

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoune –Tiaret-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département Des Sciences de la Nature et de la Vie

THÈSE

Présentée par :

M^{me} KHALDI Habiba

En vue de l'obtention du diplôme de :

DOCTORAT LMD

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Écologie et Préservation des Écosystèmes Terrestre

THÈME

Étude de possibilité d'épuration des eaux usées par un mélange Boues- micro-algues. Cas de la Station d'Épuration de Tiaret (Algérie)

Study of the possibility for purification of the wastewater by a mixture: sludge-microalgae. Case of the sewage treatment plant of Tiaret

Soutenue le / /2017

Devant le jury composé de :

Président : M. DELLAL Abdelkader professeur à l'université Ibn Khaldoun –Tiaret-

Examineurs :

M. BEKADA Mohamed Ahmed, Professeur.....Centre Universitaire de Tissemsilt.

M. BEGHALIA Mohamed, Professeur.....Centre Universitaire de Tissemsilt.

M^{me} OULBACHIR Karima MCA.....Université Ibn Khaldoun –Tiaret-

Directeur de thèse:

M. MAATOUG Mhamed, Professeur.....Université Ibn Khaldoun-Tiaret

Directeur de thèse à l'étranger :

M. TANDLICH Roman, PhD Senior Lecturer..... Faculty of Pharmacy Rhodes University. Grahamstown. South Africa.

Invité d'honneur :

M. BOUCHENA Youcef.....Office National d'Assainissement, Tiaret

Cette étude a été financée par la DGRSDT (Laboratoire d'Agro -Biotechnologie et de Nutrition en Zones Semi-arides, Université de Tiaret) et la NRF (Environmental Health and Biotechnology Research Group, Division of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy. Rhodes University, South Africa) dans le cadre d'un Projet Intergouvernemental Algérie-Afrique du Sud, intitulé : Valorization & sustainable management of sludge residues from the waste water treatment plant of the city of Tiaret (Algeria) & Makana (South Africa)

2017/2018

Remerciements

J'aimerais tout d'abord remercier Allah le tout puissant qui m'a donné l'envie et la force pour mener à terme ce travail.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire d'Agro -Biotechnologie et de Nutrition en Zones Semi-arides, à l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret et Environmental Health and Biotechnology Research Group, Division of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy. Université de Rhodes, Afrique du Sud

Je voudrais bien évidemment remercier très sincèrement Monsieur le professeur MAATOUG Mhamed de l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret, qui a été l'initiateur de cette thèse et mon Directeur de thèse durant toutes ces années ainsi que Monsieur le professeur ROMAN Tandlich de l'université de Rhodes, Afrique du sud pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et avoir codirigé ma thèse. Je voudrais les remercier pour leurs qualités humaines et pour m'avoir apporté toute leur énergie et leur dynamisme pour faire de la recherche. Toutes leurs qualités ainsi que leur savoir dans des domaines scientifiques très diversifiés ont fortement contribué à la réalisation de ce travail.

Je voudrais remercier Monsieur le professeur DELLAL Abdelkader de l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret pour avoir bien voulu accepter de présider le jury de cette thèse.

Je tiens également à remercier Monsieur le professeur BEGHALIA Mohamed de centre universitaire de Tissemsilt, d'avoir bien voulu user de son temps pour juger ce travail et participer au jury de cette thèse.

J'adresse aussi mes vifs remerciements à Monsieur le professeur BEKADA Mohamed Ahmed de centre universitaire de Tissemsilt, pour avoir accepté d'être membre du jury de cette thèse pour examiner ce travail.

Je tiens à remercier chaleureusement madame OULBACHIR Karima Maitre de Conférence « A » à l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret, de bien voulu examiner ce travail et participer au jury de cette thèse.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur le directeur de la station d'épuration des eaux usées de Tiaret, de m'avoir autorisé d'accéder et d'installer le dispositif expérimentale au niveau de la station, ainsi que tout son personnel qui mon facilité le travail.

Je voudrais remercier très sincèrement Monsieur Richard Laubscher directeur de la station d'épuration des eaux usées à Grahamstown Afrique du sud, pour m'avoir accueilli

dans son laboratoire pour faire les caractérisations physico-chimiques, ainsi que tout son groupe de travail.

Je tiens aussi à remercier tous les enseignants de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret qui ont contribué à notre formation, ainsi que le personnel de l'université pour leur aide.

Je voudrais adresser mes remerciements à mes parents, à toute ma famille, à mes amis et à tous ceux qui me sont chers, pour m'avoir toujours encouragé et s'être inquiétés du bon déroulement de mes études.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

*Mon mari qui ma appris l'amour de la science et la
persévérance.*

*Ma mère pour sa tendresse et son encouragement pendant
toute ma vie.*

Ma petite Ibtihal Nadia

Mes chers frères et sœurs.

A toute ma famille, à tous mes amis (es).

Tous ceux qui me sont chers.

Liste des figures

Chapitre I

Fig.I.1. Composition de la boue activée	p8
Fig.I.2. Schéma de principe de la mise en œuvre des micro-organismes en aérobiose.	p12
Fig.I.3. Schéma de principe de la mise en œuvre des micro-organismes en anaérobiose.	p13
Fig.I.4. Schéma de traitement et élimination des boues.	p16
Fig.I.5. Schéma simplifié d'un système à boues activées.	p18
Fig.I.6. Schéma de fonctionnement d'une station d'épuration à Lit Bactérien.	p20
Fig.I.7. Schéma de fonctionnement d'une station d'épuration à disque biologique.	p21
Fig.I.8. Schéma de fonctionnement d'une station d'épuration à biofiltres.	p22
Fig.I.9. Schéma de fonctionnement d'une station d'épuration à lits d'infiltration- percolation sur sable.	p25
Fig.I.10. Schéma d'un filtre planté à écoulement vertical utilisé pour l'épuration des eaux usées.	p27
Fig.I.11. Schéma d'un filtre planté à écoulement horizontal utilisé pour l'épuration des eaux usées.	p28
Fig.I.12. Schéma de mécanisme en jeu dans les bassins de lagunage naturel.	p32

Chapitre II

Fig.II.1. Ultra-structure de <i>Chlamydomonas</i> .	p38
Fig.II.2. Ultra-structure de cyanobactérie.	p39
Fig.II.3. Courbe de croissance théorique d'une population de micro-algues en fonction du temps, d'après Richmond (2007) . 1 : phase de latence, 2 : phase d'accélération, 3 : phase exponentielle, 4 : phase stationnaire, 5 : phase de déclin.	p46
Fig.II.4. Activité photosynthétique en fonction de l'intensité lumineuse	p47
Fig.II.5. Production de biogaz à partir des micro-algues	p59
Fig.II.6. Processus de traitement des eaux par des micro-algues.	P60
Fig.II.7. Processus impliqué dans un étang algal à haut rendement.	p62

Chapitre III

Fig.III.1. Formule développée du triclosan	p72
Fig.III.2. Grille d'échantillonnage des boues utilisée pour collecter des échantillons de boues d'épuration à la station d'épuration de Grahamstown (points rectangulaires) et à Tiaret (tous les points de la grille d'échantillonnage).	p79

- Fig.III.3.** Courbe d'étalonnage du dépistage immunologique pour le TCS dans des échantillons de boues basés sur le kit Abraxis Triclosan. Le point de données individuel est présenté comme une moyenne de 3 mesures répliquées avec des barres d'erreur représentant les écarts types pour l'absorbance (axe des y) et la concentration de TCS (axe x). p84
- Fig.III.4.** Étalonnage du TCS à une concentration de 10-100 mg / L par GC / MS avec 5 injections répétées à chaque niveau de concentration. p86
- Fig.III.5.** La microflore et la faune, présentes dans les échantillons d'eau des étangs d'oxydation des algues à haut débit traitant les eaux usées domestiques. Micro-algues: *a.Pediastrum, b. Scenedesmus, c.Micractinium, d. Diatoms, e. Chlorella, f.Closterium, g.Chlamydomonas, h.Pyrobotrys, i. Euglena, j.Actinastrum, k.Dictyosphaerium, l. Blue greens.* Zooplankton: *m.Brachionus, n.Lecane, o.Conochilus, p.Philodina, q.Cyclidium, r.Daphnia.* White scale bar is 5 µm (for microalgae and rotifers) and black scale bar is 50 µm (for Daphnia).p89
- Fig.III.6.** Efficacité d'élimination de PO₄-P, NH₄-N, NO₃-N et de DCO dans les bioréacteurs pendant le temps de fonctionnement. p92
- Fig.III.7.** Évolution de la concentration de PO₄-P dans les bioréacteurs selon le temps de purification. p93
- Fig.III.8.** Évolution de la concentration de NH₄-N avec le temps de purification dans les bioréacteurs. p94
- Fig.III.9.** Évolution de la concentration de NO₃-N dans les bioréacteurs en fonction du temps. p96
- Fig.III.10.** Évolution de la concentration de DCO dans les bioréacteurs en fonction de temps. p97
- Fig.III.11.** Effet du temps de purification, du bioréacteur et de l'interaction temps-bioréacteur sur les différents paramètres. p97
- Fig.III.12.** Évolution du pH en fonction de temps de purification dans les bioréacteurs. p98
- Chapitre IV**
- Fig.IV.1.** Schéma Directeur du système d'Assainissement de la ville de Tiaret. p110
- Fig.IV.2.** Préparation des dilutions. p111
- Fig.IV.3.** Technique de dénombrement en surface. p112
- Fig.IV.4.** La densité de coliformes totaux (a) , de coliformes fécaux (b) et les streptocoques totaux (c) au cours de la période expérimentale rapportée dans des unités formant des colonies par ml (UFC/mL). p113
- Fig.IV.5.** Variation du pH dans le bioréacteur en fonction du temps. p115
- Fig.IV.6.** l'illumination pendant la période d'expérimentation. p116

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau I.1. Avantages et inconvénients des bous activé.	p18
Tableau I.2. Avantages et inconvénients des lits bactériens.	p20
Tableau I.3. Avantages et inconvénients des Biodisques.	p21
Tableau I.4. Avantages et inconvénients des Biofiltres.	p23
Tableau I.5. Avantages et inconvénients des L'infiltration-percolation sur sable.	p26
Tableau I.6. Avantages et inconvénients des filtres plantés de roseaux à écoulement vertical.	p27
Tableau I.7. Avantages et inconvénients des filtres plantés de roseaux à écoulement horizontal.	p29
Tableau I.8. Avantages et inconvénients de lagunage aéré.	p30
Tableau I.9. Avantages et inconvénients de lagunage à macrophytes.	p31
Tableau I.10. Avantages et inconvénients de lagunage naturel ou lagunage à microphytes.	p33

Chapitre II

Tableau II.1. Les différents modes trophiques pouvant être utilisés par les micro-algues	p40
Tableau II.2. Les différents embranchements ou classes de micro-algues	p44

Chapitre III

Tableau III.1. Occurrence du triclosan dans les stations d'épuration et les ressources en eaux.	p73
Tableau III.2. Montre les composants utilisés dans la préparation des matières fécales synthétiques.	p86
Tableau III.3. Concentration de nitrates, de phosphates et d'ammonium dans les matières fécales synthétiques.	p88
Tableau III.4. Caractéristiques des boues utilisées dans l'expérience.	p90

Table des matières

Introduction	p i
Chapitre I : Généralité sur les eaux usées et leurs traitements	
I.1. Introduction	p1
I.2. Définition d'une eau usée	p1
I.3. Origines des effluents des stations d'épuration	p1
I.3.1. Les eaux usées domestiques	p1
I.3.2. Les eaux pluviales ou de ruissellements	p1
I.3.3. Les eaux usées industrielles	p2
I.3.4. Les eaux usées agricoles	p2
I.4. Caractéristiques des eaux usées	p3
I.4.1. Les paramètres physico-chimiques	p3
I.4.1.1. La température	p3
I.4.1.2. Le potentiel d'Hydrogène (pH)	p3
I.4.1.3. La turbidité	p4
I.4.1.4. Matière en suspension	p4
I.4.1.5. La conductivité électrique (CE)	p4
I.4.1.6. Demande Biologique en Oxygène (DBO)	p5
I.4.1.7. Demande Chimique en Oxygène (DCO)	p 5
I.4. 1.8. La biodégradabilité	p6
I.5. Les critères de la pollution organique	p6
I.5.1. L'équivalent habitant (EH)	p6
I.6. Principe de l'épuration biologique	p7
I.7. Structure de la boue active	p7
I.8. Rôle des microorganismes et activité microbienne	p8
I.9. Les différentes étapes d'épuration des eaux usées	p8
I.9.1. Les prétraitements	p9
I.9.1.1. Dégrillage	p9
I.9.1.2. Le dessablage	p9
I.9.1.3. Le dégraissage-déshuilage	p9
I.9.2. Le traitement primaire	p10
I.9.2.1. La décantation physique naturelle	p10

I.9.2.2. Les traitements de décantation physico-chimiques	p10
I.9.3. Les traitements secondaires ou les traitements biologiques	p11
I.9.3.1. Stratégies de mise en œuvre des micro-organismes	p 11
I.9.3.1.1. Stratégie de mise en œuvre des micro-organismes en aérobie	p 12
I.9.3.1.2. Stratégie de mise en œuvre des micro-organismes en anaérobiose	p12
I.9.4. Les traitements tertiaires	p13
I.9.4.1. Élimination du phosphore	p13
I.9.4.2. Élimination biologique de l'azote	p14
I.9.4.2.1. Nitrification : en milieu oxygéné	p14
I.9.4.2.2. Dénitrification : en milieu pauvre en oxygène	p14
I.9.4.3. Désinfection	p14
I.9.4.4. Traitement et élimination des boues	p15
I.10. Méthodes d'épuration des eaux usées	p16
I.10.1. Les techniques intensives	p17
I.10.1.1. Les systèmes à cultures libres	p17
I.10.1.1.1. Le procédé à boues activées	p17
I.10.1.1.1.1. Paramètres affectant l'efficacité du traitement à boue activée	p18
I.10.1.2. Les systèmes à cultures fixés	p19
I.10.1.2.1. Les lits bactériens	p19
I.10.1.2.2. Les disques biologiques	p21
I.10.1.2.3. Les biofiltres	p22
I.10.2. Procédés extensifs	p23
I.10.2.1. Les systèmes à cultures fixées	p24
I.10.2.1.1. L'infiltration-percolation sur sable	p24
I.10.2.1.1.1. Mécanismes d'épuration par infiltration percolation	p24
I.10.2.1.2. Les filtres plantés à écoulement vertical	p26
I.10.2.1.3. Les filtres plantés à écoulement horizontal	p27
I.10.2.2. Les systèmes à cultures libres	p 29
I.10.2.2.1. Le lagunage aéré	p29

I.10.2.2.2. Le lagunage à macrophytes	p30
I.10.2.2.3. Le lagunage naturel ou lagunage à microphytes	p32
Conclusion	p33
Références	p34
Chapitre II : Généralité sur les algues	
II.1. Les algues	p37
II.1.1. Les macro-algues	p37
II.1.2. Les micro-algues	p37
II.2. Morphologie	p38
II.2.1. Eucaryote	p38
II.2.2. Procaryote	p38
II.3. Écologie	p39
II.4. Métabolisme algal	p39
II.5. Reproduction	p40
II.6. Les bases de la classification des grandes lignées d'algues	p42
II.6.1. La pigmentation	p42
II.6.2. Les polysaccharides de réserve	p42
II.6.3. Les polysaccharides pariétaux	p42
II.7. La classification des algues	p43
II.8. Culture des micro-algues	p45
II.8.1. Les modes de culture	p45
II.8.1.1. Mode continu	p45
II.8.1.2. Mode batch	p45
II.8.2. Influence des paramètres environnementaux	p47
II.8.2.1. La lumière	p47
II.8.2.2. La température	p49
II.8.2.3. pH de l'eau de l'étang et disponibilité de CO ₂	p50
II.8.2.4. L'agitation	p51
II.9. Besoins nutritif	p52
II.9.1. Le carbone	p52
II.9.2. L'azote	p53
II.9.3. Le phosphore	p54
II.9.4. Autres nutriments	p55

II.10. Application des micro-algues	p57
II.10.1. Domaine agriculture	p57
II.10.2. Domaine alimentaire	p57
II.10.3. Domaine cosmétique	p58
II.10.4. Domaine pharmaceutique	p58
II.10.5. Domaine énergétique	p59
II.10.6. Domaine environnemental	p60
Conclusion	p62
Références	p63

Chapitre III : Quantification de triclosan et épuration des eaux usées par un mélange : Boues- Algues.

1^{ère} partie : Quantification de triclosan à partir de matrices de boues d'épuration d'Afrique du Sud et d'Algérie.

III.1.1. Introduction	p71
III.1.2. Un biocide : le triclosan (TCS)	p71
III.1.3. Introduction et devenir dans les stations d'épuration et dans l'environnement	p73
III.1.4. Détection et toxicité dans les organismes aquatiques	p74
III.1.5. Effets sur l'environnement	p75
III.1.5.1. Mode d'action	p75
III.1.5.2. Organismes aquatiques (Algues, macro-phytes et communautés de bactéries)	P76
III.1.6. Matériel et méthodes	p77
III.1.7. Résultats et discussion	p87

2^{ème} partie : Efficacité du traitement des eaux usées par un mélange de boues et de micro-algues.

III.2.1. Matériels et méthodes	p89
III.2.1.1. Caractéristiques des micro-algues utilisées dans les bioréacteurs	p89
III.2.1.2. Caractéristiques des boues utilisées dans les bioréacteurs	p90
III.2.1.3. Préparation des bioréacteurs	p90
III.2.1.4. Méthodes analytiques	p91
III.2.1.5. Analyses statistiques	p92
III.2.2. Résultats et discussion	p92

III.2.2.1. Effet du mélange de micro-algues / boues activées sur différents paramètres	p92
III.2.2.2. Interaction bioréacteur - temps de purification	p97
III.2.2.3. Évolution du pH en fonction du temps de purification dans les cinq bioréacteurs	p98
Conclusion	p99
Références	p100
 Chapitre IV : Élimination des bactéries fécales par les micro-algues	
IV.1. Introduction	p106
IV.2. Bactéries indicatrices de contamination fécale	p106
IV.2.1. Coliformes totaux (CT)	p106
IV.2.2. Coliformes fécaux	p107
IV.2.3. Entérocoques intestinaux (Streptocoques fécaux)	p108
IV.2.4. Les staphylocoques	p108
IV.3. Analyses bactériologiques	p109
IV.4. Procédure expérimentale	p109
IV.4.1. Localisation géographique de la station d'épuration des eaux usées de Tiaret	p109
IV.4.2. Protocole expérimental	p110
IV.4.3. Préparation des dilutions décimales	p110
IV.4.4. Dénombrement des bactéries	p111
IV.4.4.1. Dénombrement des Coliformes totaux et fécaux	p112
IV.4.4.2. Dénombrement des Streptocoques fécaux	p112
IV.5. Résultats et discussions	p113
IV.5.1. Élimination des bactéries	p113
IV.5.2. Influence du pH sur l'élimination des bactéries	p115
IV.5.3. Influence de la lumière sur l'élimination des bactéries	p116
Conclusion	p117
Références	p118
Conclusion générale	p123
Annexes	

Introduction générale

Introduction générale

L'Algérie est située sur la côte méditerranéenne du continent, tandis que l'Afrique du Sud est un pays situé sur la pointe sud de l'Afrique. Les deux sont classés comme pays pauvres en eau (M. Nichane et M. A. Khelil, 2014). L'urbanisation et d'autres facteurs ont entraîné une augmentation spectaculaire des volumes d'effluents industriels et des eaux usées domestiques qui nécessitent un traitement dans les installations de traitement des eaux usées en Algérie (S. Leila *et al.*, 2016). La fourniture d'eau et l'infrastructure connexe ont connu des améliorations significatives au cours des dernières décennies dans le pays. Cependant, malgré le succès atteint, seulement environ 20% des volumes totaux des eaux usées produites ont été signalés comme étant efficacement traités en Algérie (A. Bendida *et al.*, 2013).

La recherche d'un moyen de traitement adéquat et la réutilisation des effluents d'eaux usées sont devenues une option attrayante et une alternative essentielle pour mobiliser de grands volumes d'eau et ainsi satisfaire la demande croissante de l'eau, en particulier dans les pays arides et semi-arides, ainsi que pour protéger la santé humaine et l'environnement. (N. Abdel-Raouf *et al.*, 2012).

Parmi les nombreux systèmes appliqués et utilisés de nos jours, les stations de traitement des boues activées sont les plus populaires et fréquemment utilisés pour le traitement des eaux usées dans le monde entier (K. V. Gernaey *et al.*, 2004). Cependant, cette technique implique des inconvénients majeurs tels que: coûts d'investissement relativement élevés et exigences énergétiques élevées. Dans cette technique, l'élimination de l'azote et du phosphore, y compris le traitement des boues, l'étang de dénitrification et la précipitation chimique du phosphore, génère un grand volume de déchets de boues qui doivent être transportés hors site pour l'élimination, rejettent de l'azote dans l'atmosphère et utilisent des produits chimiques additifs (R. J. Craggs *et al.*, 1996 ; N. Renuka *et al.*, 2013).

Les micro-algues ont attiré une attention considérable ces dernières années pour améliorer la qualité de l'eau et traiter les eaux usées de manière écologique (L. Wang *et al.*, 2010 ; E. D. O. Ansa *et al.*, 2012). De nombreuses études ont montré que les algues offrent l'avantage d'avoir des taux de croissance élevés et d'être capable d'assimiler l'azote et le phosphore des eaux usées à faible coût opérationnel, pas de pollution secondaire, recyclage efficace de l'azote et du phosphore, aucune exigence de carbone organique ni émissions de CO₂, génération de biomasse micro-algal qui peut être utilisée pour la matière première, l'engrais, les biocarburants, pour laquelle elle est largement utilisée (N. Abdel-Raouf *et al.*,

2012 ; L. Xin *et al.*, 2010 ; S. Aslan et I. K. Kapdan, 2006 ; N. C. Boelee *et al.*, 2011 ; C. Wang *et al.*, 2013 ; I. Woertz *et al.*, 2009).

Les micro-algues ont été utilisées avec succès pour le traitement des eaux usées et des eaux usées domestiques (J.-Y. An *et al.*, 2003 ; L. E. De-Bashan *et al.*, 2004), puisqu'elles ont déjà été utilisées dans le traitement secondaire des effluents, l'agriculture, les poudres et les effluents laitiers (N. Abdel-Raouf *et al.*, 2012 ; W. Mulbry *et al.*, 2010 ; C. Zamalloa *et al.*, 2013). Ils fournissent également une méthode alternative et hautement efficace pour la biosorption des métaux lourds trouvés dans l'eau comme: Pb, Cu, Cr et Zn (I. Priyadarshani *et al.*, 2011; C. M. Monteiro *et al.*, 2012 ; C. B. Sekomo *et al.*, 2012).

La biotechnologie à base de micro-algues et bactéries a un grand intérêt comme méthode alternative de traitement conventionnel des eaux usées, en particulier dans les zones ensoleillées, en raison de leur capacité photosynthétique. Ceci est particulièrement important en Algérie et en Afrique du Sud, qui ont des conditions de rayonnement solaire favorables pour la mise en œuvre du système de micro-algues-boues dans le traitement des eaux usées. L'énergie annuelle disponible par rayonnement solaire en Algérie a été signalée entre 1700 et 2263 kWh/m²/an (M. R. Yaiche *et al.*, 2014). Les algues produisent de l'oxygène qui peut être utilisé par des bactéries aérobies pour biodégrader la matière organique, alors qu'elles consomment du dioxyde de carbone libéré par la respiration bactérienne, ce qui offre une alternative moins coûteuse et sûre à la ventilation mécanique et contribue à réduire les émissions de CO₂ (Y. Su *et al.*, 2011). Dans le système algues-bactéries, les micro-algues ont joué un rôle dominant dans l'élimination de l'azote et du phosphore, tandis que les bactéries ont éliminé la plupart des matières organiques provenant des eaux usées (P. J. He *et al.*, 2013). Les rapports initiaux entre les algues et les bactéries peuvent influencer la relation de coopération et conduire à une efficacité de traitement différente (B. Guieysse *et al.*, 2002).

Une collaboration a été lancée entre l'Université d'Ibn Khaldoun à Tiaret ('Algérie) et l'Université de Rhodes à Grahamstown (Afrique du Sud) sur la réutilisation des boues d'épuration produites dans les installations de traitement des eaux usées dans les deux villes. Les résultats préliminaires de cette collaboration ont indiqué que les boues d'épuration de la station d'épuration Grahamstown ne sont pas suffisamment stabilisées pour la réutilisation, tandis que les boues d'épuration de la station de traitement des eaux usées de Tiaret, en Algérie, sont suffisamment stabilisées pour permettre leur réutilisation (R. Tandlich, 2017). Le système d'étangs d'algues est présent ici et a été largement étudié (P. M. Mambo *et al.*, 20114). Le système d'algues présent à Grahamstown et les boues de Tiaret ont servi de base au développement d'un système typique de traitement des eaux usées, micro-algues-boues.

L'objectif de ce travail consiste à épurer les eaux usées, de la station d'épuration de Tiaret, par un mélange de boues activées et des micro-algues. Cette thèse est divisée en quatre chapitres : dans le premier chapitre, nous présentons une synthèse bibliographique sur les eaux usées, on discutant leurs origines, leurs caractéristiques et les différentes méthodes d'épurations.

Le deuxième chapitre présente les généralités sur les algues et les micro-algues, en tenant compte de leur morphologie, leur classification et leurs applications.

Le troisième chapitre est composé de deux parties, la première partie porte sur la quantification de triclosan à partir de matrices de boues d'épuration d'Afrique du Sud et d'Algérie. La seconde partie est consacrée à l'étude de l'efficacité du traitement des eaux usées par un mélange de boues et de micro-algues.

Enfin, dans le quatrième chapitre, nous présenterons les résultats de l'étude bactériologique, la première partie concernera le mode expérimental et la deuxième partie les résultats et leur discussion.

Références

- A. Bendida, A. E.-B. Tidjani, A. Badri, M. A. Kendouci, et M. Nabou, « Treatment of domestic wastewater from the town of Bechar by a sand filter (sand of Beni Abbes Bechar Algeria) », *Energy Procedia*, vol. 36, p. 825–833, 2013.
- B. Guieysse *et al.*, « Influence of the initial composition of algal-bacterial microcosms on the degradation of salicylate in a fed-batch culture », *Biotechnology letters*, vol. 24, n° 7, p. 531–538, 2002.
- C. B. Sekomo, D. P. Rousseau, S. A. Saleh, et P. N. Lens, « Heavy metal removal in duckweed and algae ponds as a polishing step for textile wastewater treatment », *Ecological Engineering*, vol. 44, p. 102–110, 2012.
- C. M. Monteiro, P. M. Castro, et F. X. Malcata, « Metal uptake by microalgae: Underlying mechanisms and practical applications », *Biotechnology progress*, vol. 28, n° 2, p. 299–311, 2012.
- C. Wang, X. Yu, H. Lv, et J. Yang, « Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater by the green alga *Chlorella* sp. », *Journal of Environmental Biology*, vol. 34, n° 2 suppl, p. 421, 2013.
- C. Zamalloa, N. Boon, et W. Verstraete, « Decentralized two-stage sewage treatment by chemical–biological flocculation combined with microalgae biofilm for nutrient immobilization in a roof installed parallel plate reactor », *Bioresource technology*, vol. 130, p. 152–160, 2013.
- E. D. O. Ansa, H. J. Lubberding, et H. J. Gijzen, « The effect of algal biomass on the removal of faecal coliform from domestic wastewater », *Applied Water Science*, vol. 2, n° 2, p. 87–94, 2012.

- I. Priyadarshani, D. Sahu, et B. Rath, « Microalgal bioremediation: current practices and perspectives », *Journal of Biochemical Technology*, vol. 3, n° 3, p. 299–304, 2011.
- I. Woertz, A. Feffer, T. Lundquist, et Y. Nelson, « Algae grown on dairy and municipal wastewater for simultaneous nutrient removal and lipid production for biofuel feedstock », *Journal of Environmental Engineering*, vol. 135, n° 11, p. 1115–1122, 2009.
- I. Woertz, L. Fulton, et T. Lundquist, « Nutrient Removal & Greenhouse Gas Abatement with CO₂ Supplemented Algal High Rate Ponds », *Proceedings of the Water Environment Federation*, vol. 2009, n° 10, p. 5469–5481, 2009.
- J.-Y. An, S.-J. Sim, J. S. Lee, et B. W. Kim, « Hydrocarbon production from secondarily treated piggery wastewater by the green alga *Botryococcus braunii* », *Journal of Applied Phycology*, vol. 15, n° 2-3, p. 185–191, 2003.
- K. V. Gernaey, M. C. van Loosdrecht, M. Henze, M. Lind, et S. B. Jørgensen, « Activated sludge wastewater treatment plant modelling and simulation: state of the art », *Environmental Modelling & Software*, vol. 19, n° 9, p. 763–783, 2004.
- L. E. De-Bashan, J.-P. Hernandez, T. Morey, et Y. Bashan, « Microalgae growth-promoting bacteria as “helpers” for microalgae: a novel approach for removing ammonium and phosphorus from municipal wastewater », *Water Research*, vol. 38, n° 2, p. 466–474, 2004.
- L. Wang *et al.*, « Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant », *Applied biochemistry and biotechnology*, vol. 162, n° 4, p. 1174–1186, 2010.
- L. Xin, H. Hong-ying, G. Ke, et S. Ying-xue, « Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga *Scenedesmus* sp. », *Bioresource Technology*, vol. 101, n° 14, p. 5494–5500, 2010.
- M. Nichane et M. A. Khelil, « Changements Climatiques et Ressources en Eau en Algérie: Vulnérabilité, Impact et Stratégie d’Adaptation= Climate Changes and Water Resources in Algeria: Vulnerability, Impact and Strategy of Adaptation », *Revue des BioRessources*, vol. 4, n° 2, p. 1–7, 2014.
- M. R. Yaiche, A. Bouhanik, S. M. A. Bekkouche, A. Malek, et T. Benouaz, « Revised solar maps of Algeria based on sunshine duration », *Energy Conversion and Management*, vol. 82, p. 114–123, 2014.
- N. Abdel-Raouf, A. A. Al-Homaidan, et I. B. M. Ibraheem, « Microalgae and wastewater treatment », *Saudi Journal of Biological Sciences*, vol. 19, n° 3, p. 257–275, 2012.
- N. C. Boelee, H. Temmink, M. Janssen, C. J. N. Buisman, et R. H. Wijffels, « Nitrogen and phosphorus removal from municipal wastewater effluent using microalgal biofilms », *Water research*, vol. 45, n° 18, p. 5925–5933, 2011.
- N. Renuka, A. Sood, S. K. Ratha, R. Prasanna, et A. S. Ahluwalia, « Evaluation of microalgal consortia for treatment of primary treated sewage effluent and biomass production », *Journal of applied phycology*, vol. 25, n° 5, p. 1529–1537, 2013.

- P. J. He, B. Mao, F. Lü, L. M. Shao, D. J. Lee, et J. S. Chang, « The combined effect of bacteria and *Chlorella vulgaris* on the treatment of municipal wastewaters », *Bioresource technology*, vol. 146, p. 562–568, 2013.
- P. M. Mambo, D. K. Westensee, B. M. Zuma, et A. K. Cowan, « The Belmont Valley integrated algae pond system in retrospect », *Water SA*, vol. 40, n° 2, p. 385–394, 2014.
- R. J. Craggs, W. H. Adey, B. K. Jessup, et W. J. Oswald, « A controlled stream mesocosm for tertiary treatment of sewage », *Ecological Engineering*, vol. 6, n° 1, p. 149–169, 1996.
- R. Tandlich, *Novel Approaches to Rainwater Harvesting and Sanitation in Developing Countries*. Nova science publishers, 2017.
- S. Aslan et I. K. Kapdan, « Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae », *Ecological Engineering*, vol. 28, n° 1, p. 64–70, 2006.
- S. Leila *et al.*, « Fertilization value of municipal sewage sludge for *Eucalyptus camaldulensis* plants », *Biotechnology Reports*, 2016.
- W. Mulbry, P. Kangas, et S. Kondrad, « Toward scrubbing the bay: Nutrient removal using small algal turf scrubbers on Chesapeake Bay tributaries », *Ecological Engineering*, vol. 36, n° 4, p. 536–541, 2010.
- Y. Su, A. Mennerich, et B. Urban, « Municipal wastewater treatment and biomass accumulation with a wastewater-born and settleable algal-bacterial culture », *water research*, vol. 45, n° 11, p. 3351–3358, 2011.

Chapitre I : Généralité sur les eaux usées et leurs traitements

« L'eau est le passé de l'homme. Les eaux sont l'avenir de l'humanité »

J. RODIER

I.1. Introduction

En parlant de l'eau usée il semble important d'avoir une idée sur sa définition, son origine et ses caractéristiques, ainsi que les différentes méthodes utilisées pour son épuration.

I.2. Définition d'une eau usée

Les activités humaines, domestiques, agricoles et industrielles produisent toutes sortes de déchets et de souillures qui sont transportés par voie liquide. Ils sont susceptibles d'engendrer différentes sortes de pollution et de nuisance dans le milieu récepteur. Cet ensemble d'eau rejetée et de déchet constitue ce qu'on appelle les eaux usées (Mara, 1980).

I.3. Origines des effluents des stations d'épuration

Les eaux usées sont classées en quatre types :

I.3.1. Les eaux usées domestiques

Les eaux usées domestiques sont essentiellement porteuses de pollutions organiques. Elles se répartissent en deux catégories : les eaux ménagères des salles de bain et des cuisines qui sont généralement chargées de substances biodégradables, de détergents, de produits nettoyants, désinfectants, et détartrants ainsi que de pesticides pour usage domestique et de solvants pour le bricolage ; ces eaux peuvent aussi contenir des polluants cosmétiques et médicamenteux. La deuxième catégorie d'eaux usées domestiques sont les « eaux vannes » comprenant les rejets de toilettes. Ces dernières sont chargées de diverses matières organiques azotées et de germes fécaux (Elskens, 2010 ; Pons et al., 2008).

I.3.2. Les eaux pluviales ou de ruissellements

Elles arrivent à la station d'épuration lorsque le système d'épuration est dit « unitaire ». Sinon, le système est dit « séparatif », il est alors composé de deux conduits, l'un pour les eaux usées, l'autre pour les eaux pluviales qui seront rejetées dans le milieu récepteur sans être traitées. Cependant, de plus en plus, l'eau de pluie se charge d'impuretés au contact de l'air (fumées industrielles) puis, en ruisselant, de résidus déposés sur les toitures et les voiries (huile de vidange, carburants, résidus de pneus, métaux lourds,...) (Miquel, 2003 ; Pons et al., 2008 ; Elskens, 2010). Les eaux pluviales constituent une source de pollution majeure du cours d'eau dans le cas d'un système séparatif et sont une source de difficultés pour les stations de traitement des eaux usées dans le cas d'un système unitaire. Le choix, normalement réglementé en fonction des débits prévisibles d'eaux pluviales, est largement imposé par l'histoire et l'espace disponible.

I.3.3. Les eaux usées industrielles

Elles sont très différentes des eaux usées domestiques. Leurs caractéristiques varient d'une industrie à l'autre. En plus des matières organiques, azotées ou phosphorées, elles sont chargées en différentes substances chimiques organiques et métalliques. Selon leur origine industrielle elles peuvent également contenir :

- des graisses (industries agroalimentaires, équarrissage) ;
- des hydrocarbures (raffineries) ;
- des métaux (traitements de surface, métallurgie) ;
- des acides, des bases et divers produits chimiques (industries chimiques divers, tanneries) ;
- de l'eau chaude (circuit de refroidissement des centrales thermiques) ;
- des matières radioactives (centrales nucléaires, traitement des déchets radioactifs).

Selon **Baumont et al., (2004)**, les rejets industriels peuvent donc suivre trois voies d'assainissement :

- Ils sont directement rejetés dans le réseau domestique ;
- Ils sont prétraités puis rejetés dans le réseau domestique ;
- Ils sont entièrement traités sur place et rejetés dans le milieu naturel.

I.3.4. Les eaux usées agricoles

Il s'agit de rejets liquides et agricoles issus du ruissellement d'eaux d'irrigation qui entraîne des engrais et des pesticides, des herbicides ou des rejets organiques dus à un élevage important.

Ce type de pollution s'est intensifié depuis que l'agriculture est entrée dans un stade d'industrialisation assez avancé. La concentration des élevages entraîne un excédent de déjections animales qui finissent par enrichir les cours d'eau et les nappes souterraines en dérivés azotés, encourageant ainsi une source de pollution bactériologique. L'utilisation massive des engrais chimiques (nitrates et phosphates) altèrent aussi la qualité des nappes souterraines vers lesquelles ils sont entraînés. Aujourd'hui, ces contaminants sont détectés dans la plupart des eaux potables situées en région agricole. La contamination atteint une telle ampleur dans certaines municipalités que l'arrêt de l'utilisation des sources d'approvisionnement en eau à des fins de consommation a été nécessaire (**Rousseau, 1995**).

I.4. Caractéristiques des eaux usées

Les normes de rejet des eaux usées, fixent des indicateurs de qualité physico-chimique et biologique. Ce potentiel de pollution quantifié et apprécié par une série d'analyses. Certains de ces paramètres sont indicateurs de modifications que cette eau sera susceptible d'apporter aux milieux naturels récepteurs. Pour les eaux usées domestiques, industrielles et les effluents naturels, on peut retenir les analyses suivantes :

I.4.1. Les paramètres physico-chimiques

Ils résultent de l'introduction dans un milieu des substances conduisant à son altération, se traduisant généralement par des modifications des caractéristiques physico-chimiques du milieu récepteur. La mesure de ces paramètres se fait au niveau des rejets, à l'entrée et à la sortie des usines de traitement et dans les milieux naturels.

I.4.1.1. La température

Il est important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision. En effet, celle-ci joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz, dans la dissociation des sels dissous donc sur la conductivité électrique, dans la détermination du pH, pour la connaissance de l'origine de l'eau et des mélanges éventuels,...etc. (RODIER et al., 2005). Par ailleurs, la température accroît les vitesses des réactions chimiques et biochimiques. La température est l'un des facteurs écologiques les plus importants qui contrôlent le comportement physiologique et la distribution des organismes.

I.4.1.2. Le potentiel d'Hydrogène (pH)

Le pH est un paramètre très important spécialement pour les procédés biologiques qui ne peuvent être fonctionnels qu'à l'intérieur d'un intervalle très restreint de la concentration optimale d'ions hydrogène afin de garantir le développement des microorganismes (Metcalf et Eddy, 1980). Bon nombre de micro-organismes se développent mieux avec des valeurs de pH proches de la neutralité, c'est-à-dire La gamme de pH biologique se situe entre 6,5 et 8,5 (Maiga et al., 2006). L'influence du pH se fait également ressentir par le rôle qu'il exerce sur les autres éléments comme les ions des métaux dont il peut diminuer ou augmenter leur mobilité en solution bio disponible et donc leur toxicité. Le pH joue un rôle important dans l'épuration d'un effluent et le développement bactérien. (Liang et al., 2013).

I.4.1.3. La turbidité

La turbidité représente la mesure du niveau d'adsorption ou de dispersion de la lumière par la matière en suspension contenue dans une eau usée (Peavy et al., 1985). Elle ne constitue donc pas une mesure quantitative exacte de la matière en suspension particulièrement à cause de sa méthode de détermination. Elle permet d'observer l'efficacité du traitement appliqué.

I.4.1.4. Matière en suspension

Les matières en suspension (MES) constituent l'ensemble des particules minérales et/ou organiques présentes dans une eau naturelle ou polluée. Elles peuvent être composées de particules de sable, de terre et de sédiment arrachées par l'érosion, de divers débris apportés par les eaux usées ou les eaux pluviales très riches en MES, d'êtres vivants planctoniques (notamment les algues). Elles correspondent à la concentration en éléments non dissous d'un échantillon. L'abondance des matières en suspension dans l'eau favorise la réduction de la luminosité et abaisse la production biologique du fait, en particulier, d'une chute de l'oxygène dissous consécutive à une réduction des phénomènes de photosynthèse.

Les MES s'expriment par la relation suivante : $MES = 30\% MMS + 70\% MVS$

- *Les matières volatiles en suspension (MVS)*

Elles représentent la fraction organique des MES et sont obtenues par calcination de ces MES à 525°C pendant 2 heures. La différence de poids entre les MES à 105°C et les MES à 525°C donne la « perte au feu » et correspond à la teneur en MVS en (mg/l) d'une eau ;

- *Les matières minérales (MMS)*

Elles représentent le résultat d'une évaporation totale de l'eau, c'est-à-dire son « extrait sec » constitué à la fois par les matières en suspension et les matières solubles telles que les chlorures, les phosphates, etc.

I.4.1.5. La conductivité électrique (CE)

La conductivité est la propriété que possède une eau à favoriser le passage d'un courant électrique. Elle fournit une indication précise sur la teneur en sels dissous (salinité de l'eau). La conductivité s'exprime en micro Siemens par centimètre et elle est l'inverse de la résistivité qui s'exprime en ohm par centimètre. La mesure de la conductivité permet d'évaluer la minéralisation globale de l'eau (Rejsek, 2002). Sa mesure est utile car au-delà de la valeur limite de la salinité correspondant à une conductivité de 2500 $\mu\text{Sm/cm}$, la prolifération de microorganismes peut être réduite d'où une baisse du rendement épuratoire.

I.4.1.6. Demande Biologique en Oxygène (DBO)

C'est le test le plus populaire utilisé pour la détection de la pollution organique des eaux usées et des eaux potables. La DBO permet de mesurer l'oxygène dissous utilisé par les micro-organismes lors de la dégradation de la matière organique (Metcalf and Eddy, 1980). Ainsi un échantillon d'eau possédant une DBO élevée représente une contamination organique élevée; ce qui a tendance à favoriser la prolifération des micro-organismes et des odeurs quand toutes les conditions favorables à la croissance des micro-organismes sont atteintes (température, pH, nutriments,...), suite à l'intense activité biologique présente. Par contre, une eau ayant une DBO faible se caractérise par une activité biologique plus lente, dégage moins d'odeur *et* favorise moins bien la prolifération des micro-organismes.

La DBO détermine la force des eaux usées, des effluents et d'autres eaux polluées et fournit des données sur la charge de pollution dans toutes les eaux naturelles. Il est le plus souvent exprimé en milligrammes d'oxygène consommé par litre d'échantillon pendant 5 jours d'incubation à 20 ° C et est souvent utilisé comme un substitut robuste du degré de pollution organique de l'eau. La DBO peut être utilisée comme indicateur de l'efficacité des stations d'épuration

I.4.1.7. Demande Chimique en Oxygène (DCO)

La Demande Chimique en Oxygène (DCO) est la mesure de la quantité d'oxygène nécessaire pour la dégradation chimique de toute la matière organique biodégradable ou non contenue dans les eaux à l'aide du bichromate de potassium à 150°C. Elle est exprimée en mg O₂ /l.

La DCO permet d'apprécier la concentration en matières organiques ou minérales, dissoutes ou en suspension dans l'eau, au travers de la quantité d'oxygène nécessaire à leur oxydation chimique totale (Fathallah et al., 2014). Ainsi, par la mesure de la DCO, on pourra évaluer la charge polluante d'une eau usée en matières organiques avant et après un traitement physique, chimique ou biologique afin de contrôler le fonctionnement d'une STEP et l'activité des microorganismes.

La valeur du rapport DCO/DBO indique le coefficient de biodégradabilité d'un effluent, il permet aussi de définir son origine (Suschka et Ferreira, 1986).

Généralement la valeur de la DCO est :

- DCO = 1.5 à 2 fois DBO Pour les eaux usées urbaines ;
- DCO = 1 à 10 fois DBO Pour tout l'ensemble des eaux résiduares ;
- DCO > 2.5 fois DBO Pour les eaux usées industrielles.

La relation empirique de la matière organique (MO) en fonction de la DBO₅ et la DCO est donnée par l'équation suivante :

$$\text{MO} = (2 \text{ DBO}_5 + \text{DCO}) / 3$$

I.4. 1.8. La biodégradabilité

Selon **Metcalf et Eddy (2003)**, les coefficients de biodégradabilités sont calculés par le rapport DCO/DBO₅, et dépend de la nature et l'origine des eaux usées qui peut être domestique ou industrielle, le ratio DCO/ DBO₅ pour les eaux usées domestiques brutes est généralement compris entre 1,25 et 2,5 et peut être plus de 10 pour les eaux industrielles ce qui nécessite des traitements différents.

La valeur du coefficient détermine le choix de la filière de traitement à adopter, si l'effluent est biodégradable on applique un traitement biologique, si non on applique un traitement physico-chimique.

I.5. Les critères de la pollution organique

La plupart des matières organiques ne deviennent polluantes que lorsqu'elles se retrouvent en excès dans le milieu. On distingue :

- les matières organiques biodégradables qui se décomposent dans le milieu naturel,
- les matières organiques non biodégradables (hydrocarbures).

De nombreux micro-polluants organiques d'origine industrielle ou urbaine affectent la qualité des cours d'eau. Ils traversent les stations d'épuration sans être altérés, résistent à l'autoépuration et se retrouvent à l'état de traces dans les rivières. Outre la réduction d'oxygène dissous qu'ils entraînent, certains confèrent aux eaux de consommation des propriétés irritantes parfois toxiques ainsi qu'une odeur et un goût désagréables. Ces micropolluants peuvent avoir une action nuisible sur la flore bactérienne et gêner, sinon empêcher le bon fonctionnement des stations d'épuration.

