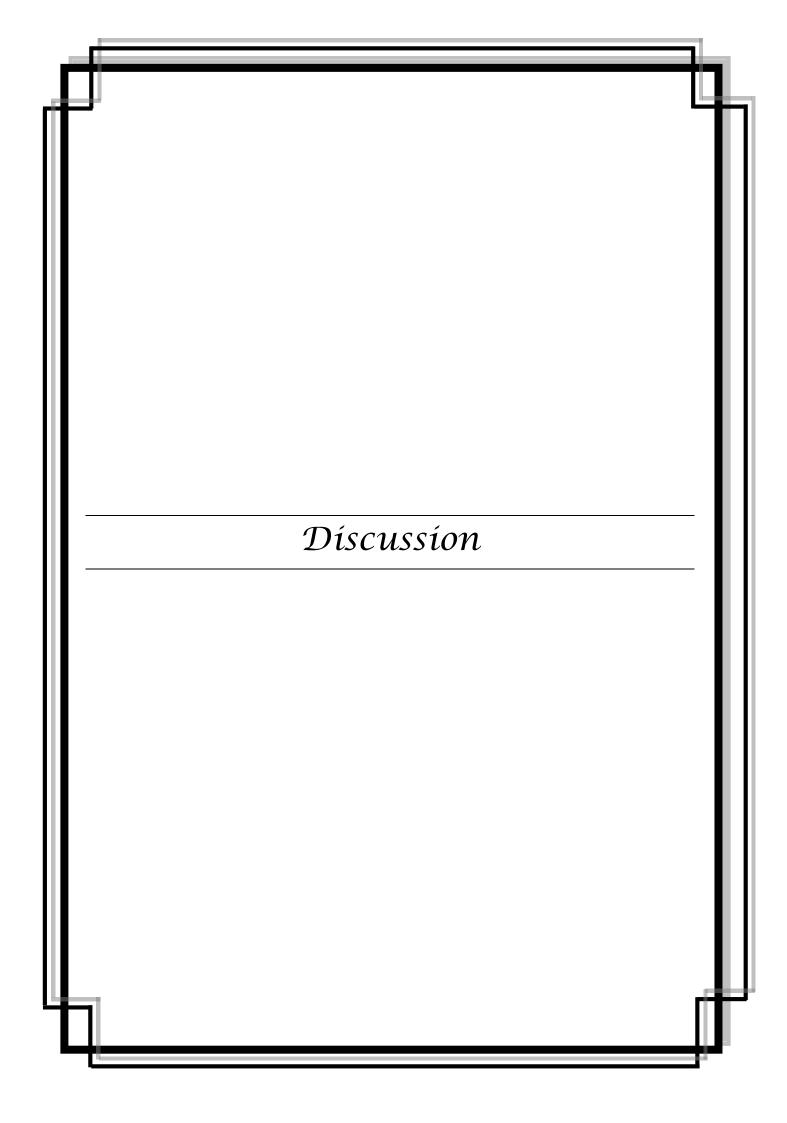
# Résultats

Concernant les analyses des streptocoques au niveau des eaux qui se trouvent au niveau du bioreacteur de la STEP de Tiaret, elle ont permis de dénombrer sur 16 échantillons hebdomadaires, une moyenne de 37386,72 UFC/ml.

Ainsi, ces bactéries sont des témoins assez résistants de contamination fécale, y compris dans les milieux salés (GAUJOUS, 1995).

Elles peuvent aussi se multiplier dans les milieux présentant des pH allant jusqu'à 9.6, par consequent, ells sont utilisées comme indicatrices d'organismes pathogènes qui présentent une résistance similaire au pH élevé (OMS, 1979).

Par ailleurs, pour *les staphylocoques aureus*, la moyenne de bacteries est legèrment élevée durant la deuxième semaine par rapport aux autres bacteries traitées durant cette periode.



Les interactions entre les algues et les bactéries sont connues depuis la fin du 19 ème siècle. Ainsi, c'est l'action antibactérienne des algues et notamment l'élimination des souches pathogènes, qui ont incitées à faire intervenir les microalgues dans des systèmes d'épuration comme les lagunages (RINGUELET, 1977).

De nombreux travaux montrent que les algues jouent des rôles clés dans le traitement biologique des eaux usées par lagunage, elles opèrent comme pourvoyeurs d'oxygène par le biais du processus photosynthétique. Ainsi, elles favorisent l'oxydation de la matière organique en s'associant sous forme symbiotique aux bactéries (HUMENIK et HANNA, 1971).

Elles peuvent même contribuer directement à l'élimination de certains dérivés organiques (ABELIOVICH et WEISMAN, 1978; PEARSON et *aL.*, 1987), elles assurent l'élimination, en partie, des sels nutritifs excédentaires dans les eaux résiduaires (KALISZ, 1973b; POULIOT et DELANOÜE, 1985; ERGASHEV et TAJIEV, 1986) et agissent comme bioabsorbants, contribuant à l'élimination des métaux lourds et autres produits toxiques véhiculés par ces eaux (BEKER, 1983).

Les résultats émanant de notre expérimentation indiquent que l'intégration de la culture des microalgues dans le bioréacteur durant la période d'étude aboutie a une forte réduction du nombre de bactéries indicatrices de la pollution fécale qui est arrivée a une élimination totale des *coliformes fécaux*, *coliformes totaux* et des *streptocoques*, et qui a atteint des valeur très faibles pour les *staphylococcus aureus*. Ces résultats sont similaires aux travaux de PARHAD et RAO (1974) et PEARSON et *al* (1987) qui affirment que les microalgues par leur activité biologique influencent négativement les conditions de vie de certaines bactéries pathogènes, conduisant ainsi à leur réduction en nombre et même leur disparition.

