

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

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

كلية الطبيعة والحياة
الأحياء الدقيقة

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.

Filière : Biotechnologie.

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique.

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Evaluation du pouvoir bioremédiateur des microalgues en
combinaison avec des bactéries dans le traitement du lixiviat de
Centre d'Enfouissement Technique de la Wilaya de Batna**

Présenté par : HAMAD Ibtihel

SEGHIRI Meriem

Le 21/06/2023

Jury d'évaluation :

Président de jury : MEGHNOUS Ouissem

(MCB - UFM, Constantine 1)

Examineur : KASSA-LAOUAR Mounia

(MCB - UFM, Constantine 1)

Encadrant : BELAHMADI Mohamed Seddik Oussama

(MRB – C.R.B.T, Constantine)

Co-encadrant : BOULAOUAD Ilyes

(Attaché de recherche –C.R.B.T, Constantine)

Année universitaire
2022- 2023

Dédicaces

Je tiens à dédier ce travail

A mes chers parents Saddek et Assia,

Pour leurs amours, leurs encouragements et leurs sacrifices. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Que ce modeste travail soit le fruit de vos innombrables sacrifices. Puisse Dieu, le très haut, vous accorde santé, bonheur et longue vie.

A mon cher frère Tedjeddine,

Qui m'a toujours supporté dans les moments difficiles.

A ma chère binôme Meriem,

Pour sa patience, et sa compréhension tout au long de ce travail. T'es une source de bonheur.

A tous les membres de la famille ainsi que toutes mes amies,

Pour leurs indéfectibles soutiens et support.

HAMAD IBTIHEL

Dédicaces

À mes chers parents Djamel et Souheila,

Mes grands-parents Khadija et Azzoz,

Oncle Abdullah,

C'est avec une immense émotion que je vous dédie ce mémoire de master, mes piliers inébranlables. Votre amour, votre soutien, vos sacrifices et vos encouragements constants ont été les fondations solides sur lesquelles j'ai pu bâtir ce parcours académique.

Je suis honorée de votre croyance en moi et je suis consciente que mes réussites sont le reflet de votre amour et de vos efforts. Merci d'avoir été mes plus fervents supporteurs car cette réalisation est autant la vôtre que la mienne. Votre fille est reconnaissante de pouvoir partager ce moment de joie avec vous.

A toute la famille Seghiri,

A ma chère binôme Ibtihel,

Ta présence à mes côtés a été source d'inspiration tout au long de cette aventure.

A tous mes amies

SEGHIRI MERIEM

Remerciements

Louange à « Allah » qui nous a donné le courage et nous a guidé pour mener à bien ce modeste travail.

C'est avec un grand plaisir que nous exprimons nos sincères remerciements à notre encadrant Monsieur **BELAHMADI Oussama**, Maître de recherche au CRBT. C'est vous qui nous a donné cette chance pour que nous puissions mener cette expérience, vous avez été plus qu'un simple guide pour nous. Vos conseils précieux et votre capacité ont poussé à aller au-delà de nos limites ont aidé à repousser nos propres frontières intellectuelles.

Nous tenants à exprimer nos gratitudes les plus profondes à notre co-encadrant Monsieur **BOULAOUAD Ilyes**, attaché de recherche au CRBT, votre expertise et votre accompagnement tout au long de ce projet de recherche ont été d'une importance inestimable. Votre supervision attentive et vos remarques constructives ont permis de développer nos compétences de recherche et d'améliorer la qualité de notre mémoire. Nous tenants également à souligner votre disponibilité constante et votre ouverture d'esprit lors de nos échanges, vous avez toujours été prêt à discuter nos idées, à répondre à nos interrogations.

Nos remerciements s'adressent également à Monsieur **ABDESSEMED Ala**, Maître de recherche au CRBT. Merci pour votre bienveillance, votre soutien indéfectible, vos remarques et votre précieuse guidance.

Nous adressons notre grande reconnaissance et nos sincères remerciements à Mme **MEGHNOUS Ouissem**, MCB à l'université des Frères Mentouri, Constantine 1 qui nous a fait l'honneur de présider le jury de soutenance. Ainsi qu'a Mme **KASSA-LAOUAR Mounia**, MCB à l'université des Frères Mentouri, Constantine 1, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos vifs remerciements à toute l'équipe des ingénieurs de laboratoire, **OUFROUKH Karima**, **BOUGANDOURA Meriem**, **KHODJA Randa**, **BECHLEM Radouane**, **Nora** et **Mouna**.

Table des matières

Dédicaces ET Remerciements	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Résumés	
INTRODUCTION.....	1
Partie 1: Synthèse bibliographique	
Chapitre 1: Centres d'enfouissements techniques.....	4
1 Définition de centre d'enfouissement technique	4
2 Classification.....	5
2.1 CET de classe	5
2.2 CET de classe	5
2.3 CET de classe	6
3 Fonctionnement d'un CET.....	7
3.1 Réception et sélection des déchets.....	7
3.2 Déchargement au niveau des casiers	7
3.3 Couverture et enfouissement	7
4 Nuisances pour l'environnement	8
4.1 Contamination par les lixiviats	8
4.2 Impact au sol.....	9
4.3 Pollution par biogaz.....	9
4.4 Incidence sur l'eau	9
Chapitre 2: Lixiviats.....	10
1 Définition	10
2 Dégradation des déchets et formation du lixiviat	10
3 Composition du lixiviat.....	12
3.1 Matière organique dissoute ou en suspension :	12
3.2 Composés minéraux majeurs :.....	12
3.3 Métaux lourds:	13
3.4 Micro-organismes :.....	13
4 Paramètres physicochimiques :.....	13

4.1	Rapport (DBO/DCO).....	13
4.2	Rapport (DCO/COT)	13
4.3	pH	13
5	Types de lixiviats	14
5.1	Lixiviats jeunes (<5ans).....	14
5.2	Lixiviats intermédiaires (5 à 10 ans)	14
5.3	Lixiviats matures (> 10 ans)	15
6	Procédés du traitement des lixiviats.....	15
6.1	Méthodes par transfert	15
6.1.1	Traitement combiné avec les eaux usées domestiques.....	15
6.1.2	Recyclage	16
6.1.3	Lagunage	16
6.2	Méthodes physico-chimiques	16
6.2.1	Flottation	16
6.2.2	Coagulation-floculation.....	16
6.2.3	Précipitation chimique.....	16
6.2.4	Adsorption.....	17
6.2.5	Oxydation chimique	17
6.3	Méthodes biologiques :.....	17
6.3.1	Traitement Aérobie	18
6.3.2	Traitement anaérobie.....	18
6.4	Méthodes membranaires.....	18
6.4.1	Osmose inverse	18
6.4.2	Nano-filtration.....	19
6.4.3	Ultrafiltration et microfiltration	19
Chapitre 3: Généralités sur les microalgues.....		20
1	Définition	20
2	Classification.....	20
3	Ecologie	22
4	Structure cellulaire et physiologie	22
5	Facteurs affectant la croissance des microalgues.....	23
5.1	Facteurs abiotiques	23
5.1.1	Lumière	23
5.1.2	Température	23

5.1.3	Dioxygène	23
5.1.4	pH.....	23
5.1.5	Salinité.....	24
5.1.6	Macronutriments	24
5.1.7	Micronutriments	25
5.1.8	Produits toxiques	25
5.2	Facteurs biotiques	25
5.2.1	Bactéries	25
5.2.2	Zooplancton et insectes	25
6	Applications des microalgues en biotechnologie.....	26
6.1	Domaine alimentaire.....	26
6.2	Domaine pharmaceutique	27
6.3	Domaine cosmétique	27
6.4	Domaine environnemental.....	27
6.4.1	Traitement des effluents liquides	27
6.4.2	Elimination des métaux lourds	28
6.4.3	Traitement des effluents gazeux.....	28
6.4.4	Domaine énergétique.....	28
	Chapitre 4: Phycoremédiation.....	29
1	Définition de la bioremédiation	29
2	Phycoremédiation	29
2.1	Historique	29
2.2	Mécanismes mise en jeux dans la phycoremédiation	29
2.2.1	Bioaccumulation.....	30
2.2.2	Biodégradation	30
2.2.3	Précipitation	30
2.3	Avantages et limites de cultures des microalgues sur des eaux usées.....	30
2.4	Phycoremédiation en photobioréacteurs.....	31
2.4.1	Culture batch	31
2.4.2	Culture semi-continue	31
2.5	Conditions de culture.....	31
2.5.1	Source de lumière.....	31
2.5.2	Température	31
2.5.3	pH.....	32
2.5.4	Dilution de l'effluent.....	32

2.5.5	Agitation.....	32
3	Epuration des eaux usées par culture mixte « Bactérie-Microalgues »	33
3.1	Interactions bactérie - microalgue	33
3.1.1	Mutualisme.....	33
3.1.2	Commensalisme	33
3.1.3	Parasitisme et prédation	33
3.1.4	Amensalisme	34
3.2	Système de co-culture « association Bactérie- Microalgue ».....	34
3.2.1	Ratio d'inoculation.....	34
3.2.2	Eliminations des polluants par association bactérie/ microalgue.....	34
3.2.3	Avantages des co-cultures Microalgues/ Bactéries	35

Partie 2: Partie expérimentale

1	Présentation du site de prélèvement.....	37
2	Prélèvement et échantillonnage	38
3	Caractérisation physico-chimique du lixiviat jeune.....	38
3.1	Mesure <i>in situ</i>	38
3.2	Dosages au laboratoire.....	39
3.2.1	Dosage de l'azote kjeldahl et ammoniacal.....	39
3.2.2	Dosage des nitrites	40
3.2.3	Dosage des nitrates.....	40
3.2.4	Demande biologique en oxygène (DBO5).....	41
3.2.5	Demande chimique en oxygène (DCO)	41
3.2.6	Carbone Organique Total (COT)	41
3.2.7	Analyse par spectrophotométrie UV/visible	42
4	Traitement primaire du lixiviat jeune par le procédé d'oxydation avancée « Système H ₂ O ₂ /UV ».....	42
5	Traitement secondaire « Biologique » du lixiviat.....	43
5.1	Isolement et purification du matériel biologique.....	43
5.1.1	Isolement, purification et identification des microalgues	43
5.1.2	Isolement et purification des bactéries	44
5.2	Préparation des inocula.....	44
5.2.1	Inoculum de microalgue.....	44
5.2.2	Inoculum du consortium bactérien	45
5.3	Configuration expérimentale	45
6	Méthodes d'analyse	48

Résultats et Discussions

1	Caractérisations physico-chimiques du lixiviat jeune.....	51
2	Isolement et purification de microalgue	54
2.1	Observation macroscopique	54
2.2	Identification microscopique	54
3	Isolement et purification des bactéries.....	55
4	Traitement de lixiviat par les différents procédés (H ₂ O ₂ /UV, Traitement simple par les bactéries, Traitement combinée par bactéries+ microalgues).....	56
5	Suivi de la dégradation de la Matière Organique.....	57
5.1	Analyse COT et DCO	57
5.2	Suivie de la croissance des bactéries et de microalgue	63
5.3	Variation du pH	65
5.4	Variation de nombre de la couleur	66
5.5	La souche bactérienne après traitement.....	67
	Conclusion.....	69
	Références bibliographiques	70
	Annexes.....	81