I.5.1. L'équivalent habitant (EH)

Unité de mesure permettant d'évaluer la capacité d'une station d'épuration. Cette unité de mesure se base sur la quantité de pollution émise par personne et par jour.

$$1 \text{ EH} = 60 \text{ g de DBO}_5 / \text{jour soit } 21,6 \text{ kg de DBO}_5 / \text{an.}$$

La directive européenne du 21 mai 1991 définit l'équivalent-habitant comme la charge organique biodégradable ayant une demande biochimique d'oxygène en cinq jours (DBO₅) de 60 grammes d'oxygène par jour.

I.6. Principe de l'épuration biologique

Le traitement biologique des eaux usées est le procédé qui permet la dégradation des polluants grâce à l'action de micro-organismes.

Une multitude d'organismes est associée à cette dégradation selon différents cycles de transformation. Parmi ces organismes, on trouve généralement des bactéries, des algues, des champignons et des protozoaires. Cette microflore, extrêmement riche, peut s'adapter à divers types de polluants qu'elle consomme sous forme de nourriture (substrats). Il est ainsi possible d'utiliser systématiquement cette microflore dans un processus contrôlé pour réaliser l'épuration des eaux résiduaires.

Les micro-organismes responsables de l'épuration s'agglomèrent sous forme de floes et se développent en utilisant la pollution comme substrat nécessaire à la production d'énergie vitale et à la synthèse de nouvelles cellules vivantes. Une partie des éléments polluants qui n'est pas dégradée biologiquement peut être adsorbée et incorporée aux floes de boues.

Son principe est de provoquer en présence ou non d'oxygène une prolifération plus ou moins contrôlée de micro-organismes capables de dégrader les matières organiques apportées par l'effluent. Il s'agit en fait d'un véritable transfert d'une forme non accessible de la pollution (matières colloïdales et dissoutes) en une forme manipulable (suspension de microorganismes).

I.7. Structure de la boue active

La boue activée est constituée de l'ensemble « floe- eau interstitielle ». Le floe désigne un agglomérat composé de particules (ou débris) diverses (végétales, animales, minérales) et de colonies bactériennes (figure I.1).

- **Le liquide interstitiel** représente dans la plupart des stations la qualité des eaux de sortie. C'est donc un indicateur du niveau de traitement. Ainsi, plus la charge massique est élevée, moins le niveau de traitement sera élevé et plus l'eau interstitielle contiendra de bactéries dispersées.
- **La microfaune** est composée d'animaux microscopiques nommés protozoaires et métazoaires. Ces organismes participent à l'élimination des bactéries libres qui constituent leurs proies et à la cohésion du floe par leurs déjections. Leur observation au microscope, donne des indications sur la qualité du traitement et peut révéler rapidement d'éventuelles anomalies de fonctionnement.

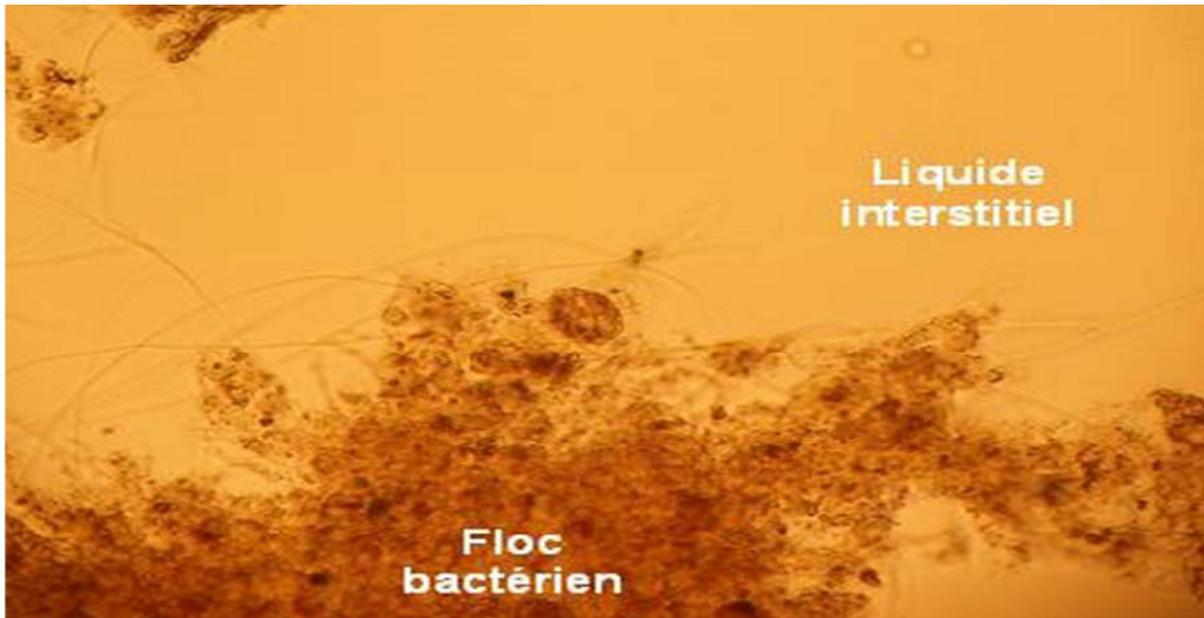


Fig.I.1. Composition de la boue activée (Lazarova, 2003).

I.8. Rôle des microorganismes et activité microbienne

Les microorganismes transforment la pollution organique biodégradable en composés inorganiques (biodégradation en CO_2 , NO_3^- , NO_2^- , CH_4^+ , H_2). Deux types de pollutions organiques se distinguent : la pollution primaire ou macro-pollution (carbonée, azotée et phosphorée), de l'ordre de plusieurs centaines de mg/L et la micropollution qui correspond aux substances contenues dans les eaux usées à des concentrations de l'ordre du nano-gramme au microgramme par litre. Le carbone organique est le principal constituant de la biomasse et est aussi la pollution principale à éliminer. La pollution azotée est contenue dans les protéines et l'urée (azote organique) mais aussi sous forme d'ammoniaque (hydrolyse de l'azote organique en azote minéral). À l'entrée d'une STEP, l'azote est présent sous forme de 60 à 75 % d'ammoniaque et 25 à 40 % d'azote organique soluble ou particulaire. Enfin, la pollution phosphorée est liée à la présence de phosphore sous forme d'orthophosphates (PO_4^{3-} , minéral) ou de polyphosphates (phosphore organique) (Degrémont 2005).

I.9. Les différentes étapes d'épuration des eaux usées

Les différents traitements des eaux usées existant de nos jours ont tous pour but d'améliorer la qualité des effluents rejetés dans l'environnement.

Cependant, l'efficacité de toutes ces techniques est très déférentes, c'est pourquoi il convient le plus souvent de les utiliser en complément les uns des autres.

Ainsi le processus classiques de traitement des effluents en station d'épuration comporte quatre phases :

I.9.1. Les prétraitements

Les eaux brutes doivent généralement subir, avant leur traitement proprement dit, un prétraitement qui comporte un certain nombre d'opérations, uniquement physiques ou mécaniques. Il est destiné à extraire de l'eau brute, la plus grande quantité possible d'éléments dont la nature ou la dimension constitueront une gêne pour les traitements ultérieurs. Selon la nature des eaux à traiter et la conception des installations, le prétraitement peut comprendre les opérations suivantes :

I.9.1.1. Dégrillage

A l'entrée de la station d'épuration, les effluents doivent subir un dégrillage (voire un tamisage). Ainsi, les matières volumineuses (flottants, etc.) sont retenues au travers de grilles.

Cette opération est en général réalisée avant la station de relevage, afin de protéger les pompes ou les vis d'Archimède. Ce prétraitement se décline en trois sous-catégories : Le pré dégrillage (de 30 à 100 mm), le dégrillage moyen (de 10 à 30 mm) et enfin le dégrillage fin (les barreaux sont espacés de moins de 10 mm). Les grilles peuvent être verticales, mais elles sont le plus souvent inclinées de 60° à 80° sur l'horizontale.

I.9.1.2. Le dessablage

A pour but d'extraire des eaux brutes les graviers, les sables et les particules minérales plus ou moins fines, le dessableur est un ouvrage dans lequel les particules denses, dont la vitesse est inférieure à 0,3 m/s, vont pouvoir se déposer. Il s'agit principalement des sables. L'élimination des sables présents dans les effluents bruts est une opération indispensable pour :

- Eviter les dépôts dans les canalisations conduisant à leur bouchage ;
- Protéger les pompes et autres organes mécaniques contre l'abrasion ;
- Eviter de perturber les autres stades du traitement (surtout au niveau du réacteur biologique) ;
- Réduire la production des boues.

Le dessablage concerne les particules minérales de granulométrie supérieure à 100 µm.

I.9.1.3. Le dégraissage-déshuilage

Les opérations de dégraissage et de déshuilage consistent en une séparation des huiles et graisses, produits de densité légèrement inférieure à celle de l'eau, de l'effluent brut.

Les graisses et les huiles étant des produits de densité légèrement inférieure à l'eau issues non seulement des habitations, mais aussi des restaurants, des garages, des chaussées,

des usines, des abattoirs, ... etc. Le déshuilage est une opération de séparation liquide-liquide, alors que le dégraissage est une opération de séparation solide-liquide (à la condition que la température de l'eau soit suffisamment basse, pour permettre le figeage des graisses). Ces deux procédés visent à éliminer la présence des corps gras dans les eaux usées, qui peuvent gêner l'efficacité du traitement biologique qui intervient en suite.

I.9.2. Le traitement primaire

Après les prétraitements, les effluents conservent une charge polluante dissoute et des matières en suspension. Les procédés de traitement primaire sont physiques naturelles, comme la décantation, ou physico-chimique tels que la coagulation- floculation.

I.9.2.1. La décantation physique naturelle

Consiste en la décantation des matières en suspension (MES) dans un bassin de sédimentation. En éliminant une fraction de ces solides en suspension, il permet d'alléger les traitements biologiques ultérieurs. L'efficacité du traitement dépend du temps de séjour des eaux dans le bassin et de la vitesse de chute des matières en suspension.

La décantation des MES entraîne également avec elle des micro-polluants et micro organismes qui constituent alors les boues primaires, fortement organiques et fermentescibles qui sont envoyées vers la chaîne de traitement des boues. Elles seront après mises en décharge ou revalorisées en agriculture selon leur composition. Le traitement primaire permet de réduire la charge polluante arrivant au traitement secondaire mais génère un volume de boues important.

I.9.2.2. Les traitements de décantation physico-chimiques

Dans certains cas, afin d'améliorer le rendement de la sédimentation, un traitement physico-chimique est également réalisé c'est le processus de coagulation et de floculation qui est employé pour séparer les solides en suspension de l'eau lorsque la vitesse de décantation naturelle est trop lente pour obtenir une clarification efficace. Ces traitements sont généralement utilisés dans les stations d'épuration de grande capacité, ou dans celles ayant à faire face à de grandes variations de charge dans l'année (zone touristique).

Ce processus comporte classiquement deux phases :

- **Une phase de coagulation/ floculation**

La coagulation est le processus physique par lequel les charges électriques à la surface des particules solides en suspension sont neutralisées par celles, de signe opposé, d'additifs coagulants. Elle est suivie d'une étape de floculation, qui provoque l'agrégation des petites

particules déchargées et la formation de floes plus gros et plus denses. Cette deuxième phase suppose l'apport d'additifs flocculants.

- **Une phase de clarification**

Dans cette phase, les particules ainsi formées, ou "floes", sont séparées de l'eau par décantation.

La décantation primaire permet d'éliminer, pour une vitesse ascensionnelle de 1,2 m/h, 40 à 60 % des MES, soit 40% de matière organique, 10 à 30 % des virus, 50 à 90 % des helminthes et moins de 50 % des kystes de protozoaires et entraîne également avec elle une partie des micropolluants (Faby, 1997).

Le traitement primaire est une étape facultative et dans de nombreuses STEP, les eaux usées prétraitées sont directement acheminées vers la phase de traitement secondaire.

I.9.3. Les traitements secondaires ou les traitements biologiques

Le traitement secondaire a pour objectif principal l'élimination des composés solubles d'origine organique. Une multitude d'organismes est associée à cette dégradation selon différents cycles de transformation. Parmi ces organismes, on trouve généralement des bactéries, des algues, des champignons et des protozoaires. Cette microflore, extrêmement riche, peut s'adapter à divers types de polluants qu'elle consomme sous forme de nourriture (substrats). Il est ainsi possible d'utiliser systématiquement cette microflore dans un processus contrôlé pour réaliser l'épuration des eaux résiduaires (Dhaouadi, 2008 et Metahri, 2012).

Le principe de ce traitement est de mettre en contact la matière organique contenue dans les eaux usées avec une population bactérienne. Celle-ci assimile alors la matière organique pour son propre développement. Ces dispositifs permettent d'intensifier et de localiser sur des surfaces réduites les phénomènes de transformation et de dégradation des matières organiques tels qu'ils se produisent en milieu naturel. Ils sont la reconstitution d'un écosystème simplifié et sélectionné faisant intervenir une microfaune de bactéries, de protozoaires et de métazoaires.

I.9.3.1. Stratégies de mise en œuvre des micro-organismes

Les micro-organismes dans le traitement des eaux usées les plus actifs, sont les bactéries qui conditionnent en fonction de leur modalité propre de développement, deux stratégies principales pour la mise en œuvre: la stratégie aérobie et la stratégie anaérobie.

I.9.3.1.1. Stratégie de mise en œuvre des micro-organismes en aérobie

Dans cette stratégie on cherche à transformer la pollution en biomasse microbienne, c'est à dire en matière insoluble facile à récupérer par décantation. Elle est schématisée sur la figure I.2. L'oxygène qui est apporté dans l'eau à traiter, va être consommé avec les matières polluantes pour la croissance microbienne. Cette réaction d'oxydation biologique conduit à la production de chaleur et de quantité de boues (dites «boues biologiques »)

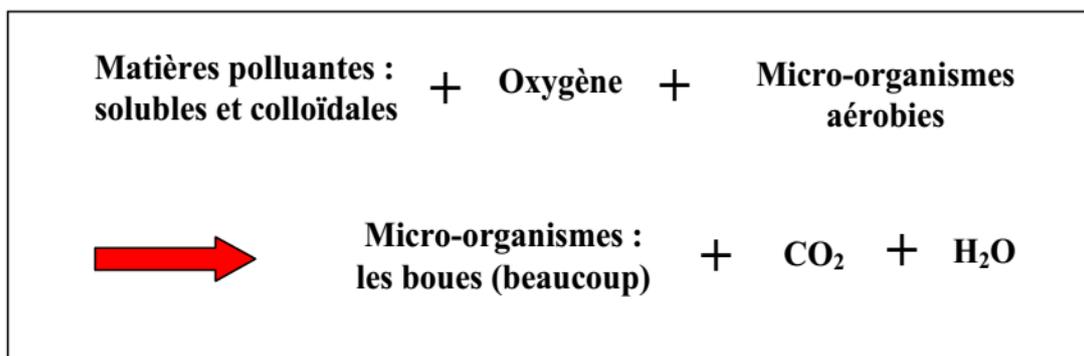


Fig.I.2. Schéma de principe de la mise en œuvre des micro-organismes en aérobiose.

I.9.3.1.2. Stratégie de mise en œuvre des micro-organismes en anaérobiose

Les traitements anaérobies font appel à des bactéries n'utilisant pas de l'oxygène, en particulier, aux bactéries méthanogènes qui conduisent, comme leur nom l'indique, à la formation du méthane à partir de la matière organique, et à un degré moindre de CO₂. Ce type de fermentation est appelé digestion en hydrologie. C'est une opération délicate qui demande une surveillance importante. En effet, la température doit être maintenue à un niveau très stable et suffisamment élevé. Il faut aussi éviter les écarts brutaux de pH et les substances inhibitrices du développement bactérien, à titre d'exemple : les cyanures, les sels de métaux lourds et les phénols. Elle est schématisée sur la figure I.3.

Vu que les eaux domestiques usées sont faiblement polluées, l'anaérobie n'est pas souvent utilisé en station d'épuration urbaine. Un traitement aérobie convient amplement. Le traitement anaérobie sera quant à lui utilisé dans certains effluents industriels très chargés en pollution organique. Par la suite, je ne parlerai donc que du traitement aérobie.

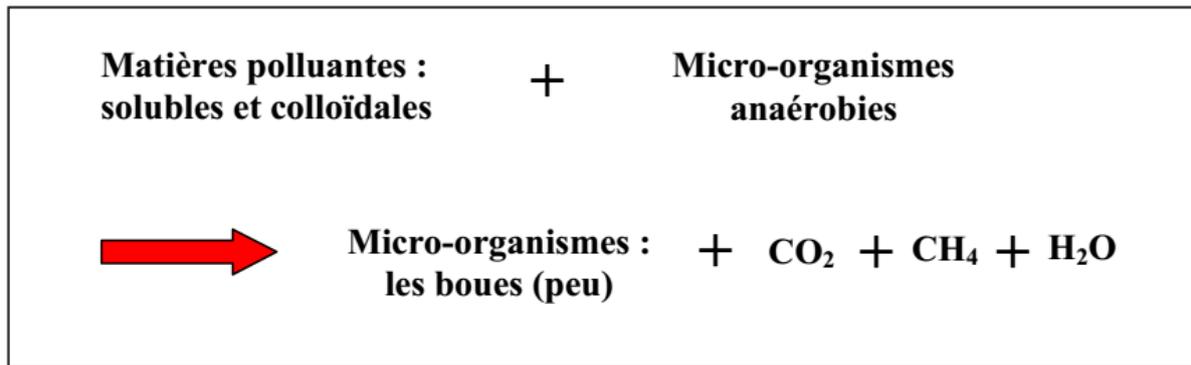


Fig.I.3. Schéma de principe de la mise en œuvre des micro-organismes en anaérobiose.

I.9.4. Les traitements tertiaires

L'expression «Traitement tertiaire» peut désigner plusieurs types de traitements ou différentes fonctions en vue d'atteindre un niveau de traitement de qualité supérieure à ce que l'on pourrait normalement atteindre d'un traitement secondaire. Le traitement tertiaire peut viser un enlèvement plus poussé pour des paramètres conventionnels comme les matières en suspension ou encore certains paramètres pour lesquels il y a peu d'élimination dans un traitement secondaire comme le phosphore, les nitrates ...etc.

I.9.4.1. Elimination du phosphore

L'élimination du phosphore, ou "déphosphatation", peut être réalisée par des voies physico-chimiques ou biologiques. En ce qui concerne les traitements physico-chimiques, l'adjonction de réactifs, comme des sels de fer ou d'aluminium, permet d'obtenir une précipitation de phosphates insolubles et leur élimination par décantation. Ces techniques, les plus utilisées actuellement, éliminent entre 80 % et 90 % du phosphore, mais engendrent une importante production de boues.

La déphosphatation biologique, de développement récent, est basée sur la succession de phases anaérobies et aérobies au cours du traitement biologique mais son rendement est en générale moins bon que celui de la déphosphatation physico-chimique (Rejsek, 2002). La masse bactérienne est soumise à un stress continu par l'alternance de phases aérobies et anaérobies. Durant la phase anaérobie, le phosphore est relargué. Cependant lors de la phase aérobie, le phosphore précédemment relargué est réassimilé en quantité supérieure, permettant ainsi une surconsommation biologique du phosphore, qui est extrait avec les boues en excès. La déphosphatation biologique peut atteindre des rendements de 60 à 70 %. Elle nécessite des réglages délicats et une surveillance rigoureuse du fonctionnement biologique.

I.9.4.2. Elimination biologique de l'azote

Dans les eaux usées, l'azote est essentiellement présent sous forme organique et ammoniacale. Outre l'assimilation de l'azote par les bactéries qui n'agit que faiblement sur sa réduction, l'abattement de l'azote se réalise en deux phases successives :

I.9.4.2.1. Nitrification : en milieu oxygéné

La nitrification consiste en la transformation de l'ammoniaque en nitrate, elle est réalisée de façon biologique par les bactéries nitrifiantes. Or, ces bactéries ont une faible croissance, le temps de rétention des eaux dans le bassin d'aération doit donc être assez long. La nitrification ne se produit donc pas dans le traitement secondaire, mais bien par un traitement aérobie tertiaire, plus long.

I.9.4.2.2. Dénitrification : en milieu pauvre en oxygène

Le nitrate ainsi produit est éliminé par la dénitrification biologique. La dénitrification est le processus par lequel les bactéries dé-nitrifiantes anaérobies convertissent le nitrate en azote gazeux (N_2). Cette relation est réalisée par le fait que, en absence d'oxygène, ces bactéries sont capables d'utiliser immédiatement l'oxygène des nitrates comme un oxydant. Le donneur d'électrons sera de préférence du carbone organique. La source de substrat carboné est donc très importante. En pratique, cette étape sera réalisée grâce à un bassin tertiaire anaérobie. Dans certains cas, les quantités de carbone organique apportées par l'effluent peuvent être insuffisantes pour obtenir une dénitrification poussée (Degrémont, 2005).

I.9.4.3. Désinfection

Désinfection elle est nécessaire lorsque les eaux usées traitées sont rejetées dans un milieu aquatique à usage balnéaire (plages, zones d'activités nautiques ou touristiques...) ou pour diminuer le risque de contamination humaine (prise d'eau potable, conchyliculture...). Il sera réalisé par des traitements de désinfection chimique par :

- a) **Le chlore** : est un oxydant puissant qui réagit à la fois avec des molécules réduites et organiques, et avec les micro-organismes (Baumont et al., 2004). Les composés utilisés dans le traitement des eaux usées sont : le chlore gazeux (Cl_2), l'hypochlorite de sodium ($NaClO$) appelé communément "eau de Javel", l'hypochlorite de calcium ($Ca(ClO)_2$), le chlore de chaux ($CaCl_2 \cdot OCl_2$) et le chlorite de sodium ($NaClO_2$) (Ouali, 2001).

b) L'ozone (O₃) : est un oxydant puissant, la désinfection par l'O₃ est utilisée aux États-Unis, en Afrique du Sud et au Moyen Orient essentiellement. Il permet l'élimination des bactéries, des virus et des protozoaires. C'est le seul procédé vraiment efficace contre les virus (Lazarova, 2003). Les tests de toxicité effectués sur des poissons, des crustacés et des algues n'ont pas permis de mettre en évidence une quelconque toxicité (Cauchi, 1996).

Ou physique par :

a) Les rayons ultraviolets : qui consistent à utiliser 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 œuvre, car il n'y a ni stockage, ni manipulation de substances chimiques et les caractéristiques chimiques de l'effluent ne sont pas modifiées (Baumont et al., 2004).

b) La filtration : est un procédé physique qui permet de retenir les microorganismes par rétention à l'aide d'un filtre. Qu'elle soit réalisée sur sable ou sur membrane, cette technique exige une épuration secondaire préalable garantissant une élimination assez poussée des matières en suspension (CSHPF, 1995). L'élimination des virus, des bactéries et des protozoaires est fonction du milieu poreux, de la vitesse de percolation, de l'épaisseur du massif filtrant et du niveau d'oxydation de l'eau filtrée (Faby, 1997).

c) Lagunes de finition : le lagunage naturel "tertiaire" assure l'exposition des microorganismes pathogènes au rayonnement solaire. Ce rayonnement provoque une destruction des germes d'autant plus efficace que le temps de séjour des eaux traitées dans la lagune est élevé. Cependant, l'efficacité de ce traitement s'amointrit lorsque l'exposition aux rayons du soleil se réduit. (Corsin et Le Strat, 2007). Les eaux usées bénéficiant d'un traitement tertiaire contiennent si peu de nutriments qu'elles ne peuvent permettre une forte croissance microbienne. Le traitement tertiaire est la méthode la plus complète pour traiter les eaux d'égouts, mais elle n'a été généralisée en raison de son coût (Madigan et Martinko, 2012).

I.9.4.4. Traitement et élimination des boues

Les traitements biologiques ou physico-chimiques utilisés pour l'épuration des eaux résiduaires génèrent une production importante de boues diluées (> 99% d'eau) et contenant

de la matière organique fermentescible. Les principaux objectifs de la filière de traitement des boues seront donc :

- De stabiliser les matières organiques pour éviter toute fermentation incontrôlée qui entraînerait des nuisances olfactives.
- D'éliminer un maximum d'eau afin de diminuer les volumes de boues à évacuer. Après une étape préalable d'épaississement permettant de concentrer les boues, la stabilisation de la matière organique est réalisée grâce à des procédés biologiques ou physico-chimiques. L'étape finale de déshydratation permettra d'extraire le maximum d'eau (Grosclaude, 1999).
- Elimination final des boues par : valorisation agricole ; incinération ; mise en décharge ou encore « Centres d'Enfouissement Techniques » (C.E.T.) sont des sites où l'on stock des déchets solides).

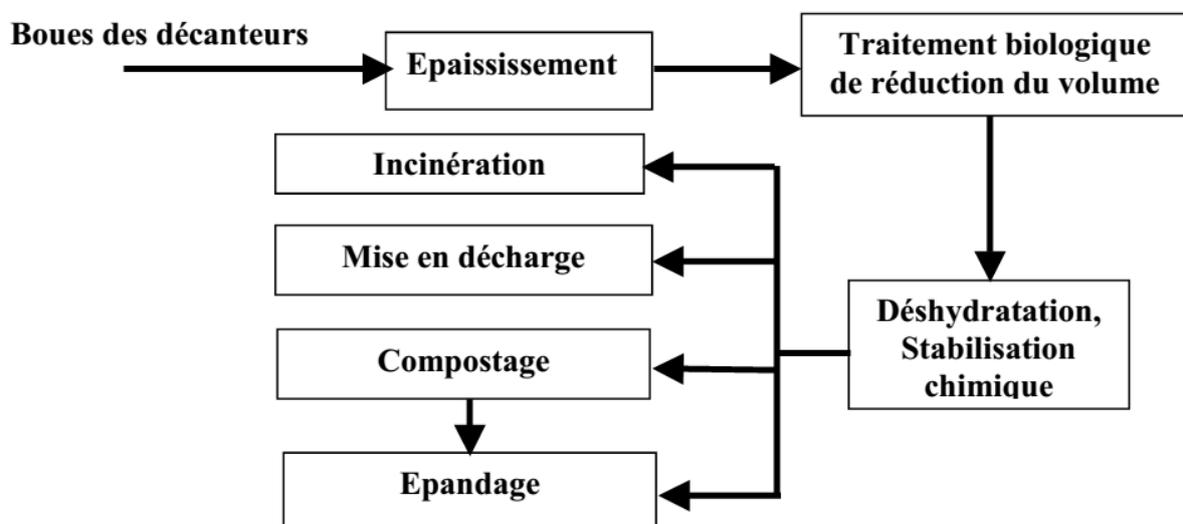


Fig.I.4. Schéma de traitement et élimination des boues.

I.10. Méthodes d'épuration des eaux usées

Il existe plusieurs filières avec différents types de traitement, mais le choix des procédés de traitement doit être adéquat du point de vue climatique, des applications attendues et du coût d'investissement. On distingue les procédés intensifs dont les boues activées, les disques biologiques et les lits bactériens et les procédés extensifs dont le lagunage et l'infiltration-percolation (Eddabra, 2011).

I.10.1. Les techniques intensives

Les stations intensives d'épuration des eaux usées sont qualifiées de systèmes classiques d'épuration biologique plus ou moins mécanisés.

Le principe de ces procédés est de localiser sur des surfaces réduites et d'intensifier les phénomènes de transformation et de destruction des matières organiques que l'on peut observer dans le milieu naturel (Déronzier et al, 2011).

Les plus répandus en Afrique et abordés dans cette étude sont :

▪ **Les systèmes à cultures libres :**

- Les boues activées

▪ **Les systèmes à cultures fixés :**

- Les lits bactériens ;
- Les disques biologiques ;
- Les biofiltres.

I.10.1.1. Les systèmes à cultures libres

Dans les **systèmes** à cultures libres, les bactéries se développent sous forme de floccs dispersés au sein du liquide à traiter. L'ensemble est brassé afin de maintenir la culture en suspension. Il existe deux procédés à cultures libres différents : le traitement par boues activées et le lagunage.

I.10.1.1.1. Le procédé à boues activées

Le procédé à boues activées est basé sur l'intensification des processus d'autoépuration présent dans le milieu naturel. En effet, il permet la dégradation et la minéralisation de la matière organique par les bactéries aérobies dans un espace réduit, grâce à un apport en oxygène assuré par un brassage de la liqueur mixte. Ce procédé est composé de deux bassins principaux (figure I.5). Le premier est un bassin d'aération, dans lequel les agrégats bactériens sont maintenus en suspension dans l'eau grâce à un brassage continu de la liqueur (Metcalf et Eddy 2003). Les microorganismes s'y développent et consomment la pollution organique des effluents en la transformant en dioxyde de carbone et eau. Le second bassin, appelé décanteur secondaire ou clarificateur, permet ensuite la séparation solide/liquide. Une partie de la boue décantée est recirculée dans le bassin aéré, augmentant ainsi la concentration en biomasse dans le réacteur biologique et amplifiant le taux d'épuration des eaux. La partie des boues en excès est envoyée vers la filière de traitement des boues.

Une variante du procédé classique à boues activées est le système dit de « réacteurs biologiques séquentiels » (RBS). Dans ce procédé, les étapes d'aération et de décantation sont réalisées par alternance dans un seul et même bassin.

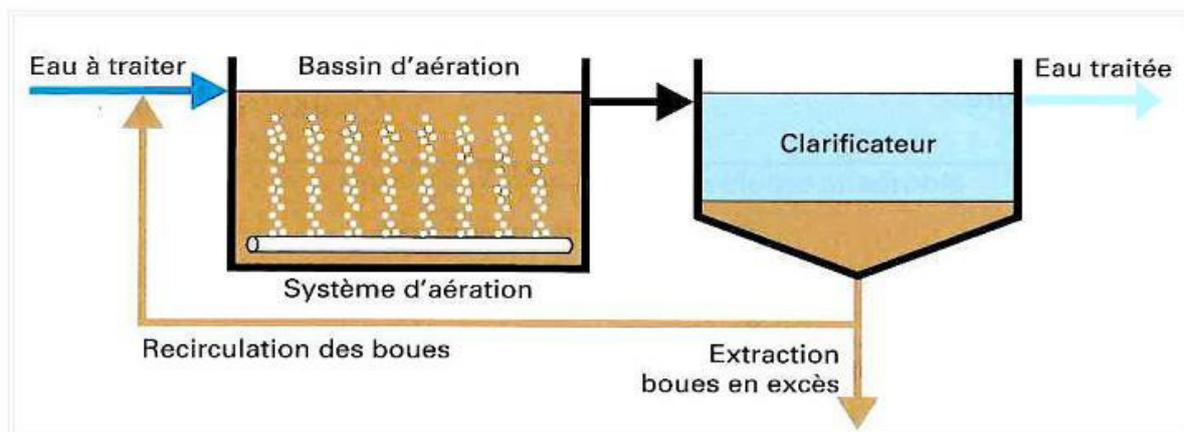


Fig.I.5. Schéma simplifié d'un système à boues activées.

Les avantages et les inconvénients des bous activées sont résumés sur le tableau suivant :

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Emprise au sol réduite ; ❖ Grande performance d'élimination de la DBO, DCO et des MES. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Coût d'investissement élevé ; ❖ Sensible aux variations de charges : hydraulique et organique ; ❖ Nécessité d'un entretien fréquent des ouvrages (main d'œuvres qualifiée) ; ❖ Coût d'exploitation (énergétique) élevé ; ❖ Faibles performances en matière d'élimination des agents pathogènes.

Tableau I.1. Avantages et inconvénients des bous activé.

I.10.1.1.1. Paramètres affectant l'efficacité du traitement à boue activée

L'élimination des micro-organismes dans les traitements à boue activée semble être régie par plusieurs mécanismes : la décantation des particules en suspension dans le système, la compétition avec les micro-organismes non pathogènes et la température. La part la plus importante est due à la décantation (Baumont et al., 2004).

Le processus d'élimination des micro-organismes le plus consistant est leur association avec les floccs préformés par la boue activée et leur élimination par décantation de ces floccs ; les micro-organismes s'adsorbant fortement aux particules solides (Shang et al.,

2005). Cette hypothèse est confirmée par Chitnis (2004) qui remarque une différence entre la concentration en bactéries de l'eau et celle de la boue biologique du décanteur ; il affirme donc que les bactéries adhèrent aux particules en suspension. Selon lui, l'aération permettrait la ségrégation des bactéries fermement accrochées aux matières en suspension, et le décanteur permettrait la séparation de ces matières en suspension (Chitnis et al., 2004). Donc, un décanteur efficace, qui élimine les matières en suspension de l'eau, joue un rôle primordial dans la réduction microbiologique. Cette élimination est corrélée positivement avec le temps de rétention des eaux usées dans le bassin. Elle augmente également lors d'une activité biologique intense dans le bassin d'aération qui va créer la boue activée. Des conditions optimales à cette vie biologique sont donc primordiales (la concentration en oxygène dissout, le pH, la température). Cependant, Koivunen (2003) ne partage pas cette théorie : malgré une élimination efficace des matières en suspension, Koivunen obtient un nombre encore significatif de bactéries entériques dans l'effluent du traitement à boue activée. Ceci indique, selon lui, la possibilité qu'un nombre considérable de micro-organismes restent sous forme libre dans l'eau. Ceux-ci ne sont donc pas évacués par le processus de décantation. Une seconde hypothèse suppose que ces microorganismes soient libérés de la boue au niveau du décanteur, puis réintégrés dans l'eau épurée (Koivunen et al., 2003).

Le deuxième processus permettant l'élimination des pathogènes est leur compétition avec les autres micro-organismes indigènes. Il semble en effet que l'inactivation des pathogènes dans les traitements à boue activée se réalise par différents processus : par des enzymes extra-cellulaires, par des protozoaires prédateurs, et par la phagocytose réalisée par les bactéries (Lv et al., 2006). Concernant la température, Koivunen (2003) a également noté que le nombre de bactéries entériques était influencé par la température. En effet, il diminue quand la température augmente (Koivunen et al., 2003). Cet effet s'explique par le développement plus approprié de communautés de prédateurs de ces micro-organismes lors de températures élevées.

I.10.1.2. Les systèmes à cultures fixés

I.10.1.2.1. Les lits bactériens

Le principe de fonctionnement des lits bactériens, consiste à faire ruisseler les eaux usées, préalablement décantées, sur une masse de matériaux poreux ou caverneux (plastique ou pouzzolane) qui sert de support aux micro-organismes (bactéries) épurateurs. Ces micro-organismes épurateurs y forment un film biologique responsable de l'assimilation de la pollution. L'aération naturelle se fait grâce à des ouïes d'aération. Le film biologique se décroche au fur et à mesure que l'eau percole. En sortie du lit bactérien se trouve un

mélange d'eau traitée et de biofilm. Ce dernier sera piégé dans le décanteur sous forme de boues et l'eau traitée rejoint le milieu naturel ou le bassin de stockage (Degrémont 2005). La recirculation des boues vers le décanteur digesteur est essentielle. L'apport d'oxygène par ventilation naturelle ou forcée est nécessaire pour le bon fonctionnement des bactéries aérobies. Le film biologique comporte des bactéries aérobies à la surface et des bactéries anaérobies près du fond. Ce biofilm se détache au fur et à mesure que l'eau percole et se reconstitue au bout d'une semaine à la température de 25°C (Satin et al, 1999). La figure I.6 illustre le principe de fonctionnement :

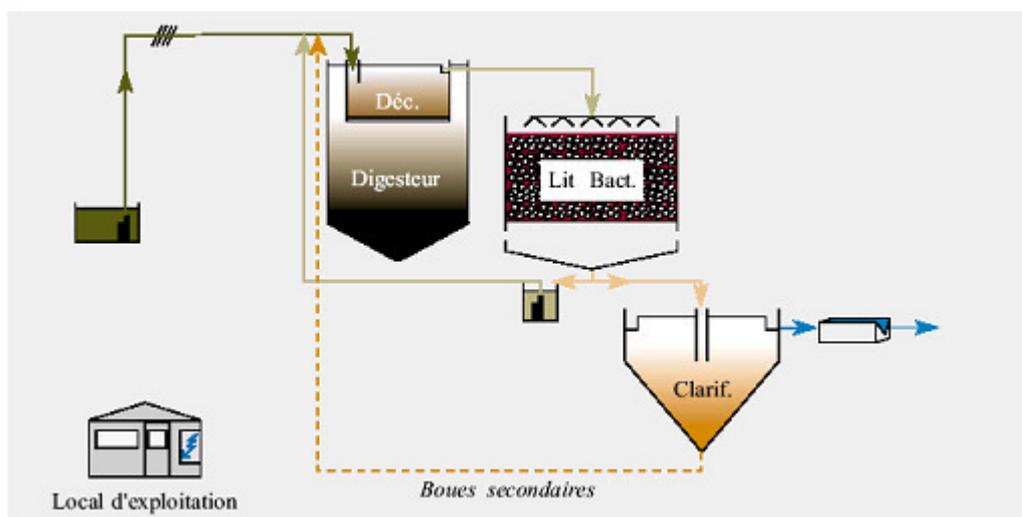


Fig.I.6. Schéma de fonctionnement d'une station d'épuration à Lit Bactérien.

Tableau I.2. Avantages et inconvénients des lits bactériens

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Occupation au sol relativement faible ; ❖ Bonne performance en terme de réduction de la DBO, de la DCO et des MES ; ❖ Faible consommation en énergie. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Coût d'investissement élevé ; ❖ Nécessite un entretien fréquent des ouvrages (main d'œuvre importante) ; ❖ Ne supporte pas les variations de débit et de concentration des effluents ; ❖ Pollution olfactive ; ❖ Nuisance par le développement des insectes.

I.10.1.2.2. Les disques biologiques

L'eau usée, préalablement décantée, alimente un ouvrage dans lequel des disques fixés sur un axe sont mis en rotation à vitesse lente. Les disques étant semi-immergés, leur rotation permet l'oxygénation de la biomasse fixée (Boutin, 2003). Sur ces disques biologiques en plastique se développe alors un film bactérien. Lors de leur émergence, ces bactéries prélèvent l'oxygène nécessaire à leur respiration et lors de l'immersion, elles absorbent la pollution dissoute dont elles se nourrissent. Dès que le film biologique dépasse une épaisseur de quelques millimètres, il se détache et est entraîné vers le décanteur final où il est séparé de l'eau épurée. Les boues ainsi piégées sont renvoyées par pompage périodique vers l'ouvrage de tête pour y être stockées et digérées.

Pour ce système, il faut s'assurer de la fiabilité mécanique de l'armature (entraînement à démarrage progressif, bonne fixation du support sur l'axe) et du dimensionnement de la surface des disques (celui-ci doit être réalisé avec des marges de sécurité importantes). La figure I.7 donne le principe de fonctionnement

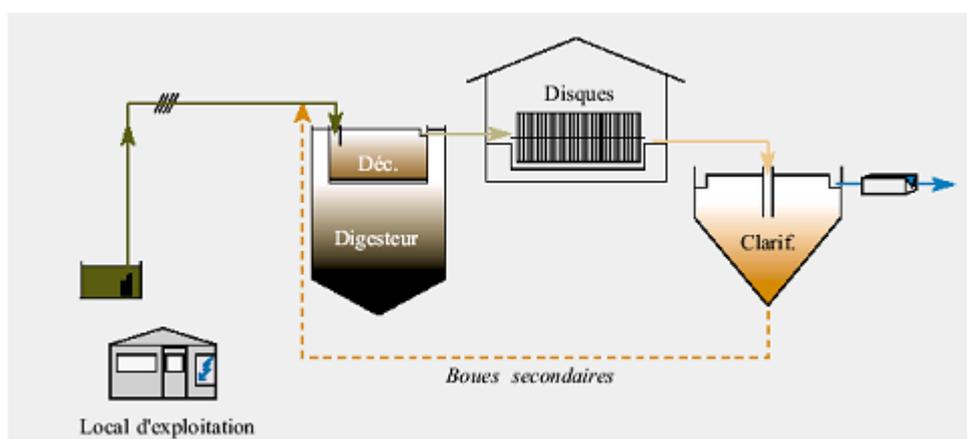


Fig.I.7. Schéma de fonctionnement d'une station d'épuration à disque biologique.

Tableau I.3. Avantages et inconvénients des Biodisques.

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Très bonne réactivité en cas de surcharge par rapport aux boues activées ; ❖ Moins d'équipement électromécanique : un seul moteur par file ❖ Bonne décantabilité des boues ; ❖ Plus faible sensibilité aux variations de charge et aux toxiques que les boues activées. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Limitation de la capacité de la STEP ❖ Possibilité de la pollution olfactive. ❖ Nécessité de prétraitements efficaces. ❖ Sensibilité au colmatage.

I.10.1.2.3. Les biofiltres

Après le pré-traitement et généralement une étape de traitement physico-chimique, les eaux usées sont traitées sur un étage de biofiltres. Ce traitement consiste à faire transiter les eaux usées dans une cuve contenant un matériau (plastique où billes d'argile par exemple) filtrant immergé, support du développement d'un film biologique.

Le film biologique permet donc l'assimilation de la pollution et la filtration de la boue produite d'où le terme "biofiltre". Les besoins en oxygène sont assurés par insufflation d'air (air procédé). Plusieurs fois par jour, un lavage à l'eau traitée (eau de lavage) et à l'air (air de lavage) est nécessaire. Les eaux sales (eaux de nettoyage) retournent en tête de traitement afin que les boues biologiques soient piégées dans le décanteur primaire (ou bien subissent un traitement primaire physico-chimique).

Le principe de fonctionnement de l'installation se présente comme suit :

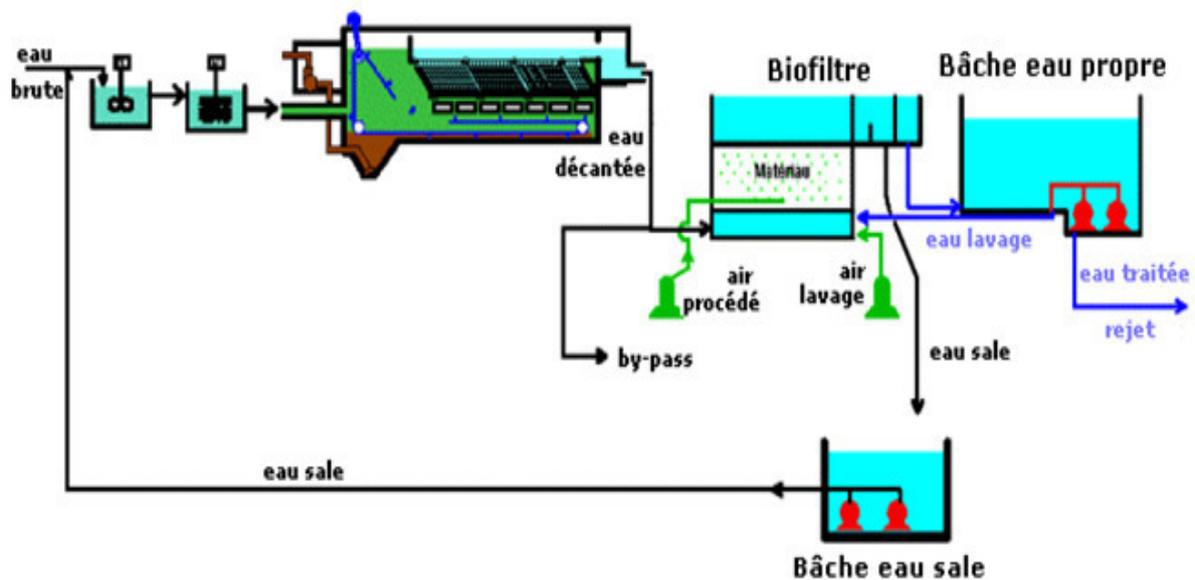


Fig.I.8. Schéma de fonctionnement d'une station d'épuration à biofiltres.

Les avantages et inconvénients de ce mode de traitement sont résumés sur le tableau I.4. Ci-après.

Tableau I.4. Avantages et inconvénients des Biofiltres.

Avantages	inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Emprise au sol faible par rapport au procédé boues activées ; ❖ Absence de clarificateurs secondaires; ❖ Grande stabilité vis-à-vis des variations de charge; ❖ Possibilité à traiter des eaux faiblement concentrées et froides; ❖ Intégration architecturale aisée; ❖ Modularité. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Coût d'exploitation légèrement plus élevé qu'une boue activée, en cas de charge entrante régulière toute l'année ; ❖ Performance d'épuration moindre que pour une boue activée sur la DBO₅ en cas de traitement poussé

I.10.2. Procédés extensifs

Les stations extensives (ou rustiques) d'épuration des eaux usées utilisent les procédés biologiques consistant à faire proliférer des organismes vivants du règne animal ou végétal au détriment de la matière (matières organiques, sels minéraux,...) contenue dans les eaux usées en présence ou non d'oxygène. Dans ces systèmes, l'épuration de l'eau se fait par voie naturelle. La charge surfacique admise pour ces systèmes reste faible comparée à celle admise pour les systèmes intensifs.

Le choix de ce type de système réside essentiellement sur les avantages socio-économiques, techniques et environnementaux qui s'y présentent. Les techniques associées à ces systèmes sont à cultures fixées ou à cultures libres.

- **Les systèmes à cultures fixées :**
 - ✓ L'infiltration-percolation sur sable
 - ✓ Les filtres plantés à écoulement vertical
 - ✓ Les filtres plantés à écoulement horizontal

- **Les systèmes à cultures libres :**
 - ✓ Le lagunage aéré
 - ✓ Le lagunage à macrophytes
 - ✓ Le lagunage naturel ou lagunage à microphytes

I.10.2.1. Les systèmes à cultures fixées

Les procédés d'épuration à cultures fixées consistent à faire ruisseler l'eau à traiter sur des massifs filtrants indépendants. Les principaux mécanismes qui interviennent dans ces systèmes sont :

- **Filtration superficielle** : les matières en suspension (MES) sont arrêtées à la surface du massif filtrant et, avec elles une partie de la pollution organique (DCO particulaire) ;
- **Oxydation** : le milieu granulaire constitue un réacteur biologique, un support de grande surface spécifique, sur lequel se fixent et se développent les bactéries aérobies responsables de l'oxydation de la pollution dissoute (DCO dissoute, azote organique et ammoniacal).