Nos résultats ont été ainsi similaires à ceux de BAHLAOUI *et al.*, (2000) qui ont constaté une périodicité annuelle de l'efficacité de l'élimination des coliformes fécaux dans un chenal algal à haut rendement, avec un abattement maximal en été. L'élimination de ces bactéries est due à la combinaison de plusieurs conditions qui leur sont défavorables et qui sont plus accentuées en été:

- La température du milieu a une action directe sur la survie des micro-organismes (MARA, 1980), la vitesse d'élimination des bactéries augmenterait, selon PEARSON *et al.*,

(1987) et OLUKANNI & DUCOSTE (2011), avec la température par augmentation de leur activité métabolique.

- Le rayonnement UV peut avoir une action directe sur l'élimination des germes indicateurs par leur action photochimique, induisant des dommages dans le matériel génétique des cellules, et empêchant ainsi leur reproduction. (PEARSON et al., 1987; KAPUSCINSKI & MICHELL, 1981; BENNEFONT *et al.*, 1990; ANONYME, 1996; ELHACHEMI, 2005 et OLUKANNI & DUCOSTE, 2011).
- Le facteur oxygène dissous pourrait revêtir également une importance quant à l'effet sur la viabilité des bactéries dans l'eau (PEARSON et al., 1987; OLUKANNI & DUCOSTE, 2011). La teneur en oxygène dissous dans une station de lagunage dépasse souvent la saturation et atteint ses valeurs maximales en été.
- De plus, l'importante prolifération algale en cette période de l'année (été) y contribue, et ce, par deux processus différents, à savoir : l'augmentation du pH par consommation du CO2 dissous dans l'eau (PEARSON et al., 1987;OLUKANNI & DUCOSTE, 2011) et la sécrétion de certaines substances bactéricides (AUBERT et AUBER, 1986). En effet, PEARSON *et al.*, (1987) rapportent que des valeurs de pH voisines de 9 favorisent la disparition des coliformes fécaux.

Selon BOUARAB (2000) et ELHACHEMI et al (2012), lors du passage de l'eau usée dans le bioréacteur, il y a un développement de bactéries dégradantes de la matière organique et de microalgues. Ces dernières, par le biais de la photosynthèse, consomment le CO<sub>2</sub> dissous dans l'eau aboutissant à une alcalinisation, selon l'équation (1) :

Eq (1): 
$$HCO_3^ H_2CO_2$$
  $H_2O + CO_2$ 

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent une augmentation dans le pH de l'eau usée à travers le temps, donc plus le développement phytoplanctonique est important, plus les valeurs du pH ont tendance à augmenter.

Ainsi, en période estivale, connue par une forte prolifération phytoplanctonique, le pH atteint des valeurs maximales de 10.85 au bout de 15 jours.

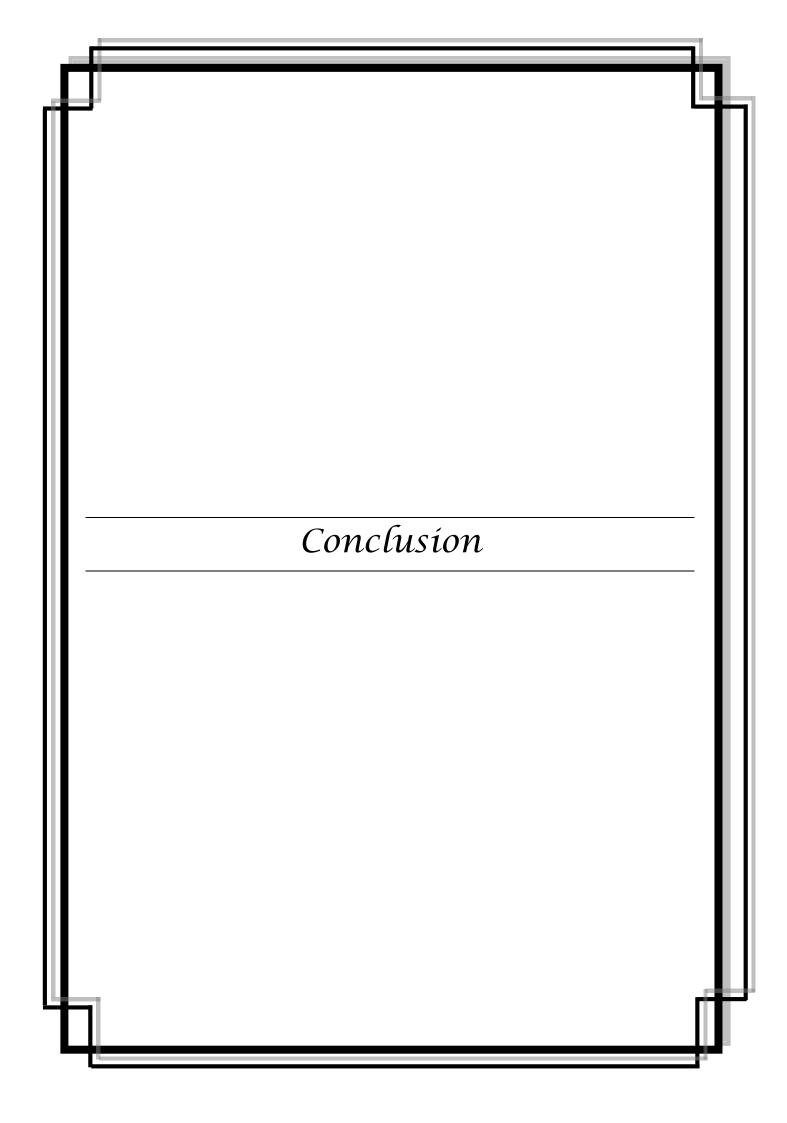
Plusieurs auteurs telsque: DAVOUST (1985), CHIFAA (1987), BOUARAB (2000) et FQIH BERRADA et *al* (2000), relient les variations de pH dans les bassins de stabilisation des eaux usées aux activités biologiques et biochimiques, notamment la photosynthèse.