Liste des figures

Figure 01: Photo d'une alvéole de CET en cours de remplissage.....	5
Figure 02: Schéma d'une coupe longitudinale d'un casier d'un CET de classe II	6
Figure 03 : Photo d'une alvéole de CET couverte par une géo-membrane.	7
Figure 04: Schéma du fonctionnement du centre d'enfouissement.	8
Figure 05: Photo du débordement du lixiviat.....	8
Figure 06 : Schéma résumant les étapes de biodégradation de la matière organiques dans un massif de déchets	11
Figure 07 : Schéma représentant le mécanisme de formation des lixiviats.	12
Figure 08 : Schéma explique le parcours du Traitement biologique de lixiviat.....	18
Figure 09 : Schéma représentant le principe d'osmose inverse.	19
Figure 10 : Photo au microscope photonique de cellules de microalgue à l'état frais	20
Figure 11 : Dessin de la structure cellulaire d'une microalgue eucaryote	22
Figure 12 : Schéma résumant les domaines d'applications des microalgues.....	26
Figure 13: Schéma d'un procédé de traitement des eaux usées par les microalgues	28
Figure 14: Schéma représentative des voies d'élimination des polluants en culture mixte Microalgues/ Bactéries.....	35
Figure 15: Carte de localisation de la région d'étude (a) et la photo aérienne du CET (b).....	37
Figure 16 : Photo des échantillons de lixiviat.	38
Figure 17: Photos de (a) Inocula micro-algal et bactérien (b) systèmes de cultures traitement biologique (c) schéma des systèmes de cultures (B= Bactéries seules, AB= Bactéries + Microalgue).	46
Figure 18 : Schéma récapitulatif.	47
Figure 19 :Evolution spectrale du Lixiviat brut diluée 10 fois.	53
Figure 20 : Photo de l'isolat microalgale sur gélose BBM.	54
Figure 21 : Photo d'observation microscopique de chlorella sp.	55
Figure 22 : Courbes de suivi de (a) La demande chimique en oxygène (DCO) (b) La concentration de carbone organique total (COT) par différents systèmes.....	58
Figure 23 : Histogrammes de taux d'élimination (a) de la DCO et (b) du COT par différents systèmes.	59
Figure 24 : Courbe d'évolution de l'état moyen d'oxydation (EMO).	62
Figure 25 : Courbes du suivi de la croissance bactériennes au cours du traitement par système simple.	63
Figure 26 : Courbe du suivi de la croissance microalgale au cours du traitement par système combinée.	64
Figure 27 : Courbe de suivi du pH au cours de traitement biologiques par les deux systèmes	65
Figure 28: Courbe d'évolution du Nombre de la Couleur (CN) du Lixiviat au cours des différents traitements.	66
Figure 29: Photos de la dégradation de couleur (a) Lixiviat brut, (b) Lixiviat après traitement H ₂ O ₂ /UV, (c) Lixiviat après traitement biologique.....	67
Figure 30 : Photo de la souche bactérienne résistante après traitement biologique par les deux systèmes.	67

Liste des tableaux

Tableau 01 : Principales classes de CET et leurs caractéristiques	6
Tableau 02 : Caractéristiques des lixiviats d'ordures ménagères	14
Tableau 03:Principales caractéristiques des différents types de lixiviats	15
Tableau 04: Classification des microalgues et leurs caractéristiques.	21
Tableau 05: Avantages et limites de la culture des microalgues.....	30
Tableau 06: Caractéristiques physico-chimiques du lixiviat jeune.....	51
Tableau 07 : Aspect macroscopique des deux souches bactériennes sélectionnées.....	56
Tableau 08: Les valeurs de l'intensité des rayons UV.	57

Liste des abréviations

AGPI : Acides Gras Polyinsaturés.

AGV : Acides Gras Volatils.

AND : Agence National des Déchets.

BBM : Bold Basal Medium.

CET : Centre d'Enfouissement Technique.

COT : Carbone Organique Total.

CSD : Centre de Stockage des Déchets.

DBO : Demande Biologique en Oxygène.

DBO5 : Demande Biologique en Oxygène pendant 5 jours.

DCO : Demande Chimique en Oxygène.

DO : Densité Optique.

EMO : Etat Moyen d'Oxydation.

GN : Gélose Nutritif.

K : Coefficient de perméabilité.

MAP : Phosphate d'Ammonium Magnésien.

NC : Nombre de Couleur.

NTK : Azote Total Kjeldahl.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PET : Poly téréphtalate d'éthylène.

PNAGDES : Plan National de Gestion des Déchets Spéciaux.

POA : Procédés d'Oxydations Avancées.

PROGDEM : Programme National de Gestion Intégrée des Déchets Ménagers et Assimilés.

TDS : Total Solides Dissous.

TiO₂ : Dioxyde de titane.

UV : Ultra-Violet.

Résumé

La présente étude s'inscrit dans l'optique de rechercher de nouvelles technologies pour le traitement des effluents pollués qui sont rentables, efficaces et compatibles avec l'environnement. Elle a pour objectif d'étudier le potentiel des consortiums natifs de microalgues et de bactéries pour l'élimination des polluants organiques des lixiviats de CET ayant subi un traitement primaire. La première partie du travail consiste à isoler des bactéries et des microalgues à partir d'un échantillon de lixiviat du CET de la wilaya de Batna. On a pu isoler deux souches de bactéries aérobies hétérotrophes et une microalgue eucaryote verte identifiée comme appartenant au genre *Chlorella* (Classe : Chlorophyceae). Dans la deuxième partie du travail, le pouvoir de bioremédiation des isolats est évalué en traitement secondaire sur du lixiviat préalablement traité. Le lixiviat jeune a subi un traitement primaire par un procédé d'oxydation avancée couplant l' H_2O_2 à l'UV dans le but de réduire le taux de la matière organique. Le traitement (biologique) secondaire est réalisé en batch, dans des fioles d'erlenmeyer agitées, incubées dans une chambre de culture éclairée. Deux systèmes sont mises en œuvre, un système simple inoculé avec le consortium bactérien seul, et un système combiné inoculé avec le consortium bactérien en association avec la microalgue. Les résultats de la comparaison entre les deux systèmes montrent que la combinaison entre les bactéries et la microalgue a conduit à une réduction significative de la matière organique par rapport au système simple, avec un taux d'élimination de la concentration du carbone organique totale (COT) de 55,7% et de la demande chimique en oxygène (DCO) de 99,97%. D'une manière générale, l'évaluation des performances de la technologie de traitement combiné microalgues-bactéries s'est révélée efficace pour la gestion des lixiviats prétraité, et prometteuse pour une mise à l'échelle au niveau pilote.

Mots clés : lixiviat, polluants organiques, *Chlorella sp.*, bactéries, bioremédiation, photobioréacteur.

Abstract

The present study is part of the search for new technologies for the treatment of polluted effluents that are cost-effective, efficient and environmentally compatible. Its aim is to investigate the potential of native consortia of microalgae and bacteria for the removal of organic pollutants from primary-treated landfill leachates. The first part of the work consists in isolating bacteria and microalgae from a sample of leachate from the landfill of Batna city. We were able to isolate two strains of aerobic heterotrophic bacteria and a green eukaryotic microalga identified as belonging to the genus *Chlorella* (Class: Chlorophyceae). In the second part of the work, we evaluated the bioremediation capacity of our isolates in secondary treatment on pre-treated leachate. The young leachate underwent primary treatment using an advanced oxidation process combining H₂O₂ and UV to reduce organic matter levels. Secondary (biological) treatment is carried out batch wise, in agitated Erlenmeyer flasks, incubated in a lighted culture chamber. Two systems were implemented: a simple system inoculated with the bacterial consortium alone, and a combined system inoculated with the bacterial consortium in association with the microalgae. The results of the comparison between the two systems show that the combination of bacteria and microalgae led to a significant reduction in organic matter compared with the simple system, with a removal rate of total organic carbon (TOC) concentration of 55.7% and chemical oxygen demand (COD) of 99,97%. Overall, performance evaluation of the combined microalgae-bacteria treatment technology has shown it to be effective for pre-treated leachate management, and promising for pilot scale-up.

Key words: leachate, organic pollutants, *Chlorella sp.*, bacteria, bioremediation, photo-bioreactor.

هذه هي تقنيات فعالة صديقة للبيئة في النفايات العضوية
هدف التحقيق هو الدقيقة والبكتيريا المحلية
مواقع الدفن المعالجة اوليا.

مختلفة التغذية هو البكتيريا الدقيقة عينة العصارة ثم عزل سلالتين البكتيري الهوائية
العضوية الدقيقة حقيقية يتم تحديدها أنها *Chlorella*
(Class: Chlorophyceae)

بتقييم إمكانية الحيوية العملية
العضوية
تقليل ية الاكسجيني

يتم تنفيذ نظامين، الدقيقة (البيولوجي)
قوارير إرلينماير البكتيريا
راعية مضيئة. البكتيريا

تظهر الأكسجين البسيط، بين نظامين بين البكتيريا الدقيقة
الكيميائي كبير 55.7 COT
99,97% DCO

تقييم تقنية المجهرية والبكتيرية أنه التجريبي.

المفتاحية: عصارة نفايات الملوثات العضوية، البكتيريا، *Chlorella sp.* لمعالجة الحيوي
الحيوي الضوئي.

INTRODUCTION

Les décharges sanitaires appelées aussi centres d'enfouissement techniques (CET) représentent un moyen abordable de stockage des déchets ménagers solides (**Trabelsi, 2011**). Ces derniers permettent d'éliminer d'importants volumes de déchets à des coûts raisonnables. Néanmoins, ce système d'enfouissement génère des volumes importants d'effluents liquides fortement pollués appelés « Lixiviats », résultant de la percolation de l'eau à travers le dépôt d'ordures (**Souahi et Lessoued, 2017**). Mal gérés, ces effluents peuvent constituer une source de contamination pour les sols, les eaux de surfaces et la nappe phréatique et représenter une menace pour l'environnement et la santé humaine.

En raison des exigences accrues en matière de normes des rejets d'effluents liquides, plusieurs technologies de traitement des lixiviats ont vu le jour, telles que les méthodes physico-chimiques, biologiques et membranaires. Cependant, ils restent inabordables dans de nombreux pays en développement, en raison de contraintes financières et techniques. Ils impliquent des processus complexes, produisent de grandes quantités de boues et utilisent de grandes quantités d'énergie qui tendent à être une ressource limitée. Par conséquent, il est très fréquent que de grands volumes d'eaux polluées soient rejetés dans l'environnement sans aucune forme de traitement (**Fito et Alemu, 2019**). En plus, l'efficacité de ces procédés à grande échelle est limitée, principalement, en raison de la forte charge polluante. Des prétraitements appropriés sont nécessaires pour surmonter ces limitations (**Bada et al., 2015**).

La biotechnologie de la culture mixte algale-bactérienne fait l'objet d'une attention considérable et se développe rapidement ces dernières années, en raison de ses avantages et de ses applications en tant que biosystème alternatif pour le traitement des eaux. Plusieurs études ont démontré que les rendements d'élimination des matières organiques et des nutriments des effluents pollués est plus importante lorsque on utilise des systèmes combinés d'algues et de bactéries. Ceci est dû à la coopération synergique entre les deux organismes (**Su et al., 2012**).

Dans des conditions d'éclairage, les algues produisent de l'O₂ par photosynthèse, dont les bactéries ont besoin pour minéraliser la matière organique. Le CO₂ libéré par les bactéries est ensuite consommé par la photosynthèse des microalgues, réduisant ainsi les émissions de gaz à effet de serre. En outre, les nutriments, tels que l'ammonium et le phosphate connus pour être la cause principale de l'eutrophisation des plans d'eau, sont aux mêmes temps éliminés par les microalgues (**Leong et al., 2020**).