I.10.2.1.1. L'infiltration-percolation sur sable

L'infiltration-percolation est une technique non conventionnelle d'épuration des eaux résiduaires, le principe de cette technique consiste à infiltrer, après décantation, l'effluent à épurer à travers un massif de sable. Ce dernier constitue un réacteur aérobie à biomasse fixée, le sable sert de support à une filtration biologique.

I.10.2.1.1.1. Mécanismes d'épuration par infiltration percolation

Au niveau d'un filtre à sable, utilisé dans le procédé d'infiltration percolation, plusieurs réactions peuvent avoir lieu, parmi ces réactions :

- a) **La filtration** : les solides en suspension ainsi retenus par le milieu poreux s'y accumulent au niveau des premiers centimètres du support filtrant. Elle permet d'obtenir une bonne élimination des bactéries, de la couleur, de la turbidité et de l'odeur.
- b) **Échange d'ions** : c'est un processus réversible d'échange de cations et d'anions entre phase solide et phase liquide ou entre les phases solides présentant un contact étroit. Il s'agit d'un procédé par lequel, une substance insoluble attire un ion positif ou un ion négatif d'une solution et rejette un autre ion de même signe (desjardins.,1997).
- c) **Adsorption** : c'est la fixation ou la rétention d'ions libres, d'atomes ou de molécules à une surface donnée. L'adsorption est la conséquence des interactions physico-chimiques qui se produisent à la surface de l'adsorbant. Elle permet la fixation des substances responsables de : la couleur, le goût, l'odeur...etc., ainsi que plusieurs

substances toxiques non biodégradables à la surface du support d'une manière physique et chimique (desjardins.,1997).

- d) **Oxydo-réduction** : généralement en cas de l'azote, en aérobie c'est le phénomène d'oxydation qui domine (cas de nitrification), en anaérobie on assiste à la réduction (cas de la dénitrification).
- e) **Biodégradation** : l'oxygène et les nutriments véhiculés par l'eau usée à traiter favorisent la croissance et la multiplication des micro-organismes. Ces derniers ont un rôle très important dans la dégradation des composés organiques retenus par le support filtrant.

La figure I.9 illustre le schéma du procédé d'infiltration percolation utilisé pour l'épuration des eaux usées.

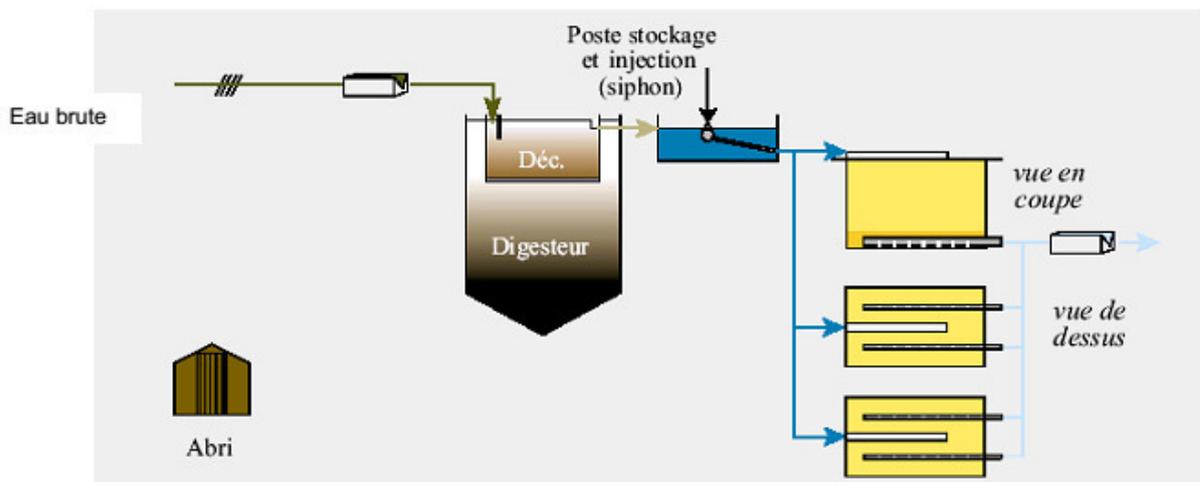


Fig.I.9. Schéma de fonctionnement d'une station d'épuration à lits d'infiltration- percolation sur sable.

Tableau I.5. Avantages et inconvénients des L'infiltration-percolation sur sable.

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Rusticité du procédé : pas d'obligation de fourniture d'énergie si la topographie des lieux le permet ; ❖ Bonne qualité de l'eau traitée par rapport au lagunage ; ❖ Elimination importante de l'azote par nitrification ; ❖ Elimination possible de pathogène (désinfection) pour de grande hauteur de massif filtrant (sable) ; ❖ Emprise au sol limitée par rapport au lagunage ; ❖ Faibles contraintes et coûts d'exploitation : exploitation simple et de durée limitée ; ❖ Bonne intégration dans l'environnement : possibilité de couvrir le lit avec de la terre végétale) ; ❖ Rusticité du procédé : pas d'obligation de raccordement électrique. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Risque de colmatage ; ❖ Risque de mauvaise intégration dans l'environnement si découvert : odeur, visuel ; ❖ Faible élimination de l'azote par dénitrification ; ❖ Peu adapté sur les réseaux unitaires (surcharges hydrauliques).

I.10.2.1.2. Les filtres plantés à écoulement vertical

Les filtres sont des excavations étanchées du sol remplies de couches successives de gravier ou de sable de granulométrie variable selon la qualité des eaux usées à traiter. Contrairement à l'infiltration-percolation précédemment évoquée, l'influent brut est réparti directement, sans décantation préalable, à la surface du filtre. Il s'écoule en son sein en subissant un traitement physique (filtration), chimique (adsorption, complexation,...) et biologique (biomasse fixée sur support fin). Les eaux épurées sont drainées. Les filtres sont alimentés en eaux usées brutes par bâchées. Pour un même étage, la surface de filtration est séparée en plusieurs unités permettant d'instaurer des périodes d'alimentation.

Le principe épuratoire repose sur le développement d'une biomasse aérobie fixée sur un sol reconstitué. L'oxygène est apporté par convection et diffusion. L'apport d'oxygène par les racines des plantes est, ici négligeable par rapport aux besoins (Déronzier et al., 2001). Théoriquement, plusieurs espèces de plantes peuvent être utilisées (Scirpus spp, Typha...), mais les roseaux (de type Phragmites australis), par leur résistance aux conditions rencontrées (longue période submergée du filtre, périodes sèches, fort taux de matières organiques), et la rapide croissance du chevelu de racines et rhizomes, sont les plus souvent utilisés dans les climats tempérés (Brix, 1987). La densité de plantation est de 4 plants/m².

Le schéma de fonctionnement est donné ci-dessous :

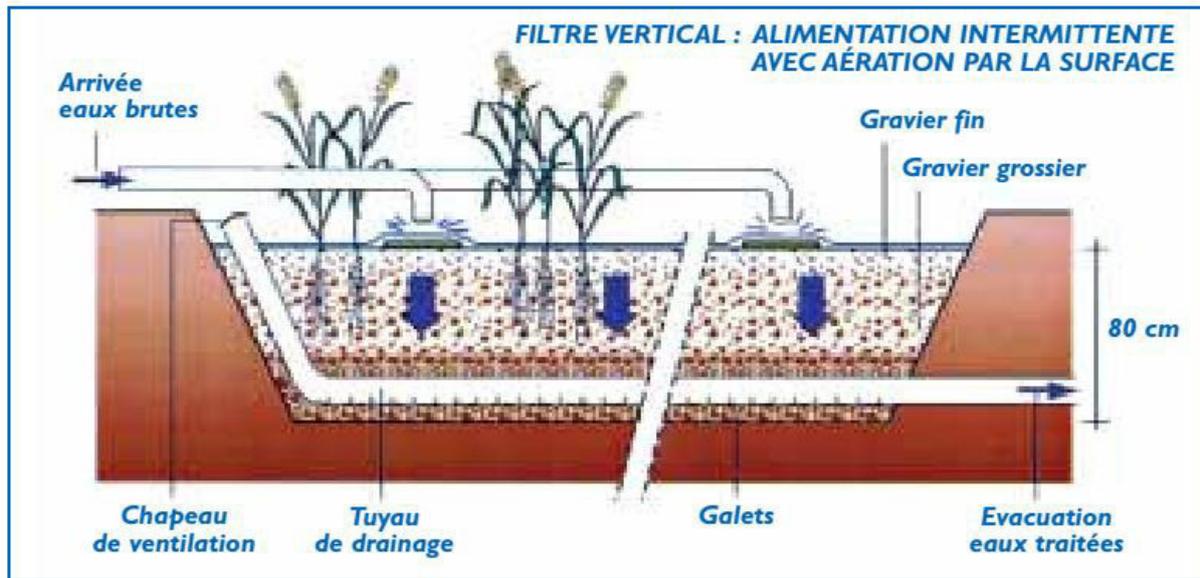


Fig.I.10. Schéma d'un filtre planté à écoulement **vertical** utilisé pour l'épuration des eaux usées. (Boudot, 2003)

Tableau I.6. Avantages et inconvénients des filtres plantés de roseaux à écoulement vertical.

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Facilité et faible coût d'exploitation. ❖ Aucune consommation énergétique si la topographie le permet ; ❖ Traitement des eaux usées domestiques brutes ; ❖ Gestion réduite au minimum des dépôts organiques retenus sur les filtres du 1er étage ; ❖ Bonne adaptation aux variations saisonnières de population. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Exploitation régulière, faucardage annuel de la partie aérienne des roseaux, désherbage manuel avant la prédominance des roseaux ; ❖ Risque de présence d'insectes ou de rongeurs.

I.10.2.1.3. Les filtres plantés à écoulement horizontal

Dans les filtres à écoulement horizontal, le massif filtrant est quasi-totalement saturé en eau. L'effluent est réparti sur toute la largeur et la hauteur du lit par un système répartiteur situé à une extrémité du bassin ; il s'écoule ensuite dans un sens principalement horizontal au travers du substrat. La plupart du temps, l'alimentation s'effectue en continu car la charge organique apportée est faible.

L'évacuation se fait par un drain placé à l'extrémité opposée du lit, au fond et enterré dans une tranchée de pierres drainantes. Ce tuyau est relié à un siphon permettant de régler la hauteur de l'eau dans le lit, de façon à ce qu'il soit saturé pendant la période d'alimentation. Le niveau d'eau doit être maintenu environ à 5 cm sous la surface du matériau. En effet, l'eau ne doit pas circuler au-dessus de la surface pour ne pas court-circuiter la chaîne de traitement ; il n'y a donc pas d'eau libre et pas de risque de prolifération d'insectes. La variété la plus largement utilisée est le roseau *Phragmites Australis* en raison de sa vitesse de croissance, de développement racinaire et de sa résistance aux conditions de saturation du sol. La plantation peut se faire à l'aide de graines, de jeunes pousses ou de rhizomes avec une densité de l'ordre de 4 par m² (Baudot, 2003)

Le schéma de fonctionnement est donné ci-dessous :

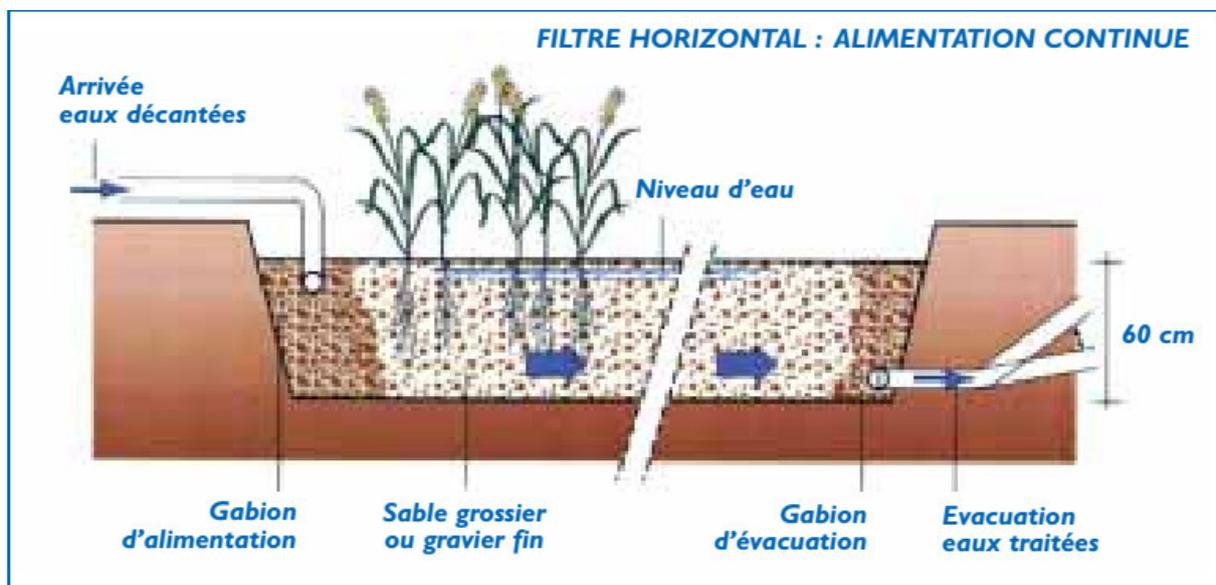


Fig.I.11. Schéma d'un filtre planté à écoulement **horizontal** utilisé pour l'épuration des eaux usées. (Baudot, 2003)

Tableau I.7. Avantages et inconvénients des filtres plantés de roseaux à écoulement horizontal.

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Faible consommation énergétique : ne nécessite pas une pente importante pour l'écoulement par gravité ; ❖ Aucune nécessité d'une qualification poussée pour l'entretien ; ❖ Bonne réaction aux variations de charge. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ L'emprise au sol est importante ; ❖ Une installation pour des tailles d'environ 4.000 EH ne peut s'envisager que sous réserve d'une réflexion poussée des conditions d'adaptation des bases de dimensionnement et de l'assurance de la maîtrise de l'hydraulique.

I.10.2.2. Les systèmes à cultures libres

Le processus d'épuration par "cultures libres" repose sur le développement d'une culture bactérienne, de type aérobie principalement. L'oxygène provient de diverses sources selon les filières. La culture bactérienne est ensuite séparée de l'eau traitée par mécanisme de sédimentation dans un ouvrage, le plus souvent, spécifique (clarificateur, lagune de décantation...).

I.10.2.2.1. Le lagunage aéré

C'est une technique d'épuration biologique des eaux usées par culture libre avec un apport artificiel d'oxygène. Dans l'étage d'aération, les eaux usées sont dégradées par des micro-organismes qui consomment et assimilent les nutriments. Le principe de base est le même que celui des boues activées avec une densité de bactéries faible et l'absence de recirculation. L'oxygénation est assurée par un aérateur de surface ou insufflation d'air, la consommation électrique de chacun de ces deux procédés est similaire à celle d'une boue activée. La décantation est assurée principalement par une ou deux simples lagunes, les matières en suspension s'agglomèrent lentement sous forme de boue, ces dernières doivent être régulièrement extraites. Il existe deux formes de lagunage aéré :

- a) **Le lagunage aéré strictement aérobie** : nécessite une aération suffisante pour maintenir le bassin en aérobie, (Cas peu utilisé car il consomme beaucoup d'énergie).
- b) **Le lagunage aéré aérobie/anaérobies facultatif** : dans ce procédé Il y a formation de dépôt qui évolue en milieu anaérobie. Le lagunage aéré se différencie des boues activées par l'absence d'un maintien d'une concentration fixée de micro-organisme,

cela conduit à prévoir des temps de séjour plus longs. Ce procédé à un bon comportement vis-à-vis des effluents dilués ou si les débits ne sont pas bien écrêtés.

Les étapes de lagunage aéré sont :

* **Les prétraitements** : Dégrillage, Dessablage, Dégraissage.

* **Les lagunes** : lagune d'aération, lagune de décantation et lagune de finition, cette dernière a pour rôle d'extraire de l'azote et du phosphore.

L'étanchéité des bassins est assurée par des géomembranes pour limiter les risques d'infiltration des eaux usées vers les nappes, les rendements épuratoires sont de 90% pour la DBO₅, 80 % en DCO, 85% de MES et de 50 à 60 % pour l'azote et le phosphore, on note également un abattement des germes pathogènes de 3 à 4 U log « 10³ à 10⁴ germes » (AERM, 2007).

Tableau I.8. Avantages et inconvénients de lagunage aéré.

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Procédé simple ; ❖ Très peu sensible aux variations des charges polluantes ; ❖ Requier un personnel moyennement qualifié ; ❖ Traitement conjoints d'effluents domestiques et industriels biodégradables ; ❖ Bonne intégration paysagère ; ❖ Boues stabilisées. 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Nécessité d'avoir plusieurs bassins de lagune et d'entretenir (L'occupation au sol reste importante) ❖ Quelques matériels électromécaniques ; ❖ Rejet d'une qualité moyenne sur tous les paramètres.

I.10.2.2.2. Le lagunage à macrophytes

Le procédé utilise des végétaux supérieurs, flottants ou fixés. Ces végétaux encore appelés macrophytes servent de supports à d'autres microorganismes intervenant dans l'épuration. Les performances intrinsèques des bassins à macrophytes en Afrique sont très peu étudiées jusqu'à ce jour, et la laitue d'eau demeure la plante la plus utilisée dans les bassins d'épuration (Kone, 2002). Le lagunage à macrophytes est effectué dans les bassins de lagunage couverts de plantes aquatiques flottantes. Dans ce système, l'eau est apparente : 30-40 cm d'eau au-dessus d'un substrat composé le plus souvent de graviers ou de sable dans

lequel sont repiqués les végétaux aquatiques. Ce système nécessite une superficie suffisamment grande : 10-12 m² par usager. Les eaux usées séjournent simplement dans une série de bassins à ciel ouvert peuplés de végétaux aquatiques. Le roseau (ou phragmite) et autres plantes vigoureuses ont été largement utilisés à cet effet sous le nom de «macrophyte».

Ces dernières consomment les composés polluants dissous dans l'eau – azote et phosphore – qui constituent pour eux des éléments nutritifs. Par ailleurs elles servent de supports à de nombreux organismes microscopiques – algues et bactéries – qui font le gros du travail. Les végétaux fixent les colonies de bactéries sur la base de leurs tiges et leurs rhizomes (tiges souterraines), ce qui améliore les performances des organismes épurateurs. Par ailleurs, ils absorbent par leurs racines une partie (10 % environ) des sels minéraux – nitrates et phosphates – issus de la décomposition de la matière organique présente dans les eaux usées.

Tableau I.9. Avantages et inconvénients de lagunage à macrophytes.

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Faibles coûts d'exploitation ; ❖ Bonne intégration dans l'environnement ; ❖ Bonne élimination des pathogènes ; ❖ Raccordement électrique inutile ; ❖ Favorise la décantation des MES (élimination de 67 à 96%) et assure l'élimination de la charge organique (80 à 95% de la DBO₅ et 63 à 90% de la DCO) par filtration au niveau des racines (Koné, 2002); ❖ Les racines sert de support aux algues et microorganismes et favorise l'oxygénation du milieu (Koné, 2002) ; ❖ Bonne élimination du phosphore par exportation des orthophosphates au niveau des racines et des parties immergées des plantes et élimination de 15% de l'azote total admis (Koné, 2002). 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Emprise au sol importante ; ❖ Difficultés d'extraction des boues ; ❖ Pas de réglage possible en exploitation ; ❖ Sensibilité aux effluents septiques et concentrés ; ❖ Variation saisonnière de la qualité de l'eau traitée.

I.10.2.2.3. Le lagunage naturel ou lagunage à microphytes

Le lagunage naturel, encore appelé bassin de stabilisation, est une dépression ou excavation naturelle ou artificielle dans laquelle s'écoulent naturellement les eaux brutes ou décantées, pour ressortir, sans intervention extérieure d'aucune sorte. Il s'agit d'un ou de plusieurs bassins en série, dans lesquels les effluents bruts sont soumis aux processus biochimiques naturels de l'autoépuration.

Le mécanisme de base sur lequel repose le lagunage naturel est la photosynthèse. La tranche d'eau supérieure des bassins est exposée à la lumière. Ceci permet le développement d'algues qui produisent l'oxygène nécessaire au développement et au maintien des bactéries aérobies. Ces bactéries sont responsables de la dégradation de la matière organique.

Le gaz carbonique formé par les bactéries, ainsi que les sels minéraux contenus dans les eaux usées, permettent aux algues de se multiplier. Il y a ainsi prolifération de deux populations interdépendantes : les bactéries et les algues planctoniques, également dénommées "microphytes". Ce cycle s'auto entretient tant que le système reçoit de l'énergie solaire et de la matière organique (Satin et al, 1999).

Au fond du bassin, où la lumière ne pénètre pas, ce sont des bactéries anaérobies qui dégradent les sédiments issus de la décantation de la matière organique. Un dégagement de gaz carbonique et de méthane se produit à ce niveau.

Les mécanismes généraux qui se passent dans un bassin de lagunage naturel se résument dans le schéma ci-dessous :

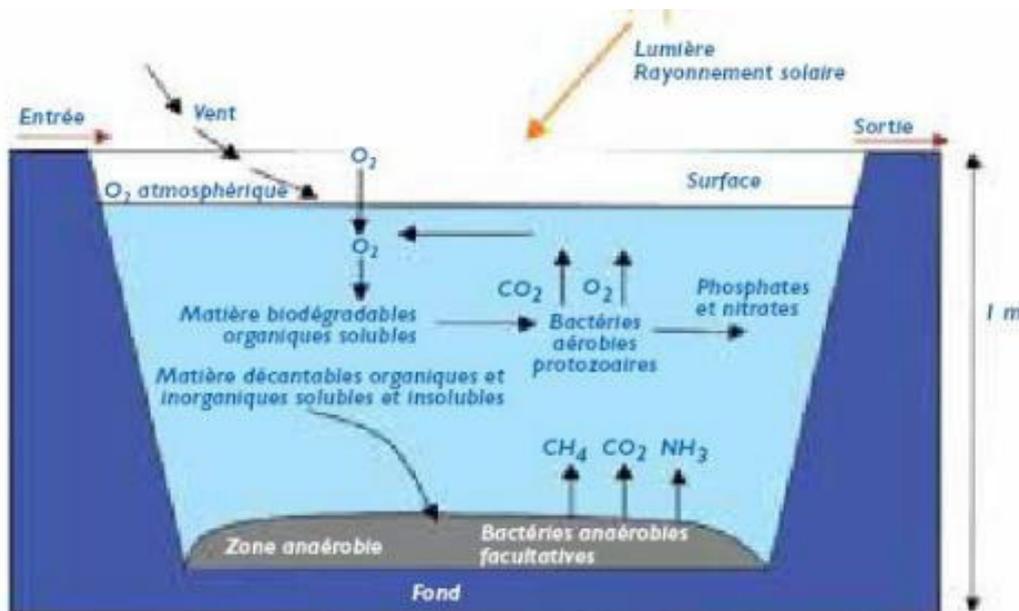


Fig.I.12. Schéma de mécanisme en jeu dans les bassins de lagunage naturel. (P Molle, 2012).

Références

- AERM (Agence de l'Eau Rhin-Meuse), 2007. Procédés d'épuration des petites collectivités du bassin rhin-meuse.
- Baumont, S., Camard, J.-P., Lefranc, A., Franconi, A., d'Ile-de-France, I. d'aménagement et d'urbanisme de la région, 2004. Réutilisation des eaux usées épurées: risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France. ORS Ile-de-France.
- BOUDOT, B., PERERA, P., 2003. Procédés extensifs d'épuration des eaux usées adaptés aux petites et moyennes collectivités (500-5000 eq-hab) Mise en œuvre de la directive du Conseil n° 91/271 du 21 mai 1991. direction générale de l'environnement (commission européenne).
- Bourgeois, S., 1996. La valeur azotée des boues résiduelles des stations d'épuration urbaines. Ademe.
- Boutin, C., 2003. Éléments de comparaison techniques et économiques des filières d'épuration adaptées aux petites collectivités. Ingénieries-EAT p-47.
- Brix, H., 1987. Treatment of wastewater in the rhizosphere of wetland plants—the root-zone method. *Water Science and Technology* 19, 107–118.
- Cauchi, H., Nakache, S.D., Zagury, B., Carré, C., Denis, D., Larbaigt, D., Martigne, S., 1996. Dossier: la réutilisation des eaux usées après épuration. *TSM* 2, 81–118.
- Chitnis, V., Chitnis, S., Vaidya, K., Ravikant, S., Patil, S., Chitnis, D.S., 2004. Bacterial population changes in hospital effluent treatment plant in central India. *Water Research* 38, 441–447.
- Corsin, P., Le Strat, P., 2007. Les effluents des stations d'épuration: comment les rendre aptes a une seconde vie. *EAU L INDUSTRIE LES NUISANCES* 299, 47.
- CSHPF, Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France, 1995. Recommandations sanitaires relatives à la désinfection des eaux usées urbaines 22.
- DEGREMONT, 2005. Mémento Technique de l'eau., 10 e éd. ed. LAVOISIER S.A.S.
- Deronzier, G., Choubert, J.-M., 2004. Traitement du phosphore dans les petites stations d'épuration à boues activées. Document technique FNDAE 29.
- Deronzier, G., Schétrite, S., Racault, Y., Canler, J.-P., Liénard, A., Héduit, A., Duchène, P., 2001. Traitement de l'azote dans les stations d'épuration biologique des petites collectivités. Document technique FNDAE 25, 79.
- Desjardins, C., 1997. Le traitement des eaux, 2 e édition. ed. école polytechnique de montréal, canada.
- Dhaouadi, H., Marrot, B., 2008. Olive mill wastewater treatment in a membrane bioreactor: process feasibility and performances. *Chemical Engineering Journal* 145, 225–231.
- Eddabra, R., 2011. Évaluation de la contamination bactériologique des eaux usées des stations d'épuration du Grand Agadir: Isolement, caractérisation moléculaire et antibiorésistance des espèces du genre *Vibrio*. Strasbourg.

- Elskens M. (2010) Analyse des eaux résiduaires, Mesure de la pollution. Techniques de l'ingénieur, P4200 v2.
- Faby, J.A., Brissaud, F., 1997. L'utilisation des eaux usées épurées en irrigation. Office international de l'eau 76.
- Fathallah, Z., Elkharrim, K., Fath-allah, R., Hbaiz, E.M., Hamid, C., Ayyach, A., Elkhadmaoui, A., Belghyti, D., 2014. ETUDE PHYSICO-CHIMIQUE DES EAUX USEES DE L'UNITE INDUSTRIELLE PAPETIERE (CDM) A SIDI YAHIA EL GHARB (MAROC). LARHYSS Journal ISSN 1112-3680.
- GROSCLAUDE, G., 1999. Un point sur... l'eau: usages et polluants. Tome II. Paris: INRA.
- Koivunen, J., Siitonen, A., Heinonen-Tanski, H., 2003. Elimination of enteric bacteria in biological–chemical wastewater treatment and tertiary filtration units. *Water research* 37, 690–698.
- Koné, D., 2002. Epuration des eaux usées par lagunage à microphytes et à macrophytes en Afrique de l' Ouest et du Centre.
- LAZAROVA, V., BRISSAUD, F., 2007. Intérêt, bénéfices et contraintes de la réutilisation des eaux usées en France. *L'eau, l'industrie, les nuisances* 29–39.
- Lazarova, V., Gaid, A., Rodriguez-Gonzalez, J., Alday Ansola, J., 2003. l'intérêt de la réutilisation des eaux usées: analyses d'exemples mondiaux. *TSM. Techniques sciences méthodes, génie urbain génie rural* 64–85.
- Liang, Z., Liu, Y., Ge, F., Xu, Y., Tao, N., Peng, F., Wong, M., 2013. Efficiency assessment and pH effect in removing nitrogen and phosphorus by algae-bacteria combined system of *Chlorella vulgaris* and *Bacillus licheniformis*. *Chemosphere* 92, 1383–1389.
- Lv, W., Zheng, X., Yang, M., Zhang, Y., Liu, Y., Liu, J., 2006. Virus removal performance and mechanism of a submerged membrane bioreactor. *Process Biochemistry* 41, 299–304.
- MADIGAN, M., MARTINKO, J., 2012. *Biologie des micro-organismes*, 11è. ed. PEARSON.
- Maiga, A.H., Konaté, Y., Wethe, J., Denyigba, K., Zoungrana, D., Togola, L., 2006. Performances épuratoires d'une filière de trois étages de bassins de lagunage à microphytes sous climat sahélien: cas de la station de traitement des eaux usées de l'EIER.
- Mara, D.D., 1980. *Sewage treatment in hot climates.*, 2nd ed. John Wiley & Sons Ltd, Baffins Lane, Chichester, Sussex.
- Metahri, M.S., 2012. EVALUATION OF CULTIVATED LAND REQUIRED FOR TERTIARY TREATMENT OF SECONDARY EFFLUENT FROM THE EAST WWTP OF TIZI-OUZOU (ALGERIA).
- Metcalf & Eddy, B., Tchobanoglous, G., 1980. *Wastewater Engineering: Treatment Disposal Reuse*. Central Book Company.
- Metcalf, W., Eddy, C., 2003. *Wastewater Engineering*. 4th. McGraw-Hill Inc, New York.

- Miquel, G., Revol, H., 2003. La qualité de l'eau et de l'assainissement en France-Rapport 215. Tome 1-2002-2003. Paris: Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques.
- Molle, P., 2012. Déphosphatation des eaux usées par filtres plantés garnis de phosphorites.
- Ouali, M.-S., 2001. Cours de procédés unitaires biologiques et traitement des eaux.
- Peavy, H.S., Rowe, D.R., Tchobanoglous, G., 1985. Environmental engineering. McGraw-Hill Science/Engineering/Math.
- Pons, M.-N., Belhani, M., Bourgois, J., Dupuit, E., 2008. Analyse du cycle de vie: Épuration des eaux usées urbaines. Techniques de l'ingénieur. Environnement 3.
- Rejsek, F., 2002. Analyse des eaux: aspects réglementaires et techniques. Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine.
- Rodier, J., al, 2005. L'Analyse de l'eau: Eaux naturelles, Eaux résiduaires, Eau de mer, 8 e édition. ed. Dunod, Paris.
- Rousseau, H., 1995. Les contaminants chimiques de l'eau brute ou issus des canalisations du réseau de distribution. In Air intérieur et eau potable.
- SATIN M., BELMI B. Guide technique de l'assainissement. 2 édition.
- Shang, C., Wong, H.M., Chen, G., 2005. Bacteriophage MS-2 removal by submerged membrane bioreactor. Water research 39, 4211–4219.
- Suschka, J., Ferreira, E., 1986. Activated sludge respirometric measurements. Water Research 20, 137–144.

Chapitre II : Généralité sur les algues.

*« A l'échelle cosmique, l'eau est plus rare que l'or. »
Hubert Reeves*

II.1. Les algues

Les algues sont des êtres vivants autotrophes qui contiennent toujours de la chlorophylle et divers autres pigments surnuméraires. Leur cycle de vie se déroule généralement en milieu aquatique. Les algues sont des cryptogames, thallophytes, photosynthétique, leurs habitats sont variés, mais leur cycle de reproduction nécessite absolument de l'eau. Leur morphologie est très diversifiée. Les algues sont classées selon leur taille (micro et macro-algues).

II.1.1. Les macro-algues

Les macro-algues sont généralement visibles à l'œil nu, elles sont souvent connues par « seaweeds » (Guiry, 2008). Elles sont cultivées pour produire des composants d'intérêt destinés à des applications industrielles. L'existence de ces organismes est nécessaire aux écosystèmes en termes de fonction, productivité et composition (Dawes et Mathiesen, 2008 ; Littler et Littler, 2000 ; Taylor, 1960).

Les macro-algues peuvent être subdivisées en trois groupes selon leur pigmentation : verte, marron, et rouge. Actuellement, les macro-algues sont utilisées dans des procédés de transformation pour produire de l'énergie : combustion, pyrolyse et digestion anaérobie (biogaz) (Ross et al., 2008).

II.1.2. Les micro-algues

Les micro-algues, ou Phytoplancton, sont généralement d'une taille de l'ordre du micron (Diadié, 2009). Allant de quelques micromètres à plusieurs dizaines de micromètres (Cadoret et Bernard, 2008). Ce sont définies comme des organismes unicellulaires ou pluricellulaires soit des Eucaryotes ou des Procaryotes (Sialve et Steyer, 2013). Les micro-algues caractérisées principalement par l'absence de racines et de feuilles mais possédant de la chlorophylle ainsi que d'autres pigments pour réaliser la photosynthèse (Becerra, 2009). Leur mécanisme photosynthétique est similaire à celui des plantes terrestres (Sadi, 2012). Présentes dans tous les milieux (salins, eaux douces, milieu aride...), les micro-algues représentent la majorité du plancton marin et produisent l'essentiel de l'oxygène atmosphérique (Berberoglu et al., 2009). Le nombre d'espèces est estimé de 200000 à 1000000, ce qui représente un grand potentiel et une grande diversité par rapport aux 250000 espèces végétales recensées (Cadoret et Bernard, 2008 ; Pulz et Gross, 2004). Sur ce grand nombre d'espèces de micro-algues estimées, environ 10 000 espèces sont connues et, malgré un intérêt croissant des industriels depuis la moitié du 20^{ème} siècle, seulement quelques dizaines de micro-algues sont cultivées à une échelle industrielle (Degen et al., 2001 ;

Spolaore *et al.*, 2006). La majorité des micro-algues croissent à une température de 25-35°C avec un pH neutre (Zeng *et al.*, 2011).

II.2. Morphologie

Les micro-algues appartenant à deux groupes: les eucaryotes et les procaryotes.

II.2.1. Eucaryote

Les micro-algues eucaryotes sont des organismes photosynthétiques unicellulaires délimités par une membrane plasmique, qui contient au sein de son cytoplasme de nombreux organites nécessaires à son fonctionnement et à son métabolisme: proies cellulaires, chloroplastes, mitochondries, cytoplasme, et son noyau entouré de son enveloppe (figure II.1) (Richmond, 2004).

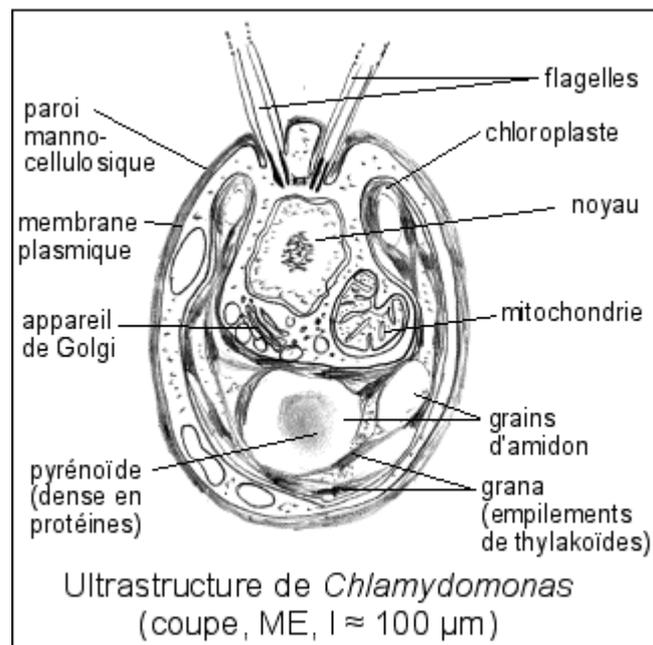


Fig.II.1. Ultra-structure de *Chlamydomonas*.

II.2.2. Procaryote

Les micro-algues procaryotes sont caractérisés par l'absence de noyau individualisé, pas de membrane nucléaire ni de nucléoles, pas de la chromatine qui représentent comme chez les bactéries, un appareil nucléaire très simples. Absence de plastes, de mitochondries, d'appareil de Golgi, de vacuoles. Certaines Cyanobactéries possèdent des vacuoles gazeuses constituées de vésicules gazeuses, les pigments ne sont pas portés par des plastes mais sont diffus dans le cytoplasme et donnent aux cellules une coloration homogène (figure II.2) (Barsanti and Gualtieri, 2014).

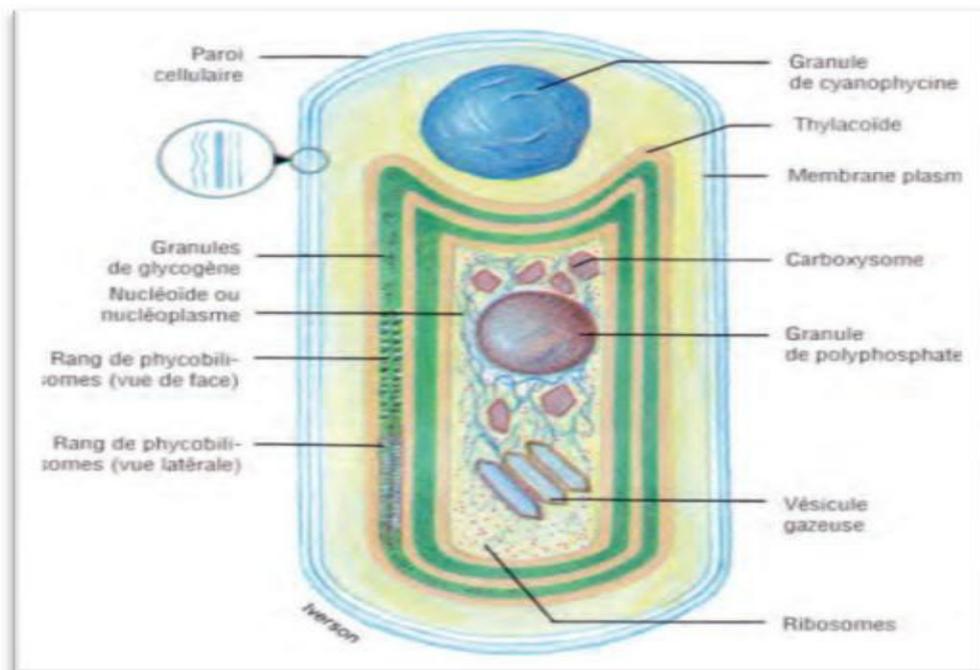


Fig.II.2. Ultra-structure de cyanobactérie.

II.3. Écologie

Les micro-algues occupent la plupart des niches écologiques, elles sont surtout présentes dans les environnements aquatiques, elles ont su également coloniser les sols et une vaste gamme de supports comme les rochers, les arbres ou encore les édifices architecturaux. Certaines micro-algues se développent dans les eaux de fonte de la glace ou de la neige (Sialve et Steyer, 2013). Elles vivent dans des marais salants, dans des milieux acides ou fortement alcalins (Cadoret et al., 2008) et on les rencontre également dans les déserts arides à semi-arides. L'atmosphère constitue également un environnement dans lequel une diversité notable de micro-algues eucaryotes et de cyanobactéries est signalée (Sialve et Steyer, 2013).

II.4. Métabolisme algal

Les algues sont des organismes autotrophes ou phototrophes, c'est-à-dire qu'elles utilisent la lumière (via la photosynthèse) et du carbone inorganique (CO_2) afin de produire de l'énergie sous forme d'ATP et du sucre pour assurer leur croissance. Toutefois, les algues ont la capacité de changer de mode trophique en fonction des variations des conditions de l'environnement où elles se développent (Tableau II.1). Elles peuvent passer d'un métabolisme à l'autre en fonction du milieu (Chojnacka et Marquez-Rocha, 2004 ;Perez-Garcia et al.,2011) . Nous pouvons distinguer deux autres types trophiques en plus de celui autotrophe :

Pour les algues autotrophes, la photosynthèse est leur principal mode de survie, car toutes les micro-algues sont des photo-autotrophes. La photosynthèse est le processus de transfert de l'énergie lumineuse en énergie chimique et la conversion du CO₂ et de l'eau en hydrates de carbone et de l'oxygène, ce qui est tout à fait semblable dans les algues et les plantes supérieures (Richmond, 2004).

Pas toutes les micro-algues peuvent croître dans des conditions hétérotrophes et seulement quelques espèces de micro-algues sont hétérotrophes (Lee, 2001). Les algues hétérotrophes ne sont pas photosynthétiques et nécessitent donc une matière organique pour remplacer la lumière en tant que substrat et source d'énergie pour leur croissance (Kaplan et al., 1986). Pendant la respiration, l'oxygène est fourni par l'aération pour minéraliser le substrat organique en CO₂ (Griffiths et al., 1960).

La mixotrophie ou photohétérotrophie est un mixte entre la phototrophie et l'hétérotrophie. Les micro-algues utilisent le carbone organique et inorganique du milieu en présence de lumière pour subvenir à leurs besoins énergétiques. Elles vont donc utiliser concomitamment la respiration cellulaire et la photosynthèse (Pittman et al., 2011 ; Perez-Garcia et al., 2011 ; Richmond, 2008).

Modes Trophiques	Nutriments	Molécules générées	Voies métaboliques
Autotrophe	H ₂ O, CO ₂ , et sels minéraux	O ₂ et composés organiques	Photosynthèse
Hétérotrophe	Matière organique et O ₂	H ₂ O, CO ₂ et composés organique	Respiration
Mixotrophe	H ₂ O, CO ₂ , O ₂ , sels minéraux et matière organique	O ₂ , H ₂ O, CO ₂ et composés organiques	Photosynthèse et Respiration

Tableau II.1. Les différents modes trophiques pouvant être utilisés par les micro-algues

II.5. Reproduction

La reproduction chez les algues comme chez tous les vivants a pour but de perpétuer l'espèce. Qu'elles soient microscopiques ou géantes les algues présentent généralement un cycle de reproduction où alternent deux phases successives :

- Une phase sexuée : maintenant la diversité génétique de l'espèce.

➤ Une phase asexuée : de multiplication intensive.

Chaque phase constitue une génération respectivement caractérisée par un type d'organisme bien individualisé :

A : le gamétophyte qui produit des cellules reproductrices, les gamètes mâles ou femelle,

B : le sporophyte qui produit des cellules reproductrices non sexuées, les spores.

La phase sexuée aboutit à la fécondation, c'est-à-dire l'union d'un gamète mâle et d'un gamète femelle donnant un œuf. Cet œuf (zygote), après germination, engendra un sporophyte. Ce sporophyte, forme caractérisant la phase asexuée, arrivé à maturité produira des spores qui engendreront à leur tour des gamétophytes. Ces gamétophytes matures vont eux-mêmes libérer des gamètes. Le cycle reproductif des laminaires illustre parfaitement l'alternance des deux générations sexuées et asexuées. Les laminaires sont toutes des sporophytes, formes asexuées des algues. Les gamétophytes, formes sexuées mâles ou femelles, fixés sur le fond, sont invisibles à l'œil nu. Cependant, selon les espèces d'algues le cycle de reproduction sexuée peut présenter de nombreuses variantes. C'est le cas du fucus vésiculeux (*fucus vesiculosus*) dont le cycle de reproduction est caractérisé par la seule génération sexuée.

Il existe des thalles mâles et des thalles femelles. Le sporophyte chez cette algue n'existe pas. Par contre la plupart des algues rouges sont caractérisées par un cycle de reproduction comportant trois générations successives. Une génération sexuée le gamétophyte, représenté par les thalles mâles ou femelles et deux générations asexuées successives émettant deux types de spores microscopiques différentes.

Comme beaucoup de végétaux supérieurs qui ont la faculté d'être propagés par bouturage, division de touffe, les algues sont capables de se multiplier de manière asexuée.

Dans ce cas, les individus issus de ce type de multiplication sont la réplique parfaite de l'individu mère et tous génétiquement identiques.

La multiplication asexuée se déroule de trois façons différentes :

- a. Par fragmentation du thalle (bouturage) où chaque nouveau fragment engendre un nouvel individu.
- b. Par division végétative où la cellule mère se divise et forme deux nouvelles cellules filles dont chacune se divisera à son tour.
- c. Par la formation de cellules reproductrices non sexuées : les spores

Ces cellules spécialisées sont flagellées chez un grand nombre d'espèces, ce qui augmente leur mobilité et favorise la dispersion de l'espèce (Alayse et Nozer'h, 1997).

II.6. Les bases de la classification des grandes lignées d'algues

De nombreux critères écologiques, physiologiques ou biochimiques interviennent dans la phylogénie des algues comme les structures cellulaires, le mode de nutrition, l'habitat ou même la nature et la localisation des pigments et glucanes de réserve. Malgré une extrême diversité et complexité structurale, tant d'un point de vue macroscopique que microscopique, les algues peuvent néanmoins être classées en une dizaine d'embranchements (Reviere, 2002) selon des critères basés sur leurs compositions pigmentaires, leurs polysaccharides de réserve ou des caractéristiques structurales.

II.6.1. La pigmentation

Les pigments ont dès le début du 19^{ème} siècle constitué un critère important dans la classification des algues. Le rôle physiologique de ces molécules est de capter l'énergie lumineuse. Selon la nature des pigments surnuméraires associés à la chlorophylle, les plastes sont parfois verts (Chlorophytes), parfois jaunes ou bruns (Chromophytes), ou encore rouges (Rhodophytes) (Ruiz, 2005).

II.6.2. Les polysaccharides de réserve

Les polysaccharides ou glucanes sont des polymères de glucides qui résultent du mécanisme photosynthétique. Il en existe deux familles, les polysaccharides de réserve et les polysaccharides pariétaux. Il existe des glucanes de réserve solubles en solution dans les vacuoles et d'autres insolubles qui forment des grains observables en microscopie. Composés de D-glucose, les glucanes de réserve se rencontrent sous deux formes: liés en (α -1,4) ils appartiennent à la catégorie des amidons et liés en (β -1,3), ils font parti de la catégorie des laminarines (Ruiz, 2005).