# **Disucssion**

D'après PEARSON et al. (1987) et JAMES (1987), l'augmentation du pH par consommation du CO2 dissous dans l'eau rapporte que des valeurs de pH voisines de 9 favorisent la disparition des coliformes fécaux), et la sécrétion de certaines substances bactéricides (AUBERT et AUBER, 1986).

Les résultats obtenus dans ce travail révèlent que les températures de l'effluent traité se situent dans un intervalle qui va du minimum de 22°C au maximum de 34.5°C. Ces valeurs sont en fonction de l'heure de prélèvement et des conditions météorologiques. Par conséquent, la fluctuation de la température pendant la période d'étude est influencée par la température atmosphérique. Ces valeurs voisines de températures ambiantes favorisent l'élimination des bactéries pathogènes, ces résultats rejoignent les travaux de (KARATHANASIS *et al.*, 2003; DECAMP *et al.*, 1999) qui démentrent qu'une température élevée augmente l'élimination des microorganismes.

Cet effet peut s'expliquer de façon indirecte, par l'accroissement des populations de prédateurs. Au contraire, à faible température (inférieures à 3°C), Karathanasis (2003) observe une faible réduction des Coliformes fécaux. Il attribue cela à la faible activité métabolique des prédateurs microbiens. Notons cependant que de faibles températures influent également directement sur la population de coliformes fécaux en diminuant leur survie (KARATHANASIS *et al.*, 2003).



## Conclusion

Le présent travail de recherche aborde la problématique de traitement des eaux usées par une souche de microalgues dont les besoins en eau sont de plus en plus importants, face à une dégradation de cette ressource liée à la pollution de l'environnement et pour sa réutilisation en irrigation.

Nous nous sommes attachés dans la première partie de ce manuscrit à apporter les connaissances nécessaires sur le traitement biologique des effluents en décrivant les différents types de polluants existants. Le principe des procédés de traitement et leur caractéristiques de fonctionnement, le métabolisme bactérien, les risques sanitaires liés aux bactéries pathogènes qui se trouvent au niveau des eaux uses, une introduction et une généralité sur les microalgues, une description et une classification de ces dernières en plus de leur différentes vertus et leur impact positive sur l'environnent, quant aux bactéries, les eaux traitées issues de la STEP sont très chargées en *coliformes totaux*, *coliformes thermo tolérants*, *streptocoques fécaux* et *staphylocooccus aureus*.

Cependant, il est nécessaire, dans ce cas, pour évaluer d'avantage sa qualité d'étudier d'autres paramètres n'ayant pas fait l'objet de notre étude, à savoir: la salinité, le rapport d'absorption du sodium (RAS), les éléments traces (cadmium, aluminium, etc.) et les ions toxiques.

Certaines problématiques environnementales liées à notre utilisation actuelle des ressources naturelles, exigent que nous trouvions des sources alternatives (et plus écologiques) d'approvisionnement. Les microalgues se présentent donc candidates tout-à-fait légitimes.

Il est judicieux des signaler que la technique d'épuration des eaux usées par le biais de la souche des microalgues est un procédé très économique à faible côut.

Les résultats obtenus manifestent des rendements épuratoires satisfaisants pour l'élimination des bactéries pathogènes et en accord avec les normes de rejets des effluents de L'O.M.S.

Au cour de l'analyse microbiologique des eaux usées, les résultats obtenus révèlent la très grande efficacité de cette technique, quant à la diminution du nombre des microorganismes de 97%, elle varie d'un groupe à un autre mais d'une manière générale, un

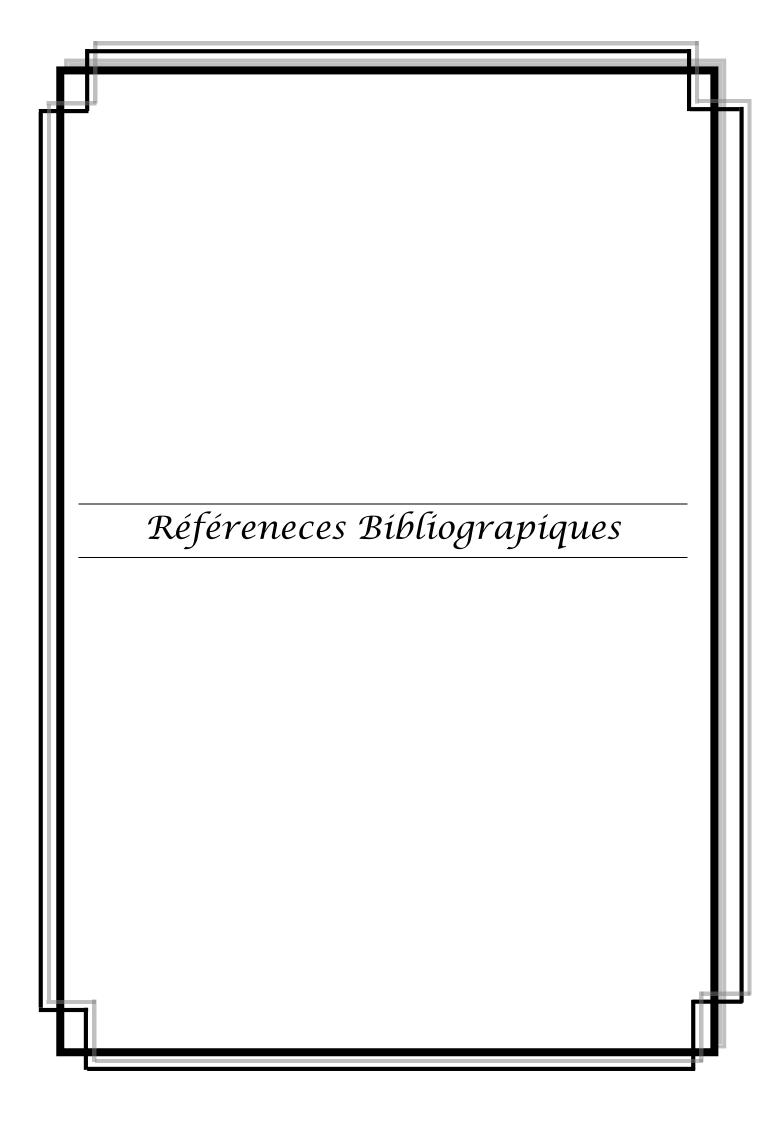
# Conclusion

tel traitement peut participer à l'élimination d'une quantité importante, parfois quasi totale des germes pathogènes.