L'objectif de notre travail consiste, dans un premier temps, à isoler et identifier des souches bactériennes et de microalgues indigènes à partir du lixiviat du CET de Batna. Puis, dans un

deuxième temps, à évaluer le potentiel bioremédiateur du traitement du lixiviat par la combinaison entre une microalgue indigène associée à un consortium bactérien. Et ce, en comparant les performances d'élimination de la matière organique entre : le système de traitement simple par le consortium bactérien seul et le système de traitement combiné par le consortium bactérien en association avec la microalgue autochtone.

Préalablement, le lixiviat jeune à subir un traitement primaire par un procédé d'oxydation avancé avec le système H_2O_2/UV afin de réduire la charge polluante. Le processus de bioremédiation est réalisé dans des cultures Batch à l'échelle du laboratoire en vue du développement d'un système de bioremédiation à plus grande échelle.

Notre manuscrit est organisé en deux parties : La première partie est consacrée à l'étude bibliographique, dans laquelle nous avons présenté un aperçu sur les CET, les lixiviats, des généralités sur les microalgues et quelques notions sur la bioremédiation des eaux polluées. Dans la deuxième partie du manuscrit nous avons présenté l'approche expérimentale adoptée dans notre étude, matériels et méthodes utilisées, ainsi que les principaux résultats et discussions. En fin, une conclusion qui fait une rapide synthèse des principaux résultats et propose des pistes de recherches pour la continuité du travail qui mérite d'autres perspectives.

Synthèse bibliographique

L'élimination des déchets municipaux nécessite la recherche de solutions efficaces peu onéreuses et moins nocives pour les personnes et l'environnement. Il existe différentes méthodes d'éliminations, à savoir : le compostage, l'incinération et l'enfouissement (**Benssenasse, 2012**). La technologie d'enfouissement a été développée pour gérer et éliminer efficacement les déchets solides de manière sûre et durable (**Foo et Hameed, 2009**). La conception et le fonctionnement du CET doivent permettre la maîtrise des lixiviats et la récupération des biogaz, tout en réduisant les nuisances (odeurs, animaux, incendie, explosions, bruit, pollution des sols, effet de serre et risques sanitaires) (**Bessenasse, 2012**).

En Algérie, la gestion des déchets ménagers et assimilés est fondée sur le respect de l'hygiène publique, la protection de la santé des citoyens et la protection de l'environnement à travers le Programme National de Gestion intégrée des Déchets Ménagers et Assimilés (PROGDEM) et le Plan National de Gestion des Déchets Spéciaux (PNAGDES) (**Djemaci, 2012**).

1 Définition

Un centre d'enfouissement technique ou centre de stockage des déchets (CSD) est l'ensemble des casiers divisés en alvéoles (figure01) qui représente un point d'élimination où les déchets solides sont déposés, d'une manière à minimiser leurs impacts négatifs sur l'environnement (**Mezouari, 2011**).

Ces installations sont considérées comme des grands réacteurs biochimique, physique et biologique, leur durée de vie moyenne est de vingt ans. Les CET diffèrent en fonction des conditions géologiques et hydrologiques du site, la nature des déchets stockés et le mode d'exploitation (**Kehila et al., 2015**).



Figure 01: Photo d'une alvéole de CET en cours de remplissage (Siouane, 2018).

2 Classification

Le classement est basé sur le type de déchet et la valeur du coefficient de perméabilité (K) du sol sélectionné pour l'enfouissement (Tableau 01) (Pépin, 2006). Ce coefficient détermine la vitesse de pénétration de l'eau dans le sol et s'exprime en m/s ou cm/s (Yamina, 2021).

2.1 CET de classe

Destiné aux déchets industriels tels que les résidus des incinérateurs, de la métallurgie, du forage, de la peinture, des accumulations de recyclage et des déchets minéraux du traitement chimique (sels métalliques et sels minéraux). Le coefficient de perméabilité du sol utilisé pour l'élimination de ce type de déchets est $K < 9-10$ m/s, donc le site est imperméable (Pépin, 2006).

2.2 CET de classe

Les types de déchets acceptés dans ces décharges sont : les ordures ménagères, les déchets banals commerciaux, artisanaux, industriels et agricoles non dangereux pour la santé et l'environnement (figure02). La valeur du coefficient de perméabilité du sol considérée pour ce type de rejet est $9-10\text{m/s} < K < 6-10$ m/s, donc cet endroit est semi-perméable (Pépin, 2006).

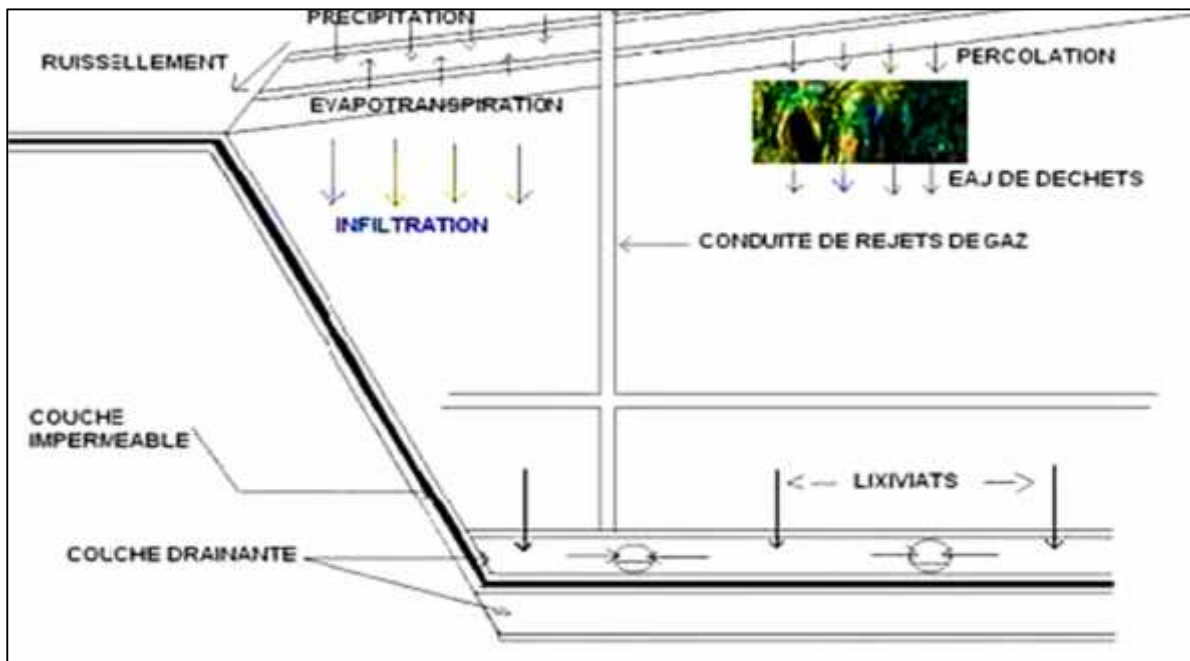


Figure 02: Schéma d'une coupe longitudinale d'un casier d'un CET de classe II (**Gestion de l'environnement, 2021**).

2.3 CET de classe

Réservé aux ordures ménagères inertes telles que les déchets de bricolage, les chantiers et les carrières. Le coefficient de perméabilité du sol utilisé pour enfouir ce type de déchets est $K > 6-10 \text{ m/s}$, donc le site est perméable (**Pépin, 2006**).

Tableau 01 :Principales classes de CET et leurs caractéristiques (**Pépin, 2006**).

Catégories	Perméabilité	Caractéristique du site
Classe I : Déchets spéciaux	Site imperméable	-Fond résistant à l'eau. -Mise en place d'une structure, contournant l'entrée des eaux de surface. -Couverture en pente, favorisant l'écoulement.
Classe II : Ordures ménagères et déchets assimilés	Site semi-imperméable	-Capacité du site d'assurer un traitement des lixiviats. -Infiltration modérée, évacuation jusqu'au point le plus bas. -Protection de la nappe phréatique contre les dangers de pollution.
Classe III : Déchets inertes	Site perméable	-La migration trop rapide des lixiviats pose un risque élevé de pollution des eaux souterraines.

3 Fonctionnement d'un CET

3.1 Réception et sélection des déchets

Le suivi des matériaux entrants est réalisé sur les fiches de transport accompagnant chaque livraison, puis le poids de déchets est estimé par le nombre des camions réceptionnés (Soud, 2017). Par la suite, les déchets transportés au CET vont subir un traitement en fonction de leurs nature (Yamina, 2021).

3.2 Déchargement au niveau des casiers

Les déchets sont ensuite vidés dans une alvéole, puis compactés à l'aide d'un engin. La partie inférieure des alvéoles est recouverte d'une géo-membrane (figure03) imperméable conçue pour fournir une barrière de sécurité passive et empêcher l'infiltration des lixiviats pollués dans le sol (Soud, 2017).

Ainsi, le liquide est récupéré dans des bassins de stockage pour un traitement ultérieur.



Figure 03 : Photo d'une alvéole de CET couverte par une géo-membrane (Ets travaux Géomembrane, 2018).

3.3 Couverture et enfouissement

Lorsqu'un casier est rempli, il est recouvert d'une membrane géotextile et d'une couche d'argile, ce qui empêche l'échappement des biogaz dans l'atmosphère (figure04). Un système de canalisation permet la récupération des gaz (méthane, CO₂, H₂S...).

L'exploitation d'un site dure vingt ans en moyenne. Après avoir leur saturation, les alvéoles seront suivies (émissions de méthane et traitement des lixiviats) pendant trente ans, le site est ensuite réaménagé avec des aménagements paysagers (Soud, 2017).

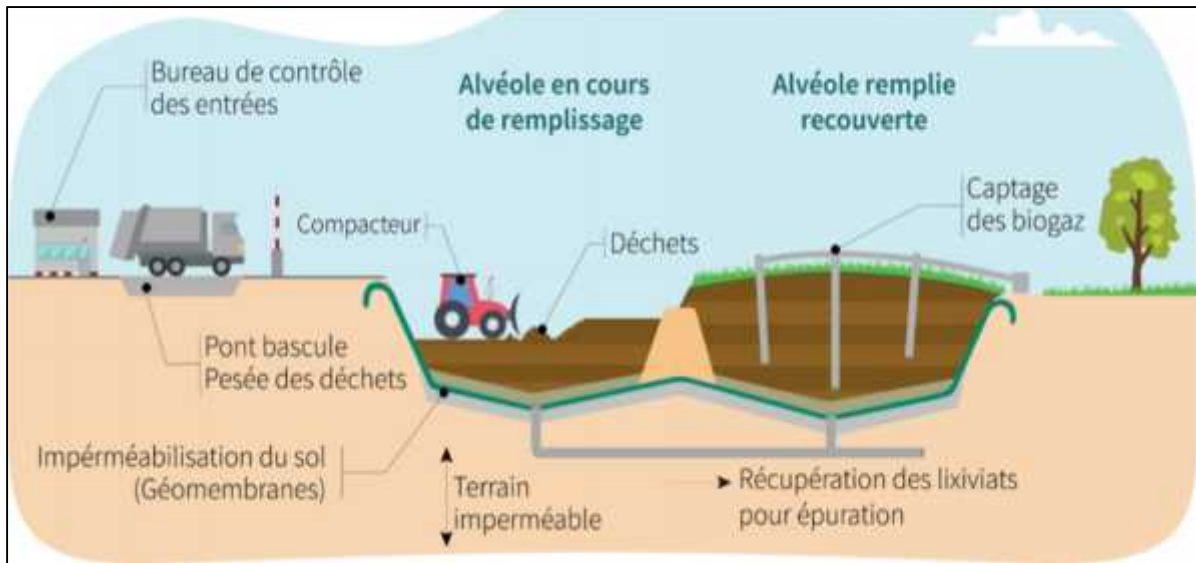


Figure 04: Schéma du fonctionnement du centre d'enfouissement (Sydevom04, 2022).