II.6.3. Les polysaccharides pariétaux

La classification des grandes familles d'algues repose également sur la nature chimique des colloïdes qu'elles produisent à la périphérie de leurs cellules (Mc Candless, 1978). La paroi des cellules végétales est parfois considérée par les biologistes comme un organite à part entière. La paroi des algues diffère significativement de celles des autres organismes végétaux par son organisation et sa composition. Elle peut être interprétée comme étant généralement une structure biphasique, composée d'une phase fibrillaire cristalline squelettique et d'une phase matricielle dont les structures de compositions variables selon les espèces, sont parmi les plus complexes connues dans la nature (Mc Neil et al., 1984).

II.7. La classification des algues

Les algues forment un groupe polyphylétique d'organismes puisqu'elles n'ont pas toutes un ancêtre commun direct et sont apparues à des périodes différentes. Par conséquent, on retrouve des algues dans différents règnes (plantes, bactéries ...). De plus, le terme «algue» n'entre pas dans la classification des organismes vivants et il n'est pas considéré comme un taxon. Cependant, les algues représentent un ensemble d'organismes aux caractéristiques communes qui peuvent être définies (hors classification). L'étude des algues s'appelle la phycologie.

Les algues sont des organismes photosynthétiques des zones aquatiques (ou humides), thallophytes et possédant de la chlorophylle *a*. La plupart des algues sont eucaryotes. Cependant, certains organismes procaryotes possédant de la chlorophylle tels que les cyanobactéries et les prochlorophytes (*Prochloron*, *Prochlorococcus*) sont qualifiés d'algues. La classification des êtres vivants est en constant remaniement du fait de l'amélioration des techniques d'analyses et de la découverte de nouveaux organismes vivants. Les algues font partie des végétaux et leur nomenclature est fixée par le ***Code international de nomenclature pour les algues, les champignons et les plantes***. Cette désignation est récente, il s'agit de la nouvelle appellation du ***Code International de Nomenclature Botanique*** (McNeill *et al.*, 2011). Dans cette classification, les macro- et micro-algues sont réunies au sein de mêmes familles. A l'heure actuelle, en classification phylogénétique, les algues sont classées en 11 embranchements (De Reviers, 2003). Selon les auteurs, les nombres de genres et d'espèces incluses dans les différents embranchements d'algues varient. Les algues les plus abondantes trouvées dans les environnements sont les diatomées (Heterokontophyta, (Bacillariophyta)), les algues vertes (Chlorophyta), le bleu-vert (Cyanophyta) et les algues dorées (Heterokontophyta) (Mutanda *et al.*, 2011).

Kingdom	Division	Class			
Prokaryota eubacteria	Cyanophyta	Cyanophyceae			
	Prochlorophyta	Prochlorophyceae			
Eukaryota	Glaucophyta	Glaucophyceae			
	Rhodophyta	Bangiophyceae Florideophyceae			
	Heterokontophyta		Chrysophyceae Xanthophyceae Eustigmatophyceae Bacillariophyceae Raphidophyceae Dictyochophyceae Phaeophyceae		
			Haptophyta	Haptophyceae	
			Cryptophyta	Cryptophyceae	
			Dinophyta	Dinophyceae	
			Euglenophyta	Euglenophyceae	
			Chlorarachniophyta	Chlorarachniophyceae	
			Chlorophyta		Prasinophyceae Chlorophyceae Ulvophyceae Cladophorophyceae Bryopsidophyceae Zygnematochyceae Trentepohliophyceae Klebsormidiophyceae Charophyceae Dasycladophyceae

Tableau II.2. Les différents embranchements ou classes de micro-algues

Les embranchements des Glaucophytes, Dinophytes, Haptophytes, Cryptophytes, Cyanophytes et les classes des Chlorarachniophyceae et des Euglenophyceae, sont exclusivement des micro-algues. Parmi les algues vertes, les classes des Prasinophyceae, des Pedinophyceae et des Mesostigmatophyceae sont aussi des algues unicellulaires. L'embranchement des Ochrophyta contient 10 classes d'organismes uniquement unicellulaires et essentiellement flagellées. L'embranchement des Rhodophytes et les classes des Tribophyceae et des Phaeophyceae sont constitués de macro et de micro-algues alors que la classe des Chrysomerophyceae ne compte que des macro-algues (De Reviers, 2003).

II.8. Culture des micro-algues

II.8.1. Les modes de culture

D'une façon générale, il existe deux modes d'opération pour cultiver les micro-algues : En mode continu et mode batch.

II.8.1.1. Mode continu

Le milieu de culture frais est apporté dans le réacteur de façon continue. Afin que le volume de la culture reste constant, l'excès de liquide contenant des algues est éliminé du réacteur par une surverse. Plusieurs recherches ont montré que différentes espèces cultivées dans des systèmes continus ou semi-continus montrent une productivité plus importante que lorsqu'elles sont cultivées en batch (Ceron-Garcia *et al.*, 2012; Filali *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2009; Tang *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2012). Le but de la culture en continu est de maintenir la concentration cellulaire à l'intérieur du réacteur stable. La culture est débutée en mode batch jusqu'à ce que la concentration cellulaire souhaitée soit obtenue, puis le milieu de culture est injecté en continu. Ainsi, théoriquement, la culture se trouvera continuellement en phase exponentielle de croissance (Andersen, 2005).

II.8.1.2. Mode batch

Un inoculum de micro-algues est ajouté à un volume de milieu. Durant toute la culture, les éléments essentiels ajoutés vont être consommés par les algues et leurs concentrations vont diminuer dans le milieu. Quand la concentration de biomasse désirée est atteinte, la culture est arrêtée et la biomasse est récoltée. Dans ce mode opératoire, on peut observer cinq phases de croissance (figure II.3):

- **Phase 1** : phase de latence. La cellule a besoin d'un temps d'acclimatation aux nouvelles conditions de culture qui lui sont appliquées; la croissance est très faible.
- **Phase 2** : phase d'accélération. Les cellules ont accumulé suffisamment de composés intracellulaires et ont doublé leur matériel génétique. La population va commencer à croître grâce à la reproduction végétative. Les cellules se divisent donc en deux cellules filles identiques contenant chacune la moitié du contenu de la cellule mère et qui par la suite se diviseront elles-mêmes en deux (Andersen, 2005).
- **Phase 3** : phase exponentielle. La vitesse de croissance de la culture reste constante et maximale. Les conditions du milieu sont optimales pour la croissance cellulaire. La quantité moyenne des constituants cellulaires ainsi que l'évolution de la population sont constantes (Andersen, 2005).

- **Phase 4** : phase stationnaire. Un des éléments du milieu va venir à manquer (lumière, azote, phosphore, carbone,...) et en conséquence la vitesse de croissance diminue. Cependant tant que les cellules possèdent des produits de stockage leur permettant d'alimenter leur métabolisme, elles survivent (Richmond, 2004). Certains composés, tel que les lipides et les glucides, vont continuer à s'accumuler dans les cellules pendant cette période (Andersen, 2005). La quantité de cellules qui se reproduisent est égale à la quantité de cellules qui meurent donc la concentration cellulaire est constante.

- **Phase 5** : phase de décroissance. La majorité des cellules ont épuisé leurs réserves intracellulaires, elles ne peuvent donc plus produire l'énergie nécessaire pour les processus de maintenance cellulaire et elles meurent (Richmond, 2004). La quantité de cellules qui meurent est fortement supérieure à la quantité de cellules pouvant encore se reproduire. Certaines espèces de micro-algue sont capables de se mettre en dormance cellulaire lorsque les conditions environnementales sont défavorables. Elles pourront reprendre une activité métabolique lorsque l'environnement sera à nouveau propice à leur développement (Richmond, 2004). Ogbonna et al. (1999) évoque une phase supplémentaire ayant lieu après la phase exponentielle. Cette phase appelée phase stationnaire serait la résultante d'une trop forte concentration cellulaire dans le réacteur après un temps (t) de culture, menant à la diminution de la quantité de lumière disponible pour les algues et donc au ralentissement de la multiplication cellulaire en réponse à cette limitation.

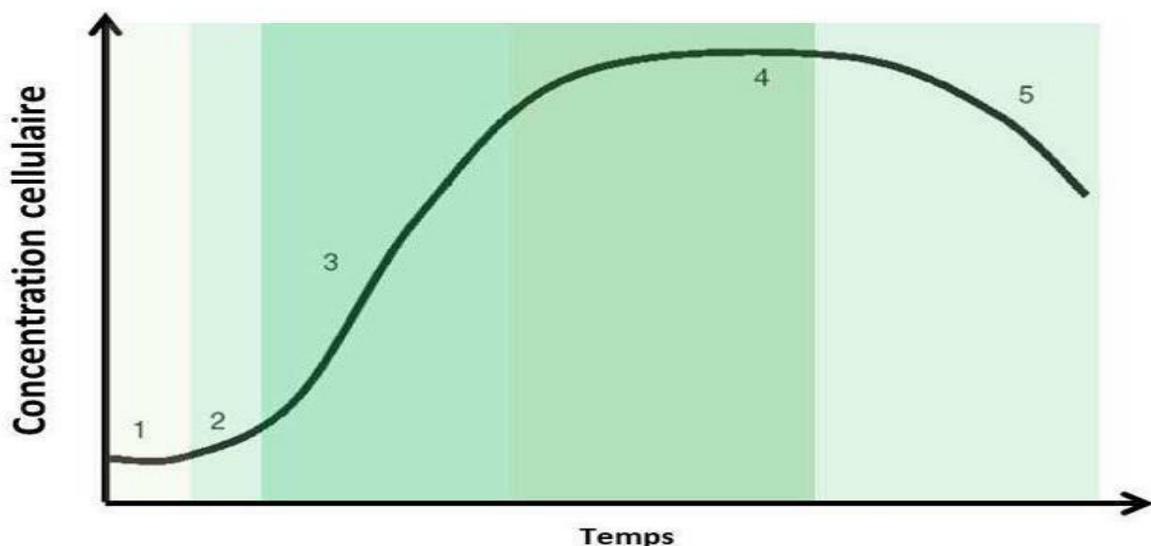


Fig.II.3. Courbe de croissance théorique d'une population de micro-algues en fonction du temps, (d'après Richmond, 2007). **1** : phase de latence, **2** : phase d'accélération, **3** : phase exponentielle, **4** : phase stationnaire, **5** : phase de déclin.

II.8.2. Influence des paramètres environnementaux

II.8.2.1. La lumière

La lumière est le facteur le plus important pour la croissance photosynthétique des algues. Elle a un effet sur la composition cellulaire des micro-algues (photo-adaptation ou photo-acclimatation) (Hu, 2004). L'énergie radiative ne s'accumule pas, c'est pour cela que la lumière doit être fournie en permanence et doit être considérée comme un substrat (Grima et al., 1996 ; Miron et al., 2000). A de faibles intensités lumineuses, le taux de photosynthèse (ou activité photosynthétique) dépend linéairement de l'intensité lumineuse mais avec l'augmentation de l'intensité lumineuse, l'activité de la photosynthèse augmente jusqu'à atteindre un plateau, ce phénomène est la photo-limitation. Sous de plus fortes intensités lumineuses, l'activité de la photosynthèse diminue, ce phénomène est appelé la photo-inhibition endommageant les récepteurs de lumière des algues et diminuant le taux de photosynthèse et la productivité (Richmond et al., 2003 ; Richmond, 2004) (figure II.4). Par contre, lors de culture à de grandes concentrations cellulaire, la zone « photo-inhibée » est très proche de la zone noire, il est impossible de savoir quelles cellules sont photo-inhibées et quelles cellules sont photo-limitées (Grima et al., 1996). Un bon mélange de la culture permet dans ce cas de réduire le nombre de cellules photo-inhibées et photo-limitées.

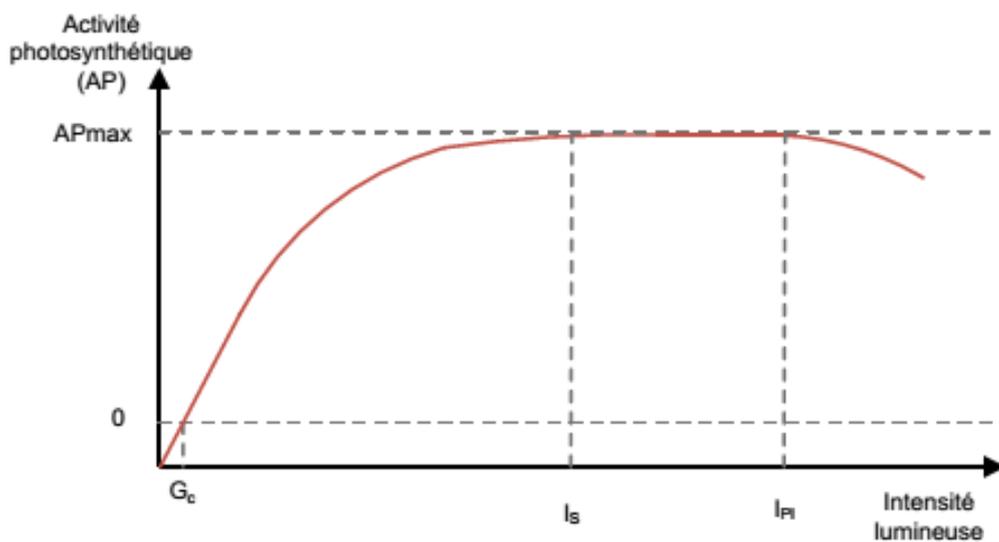


Fig.II.4. Activité photosynthétique en fonction de l'intensité lumineuse (Masojidek et al., 2004).

Avant une certaine intensité lumineuse (G_c : Intensité de compensation) il n'y a pas d'activité de photosynthèse. Seule l'activité de respiration cellulaire est présente. L'intensité de compensation est l'intensité où la photosynthèse compense juste la respiration.

L'intensité lumineuse de saturation (I_s) est l'intensité où l'efficacité de la photosynthèse (ou taux de photosynthèse) est maximale (photo-limitation). L'intensité lumineuse d'inhibition (I_{PI}) est l'intensité où l'activité de la photosynthèse est inhibée par la lumière. D'après [Barbosa et al., 2003a](#), la photo-inhibition devient prononcée pour une intensité lumineuse supérieure à $1200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

Mais l'intensité de la lumière apportée à la culture n'est pas le seul facteur influençant les cellules de micro-algues. La durée de l'illumination a un impact sur la production de la biomasse. Les études présentant différents cycles jour : nuit sur des cultures de micro-algues ont montré que l'activité photosynthétique et la fixation du CO_2 étaient d'autant plus importantes que la durée du jour était longue ([Ribeiro Zucchi et Necchi Jr, 2001](#) ; [JacobLopes et al., 2008](#)). Il est également possible d'améliorer l'activité photosynthétique en utilisant uniquement une partie des longueurs d'ondes du spectre lumineux. Cependant l'effet sur les cultures est dépendant des espèces de micro-algues. Ainsi, lors d'une étude menée par [Vesk et Jeffrey \(1972\)](#), l'apport de lumière bleue augmentait la concentration en chlorophylle **a** de certaines espèces de diatomées mais pas des espèces de dinoflagellés testées. *Skeletonema costatum* ne montre pas non plus de modification de ces paramètres de croissance lorsqu'elle est cultivée en lumière bleue par rapport à une lumière blanche ([Mercado et al., 2004](#)). Alors que [Wang et al. \(2007\)](#) ont montré, chez *Spirulina platensis* exposée à la lumière rouge, que la vitesse spécifique de croissance et la production de biomasse étaient plus importantes. L'efficacité d'un photo-bioréacteur à produire de la biomasse algale est donc en partie gouvernée par la quantité de lumière qui pénètre dans la culture ([Cornet, 2010](#)). L'une des façons d'améliorer cette pénétration est d'ajuster la concentration cellulaire dans le réacteur. Une trop forte densité de cellule empêche la lumière d'atteindre la totalité des cellules et augmente les phénomènes de photo-ombrage alors qu'une trop faible densité de cellules augmente les risques de photo-inhibition ([Cornet, 2010](#)). En fait, pour chaque intensité lumineuse, il existe une densité cellulaire optimale ([Qiang et al., 1998](#) ; [Zijffers et al., 2010](#)). Une autre façon d'améliorer la pénétration de la lumière dans un réacteur est de diminuer le chemin parcouru par celle-ci et d'augmenter le rapport surface/volume du réacteur ([JacobLopes et al., 2009](#) ; [Cornet, 2010](#) ; [Zijffers et al., 2010](#)). Ainsi, [Qiang et al. \(1998\)](#) en diminuant le chemin parcouru par la lumière de 200 mm à 7.5 mm ont augmenté de 20% la vitesse de croissance de *Spirulina platensis*.

L'efficacité de la photosynthèse est habituellement mesurée par le dégagement d'oxygène ou par la consommation de dioxyde de carbone. La lumière disponible est exprimée en densité de flux de photons (μE ou $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) ou en taux d'absorption de photon (μE ou $\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) (Yun et Park, 2003 ; Csögör et al., 1999).

II.8.2.2. La température

La température est un facteur qui intervient dans le développement et la croissance cellulaire des micro-algues. Les micro-algues n'ont pas toutes le même comportement vis à vis de la température. Elles peuvent être cryophiles, mésophiles ou encore thermotolérantes.

Les micro-algues cryophiles se développent à des températures de l'ordre de 4 à 5°C comme c'est le cas pour les micro-algues appartenant au genre *Dunaliella* qui se développent dans des lacs hypersalins de l'Antarctique (Xu et al., 1998). Les micro-algues mésophiles se multiplient à des températures comprises entre 15 et 35°C. Ce sont les micro-algues les plus abondantes en termes de diversité de genres et d'espèces (*Porphyridium*, *Tetraselmis*, *Chlorella*...). La micro-algue *Celastrella sp.* est thermotolérante et peut se développer à des températures supérieures à 35°C. Elle accumule des pigments (astaxanthine, lutéine, canthaxanthine et bêta-carotène), des triglycérides, et se développe à des températures allant jusqu'à 50°C avec un optimum de croissance à 45°C (Hua et al., 2013 ; Huang et al., 2012a).

La productivité de la biomasse algale augmente avec l'augmentation de la température de l'étang jusqu'à une température optimale au-dessus de laquelle la respiration des algues et la photo-respiration réduisent la productivité globale (Tillett, 1988; Sheehan et al., 1998; Pulz, 2001).

La température optimale mesurée dans des conditions de taux maximal de croissance des algues (Éléments nutritifs suffisants et des conditions de lumière) est 28-35°C pour de nombreuses espèces d'algues (Soeder et al., 1985).

Cependant, la température optimale varie selon les espèces d'algues et quand les éléments nutritifs ou les conditions de lumière sont limitatifs.

La croissance diminue souvent lorsque les algues sont soumises à un brusque changement de température, Par exemple, l'exposition d'une souche d'algues adaptée à haute température à 10°C a entraîné une réduction de 50% de la chlorophylle-a en seulement 15 heures (Harris, 1978).

La température peut également modifier les équilibres ioniques de l'eau des étangs, Le pH et la solubilité des gaz (oxygène et CO₂) bien que différentes espèces d'algues soient influencées à des degrés divers par cet effet (Bouterfas et al., 2002).

II.8.2.3. pH de l'eau de l'étang et disponibilité de CO₂

Chaque espèce possède un pH optimal pour sa croissance et répondra différemment aux variations de pH en fonction de cette valeur et de sa physiologie (Necchi Jr et Ribeiro Zucchi, 2001 ; Olaizola, 2003 ; Gertoff-Elias *et al.*, 2005). Entre le pH intracellulaire de la cellule et le pH extracellulaire, il existe un équilibre pour des conditions environnementales stables. Cet équilibre ainsi que le pH intracellulaire fixe de la cellule lui permettent de fonctionner correctement. De nombreux processus métaboliques sont dépendants du pH tel que l'activité des enzymes (Bartual et Galvez, 2002). Lorsque le pH extérieur est modifié, le gradient de pH entre la cellule et le milieu environnant va changer et un nouvel équilibre va tenter de se former entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule ce qui va tendre vers la modification du pH intracellulaire. La capacité de la cellule à survivre à des variations de pH va être dépendante de ses facultés à modifier sa physiologie pour contrer le gradient de pH. Par exemple, lorsque le pH externe diminue, la quantité de H⁺ extracellulaire augmente. Les cellules qui vont résister à cette entrée de H⁺ sont celles capables d'adapter leur production de molécules d'ATP, car le transport des H⁺ en excès vers l'extérieur de la cellule est un processus coûteux en énergie (Gertoff-Elias *et al.*, 2005).

Toutes les espèces de micro-algues ont leur gamme optimale de pH à laquelle elles peuvent fonctionner correctement. La plupart des espèces de micro-algues peuvent idéalement se développer sous un pH neutre ou légèrement plus élevé. En outre, il existe certaines espèces qui préfèrent les conditions acides. Le pH peut jouer un rôle important dans la composition biochimique des eaux usées. Par exemple, Hodaifa *et al.* (2009) ont constaté que le pH a une grande influence sur la croissance et la composition de la biomasse des micro-algues *Scenedesmus obliquus*. Ils ont constaté qu'une réduction élevée de la DBO₅ se produit à un pH élevé et la teneur la plus élevée en protéines et en chlorophylle dans la cellule survient lorsque des algues sont cultivées à pH 7.

Le pH optimal pour la croissance des algues est de 8. Cependant, de nombreuses algues peuvent se développer dans des conditions plus alcalines (Park *et al.*, 2011). Un pH supérieur ou inférieur à 8 diminue la productivité, par exemple Weissman et Goebel (1988) ont montré que les productivités de *Chaetoceros sp.* Et *Chlorella sp.* Ont été réduits de 22% lorsque le pH a été augmenté de 8 à 9. Certaines algues sont cependant susceptibles de se développer bien au-dessus de pH 8, telles que *Amphora sp.* et *Ankistrodesmus sp.* qui n'ont pas été inhibés respectivement à pH 9 et 10 (Weissman et Goebel 1988).

Le pH de l'eau de l'étang affecte une grande partie des processus biochimiques associés à la croissance et au métabolisme des algues, y compris la biodisponibilité du CO₂ pour la photosynthèse et la disponibilité et l'utilisation des ions nutritifs.

Le pH de l'eau des étangs est à son tour fonction de la productivité de la biomasse algale, la respiration des algues / bactéries, l'alcalinité et la composition ionique du milieu de culture, les activités microbiennes autotrophe et hétérotrophes (par exemple nitrification et dénitrification) et l'efficacité d'un système d'addition de CO₂ (García *et al.*, 2000b; Craggs, 2005; Heubeck *et al.*, 2007; Park and Craggs, 2010).

La photosynthèse des algues augmente le pH de jour par la consommation de CO₂ et de HCO₃⁻, dépassant souvent le pH 10 (Craggs, 2005; Heubeck *et al.*, 2007; Park and Craggs, 2010). Le pH élevé peut améliorer l'élimination du N ammoniacal du liquide de l'étang par la volatilisation de l'ammoniac et l'élimination du phosphore par une précipitation de phosphate avec du fer ferrique non calciné, du calcium et du magnésium (García *et al.* 2000b, Craggs 2005). Le changement d'équilibre vers des concentrations plus élevées d'ammoniac libre à pH élevé. Peut inhiber de manière significative la croissance des algues (Azov et Goldman, 1982).

Certains effets du pH sont énumérés ci-dessous:

- Il affecte la solubilité de l'oxygène, du dioxyde de carbone et des sels minéraux dans les eaux usées
- Il influence la dissociation et l'équilibre de différentes espèces ioniques, et cela peut provoquer des effets toxiques, des inhibitions ou des déficiences de certains nutriments dans le milieu de culture (Rubio *et al.*, 1989). Le niveau de pH élevé provoque une précipitation du phosphate sous forme de phosphate de calcium, mais il peut se redissoudre lorsque le pH diminue. Cela affecte la disponibilité de carbone inorganique en termes de quantité et proportion des espèces CO₂, HCO₃⁻, CO₃²⁻ dans le milieu de culture (Werner, 1981).

En conséquence, le pH détermine quelle forme de carbone inorganique est disponible pour l'assimilation par les micro-algues.

II.8.2.4. L'agitation

L'agitation lors de la culture des micro-algues, est indispensable pour obtenir des productivités importantes de biomasse. Elle permet de mieux éclairer les cellules, de favoriser l'apport de CO₂ en améliorant le transfert gaz-liquide et d'éliminer l'oxygène produit qui pourrait être toxique à la culture.

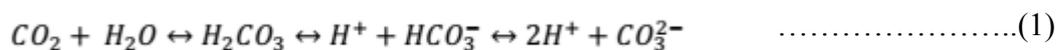
L'agitation est réalisée fréquemment en injectant le gaz, air ou air enrichi en CO₂ dans le réacteur sous forme de fines bulles, ce qui crée une circulation du liquide dans le système (Converti et al., 2006). Des études expérimentales ont montré qu'à faibles densités cellulaires, l'agitation n'a pas un effet significatif sur la productivité de la biomasse. Toutefois, lorsque les densités cellulaires commencent à augmenter, il est nécessaire de favoriser l'agitation à l'intérieur de la culture (Richmond, 2007; Eriksen, 2008). Certaines recherches ont prouvé que le taux d'injection de gaz à haut débit peut endommager les cellules (Eriksen, 2008). Si le taux d'injection de gaz est trop élevé, les cellules risquent d'être cisailées par les bulles et endommagées. Il est donc nécessaire de trouver le débit le plus approprié pour éviter ce risque.

II.9. Besoins nutritif

II.9.1. Le carbone

Le carbone est une exigence essentielle pour la croissance et peut être utilisé sous forme organique ou inorganique. Le CO₂ dissous fournit du carbone aux algues pour la production de biomasse lorsque les algues poussent photo-trophiquement. La plupart des algues utilisent du carbone inorganique et organique dissous dans les eaux usées, tandis que les algues hétérotrophes ou mixotrophes ont tendance à n'utiliser que du carbone organique. Le CO₂ est le nutriment le plus coûteux requis pour la culture des micro-algues (Borowitzka, 1992). Par conséquent, le système qui couple une source de CO₂ résiduaire peut réduire le coût de la culture et atténuer le CO₂ (Yewalkar et al., 2011).

Les micro-algues ont besoin de carbone inorganique pour la photosynthèse, il peut être apporté sous forme de sels (bicarbonate) ou par enrichissement de l'air insufflé (car l'air ambiant ne contient pas assez de CO₂ pour la culture intensive des micro-algues). Pour que les micro-algues puissent utiliser le CO₂ pour la photosynthèse, celui-ci doit être solubilisé (Cadoret et Bernard, 2008). Le dioxyde de carbone, dissout dans l'eau prend plusieurs formes, en fonction du pH (Equation (1)).



Au niveau de la cinétique de ces réactions, la réaction redonnant du CO₂ est plutôt lente, alors que les réactions dont le HCO₃⁻ est le protagoniste sont presque immédiates (Becker, 1994).

Les micro-algues sont très consommatrices de dioxyde de carbone, pour produire 1 kilogramme de biomasse, 1,8 kg de dioxyde de carbone sont nécessaires (Cadoret et Bernard, 2008 ; Lívanský et Doucha, 1996).

II.9.2. L'azote

L'azote est un élément essentiel des protéines de structure et de fonctionnement, c'est l'élément le plus important après le carbone (Becker, 1994). Le taux de croissance des micro-algues est à peu près identique selon les sources d'azote utilisées (urée, nitrite, nitrate). De nombreuses études montrent l'amélioration de la production et du stockage de lipides dans le cas d'une carence en azote. Il y a aussi une accumulation des caroténoïdes secondaires dans ce cas.

Pour les micro-algues autotrophes, les sources d'azote inorganiques assimilables sont les nitrates (NO_3^-), les nitrites (NO_2^-) et l'ammonium (NH_4^+) (Falkowski et Raven, 2013). À part certaines cyanobactéries, peu de microorganismes sont capables de fixer l'azote gazeux (Prescott et al., 2002). La forme NH_4^+ est la plus facilement assimilable par les cellules qui peuvent l'utiliser sans réduction préalable (Prescott et al., 2002). Cependant, la forme NO_3^- est la plus fréquemment rencontrée dans les environnements aquatiques puisqu'elle est plus stable (Falkowski et Raven, 2013). Le processus d'assimilation commence avec les formes inorganiques d'azote passant à travers la membrane cytoplasmique des algues et subit plusieurs réductions enzymatiques pour former de l'ammonium qui est ensuite incorporé dans des acides aminés et d'autres composés aminés dans le cytoplasme.

De nombreuses études se sont penchées sur l'effet de la concentration de cet élément dans le milieu de culture. Chez *Chlorella vulgaris* (Bhola et al., 2010 ; Tam et al., 1996 ; Dragone, 2011 ; Lv et al., 2010) et *C. ellipsoidea* (Yang et al., 2011) une augmentation de la concentration d'azote dans le milieu entraîne une augmentation de la biomasse, de la quantité de protéines et de chlorophylles par cellule. Mais ceci jusqu'à une certaine concentration d'azote au-dessus de laquelle l'effet s'inverse (Bhola et al., 2010 ; Tam et al., 1996 ; Dragone et al., 2011). De plus, il a été montré chez *C. sorokiniana*, *Oocystis polymorpha* et *C. ellipsoidea*, qu'une limitation en azote va stimuler la production des lipides par la cellule (Richardson, 1969 ; Chen et al., 2011). En revanche, la diminution de l'azote dans le milieu entraîne une baisse de la capacité photosynthétique de la cellule (Yuong et Beardall, 2004 ; Richardson, 1969, Osborne et Geider, 1986). Le déclin de cette activité s'explique d'une part par la baisse de la concentration en protéines Rubisco (Küppers et Weidner, 1980 ; Falkowsky et al., 1989) et d'autre part par la diminution de la quantité de chlorophylle dans la cellule

(Richardson, 1969). Cette baisse d'activité photosynthétique diminue la capacité de la cellule à utiliser l'énergie lumineuse captée pour la transformer en produits carbonés et rend alors les algues plus susceptibles de subir le phénomène de photo-inhibition (Prézelin *et al.*, 1986 ; Kolber *et al.*, 1988).

L'azote est l'un des macronutriments les plus importants et un nutriment limitant la croissance. La concentration d'azote à laquelle la croissance cellulaire est inhibée dépend des conditions de culture et des espèces d'algues (Arumugam *et al.*, 2013).

II.9.3. Le phosphore

Le phosphore est un macronutriment important dans les processus de métabolisme cellulaire. Le phosphore est le deuxième nutriment essentiel pour les micro-algues. C'est un élément important qui comprend 1% du poids sec de la cellule (Brown et Shilton, 2014). Il participe à de nombreux processus métaboliques, notamment au travers des échanges d'énergie (ATP), dans la formation des acides nucléiques et des phospholipides (Prescott *et al.*, 2003 ; Chen *et al.*, 2011). Il entre en jeu dans les chemins métaboliques régulant la division cellulaire, sa concentration cellulaire va donc avoir un impact direct sur la production de biomasse. Il est aussi nécessaire dans la cellule pour satisfaire les besoins énergétiques et de biosynthèse des organites (Moseley *et al.*, 2006).

Le phosphore est peu répandu dans la nature. On le trouve principalement sous la forme de sels de phosphate (PO_4^{3-}).

Cependant, les micro-algues peuvent absorber plus de ce qu'ils ont besoin grâce à leur capacité à synthétiser et à accumuler du polyphosphate dans leurs cellules. Les micro-algues ont tendance à stocker le phosphore dans la cellule sous la forme de Polyphosphate (PPB) lorsqu'ils augmentent dans l'environnement avec une concentration excessive de phosphate. Ces réserves peuvent être suffisantes pour prolonger la croissance en déficit en phosphate, dans le milieu environnant (Sivakumar *et al.*, 2012; Larsdotter, 2006; Markou *et al.*, 2012).

Une carence en phosphore peut entraîner des accumulations de pigments chez certaines micro-algues, une limitation en phosphore va entraîner une baisse de la biomasse, de la quantité de chlorophylle, de polysaccharides et de protéines dans la cellule (Wykoff *et al.*, 1998 ; Persic *et al.*, 2009 ; Sun and Wang, 2009). Elle va également réduire la fixation du carbone (Kozłowska *et al.*, 2004), par exemple, en diminuant la synthèse de la Rubisco (Jacob *et Lawlor*, 1993) ou bien en ayant une répercussion sur les intermédiaires de la voie des pentoses phosphate (Moseley *et al.*, 2006). Une limitation en phosphore va également grandement dénaturer l'appareil photosynthétique en diminuant le transport des électrons au

niveau du PSII (Wykoff *et al.*, 1998 ; Zer et Ohad, 2003) et en dénaturant les polypeptides de l'appareil photosynthétique, qui gèrent l'absorption de la lumière (Moseley *et al.*, 2006). Il a été démontré chez certaines algues, qu'une limitation en phosphore dans le milieu induisait la synthèse d'une enzyme extracellulaire, une phosphatase, capable de cliver des molécules phosphorylées sur des composés organiques présents dans le milieu, permettant ainsi à la cellule de pallier ce manque (Quisel *et al.*, 1996 ; Moseley *et al.*, 2006 ; Spijkerman, 2007). Chez *Chlorella vulgaris* (Kozłowska *et al.*, 2004), il a été montré que les cellules déficientes en phosphore, augmentaient la production de glycolate via le mécanisme de photo-respiration permettant ainsi la dissipation de l'énergie absorbée en excès par le photosystème, évitant ainsi d'endommager la cellule. Cependant, les mécanismes de régulation du manque de phosphore par la cellule restent peu connus (Moseley *et al.*, 2006). De nombreuses études menées in situ, au sein de communautés phytoplanctoniques, ont démontré l'existence d'une co-limitation par le phosphore et l'azote sur la croissance de ces organismes. Davey *et al.* (2008) ont montré que dans les eaux tropicales et subtropicales du nord de l'Atlantique, une augmentation de la chlorophylle intervenait après ajout de phosphore couplé à un ajout d'azote. De même que chez *Skeletonema costatum* (Davies et Sleep, 1989) la fixation du carbone n'augmentait pas après un apport d'azote, mais augmentait après ajout concomitant d'azote et de phosphore. Néanmoins les mécanismes liant l'azote au phosphore restent encore mal connus (Bougaran, 2010).

II.9.4. Autres nutriments

Les micro-éléments sont des éléments présents dans le milieu en très faible quantité. Dans le milieu naturel leur concentration va varier en fonction des époques de l'année, des conditions environnementales ou bien des pollutions anthropogéniques. Les micro-algues ont besoin de potassium, de fer, de silice (pour les diatomées), de soufre, de métaux sous forme de traces et de vitamines, les changements de concentration vont avoir des répercussions sur la cellule de micro-algue.

Le fer est un oligo-élément important dans de nombreuses fonctions métaboliques de phytoplancton tels que le transport électronique dans le cycle de Calvin (Hu, 2004), chez *Isochrysis galbana* une carence en fer va se traduire par une baisse de la densité cellulaire, de la taille des cellules, de la quantité de chlorophylle, de protéines et de polysaccharides intracellulaires, une baisse de l'activité de l'anhydrase carbonique et une diminution de l'incorporation des autres nutriments (azote, phosphore, carbone) (Valera *et al.*, 2011). L'anhydrase carbonique étant une métallo-enzyme contenant du zinc, une baisse de son

activité en réponse à une carence en zinc peut se répercuter sur tout le métabolisme du carbone de la cellule et donc sur la production des métabolites intracellulaires.

Le magnésium est un métal essentiel pour la croissance des algues, il joue un rôle important dans la photosynthèse (Encarnaç o et al, 2012). Le magnésium est en effet un élément central de la molécule de chlorophylle. Il est impliqué dans l'agrégation des ribosomes dans les unités fonctionnelles et dans la formation de catalase (Junior et al, 2006). Les travaux de recherche de Gorain et Bagchi (2013) ont montré que des carences en magnésium donnent une diminution du rendement de la production de biomasse et une hausse de la teneur des lipides chez *Chlorella vulgaris* et *Scenedesmus obliquus*.

Les limitations en micro-éléments visent souvent le fonctionnement de l'appareil photosynthétique. Par exemple une trop faible concentration en sulfure va diminuer le flux d'électrons au niveau de l'appareil photosynthétique (Rochaix, 2001) et une baisse de la concentration de fer va induire une baisse des constituants de l'appareil photosynthétique (PSI, PSII, cytochromes) car ceux ci possèdent de nombreux cofacteurs contenant du fer (Terauchi et al., 2010). De même, le cuivre étant présent dans de nombreuses enzymes de l'appareil photosynthétique, sa limitation impacte le métabolisme de photosynthèse (Hill et al., 1996 ; Rochaix, 2001). Mais d'autres processus intracellulaires peuvent être concernés ; c'est le cas du métabolisme de l'azote dont l'assimilation dans la cellule est diminuée lors d'une carence en molybdène dans le milieu (Glass et al., 2009).

Une augmentation de ces éléments dans le milieu va à l'inverse avoir un impact positif sur les cellules. C'est le cas du magnésium ou du fer qui permettent l'augmentation de la concentration cellulaire lorsqu'ils sont en plus forte concentration dans le milieu (Mandalamet al., 1998 ; Terauchi et al., 2010 ; Dragone, 2011). Seulement cet effet positif a lieu jusqu'à une certaine concentration, à partir de laquelle ces composés deviennent toxiques pour la cellule. Ainsi le fer en trop forte quantité dans la cellule, va endommager les membranes biologiques, les protéines ou bien encore l'ADN (Estevez, 2001). De même le zinc à des concentrations trop importantes bloque la croissance des algues (Sun et Wang, 2009 ; Varela et al., 2011).

Face à ces variations de concentration dans le milieu, les algues offrent un large panel d'adaptations physiologiques qui leur permettent de survivre. Chez *Chlorella vulgaris* par exemple, il existe une hormone, la brassinolide, qui aide la cellule à contrer les effets cytotoxiques de fortes concentrations de métaux lourds (cuivre, plomb, cadmium) (Bajguz, 2010). Pour le cuivre, il existe des mécanismes qui permettent de réguler son assimilation lorsque sa concentration dans le milieu est trop faible pour l'algue. Ces mécanismes se

traduisent, entre autre, par l'expression spécifique de certains gènes (Hill *et al.*, 1996 ; La Fontaine *et al.*, 2002 ; Moseley *et al.*, 2000). De même, l'appareil photosynthétique de la cellule peut lui aussi présenter des modifications afin de s'adapter à une carence du milieu. C'est le cas pour des limitations en fer, où par exemple, les antennes collectrices de photons vont être réorganisées de façon à s'adapter aux modifications physiologiques de la cellule carencée et de limiter les phénomènes de dommage cellulaire liés à la lumière, tout en optimisant l'activité photosynthétique (Moseley *et al.*, 2002 ; Michel et Pistorius, 2004).

II.10. Application des micro-algues

II.10.1. Domaine agriculture

La biomasse algale est connue pour améliorer la composition minérale des sols et leur capacité de liaison avec l'eau (Riley, 2002). Ce sont les cyanobactéries qui, grâce à leur capacité de fixer l'azote gazeux, contribuent à maintenir la fertilité des écosystèmes naturels ou de cultures. Leur présence dans les champs de riz améliore la qualité des récoltes. Malgré tout, c'est une technique qui n'a pas été adoptée largement par les agriculteurs mais qui mérite d'être reconsidérée et améliorée (Roger, 2004). Par exemple, au Japon, *Chlorella vulgaris*, est utilisée pour stimuler la biosynthèse de chlorophylle ce qui améliore la croissance des plantes. Elle est aussi considérée comme un engrais car elle favorise la croissance d'actinomycètes, bactéries utiles dans le sol (Yamaguchi, 1997).

II.10.2. Domaine alimentaire

Grâce à leur bonne valeur nutritionnelle, ces microorganismes sont utilisés dans l'alimentation animale et humaine et dans l'aquaculture (Pulz *et al.*, 2004). La biomasse peut être manufacturée sous diverses formes telles que tablettes, poudre, capsules, pastilles....*Chlorella vulgaris* et *Daniella Salina* sont les espèces les plus répandues en alimentation humaine et animale.

Les micro-algues se composent de nombreux pigments tels que la chlorophylle, les caroténoïdes qui sont souvent employés en tant que colorants naturels dans l'industrie alimentaire limitant ainsi l'utilisation des colorants artificiels (Gordon et Bouernfeind, 1983). Dans ce contexte, On cite l'exemple de la micro-algue *Dunaliella* qui synthétise le pigment β -carotène utilisé comme colorant en industrie alimentaire. D'autres caroténoïdes, notamment l'astaxanthine, la lutéine, la zéaxanthine et la canthaxanthine, sont utilisés comme des antioxydants en aquaculture et en alimentation animale et humaine (Lorenz et Cysewski, 2000).

Les micro-algues produisent des polysaccharides, qui sont largement exploités en tant que agents gélifiants ou épaississants dans l'industrie agroalimentaire (De la Noüe et al, 1988).

II.10.3. Domaine cosmétique

Plusieurs espèces de micro-algues, principalement les deux espèces *Arthrospira* et *Chlorella* sont de plus en plus exploitées dans le domaine cosmétique (Stolz et Obermayer, 2005). D'autres espèces algales, sont utilisées dans la fabrication des produits de soin capillaire, du visage et de la peau grâce à leur activité anti-oxydante (Pulz et al, 2004). En outre, la souche *Arthrospira* produit des protéines qui permettent la réparation des signes de vieillissement de la peau alors que des extraits de la micro-algue *Chlorella vulgaris* permettent de stimuler la production du collagène. Ce dernier à une propriété anti-âge (Spolaore et al, 2006) qui se révèle intéressante dans la fabrication des émulsions et des crèmes antirides (Gouveia et al, 2008). Par ailleurs, les pigments extraits des micro-algues sont également recherchés dans le domaine cosmétique (Del Campo et al, 2000).

II.10.4. Domaine pharmaceutique

Les micro-algues représentent une source intéressante de molécules bioactives et de toxines utilisables dans le développement de nouveaux médicaments. Plusieurs études ont permis de mettre en évidence l'implication des micro-algues dans le domaine pharmaceutique par l'identification de nouvelles molécules naturelles (Hoppe, 1979). Dans ce contexte, la tubercidine, une molécule cytotoxique, a été identifiée chez la micro-algue *Tolythrixbyssoides* ainsi que chez les cyanobactéries (Patterson et al, 1991). Cette molécule présente une action *in vitro*, effective contre un type de leucémie lymphoïde. Par ailleurs, les micro-algues peuvent synthétiser des sulfolipides antiviraux (Gustafson et al, 1989) pour fortifier le système immunitaire.

L'utilisation d'extraits algaux à forte teneur en antioxydants, trouve des applications dans l'industrie pharmaceutique pour des thérapies contre certains types d'inflammation (Pulz et al, 2004). Par ailleurs, les micro-algues sont des sources de différentes vitamines qui sont encore à l'état de recherche dans le domaine pharmaceutique. On retrouve *Chlorella* dans de nombreuses applications pharmacologiques. Cette micro-algue a montré des résultats intéressants *in vitro* contre les effets de l'absorption de molécules toxiques (Morita et al, 1999); elle entre aussi en jeu dans des traitements contre l'hypertension (Okamoto et al, 1978). Elle a démontré des propriétés intéressantes dans le traitement du diabète chez la souris (Mizoguchi et al, 2008 ; Jong-Yuh et Mei-Fen, 2005). Elle présente de nombreuses propriétés

immunologiques (Pugh et al, 2001 ; Konishi et al, 1990) et anti-cancéreuses (Justo et al, 2001).

II.10.5. Domaine énergétique

La valorisation des micro-algues peut se traduire par la production de bioénergie sous différentes formes telles que l'électricité et/ou la chaleur par combustion directe de la biomasse, le bio-méthane après méthanisation de la biomasse, et la production de biocarburant ou d'hydrogène par culture de la micro-algue (Carlsson et al, 2007). Diverses recherches ont montré le potentiel intéressant la faisabilité technique et commerciale de la production de bio-méthane à partir de la biomasse marine (Chynoweth, 2002).

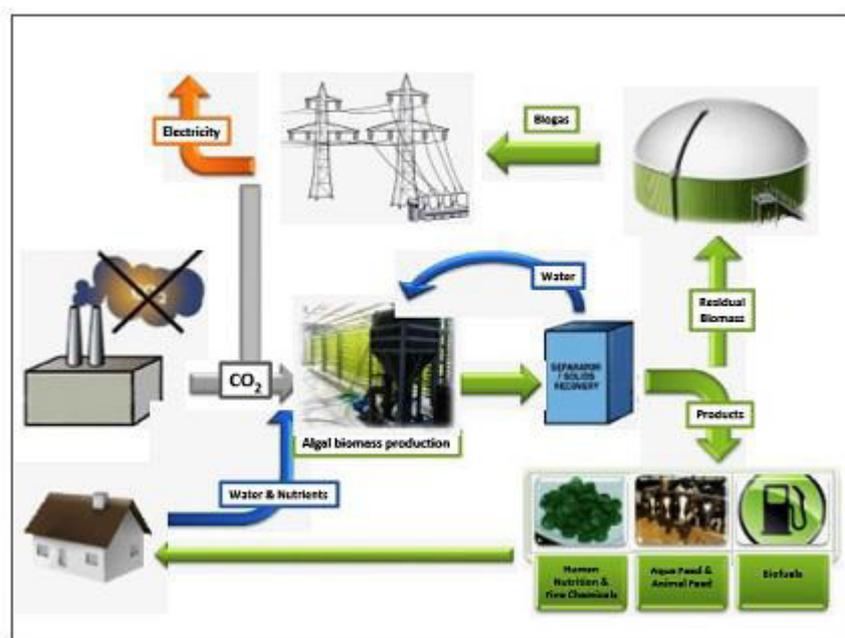


Fig.II.5. Production de biogaz à partir des micro-algues (Powell et al, 2009).