La qualité de l'effluent filtré correspond aux normes de l'O.M.S pendant toute la durée de cet essai, ce qui permettra sa réutilisation en irrigation sans aucune restriction.

Ce traitement est donc très éfficace et contribue à la réduction des traitements chimiques en favorisant l'épuration à l'aide de larsenal biologique, surtout pour l'élimination des germes pathogènes et micro-organismes résistants à ce type de désinfectant.

Il serait donc très important de mener une étude s'étalant sur un plan plus large en se basant sur l'identification de differentes souches de microalgues et concevoir une certaine efficacité de pouvoir éliminer des bacteries pathogènes specifiques.



- Adjouj, K. (2013). Etude Expérimentale de l'Influence de la Concentration de la Biomasse sur le Rendement Epuratoire des Bassins Biologiques. Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en Hydraulique. Université des Sciences & Technologie d'Oran (USTO MB)
- Allouche.F, Lamri.D, et Zahf,F, (1999). « Surveillance de la qualité bactériologique et physico-chimique des eaux de contamination niveau des trois communes : Ali boussid,Saby, Ben Badis, wilaya de Sidi Bel Abbes », mémoire de fin d'étude d'ingénieur d'état en biologie, Université de sidi belabes
- Atab.S. (2011). Amelioration de la qualite microbiologique des eaux epurees par boues activees de la station d'epuration haoud berkaoui par l'utilisation d'un filtre a sable local. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de magister en Microbiologie appliquée. Universite kasdi merbah-ouargla
- Amy G, Debroux J.F, Arnold R Et Wilson L.G. (1996)-Preozonation for enhancing the biodegradability of wastewater effluent in a potable-recovery soil aquifer treatment (SAT) system. Rev. Sci. Eau, 9, pp 365-380
- Andersen, R (2005), Algal culturing techniques Elsevier academic press, 578.
- **Andersen R.A., (1992),** Diversity of eukaryotic algae. Biodiversity and Conservation, 1(4), 267–292.
- **Apha, Awwa Et Wef (1998),** Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association et Water Environment Federation, 20e édition, pagination multiple.
- **Archibald, F (2000),** The presence of coliform bacteria in Canadian pulp and paper mill water systems a cause for concern? Water Qual Res J. Canada, 35:1-22.
- Aulicino E. A., Mastrantonio A., Orsini E, Bellucci C., Muscillo M. & Larosa G., (1996). Enteric viruses in a wastewater treatment plant in Rome. Water, Air, and Soil Pollution, 91: 327-334.
- **AZIBI, M. (2015),** Utilisation de la biodiversité végétale aquatique dans bio-surveillance de la qualité des eaux usèe. Cas de la station d'épuration de Tiaret. Mémoire de fin D'étude de master 2 En Sciences Biologiques. Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

- **AWWA (1990)** Water quality and treatment. American Water Works Association, 4e édition, 1194 p.
- Barthe, C., J. Perron et J.M.R. Perron (1998) Guide d'interprétation des paramètres microbiologiques d'intérêt dans le domaine de l'eau potable. Document de travail (version préliminaire), ministère de l'Environnement du Québec, 155 p. + annexes.
- **Bassompierre Cindy**. **(2007).** procédé à boues activées pour le traitement d'effluents papetiers : de la conception d'un pilote a la validation de modèles. Thèse Doctorat Institut National Polytechnique De Grenoble, pp 25-42.
- **Becker E. W., 1994.** Microalgae Biotechnology and microbiology. Cambridge Press University.
- Becker, K., Harmsen, D., Mellmann, A., Meier, C., Schumann, P., Peters, G., & von Eiff, C. (2004). Development and evaluation of a quality-controlled ribosomal sequence database for 16S ribosomal DNA-based identification of Staphylococcus species. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(11), 4988-4995. doi: 10.1128/JCM.42.11.4988-4995.2004
- Bélair, Viviane, Nicolas Bertrand et Mohammed Benyagoub. 2012. "Aspects technologique et commercial de la valorisation industrielle des microalgues dans les secteurs nutraceutique et énergétique". CRIBIQ Consortium de recherche et innovations en bioprocédés industriels au Québec. Document d'infonnation, 130 p.
- **Belhamdi M. S. O., 2011.** Etude de la biodegradation du 2,4-dichlorophénom pat le microbiote des effluents d'entrée et de sortie de la station d'épuration des eaux usées d'ibn Ziad. Mémoir en vue de l'obtention du de magister en microbiologie appliquée et biotechnologie microbienne. Université Mentouri-coostantine.
- **Benemann J., Woertz I., 2012.** Life Cycle Assessment for Microalgae Oil Production, 1(2), 68–78.
- **Bhattacharya, Debashish et Linda Medlin. 1998**. "Update on Evolution -Algal Phylogeny and the Origin of Land Plants". Plant Physiology, vol. 116, p. 9-1 5.
- Bigogno, C., Khozin-Goldberg, I., Adlerstein, D., Cohen, Z., 2002. Biosynthesis of arachidonic acid in the oleaginous microalga Par-ietochloris incisa (Chloropyceae): Radiolabeling studies. Lipides 37, 209–216.
- **Bitton, G. (1999),** Wastewater Microbiology. John Wiley & Sons, 578 p.