4 Nuisances pour l'environnement

4.1 Contamination par les lixiviats

Le lixiviat est l'eau qui s'infiltre dans les déchets et s'enrichit bactériologiquement et chimiquement (en matières minérales et organiques). Ainsi, le lixiviat est produit à la suite des eaux de pluie, les eaux de ruissellement, mais également en raison de la présence d'humidité dans les déchets lorsqu'ils sont enfouis. La mauvaise gestion des lixiviats (figure05), les perforations accidentelles de la géo-membrane ou par attaque chimique, causent la contamination des cours d'eau, du sol et de la nappe phréatique (Chihaoui, 2017).



Figure 05: Photo du débordement du lixiviat (Portillo, 2022).

4.2 Impact au sol

La localisation du site, ainsi que les éventuels travaux entraînent l'altération de l'habitat existant. Des modifications paysagères du relief, de la végétation et l'augmentation du ruissellement des eaux pluviales aussi peuvent entraîner l'érosion des sols (**Chihaoui, 2017**).

4.3 Pollution par biogaz

Le biogaz est un mélange de gaz (principalement CO₂, CH₄, H₂S) et de composés organiques volatiles. Ces gaz ont des odeurs désagréables, nauséabondes et irritantes. Ils altèrent la qualité de l'air, provoquent l'effet de serre et ont un impact négatif sur la santé humaine (**Chihaoui, 2017**).

4.4 Incidence sur l'eau

La modification importante du relief et du système d'étanchéité installé au niveau des CET augmentent le ruissellement des eaux pluviales et diminuent les infiltrations de ces dernières dans le sol. Par conséquent, l'approvisionnement en eau souterraine du site pourrait être affecté(**Chihaoui,2017**).

Les lixiviats générés par les centres d'enfouissement techniques constituent un problème environnemental majeur, car ils représentent une source potentielle de pollution de l'eau, du sol et de l'air (**Pépin, 2006**).

1 Définition

Le lixiviat ou « jus de décharges » est une solution liquide qui se forme en raison de la percolation de l'eau dans les déchets solides. Il peut contenir des substances minérales, organiques et une contamination microbienne (**Aloueimine, 2006**), ce qui peut les rendre délétères pour l'environnement et la santé humaine.

Cette définition est proche de celle adoptée par la législation européenne qui définit le lixiviat comme « tout liquide percolant à travers un dépôt d'ordures et contenu dans la décharge ou émis par celle-ci » (Art 2(i) Le conseil de l'Union Européenne directive sur les décharges, adoptée le 26 avril 1999).

2 Dégradation des déchets et formation du lixiviat

Après l'enfouissement des déchets, de grandes quantités de composés organiques et inorganiques sont produites par des processus de biodégradation aérobie et anaérobie (actions biochimique des enzymes microbiennes), ou encore par des mécanismes physico-chimiques résultant d'interactions entre l'eau et les déchets (dissolution, complexation, potentiel d'oxydo-réduction, adsorption, etc.) (**Grisey, 2013**).

On distingue quatre phases de biodégradation (figure 06) des déchets organiques à l'intérieur du tas (**Lanini, 1998**) :

- a) **Hydrolyse:** Les molécules complexes sont réduites en composés solubles plus petits. Ainsi, les glucides sont convertis en sucres simples, les lipides en acides gras à chaîne courte et les protéines en acides aminés et peptides. Cette étape est partiellement aérobie
- b) **Acidogenèse :** Les produits d'hydrolyse se décomposent en ammoniac (NH_3), hydrogène, dioxyde de carbone et acides organiques légers tels les acides gras volatils (AGV).
- c) **Acétogenèse:** Ces réactions convertissent les AGV en acide acétique, en hydrogène et en dioxyde de carbone. Cette étape est réalisée par des micro-organismes anaérobies.

- d) **Méthanogène** : Correspond à la production de méthane où l'acétate est converti en CO_2 et CH_4 . Les bactéries méthanogènes sont strictement anaérobies, cela rend l'étape finale du processus de dégradation très dépendante des étapes précédentes.

Lanini. (2001), ajoute une dernière étape appelée « maturation-stabilisation », qui correspond à la fin de la méthanogène et la réémergence de l'oxygène dans le milieu. La formation de lixiviat (figure 07) est donc le résultat de l'infiltration des eaux à travers le tas de déchets entraînant la dissolution de ses composants (**Laceb et Meziani, 2013**). Le lixiviat est acheminé vers des bassins de stockage pour un traitement ultérieur (**Mohammedi, 2016**).

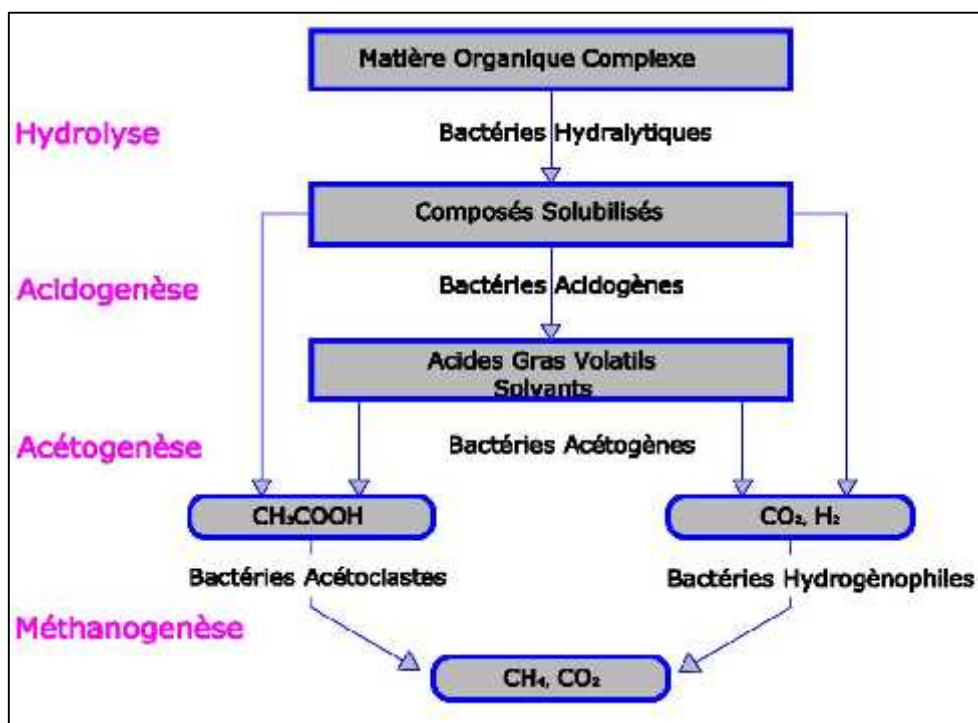


Figure 06 :Schéma résumant les étapes de biodégradation de la matière organiques dans un massif de déchets (**Mezouari, 2011**).

Ce processus d'infiltration est affecté par plusieurs facteurs qui se répartissent en deux catégories (**Grisey, 2013**) :

- a) Facteurs qui influent directement sur l'humidité du tas de déchets : précipitations, fonte des neiges, intrusion d'eau souterraine, taux d'humidité initial, irrigation, recirculation des lixiviats et décomposition des déchets.

- b) Facteurs influant sur la répartition du lixiviat ou de l'humidité dans le matériau : prétraitement, compactage, perméabilité, granulométrie, densité, couverture, âge de dépôt, végétation, sécurisation des casiers, génération de chaleur et de biogaz.

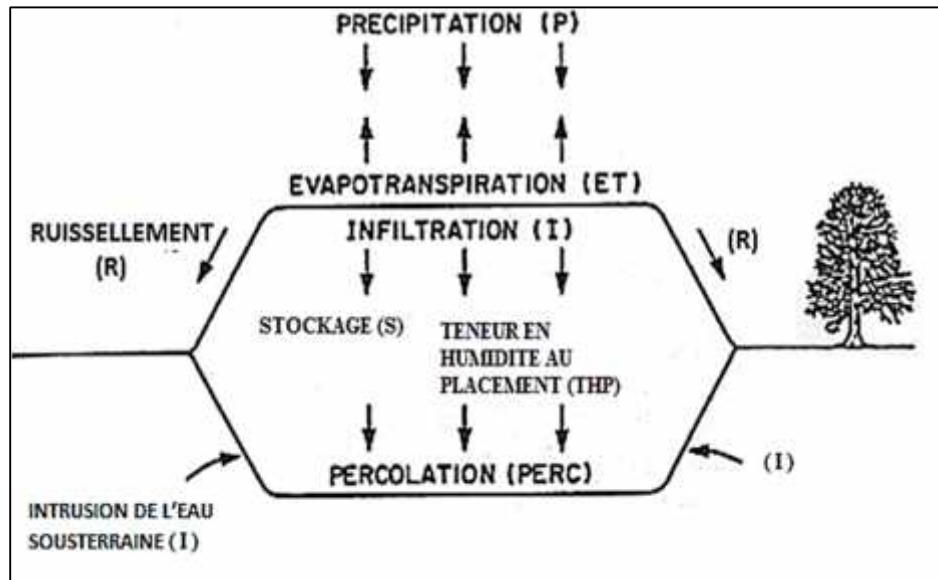


Figure07 :Schéma représentant le mécanisme de formation des lixivats (Mohammedi, 2016).

3 Composition du lixiviat

La composition du lixiviat diffère en fonction de la nature des déchets. Par ailleurs elles sont constituées principalement de :

3.4 Matière organique dissoute ou en suspension :

A l'instar des AGV qui représente 95% du carbone organique du lixiviat, les substances humiques et fulviques (Trabelsi, 2011).

3.5 Composés minéraux majeurs :

La forme ionique sont observée durant la phase méthanogène avec une faible concentration (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} et Mn^{2+}). Les sulfates (SO_4^{2-}) sont réduits en sulfure (S^{2-}), les ions (Na^+ , K^+ et HCO_3^-) restent presque toujours dans les mêmes concentrations et les ions d'ammonium (NH_4^+) se trouvent dans des fortes concentrations (Chadli, 2015).

3.6 Métaux lourds

Ce sont solubilisés par la formation de sulfure (S^{2-}) et de carbonate (CO_3^{2-}). La libération de ces métaux (Zn, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb...) dans l'environnement entraîne des problèmes de pollution très graves (**Chadli, 2015**).

3.7 Micro-organismes :

Bactéries, Champignons, Virus... (**Chadli, 2015**).

4 Paramètres physicochimiques :

La caractérisation du lixiviat passe par la mesure de quelques paramètres physico-chimique (Tableau 02), à savoir :le pH, la demande chimique en oxygène (DCO), la demande biologique en oxygène (DBO), le carbone organique total (COT), la conductivité électrique, l'azote total Kjeldahl (NTK) et le dosage des métaux (**Pépin, 2006**).