Powell et al., (2009) suggèrent l'utilisation de *Chlorella vulgaris* dans un procédé, appelé Microbial Fuel Cell, de production d'électricité à partir des réactions d'oxydo-réduction qui se déroulent dans la cellule. Ce procédé en produisant de l'électricité permet également la réduction de CO₂ présent dans le milieu en le transformant en biomasse (Rösch et Posten, 2012).

Pour fabriquer du biocarburant, appelé biocarburant de troisième génération, les espèces de *Chlorella* sont des candidates prometteuses pour cette application grâce à leur fort contenu lipidique et leur capacité à croître rapidement (Xiong et al, 2008 ; Converti et al, 2009 ; Lv et al, 2010 ; Phukan et al, 2011). Les rendements en huile produit par les micro-algues promettent d'être jusqu'à 30 fois plus grands à ceux du colza. Ils sont au centre des

nouvelles recherches les plus prometteuses. Brennan et Owende, 2010, ont montré que la *Chlorella* est composée majoritairement par des carbohydrates (40 à 70%), de protéines (10 à 20%) et des molécules de faibles poids comme les acides gras et les acides aminés. Sa richesse en carbohydrates se révèle importante pour sa transformation en sucres solubles fermentescibles ayant un intérêt industriel dans la synthèse de biocarburant.

II.10.6. Domaine environnemental

Les principales applications environnementales sont le traitement des eaux usées et la consommation de CO₂ (figure II.6).

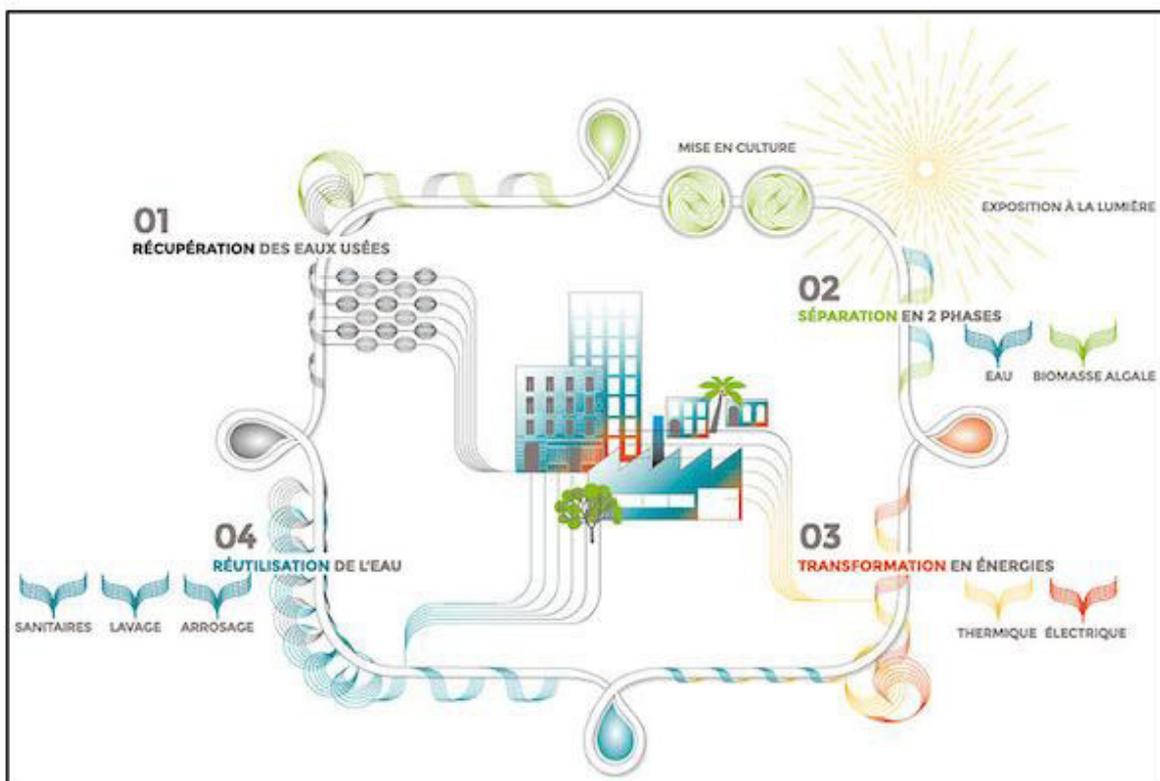


Fig.II.6. Processus de traitement des eaux par des micro-algues.

Il y a plus de 60 ans, Caldwell (1946) a suggéré que l'utilisation de micro-algues pour le traitement des eaux usées et la bio-remédiation est possible, et il a longtemps été reconnu qu'ils sont très efficaces pour réduire la demande biologique d'oxygène (DBO) et le phosphore dissous et l'azote, dans les eaux usées urbaines et agricoles (Larsdotter, 2006).

De nombreuses espèces de micro-algues peuvent se développer efficacement dans les eaux usées municipales car elles peuvent utiliser à la fois du carbone organique et des composants inorganiques comme l'azote et le phosphore dans les eaux usées.

L'utilisation de micro-algues dans le traitement des eaux usées a longtemps été promue (Oswald *et al.*, 1957). Même si l'application de micro-algues dans le traitement des eaux usées à l'échelle de l'industrie est encore limitée, les chercheurs utilisent des algues pour traiter les eaux usées à une échelle relativement mineure au cours des dernières décennies.

Considérant que les micro-algues utilisent de l'azote et des composés du phosphore comme éléments nutritifs tels que le carbone organique, NH_3^+ et PO_4^3 , qui sont habituellement contenus dans les eaux usées municipales et les déchets liquides, peuvent être utilisés simultanément pour le traitement des eaux usées, ainsi que la production de biomasse et de lipides d'algues. Outre le carbone, l'azote et le phosphore, les algues extraites des eaux usées efficacement, sont des éléments essentiels pour la croissance des algues (Makarevičienė *et al.*, 2011). Les algues sont également caractérisées comme étant en mesure d'éliminer certains polluants organiques et de dissoudre les solides volatils des eaux usées (Prathima *et al.*, 2012). De plus, les algues sont capables de biofixer le dioxyde de carbone par la photosynthèse, et cette fonctionnalité peut être appliquée à la réduction des polluants atmosphériques dans l'atmosphère (élimination du dioxyde de carbone des gaz de combustion industriels), ce qui contribue à ralentir le changement climatique.

Les micro-algues ont une grande capacité d'accumulation des métaux lourds (Monteiro *et al.*, 2013), elles sont donc très utilisées dans le traitement des eaux usées. En effet, ces microorganismes qui forment une base d'écosystème marin, sont largement utilisés comme des bio-indicateurs de changements environnementaux et surtout dans l'évaluation des risques par les métaux (Levy *et al.*, 2007).

La croissance efficace des micro-algues dans les eaux usées dépend de plusieurs facteurs. Comme pour tout milieu de croissance, les variables critiques comprennent le pH et la température du milieu de croissance, la concentration des nutriments essentiels, y compris le N, P et le carbone organique, les rapports de ces constituants et l'environnement de croissance tel que la lumière, l' O_2 et le CO_2 .

Une différence majeure entre les eaux usées municipales et les milieux traditionnels de croissance des algues est que les concentrations de nutriments dans les eaux usées, telles que N et P, sont plus diluées. Dans le même temps, une grande partie de l'azote dans les eaux usées est souvent sous forme d'ammoniac qui, à une concentration élevée, peut inhiber la croissance des algues. Ces variables diffèrent d'un site de traitement des eaux usées par un autre selon le type d'eaux usées (Larsdotter, 2006).

La figure II.7 représente brièvement le processus impliqué dans un étang à algues à haut taux dans lequel les algues jouent un double rôle en assimilant les nutriments des eaux

usées et en fournissant de l'oxygène aux bactéries. Les bactéries absorbent l'oxygène et dégradent les matières organiques dans les eaux usées, le même procédé utilisé dans le traitement des boues activées (Oswald et Gotaas, 1957).

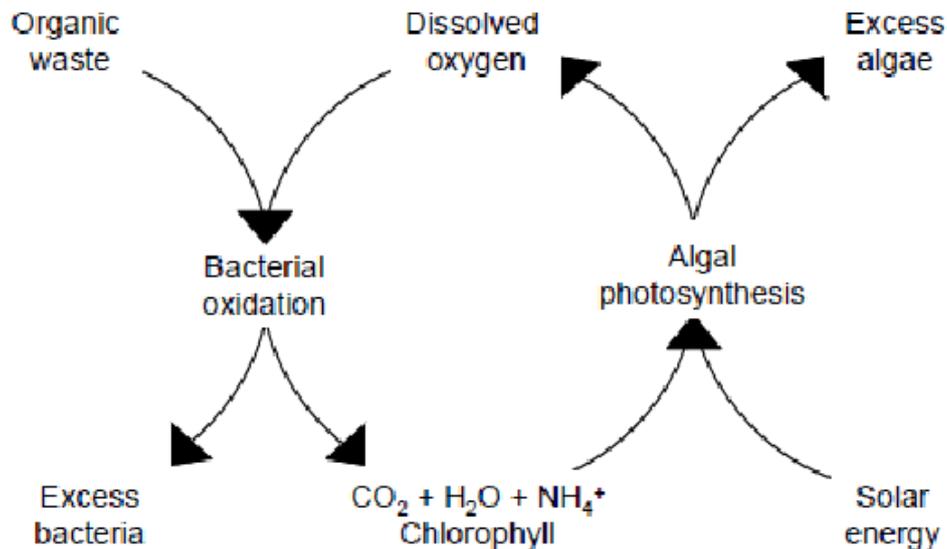


Fig.II.7. Processus impliqué dans un étang algal à haut rendement (Oswald et Gotaas, 1957).

La sélection de la souche d'algues à utiliser dans le traitement des eaux usées est déterminée par leur robustesse vis-à-vis des eaux usées et par leur capacité à cultiver et à assimiler les nutriments des eaux usées.

Chlorella, *Scenedesmus*, *Neochloris* et *Spirulina* sont les espèces d'algues largement utilisées dans les études expérimentales du traitement des eaux usées. Les avantages majeurs de l'utilisation de micro-algues par rapport aux méthodes classiques résumées par De la Noüe (1992) sont:

- Les nutriments peuvent être éliminés plus efficacement;
- Aucune génération de sous-produit toxique (boues) ;
- Les biocarburants peuvent être produits à partir de la biomasse récoltée (économique en énergie);
- Rentable.

Conclusion

Après la recherche bibliographique sur les algues, on peut conclure que les micro-algues présentent une capacité d'épuration des eaux usées très importante.

Références

- Alayse, J.-P., Nozer'h, Y.L., 1997. Les algues, Jean-paul Gisserot. ed.
- Azov, Y., Goldman, J.C., 1982. Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cultures. *Applied and environmental microbiology* 43, 735–739.
- Bajguz, A., 2011. Suppression of *Chlorella vulgaris* growth by cadmium, lead, and copper stress and its restoration by endogenous brassinolide. *Archives of environmental contamination and toxicology* 60, 406–416.
- Barbosa, M.J., Janssen, M., Ham, N., Tramper, J., Wijffels, R.H., 2003. Microalgae cultivation in air-lift reactors: modeling biomass yield and growth rate as a function of mixing frequency. *Biotechnology and bioengineering* 82, 170–179.
- Barsanti, L., Gualtieri, P., 2014. *Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology*. CRC press.
- Bartual, A., Gálvez, J.A., 2002. Growth and biochemical composition of the diatom *Phaeodactylum tricornutum* at different pH and inorganic carbon levels under saturating and subsaturating light regimes. *Botanica Marina* 45, 491–501.
- Becerra-Celis, G., 2009. Proposition de stratégies de commande pour la culture de microalgues dans un photobioréacteur continu. Université Paris Sud-Paris XI.
- Becker, E.W., 1994. *Microalgae: biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press.
- Borowitzka, M.A., 1992. Algal biotechnology products and processes—matching science and economics. *Journal of applied phycology* 4, 267–279.
- Bougaran, G., Bernard, O., Sciandra, A., 2010. Modeling continuous cultures of microalgae colimited by nitrogen and phosphorus. *Journal of theoretical biology* 265, 443–454.
- Bouterfas, R., Belkoura, M., Dauta, A., 2002. Light and temperature effects on the growth rate of three freshwater [2pt] algae isolated from a eutrophic lake. *Hydrobiologia* 489, 207–217.
- Cadoret, J.-P., Bardor, M., Lerouge, P., Cabiglieria, M., Henriquez, V., Carlier, A., 2008. Les microalgues-Usines cellulaires productrices de molécules commerciales recombinantes. *médecine/sciences* 24, 375–382.
- Cadoret, J.-P., Bernard, O., 2008. La production de biocarburant lipidique avec des microalgues: promesses et défis. *Journal de la Société de Biologie* 202, 201–211.
- Carlsson, A.S., 2007. Micro-and macro-algae: utility for industrial applications: outputs from the EPOBIO project. CPL Press.
- Chen, M., Tang, H., Ma, H., Holland, T.C., Ng, K.S., Salley, S.O., 2011. Effect of nutrients on growth and lipid accumulation in the green algae *Dunaliella tertiolecta*. *Bioresource technology* 102, 1649–1655.
- Chojnacka, K., Marquez-Rocha, F.-J., 2004. Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae. *Biotechnology* 3, 21–34.

- Chynoweth, D.P., 2002. Review of biomethane from marine biomass. University of Florida 1–207.
- Converti, A., Casazza, A.A., Ortiz, E.Y., Perego, P., Del Borghi, M., 2009. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 48, 1146–1151.
- Craggs, R.J., 2005. Advanced integrated wastewater ponds. Pond treatment technology. IWA scientific and technical report series. IWA, London 282–310.
- Csögör, Z., Herrenbauer, M., Perner, I., Schmidt, K., Posten, C., 1999. Design of a photobioreactor for modelling purposes. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 38, 517–523.
- Davey, M., Tarran, G.A., Mills, M.M., Ridame, C., Geider, R.J., LaRoche, J., 2008. Nutrient limitation of picophytoplankton photosynthesis and growth in the tropical North Atlantic. *Limnology and Oceanography* 53, 1722–1733.
- Davies, A.G., Sleep, J.A., 1989. The photosynthetic response of nutrient-depleted dilute cultures of *Skeletonema costatum* to pulses of ammonium and nitrate; the importance of phosphate. *Journal of plankton research* 11, 141–164.
- Dawes, C.J., Mathieson, A.C., others, 2008. The seaweeds of Florida. University Press of Florida.
- De la Noue, J., de Pauw, N., 1988. The potential of microalgal biotechnology: a review of production and uses of microalgae. *Biotechnology advances* 6, 725–770.
- De la Noüe, J., Laliberté, G., Proulx, D., 1992. Algae and waste water. *Journal of applied phycology* 4, 247–254.
- De Reviere, B., 2003. *Biologie et phylogénie des algues*. Belin.
- Degen, J., Uebele, A., Retze, A., Schmid-Staiger, U., Trösch, W., 2001. A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect. *Journal of biotechnology* 92, 89–94.
- Del Campo, J.A., Moreno, J., Rodríguez, H., Vargas, M.A., Rivas, J., Guerrero, M.G., 2000. Carotenoid and phosphorus ions from synthetic wastewater by the microalgae *Chlorella vulgaris* coimmobilized in alginate beads with the microalgae growthpromoting bacterium *Azospirillum brasilense*. *Water Research* 36, 2941–2948.
- Dragone, G., Fernandes, B.D., Abreu, A.P., Vicente, A.A., Teixeira, J.A., 2011. Nutrient limitation as a strategy for increasing starch accumulation in microalgae. *Applied Energy* 88, 3331–3335.
- Estevez, M.S., Malanga, G., Puntarulo, S., 2001. Iron-dependent oxidative stress in *Chlorella vulgaris*. *Plant Science* 161, 9–17.
- Falkowski, P.G., Raven, J.A., 2013. *Aquatic photosynthesis*. Princeton University Press.
- Garcia, J., Mujeriego, R., Hernandez-Marine, M., 2000. High rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal. *Journal of Applied Phycology* 12,

331–339.

- GERLOFF-ELIAS, A., Spijkerman, E., PRÖSCHOLD, T., 2005. Effect of external pH on the growth, photosynthesis and photosynthetic electron transport of *Chlamydomonas acidophila* Negoro, isolated from an extremely acidic lake (pH 2.6). *Plant, Cell & Environment* 28, 1218–1229.
- Glass, J.B., Wolfe-Simon, F., Anbar, A.D., 2009. Coevolution of metal availability and nitrogen assimilation in cyanobacteria and algae. *Geobiology* 7, 100–123.
- Gordon, H.T., Bauernfeind, J.C., Furia, T.E., 1983. Carotenoids as food colorants. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 18, 59–97.
- Gouveia, L., Nobre, B.P., Marcelo, F.M., Mrejen, S., Cardoso, M.T., Palavra, A.F., Mendes, R.L., 2007. Functional food oil coloured by pigments extracted from microalgae with supercritical CO₂. *Food Chemistry* 101, 717–723.
- Griffiths, D.J., Thresher, C.L., Street, H.E., 1960. The heterotrophic nutrition of *Chlorella vulgaris* (Brannon No. 1 strain): with two figures in the text. *Annals of Botany* 24, 1–11.
- Grima, E.M., Sevilla, J.F., Perez, J.S., Camacho, F.G., 1996. A study on simultaneous photolimitation and photoinhibition in dense microalgal cultures taking into account incident and averaged irradiances. *Journal of Biotechnology* 45, 59–69.
- Gustafson, K.R., Cardellina, J.H., Fuller, R.W., Weislow, O.S., Kiser, R.F., Snader, K.M., Patterson, G.M., Boyd, M.R., 1989. AIDS-antiviral sulfolipids from cyanobacteria (blue-green algae). *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 81, 1254–1258.
- Harris, G.P., 1978. Photosynthesis, productivity and growth: The physiological ecology of phytoplankton. *Ergebnisse die Limnologie*, Elsevier.
- Heubeck, S., Craggs, R.J., Shilton, A., 2007. Influence of CO₂ scrubbing from biogas on the treatment performance of a high rate algal pond. *Water Science and Technology* 55, 193–200.
- Hill, K.L., Hassett, R., Kosman, D., Merchant, S., 1996. Regulated copper uptake in *Chlamydomonas reinhardtii* in response to copper availability. *Plant physiology* 112, 697–704.
- Hodaifa, G., Martínez, M.E., Sánchez, S., 2009. Influence of pH on the culture of *Scenedesmus obliquus* in olive-mill wastewater. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 14, 854–860.
- Hoppe, H.A., 1979. Marine algae and their products and constituents in pharmacy. *Marine algae in pharmaceutical science*, editors, Heinz A. Hoppe, Tore Levring, Yukio Tanaka.
- Hu, C.-W., Chuang, L.-T., Yu, P.-C., Chen, C.-N.N., 2013. Pigment production by a new thermotolerant microalga *Coelastrella* sp. F50. *Food chemistry* 138, 2071–2078.
- Hu, Q., 2004. Environmental effects on cell composition. Blackwell Science Ltd.: Oxford, UK.

- Huang, C.-C., Hung, J.-J., Peng, S.-H., Chen, C.-N.N., 2012. Cultivation of a thermo-tolerant microalga in an outdoor photobioreactor: influences of CO₂ and nitrogen sources on the accelerated growth. *Bioresource technology* 112, 228–233.
- Jacob, J., Lawlor, D.W., 1993. In vivo photosynthetic electron transport does not limit photosynthetic capacity in phosphate-deficient sunflower and maize leaves. *Plant, Cell & Environment* 16, 785–795.
- Jong-Yuh, C., Mei-Fen, S., 2005. Potential hypoglycemic effects of *Chlorella* in streptozotocin-induced diabetic mice. *Life sciences* 77, 980–990.
- Justo, G.Z., Silva, M.R., Queiroz, M.L., 2001. Effects of the green algae *Chlorella vulgaris* on the response of the host hematopoietic system to intraperitoneal Ehrlich ascites tumor transplantation in mice. *Immunopharmacology and immunotoxicology* 23, 119–132.
- Kaplan, D., Richmond, A.E., Dubinsky, Z., Aaronson, S., 1986. Algal nutrition. *Handbook of microalgal mass culture* 147–198.
- Kozłowska-Szerenos, B., Bialuk, I., Maleszewski, S., 2004. Enhancement of photosynthetic O₂ evolution in *Chlorella vulgaris* under high light and increased CO₂ concentration as a sign of acclimation to phosphate deficiency. *Plant Physiology and Biochemistry* 42, 403–409.
- La Fontaine, S., Quinn, J.M., Nakamoto, S.S., Page, M.D., Göhre, V., Moseley, J.L., Kropat, J., Merchant, S., 2002. Copper-dependent iron assimilation pathway in the model photosynthetic eukaryote *Chlamydomonas reinhardtii*. *Eukaryotic Cell* 1, 736–757.
- Larsdotter, K., 2006. Wastewater treatment with microalgae—a literature review. *Vatten* 62, 31.
- Lee, Y.-K., 2001. Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential. *Journal of applied phycology* 13, 307–315.
- Levy, J.L., Stauber, J.L., Jolley, D.F., 2007. Sensitivity of marine microalgae to copper: the effect of biotic factors on copper adsorption and toxicity. *Science of the Total Environment* 387, 141–154.
- Littler, D.S., Littler, M.M., 2000. *Caribbean Reef Plants*. Offshore Graphics. Inc., Washington, DC 542.
- Lívanský, K., Doucha, J., 1996. CO₂ and O₂ gas exchange in outdoor thin-layer high density microalgal cultures. *Journal of Applied Phycology* 8, 353–358.
- Lorenz, R.T., Cysewski, G.R., 2000. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. *Trends in biotechnology* 18, 160–167.
- Lv, J.-M., Cheng, L.-H., Xu, X.-H., Zhang, L., Chen, H.-L., 2010. Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions. *Bioresource technology* 101, 6797–6804.
- Makarevičienė, V., Skorupskaitė, V., Andrulevičiūtė, V., 2012. Biomass and oil production of green microalgae *Scenedesmus* sp. using different nutrients and growth. *Environmental Research, Engineering and Management* 62, 5–13.

- Mandalam, R.K., Palsson, B.Ø., 1998. Elemental balancing of biomass and medium composition enhances growth capacity in high-density *Chlorella vulgaris* cultures.
- Masojidek, J., Koblizek, M., Torzillo, G., 2004. Photosynthesis in microalgae. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology 20.
- McNeill, J., Barrie, F.R., Buck, W.R., Demoulin, V., Greuter, W., Hawksworth, D.L., Herendeen, P.S., Knapp, S., Marhold, K., Prado, J., others, 2012. International Code of Nomenclature for algae, fungi and plants. *Regnum vegetabile* 154.
- Michel, K.-P., Pistorius, E.K., 2004. Adaptation of the photosynthetic electron transport chain in cyanobacteria to iron deficiency: the function of *IdiA* and *IsiA*. *Physiologia plantarum* 120, 36–50.
- Mizoguchi, T., Takehara, I., Masuzawa, T., Saito, T., Naoki, Y., 2008. Nutrigenomic studies of effects of *Chlorella* on subjects with high-risk factors for lifestyle-related disease. *Journal of medicinal food* 11, 395–404.
- Monteiro, C.M., Castro, P.M., Malcata, F.X., 2012. Metal uptake by microalgae: underlying mechanisms and practical applications. *Biotechnology progress* 28, 299–311.
- Morita, K., Matsueda, T., Iida, T., Hasegawa, T., 1999. *Chlorella* accelerates dioxin excretion in rats. *The Journal of nutrition* 129, 1731–1736.
- Moseley, J., Quinn, J., Eriksson, M., Merchant, S., 2000. The *Crd1* gene encodes a putative di-iron enzyme required for photosystem I accumulation in copper deficiency and hypoxia in *Chlamydomonas reinhardtii*. *The EMBO Journal* 19, 2139–2151.
- Moseley, J.L., Allinger, T., Herzog, S., Hoerth, P., Wehinger, E., Merchant, S., Hippler, M., 2002. Adaptation to Fe-deficiency requires remodeling of the photosynthetic apparatus. *The EMBO Journal* 21, 6709–6720.
- Moseley, J.L., Chang, C.-W., Grossman, A.R., 2006. Genome-based approaches to understanding phosphorus deprivation responses and *PSR1* control in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Eukaryotic Cell* 5, 26–44.
- Necchi, O., Zucchi, M.R., 2001. Photosynthetic performance of freshwater Rhodophyta in response to temperature, irradiance, pH and diurnal rhythm. *Phycological research* 49, 305–318.
- OKAMOTO, K., IIZUKA, Y., MURAKAMI, T., MIYAKE, H., SUZUKI, T., 1978. Effects of *Chlorella* alkali extract on blood pressure in SHR. *Japanese heart journal* 19, 622–623.
- Olaizola, M., 2003. Microalgal removal of CO₂ from flue gases: changes in medium pH and flue gas composition do not appear to affect the photochemical yield of microalgal cultures. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 8, 360–367.
- Oswald, W.J., Gotaas, H.B., others, 1957. Photosynthesis in sewage treatment. *Trans. Am. Soc. Civ. Eng* 122, 73–105.
- Park, J.B.K., Craggs, R.J., 2010. Wastewater treatment and algal production in high rate algal ponds with carbon dioxide addition. *Water Science and Technology* 61, 633–639.

- Patterson, G.M., Baldwin, C.L., Bolis, C.M., Caplan, F.R., Karuso, H., Larsen, L.K., Levine, I.A., Moore, R.E., Nelson, C.S., Tschappat, K.D., others, 1991. Antineoplastic activity of cultured blue-green algae (cyanophyta). *Journal of phycology* 27, 530–536.
- Perez-Garcia, O., Escalante, F.M., de-Bashan, L.E., Bashan, Y., 2011. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. *Water research* 45, 11–36.
- Peršić, V., Horvatić, J., Has-Schön, E., Bogut, I., 2009. Changes in N and P limitation induced by water level fluctuations in Nature Park Kopački Rit (Croatia): nutrient enrichment bioassay. *Aquatic ecology* 43, 27–36.
- Phukan, M.M., Chutia, R.S., Konwar, B.K., Katak, R., 2011. Microalgae *Chlorella* as a potential bio-energy feedstock. *Applied Energy* 88, 3307–3312.
- Pittman, J.K., Dean, A.P., Osundeko, O., 2011. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. *Bioresource technology* 102, 17–25.
- Powell, E.E., Mapiour, M.L., Evitts, R.W., Hill, G.A., 2009. Growth kinetics of *Chlorella vulgaris* and its use as a cathodic half cell. *Bioresource technology* 100, 269–274.
- Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A., n.d. *Microbiology*. 2002. WCB McGraw-Hill, Boston 541–544.
- Pugh, N., Ross, S.A., ElSohly, H.N., ElSohly, M.A., Pasco, D.S., 2001. Isolation of three high molecular weight polysaccharide preparations with potent immunostimulatory activity from *Spirulina platensis*, *Aphanizomenon flos-aquae* and *Chlorella pyrenoidosa*. *Planta medica* 67, 737–742.
- Pulz, O., 2001. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Applied microbiology and biotechnology* 57, 287–293.
- Pulz, O., Gross, W., 2004a. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied microbiology and biotechnology* 65, 635–648.
- Pulz, O., Gross, W., 2004b. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied microbiology and biotechnology* 65, 635–648.
- Quisel, J.D., Wykoff, D.D., Grossman, A.R., 1996. Biochemical characterization of the extracellular phosphatases produced by phosphorus-deprived *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant physiology* 111, 839–848.
- Richmond, A., 2008. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. John Wiley & Sons.
- Richmond, A., 2004a. Biological principles of mass cultivation. *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology* 125–177.
- Richmond, A., 2004b. Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview, in: *Asian Pacific Phycology in the 21st Century: Prospects and Challenges*. Springer, pp. 33–37.
- Richmond, A., Cheng-Wu, Z., Zarmi, Y., 2003. Efficient use of strong light for high photosynthetic productivity: interrelationships between the optical path, the optimal population density and cell-growth inhibition. *Biomolecular Engineering* 20, 229–236.

- Rochaix, J.-D., 2001. Assembly, function, and dynamics of the photosynthetic machinery in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant physiology* 127, 1394–1398.
- Rösch, C., Posten, C., 2012. Challenges and perspectives of microalgae production. *Technikfolgenabschätzung—Theorie und Praxis* 21.
- Ross, A.B., Jones, J.M., Kubacki, M.L., Bridgeman, T., 2008. Classification of macroalgae as fuel and its thermochemical behaviour. *Bioresource technology* 99, 6494–6504.
- Rubio, F.C., Sancho, M., Villasclaras, S.S., Pérez, A.D., 1989. Influence of pH on the kinetic and yield parameters of *Scenedesmus obliquus* heterotrophic growth. *Process biochemistry* 133–136.
- Sadi, M., 2012. Les micro algues: un défi prometteur pour des biocarburants propres.
- Sánchez Mirón, A., Garcia Camacho, F., Contreras Gomez, A., Grima, E.M., Chisti, Y., 2000. Bubble-column and airlift photobioreactors for algal culture. *AIChE Journal* 46, 1872–1887.
- Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., Roessler, P., 1998. A look back at the US Department of Energy's aquatic species program: biodiesel from algae. *National Renewable Energy Laboratory* 328.
- Sialve, B., Steyer, J.-P., 2013. Les microalgues, promesses et défis. *Innovations Agronomiques* 26, 25–39.
- Soeder, C.J., Hegewald, E., Fiolitakis, E., Grobbelaar, J.U., 1985. Temperature dependence of population growth in a green microalga: thermodynamic characteristics of growth intensity and the influence of cell concentration. *Zeitschrift für Naturforschung C* 40, 227–233.
- Spijkerman, E., 2007. Phosphorus acquisition by *Chlamydomonas acidophila* under autotrophic and osmo-mixotrophic growth conditions. *Journal of experimental botany* 58, 4195–4202.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A., 2006a. Commercial applications of microalgae. *Journal of bioscience and bioengineering* 101, 87–96.
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A., 2006b. Commercial applications of microalgae. *Journal of bioscience and bioengineering* 101, 87–96.
- Stolz, P., Obermayer, B., 2005. Manufacturing microalgae for skin care. *Cosmetics and toiletries* 120, 99–106.
- Stumm, W., Morgan, J.J., 1981. *Aquatic chemistry: an introduction emphasizing chemical equilibria in natural waters*. John Wiley & Sons.
- Sun, Y., Wang, C., 2009. The optimal growth conditions for the biomass production of *Isochrysis galbana* and the effects that phosphorus, Zn²⁺, CO₂, and light intensity have on the biochemical composition of *Isochrysis galbana* and the activity of extracellular CA. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 14, 225–231.
- Taylor, W.R., 1960. *Marine algae of the eastern tropical and subtropical coasts of the Americas*. University of Michigan.

- Terauchi, A.M., Peers, G., Kobayashi, M.C., Niyogi, K.K., Merchant, S.S., 2010. Trophic status of *Chlamydomonas reinhardtii* influences the impact of iron deficiency on photosynthesis. *Photosynthesis research* 105, 39–49.
- Tillett, D.M., 1988. Lipid productivity and species competition in laboratory models of algal mass cultures. Georgia Institute of Technology.
- Varela, D.E., Willers, V., Crawford, D.W., 2011. Effect of zinc availability on growth, morphology, and nutrient incorporation in a coastal and an oceanic diatom. *Journal of phycology* 47, 302–312.
- Weissman, J.C., Goebel, R.P., Benemann, J.R., 1988. Photobioreactor design: mixing, carbon utilization, and oxygen accumulation. *Biotechnology and bioengineering* 31, 336–344.
- Wykoff, D.D., Davies, J.P., Melis, A., Grossman, A.R., 1998. The regulation of photosynthetic electron transport during nutrient deprivation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant physiology* 117, 129–139.
- Xiong, W., Li, X., Xiang, J., Wu, Q., 2008. High-density fermentation of microalga *Chlorella protothecoides* in bioreactor for microbio-diesel production. *Applied microbiology and biotechnology* 78, 29–36.
- Xu, X.-Q., Beardall, J., Hallam, N.D., 1998. Modification of fatty acid composition in halophilic Antarctic microalgae. *Phytochemistry* 49, 1249–1252.
- Yewalkar, S., Li, B., Posarac, D., Duff, S., 2011. Potential for CO₂ fixation by *Chlorella pyrenoidosa* grown in oil sands tailings water. *Energy & Fuels* 25, 1900–1905.
- Yun, Y.-S., Park, J.M., 2003. Kinetic modeling of the light-dependent photosynthetic activity of the green microalga *Chlorella vulgaris*. *Biotechnology and bioengineering* 83, 303–311.
- Zeng, X., Danquah, M.K., Chen, X.D., Lu, Y., 2011. Microalgae bioengineering: from CO₂ fixation to biofuel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 15, 3252–3260.
- Zer, H., Ohad, I., 2003. Light, redox state, thylakoid-protein phosphorylation and signaling gene expression. *Trends in biochemical sciences* 28, 467–470.

*Chapitre III : Quantification
de triclosan et épuration des
eaux usées par un mélange :
Boues- Algues.*

« Nous ne connaissons la valeur de l'eau que lorsque le puits est à sec. »

Proverbe anglais

1^{ère} partie : Quantification de triclosan à partir de matrices de boues d'épuration d'Afrique du Sud et d'Algérie.

Dans cette partie, une quantification du triclosan dans les boues d'épuration d'Afrique du sud et d'Algérie a été réalisée. Notons que ce travail rentre dans le cadre d'un **projet intergouvernementale Algérie-Afrique du Sud**, financier par la DGRSDT, représenté par le laboratoire d'agro -Biotechnologie et Nutrition en Zones Semi-arides université de Tiaret, et la NRF De l'Afrique du Sud, représenté par le groupe de recherche en science pharmaceutique, Faculté de pharmacie, université de Rhodes.

Cette étude a été faite sur le triclosan parce qu'il existe dans les eaux usées domestique, aussi c'est un paramètre qui influe négativement sur l'épuration, par conséquence sur la boue activée (bactérie) et les micro-algues.

III.1.1. Introduction

En raison de l'utilisation intensive de produits de soins personnels contenant du Triclosan (TCS), La consommation mondiale annuelle, pour cet agent antimicrobien à large spectre (Chen et al., 2011 ; Farré et al., 2008) est passée à environ 450 tonnes en 2005 (Dhillon et al., 2015). Dans une étude menée par Smith, (Smith, 2009), a signalé que la concentration de TCS dans les boues est de $551 \pm 61 \mu\text{g} / \text{gramme de poids sec} (\mu\text{g} / \text{g.d.w.})$. Butler et al. (2012) ont déclaré des concentrations de TCS de boues d'épuration de 11,22-28,22 $\mu\text{g} / \text{g.d.w.}$, tandis que Thompson et al. (2005) ont observé une concentration de 128-156 $\mu\text{g} / \text{g.d.w.}$ Les boues d'épuration sont souvent utilisées comme un amendement du sol, et donc les effets environnementaux des polluants qu'elle contient doivent être examinés en détail avant l'application. Cela inclut le TCS car il induit la dépoliarisation mitochondriale dans les espèces d'algues et l'altération du métabolisme énergétique, ainsi que l'inhibition des sulfotransférases, dans les cellules animales (Coorgan et al., 2007). Dans les bactéries, TCS inhibe la trans-2-énoyle-ACP réductase dans la biosynthèse des acides gras (Massengo-Tiassé et Cronan, 2009). Il existe un écart dans la quantification des TCS dans les boues d'épuration en Afrique du Sud et en Algérie, où il n'existe pas de directives réglementaires à cet égard. Ce chapitre cherche à résoudre partiellement cette lacune dans les connaissances.

III.1.2.Un biocide : le triclosan (TCS)

Connu aussi sous le nom d'irgasan, le triclosan (figure III.1) est un bactéricide présent dans un grand nombre de produits d'hygiène corporelle tels que les gels douche, savons, déodorants, lotions et crèmes pour les mains, dentifrices, bains de bouche... mais aussi dans des produits médicaux où il est utilisé comme agent antiseptique dans les savons désinfectants

pour les mains, dans les crèmes pour la peau, ou dans les produits dentaires (Singer et al., 2002).

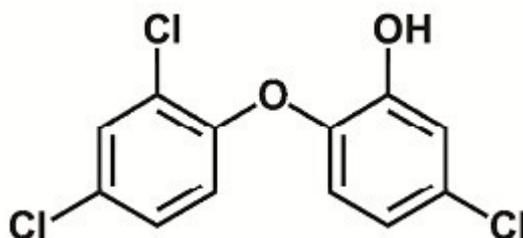


Fig.III.1. Formule développée du triclosan (Andrade et al., 2015).

Cette molécule est peu stable. Elle subit une dégradation photolytique dans l'eau (en surface) mais très peu dans les boues (Lores et al., 2005). Il se forme alors de la dichlorodibenzo-pdioxine. En présence de chlore libre, le triclosan se dégrade pour former des chlorophénols toxiques (Canosa et al., 2005).

Le triclosan est peu soluble dans l'eau (10 mg/L à 20°C) et est préférentiellement adsorbé sur les phases solides. Sa présence dans l'environnement est principalement due aux effluents de station d'épuration et à l'épandage des boues (Liu et al., 2009). En effet, dans une usine de traitement de l'eau, 79% du TCS subit une dégradation biologique, 15% est adsorbé sur les boues, et 6% est rejeté dans les eaux de surface (Singer et al., 2002). C'est surtout depuis 2007 que le nombre d'études sur le comportement du TCS en STEP et son impact sur le milieu naturel n'a cessé d'augmenter (figure III.2). Les concentrations relevées en STEP vont de quelques dizaines de ng/L à quelques µg/L suivant le type de rejet d'eau usée (eau de ville, d'hôpital...). Les quantités de TCS mesurées dans les boues de STEP sont de l'ordre de un à plusieurs µg/g (tableau III.1).

Le triclosan présente à long terme des effets de toxicité potentielle sur les organismes aquatiques, mais il présente aussi un risque lors de sa dégradation en sous-produits plus toxiques encore (composés chlorés, lipophiles, stables et bio-accumulatifs) (Canosa et al., 2005). James et al. (2010) ont montré chez la brebis que le TCS est un puissant inhibiteur de la fabrication d'œstrogènes. Il est donc considéré comme perturbateur endocrinien. L'exposition d'une brebis pleine, et par analogie d'une femme enceinte, au triclosan peut alors mettre en danger la grossesse, et le développement du fœtus (James et al. 2010). Une autre étude, de Dayan (2007), sur la présence de TCS dans le lait maternel, n'a pas permis de conclure que le TCS avait un effet néfaste sur les nourrissons.

Tableau III.1. Occurrence du triclosan dans les stations d'épuration et les ressources en eaux.

Matrice	Triclosan	Auteurs
Effluent de STEP	42 à 213 ng/L	Singer et al. (2002)
Eau usée	22.5 à 213 ng/L	Wu et al. (2007)
Eau usée :		
Affluent	1280 ng/g	Vanderford et Snyder (2006)
Effluent	<2 ng/g	
boues	418 à 5400 ng/g	Morales et al. (2005)
Boues activées	0.62 à 1.49 µg/g	Chu et Metcalfe (2007)
Boue	1.84 µg/g	
STEP eau de ville :		
Affluent	0.28 µg/L	
Effluent	0.43 µg/L	
STEP eau d'hôpital:		Gatidou et al. (2007)
Affluent	9.07 µg/L	
Effluent	1.12 µg/L	
STEP eau université:		
Affluent	0.79 µg/L	
Effluent	0.23 µg/L	

III.1.3. Introduction et devenir dans les stations d'épuration et dans l'environnement

Le triclosan est un contaminant transporté par les eaux usées domestiques vers les STEP (quand elles existent) pour être ensuite rejetés, après traitement, via leurs effluents et les boues dans le milieu récepteur (Kolpin et al., 2002; Lindstrom et al., 2002; Hua et al., 2005). Ainsi, une concentration élevée de 8000 mg/kg.ms dans des boues de STEP a été détectée à proximité de zones urbaines de 50 à 190000 habitants (Bester, 2003). De plus, il a été observé à une concentration de 37,6 ng/L dans un fleuve, à Hong-Kong, à proximité d'une agglomération urbaine (Wu et al., 2007). Globalement, le triclocarban et les parabènes partiellement éliminés lors du traitement des eaux usées (Singer et al., 2002). L'abattement du triclosan dépend du type de traitement utilisé dans les STEP ainsi que du débit des eaux usées. L'élimination dans les STEP à boues activées varie, selon les auteurs de 69 % (Yu et al., 2006) à 88 % (Gómez et al., 2007) et peut atteindre 95 – 96 % (McAvoy et al. 2002; Bester 2003), alors qu'elle est entre 58–86 % (McAvoy et al., 2002; Bester, 2003) et 65-93 % (McAvoy et al., 2002; Bester 2003) dans les stations utilisant les lits bactériens et à 32 % dans les stations à traitement primaire uniquement (McAvoy et al., 2002; Bester 2003). (Sabaliunas et al., 2003) ont constaté que le triclosan est abattu à ≈ 95 % dans les STEP indépendamment de la technique appliquée lors du traitement secondaire : boues activées ou biofiltre. (Bester, 2003) a évalué l'élimination du triclosan sur échantillon brut à 90 % dans une STEP à boues

activées en Allemagne dont 30 % s'adsorbent sur les boues ; d'autre part, il a remarqué que 65 % du triclosan présents dans les eaux usées ne sont détectés ni dans les effluents ni dans les boues et auraient été probablement métabolisés. La production du méthyltriclosan (métabolite du triclosan) se ferait au niveau du bassin d'aération principal impliquant la présence des microorganismes indispensables à son élimination. Cependant, la concentration de ce métabolite n'excède pas les 40 % de la concentration initiale en triclosan (Bester, 2005). (Kasprzyk-Hordern et al., 2009) ont remarqué une augmentation de la dégradation du triclosan avec l'augmentation du débit des eaux usées, ainsi il est dégradé à un taux inférieur à 60 % pour un débit de 150 L/s et à un taux supérieur à 80 % pour un débit de 307 L/s en eaux usées. La concentration en triclosan dans les eaux traitées en sortie du traitement primaire ($170,2 \pm 18,3$ ng/L) était plus élevée que celle des eaux usées brutes ($142 \pm 16,5$ ng/L). (Wu et al., 2007) ont expliqué cela par un processus de sédimentation dans le bassin de décantation. De plus, (Pothitou and Voutsas, 2008) ont identifié une forte dégradation du triclosan (> 75 %) dans une station d'épuration en Grèce. En effet, ils ont remarqué une diminution de la concentration en triclosan à la sortie du bioreacteur (28,7 ng/L dans la phase dissoute et 0,47 mg/kg.ms dans la phase particulaire) par rapport à la concentration dans les eaux usées en entrée (445 ng/L dans la phase dissoute et 26,8 mg/kg.ms dans la phase particulaire) témoignant de l'importance de cette étape dans l'abattement de ce composé. Cependant, à la dernière étape du traitement, destinée à produire des floccs biologiques et à produire des eaux traitées avec de très faibles niveaux de matières organiques et de matières en suspension, la concentration du triclosan n'est affectée que très faiblement (35,3 ng/L dans la phase dissoute et 0,067 mg/kg.ms dans la phase particulaire) (Pothitou and Voutsas, 2008). L'accumulation du triclosan dans les boues forme le mécanisme principal entraînant son élimination dans les STEP par rapport aux autres mécanismes comme la biodégradation et la photodégradation. En effet, le triclosan, lipophile, se fixe aux matières en suspension et finit dans les boues (Hua et al., 2005). Ainsi les stations d'épuration à boues activées permettent la réduction de la concentration du triclosan et du triclocarban dans les eaux usées suite à leur bioaccumulation dans les boues (McAvoy et al., 2002; Singer et al., 2002; Bester, 2005; Heidler and Halden, 2007; Miller et al., 2008).

III.1.4. Détection et toxicité dans les organismes aquatiques

En tant que composé lipophile, le TCS a été détecté dans une série d'organismes aquatiques, y compris les algues et les plantes aquatiques (Coogan et al., 2007 ; Wilson et al., 2003), les escargots (Coogan et al., 2008), les poissons (Orvos et al., 2002 ; Adolfsson-Erici et

al., 2002 ; Valters et al., 2005) et même les dauphins (Fair et al., 2009). Coogan et al. (2007) a spécifiquement examiné les facteurs de bioaccumulation d'algues (BAF) dans un ruisseau contaminé par les eaux usées au Texas. L'étude a révélé que les concentrations de TCS variaient de 50 à 400 ng / g de poids frais dans les algues, ce qui a donné des (BAF) de l'ordre de 1000 dans cet environnement.

En tant que producteurs primaires, les algues sont des composants essentiels des réseaux alimentaires aquatiques. La bioaccumulation dans ces organismes augmente le potentiel de transfert trophique de TCS, conduisant potentiellement à des concentrations élevées chez les consommateurs aquatiques (par exemple, les poissons) et les humains. Adolfsson-Erici et al. (2002), par exemple, ont trouvé des concentrations de TCS aussi élevées que 4,4 µg / g dans la bile de poissons sauvages en Suède. La même étude a également recueilli des échantillons aléatoires de lait humain et a enregistré des concentrations de TCS jusqu'à 300 ng / g de poids lipidique. En conjonction avec le potentiel de bioaccumulation dans les systèmes aquatiques, le TCS peut avoir une gamme d'effets toxiques sur des organismes spécifiques. Une étude d'Orvos et al. (2002) ont constaté que les concentrations typiques d'eau de surface du TCS ont peu d'effet sur les invertébrés et les poissons spécifiques.

De même, la concentration chronique sans effet observé (CSEO) pour *Daphnia magna* sur une période de 21 jours est de 40 µg / L. Plusieurs études, cependant, ont confirmé que le TCS est chroniquement toxique pour les algues et les macro-phytes à des concentrations environnementales pertinentes. La CSEO chronique de 96 heures pour une espèce d'algues vertes (*Scenedesmus subspicatus*) a été estimée à 690 ng / L (Orvos et al., 2002) . En outre, les concentrations de TCS allant de 15 ng / L à 1,5 µg / L ont montré que cela induit des changements majeurs dans la structure de la communauté des algues (Wilson et al., 2003) et 10 la croissance des macrophytes (Stevens et al., 2009). Ces changements de communauté ont le potentiel de modifier la structure trophique et la fonction des écosystèmes aquatiques qui reçoivent les effluents de la STEP.