- **Bliefert C., Perraud R., [2001].** Chimie de l'environnement. Air, Eau, Sol, Déchets. De Boeck. Bruxelles. 477 p.
- Barsanti, Laura et Paolo Gualtieri. 2006. « Algae Anatomy, biochemistry, and biotechnology ». CRC Press, Taylor & Francis Group. 301 p.
- Bock, C., Pröschold, T. & Krienitz L. 2011 (in press): Updating the genus Dictyosphaerium and description of Mucidosphaerium gen. nov. (Trebouxiophyceae) based on morphological and molecular data. J.Phycol.
- **Borowitzka, M.A. (1999)** *Commercial production of microalgae: ponds, tanks, and fermenters.* Progress in Industrial Microbiology, 35. pp. 313-321.
- **Brière F.-G., 1994.** Distribution et collecte des eaux; Éditions de l'École Polytechnique de Montréal, Montréal, Canada.
- Camper, AK, GA McFetters, WG Characklis et WL Jones (1991), Growth kinetics of coliform bacteria under conditions relevant to drinking water distribution systems. Appl. Env. Microbiol, 57: 2233-2239.
- Campos C., (2008). New perspectives on microbiological water control for wastewater r euse. *Désalination*, 218: 34–42.
- Cardot C., (1999). Les traitements de l'eau. Procédés physico-chimiques et biologiques. Ellipses Edition Marketing S.A.
- Ceaeq (2009b), Recherche et dénombrement simultané des coliformes fécaux et d'Escherichia coli dans l'eau potable avec le milieu de culture MI; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 20 p.
- **CEAEQ (2000)** Recherche et dénombrement des coliformes fécaux; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 24 p.
- Céline Pernin, (2003). Épandage de boues d'épuration en milieu sylvo-pastoral. Étude des effets in situ et en mésocosmes sur la mésofaune du sol et la décomposition d'une litière de chêne liège (Quercus suber L.) Ecole doctorale: Sciences de l'environnement, MARSEILLE (AIX-MARSEILLE III).

- Charrière, G., D.A.A. Mossel, P. Beaudeau et H. Leclerc (1994), Assessment of the marker value of various components of the coli-aerogenes group of Enterobacteriaceae and of a selection of Enterococcus spp. for the official monitoring of drinking water supplies. Journal of Applied Bacteriology, 76: 336-344.
- Chen, C., Tang, J., Dong, W., Wang, C., Feng, Y., Wang, J., Zheng, F., Pan, X., Liu, D., Li, M., Song, Y., Zhu, X., Sun, H., Feng, T., Guo, Z., Ju, A., Ge, J., Dong, Y., Sun, W., Jiang, Y., Wang, J., Yan, J., Yang, H., Wang, X., Gao, G. F., Yang, R., Wang, J., & Yu, J. (2007). A glimpse of streptococcal toxic shock syndrome from comparative genomics of S. suis 2 Chinese isolates. *PloS One*, 2(3), e315. doi: 10.1371/journal.pone.0000315.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. [Review]. Biotechnol Adv, 25(3), 294-306. doi: 10.1016/j.biotechadv.2007.02.001
- Clausen, EM, BL Green and W Litsky (1977), Fecal streptococci: indicators of pollution. Dans: Hoadley, AW et BJ Dutka, édit., Bacterial Indicators/Health hazards associated with water. American Society for Testing and Materials, ASTM STP 635, pp.: 247-264.
- Craun, GF, PS Berger et RL Calderon (1997), Coliform bacteria and water borne disease outbreaks. Journal of the American Water Works Association, 89(3): 96-104.
- **Degremont, 1978.** Mémento technique de l'eau : 7<sup>ème</sup> édition. Edition Technique et Documentation Lavoisier.
- Dekhil, S. W. Zaibet, M. (2012). Traitement des eaux usées urbaines par boues activées au niveau de la ville de Bordj Bou Arreridj en Algérie effectué par la station d'épuration des eaux usées ONA. Mémoire Master en chimie et microbiologie de l'eau. Université Mohamed El Bachir Elibrahimi. Bordj Bou-Arréridj.
- **Devriese** *et al.* **(1998),** Differentiation between Streptococcus gallolyticus strains of human clinical and veterinary origins and Streptococcus bovis from the intestinal tracts of ruminants. Journal of Clinical Microbiology, 38: 3520-3523.
- Devaux I, (1999). Intérêts et limites de la mise en place d'un suivi sanitaire dans le cadre de la réutilisation agricole des eaux usées traitées de l'agglomération clermontoise. Thèse «Sciences de la Vie et de la Santé », univ. Joseph Fourier, Grenoble, 257 p.