4.1 Rapport (DBO/DCO)

La demande biologique en oxygène (DBO) est définie par la quantité d'oxygène consommé par les micro-organismes présents dans le lixiviat. Alors que la demande chimique en oxygène (DCO) est quantifiée pour l'évaluation de l'état d'oxydation des substances présentes dans ce dernier (**Pépin, 2006**). La biodégradabilité de la matière organique dans le lixiviat est exprimée par le rapport (DBO5/DCO) qui est lié à l'âge du lixiviat donc au degré de stabilité de ce liquide (**Pépin, 2006**).

4.2 Rapport (DCO/COT)

Le carbone organique total est le paramètre le plus adapté pour évaluer la matière organique contenue dans un lixiviat (**Berthe, 2006**). Le rapport DCO/COT caractérise la matière organique dans le lixiviat, il dépend de l'état d'oxydation du carbone organique. Les composés organiques oxydés sont souvent des produits de dégradation et des sous-produits de l'activité microbienne dans les décharges. Leur rapport augmente avec l'âge car ces composés deviennent des sources d'énergie moins facilement disponibles pour la croissance microbienne (**Fettouch, 2014**).

4.3 pH

Au stade méthanogène, le lixiviat est caractérisé par un pH neutre. Par contre, les valeurs du pH sont très acides au stade oxygéné à cause de la production des acides organiques et autres substances organiques biodégradables de faible poids moléculaire (**Fettouch, 2014**).

Tableau 02 :Caractéristiques des lixiviats d'ordures ménagères (Mohammedi, 2016).

	Paramètres	Valeur limites
Paramètres globaux	pH	4,5 – 9
	Conductivité	2500 - 25000 $\mu\text{S}/\text{cm}$
	COD	30 - 27700 mg/L
	DBO5	20 - 57000 mg/L
	DCO	140 - 90000 mg/L
	NTK	14 - 2500 mg/L
Principaux ions (mg/L)	Ammonium	50 – 1800
	Calcium	10 - 7200
	Fer	1 - 5
	Manganese	0,03 - 1400
	Potassium	50 - 3700
	Sodium	70 - 7700
	Carbonate	610 - 7320
	Chlorure	150 - 4500
	Sulfate	8 – 7750

5 Types de lixiviats

À travers l'évolution de la matière organique enfouie donc la biodégradabilité des déchets au cours du temps, on peut distinguer trois types de lixiviats :

5.1 Lixiviats jeunes (<5ans)

Ils correspondent à la première phase non méthanogène de l'évolution des décharges. Ces lixiviats sont caractérisés par des charges organiques élevées relativement biodégradables (seuil de biodégradabilité DBO5/DCO >0,3)principalement composées d'AGV, un pH acide (<6,5) et des charges élevées en métaux lourds (jusqu'à 2 g/L) (Tableau 03)(Trabelsi, 2011).

5.2 Lixiviats intermédiaires (5 à 10 ans)

Ces lixiviats correspondent à la phase méthanogène stable qui représente le passage entre le lixiviat jeune et le lixiviat stabilisé. Ils sont caractérisés par une diminution de la charge organique et les acides gras volatils (20 à 30% de la charge du lixiviat) au profit de composés de poids moléculaire plus élevé. La présence de ces composés tend à réduire la biodégradabilité du lixiviat. En conséquence, le pH se rapproche de la neutralité et la charge métallique devient négligeable (Mohammedi, 2016).

5.3 Lixiviats matures (> 10 ans)

Appelé aussi le lixiviat vieux, ils correspondent aux stades de maturation de la décharge. Ils se caractérisent par des faibles charges organiques et se composent principalement des substances humiques et fulviques à haut poids moléculaire et ne sont pas facilement biodégradables ($DBO_5/DCO < 0,1$) (Mohammedi, 2016).

Tableau 03:Principales caractéristiques des différents types de lixiviats (Trabelsi, 2011).

	Lixiviats jeunes	Lixiviats intermédiaires	Lixiviats matures
Age de la décharge	< 5 ans	5 à 10 ans	> 10 ans
pH	< 6,5	6,5 à 7,5	> 7,5
DCO (g/L)	10 à 20	5 à 10	< 5
DBO₅/DCO (Biodégradabilité)	> 0,5 Bonne	0,1 à 0,5 Assez faible	< 0,1 Très faible
Charge organique AGV (% du COT)	> 70 Prédominance des acides gras volatils (AGV)	5 à 30 Réduction des acides gras volatils + acides humiques et fulviques.	< 5 Prédominance des Macromolécules

6 Procédés du traitement des lixiviats

La charge polluante élevée présente dans le lixiviat nécessite un traitement d'épuration avant d'être rejeté dans le milieu naturel. Les techniques utilisées pour le traitement des lixiviats peuvent être regroupés en quatre grandes catégories, chacune à ses propres avantages et inconvénients. Une combinaison de procédés biologiques et physico-chimiques est considérée comme la technique la plus appropriée pour le traitement et la gestion des eaux usées à haute résistance (Tirry, 2015).

6.1 Méthodes par transfert

6.1.1 Traitement combiné avec les eaux usées domestiques

La solution pratique qui a été utilisée depuis quelques années pour traiter les lixiviats est les stations de traitement des eaux usées en raison de leur faible coût d'exploitation et la facilité d'entretien. Avec le temps, la présence des grandes concentrations des polluants organiques et inorganiques dans le lixiviat diminue l'efficacité du traitement (Tirry, 2015).

6.1.2 Recyclage

Cette technique consiste à recycler le lixiviat *via* le corps de décharge. Elle est caractérisée par une diminution du temps pour la stabilité des déchets et de la quantité finale des lixiviats récupérés (en raison de l'évaporation élevée des pertes). Cependant, cette opération n'est pas toujours applicable dans les domaines où la balance d'eau implique une accumulation de liquide dans la décharge (Tirry, 2015).

6.1.3 Lagunage

C'est un moyen utilisé dans les pays en voie de développement, en raison de leur faible coût de fonctionnement et leur simplicité. Néanmoins, le lagunage ne permet pas d'atteindre les normes de rejet à cause du changement des conditions qui perturbe l'activité microbienne (Maynard, 1999).

6.2 Méthodes physico-chimiques

6.2.1 Flottation

La flottation est appliquée pour l'élimination des colloïdes, des ions, des macromolécules, des micro-organismes et des fibres. Mais elle est utilisée essentiellement pour l'élimination des acides humiques comme une étape post-traitement de lixiviat, c'est-à-dire, après le traitement biologique (Zouboulis *et al.*, 2003).

6.2.2 Coagulation-floculation

Elle est utilisée comme un prétraitement pour les vieux lixiviats avant l'osmose inverse et avant les procédés biologiques ou comme la dernière étape de traitement afin d'éliminer la matière organique bio-récalcitrante. Les coagulants couramment utilisés sont le sulfate d'aluminium, le sulfate ferreux, le chlorure ferrique et le chlorosulfate ferrique (Silva *et al.*, 2004). La production d'une grande quantité de boues et l'augmentation de la concentration de l'aluminium ou du fer dans la phase liquide représentent les principaux inconvénients de ce procédé (Silva *et al.*, 2004).

6.2.3 Précipitation chimique

Elle est utilisée pour l'élimination des composés organiques bio-récalcitrants, de l'azote ammoniacal et des métaux lourds par la précipitation chimique des ions dans la solution après leur transformation en composés insolubles par des réactions chimiques. Parmi les précipitants utilisés sont la struvite (phosphate d'ammonium magnésien) ou la chaux (Fettouch, 2014). La forte dose de précipitant nécessaire, la sensibilité du processus au pH, la

production de boue et la nécessité de poursuivre l'élimination des boues sont les principaux inconvénients de cette méthode (**Fettouch, 2014**).

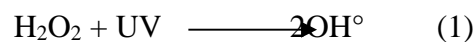
6.2.4 Adsorption

Le charbon actif en colonne ou sous forme de poudre est le principal matériau utilisé dans la méthode d'absorption des polluants, quelle que soit la concentration initiale de la matière organique. L'adsorption donne un bon taux de réduction de la DCO par rapport aux méthodes chimiques. La nécessité de régénérer fréquemment les colonnes et la forte consommation de charbon actif sont les principaux inconvénients de ce traitement (**Fettouch, 2014**).

6.2.5 Oxydation chimique

Les procédés d'oxydations avancées (POA) sont utilisés pour le traitement des effluents contenant des composés toxiques et non biodégradables (**Tirry, 2015**). Parmi eux sont les procédés photo-catalytiques en phase homogène ou hétérogène (H_2O_2/UV , O_3/UV et $Fe^{2+}/H_2O_2/UV$ et TiO_2/UV) (**Zaviska et al., 2009**).

Le procédé d'oxydation avancée par H_2O_2/UV se produit par l'absorption des photons UV dans une solution polluante à une longueur d'onde de 200-310 nm (Eq.1) (**Cédât, 2019**). Le rendement de production des radicaux hydroxyles (OH°) est environ 50 % (**Morin-Crini et Crini, 2020**). Ces espèces oxydantes sont hautement actives susceptibles de réagir avec la quasi-totalité des molécules organiques. Ces composés réagissent avec les doubles liaisons $C=C$ et attaquent les noyaux aromatiques et les composants majeurs des substances réfractaires. Les radicaux hydroxyles sont les plus puissants que l'on puisse utiliser dans le domaine du traitement des eaux usées et lixiviat de décharge (**Zaviska et al., 2009**).



6.3 Méthodes biologiques :

Le traitement biologique est très efficace pour l'élimination des matières organiques et azotées des jeunes lixiviats (rapport DBO/DCO > 5) (Figure 08). Le traitement biologique est généralement utilisable grâce à sa fiabilité, sa simplicité et de son faible coût (**Fettouch, 2014**).

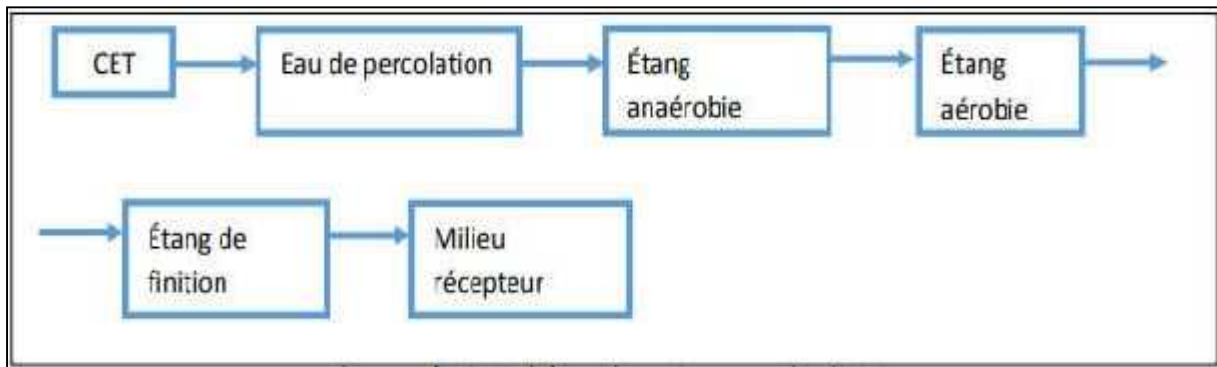


Figure 08 :Schéma explique le parcours du Traitement biologique de lixiviat (**Wikimemoire, 2021**).