III.1.5. Effets sur l'environnement

III.1.5.1. Mode d'action

Le triclosan cible de nombreux sites intracellulaires et cytoplasmiques et pourrait influencer la transcription des gènes qui participent au métabolisme des acides aminés, des glucides et des lipides, ainsi que la voie de signalisation comme l'illustre la bactérie *Staphylococcus aureus* (Jang et al., 2008). Plusieurs auteurs ont montré que le triclosan

bloque la biosynthèse des lipides dans les bactéries en inhibant précisément l'enzyme ENR (enoyl-acyl carrier protein reductase) qui participe à la synthèse des acides gras bactériens de type II (McMurry et al., 1998; Heath et al., 1999; Hoang et Schweizer; 1999; Levy et al., 1999). Les voies de synthèse des acides gras chez les plantes sont similaires à celles des bactéries.

III.1.5.2. Organismes aquatiques (Algues, macro-phytes et communautés de bactéries)

Des essais de toxicité employant une seule espèce, ainsi que des études sur le niveau communautaire, ont été menés en exposant les bactéries, les algues et les macro-phytes au triclosan. Orvos et al. (2002) ont soumis à des essais cinq espèces d'algues, ainsi que le macrophyte *Lemna gibba*. L'algue bleu-vert *Anabaena flos-aquae* s'est révélée être l'espèce la plus sensible avec une concentration efficace de 0,97 µg/L pour une réaction à 10 % (valeur CE10). Il convient de noter que, parmi les cinq espèces d'algues soumises aux essais, la seule espèce marine à l'étude (la diatomée *Skeletonema costatum*) était l'espèce la moins sensible, ce qui pourrait laisser croire que la salinité de l'eau d'essai pourrait avoir une incidence sur la spéciation et la biodisponibilité du triclosan (p. ex. proportion plus élevée de la forme ionisée). Cependant, DeLorenzo et Fleming (2008) ont mesuré une CE50 de 3,55 µg/L après 96 heures dans le cas d'une espèce de phytoplancton marin, ce qui est comparable à la toxicité mesurée par Orvos et al. (2002) et qui correspond à certaines algues d'eau douce. Yang et al. (2008) ont mesuré une CE50 de 0,53 µg/L après 72 heures pour l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata*, ce qui est bien inférieur à la valeur consignée par Orvos et al. (2002) pour la même espèce (CE50 de 4,46 µg/L après 96 heures). L'effet du triclosan sur la germination des graines et le développement des semis de trois plantes de terres humides a été étudié par Stevens et al. (2009). Bien que la germination et le poids des pousses n'aient pas été touchés lors des essais effectués avec la concentration la plus élevée (1 000 µg/L), cela a eu une incidence sur la longueur des racines de deux des espèces soumises aux essais avec une concentration de 0,6 µg/L.

Wilson et al. (2003) ont signalé un changement de la structure de la communauté d'algues à des concentrations de triclosan peu élevées (0,015 µg/L). Pour cette étude, des assemblages d'algues naturelles ainsi que de l'eau naturelle ont été utilisés, afin que les résultats des essais biologiques soient plus réalistes sur le plan environnemental. Cependant, un nombre insuffisant de données, comme les mesures des concentrations d'exposition, ayant été consigné, il existe des incertitudes à l'égard du véritable seuil des effets. Par conséquent,

les résultats de cette étude n'ont pas été utilisés pour établir le seuil de toxicité chronique du triclosan, mais ils sont toutefois considérés comme un élément de preuve dans cette évaluation. [Lawrence et al. \(2009\)](#) ont étudié les effets du triclosan sur la structure et la fonction des communautés du biofilm de rivière qui constituent un élément clé de la fonction de l'ensemble de l'écosystème. En utilisant l'eau de la rivière Saskatchewan Sud comme source d'inoculum et d'éléments nutritifs, ils ont employé diverses techniques, notamment les analyses à l'échelle microscopique, les sondes moléculaires et les déterminations physiologiques, afin de déterminer les effets d'une exposition continue à 10 µg de triclosan par litre. Les analyses des communautés du biofilm ont révélé un changement de la composition des algues et des bactéries, ainsi qu'une réduction importante de la biomasse algale, dans des systèmes d'essai contenant du triclosan par rapport aux contrôles. Le changement général observé était orienté vers une communauté plus hétérotrophe qui pourrait avoir des répercussions écologiques importantes sur le flux énergétique et de carbone. Ce type de changement peut également entraîner un changement de la capacité de transformation des éléments nutritifs et de la structure du réseau des aliments naturels des communautés des rivières. En se servant de cultures pures de protozoaires, [Lawrence et al. \(2009\)](#) n'ont pas trouvé d'effets détectables du triclosan à une concentration de 50 µg/L pour *Euplotes sp.*, *Dileptus sp.*, *Blepharisma sp.*, *Stentor sp.*, *Spirostomum sp.*, *Euglena sp.* et *Paramecium sp.*, mais des effets ont été observés à une concentration de 0,5 µg/L pour des membres inconnus des rotifères). [Miyoshi et al. \(2003\)](#) ont signalé que le triclosan avait des effets nocifs sur deux espèces *Paramecium* à des concentrations de 1 564 et de 400 µg/L après 5 jours. Cependant, le manque de données expérimentales, notamment concernant les concentrations d'exposition, remet en question la fiabilité de cette étude. Par conséquent, les résultats n'ont pas été davantage pris en considération.

III.1.6. Matériel et méthodes

Les noms et la pureté (nombres entre parenthèses) de tous les composés sont donnés. Tous les produits chimiques ont été utilisés comme obtenu auprès du fabricant. L'acétone (p.a. grade), le désoxycholate de sodium (> 99,5%), Irgasan (Triclosan;> 97%) et toutes les verreries utilisées ont été achetées auprès de Sigma Aldrich (Johannesburg, Afrique du Sud). Le papier filtre Whatman 1 équivalent a été acheté de Minema / Spellbound laboratory solutions (Port Elizabeth, Afrique du Sud). Le sulfate de sodium anhydre (> 99%), 32% l'acide chlorhydrique (HCl), n-hexane (P.a. grade) et TR 300 thermo-réacteurs ont été achetées auprès de Merck (Pty) Ltd. (Johannesburg, Afrique du Sud). Sauf indication contraire, toutes

les masses ont été mesurées en utilisant une balance analytique Pioneer TM PA214 (Ohaus Corporation, Pine Brook, NJ USA). Agitateur mécanique orbital, Le numéro de modèle TS-520D a été acheté chez Already Enterprise Inc. (Taipei, Taiwan). Un pH mètre modèle Crison, l'agitateur magnétique modèle STR-N11 a été acheté chez FMH Instruments (Johannesburg, Afrique du Sud). L'évaporateur rotatif modèle R-215 a été acheté auprès de Büchi Labortechnik Inc. (Flawil, Suisse). Le kit de dosage Abraxis Triclosan (PN 530114) a été acheté de Toxsolutions (Pretoria, Afrique du Sud). L'eau MilliQ a été utilisée dans toutes les expériences et elle a été préparée en utilisant un système de purification d'eau MilliQ-RO[®] 15 (Millipore[®]/Merck, Port Elizabeth, Afrique du Sud).

En Afrique du Sud et en Algérie, une grille d'échantillonnage a été utilisée pour la collecte d'échantillons de boues d'épuration. La grille est montrée dans la figure III.2. Les dimensions des lits de boues sont ceux de l'Algérie, où les lits de boues ont été échantillonnés dans la station de traitement des eaux usées à l'extérieur de la Willaya de Tiaret. Les lits de boue avaient la même forme à Grahamstown qu'à Tiaret, mais le volume total des lits de boue était plus petit. Des échantillons ont été prélevés des lits de boue à l'aide d'un échantillonneur avec un seul compartiment de 400 mm de longueur et un diamètre de 150 mm. À Grahamstown, les échantillons de boues ont été transférés dans des pots en verre stériles de 100 mL et ont été fermés avec les bouchons à vis de PTFE. Une fois l'échantillonnage effectué, les échantillons de boues ont été stockés à 4°C et toutes les analyses ont été réalisées dans une semaine de collecte des échantillons. Les boues de la vallée de Belmont se trouvaient dans les lits d'échantillonnage de boues pendant moins d'un mois.

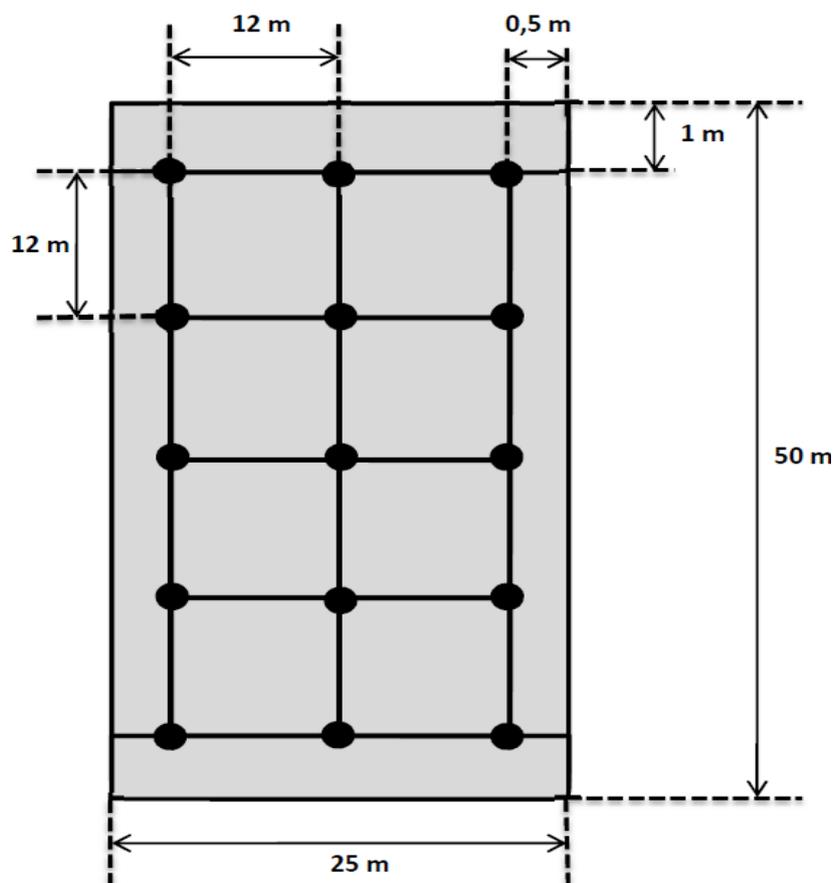


Fig.III.2. Grille d'échantillonnage des boues utilisée pour collecter des échantillons de boues d'épuration à la station d'épuration de Grahamstown (points rectangulaires) et à Tiaret (tous les points de la grille d'échantillonnage).

À Tiaret, les échantillons de boues ont été collectés de manière similaire, mais les boues d'épuration ont été présentes dans les lits de boues pendant plus de six mois avant l'échantillonnage. Après l'échantillonnage, les échantillons de boues ont été stockés dans des sacs en plastique transparents à température ambiante et envoyés à Grahamstown pour analyse en novembre 2015. Une fois en Afrique du Sud, les échantillons de boues d'épuration de Tiaret ont été stockés à 4°C jusqu'à l'analyse qui a eu lieu dans la semaine suivant la réception des échantillons. Le transport des échantillons de boues en Afrique du Sud aurait entraîné une diminution des concentrations de TCS, de carbone organique, d'azote et de phosphore. Par conséquent, les valeurs mesurées sont susceptibles de sous-estimer les valeurs réelles. Cependant, le manque d'approvisionnement fiable en consommables dans le laboratoire en Algérie était l'obstacle devant l'analyse des échantillons de boues d'épuration de Tiaret en Algérie.

Les échantillons de boues de Grahamstown et de Tiaret ont été analysés pour le TCS en utilisant les méthodes immunologiques et GC / MS. Les approches immunologiques

(ELISA-based) ont été optimisées au cours des deux dernières décennies pour la détection de polluants chlorés (Van Emon et al., 2013). Cependant, la méthode nécessite des procédures d'extraction spécifiques pour fournir une mesure semi-sélective des concentrations de polluants chlorés dans les échantillons environnementaux (Van Emon et al., 2013). Par conséquent, la méthode Abraxis a été utilisée comme méthode de dépistage pour la détection de présence ou d'absence de TCS dans les échantillons de boues d'épuration. D'autre part, le GC / MS a été considéré comme quantitative et son utilisation visait à quantifier les concentrations de TCS dans les boues d'épuration de Grahamstown et de Tiaret. Pour les échantillons réels de boues, une technique d'extraction légère a été recherchée.

Les données de la littérature sur les propriétés de TCS indiquent que le composé a un pKa de 7,9 et un logarithme du coefficient de partage 1 octanol / eau (log Kow) de 4,76 (Halden et Paull, 2015). Si le pH de la solution aqueuse / environnement est significativement inférieur à 7,9, le TCS sera syndiqué et hydrophobe; Et probablement rester absorbés sur les boues d'épuration. D'autre part, si le pH de l'environnement aqueux est supérieur à 7,9, les molécules de TCS pourront ioniser et désorber à partir des particules de boues dans les phases aqueuses en raison de la formation de l'anion phénolate. Le numéro CAS de TCS est 3380-34-5 et il a été utilisé pour estimer la solubilité aqueuse de TCS en utilisant le logiciel WSwinn (Microsoft Inc., Johannesburg, Afrique du Sud). La valeur estimée était égale à 4,621 mg/ L et donc le TCS est une drogue pratiquement insoluble / un ingrédient pharmaceutique actif (International Pharmacopeia, 2015). Il faudra être solubilisé en utilisant des tensioactifs pour obtenir une solution aqueuse stable.

Sur la base de la discussion ci-dessus, l'augmentation du pH d'une phase aqueuse au-dessus de 7,9 et la mise en contact des particules de boues d'épuration avec une telle solution entraîneront le groupe phénolique de TCS réagissant avec tous les cations inorganiques présents dans la solution aqueuse. Les sels respectifs de TCS avec des cations / acides disponibles seront formés. Une solution aqueuse facilitant la formation de tels sels peut être utilisée pour extraire des molécules TCS à partir des particules de boues d'épuration, si la composition de la solution aqueuse facilitera la formation d'une solution stable de TCS. Ce type de solution TCS peut théoriquement être formé dans des solutions aqueuses de sels d'acides biliaires. À l'aide de ce principe, une technique d'extraction légère pour TCS à partir de particules de boues d'épuration pourrait être développée. Sur la base des expériences préliminaires et de la disponibilité du produit, les auteurs ont choisi le désoxycholate de sodium à cet effet.

Pour l'extraction de l'échantillon, 5 g de boues d'épuration de Grahamstown ou Tiaret ont été pesées séparément à l'aide d'une balance Pioneer TM PA2102 et les boues pesées ont été transférées dans 6 flacons séparés, Erlenmeyer de 250 ml. À l'aide d'un cylindre gradué de 100 ml, 100 ml de désoxycholate de sodium à 1 g / L ont été transférés dans chaque Erlenmeyer de 250 ml, puis le cou de chaque Erlenmeyer a été recouvert d'une feuille d'aluminium et scellé avec le Parafilm TM pour éviter l'évaporation. Les flacons Erlenmeyer ont été placés sur un agitateur mécanique et secoués à 150 tr / min et 20 ° C pendant 48 h. Le pH initial de la solution de désoxycholate de sodium était de 8,6, ce qui garantirait l'extraction de TCS à partir des échantillons de boues en fonction de la formation du sel de sodium de TCS. Après 48 h, l'agitateur mécanique a été arrêté, et les échantillons ont été laissés au repos pendant 30 minutes. Des expériences préliminaires ont montré que 48 heures d'extraction étaient nécessaires pour atteindre la récupération maximale de TCS. Après l'extraction et la décantation des particules, les concentrations de TCS ont été mesurées à l'aide de la méthodologie immunologique ou GC / MS.

Dans les analyses immunologiques, 50 µL de l'extrait particulier d'échantillon de boues ont été pipetés dans la plaque de microtitrage recouverte d'anticorps . Le contenu des puits a été mélangé en déplaçant le support de bande dans un léger mouvement horizontal et circulaire sur un banc pendant 30 secondes. On a pris soin de ne pas contaminer le contenu des puits individuels dans la plaque à 96 puits. La plaque à 96 puits avec le contenu a ensuite été incubée à l'aide d'un incubateur à basse température Labcon LTIE 10 à 20 ± 0,5 ° C pendant 30 min. Après incubation, 50 µL de solution d'enzyme conjugué de TCS ont été pipetés successivement dans la plaque à 96 puits contenant les échantillons et ensuite recouverts de Parafilm TM. Chaque échantillon d'extrait, a été analysé en double. Le contenu des puits a été mélangé en déplaçant le support de bande dans un mouvement doux horizontal et circulaire sur le banc pendant 30 secondes. Les échantillons dans les puits ont de nouveau été incubés en utilisant un incubateur à basse température (Labcon) à 20 ± 0,5 ° C pendant 30 minutes supplémentaires. Une fois les 30 minutes écoulées, le Parafilm TM a été retiré et le liquide de chaque puits a été éliminé dans un récipient à déchets. Les bandes ont été lavées avec 3 × 250 µL de tampon de lavage dilué par puits et le tampon de lavage utilisé a été jeté. Ensuite, 100 µL de la solution de réactif coloré ont été pipetés dans chaque puits et le contenu a été recouvert de Parafilm TM. Mélange en utilisant un mouvement horizontal doux et l'incubation a été répétée comme indiqué ci-dessus.

Après 20 minutes écoulées, 50 µL de solution d'arrêt ont été ajoutés dans chaque puits et l'absorbance de l'échantillon de tous les puits a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre

(Biotek Inc., Winooski, VT, USA) à 450 nm. Une extraction en blanc des particules de boues a été effectuée et l'extrait résultant a été testé comme l'échantillon de TCS ci-dessus, mais aucun réactif immunologique n'a été ajouté. Cette solution s'appelle particules blanc et toutes les absorbances d'échantillons ont été corrigées pour cela. Le kit Abraxis contenait des solutions standard de TCS avec des concentrations allant de 0,05 à 2,5 µg / L. Ces solutions ont été utilisées pour préparer une courbe d'étalonnage de TCS selon la même procédure que pour les échantillons de boues d'épuration, seule l'étape d'extraction a été omise. La courbe d'étalonnage de TCS-ELISA est illustrée à la figure III.3. Le désoxycholate n'a pas interférer avec la quantification immunologique de TCS. La détection des concentrations de TCS à l'intérieur de la courbe d'étalonnage a considérée l'extrait de boue d'épuration et a été considéré comme une preuve de détection de TCS dans les échantillons de boues d'épuration d'Afrique du Sud et d'Algérie.

Pour la détermination GC / MS, l'extraction des échantillons de boues a été effectuée de la même manière que celle indiquée pour les méthodes immunologiques, mais de nouvelles aliquotes des échantillons de boues ont été utilisées. Après l'extraction et 30 min de décantation des particules, chaque extrait d'échantillon a été transféré quantitativement dans un entonnoir de séparation de 250 ml séparé. Dans chaque entonnoir, 20 ml d'un mélange de n-hexane / acétone (v / v) (9: 1) ont été ajoutés en utilisant un cylindre gradué de 50 ml et ensuite 0,7 ml de HCl (5M) ont été pipetés dans chaque entonnoir de séparation avec l'extrait de désoxycholate de sodium. De cette manière, le sel de sodium de TCS extrait a été reconverti en TCS non ionisé, car le pH de l'extrait d'échantillons a été chuté en dessous de 5. Cela a permis le partage du TCS non ionisé dans la couche organique (Hyland *et al.*, 2012). L'entonnoir de séparation a été secoué et le robinet a été ouvert tous les 10 secondes pendant 2 min, pour soulager l'excès de pression. Après que la surpression a été complètement équilibrée, le contenu de l'entonnoir de séparation a été vigoureusement secoué à la main pendant 2 min. L'entonnoir de séparation a été placé sur un support et serré pour permettre la séparation des phases. La couche de n-hexane a été recueillie et la procédure d'extraction a été répétée avec la solution aqueuse de désoxycholate deux fois de plus, mais aucune autre acidification n'a été effectuée.

Les extraits organiques ont été combinés dans un flacon Erlenmeyer propre de 100 ml et filtrés à travers un papier filtre Whatman 1 contenant 1,5 g de Na₂SO₄. Ceci a été fait pour sécher les extraits et le filtrat sec a été recueilli dans un ballon en verre de 250 ml. Les cristaux de Na₂SO₄ ont été rincés avec 5 mL d'acétone et ce liquide a été combiné avec le filtrat sec pour récupérer toute trace de TCS. À l'aide d'un Rotavap, l'extrait organique

combiné a été concentré à environ 10 ml. Les points de consigne de Rotavap étaient les suivants: vitesse de rotation de 85 tr / min; Température du bain d'eau de 40°C; Et température de vapeur de 21°C. On utilisant une pipette Pasteur, l'extrait de 10 mL restant a été utilisé pour rincer les parois du ballon en verre. Ensuite, l'extrait concentré a été transféré dans un ballon volumétrique de 10 ml, le volume a été rempli jusqu'au trait de ballon en utilisant le n-hexane après le ballon a été fermé. Le flacon avec l'extrait a ensuite été recouvert d'une feuille d'aluminium et conservé à $5 \pm 2^\circ\text{C}$ jusqu'à l'analyse.

La concentration de TCS dans l'extrait de n-hexane a été quantifiée à l'aide de GC / MS. Pour faire la courbe d'étalonnage pour la méthode standard externe, le TCS standard - Irgasan a été dissous dans le n-hexane. Pour la solution mère, on a pesé 150 mg de TCS à l'aide de d'une balance analytique Pioneer TM PA214 (précision 0.0001 g). La poudre pesée a été dissoute quantitativement dans du n-hexane dans un bécher et la solution résultante a été transférée dans un flacon volumétrique de 10 ml. Le volume a été confectionné à la marque avec du n-hexane et fermé avec un bouchon en verre. La solution mère de TCS a été utilisée pour préparer des solutions de TCS avec les concentrations suivantes 10, 20, 50 et 100 mg / L. Ces solutions ont ensuite été utilisées pour tracer la courbe d'étalonnage comme dépendance de l'aire de pic par rapport à la concentration de TCS (voir ci-dessous).

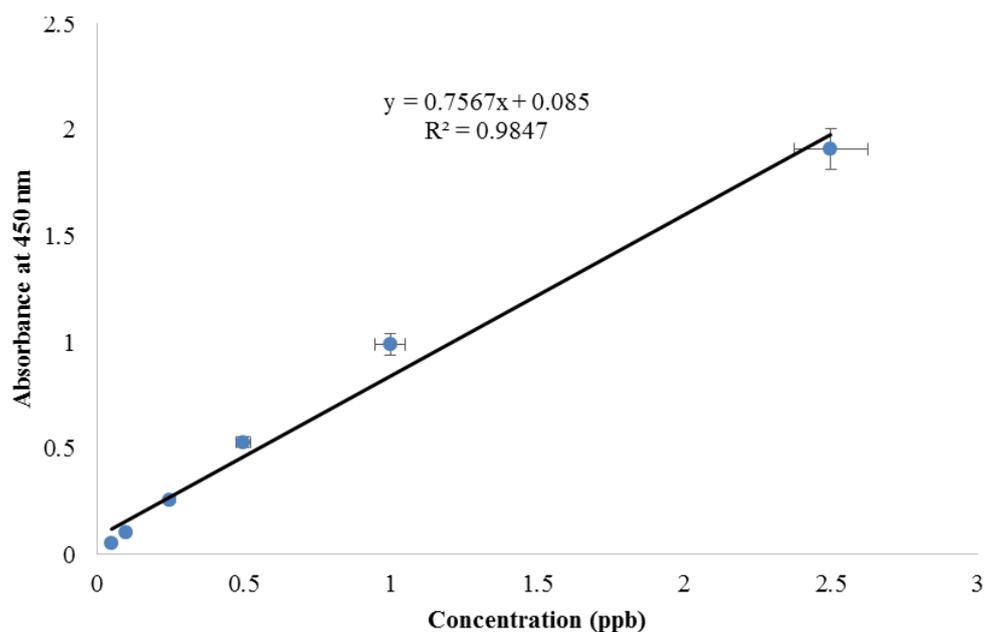


Fig.III.3. Courbe d'étalonnage du dépistage immunologique pour le TCS dans des échantillons de boues basés sur le kit Abraxis Triclosan. Le point de données individuel est présenté comme une moyenne de 3 mesures répliquées avec des barres d'erreur représentant les écarts types pour l'absorbance (axe des y) et la concentration de TCS (axe x).

Toutes les analyses de chromatographie en phase gazeuse ont été effectuées à l'aide du modèle 7820A GC équipé d'un modèle 5977E MSD et modèle G4513A ICES-001 Auto-échantillonneur (Chemetrix / Agilent, Durban, Afrique du Sud). L'analyse des données GC / MS a été réalisée sur le logiciel Masshunter (Chemetrix / Agilent, Durban, Afrique du Sud). Au cours de toutes les analyses, le GC / MS utilisé a été équipé d'une colonne GC capillaire HP-5MS (30 m × 0,25 mm i.d. × 0,25 µm l'épaisseur de film; Chemetrix / Agilent, Durban, Afrique du Sud). Pour les analyses chromatographiques et les séparations, il a été utilisé comme phase mobile en un débit de 1,5 mL / min (pureté > 99,999%; Afrox / Linde, Port Elizabeth, Afrique du Sud). La température de l'injecteur GC a été fixée à 300 °C, la ligne de transfert MSD étant réglée à 280 °C. La température de la source d'ions a été réglée à 230 °C et enfin l'analyseur quadruple a été chauffé à 150 °C.

La température du four GC a été initialement maintenue à 100 °C pendant 3 minutes, puis a augmenté à 200 °C avec une vitesse de 20 °C / min, puis à 280 °C avec une vitesse de 5 °C / min. Un microlitre de chaque échantillon a été injecté dans le mode sans division et le temps d'exécution total de l'analyse pour la GC était de 24 minutes (min). Les paramètres MS étaient: balayage complet, délai de solvant de 6 min et plage de balayage de 10-550 rapport masse / charge. Le temps de rétention de TCS obtenu était de 12,76 ± 0,013 min. Une courbe

d'étalonnage de puissance a été faite à l'aide du logiciel Microsoft Excel est illustré dans la figure III.4. Après la construction de la courbe d'étalonnage, la variabilité interjour, la variabilité intrajournalier, la précision et l'exactitude de la méthode GC / MS ont été déterminées (United Nations Office of Drugs and Crime, 2009). Pour la variabilité interjour, il a été déterminé pour une solution de TCS de 50 mg / L qui a été analysée dans les trois jours suivant la préparation. D'autre part, la variabilité intrajournalier a été déterminée pour 50 mg / L qui a été préparée et analysée pendant une période de 8 h. La variabilité intrajournalier et interjour était égale à 9,61% et 10,44%, respectivement. L'exactitude et la précision de la méthode ont été déterminées comme étant $120 \pm 12\%$ et $111 \pm 9\%$, respectivement.

La méthode standard externe a été choisie comme un effort pour obtenir une méthode reproductible avec une norme interne prouvée infructueuse. La quantité limitée d'échantillons de boues en provenance d'Algérie a forcé l'équipe de l'auteur à déterminer l'efficacité de l'extraction de TCS par épanchement et extraction de TCS des matières synthétiques modifiées (Wignarajah *et al.*, 2006). Cette matrice imite les vraies propriétés des matières fécales et a été considéré par les auteurs comme une matrice appropriée pour simuler la matrice des boues d'épuration. Le sable de la piscine a été ajouté pour augmenter l'augmentation de la taille des particules des matières fécales synthétiques. Le tableau III.1 montre la composition des matières fécales synthétiques. La composition des matières fécales synthétiques et des échantillons de boues d'épuration a été déterminée et comparée à la composition des boues de Grahamstown et de Tiaret. Les paramètres analysés comprenaient le pH, les concentrations de matière organique, les concentrations de NO_3^- , PO_4^{3-} poids sec et NH_4^+ . Les valeurs des paramètres des matières fécales synthétiques ont été déterminées dans les extraits d'eau MilliQ en utilisant les méthodes standard (American Public Health Association, 1998 ; Luyt, 2013). La valeur du pH des échantillons de boues et des matières fécales synthétiques a été mesurée dans une suspension 1:3 des particules dans l'eau MilliQ. La concentration en matière organique a été mesurée en tant que demande chimique en oxygène ou en perte d'allumage.

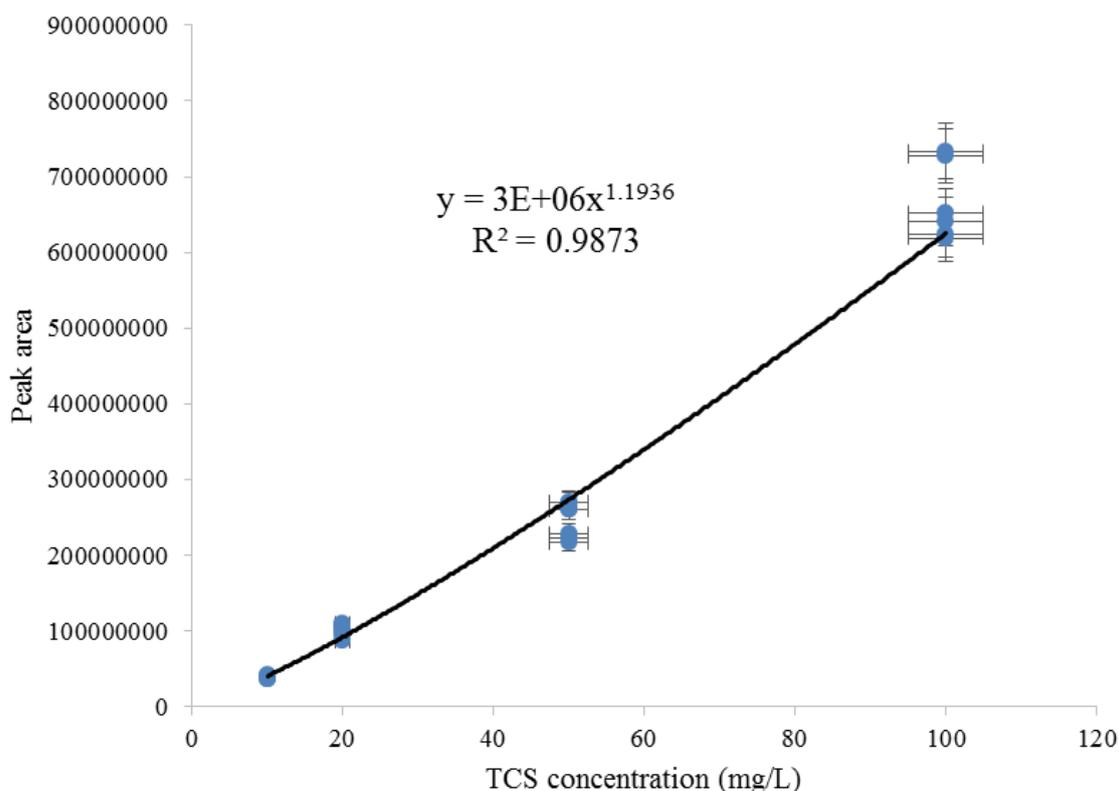


Fig.III.4. Étalonage du TCS à une concentration de 10-100 mg / L par GC / MS avec 5 injections répétées à chaque niveau de concentration.

Tableau III.2. Montre les composants utilisés dans la préparation des matières fécales synthétiques.

Composant	% Poids	Formule de travail (g)
Sable de métier à tisser	30	4.50
Acétate phtalate de cellulose	15	2.25
Polyéthylène glycol (PEG)	20	3.00
Psyllium	5	0.75
Huile de cacahuète	20	3.00
Miso	5	0.75
Carbonate de calcium	5	0.75
Légumes secs	50 mg	0.05 mg

Pour la détermination de l'efficacité d'extraction, 5 g de matières fécales synthétiques ont été pesés à l'aide de balance Pioneer™ PA2102 et ensuite transférés dans trois flacons (Erlenmeyer) séparés de 250 ml. À l'aide d'un cylindre gradué de 100 ml, 100 ml de 1 g/l de désoxycholate de sodium ont été ajoutés dans chaque flacon (Erlenmeyer) et ensuite, 20 µl de 15 g/l de solution TCS ont été pipetés dans chaque flacon (Erlenmeyer). L'extraction a ensuite été effectuée de la même manière que pour les échantillons de boues. L'efficacité d'extraction

de TCS à partir de matières fécales synthétiques a été calculée en utilisant l'équation (1) ci-dessous.

$$\text{Efficacité d'ext.} = \frac{\text{Quantité de TCS extraite des matières fécales synthétiques } (\frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \text{ dw})}{\text{Quantité théorique de TCS dans les matières fécales synthétiques } (\frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \text{ dw})} \times 100 \quad (1)$$

L'efficacité d'extraction de TCS à partir de matières fécales synthétiques était de $84 \pm 13\%$. L'efficacité d'extraction a été répétée 9 fois et 33% des répétitions étaient des résultats aberrants qui ont été omis des calculs (confirmé par le test de Dickson à un niveau de signification de 5%, valeur $p = 0,0001$). La raison la plus probable pour cette observation était la rétention du désoxycholique dans la doublure injecteur du système GC / MS. Cela pourrait avoir causé des problèmes de reproductibilité de l'efficacité d'extraction. Par conséquent, le changement régulier des doublures d'injecteur a été effectué lors des mesures des courbes d'étalonnage et des analyses des boues d'épuration pour maintenir les paramètres de la méthode indiquée ci-dessus. En utilisant la valeur déterminée de l'efficacité d'extraction, les concentrations de TCS dans les échantillons de boues sud-africaines et algériennes ont été calculées selon l'équation (2).

$$\text{Conc. de TCS dans la boue } (\frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \text{ dw}) = \frac{10 \text{ ml} \times \text{concentration de l'échantillon (à partir de la courbe cal.)}}{\text{efficacité d'extraction} \times 5 \text{ g} \times \text{poids sec}} \quad (2)$$

III.1.7. Résultats et discussion

Les deux échantillons de Grahamstown Afrique du Sud et Tiaret, en Algérie, ont donné un signal positif pour la présence de TCS dans l'analyse de la méthode immunologique. GC / MS a été exécuté en mode de balayage complet et la présence TCS indiquée par les kits Abraxis a été confirmée. Sur la base des résultats GC / MS, la concentration moyenne de TCS dans les boues d'épuration obtenues de Grahamstown, en Afrique du Sud, était égale à $140 \pm 33 \mu\text{g} / \text{g.d.w}$. La concentration de TCS dans les boues d'épuration obtenues de Tiaret (Algérie) variait de 0 à $12 \mu\text{g} / \text{g.d.w}$. L'une des explications possibles pour les valeurs des boues d'épuration de Tiaret était que la stratification de TCS dans cet échantillon.

Dans l'étude menée par [Smith \(2009\)](#), la concentration moyenne de TCS des boues d'épuration était égale à $551 \pm 61 \mu\text{g} / \text{g.d.w}$. D'autre part, [Butler et al. \(2012\)](#) a mesuré les concentrations de TCS dans les échantillons de boues allant de 11 à $28 \mu\text{g} / \text{g.d.w}$. Par conséquent, les concentrations de TCS mesurées dans cette étude sont comparables ou inférieures aux valeurs de la littérature pour les boues d'épuration. Les différences dans les concentrations de TCS entre les boues d'épuration en Afrique du Sud et en Algérie sont probablement le résultat des différences de taille des populations des deux villes où les

échantillons de boues ont été prélevés, ainsi que des différents taux d'utilisation du produit contenant le TCS au niveau des ménages (Butler *et al.*, 2012).

La composition chimique des matières fécales synthétiques et des échantillons de boues en provenance d'Afrique du Sud et d'Algérie figure dans le tableau III.3.

Comme on peut le voir dans le tableau III.3, la composition des matières fécales synthétiques et des boues d'épuration des eaux usées était différente pour les concentrations de nitrates, d'ammonium et de phosphates. Toutefois, ces ions auront peu d'effet sur le sort des TCS dans les échantillons de boues. Le composant principal qui aura une influence sur la rétention de TCS et l'efficacité d'extraction sera la matière organique. Comme on peut le voir dans le tableau III.3, les concentrations de matière organique dans les deux échantillons de boues sont comparables, tandis que la concentration en matière organique était plus élevée dans les matières fécales synthétiques par rapport aux échantillons de boues d'épuration. L'efficacité d'extraction a été mesurée sur les matières fécales synthétiques fraîchement pointues, tandis que les échantillons de boues d'épuration ont été vieillis du point de vue de rétention de TCS. Par conséquent, on peut s'attendre à ce que l'extraction du TCS à partir de matières fécales synthétiques soit inférieure ou comparable à l'efficacité d'extraction réelle de TCS provenant des échantillons sud-africains et algériens de boues d'épuration.

Tableau III.3. Concentration de nitrates, de phosphates et d'ammonium dans les matières fécales synthétiques.

Paramètre	Boues d'épuration de Grahamstown	Boues d'épuration de Tiaret	Matières fécales synthétiques modifiées
NO_3^- (mg/g.d.w.)	58	2.6	1.6
NH_4^+ (mg/g.d.w.)	6.6	0.6	2.0
PO_4^{3-} (mg/g.d.w.)	1.4	0.2	3.7
MO (%)	1.3	1.5	12
pH	6.66	8.18	6.20

2^{ème} partie : Efficacité du traitement des eaux usées par un mélange de boues et de micro-algues.

Toujours dans le cadre du même projet, dans cette partie on fait une étude sur l'efficacité du traitement des eaux usées on utilisant les micro-algues et des mélanges de boues et de micro-algues.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de différents rapports d'inoculation entre les micro-algues et les boues activées, le traitement des eaux usées et l'évolution de certains paramètres tels que le phosphate, le nitrate, l'ammonium et la demande chimique en oxygène, en fonction de l'élimination la cinétique et la dose utilisée, afin de définir la meilleure valeur pour la performance.

III.2.1. Matériels et méthodes

III.2.1.1. Caractéristiques des micro-algues utilisées dans les bioréacteurs

Les micro-algues utilisés dans cette étude proviennent de l'étang d'algues à haut débit (HRAP) qui fait partie du système intégré d'étangs d'algues (IAPS) pour le traitement des eaux usées construit à l'Université de Rhodes, la station expérimentale de biotechnologie environnementale, Grahamstown, révèle une diversité de micro flore et faune (figure III.5) (Johnson, 2010).

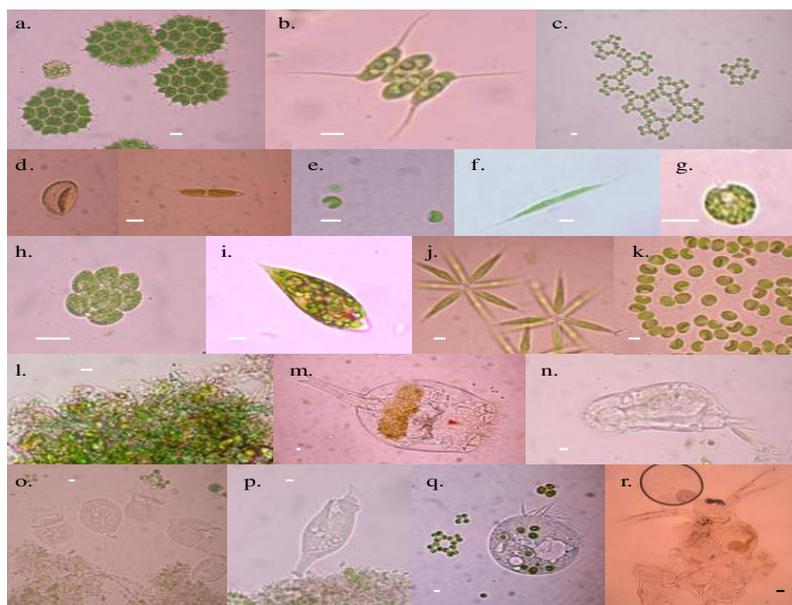


Fig.III.5. La microflore et la faune, présentes dans les échantillons d'eau des étangs d'oxydation des algues à haut débit traitant les eaux usées domestiques. Micro-algues: *a.Pediastrum*, *b. Scenedesmus*, *c.Micractinium*, *d. Diatoms*, *e. Chlorella*, *f.Closterium*, *g.Chlamydomonas*, *h.Pyrobotrys*, *i. Euglena*, *j.Actinastrum*, *k.Dictyosphaerium*, *l. Blue greens*. Zooplankton: *m.Brachionus*, *n.Lecane*, *o.Conochilus*, *p.Philodina*, *q.Cyclidium*, *r.Daphnia*. White scale bar is 5 µm (for microalgae and rotifers) and black scale bar is 50 µm (for Daphnia).

III.2.1.2. Caractéristiques des boues utilisées dans les bioréacteurs

Les caractéristiques physicochimiques des boues sont présentées dans le tableau III.4. Les concentrations de NO_3^- -N, PO_4^{3-} -P et NH_4^+ -N ont été déterminées comme indiqué dans la section Méthodes analytiques. Énumérations de *Escherichia coli* (désignée comme *E. coli*) sous forme d'unités formant des colonies par 100 ml (UFC / 100 ml) dans tous les échantillons a été réalisée en utilisant la technique de filtration sur membrane sur la gélose m-TEC Hi-Chrome (Sigma-Aldrich) (Tandlich et al., 2014). Les filtres utilisés étaient les filtres à membrane stériles Pall-Gelman GN-6 Metrical (taille des pores de 0,45 μm , diamètre 47 mm). La présence de bactéries hétérotrophes (HPC) dans la boue a été déterminée en utilisant la méthode de la plaque de propagation sur la gélose R2A (Sigma-Aldrich). Les dilutions ont été effectuées dans une solution saline physiologique stérile (Whittington-Jones et al., 2011). Les incubations pour les énumérations HPC ont été effectuées à 35 ° C pendant 48 heures. Le pH et la conductivité électrique (EC) ont été mesurés à l'aide d'un pH-mètre et d'un conductimètre (HANNA) respectivement.

Tableau III.4. Caractéristiques des boues utilisées dans l'expérience.

Paramètres physico-chimiques et bactériologiques	Valeurs
Conductivité électrique CE (mS/cm)	4.7±0.1
Nitrate (mg/g.d.w)	2.6
Phosphate(mg/g.d.w)	0.2
Ammonium (mg/g.d.w)	0.6
Matière organique (%)	44.8±16
pH	8.04±0.20
Concentration de bactérie <i>E. Coli</i> CFU/g d.w.	7769 ± 1268
Concentration de bactéries hétérotrophes CFU/g d.w.	1.43x10 ⁹ ± 9.11x10 ⁸

III.2.1.3. Préparation des bioréacteurs

Les tests de traitement des eaux usées ont été réalisés dans cinq photo-bioréacteurs, fabriqués en verre transparent d'une capacité volumique de 15 litres, à température ambiante (environ 23 ° C). Le volume total de liquide dans le bioréacteur est de 14 litres (environ 25 cm de profondeur). L'inoculum de microalgues a été recueilli à partir du Système intégré d'étangs d'algues (IAPS) situé à l'Institut de biotechnologie environnementale de l'Université de Rhodes (EBRU). Les caractéristiques opérationnelles de l'IAPS ont été décrites avant (Mambo et al., 2014). Les systèmes de micro-algues-boues ont été mis en place selon une

approche similaire à celle de (Su et al., 2012). L'inoculum de micro-algues collecté a d'abord été stabilisé pendant 3 h, puis les solides sédimentés ont été utilisés comme inoculum de micro-algues. Les boues aérobies activées provenant de la station d'épuration des eaux usées de Tiaret-Algérie ont été utilisées comme inoculum de bactéries. Le solide total suspendu (TSS) des inoculums initiaux de micro-algues et des inoculations initiales de boues activées était de 8 g / l. Les cinq bioréacteurs ont été remplis avec des inoculums d'algues 1200, 1090.9, 1000, 600 et 200 ml et des inoculums de boues activées de 0, 109.1, 200, 600 et 1000 ml, pour obtenir les rapports algues / boues suivants, respectivement: 100% algues (bioréacteur B1), 90.90% / 9.10% (bioréacteur B2); 83,33% / 16,67% (bioréacteur B3); 50% / 50% (bioréacteur B4) et 16,67% / 83,33% (bioréacteur B5). Le volume total d'inoculum finalement obtenu dans le bioréacteur était de 1,2 litre. Le volume total du contenu de chaque bioréacteur a été fait à 14 litres avec addition de 12,8 litres d'eaux usées. La caractérisation des eaux usées était de: COD: 1417.80 ± 13.11 mg O₂ / l, NH₄-N: 134.13 ± 0.48 mg / l, PO₄-P: 5.49 ± 0.02 mg / l, NO₃-N: 196.09 ± 4.1 mg / l. Une agitation constante a été maintenue à l'aide d'une pompe à air pour éviter la sédimentation des algues. Tous les bioréacteurs ont été éclairés avec deux lampes technologiques SQI LED T8 tube vert, avec un cycle 12 h lumière - 12h noir. Les expériences ont été effectuées à une intensité lumineuse d'environ 380 lx (mesurée au sommet de la surface du liquide à l'aide du lux mètre LX101 LUX. Les échantillons des eaux usées traitées ont été retirés des bioréacteurs toutes les 24 heures pendant 12 jours.