- **Direction de l'environnement.** (1990)., Les stations d'épuration d'effluents domestiques. Ed.
- Ministère de l'intérieur. 24p.
- Djeddi H., 2007. Utillisation des eaux d'une station d'épuration pour l'érrigation des essences forestières urbaines. Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Ecologie et Environnement. Université Mentouri Constantine.
- **Dugniolle H, (1980)**. L'assainissement des eaux résiduaires domestiques, CSTC revue n° 3- septembre, pp. 44-52.
- **Eckenfelder W.W.** (1982)., Gestion des eaux usées urbaines et industrielles. Ed. Lavoisier. Paris, 503p.
- **Ecosse D, (2001).** Techniques alternatives en vue de subvenir à la pénurie d'eau dans le monde. *«Qualité et Gestion de l'Eau »*, Fac. Sciences, Amiens, 62 p.
- **Eisenstein, B. I. (2008).** Treatment challenges in the management of complicated skin and soft-tissue infections. *Clinical Microbiology and Infection : The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 14 Suppl 2,* 17-25. doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.01922.x
- Edberg, SC, EW Rice, RJ Karlin et MJ Allen (2000), Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. Journal of Applied Microbiology, 88: 106S-116S.
- Edberg, SC, H LeClerc et J Robertson (1997), Natural protection of spring and well drinking water against surface microbial contamination. II indicators and monitoring parameters for parasites. Critical Reviews in Microbiology, 23: 179-206.
- Edmond, MB, JF Ober, DL Weinbaum, MA Pfaller, T Hwang, MD Sanford et RP Wenzel (1995), Vancomycin-resistant Enterococcus faecium bacteremia: risk factors for infection. Clinical Infectious Diseases, 20: 1126-1133.
- Facklam, RR, DF Sahm et LM Teixeira (1999), Enterococcus. Dans Murray, PR, EJ Baron, MA Pfaller, FC Tenover et RH Yolken., éds. (1999) Manual of clinical microbiology, American Society for Microbiology, pp.:297-305.

- **Farrow, J.A.E.** *et al.* **(1984),** Taxonomic studies of S. bovis and S. equinus: description of S. alactolyticus sp. no. and. S. saccharolyticus sp. nov. Systematic and Applied Microbiology, 5: 467-482.
- Fattal, B, RJ Vasl, E Katzenelson et HI Shuval (1983) Survival of bacterial indicators organisms and enteric viruses in the Mediterranean coastal waters off Tel-Aviv. Water Research, 17: 397-402.
- Fridkin, S. K., Hageman, J. C., Morrison, M., Sanza, L. T., Como-Sabetti, K., Jernigan, J. A., Harriman, K., Harrison, L. H., Lynfield, R., & Farley, M. M. (2005). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus disease in three communities. *The New England Journal of Medicine*, 352(14), 1436.
- Gennaccaro A.L., McLaughlin M.R., QuinteroBetancourt W., Huffman D.E. & Rose J.B., (2003). Infectious Cryptosporidium parvum oocysts in final reclaimed effluent. *Applied* and *Environmental Microbiology*, 69: 4983–4984.
- Gleeson, C. et N. Gray (1997), The coliform index and waterborne disease. E & FN Spoon, 194 p.
- Goldstein, E. J., Citron, D. M., Wield, B., Blachman, U., Sutter, V. L., Miller, T. A., & Finegold, S. M. (1978). Bacteriology of human and animal bite wounds. *Journal of Clinical Microbiology*, 8(6), 667.
- **Goodman, RA, HB Greenberg, TE McKinley et JD Smith (1982)** Norwalk gastroenteritis associated with a water system in a rural Georgia community. Archives of Environmental Health, 37: 358-360.
- Grosclaude, Gérard, dir. (1999) L'eau, tome 1 : Milieu naturel et maîtrise et tome 2 : Usages et polluants. Versailles, Institut National de la recherche Agronomique (Coll. « Un point sur ... »), 204 p. et 210 p. (ISBN 2-7380-0855-0 et 2-7380-0864-X).
- Glanic R et Benneton J-P, (1989). Caractérisation d'effluents d'assainissement individuel et essais de matériels d'assainissement autonome TSM L'eau 84 année N 11 pp. 573-584.
- Grosclaude G., 1999. L'eau : usage et polluants. Edition INRA, 210p.

- Hancock, LE et MS Gilmore (2000), Pathogenicity of entorococci. Dans: Fischetti, VA, RP Novick, JJ Ferretti, DA Portnoy et JI Rood, édit., Gram positive pathogens. American Society for Microbiology, pp.:251-258.
- Harun R., Danquah M. K., Forde-Gareth M. (2010). Microalgal biomass as a fermentation feedstock for bioethanol production. J. Chem. Technol. Biotechnol. 85, 199–20310.1002/jctb.2287.
- Haslay, C. et H. Leclerc (1993), Microbiologie des eaux d'alimentation. Lavoisier Tec
   & Doc, Paris, 495 p.
- **Heidenwaga, I., Langheinricha, U. and Lüderitza, V. 2001.** Self-purification in upland and lowland streams. Acta Hydrochim. Hydrobiol. 29-1, 22-33.
- LeChevallier, MW, NJ Welch et DB Smith (1996), Full-scale studies of factors related to coliform regrowth in drinking water. Appl. Environ. Microbiol, 62: 2201-2211.
- Letterman, R.D. (1999) Water Quality and treatment; a handbook of community water supplies. American Water Works Association, McGraw-Hill, 1050 p.
- Locas, A, C Barthe, AB Margolin et P Payment (2008), Groundwater microbiological quality in Canadian drinking water municipal wells. Canadian Journal of Microbiology, 54: 472-478.
- Lorch H-J., (1994). Wirkung anthropogener Stressoren auf die Trophie und Saprobie. In: Gunkel G (ed) Bioindikation in aquatischen Okosystemen, 177-183.
- Kluytmans, J., van Belkum, A., & Verbrugh, H. (1997). Nasal carriage of Staphylococcus aureus: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(3), 505-520.
- Kummert R . et Stumm W. (1989). Gew/isser als Okosysteme. Grundlagen des nGew/isserschutzes. vdf - Verlag der Fachvereine, ZiJrich und Verlag B.G. Teubner, Stuttgart.
- Le Loir, Y., Baron, F., & Gautier, M. (2003). Staphylococcus aureus and food poisoning. *Genetics and Molecular Research : GMR*, 2(1), 63-76.
- Li, Y., M. Horsman, B. Wang, N. Wu & C. Q. Lan (2008) Effects of nitrogen sources on cell growth and lipid accumulation of green alga Neochloris oleoabundans. *Appl Microbiol Biotechnol*, 81, 629-36.