6.3.1 Traitement Aérobie

Les traitements biologiques aérobies se basent sur les micro-organismes présents naturellement dans le milieu (lixiviat) pour la dégradation partielle des polluants organiques biodégradable et la nitrification de l'azote ammoniacal. Elle produit du dioxyde de carbone et des boues (**Fettouch, 2014**). Les procédés les plus approuvés sont les étangs aérés où l'apport d'oxygène est naturel (par le vent ou système de cascade), les procédés classiques des boues activées et des réacteurs séquentiels discontinus dans ces deux derniers la source d'oxygène est artificielle (par des turbines ou diffusion de microbulles) (**Fettouche, 2014 ; Tirry, 2015**).

6.3.2 Traitement anaérobie

Le procédé anaérobie de la digestion de lixiviat se caractérise par la conservation d'énergie et la production de très peu de matières solides. Le CH_4 produit peut être utilisé pour réchauffer le digesteur qui travaille habituellement à 35°C (**Fettouch, 2014**).

6.4 Méthodes membranaires

6.4.1 Osmose inverse

L'osmose inverse est un système de purification de l'eau qui maintient les matières en solution grâce à un système de filtration très fin qui ne laisse passer que les molécules d'eau. L'osmose inverse utilise une membrane semi-perméable pour séparer les solides dissous, les matières organiques, les virus et les bactéries de l'eau (Figure 09). Ce procédé est dit « inverse » car il nécessite une pression d'environ 30 à 80 bars pour forcer l'eau à travers la membrane (**Laceb et Meziani, 2013**).

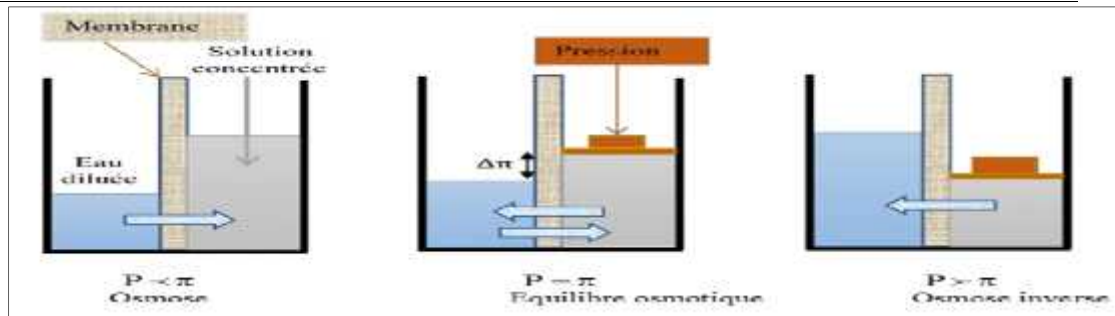


Figure09 :Schéma représentant le principe d'osmose inverse (Byrne, 2013).

6.4.2 Nano-filtration

La nano filtration a trouvé sa place dans la réduction des composés organiques récalcitrants et des métaux lourds dans les effluents des décharges. Ce procédé permet le mouvement des particules d'un poids moléculaire allant jusqu'à 300 g/mol grâce aux interactions électrostatiques entre les solutés et les membranes. Donc le principe est de séparer les composés dissous dans l'eau en ions monovalents ou divalents (Laceb et Meziani, 2013).

6.4.3 Ultrafiltration et microfiltration

Ces méthodes membranaires ont la capacité d'éliminer les solides en suspension et réduisent la bio-charge sans éliminer les micropolluants. Ils sont utilisés dans les bioréacteurs à membrane, car ils s'aident à clarifier l'eau et conserver la biomasse (Laceb et Meziani, 2013).

Les microalgues font partie des premiers organismes à coloniser l'écosystème de notre planète. Ils ont contribué à la stabilité de l'atmosphère terrestre grâce à la photosynthèse, ils consomment du CO₂ et produisent de la matière organique et de l'oxygène essentiel à la vie (Asfour, 2019).

1 Définition

Les microalgues ou phytoplancton sont des organismes microscopiques (figure 10), photosynthétiques qui peuvent coloniser de nombreux habitats (eaux douces, salées ou hypersalées, sols, etc.) (Crenn, 2016). Elles constituent un sous-ordre des eucaryotes qui possèdent un noyau contrairement aux cyanobactéries, qui sont des microalgues procaryotes (dépourvu de noyau) (Gaignard, 2019).

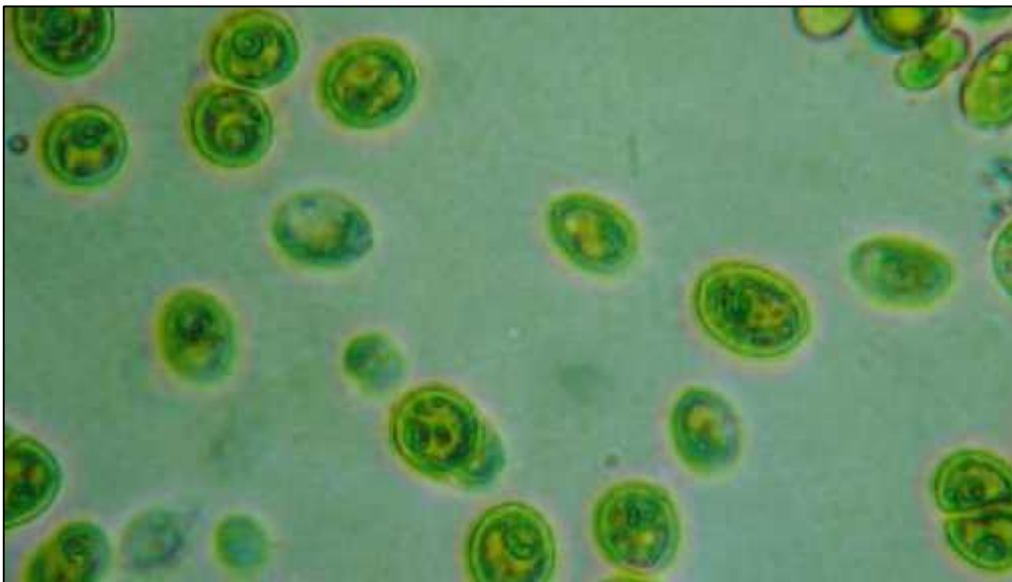


Figure 10 : Photo au microscope photonique de cellules de microalgue à l'état frais (Pukkaherbs, 2013).

2 Classification

Les microalgues appartiennent aux deux grands règnes du vivant (Tableau 04) : les microalgues procaryotes et les eucaryotes (Asfour, 2019).

Le tableau ci-dessous montre les différents groupes des microalgues.

Tableau 04: Classification des microalgues et leurs caractéristiques.

Règnes	Embranchement	N° D'espèces	Caractéristiques	Références
Procaryotes	Les cyanophyta (Cyanobactéries)	Environ 2000 espèces	Bactéries de coloration bleue-verte, photosynthétiques qui possèdent de chlorophylle, peuvent convertir l'azote atmosphérique inerte en une forme organique, comme le nitrate ou l'ammoniac.	Alcaine, 2010
	Les prochlorophyta	/	Bactéries photosynthétiques qui se caractérisent par un pigment unique avec une absence totale de phycobilibiprotéines, mais une présence de chlorophylles a et b.	Asfour, 2019
Eucaryotes	Les bacillariophyta (Diatomées)	Environ 100000 espèces	Carapace de silicium, responsables de 20% de la production carbonée.	Alcaine, 2010 ; Asfour, 2019
	Les dinophyta (Dinoflagellés)	4000 espèces	Eucaryotes unicellulaires de couleur rouge-orangé. Présence de deux flagelles qui leur permettent de capturer la matière organique.	Asfour, 2019
	Les rhodophyta	Plus de 10000	Microalgues de couleur rouge, caractérisées par la présence de plastides avec un pigment rouge.	Abadli et Harkati, 2015
	Les chlorophyta	Environ 8 000 espèces	Microalgues eucaryotes de couleur verte, sont des organismes photosynthétiques caractérisés par la présence de chloroplastes avec des chlorophylles a et b.	Abadli et Harkati, 2015
	Les chrysophyta	Environ 1000 espèces	Microalgues dorées, parois cellulaires composées de cellulose avec de grandes quantités de silice.	Alcaine, 2010
	Les euglenophyta	Plus de 800 espèces	Microalgues unicellulaires flagellées, présentent des réserves constituées essentiellement d'une substance glucidique (le paramylon).	Cantin, 2010
	Les haptophyta (Prymnésiophycées)	300 espèces	Microalgues unicellulaires, flagellées et caractérisées par la présence d'un appendice filamenteux nommée l'haptonème entre deux flagelles lisses.	Asfour, 2019
	Les ochrophyta (Eustigmatophycée)	Environ 20 espèces	Microalgues unicellulaires avec un ou plusieurs plastides de couleur vert-jaunâtre. La plupart ont une forme coccoïde.	Asfour, 2019

3 Ecologie

Les microalgues occupent la majeure partie de la niche écologique et se trouvent principalement dans les milieux aquatiques. Ils sont capables de coloniser le sol et une large gamme de supports tels que les rochers et les arbres. Grâce à la structure simple de la cellule microalgale et son métabolisme orienté vers la production d'énergie, les microalgues peuvent vivre dans des conditions dites « extrêmes » comme les eaux de fonte de glace, les régions arides à semi-arides (Sialve et Stayer, 2013).

4 Structure cellulaire et physiologie

Selon les espèces, les microalgues peuvent varier en taille de quelques micromètres à plusieurs centaines (Boileau, 2015). Elles possèdent une grande variété de molécules intracellulaires, entre autres, les lipides (jusqu'à 80% de son poids sec) sous formes des triglycérides, les protéines, les vitamines (B1, B6, B12, C, E, K1), les pigments comme les chlorophylles, les caroténoïdes (1% à 2%) et les phycobiliprotéines (Elhifnawy, 2016).

C'est dans le chloroplaste et plus précisément dans la membrane thylakoïde, que la réaction d'oxydoréduction se produit grâce aux pigments photosynthétiques (Chlorophylle a,b,c et d) réduisant le dioxyde de carbone à partir de l'hydrogène de l'eau en sucres simples et O₂. La figure 11 montre la structure principale des cellules d'algues eucaryotes (Boileau, 2015). La membrane plasmique phospholipidique, contient aussi des polysaccharides et de protéines plus ou moins complexes. Elle est chargée négativement en raison de la composition des groupes fonctionnels qui lui sont associées. Elle rend les cellules résistantes aux ions métalliques potentiellement toxiques (Elhifnawy, 2016).

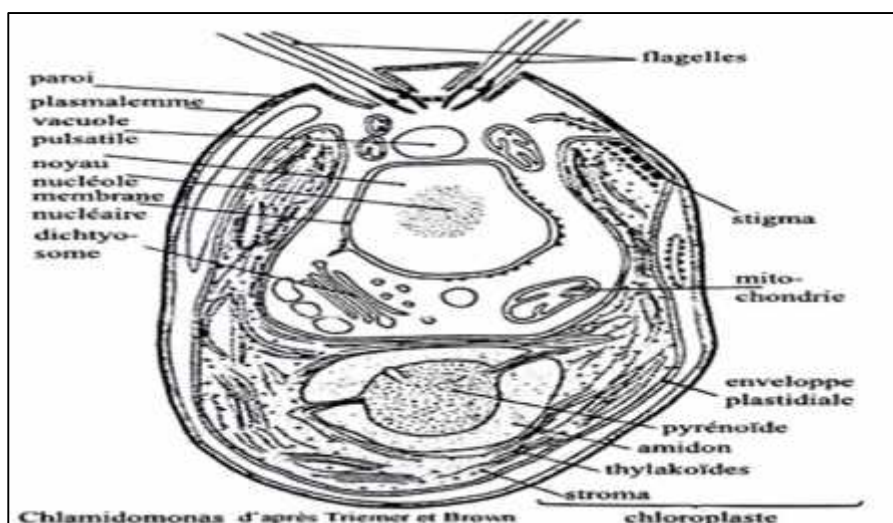


Figure 11 : Dessin de la structure cellulaire d'une microalgue eucaryote (Futura, s.d.).