III.2.1.4. Méthodes analytiques

Les kits utilisés pour l'analyse chimique des eaux usées et des boues ont été achetés auprès de Merck Pty. Ltd. Des analyses chimiques ont été effectuées comme indiqué par (Ngqwala et al., 2015). Les mesures spectrophotométriques ont été effectuées à l'aide du spectrophotomètre UV / VIS SHIMADZU 1240.

Dans chaque bioréacteur, les paramètres chimiques suivants ont été mesurés: la demande chimique en oxygène (DCO), les concentrations d'ammonium NH₄⁺-N, nitrate NO₃⁻-N et phosphate PO₄³⁻-P. Les échantillons ont été filtrés par des filtres Whatman (0,45 µm). Tous les poids ont été déterminés à l'aide d'une balance analytique Pionner TM PA214 ou de la balance PA2102. Le pH de tous les échantillons a été mesuré à l'aide du pH-mètre Crimson), étalonné à pH 4,0, pH 7,0 et pH 10 en utilisant des tampons standard.

III.2.1.5. Analyses statistiques

Le traitement statistique a été effectué, en utilisant le logiciel: STATISTICA version.12. Une Anova factorielle a été utilisée pour étudier l'effet du temps de purification, du bioréacteur et l'interaction bioréacteur-temps de purification sur les différents paramètres mesurés. Une valeur de p inférieure à 0,05 a été considérée comme statistiquement significative.

III.2.2. Résultats et discussion

III.2.2.1. Effet du mélange de micro-algues / boues activées sur différents paramètres

Dans l'objectif d'étudier l'évolution des rendements et des teneurs: PO₄-P, NH₄-N, NO₃-N et DCO, chez les bioréacteurs ayant des taux d'inoculation différents. Les pourcentages de rendements calculés sont présentés dans la figure III.6 pour tous les paramètres mesurés dans les bioréacteurs. Les résultats détaillés obtenus et la discussion sont traités au cas par cas, en tenant compte du test factoriel Anova et du paramètre de corrélation - temps de purification (de la fig. III.7 à la fig. III.10).

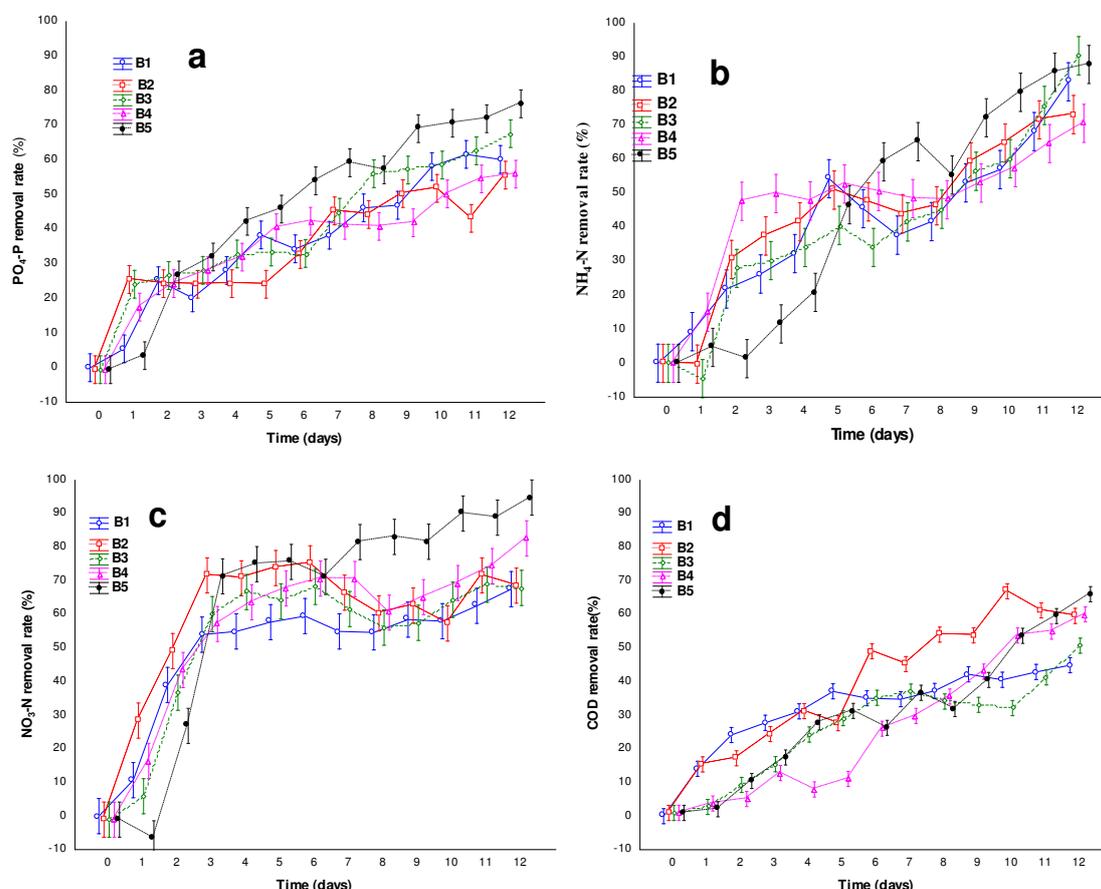


Fig.III.6. Efficacité d'élimination de PO₄-P, NH₄-N, NO₃-N et de DCO dans les bioréacteurs pendant le temps de fonctionnement.

a) Effet sur les phosphates PO₄-P

L'évolution de la concentration de PO₄-P dans les cinq bioréacteurs est illustrée dans la fig.III.7. Les teneurs en phosphates sont corrélées négativement avec le temps de purification, dans tous les bioréacteurs. Les teneurs en phosphates ont été réduites de $5,49 \pm 0,02$ mg / l, à l'état initial, à $1,29 \pm 0,02$ mg / l, au 12^{ème} jour, avec un rendement de 76,36% dans le bioréacteur 5, contre 60,39% dans le bioréacteur 1 contenant seulement des algues ($r = -0,94$ ***). Néanmoins, les bioréacteurs 2, 3 et 4 ont des rendements de: 55,87%, 67,77% et 56,15% respectivement (fig.III.6a) et $r = -0,98$ ***, $r = -0,94$ *** et $r = -0,93$ ** * respectivement. **Su et al. (2012)** ont trouvé un faible rendement de retrait dans le bioréacteur qui ne contient que les algues, un rendement de 54,4%, en raison du faible rendement de l'élimination du phosphore dans le bioréacteur; Ceci est dû à l'inhibition de la lumière entre les cellules d'algues, ce qui a entraîné une faible croissance des algues autotrophes. Comme, la seule source de CO₂ est l'air et en l'absence du partenaire principal de l'apport de CO₂ (la boue), la photosynthèse des algues, peut également être co-limitée par le CO₂. Les bactéries hétérotrophes ont la capacité de décomposer le phosphore organique (**Mudryk et al., 2015**), ce qui explique le rendement élevé dans le bioréacteur 5. **Liao et Dawson (1975)** et **Uba et al. (1995)** ont montré que les eaux usées sont riches en microorganismes tels que : Acinetobacter, Alcaligenes, Flavobacterium et Psodomonas prédominant. **Fuhs et Chen (1975)** ont identifié, les Acinetobacters comme le genre bactérien responsable principalement de la réduction du phosphore.

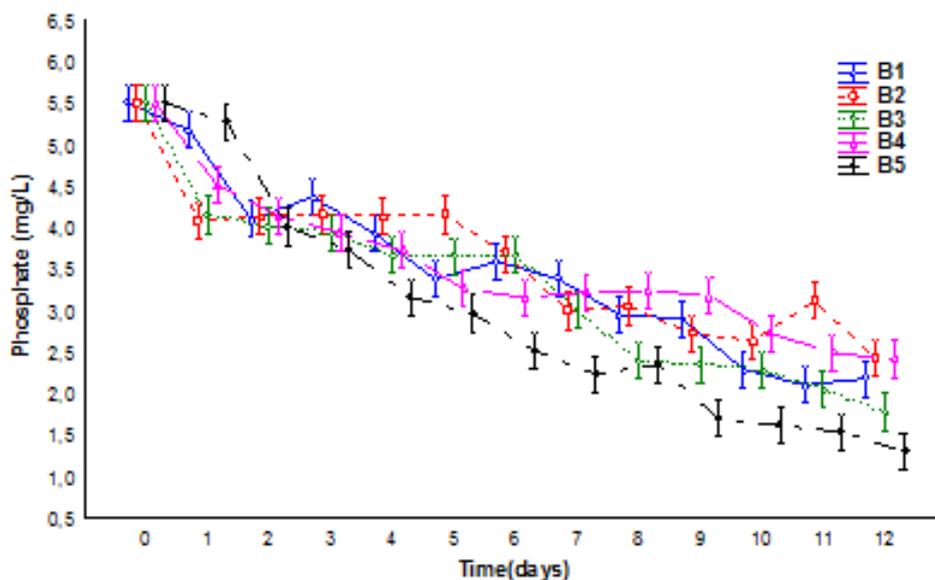


Fig.III.7. Évolution de la concentration de PO₄-P dans les bioréacteurs selon le temps de purification.

b) Effet sur l'ammonium $\text{NH}_4\text{-N}$

La variation de la concentration de $\text{NH}_4\text{-N}$ selon le temps dans les cinq bioréacteurs est représentée dans la fig.III.8. Des corrélations significatives ont également été enregistrées entre le temps de purification et la teneur d'Ammonium dans les cinq bioréacteurs. Nous avons noté une diminution, de $134,13 \pm 0,48$ mg / l, dans l'effluent, à $12,84 \pm 1,18$ dans le bioréacteur 3 ($r = -0,94$ ***) et $16,28 \pm 0,79$ mg / l dans le bioréacteur 5 ($r = -0,96$ ***), le dernier jour, avec les meilleurs rendements de 90,42% et 87,86% respectivement. Des rendements importants ont également été observés dans les bioréacteurs 1, 2 et 4: 82,78%; 73,13% et 70,54% (fig.III.6b) et ($r = -0,92$ ***, $r = -0,88$ ***, $r = -0,97$ ***) respectivement. Ces résultats ont été confirmés par [Su et al. \(2012\)](#), qui ont souligné que l'efficacité d'élimination du $\text{NH}_4\text{-N}$ était d'environ 99%, pour un mélange d'algues et de boues activées (taux d'inoculation 5: 1), d'autre part, lorsqu'ils utilisaient les algues seules ou la boue activée seule; Les rendements sont de l'ordre de 52% et 14% respectivement. Ceci indique que l'élimination du $\text{NH}_4\text{-N}$ peut être augmentée par co-culture d'algues avec les bactéries.

Le meilleur rendement dans le bioréacteur 3 semble influencé par son taux d'inoculation approprié qui favorise la coopération entre les algues et les boues activées, comme l'ont découvert [Su et al. \(2012\)](#).

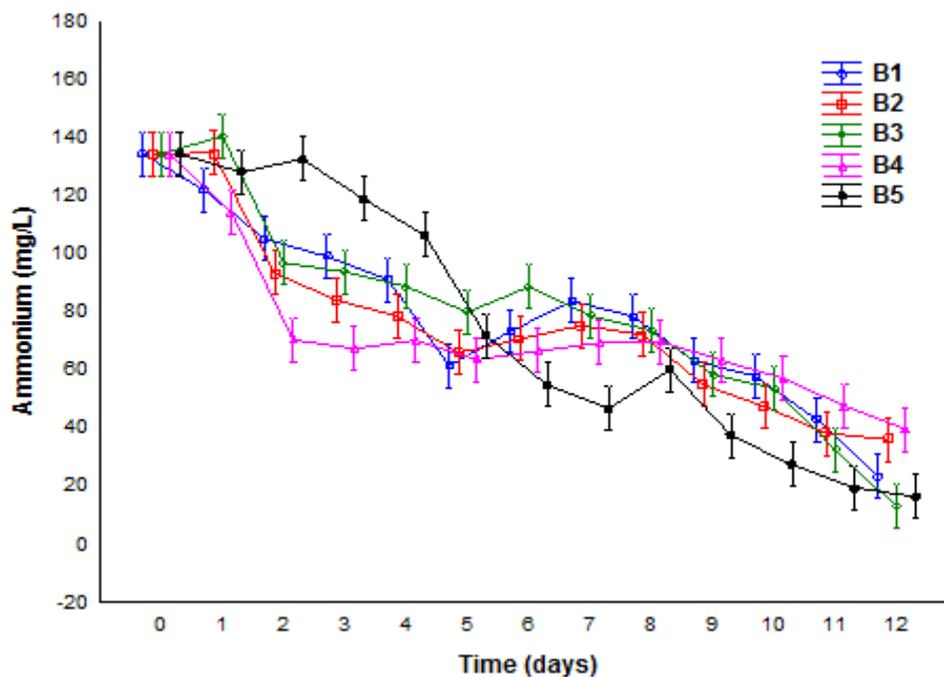


Fig.III.8. Évolution de la concentration de $\text{NH}_4\text{-N}$ avec le temps de purification dans les bioréacteurs.

c) Effet sur les nitrates NO₃-N

La baisse des concentrations de nitrates dans les cinq bioréacteurs peut certainement être expliquée par son utilisation par les micro-algues (fig.III.9). Une corrélation significativement négative a été enregistrée. Une diminution a été très remarquable, de 196,09 ± 4,01 mg / l, dans l'effluent à 9,99 ± 1,11 mg / l après 12 jours, dans le bioréacteur 5, un rendement de 94,90% ($r = -0,83$ ***). En outre, un rendement important est attribué au bioréacteur 4, de l'ordre de 82,85% ($r = -0,80$ ***). Pour les bioréacteurs 2 et 3, les valeurs enregistrées sont 68,93% et 68,26%, et $r = -0,58$ ***, $r = -0,72$ *** respectivement. (fig.III.6c).

La diminution des concentrations de nitrate étant le résultat du fonctionnement des bactéries, comme pour le NH₄-N abondant, qui existe dans les eaux usées et qui est éliminé par ce dernier (He et al., 2013). Les bactéries ont également absorbé les nitrates NO₃-N pour favoriser la croissance individuelle lorsqu'une matière organique suffisante est disponible, ce qui entraîne une diminution du NO₃-N dans la phase initiale, et progressivement à mesure que la matière organique diminue, le métabolisme des bactéries commence à ralentir, en raison de l'épuisement des sources d'énergie, après les concentrations de nitrate sont restés à un niveau constant (He et al., 2013), ce que nous voyons clairement dans la figure III.9. Ruiz et al. (2011) constatent également que les micro-algues utilisent facilement l'ammonium NH₄-N lorsque les deux éléments: NH₄-N et NO₃-N coexistent à la fois dans le milieu, car les enzymes nécessaires à la réduction des nitrates sont désactivées par le processus d'assimilation d'ammonium, alors qu'après l'élimination du NH₄-N dans les eaux usées, les micro-algues commencent à utiliser des nitrates, ce qui provoque une diminution rapide et une élimination finale de ce dernier.

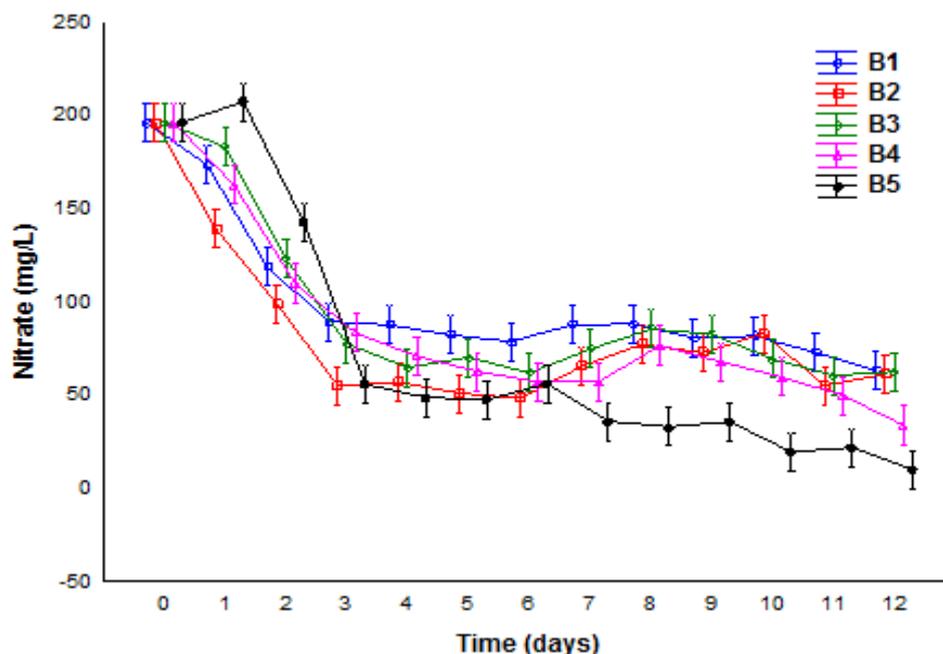


Fig.III.9. Évolution de la concentration de $\text{NO}_3\text{-N}$ dans les bioréacteurs en fonction du temps.

d) Effet sur la demande chimique en oxygène DCO

La DCO représente la quantité d'oxygène consommée par la matière chimiquement oxydable contenue dans l'eau. Il est représentatif de la majorité des composés organiques oxydables.

Les changements de DCO avec le temps dans les cinq bioréacteurs sont présentés dans la figure III.10; la DCO est corrélée négativement avec le temps de traitement, pour tous les bioréacteurs. Le meilleur rendement est enregistré dans le B5, la DCO diminue de $1417,8 \pm 13,1 \text{ mg O}_2/\text{l}$, à $485,8 \pm 14,0 \text{ mg O}_2/\text{l}$, au dernier jour, le taux d'élimination est 65,73%, ce qui indique l'importance de la coopération entre les algues et la boue activée ($r = -0,96$ ***).

Le rendement le plus bas a été obtenu dans le bioréacteur 1 contenant seulement des algues. La DCO a diminué de $1417,8 \pm 13,1 \text{ mg O}_2/\text{l}$ dans l'effluent à $788,46 \pm 25,00 \text{ mg O}_2/\text{l}$ après 12 jours, un rendement de 44,38% ($r = -0,89$ ***). Cette faible performance s'explique par l'absence de boues qui améliore la dégradation du carbone organique, nécessitant une teneur élevée en oxygène pour remplir ce procédé. Des études ont montré que les bactéries peuvent décomposer le complexe organique sur de petites molécules telles que des nutriments à utiliser par les algues (Zhang *et al.*, 2012). Les micro-algues ont fourni de l'oxygène par photosynthèse à des bactéries hétérotrophes aérobies pour minéraliser les polluants organiques (Mahapatra *et al.*, 2013).

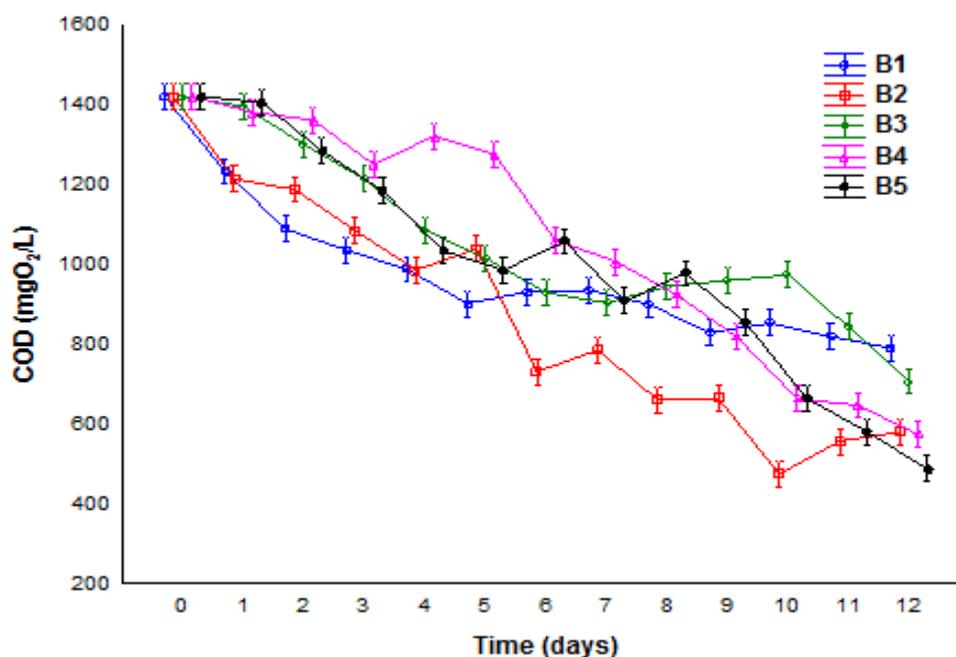


Fig.III.10. Évolution de la concentration de DCO dans les bioréacteurs en fonction de temps.

III.2.2.2. Interaction bioréacteur - temps de purification

Dans la figure III.11, nous notons un test très significatif pour l'interaction bioréacteur - temps de purification ($p = 0.000$). Les niveaux d'ammonium, de DCO, de nitrate et de phosphate sont plus élevés au premier jour d'échantillonnage. Ils ont atteint des valeurs faibles le 12^{ème} jour. La dégradation de ces paramètres semble être importante dans le bioréacteur 5 où l'efficacité de purification est élevée.

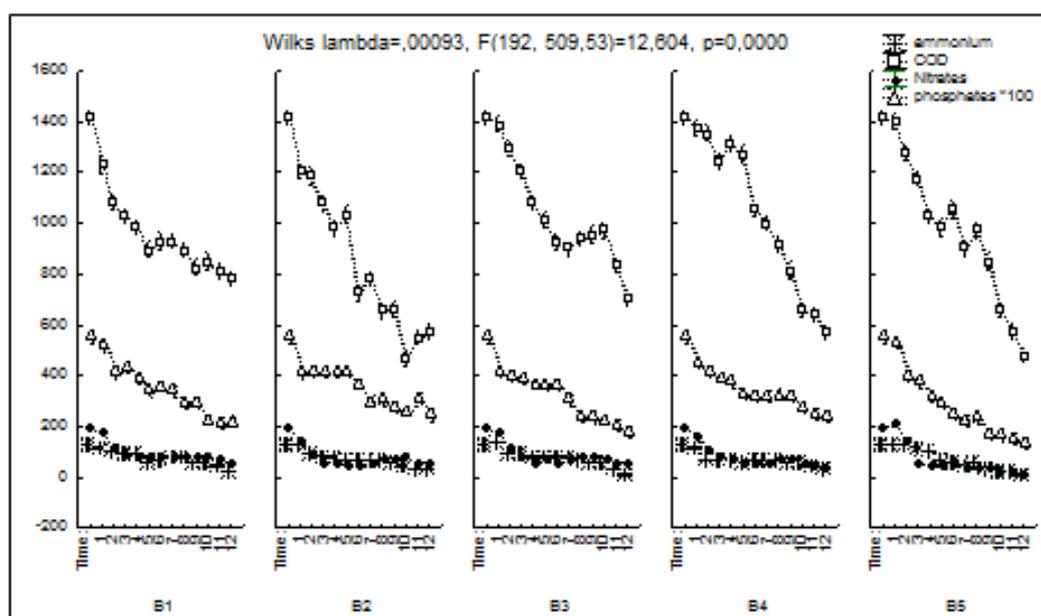


Fig.III.11. Effet du temps de purification, du bioréacteur et de l'interaction temps-bioréacteur sur les différents paramètres.

III.2.2.3. Évolution du pH en fonction du temps de purification dans les cinq bioréacteurs

Le changement de pH des bioréacteurs inoculés avec différents rapports algues / boues activées est présenté sur la figure III.12. Le rôle du pH est un facteur décisif pour la croissance des microorganismes dans un milieu aquatique; la croissance de la plupart des microorganismes qui y vivent est affectée par le pH acide. La figure III.12 montre une tendance acide enregistrée pendant les premiers jours pour tous les bioréacteurs.

Seulement à partir du 5^{ème} jour que les valeurs de pH ont tendance à augmenter. En effet, le meilleur rendement d'élimination est enregistrée pour les 5 bioréacteurs à pH varie entre 8 et 9 pour tous les paramètres, comme il a été trouvé par [Ma et al. \(2014\)](#) . Les bons rendements ont été obtenus à un pH supérieur à 8 avec différents ratio initiaux d'algues. Ce facteur est considéré comme l'indicateur de plusieurs activités biochimiques, dont la photosynthèse et la biodégradation de la matière organique, les valeurs élevées de pH sont attribuées à des taux photosynthétiques plus élevés d'algues ([Mahapatra et al., 2013](#)). De nombreux facteurs peuvent affecter le pH des bioréacteurs, comme la croissance des microalgues (augmentation du pH résultant de l'absorption de CO₂), la nitrification du NH₄-N (le pH diminue en raison de la libération de H⁺) et l'excrétion d'acide ou de base métabolite provenant de la biodégradation de la matière organique et du CO₂ libéré par la respiration ([González et al., 2008](#)).

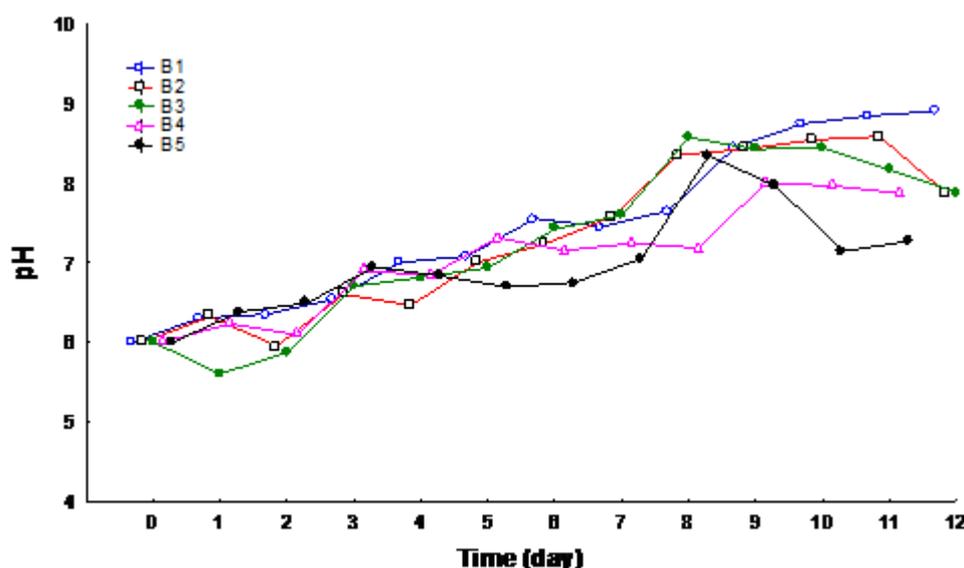


Fig.III.12. Évolution du pH en fonction de temps de purification dans les bioréacteurs.

Conclusion

Les résultats de la première partie de cette étude indiquent que le TCS a été détecté dans les échantillons de boues d'épuration d'Afrique du Sud et d'Algérie. Les résultats obtenus devraient être considérés comme préliminaires car un nombre limité d'échantillons a été traité. D'autres études devront être menées sur les taux d'utilisation des produits contenant du TCS dans les deux pays, ainsi que la caractérisation plus large des concentrations de TCS dans les boues d'épuration. Le dépistage peut être basé sur les tests immunologiques avec des kits Abraxis, alors que la quantification devrait être effectuée en utilisant GC / MS.

Les résultats de la deuxième partie montrent que le système de micro-algues-bactéries joue un rôle très important dans le traitement des eaux usées, en particulier pour l'élimination des nutriments tels que: le nitrate, le phosphate, l'ammonium et la DCO. Les teneurs en ammonium, en DCO, en nitrates et en phosphates sont plus élevés dans les premiers jours d'expérimentation. Ils atteignent des valeurs faibles au 12^{ème} jour. Dans le bioréacteur 1, qui ne contient que des micro-algues, nous notons des rendements d'élimination faibles de l'ordre de 60,39%, 82,78%, 44,38% et 67,90% pour les phosphates, l'ammonium, la DCO et le nitrate, respectivement, par rapport aux autres bioréacteurs ayant un rapport d'inoculation différent de micro-algues / boues activées. Le B5 est classé comme meilleur bioréacteur (16,67% de micro-algues / 83,33% de boues activées), ce qui donne une très bonne efficacité de traitement, avec des rendements très importants: 76,36% de phosphates ont été éliminés, 87,86% d'ammonium, 65,73% de DCO et 94,90 % de nitrates. Les résultats obtenus dans cette étude peuvent confirmer les performances purifiantes de la combinaison des boues activées et des micro-algues, pour la réduction de la matière organique et des nutriments.

Les résultats des deux parties font l'objet de deux publications dans des revues reconnues internationales, les deux publications sont dans l'annexe à la fin de la thèse.

Références

- Adolfsson-Erici, M., Pettersson, M., Parkkonen, J., Sturve, J., 2002. Triclosan, a commonly used bactericide found in human milk and in the aquatic environment in Sweden. *Chemosphere* 46, 1485–1489.
- Andrade, N.A., Lozano, N., McConnell, L.L., Torrents, A., Rice, C.P., Ramirez, M., 2015. Long-term trends of PBDEs, triclosan, and triclocarban in biosolids from a wastewater treatment plant in the Mid-Atlantic region of the US. *Journal of hazardous materials* 282, 68–74.
- Association, A.P.H., Association, A.W.W., others, 1998. Standard methods for examination of water and wastewater, in: *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*. APHA.
- Bester, K., 2003. Triclosan in a sewage treatment process—balances and monitoring data. *Water Research* 37, 3891–3896.
- Bester, K., 2005. Fate of triclosan and triclosan-methyl in sewage treatment plants and surface waters. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 49, 9–17.
- Butler, E., Whelan, M.J., Sakrabani, R., Van Egmond, R., 2012. Fate of triclosan in field soils receiving sewage sludge. *Environmental pollution* 167, 101–109.
- Canosa, P., Morales, S., Rodriguez, I., Rubi, E., Cela, R., Gomez, M., 2005. Aquatic degradation of triclosan and formation of toxic chlorophenols in presence of low concentrations of free chlorine. *Analytical and bioanalytical chemistry* 383, 1119–1126.
- Chen, X., Nielsen, J.L., Furgal, K., Liu, Y., Lolas, I.B., Bester, K., 2011. Biodegradation of triclosan and formation of methyl-triclosan in activated sludge under aerobic conditions. *Chemosphere* 84, 452–456.
- Chu, S., Metcalfe, C.D., 2007. Simultaneous determination of triclocarban and triclosan in municipal biosolids by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1164, 212–218.
- Coogan, M.A., Edziyie, R.E., La Point, T.W., Venables, B.J., 2007. Algal bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyl-triclosan in a North Texas wastewater treatment plant receiving stream. *Chemosphere* 67, 1911–1918.
- Coogan, M.A., Point, T.W.L., 2008. Snail bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyltriclosan in a North Texas, USA, stream affected by wastewater treatment plant runoff. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27, 1788–1793.
- Dayan, A.D., 2007. Risk assessment of triclosan [Irgasan®] in human breast milk. *Food and chemical toxicology* 45, 125–129.
- DeLorenzo, M.E., Fleming, J., 2008. Individual and mixture effects of selected pharmaceuticals and personal care products on the marine phytoplankton species *Dunaliella tertiolecta*. *Archives of environmental contamination and toxicology* 54, 203–210.
- Dhillon, G.S., Kaur, S., Pulicharla, R., Brar, S.K., Cledón, M., Verma, M., Surampalli, R.Y.,

2015. Triclosan: current status, occurrence, environmental risks and bioaccumulation potential. *International journal of environmental research and public health* 12, 5657–5684.
- Drugs, U.N.O. on, Laboratory, C., Section, S., 2009. *Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment Used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens: A Commitment to Quality and Continuous Improvement*. United Nations Publications.
- Fair, P.A., Lee, H.-B., Adams, J., Darling, C., Pacepavicius, G., Alae, M., Bossart, G.D., Henry, N., Muir, D., 2009. Occurrence of triclosan in plasma of wild Atlantic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) and in their environment. *Environmental Pollution* 157, 2248–2254.
- Farré, M., Asperger, D., Kantiani, L., González, S., Petrovic, M., Barceló, D., 2008. Assessment of the acute toxicity of triclosan and methyl triclosan in wastewater based on the bioluminescence inhibition of *Vibrio fischeri*. *Analytical and bioanalytical chemistry* 390, 1999–2007.
- Fuhs, G.W., Chen, M., 1975. Microbiological basis of phosphate removal in the activated sludge process for the treatment of wastewater. *Microbial Ecology* 2, 119–138.
- Gatidou, G., Thomaidis, N.S., Stasinakis, A.S., Lekkas, T.D., 2007. Simultaneous determination of the endocrine disrupting compounds nonylphenol, nonylphenol ethoxylates, triclosan and bisphenol A in wastewater and sewage sludge by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1138, 32–41.
- Gómez, M.J., Agüera, A., Mezcua, M., Hurtado, J., Mocholí, F., Fernández-Alba, A.R., 2007. Simultaneous analysis of neutral and acidic pharmaceuticals as well as related compounds by gas chromatography–tandem mass spectrometry in wastewater. *Talanta* 73, 314–320.
- González, C., Marciniak, J., Villaverde, S., León, C., García, P.A., Muñoz, R., 2008. Efficient nutrient removal from swine manure in a tubular biofilm photo-bioreactor using algae-bacteria consortia. *Water Science and Technology* 58, 95.
- Halden, R.U., Paull, D.H., 2005. Co-occurrence of triclocarban and triclosan in US water resources. *Environmental Science & Technology* 39, 1420–1426.
- He, P.J., Mao, B., Lü, F., Shao, L.M., Lee, D.J., Chang, J.S., 2013. The combined effect of bacteria and *Chlorella vulgaris* on the treatment of municipal wastewaters. *Bioresource technology* 146, 562–568.
- Heath, R.J., Rubin, J.R., Holland, D.R., Zhang, E., Snow, M.E., Rock, C.O., 1999. Mechanism of triclosan inhibition of bacterial fatty acid synthesis. *Journal of Biological Chemistry* 274, 11110–11114.
- Heidler, J., Halden, R.U., 2007. Mass balance assessment of triclosan removal during conventional sewage treatment. *Chemosphere* 66, 362–369.
- Hoang, T.T., Schweizer, H.P., 1999. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* enoyl-acyl carrier protein reductase (FabI): a target for the antimicrobial triclosan and its role in acylated homoserine lactone synthesis. *Journal of bacteriology* 181, 5489–5497.

- Hua, W., Bennett, E.R., Letcher, R.J., 2005. Triclosan in waste and surface waters from the upper Detroit River by liquid chromatography-electrospray-tandem quadrupole mass spectrometry. *Environment international* 31, 621–630.
- Hyland, K.C., Dickenson, E.R., Drewes, J.E., Higgins, C.P., 2012. Sorption of ionized and neutral emerging trace organic compounds onto activated sludge from different wastewater treatment configurations. *Water research* 46, 1958–1968.
- James, M.O., Li, W., Summerlot, D.P., Rowland-Faux, L., Wood, C.E., 2010. Triclosan is a potent inhibitor of estradiol and estrone sulfonation in sheep placenta. *Environment international* 36, 942–949.
- Jang, H.-J., Chang, M.W., Toghrol, F., Bentley, W.E., 2008. Microarray analysis of toxicogenomic effects of triclosan on *Staphylococcus aureus*. *Applied microbiology and biotechnology* 78, 695–707.
- Johnson, H., 2010. Co-utilisation of Microalgae for Wastewater Treatment and the Production of Animal Feed Supplements.
- Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., 2009. The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. *Water research* 43, 363–380.
- Kolpin, D.W., Furlong, E.T., Meyer, M.T., Thurman, E.M., Zaugg, S.D., Barber, L.B., Buxton, H.T., 2002. Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in US streams, 1999- 2000: A national reconnaissance. *Environmental science & technology* 36, 1202–1211.
- Lawrence, J.R., Zhu, B., Swerhone, G.D.W., Roy, J., Wassenaar, L.I., Topp, E., Korber, D.R., 2009. Comparative microscale analysis of the effects of triclosan and triclocarban on the structure and function of river biofilm communities. *Science of the Total Environment* 407, 3307–3316.
- Levy, C.W., Roujeinikova, A., Sedelnikova, S., Baker, P.J., Stuitje, A.R., Slabas, A.R., Rice, D.W., Rafferty, J.B., 1999. Molecular basis of triclosan activity. *Nature* 398, 383–384.
- Liao, C.-H., Dawson, R.N., 1975. Microbiology of two-stage Kraft waste treatment. *Journal (Water Pollution Control Federation)* 2384–2396.
- Lindström, A., Buerge, I.J., Poiger, T., Bergqvist, P.-A., Müller, M.D., Buser, H.-R., 2002. Occurrence and environmental behavior of the bactericide triclosan and its methyl derivative in surface waters and in wastewater. *Environmental science & technology* 36, 2322–2329.
- Liu, F., Ying, G.-G., Yang, L.-H., Zhou, Q.-X., 2009. Terrestrial ecotoxicological effects of the antimicrobial agent triclosan. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 72, 86–92.
- Lores, M., Llompart, M., Sanchez-Prado, L., Garcia-Jares, C., Cela, R., 2005. Confirmation of the formation of dichlorodibenzo-p-dioxin in the photodegradation of triclosan by photo-SPME. *Analytical and bioanalytical chemistry* 381, 1294–1298.
- Luyt, C.D., 2013. Faecal source tracking and water quality in the Eastern Cape, South Africa.

- Ma, X., Zhou, W., Fu, Z., Cheng, Y., Min, M., Liu, Y., Zhang, Y., Chen, P., Ruan, R., 2014. Effect of wastewater-borne bacteria on algal growth and nutrients removal in wastewater-based algae cultivation system. *Bioresource technology* 167, 8–13.
- Mahapatra, D.M., Chanakya, H.N., Ramachandra, T.V., 2013. Treatment efficacy of algae-based sewage treatment plants. *Environmental monitoring and assessment* 185, 7145–7164.
- Mambo, P.M., Westensee, D.K., Zuma, B.M., Cowan, A.K., 2014. The Belmont Valley integrated algae pond system in retrospect. *Water SA* 40, 385–394.
- Massengo-Tiassé, R.P., Cronan, J.E., 2009. Diversity in enoyl-acyl carrier protein reductases. *Cellular and molecular life sciences* 66, 1507–1517.
- McAvoy, D.C., Schatowitz, B., Jacob, M., Hauk, A., Eckhoff, W.S., 2002. Measurement of triclosan in wastewater treatment systems. *Environmental toxicology and chemistry* 21, 1323–1329.
- McMurry, L.M., Oethinger, M., Levy, S.B., 1998. Triclosan targets lipid synthesis. *Nature* 394, 531.
- Miyoshi, N., Kawano, T., Tanaka, M., Kadono, T., Kosaka, T., Kunimoto, M., Takahashi, T., Hosoya, H., 2003. Use of Paramecium species in bioassays for environmental risk management: determination of IC50 values for water pollutants. *Journal of health science* 49, 429–435.
- Morales, S., Canosa, P., Rodríguez, I., Rubí, E., Cela, R., 2005. Microwave assisted extraction followed by gas chromatography with tandem mass spectrometry for the determination of triclosan and two related chlorophenols in sludge and sediments. *Journal of Chromatography A* 1082, 128–135.
- Mudryk, Z.J., Perliński, P., Antonowicz, J., Robak, D., 2015. Number of bacteria decomposing organic phosphorus compounds and phosphatase activity in the sand of two marine beaches differing in the level of anthropopressure. *Marine pollution bulletin* 101, 566–574.
- Ngqwala, N.P., Tandlich, R., Al-Adawi, S., Ahmed, M., Madikizela, P., n.d. REUSE OF GREYWATER TO RETRENCH WATER NEEDS.
- Orvos, D.R., Versteeg, D.J., Inauen, J., Capdevielle, M., Rothenstein, A., Cunningham, V., 2002. Aquatic toxicity of triclosan. *Environmental toxicology and chemistry* 21, 1338–1349.
- Pothitou, P., Voutsas, D., 2008. Endocrine disrupting compounds in municipal and industrial wastewater treatment plants in Northern Greece. *Chemosphere* 73, 1716–1723.
- Ruiz, J., Alvarez, P., Arbib, Z., Garrido, C., Barragán, J., Perales, J.A., 2011. Effect of nitrogen and phosphorus concentration on their removal kinetic in treated urban wastewater by *Chlorella vulgaris*. *International journal of phytoremediation* 13, 884–896.
- Sabaliunas, D., Webb, S.F., Hauk, A., Jacob, M., Eckhoff, W.S., 2003. Environmental fate of triclosan in the River Aire Basin, UK. *Water Research* 37, 3145–3154.

- Singer, H., Müller, S., Tixier, C., Pillonel, L., 2002. Triclosan: occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments. *Environmental science & technology* 36, 4998–5004.
- Smith, S.R., 2009. Organic contaminants in sewage sludge (biosolids) and their significance for agricultural recycling. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 367, 4005–4041.
- Stevens, K.J., Kim, S.-Y., Adhikari, S., Vadapalli, V., Venables, B.J., 2009. Effects of triclosan on seed germination and seedling development of three wetland plants: *Sesbania herbacea*, *Eclipta prostrata*, and *Bidens frondosa*. *Environmental toxicology and chemistry* 28, 2598–2609.
- Su, Y., Mennerich, A., Urban, B., 2012. Synergistic cooperation between wastewater-born algae and activated sludge for wastewater treatment: influence of algae and sludge inoculation ratios. *Bioresource technology* 105, 67–73.
- Tandlich, R., Luyt, C.D., Ngqwala, N.P., 2014. A community-based rainwater monitoring and treatment programme Grahamstown, South Africa. *Journal of Hydrocarbons, Mines, and Environmental Research* 5, 46–51.
- Tandlich, R., Zuma, B.M., Whittington-Jones, K.J., Burgess, J.E., 2009. Mulch tower treatment system for greywater reuse Part II: destructive testing and effluent treatment. *Desalination* 242, 57–69.
- Thompson, A., Griffin, P., Stuetz, R., Cartmell, E., 2005. The fate and removal of triclosan during wastewater treatment. *Water environment research* 77, 63–67.
- Uba, B.N., 1995. Microbiological characteristics of wastewaters from a nitrogen-and phosphate-based fertilizer factory. *Bioresource technology* 51, 143–152.
- Valters, K., Li, H., Alaei, M., D'Sa, I., Marsh, G., Bergman, A., Ake, L., Letcher, R.J., 2005. Polybrominated diphenyl ethers and hydroxylated and methoxylated brominated and chlorinated analogues in the plasma of fish from the Detroit River. *Environmental science & technology* 39, 5612–5619.
- Van Emon, J.M., Chuang, J.C., Bronshtein, A., Altstein, M., 2013. Determination of polychlorinated biphenyls in soil and sediment by selective pressurized liquid extraction with immunochemical detection. *Science of the Total Environment* 463, 326–333.
- Vanderford, B.J., Snyder, S.A., 2006. Analysis of pharmaceuticals in water by isotope dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Environmental science & technology* 40, 7312–7320.
- Whittington-Jones, K., Tandlich, R., Zuma, B.M., Hoossein, S., Villet, M.H., 2011. Performance of the pilot-scale mulch tower system in treatment of greywater from a low-cost housing development in the Buffalo City, South Africa. *International Water Technology Journal* 1, 165–181.
- Wignarajah, K., Litwiller, E., Fisher, J.W., Hogan, J., 2006. Simulated human feces for testing human waste processing technologies in space systems. *SAE Technical Paper*.

- Wilson, B.A., Smith, V.H., deNoyelles, F., Larive, C.K., 2003. Effects of three pharmaceutical and personal care products on natural freshwater algal assemblages. *Environmental Science & Technology* 37, 1713–1719.
- Wu, J.-L., Lam, N.P., Martens, D., Kettrup, A., Cai, Z., 2007. Triclosan determination in water related to wastewater treatment. *Talanta* 72, 1650–1654.
- Yang, L.-H., Ying, G.-G., Su, H.-C., Stauber, J.L., Adams, M.S., Binet, M.T., 2008. Growth-inhibiting effects of 12 antibacterial agents and their mixtures on the freshwater microalga *pseudokirchneriella subcapitata*. *Environmental toxicology and chemistry* 27, 1201–1208.
- Yu, Y., Huang, Q., Wang, Z., Zhang, K., Tang, C., Cui, J., Feng, J., Peng, X., 2011. Occurrence and behavior of pharmaceuticals, steroid hormones, and endocrine-disrupting personal care products in wastewater and the recipient river water of the Pearl River Delta, South China. *Journal of Environmental Monitoring* 13, 871–878.
- Zhang, Y., Su, H., Zhong, Y., Zhang, C., Shen, Z., Sang, W., Yan, G., Zhou, X., 2012. The effect of bacterial contamination on the heterotrophic cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in wastewater from the production of soybean products. *Water research* 46, 5509–5516.

Chapitre IV : L'élimination des bactéries fécales par les micro-algues.

*« Lorsque la dernière goutte d'eau sera polluée, le dernier animal chassé et le dernier arbre coupé,
l'homme blanc comprendra que l'argent ne se mange pas. »*

IV.1. Introduction

L'identification de tous les microorganismes pathogènes responsables de maladies d'origine hydrique est impossible pour les raisons suivantes : (i) la grande variété et diversité de microorganismes pathogènes qui peuvent être présents dans l'eau contaminée ; (ii) la faible abondance de chaque espèce dans l'échantillon analysé, ce qui conduit à utiliser des échantillons d'eau de grand volume pour concentrer les pathogènes et (iii) l'absence de méthodes standardisées et rapides pour la détection de ces microorganismes pathogènes, malgré le développement de la biotechnologie (Ortega et al., 2009; Stevens et al., 2004). Les laboratoires de recherches et d'analyses ont substitué la détection des pathogènes par des indicateurs de contamination fécale car la détection de tous les pathogènes potentiels est très difficile et incertaine. La microflore intestinale compte jusqu'à 100 000 milliards de bactéries, ce qui permet de l'utiliser comme indicateur de la contamination fécale d'origine humaine ou animale (Gilpin et al., 2002).