- Li, Y., M. Horsman, N. Wu, C. Q. Lan & N. Dubois-Calero (2008b) Biofuels from microalgae. *Biotechnol Prog*, 24, 815-20.
- Lopes, F., 2012. Utilisation de systèmes mixtes contenant des microalgues pour le traitement d'eaux usées domestiques, «http://www.lgpm.ecp.fr/lgpm/ContentPage\_17198\_axes\_de\_recherche/biotechnologies» (consulté le13 mars 2017).
- Madani, TAA, A Kabani, P Orr et L Nicolle (1999), Enterococcal bacteremia in a tertiary care centre in Winnipeg. Canadian Journal of Infectious Diseases, 10: 57-63.
- **Milledge J., 2011.** Commercial application of microalgae other than as biofuels: a brief review. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 10(1), 11.
- Miller, L. G., Perdreau-Remington, F., Rieg, G., Mehdi, S., Perlroth, J., Bayer, A. S., Tang, A. W., Phung, T. O., & Spellberg, B. (2005). Necrotizing fasciitis caused by community-associated methicillin-resistant Staphylococcus aureus in Los Angeles. *The New England Journal of Medicine*, 352(14), 1445.
- **Moussa Moumouni Djermakoye H. (2005).** Les eaux résiduaires des tanneries et des teintureries. Caractérisation physico-chimiques, bactériologiques et impact sur les eaux de surfaces et les souterraines. Thèse Doctorat. Université de Bamako, pp 29.
- Muller-feuga A., Moal J., Kaas R., 2003. The aquaculture of microalgae. In L.A. McEvoy & J.G. Stottrup (Ed.), Live feeds in marine aquaculture (pp. 206–252). London, UK: Wiley-Blackwell.
- Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., Pfaller, M. A., & Yolken, R. H. (Eds.). (2003). Manual of Clinical Microbiology (8th ed.). Herdon, VA, United States of America: American Society for Microbiology.
- **OMS (2000)**, Directives de qualité pour l'eau de boisson; volume 2 critères d'hygiène et documentation à l'appui. Organisation mondiale de la Santé, 2e édition, 1050 p.
- **OMS (1994)** Directives de qualité pour l'eau de boisson; volume 1 recommandations. Organisation mondiale de la Santé, 2e édition, 202 p.
- **Ostroumov S. A. (2008).** Basics of the molecular-ecological mechanism of water quality formation and water self-purification. Contemporary problems of ecology. *Pleiades Publishing* **1:** 147–152.

- **PAPAIACOVOU I. (2001)**-Case study- wastewater reuse in Limassol as an alternative water source, Desalination 138, pp 55-59.
- Parsonnet, J., Hansmann, M. A., Delaney, M. L., Modern, P. A., DuBois, A. M., Wieland-Alter, W., Wissemann, K. W., Wild, J. E., Jones, M. B., & Seymour, J. L. (2005). Prevalence of toxic shock syndrome toxin 1-producing Staphylococcus aureus and the presence of antibodies to this superantigen in menstruating women. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(9), 4628.
- **Paulsrud B et HARALDSEN S, (1993).** Expériences with the Norvegian approval system for small waste water treatment plants. Wat. Sc. Techn., vol. 28, n° 10, pp. 25-32.
- **Payment, P et A Locas (2011),** Pathogens in water: value and limits of correlation with microbial indicators. Ground Water, 49: 4-11.
- **Pelmont J., (2005)**. Biodégradations et métabolismes : Les bactéries pour les technologi es de l'environnement. EDP Sciences Editions, 10, 11.
- Pourcher, AM, LA Devriese, JF Hernandez et JM Delattre (1991), Enumeration by a
  miniaturized method of Escherichia coli, Streptococcus bovis and enterococci as
  indicators of the origin of faecal pollution of waters. Journal of Applied Bacteriology, 70:
  525-530.
- Prescott, Harley Et Klein. (2007)-Microbiologie. 2ème Edition de Boeck, Paris, pp 837-855.
- Proschold Thomas et Frederik Leliaert. 2007. "Chap.7 Systematics of the green algae: conflict of classic and modern approaches" In Brodie, Juliet et Jane Lewis. (2007).
   «Unravelling the algae the past, present and future of algal systematics ». CRC Press, Taylor & Francis Group. The Systematics Association.
- **Pulz, O., & Gross, W. (2004).** Valuable products from biotechnology of microalgae. [Review]. Appl Microbiol Biotechnol, 65(6), 635-648. doi: 10.1007/s00253-004-1647-x Pulz, O., & Gross, W. (2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. [Review]. Appl Microbiol Biotechnol, 65(6), 635-648. doi: 10.1007/s00253-004-1647-x
- **Rejsek F., 2002.** Analyse de l'eau : Aspects et règlementaire et technique .Ed CRDP d'Aquitaine .France : 358 p.

- Reusch, M., Ghosh, P., Ham, C., Klotchko, A., Singapuri, S., & Everett, G. (2008). Prevalence of MRSA colonization in peripartum mothers and their newborn infants. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 40(8), 667-671.
- **Richmond A., (2004)** Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Blackwell Science Ltd.
- **Robert A. Andersen** « Algal Culturing Techniques » 1st Edition: Academic Press; imprint of Elsevier; 21st January 2005
- Robertson, W (1995), Utilités et limites des indicateurs microbiologiques de la qualité de l'eau potable. Dans : Air intérieur et Eau potable, sous la direction de Pierre Lajoie et Patrick Levallois, Presses de l'Université Laval, p. 179-193.
- **Ruoff, K.** *et al.* (1989), Bacteremia with Streptococcus bovis and Streptococcus salivarius: clinical correlates of more accurate identification of isolates. Journal of Clinical Microbiology, 27: 305-308.
- Salghi R., (2001) Différentes filières de traitement des eaux, ed univ IZ Rabat, p.22.
- **Santé Canada (2012),** Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada; document technique, les coliformes totaux www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt\_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/water-eau/coliforms-coliformes/coliforms-coliformes-fra.pdf
- Simmons, G., V. Hope, G. Lewis, J. Whitmore et W. Gao (2001), Contamination of potable roof-collected rainwater in Auckland, New Zealand. Water Research, 35: 1518-1524.
- **Sharma Naveen Kumar, Rai A.K., 2011.** Biodiversity and biogeography of microalgae: progress and pitfalls, 15, 1–15.
- **Spendlove, J. C., & Fannin, K. F. (1983)**. Source, significance, and control of indoor microbial aerosols: human health aspects. *Public Health Reports*, *98*(3), 229.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. & Isambert, A. (2005). Commercial applications of microalgae. Journal of bioscience and bioengineering 101:2, 87-96.
- Stevens, A. M., Hennessy, T., Baggett, H. C., Bruden, D., Parks, D., & Klejka, J.
   (2010). Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Carriage and Risk Factors for Skin Infections, Southwestern Alaska, USA. *Emerging Infectious Diseases*, 16(5), 797.