5 Facteurs affectant la croissance des microalgues

La culture des microalgues est influencée par plusieurs paramètres environnementaux et biologiques, qui dépendent des caractéristiques intrinsèques de l'algue et de la géométrie du système de production. Ces paramètres affectent l'activité photosynthétique et la productivité de la biomasse. Ce sont des facteurs abiotiques tels que la lumière, la source de carbone, la température, la salinité, le pH, la teneur en O₂ et des facteurs biotiques tels que les bactéries, zooplancton et les insectes (Asfour, 2019).

5.1 Facteurs abiotiques

5.1.1 Lumière

Ce flux continu représente la ressource énergétique au métabolisme photosynthétique des microalgues (Sialve et Stayer, 2013). Lors de la photosynthèse, les microalgues vont capter les rayons lumineux grâce à leurs pigments pour obtenir l'énergie. Les microalgues exigeant en lumière (photophiles) se développent à la surface. Celles ayant besoin de peu de lumière (sciaphiles) se développent en profondeur (Ouali et Smail, 2017).

5.1.2 Température

La température est un facteur qui influence le taux de croissance et le métabolisme des microalgues (Asfour, 2019). Le changement important de celle-ci peut modifier la composition chimique intracellulaire et la nature des composés présents dans le milieu par la suite. Il a été démontré que chaque espèce de microalgue possède une température optimale de développement (Ouali et Smail, 2017).

5.1.3 Dioxygène

La concentration d'oxygène dissout est liée fortement à la température qui a un effet sur sa solubilité. Plus la température augmente plus la concentration d'oxygène diminue dans le milieu. Lors d'une photosynthèse intense et une oxygénation importante du milieu l'excès d'oxygène peut devenir toxique pour les cellules algales (Elhifnawy, 2016).

5.1.4 pH

La plupart des microalgues se développent correctement dans des milieux dits alcalin (Gaignard, 2019). Ce paramètre dépend principalement de la teneur en carbone inorganique dans l'eau (CO₂, H₂CO₃, HCO₃⁻ et CO₃) (Khaldi et Zeggaoui, 2014).

Le pH augmente lors de la photosynthèse à cause de la consommation du CO_2 et la production d' O_2 et aussi lors de la consommation des nitrates qui vont libérer des ions OH^- . À l'inverse, la diminution du pH est due à la consommation d'ions NH_4^+ et la libération d'ions H^+ dans le milieu (**Gaignard, 2019**).

5.1.5 Salinité

La croissance des microalgues est influencée par la salinité de leur habitat naturel. Les changements de ce facteur affectent les microalgues de trois manières : le stress osmotique, le stress ionique et les changements des rapports ioniques cellulaires dus à la perméabilité ionique sélective de la membrane (**Alcaine, 2010**).

5.1.6 Macronutriments

a) Carbone

Le CO_2 atmosphérique est la source inorganique principale utilisée par ces microorganismes. Certaines espèces sont capables d'utiliser des glucides ou des acides organiques simples comme le glucose, le glycérol ou l'acétate comme source de carbone organique (**Gaignard, 2019**). Les microalgues ont la capacité de modifier le type de carbone qu'elles utilisent selon les conditions dans lesquelles elles se trouvent (**Asfour, 2019**).

b) Azote

L'azote (N) est indispensable pour la croissance des microorganismes photosynthétiques, il constitue entre 1 et 10 % de la biomasse sèche (**Gaignard, 2019**). Il peut être utilisé par les algues sous forme organique telle que l'urée et les acides aminés ou inorganique telle que le nitrate, le nitrite et l'ammoniac (**Alcaine, 2010**).

L'azote entre dans la composition des acides nucléiques et des protéines, est utilisé dans les principales voies métaboliques des microalgues. Par conséquent, l'augmentation de sa concentration entraîne une productivité cellulaire et protéique importante et une synthèse plus significative de chlorophylle. Par contre, une carence en azote induit une accumulation importante de réserves lipidiques (acides gras polyinsaturés) et de polysaccharides, en parallèle, une limitation de l'activité photosynthétique et cellulaire (**Khaldi et Zeggaoui, 2014**).

c) Phosphore

Le phosphore est parmi les nutriments importants qui influencent la croissance des microalgues. Il est assimilable par les cellules algales à partir des sources inorganiques (PO_4^{3-} et $\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$) et organiques. Ces derniers peuvent être consommable par les espèces autotrophes qui utilise des phosphatases pour hydrolyser les groupes phosphate (Alcaine, 2010 ;Asfour, 2019).

5.1.7 Micronutriments

Plusieurs micronutriments sont nécessaires pour la croissance des microalgues et sont présents en très faible quantité dans le milieu naturel. Leur concentration varie en fonction des saisons et des conditions environnementales. Parmi ces éléments on cite : le soufre (S), le fer (Fe), le magnésium (Mg), le potassium (K), le sodium (Na) et en concentration moindre « les oligoéléments » tels le cuivre (Cu), le manganèse (Mn), le zinc (Zn), le cobalt (Co), le molybdène (Mo) (Khaldi et Zeggaoui, 2014).

La carence en microéléments influence le fonctionnement cellulaire. Par exemple une baisse de la concentration du fer va induire une baisse des constituants de l'appareil photosynthétique (Clement-larosière, 2012). Pour une croissance optimale, certaines microalgues ont besoin des vitamines supplémentaires comme le B12 (Alcaine, 2010).

5.1.8 Produits toxiques

Parmi les produits toxiques pour les microalgues on cite : les métaux lourds ; les pesticides ; les détergents. La présence de ces produits à une concentration élevée inhibe leur croissance (Elhifnawy, 2016).

5.2 Facteurs biotiques

5.2.1 Bactéries

Certaines études font référence à des interactions entre algues et bactéries, ces interactions sont de deux types, antagonistes ou synergiques (Marcilhac, 2014) (Voir chapitre IV : Interaction bactéries-microalgues).

5.2.2 Zooplancton et insectes

En plus des interactions avec les communautés bactériennes, les cultures de microalgues peuvent être prédatées par le zooplancton (rotifères) ou les larves d'insectes (Becker, 1994).

6 Applications des microalgues en biotechnologie

La diversité des espèces et la grande variété des métabolites produites par les microalgues permettent des vastes applications dans de nombreux secteurs (figure 12). Il est possible de valoriser la biomasse brute (vivante ou morte) ou de l'utiliser comme vecteur pour la production des molécules d'intérêt (vitamines, lipides, protéines, pigment et autres composés cellulaires) (Person, 2011).

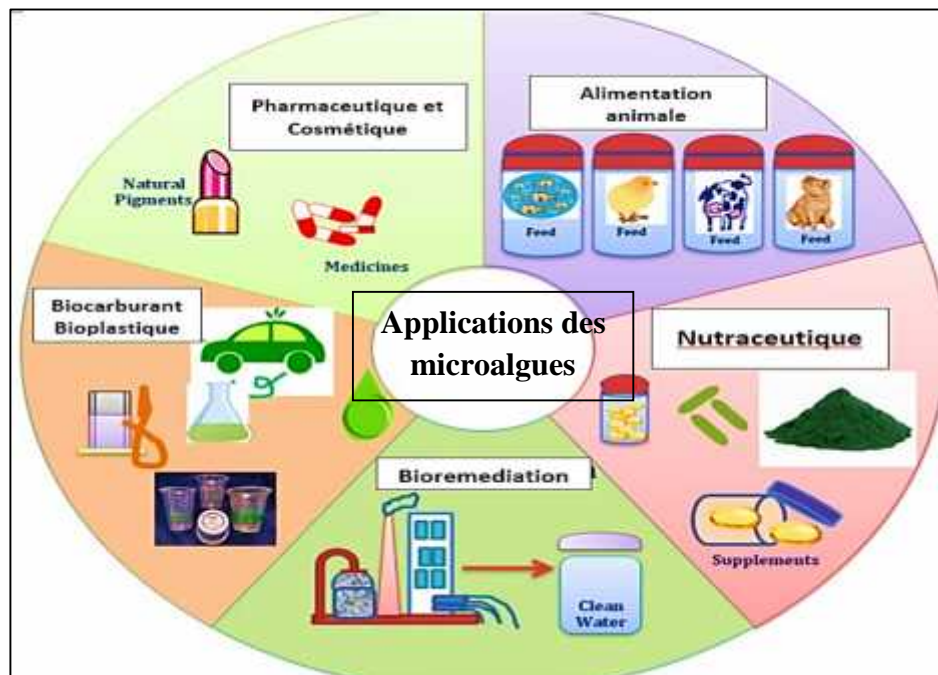


Figure 12 :Schéma résumant les domaines d'applications des microalgues (Sumi, 2009).

6.1 Domaine alimentaire

Certains peuples autochtones d'Afrique, d'Amérique du Sud et du Mexique consomment des microalgues récoltées directement dans leur milieu naturel, pour profiter des vitamines et des nutriments. Les microalgues destinées à la consommation humaine sont commercialisées sous divers formes : comprimés, gélules, suspensions et extraits solubles en ampoules. Elles peuvent également être ajoutées aux pâtes, aux bonbons, aux boissons, aux céréales et aux biscuits (Person, 2011).

En plus de leur utilisation en alimentation humaine, les microalgues entrent dans la composition de l'alimentation des animaux d'élevage et en aquaculture (poissons, coquillages, etc.) (Pauline et al., 2006).

6.2 Domaine pharmaceutique

Leur grande diversité biochimique fait des microalgues une source intéressante des molécules bioactives et toxines pouvant être utilisées dans le développement de nouveaux médicaments. Les cyanobactéries suscitent actuellement un grand intérêt dans le développement de nouvelles molécules à activité antibiotique, antiparasitaires et pharmacologique. On cite l'exemple de la tubercidine, efficace *in vitro* contre certaines leucémies lymphocytaires. Les phycobiliprotéines sont des chromoprotéines utilisées dans les immunodosages, le marquage fluorescent et la microscopie à fluorescence (**Filali, 2012**).

Les microalgues synthétisent des antioxydants naturels utilisés dans diverses affections chroniques (athérosclérose, arthrose, cancer, maladie de Parkinson) et mêmes pour traiter certains types d'inflammation (**Filali, 2012**).

6.3 Domaine cosmétique

L'extrait d'algues aux propriétés antioxydants est utilisé pour fabriquer des produits de soins capillaires et des crèmes solaires pour le visage et la peau (**Filali, 2012**). Les deux microalgues largement utilisées en cosmétique sont *Arthrospira* et *Chlorella*, leurs extraits sont utilisés dans la réduction des rides et des signes du vieillissement cutané (**Filali, 2012**).

6.4 Domaine environnemental

6.4.1 Traitement des effluents liquides

Elles sont utilisées depuis longtemps pour le traitement des eaux usées : il s'agit du lagunage, associé à un processus naturel de biodégradation en milieu aqueux (**Person, 2011**). Ce traitement dit « tertiaire » (figure13) augmente l'efficacité épuratoire du système (**Gael et Bruno, 2014**). Leur capacité à absorber les éléments nutritifs (nutriment azotés et phosphorés) est mise à profit pour éliminer les éléments résiduels des effluents, ainsi réduire le phénomène d'eutrophisation du milieu aquatique (**Filali, 2012**).