Les chercheurs ont utilisé des méthodes traditionnelles pour le dénombrement de coliformes totaux, de coliformes fécaux ou *Escherichia coli* et d'entérocoques, afin de déterminer la qualité microbiologique de l'eau et d'évaluer les risques sanitaires liés à la présence de microorganismes pathogènes d'origine fécale dans les eaux (Gilpin et al., 2003; Plummer & Long, 2009).

IV.2. Bactéries indicatrices de contamination fécale

Ce sont les indicateurs microbiens de pollution fécale appelés aussi germes test ou germes témoins de contamination fécale. Il s'agit des organismes présents en grand nombre dans les matières fécales humaines ou animales. En général, les indicateurs microbiens ne sont pas eux-mêmes pathogènes chez l'humain. Ce sont des genres et espèces de bactéries dont la présence dans les eaux ne constitue pas en elle-même un risque sur la santé des populations, mais indique l'importance de la pollution biologique des eaux (DGSESC, 2006). Leur détection signale un risque de contamination fécale (humaine ou animale) de la masse d'eau ou du réseau de distribution faisant l'objet du contrôle et, par conséquent, la présence possible d'agents entéro-pathogènes. On y distingue :

IV.2.1. Coliformes totaux (CT)

Les coliformes totaux correspondent à des bacilles Gram négatif, non sporulés, oxydase négatifs, aérobies ou anaérobies facultatifs. Ils sont capables de se multiplier en présence de sels biliaires et de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 48 heures à une température de 35-37°C (Antoine Montiel, 2004). Germes sensibles au chlore, la présence des

Coliformes totaux dans les échantillons d'eau peut indiquer l'existence d'un biofilm ou un manque d'efficacité du traitement. (Sophie Verhille, 2013)

Ils se répartissent en deux catégories :

- Les germes d'origine fécale stricte : *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Levinea*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*.
- Les germes provenant d'autres sources environnementales (aquatique ou terrigène) : *Enterobacter intermedium et amnigenus*, *Klebsiella terrigena*, *Buttiauxella agresti*.

Les coliformes totaux ne s'utilisent plus comme indicateur de contamination fécale. Les progrès de la taxonomie montrent qu'ils ne sont pas spécifiques de l'intestin des humains ou des autres mammifères à sang chaud de plus ils peuvent se trouver dans l'environnement (Sophie Verhille, 2013). La présence de coliformes totaux dans l'eau dans le réseau de distribution indique que le réseau de distribution est vulnérable à la contamination ou simplement qu'il s'y produit un ré croissance bactérienne. (DGSESC, 2006)

IV.2.2. 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; Santé 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 sont préférables pour cette fonction (Robertson, 1995).

IV.2.3. Entérocoques intestinaux (Streptocoques fécaux)

Les entérocoques sont des bactéries sphériques, en paire ou en chaîne, à Gram positif, catalase négative et anaérobies facultatives. Ils ne forment pas d'endospores et certaines espèces font preuve de mobilité. Le genre *Enterococcus*, correspondant, aux streptocoques du groupe sérologique D de la classification de Lancefield. *Enterococcus* comprend une vingtaine d'espèces qui se retrouvent dans différents habitats et chez différents hôtes. On les retrouve souvent dans le tractus gastro-intestinal des humains et de plusieurs animaux; *Enterococcus faecalis* et *E. faecium* sont les deux espèces le plus souvent identifiées chez l'humain (Clausen *et al.*, 1977; Gleeson et Gray, 1997). Elles sont présentes dans les intestins d'environ 75 % des humains (Olivieri, 1982), à des concentrations variant de 10^5 à 10^8 bactéries/g (Edberg *et al.*, 2000; Gleeson et Gray, 1997; Hancock et Gilmore, 2000).

La persistance des entérocoques dans divers types d'eau peut être supérieure à celle des autres organismes indicateurs (Clausen *et al.*, 1977; Edberg *et al.*, 1997; OMS, 2000), notamment à cause de leur résistance notoire aux agents désinfectants (Haslay et Leclerc, 1993), ce qui fait d'eux des indicateurs privilégiés pour évaluer l'efficacité du traitement de l'eau (OMS, 2000). De plus, leur grande résistance à la dessiccation fait des entérocoques des indicateurs pour le contrôle lors des réparations du réseau de distribution nécessitant un assèchement (WHO, 1993). Par ailleurs, puisqu'il n'y a généralement pas de croissance des entérocoques dans un réseau de distribution, leur détection témoigne généralement d'une pollution fécale récente (Clausen *et al.*, 1977). Dans ce contexte, on a récemment reconnu le rôle des entérocoques à titre d'indicateur de contamination fécale dans les aquifères (nappes d'eau souterraine) (OMS, 2000).

IV.2.4. Les staphylocoques

Le microorganisme *Staphylococcus aureus* est une bactérie de la famille des Micrococcaceae de forme sphérique (coque), de $0,5\ \mu\text{m}$ à $1,5\ \mu\text{m}$ de diamètre. Ces coques à Gram positif se présentent généralement en grappes, par paires ou en cellules individuelles compte tenu de l'âge de la culture. C'est une bactérie non mobile, asporulée et aérobie facultatif possédant une catalase. (De Buyser, 1996).

De plus, les staphylocoques sont parmi les organismes asporulés les plus difficiles à éliminer. En effet, ils résistent à une température de 60 °C pendant 30 minutes ou à 1 % de phénol pendant 15 minutes. Ils démontrent également une résistance au chlore et aux autres agents de désinfection utilisés dans l'entretien des piscines publiques.

IV.3. Analyses bactériologiques

L'analyse bactériologique a pour but la recherche et le dénombrement des germes existant dans les échantillons d'eau à analyser. Il faut signaler qu'un examen bactériologique ne peut être interprété que s'il est effectué sur un échantillon correctement prélevé dans un récipient stérile, selon un mode opératoire précis évitant toutes les contaminations accidentelles, correctement transporté au laboratoire et analysé sans délai ou après une courte durée de conservation dans des conditions satisfaisantes (Rodier, 2005). En raison de la diversité des espèces bactériennes, virales et parasitaire, des germes test vont être analysés qui représenteront par la suite l'aspect microbiologique de ces eaux. Une analyse complète de l'eau brute a été effectuée en se basant sur la recherche et le dénombrement des paramètres suivants :

- Coliformes totaux et fécaux ;
- Streptocoques fécaux ;

IV.4. Procédure expérimentale

IV.4.1. Localisation 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 IV.1), elle est accessible par une route qui débauche directement dans le chemin de wilaya 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.

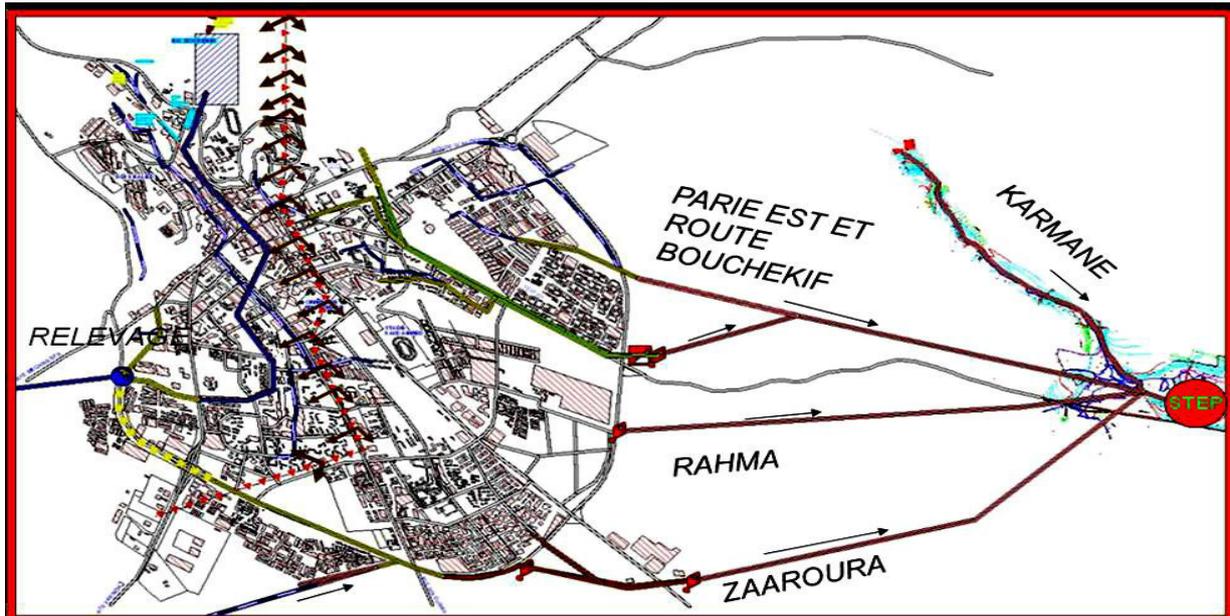


Fig.IV.1. Schéma Directeur du système d'Assainissement de la ville de Tiaret.

IV.4.2. Protocole expérimental

Le pilote de culture comprend un bioréacteur à ciel ouvert d'une capacité unitaire de 80 litres, de 60 cm de diamètre et de 50 cm de profondeur. Les avantages majeurs des bassins ouverts restent leur facilité de construction et le fait qu'ils soient rapidement opérationnels et productifs. Ils assurent une bonne pénétration de la lumière et une production importante de la biomasse. 60 litres d'eau usée, après décantation primaire, a été mélangé avec 1 litre de micro-algues avec une concentration de 8g/l, une agitation constante est maintenue pendant l'expérimentation en utilisant un agitateur magnétique pour empêcher la décantation des micro-algues dans le bioréacteur et assurer une bonne aération.

Le prélèvement des échantillons a été effectué régulièrement durant la période d'étude 16 jours.

IV.4.3. Préparation des dilutions décimales

Conformément aux normes AFNOR NF VO8-010 et ISO 6887-1, on effectue des dilutions décimales pour chaque échantillon à l'aide d'eau distillée stérile. Elles doivent être effectuées dans des conditions aseptiques et minutieuses. Les dilutions suivent des séries logarithmiques dont les termes sont en progression géométriques : 0.1 ; 0.01 ; 0.001 ; ...etc.

***Les dilutions :**

- ✓ Dilution 10^0 : consiste à la prise directe de la solution mère.
- ✓ Dilution 10^{-1} : dans un tube à essai contenant 9ml d'eau distillée stérile, on ajoute 1ml d'eau à analyser (10^0).
- ✓ Dilution 10^{-2} : Dans un deuxième tube à essai, on ajoute 1ml de la dilution 10^{-1} à 9ml d'eau distillée stérile (figure IV.2)

NB : L'agitation du contenu est nécessaire avant de préparer chaque dilution.

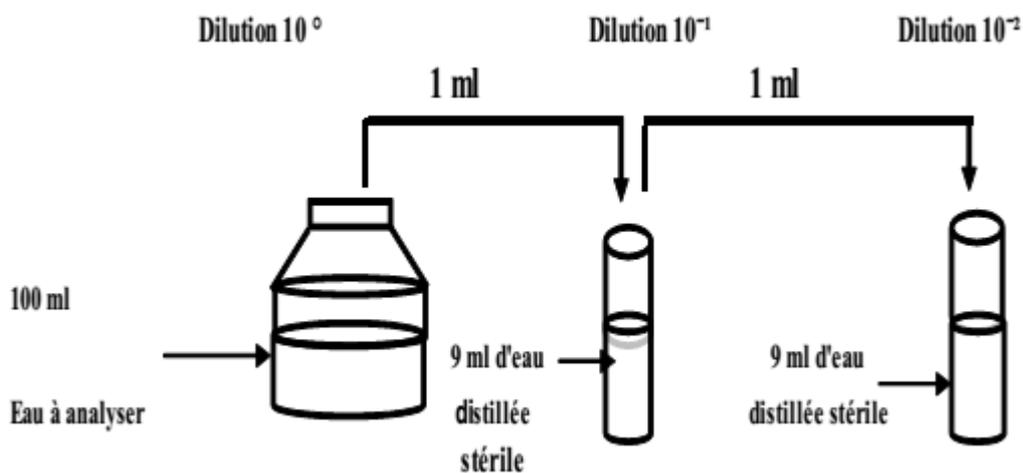


Fig.IV.2. Préparation des dilutions.

IV.4.4. Dénombrement des bactéries

L'analyse bactériologique vise à la recherche et le dénombrement des germes suivants : germes totaux, coliformes totaux et fécaux, streptocoques fécaux. L'identification et le dénombrement des germes pathogènes des eaux usées épurées ont été réalisés selon la technique de dénombrement en surface (Rodier, 2005).

La technique de dénombrement consiste à couler une gélose en boîte de Petri pré-fournie ou choisie selon la bactérie que l'on étudie. Selon le type d'analyse effectuée il est nécessaire de couler deux boîtes ou plus d'une même dilution pour une meilleure analyse qualitative et quantitative des résultats obtenus.

- Transférer 0,1 mL de volume de l'inoculum et de ses dilutions décimales dans les boîtes de Petri contenant préalablement le milieu sélectif.
- Etaler l'inoculum à la surface du milieu de façon uniforme et le plus rapidement possible à l'aide d'un étaleur stérile.

- Incuber les boîtes de pétri : la température d'incubation est variable suivant les micro-organismes à dénombrer.

L'étape suivante est la lecture. On compte les colonies en surface sur les boîtes "interprétables" contenant entre 15 et 300 colonies.

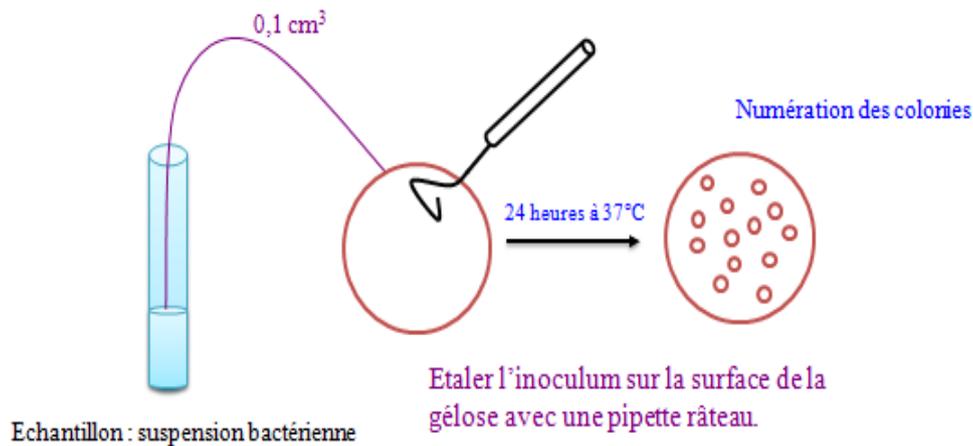


Fig.IV.3. Technique de dénombrement en surface.

IV.4.4.1. Dénombrement des Coliformes totaux et fécaux

Le dénombrement des coliformes totaux par comptage des colonies obtenues respectivement à 37°C pendant 24 heures selon la Norme NF V 08-017 sur un milieu gélose lactosée au TTC et Tergitol 7.

Le dénombrement des coliformes fécaux dans les différents échantillons a été apprécié par le dénombrement des colonies jaune-orange sur le milieu gélosé au Tergitol et au Chlorure de Triphényl Tetrazolium(TTC±Tergitol7) après l'incubation qui s'effectuait à une température de 44 °C pendant une durée de 24 h.

IV.4.4.2. Dénombrement des Streptocoques fécaux

Le dénombrement des **Streptocoques fécaux** est réalisé par un ensemencement en surface sur le milieu gélosé Slanetz et Bartley après l'incubation qui s'effectuait à une température de (36 ± 2)°C pendant une durée de (44 ± 4) h. selon la norme NF ISO 7899-2, A partir de la solution mère ou des dilutions décimales, Après 48 heures d'incubation sur le milieu sélectif Slanetz et Bartley. Les colonies présentant une coloration rouge à marron doivent être considérées comme caractéristiques. Procéder à la confirmation des colonies typiques en utilisant une gélose BEA et après deux heures d'incubation à 44°C, la confirmation se fait sur la base de la présence d'un halo noir dans le milieu. La réduction de l'esculine en présence de bile, à

l'origine de la formation de ce halo caractérise les Streptocoques du groupe D de LANCEFIELD.

IV.5. Résultats et discussions

IV.5.1. Elimination des bactéries

Les résultats obtenus pour le groupe de bactéries coliformes et streptocoques sont rapportés dans la Figure IV.4.

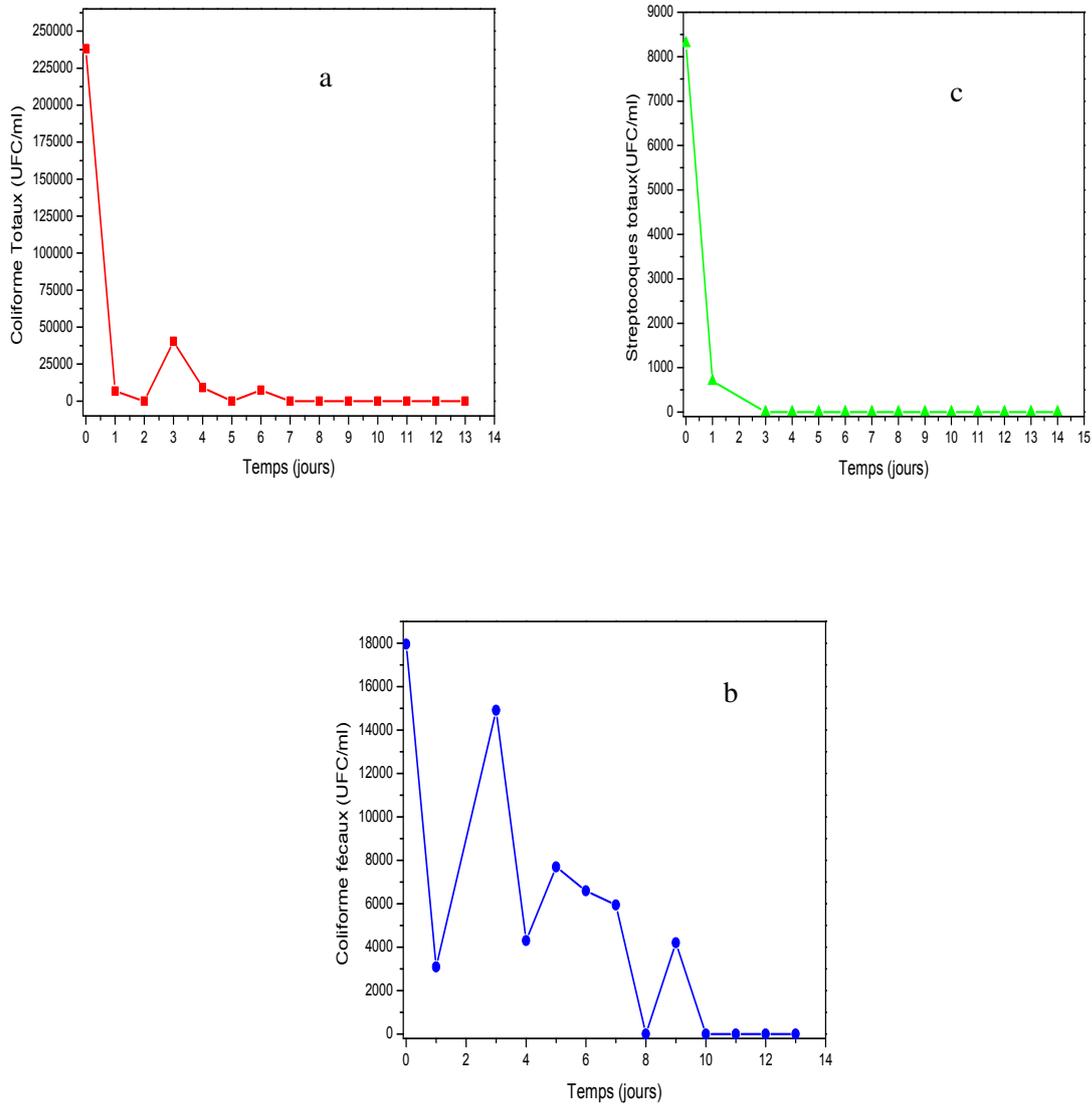


Fig.IV.4. Densité de coliformes totaux (a) , de coliformes fécaux (b) et les streptocoques totaux (c) au cours de la période expérimentale rapportée dans des unités formant des colonies par ml (UFC/mL).

La figure IV.4 montre que la réduction des unités formant des colonies pour les CT et pour les CF s'est produite brusquement dans les 2 premiers jours, ne plus détectée après le 7^{ème} jour pour les CT et le 10^{ème} jour pour les CF. Ainsi que pour les streptocoques totaux on remarque une diminution dans les 3 premiers jours et une disparition totale après le 3^{ème} jour.

La réduction des coliformes totaux et coliformes fécaux et leurs absence après ~ 9 jours confirme d'autres études de la littérature (Pearson et al., 1987; Dixo et al., 1995; Hammouda et al., 1995; Davies-Colley et al., 1997; Kiso et al., 2005, Bernal et al., 2008) qui ont montré une réduction de ces organismes dans les traitements d'effluents utilisant des micro-algues. Hanajima et al. (2011) ont signalé que les bouillonnements d'air peuvent réduire les populations de coliformes fécaux.

Le rôle des toxines d'algues dans l'inactivation des bactéries fécales ont fait l'objet de nombreux débats (Maynard et al., 1999), mais certaines publications récentes sont favorables à la libération possible de toxines d'algues dans les étangs de maturation. Oudra et al. (2000) ont observé que les cyanobactéries (ou les algues bleu-vert) *Synechocystis sp* ont produit 20 ng (109 cellules)⁻¹ de la microcystine toxique dans les étangs de stabilisation des déchets, ce qui montre que cette toxine peut nuire aux bactéries fécales ainsi qu'aux communautés d'algues. Cependant, les cyanobactéries ne sont pas fréquentes dans les étangs de stabilisation des déchets.

Deux algues vertes *Chlorella vulgaris* et *Scenedesmus quadricauda* les deux ont répondu à la toxine microcystin en produisant de grandes quantités de polysaccharides pour protéger leurs cellules (Mohamed, 2008).

Les algues vertes peuvent également libérer des toxines qui sont nuisibles pour les coliformes fécaux, contribuant ainsi à leur élimination.

Des méthodes de détection rapide sont développées pour détecter les toxines cyanobactériennes (Litaker et al., 2008; Doucette et al., 2009) pourrait être modifié à l'avenir pour détecter et quantifier les toxines possibles produites par les algues vertes dans le but d'évaluer leur importance dans l'inactivation des bactéries fécales ou pathogènes.

La présence et la réduction initiales des colonies des bactéries fécales confirment que l'utilisation de micro-algues comme traitement tertiaire améliore la qualité de l'effluent d'eaux usées et peut être adoptée comme procédure de routine dans les stations d'épuration avant de rejeter les effluents, rendant le traitement micro-algique durable et efficace dans la réduction des bactéries.

IV.5.2. Influence du pH sur l'élimination des bactéries

La figure IV.5 montre la variation du pH en fonction du temps durant la période d'expérimentation.

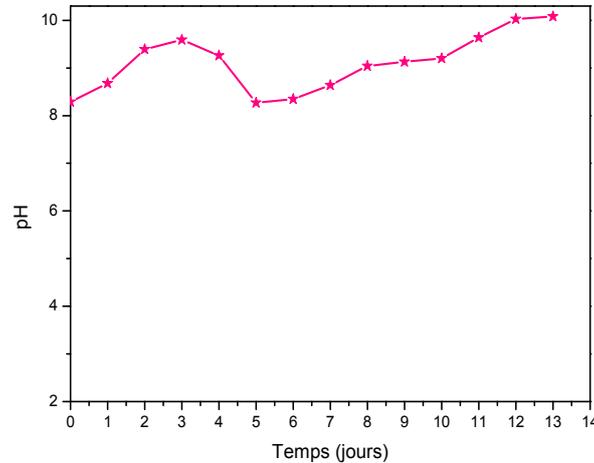


Fig.IV.5. Variation du pH dans le bioréacteur en fonction du temps.

Selon la littérature, la réduction significative des bactéries fécales que nous avons obtenue peut être attribuée à la variation du pH dans l'effluent à la suite de la photosynthèse des algues dans la lumière et la respiration dans l'obscurité (cycle de lumière naturelle). En fait, nos résultats ont montré une variation significative du pH lors de la comparaison des pH pour chaque jour expérimental. Ceci est confirmé par les expériences de König et al. (1999) et Amengual-Morro et al. (2012), qui ont montré que l'activité photosynthétique des micro-algues dans les effluents de traitement des eaux usées surmonte la respiration des bactéries pendant la journée, entraînant un déséquilibre du pH entre le jour et la nuit. Cela conduit à l'inactivation de coliformes et d'autres formes de bactéries. Selon Metcalf et Eddy (2003), il existe des bactéries qui ne supportent pas le pH supérieur à 9,5 ou inférieur à 4,0, avec la gamme optimale de pH entre 6,5 et 7,5. En outre, la faible profondeur des bioréacteurs favorise la pénétration de la lumière, ce qui peut avoir contribué à la réduction des bactéries (Pearson et al., 1987; von Sperling, 1996; Cavalcanti et al., 2001; Cordero et al., 2010).

IV.5.3. Effet de la lumière sur l'élimination des bactéries

La figure IV.6 représente les valeurs mesurées de l'illumination durant la période d'expérimentation exprimée en Lux.

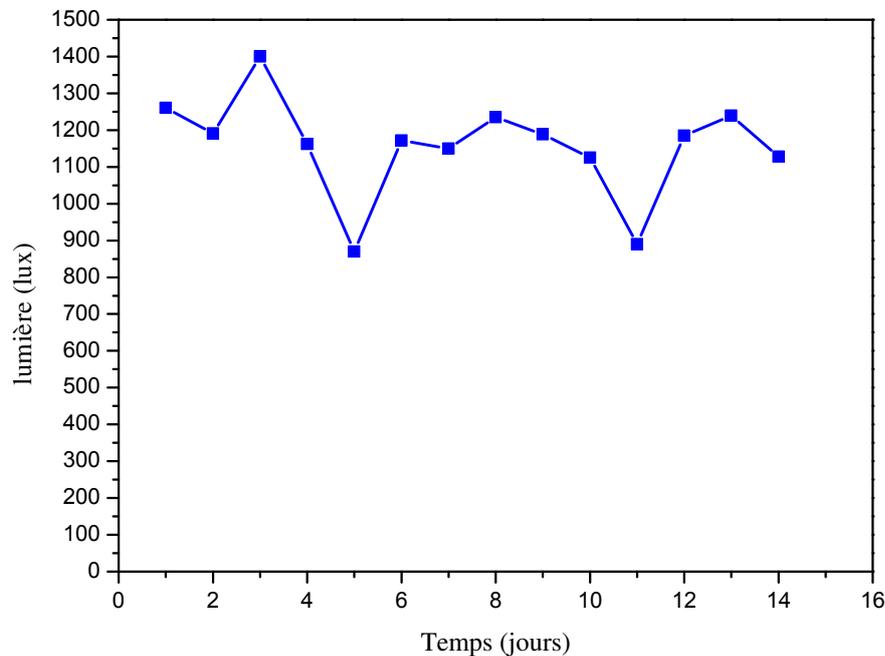


Fig.IV.6. Evolution de l'intensité de lumière (Lux) en fonction du temps (jours) .

Les cellules algales peuvent également couler sous leur poids avec des bactéries fécales attachées, les éliminant ainsi de la colonne d'eau. La photo-oxydation, l'absorption du rayonnement solaire par des molécules de sensibilisateur conduisant à la formation de radicaux oxygène qui sont toxiques pour les bactéries fécales a été observée et augmente avec la concentration croissante de l'oxygène du système en raison de la présence d'algues (Curtis et al. 1992).

Cependant, dans les étangs de maturation des systèmes domestiques de traitement des eaux usées, le développement rapide des algues peut réduire l'efficacité d'élimination de ces étangs dans le sens que les courtes longueurs d'ondes du rayonnement solaire ne peuvent pas pénétrer dans de tels systèmes très turbides (Van der Steen, 2000 et Davies-Colley et al . 1993). Dans de tels systèmes, seules les ondes de longues longueurs peuvent être utiles pour favoriser la mort des bactéries fécales (Sinton et al, 2002). L'augmentation de la turbidité des systèmes d'algues peut entraîner une augmentation du pH qui pourrait tuer les bactéries fécales, même en l'absence de lumière solaire (Parhad et Rao, 1974).

La lumière du soleil est un facteur majeur, sinon le plus important pour la désinfection des étangs (Davies-Colley, 2000), et l'effet solaire sur les coliformes fécaux dépend de la profondeur de l'étang, et les étangs moins profonds sont plus efficaces dans l'élimination des coliformes fécaux (Pearson et al., 2005). L'effet du soleil diminue également avec une diminution de l'intensité lumineuse ou une atténuation de la lumière accrue (Van der Steen et al., 2000a). La lumière du soleil interagit de manière synergique avec l'oxygène et le pH en utilisant des photo-sensibilisateurs dans un processus connu sous le nom de photo-oxydation (Curtis et al., 1992a).

Curtis et al. (1992a, 1992b) ont montré que l'oxygène seul pourrait ne pas endommager les coliformes fécaux, mais plutôt en présence de la lumière du soleil, le taux de détérioration des coliformes fécaux est proportionnelle à la concentration en oxygène.

Conclusion

L'élimination de la pollution des eaux par les bactéries fécales était meilleure dans les systèmes de traitement des algues, car ils connaissent une meilleure pénétration du rayonnement solaire et l'activité photosynthétique des algues entraîne l'augmentation de l'oxygène dissous et du pH, qui ont toutes deux tendances à inactiver les bactéries fécales.

la présente étude a révélé que les algues pour le traitement des eaux usées sont très efficaces pour la réduction des bactéries fécales et d'autres paramètres divers provenant des eaux usées municipales. Le système de traitement des eaux usées à base d'algues s'est avéré être une bonne alternative au système conventionnel de traitement des eaux usées de plusieurs façons, en raison de son efficacité dans l'élimination des polluants, la rentabilité et d'autres avantages. Par conséquent, ce processus de traitement des eaux usées peut devenir très bon marché et efficace.

Références

- Amengual-Morro C, Niell GM, Martínez-Taberner A (2012) Phytoplankton as bioindicator for waste stabilization ponds. *J Environ Manag* 95:571-576.
- Antoine Montiel. Contrôle et préservation de la qualité microbiologique traitements de désinfection. *Revue Française des Laboratoires*, juin 2004, N ° 364.
- 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.
- Bernal CC, Vázquez G, Quintal IB et al. (2008) Microalgal dynamics in batch reactors for municipal wastewater treatment containing dairy sewage water. *Wat Air Soil Pol* 190:259- 270.
- Cavalcanti PFF, Mayer MGR, Moreira EAM et al. (2001) Lagoas de polimento para o pós-tratamento de esgotos digeridos - Parte 2 - Remoção de Patógenos. In: C Chernicharo (ed) Pós-Tratamento de Efluentes de Reatores Anaeróbios. Coletânea de Trabalhos Técnicos, Belo Horizonte, pp 69-78.
- CEAEQ (2000) Recherche et dénombrement des coliformes fécaux; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 24 p.
- 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.
- Cordero A, García M, Herradora M et al. (2010) Bacteriological characterization of wastewater samples obtained from primary treatment system on a small scale swine farm. *Biores Tech* 101:2938-2944.
- Curtis, T.P., D.D. Mara, and S.A. Silva.1992. Influence of pH, oxygen and humic substances on ability of sunlight to damage fecal coliforms in waste stabilization pond water. *Appl. Environ. Microbiol.* **58** (4): 1335-1343.
- Curtis, T.P., Mara, D.D. and Silva, S.A. (1992a). Influence of pH, oxygen, and humic substances on ability of sunlight to damage faecal coliforms in waste stabilization pond water. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**(4):1335-1343.
- Curtis, T.P., Mara, D.D. and Silva, S.A. (1992b). The effect of sunlight on faecal coliforms in ponds: implications for research and design. *Water Sci. Technol.* **26**(7-8):1729-1738.

Davies-Colley RJ, Donnison AM, Speed DJ (1997) Sunlight wavelengths in faecal indicator microorganisms in waste stabilization ponds. *Wat Sc Tech* 35:219-225.

Davies-Colley, R.J., Donnison, A.M. and Speed, D.J. (2000). Towards a mechanistic understanding of pond disinfection. *Water Sci. Technol.* **42**(10-11):149-158.

Davies-Colley, R.J., W.W. Vant and D.G. Smith. 1993. Colour and clarity of natural waters. *Science and Management of Optical Water Quality*. Ellis-Horwood, New York.

DE BUYSER, M.L.- Les staphylocoques coagulase-positifs.- In : Lavoisier (Ed), *Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires*, chapitre 6, 1996, 305-312.

DGSESC, (Direction générale de la santé environnementale et de la sécurité des consommateurs). Les bactéries pathogènes d'origine hydrique : Micro-organismes préoccupants courants et émergents. Santé Canada Février 2006.

Dixo NGH, Gambrell MP, Catunda PFC et al. (1995) Removal of pathogenic organism from the effluent of an upflow. *Wat Sc Tech* 31: 275-284.

Doucette, G.J., Mikulski, C.M., Jones, K.L. (2009). Remote, subsurface detection of the algal toxin domoic acid onboard the environmental sample processor: assay development and field trials. *Harmful Alg.* **8**(6): 880–888.

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.

Elmund, GK, MJ Allen et EW Rice (1999) Comparison of *Escherichia coli*, total coliform and fecal coliform populations as indicators of wastewater treatment efficiency. *Water Environ. Res.*, 71 : 332-339.

Gilpin, B. J., Gregor, J. E., & Savill, M. G. (2002). Identification of the source of faecal pollution in contaminated rivers. *Water Sci Technol*, 46(3), 9-15.

Gilpin, B., James, T., Nourozi, F., Saunders, D., Scholes, P., & Savill, M. (2003). The use of chemical and molecular microbial indicators for faecal source identification. *Water Sci Technol*, 47(3), 39-43.

Gleeson, C. et N. Gray (1997) *The coliform index and waterborne disease*. E & FN Spon, 194 p.

Hammouda O, Gaber A, Abdel-Raouf N (1995) Microalgae and wastewater treatment. *Ecotox Environ Saf* 31:205-210.

Hanajima D, Fukumoto Y, Yasuda T et al. (2011) Bacterial community dynamics in aerated cow manure slurry at different aeration intensities. *J Ap Microb* 111:1461-1425.

Hancock, LE et MS Gilmore (2000) Pathogenicity of enterococci. Dans: Fischetti, VA, RP Novick, JJ Ferretti, DA Portnoy et JI Rood, édit., Gram positive pathogens. American Society for Microbiology, pp.:251-258.

Haslay, C. et H. Leclerc (1993) Microbiologie des eaux d'alimentation. Lavoisier Tec & Doc, Paris, 495 p.

Kiso Y, Jung YJ, Park MS et al. (2005) Coupling of sequencing batch reactor and mesh filtration: operational parameters and wastewater treatment performance. *Wat Res* 39:4887-4898.

König A, Souza MSM, Costa NAF et al. (1999) Variação nictemeral da qualidade do efluente final de uma lagoa facultativa secundária e a influência das algas. XX Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental, Rio de Janeiro, pp 1-10.

Litaker, R. W., Stewart, T. N., Eberhart, B. L., Wekell, J.C. et al. (2008). Rapid enzyme-linked immunosorbent assay for detection of the algal toxin domoic acid. *J. Shellfish Res.* **27**(5):1301-1310.

Maynard, H.E., Ouki, S.K. and Williams, S.C. (1999). Tertiary lagoons: A review of removal mechanisms and performance. *Water Res.* **33**(1):1-13.

Maynard, H.E., Ouki, S.K. and Williams, S.C. (1999). Tertiary lagoons: A review of removal mechanisms and performance. *Water Res.* **33**(1):1-13.

Metcalf & Eddy, Inc (2003) Wastewater Engineering, Treatment, Disposal and Reuse. McGraw-Hill Science, India, 1848 pp.

Mohamed, Z.A. (2008). Polysaccharides as a protective response against microcystin induced oxidative stress in *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda* and their possible significance in the aquatic ecosystem. *Ecotoxicol.* **17**(6):504–516.

Olivieri, VP (1982) Bacterial indicators of pollution. Dans: Pipes, WO, edit., Bacterial indicators of pollution, CRC Press, pp.:21-41.

OMS (1994) Directives de qualité pour l'eau de boisson; volume 1 – recommandations. Organisation mondiale de la Santé, 2e édition, 202 p.

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.

Ortega, C., Solo-Gabriele, H. M., Abdelzaher, A., Wright, M., Deng, Y., & Stark, L. M. (2009). Correlations between microbial indicators, pathogens, and environmental factors in a subtropical Estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 58(9), 1374-1381. doi:10.1016/j.marpolbul.2009.04.015.

Oudra, B., Andaloussi, M. El, Franca, S., Barros, P., Martins, R., Oufdou, K., Sbiyaa, B., Loudiki, M., Mezrioui, N. and Vasconcelos, V. (2000). Harmful cyanobacterial toxic blooms in waste stabilization ponds. *Water Sci. Technol.* 42(10-11):179-186.

Parhad, N.M. and N.U. Rao. 1974. Effect of pH on survival of *Escherichia coli*. *Journal WPCF* 46(5): 980-986.

Pearson HW, Mara DD, Mills SW et al. (1987) Physico-chemical parameters influencing faecal bacterial survival in waste stabilization ponds. *Wat Sc Tech* 19:145-152.

Pearson, H.W., Silva-Athayde, S.T., Athayde, G.B. Jnr. and Silva, S.A. (2005). Implications for physical design: the effect of depth on the performance of waste stabilization ponds. *Water Sci. Technol.* 51(12):69-74.

Plummer, J. D., & Long, S. C. (2009). Identifying sources of surface water pollution: A toolbox approach. *Journal American Water Works Association*, 101(9), 75-+. Tiré de <Go to ISI>://000270321200009.

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.

Santé Canada (1991) La qualité bactériologique. Document de support aux « recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada »

Sinton, L.W., C.H. Hall, P.A. Lynch, and R.J. Davies-Colley.2002. Sunlight inactivation of fecal indicator bacteria and bacteriophages from waste stabilization pond effluent in fresh and saline waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1122-1131.

Sophie Verhille. Les indicateurs microbiens dans l'évaluation de l'eau potable : interpréter les résultats de laboratoire et comprendre leur signification pour la santé publique. Centre de collaboration nationale en santé environnementale Janvier 2013.

Stevens, M., Ashbolt, N., & Cunliffe, D. (2004). Review of coliforms as microbial indicators of drinking water quality. Dans National Health and Medical Research Council (édit.), *Australian drinking water guidelines* (vol. 6, p. 615). Australia.

Vander Steen, P., Brenner, A. Shabtai, Y. and Oron, G. (2000a). The effect of environmental conditions on faecal coliform decay in post-treatment of UASB reactor effluent. *Water Sci.Technol.* 42(10-11):111-118.

Von Sperling M (1996) Princípio do Tratamento Biológico de Águas Residuárias - Lagoas de Estabilização. DESAUFMG, Belo Horizonte, 196 pp.

WHO (1993) WHO guidelines for drinking water quality. Vol. 1 – recommendations, pp.: 8-29.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le présent projet de recherche, s'inscrivant dans le domaine des « biotechnologies », utilise les micro algues comme organismes de choix dans le processus d'épuration des eaux usées .

La présente étude représente la première expérience de traitement des eaux usées dans la ville de Tiaret en utilisant des algues. Elle nous a permis d'une part, de déterminer les caractéristiques physicochimiques des eaux usées, et d'autre part de vérifier le bon fonctionnement d'une filière de traitement des eaux usées par les micro-algues.

Ce procédé est connu comme un véritable réacteur de culture intensive d'algues. Il est basé sur l'interaction entre les bactéries et les algues où le but est d'accélérer le processus d'épuration en favorisant la production algale.

La caractérisation physico-chimique des eaux usées, réalisée au cours d'un suivi durant un cycle a permis de constater que les eaux usées étudiées sont relativement chargées en divers polluants. Elles se caractérisent par une charge organique élevée et des teneurs en phosphates, ammonium et nitrates élevées pour le cas de la ville de Tiaret.

Les filières de traitements classiques utilisent généralement des procédés biologiques intensifs comme les boues activées qui est une méthode conventionnelle d'assainissement efficace mais soulèvent un certain nombre de contraintes : elles ne sont pas écologiques (production de boues) et nécessitent de lourds investissements,

En cela, les systèmes de traitement des eaux par les micro-algues sont une alternative adéquate. Elles fonctionnent comme assimilateurs biologiques en retirant des composés tant biodégradables que non biodégradables, ainsi que les micro organismes pathogènes.

Cette étude a permis d'avoir de bons rendements pour les paramètres physico-chimiques et microbiologiques. Il est cependant à noter des bonnes performances épuratrice concernant l'importante efficacité d'assimilation de l'azote, phosphore, ammonium et l'élimination de la matière organiques DCO. Et quelques bactéries fécales.

Cette approche durable nécessite un développement et un perfectionnement des techniques et procédés existants pour une production rentable de la biomasse algale et de sa séparation et de sa récolte. Il est clair, cependant, que les algues sont ici pour rester dans la bio-remédiation des eaux usées.

L'influence des différents rapports d'inoculum d'algues et de boues sur l'efficacité du traitement a été étudiée. Il n'y a eu aucun effet significatif des rapports d'inoculation sur la demande chimique en oxygène (DCO). Mais le rapport d'inoculum d'algues / boues dans le

bioréacteur 5 a montré les meilleures efficacités d'élimination de l'azote, de phosphore et d'ammonium dans les 10 jours

Dans ce travail, nous avons étudié également la possibilité d'élimination des bactéries par les micro-algues. Ces derniers ont présentées une capacité particulière pour la diminution où l'élimination totale des bactéries fécale. Dans les systèmes d'algues, l'effet synergique de la lumière, de l'oxygène et du pH élevé peut avoir joué un rôle crucial dans l'élimination des micro-organismes.

Les micro-algues possèdent un potentiel biotechnologique évident et représentent une bonne rentabilité économique de la biomasse. Par exemple, en combinant la production des aliments pour les animaux à partir des composants de la biomasse algale, la gazéification biologique et la production de biodiesel en capturant le CO₂. Un autre exemple est la production de biomasse en utilisant le CO₂ capturé pour produire ensuite de l'hydrogène biologique et exploiter la biomasse de façon à extraire des biomolécules intéressantes tel que les polysaccharides, lipides, ou d'autres biocarburants.

Dans le Sahara algérien, plus de 3000 heures de soleil par an, des températures élevées tout au long de l'année. Cette situation favorable, pour un bon développement de ces micro-algues, vise à la réutilisation des eaux usées traitées comme ressources alternatives pour la préservation de l'environnement; cependant, l'utilisation de ces eaux usées doit être conforme à la réglementation relative à la protection de l'environnement.

Annexes

Article

(01)

Article

(02)

Résumé

L'objectif principal de cette thèse est l'étude de la possibilité d'épuration des eaux usées par un mélange micro-algues-boues activées, cas de la Station d'Épuration de Tiaret. Dans cette étude on a fait une recherche bibliographique sur les eaux usées et leurs traitements. Ensuite une recherche générale en se qui concerne les algues de façon générale et les micro-algues qui présente un caractère épuratoire important. Dans la partie expérimentale on a commencé par la quantification du triclosan dans la boue activée utilisée pour la préparation des mélanges (boue activée/ micro-algue) utilisé dans la suite pour le traitement des eaux usées, car il influe négativement sur les algues et par conséquent sur le rendement d'épuration. On utilisant des mélanges avec différents rapports d'inoculum on remarque que ces derniers influent fortement sur le rendement épuratoire. L'élimination des bactéries fécale par les micro-algues a été également étudiée dans ce travail, ces derniers ont présentées une capacité particulière pour la diminution où l'élimination totale des bactéries fécale.

Abstract

The main objective of this thesis is the study of the possibility of purification of wastewater by a micro-algae-activated sludge mixture, case of the Tiaret Treatment Plant. In this study, a literature search was conducted on wastewater and its treatments. Then, a general research in regards to algae in general and micro-algae which has an important purifying character. In the experimental part we began by quantifying triclosan in the activated sludge used for the preparation of the mixtures (activated sludge / micro-algae) used in the following for the treatment of wastewater, since it has a negative influence on the algae and by consequence on the purification performance. Mixtures with different ratios of inoculums are used, which have a strong influence on the purification efficiency. The elimination of fecal bacteria by micro-algae was also studied in this work; the latter presented a particular capacity for the reduction or total elimination of fecal bacteria.

ملخص

الهدف الرئيسي من هذه الأطروحة هو دراسة إمكانية تنقية مياه الصرف الصحي بواسطة خليط من الطحالب الدقيقة و الحماة المنشطة، حالة محطة معالجة مياه الصرف الصحي- تيارت. في هذه الدراسة، تم إجراء بحث بيئيوجرافي على المياه المستعملة وطرق معالجاتها. ثم بحث في ما يتعلق بلطحالب بشكل عام و الطحالب الدقيقة التي لديها خاصية تنقية المياه جد هامة. في الجزء التجريبي بدأنا بتقييم التريكلوسان في الحماة المنشطة المستخدمة في تحضير الخلائط (الحماة المنشطة / الطحالب الدقيقة) المستخدمة في معالجة مياه الصرف الصحي، حيث أن لهذا الأخير تأثير سلبي على الطحالب و منه على مردود التنقية. قمنا باستخدام خلائط بنسب مختلفة، والتي لها تأثير قوي على كفاءة التنقية. كما تم دراسة القضاء على البكتيريا البرازية من قبل الطحالب الدقيقة في هذا العمل، وهذا الأخير قدم قدرة خاصة للحد من أو القضاء التام على البكتيريا البرازية.