- **Sialve, B. Steyer, J. P. (2013)**. Les microalgues, promesses et d'efis. Innovations Agronomiques, INRA, 26, pp.25-39.
- Sirois, L. (2013). Changements physiologiques chez les microalgues vertes menant à la biosynthèse de caroténoïdes. Mémoire présenté comme exigence partielle de la maîtrise en sciences de l'environnement. Unnersité du québec à montréal.
- **Toze S., (2006)**. Reuse of effluent water benefits and risks, *Agricultural Water Management*, **80:** 147–159.
- **Toze S., (1999).** PCR and the detection of microbial pathogens in water and wastewaters. *Water Resources.* **33**: 3545–3556.
- Van Belkum, A., Emonts, M., Wertheim, H., de Jongh, C., Nouwen, J., Bartels, H., Cole, A., Cole, A., Hermans, P., Boelens, H., Toom, N. L., Snijders, S., Verbrugh, H., & van Leeuwen, W. (2007). The role of human innate immune factors in nasal colonization by Staphylococcus aureus. *Microbes and Infection / Institut Pasteur*, 9(12-13), 1471-1477. doi: 10.1016/j.micinf.2007.08.003
- Who (2011), Guidelines for drinking-water quality, Third edition incorporating the first and second addenda, volume 1, Recommendations. www.who.int/water sanitation health/dwq/gdwq3rev/en
- **Who (1993)**, WHO guidelines for drinking water quality. Vol. 1 recommendations, pp.: 8-29.
- **Zmirou, D, JP Ferley, JF Collin, M Charrel et J Berlin (1987)** A follow-up study of gastro-intestinal diseases related to bacteriologically substandard drinking water. American Journal of Public Health, 77: 582-584.

### Résumé

L'eau est une denrée de plus en plus rare en Algérie et de moins en moins renouvelable. Elle subit diverses pollutions et dégradations. Ce travail a pour but d'étudier la possibilité d'utiliser des micro-algues placées dans un bioréacteur des eaux usées brutes d'une station d'épuration pour tester ces dernières et mettre en valeur leur pouvoir épurateur. L'objectif est de quantifier quelques bactéries pathogènes à savoir: (Coliformes totaux, Coliformes fécaux, Staphylococcus aureus et les streptocoques) à fin de valoriser cette diversité biologique des algues dans le domaine d'épuration des eaux usées, qui peuvent être utilisées dans l'agriculture. Les résultats obtenus à travers les analyses microbiologiques montrent une élimination complète des différentes bactéries par ces microalgues. En conclusion, les microalgues peuvent être exploitées dans l'épuration des eaux usées pour protéger l'environnement d'une manière générale et les ressources hydriques d'une manière spécifique.

Mots clé : Eaux usées, épuration, microalgues, bactéries, micro-organismes.

## **Abstract**

Water is a commodity that is increasingly rare in Algeria and less and less renewable. It is subject to various pollution and degradation. The purpose of this work is to study the possibility of using micro algae placed in a raw water bioreactor of a sewage treatment plant to test the latter and to highlight their purifying power. The objective is to quantify some pathogenic bacteria, namely: (total coliforms, faecal coliforms, Staphylococcus aureus and streptococci) in order to exploit this algal biological diversity in the field of waste water treatment, which can be used in Agriculture. The result obtained through the microbiological analyzes show a complete elimination of the various bacteria by these microalgae.

In conclusion, microalgae can be exploited in wastewater treatment to protect the environment in general and water resources in a specific way.

Key words: wastewater, purification, microalgae, bacteria, microorganisms.

الملخص

الماء هو مادة نادرة على نحو متزايد في الجزائر وأقل تجددا. فإنه يخضع للعديد من الملوثات. تهدف هذه المذكرة إلى دراسة إمكانية إستخدام طحالب مجهرية موضوعة في مفاعل حيوي لمياه الصرف الصحي لمحطة معالجة المياه لإختبار قدرة هته الأخيرة على تطهير المياه. الهدف من ذلك هو تحديد كمية بعض أنواع البكتيريا المسببة للأمراض وهي: (مجموع القولونيات، القولونيات البرازية، المكورات العنقودية الذهبية والعقد المكورة) لتثمين هذا التنوع البيولوجي للطحالب في مجال معالجة مياه الصرف الصحي، والتي يمكن استخدامها في الزراعة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من خلال التحاليل الميكر وبيولوجية القضاء التام على البكتيريا المختلفة عن طريق هذه الطحالب. وفي الأخير نستنتج أنه يمكن إستغلالها في معالجة مياه الصرف الصحي لحماية البيئة بطريقة عامة والموارد المائية بطريقة خاصة.

الكلمات المفتاحية: مياه الصرف الصحي، تطهير المياه، الطحالب الدقيقة، البكتيريا، الكائنات المجهرية.