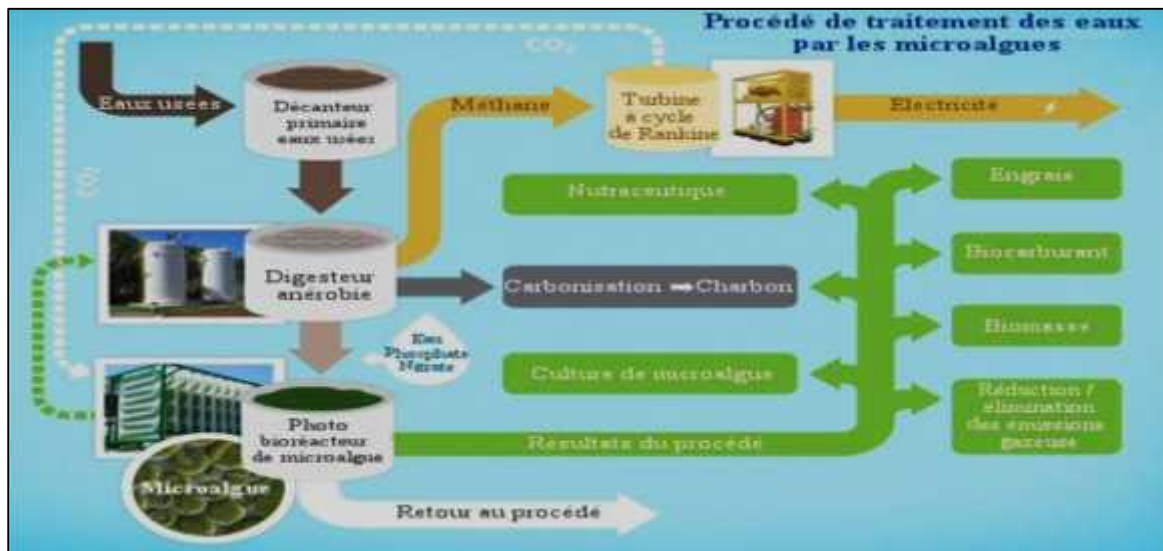


Figure 13 : Schéma d'un procédé de traitement des eaux usées par les microalgues

(Filali, 2012).

6.4.2 Elimination des métaux lourds

Les microalgues se caractérisent par une certaine tolérance à la présence de ces métaux et des rendements élevés de fixation, par conséquent, plusieurs espèces de microalgues sont utilisées dans l'élimination des métaux lourds du milieu aquatique (Sialve et Steyer, 2013).

6.4.3 Traitement des effluents gazeux

Parmi les technologies adoptées pour la réduction du CO₂ atmosphérique : le stockage géologique (stockage du CO₂ liquide ou gazeux dans des formations géologiques) et la séquestration chimique dans des solutions alcalines. Cependant, l'utilisation de systèmes biologiques est une solution alternative efficace, économiquement faisable et durable. Ces processus reposent essentiellement sur la photosynthèse par les microalgues qui convertissent le CO₂ atmosphérique en biomasse (Filali, 2012).

6.4.4 Domaine énergétique

Les microalgues sont une source d'énergie non négligeable. Certaines microalgues sont (Sialve et Steyer, 2013) :

- Riches en sucre et peuvent produire de bioéthanol.
- D'autres riches en lipides permettront la production de biodiesel.
- D'autres voies sont examinées comme la production biocarburant gazeux (bio-hydrogène et bio-méthane).

1 Définition de la bioremédiation

La bioremédiation est une technologie écologique qui utilise des processus biologiques naturels pour restaurer l'environnement à son état d'origine. Ceux sont principalement des bactéries, des champignons et des plantes qui sont mises en œuvre pour la décomposition des polluants en les réduisant à des formes moins toxiques (**Mary, 2011**).

L'utilisation des microalgues ou des macroalgues pour l'élimination des contaminants contenus dans les eaux usées est connu sous le nom de « phycoremédiation » (**Olguin, 2003**).

2 Phycoremédiation

2.1 Historique

Dans les années 1960, William Oswald et ses collaborateurs ont testées pour la première fois la capacité d'aération et de traitement des eaux usées par les microalgues (**Paddock, 2019**).

En 1970, l'utilisation des algues pour le traitement tertiaire des eaux municipales suscite un intérêt considérable. Ce traitement visait à réduire le potentiel d'eutrophisation de ces eaux de rejets (**Boileau, 2015**).

Depuis le début des années 2000, la plupart des recherches sur le traitement des eaux usées par les microalgues étaient liées à la production de biocarburants en raison de la crise énergétique et de la volatilité des prix du pétrole (**Paddock, 2019**).

Entre 2009 au 2019, de nombreux travaux ont démontré la capacité des microalgues à traiter différents polluants, avec différents systèmes et dans une variété d'effluents (**Paddock, 2019**).

Plusieurs auteurs ont rapporté des résultats concluants sur l'efficacité des microalgues vertes pour le traitement des eaux usées chargées en nutriments (**Boileau, 2015**).

2.2 Mécanismes mise en jeu dans la phycoremédiation

L'élimination des contaminants par les microalgues se fait par ces types de mécanismes : Bioaccumulation, biodégradation et la précipitation.

2.2.1 Bioaccumulation

La bioaccumulation est considérée comme un processus métaboliquement actif, par lequel les microorganismes vivants accumulent des polluants (métaux lourds, substances chimiques toxiques) dans leurs organismes. Lorsque les microalgues sont exposées à ces substances, elles peuvent les absorber à travers leurs membranes et les transférer à l'intérieur des cellules (Mustafa *et al.*, 2021). Ce mécanisme ne permet pas aux cellules d'utiliser les polluants pour leur croissance, mais conduit néanmoins à leurs éliminations du milieu (Boileau, 2015).

2.2.2 Biodégradation

La biodégradation est considérée comme un processus essentiel pour éliminer les contaminants des eaux usées. Les microalgues ont la capacité de décomposer la matière organique présente dans l'eau en petites molécules, qu'elles utilisent comme nutriments pour leur croissance (Mustafa *et al.*, 2021).

2.2.3 Précipitation

La précipitation est un processus par lequel les microalgues peuvent contribuer à la formation des précipités sous forme de dépôts solides (de carbonates, silice, etc.). Lors de la photosynthèse, le bicarbonate produit réagit avec les ions de calcium donnant un dépôt solide. Les microalgues libèrent aussi des substances chimiques qui favorisent la précipitation de ces molécules (Aries *et al.*, 2020).

2.3 Avantages et limites de cultures des microalgues sur des eaux usées

Tableau 05: Avantages et limites de la culture des microalgues.

Avantages (Empanan <i>et al.</i> , 2018)	Limites (Plöhn <i>et al.</i> , 2021)
<ul style="list-style-type: none"> - Solutions écologiques, durables à haut potentiel énergétique et nutritionnel. - Les microalgues utilisées sont des organismes photosynthétiques non pathogènes. - Réduit efficacement la charge en nutriments résiduels. - Élimine les contaminants (tels que les métaux lourds) des déchets toxiques. - Augmente les niveaux d'oxygène dissous grâce à l'activité photosynthétique avec la fixation de CO₂ atmosphérique (réduction de gaz à effet de serre). - Coûts de construction d'infrastructure inférieurs à ceux des boues activées (brassage et aération active). 	<ul style="list-style-type: none"> - Influence négative des facteurs biotiques (bactéries, champignons et virus) et abiotiques (l'intensité lumineuse, température, pH et salinité) sur les performances et la rentabilité des traitements. - Les changements saisonniers aussi ont un impact interconnecté sur le système de traitement. - La récupération de biomasse est difficile et les systèmes de récupérations sont onéreux. - Des teneurs élevées en métaux lourds peuvent affecter la croissance des microalgues.

2.4 Phycoremédiation en photobioréacteurs

La sélection du système de culture des microalgues est la clé d'une élimination efficace et pratique des nutriments à partir des eaux usées et une production élevée de la biomasse. La culture de microalgues est réalisée dans des photo-bioréacteurs selon deux modes de cultures : type fermé (batch) et semi-continu (fed-batch) (**Beigbeder, 2019**).

Les photobioréacteurs sont des réacteurs fabriqués à partir de matériaux transparents. Ils sont basés sur la surface éclairée, l'efficacité du mélange et le contrôle des paramètres de culture (température, pH, teneur en dioxyde de carbone et en oxygène) (**Lucchetti, 2014**).

2.4.1 Culture batch

La culture batch est simple et peut être réalisée dans des réacteurs classiques sans système de pompage et de régulation où le volume du milieu de culture est fixe, il n'y a ni flux entrant ni sortant. Le milieu de culture est inoculé par un échantillon de microalgues (inoculum) qui se développent tout au long de la culture jusqu'à épuisement des nutriments dans le milieu (**Beigbeder, 2019**).

2.4.2 Culture semi-continue

Dans la culture semi-continue les réacteurs sont alimentés par le milieu à traiter, par conséquent la concentration des nutriments n'est plus un facteur limitant, au même temps le volume des cultures augmente au cours de la croissance des microalgues. Cette méthode permet d'éviter l'inhibition de la croissance des microorganismes par la carence des nutriments essentiels (**Beigbeder, 2019**).

2.5 Conditions de culture

2.5.1 Source de lumière

La croissance des microalgues par phototrophie est fortement dépendante de la source et de l'intensité lumineuse (**Beigbeder, 2019**). La lumière artificielle en photo-bioréacteur permet un meilleur contrôle du flux lumineux. L'augmentation de la concentration en biomasse au cours du temps rend la diffusion de la lumière plus difficile dans la culture ce qui affecte sa productivité, d'où l'importance du système d'agitation dans le système (**Atmani et Medjadj, 2017**).

2.5.2 Température

La température optimale appropriée dépend de l'espèce de microalgue à cultiver. Les études ont montré que le changement de la température affecte le métabolisme cellulaire ainsi

que la composition des acides gras membranaires. A des températures basses, le métabolisme est ralenti mais la quantité d'énergie absorbée par la photosynthèse reste la même, donc elle absorbe trop d'énergie par rapport à sa capacité par conséquent souffre du phénomène de photo-inhibition (Atmani et Medjadj, 2017).

Les cultures placées à l'extérieur et qui bénéficient de l'énergie lumineuse du soleil, sont généralement exposé à l'écart de température entre le jour et la nuit, mais aussi entre les différentes saisons. Par contre, la culture d'algues à l'intérieur ou encore l'emploi de bioréacteurs à double enveloppe offre une solution au niveau de la régulation de la température (Beigbeder, 2019).

2.5.3 pH

Chaque espèce de microalgue possède une gamme de pH idéals pour sa croissance qui est associé aux conditions de son milieu naturel. Un contrôle du pH des cultures est nécessaire afin de favoriser la croissance de certaines espèces ayant des exigences environnementales particulières. L'acidification du milieu peut être réalisée par l'ajout de dioxyde de carbone qui sert au même temps comme source de carbone pour la photosynthèse (Khaldi et Zeggaoui, 2014).

2.5.4 Dilution de l'effluent

Certains effluents ont une couleur opaque, ce qui bloque la diffusion de la lumière. La dilution de l'effluent avant d'introduire les microalgues est une étape très importante afin de faciliter la pénétration de la lumière (Marcilhac, 2014).

2.5.5 Agitation

L'agitation permet d'augmenter la productivité de la biomasse en favorisant le transfert gaz-liquide par l'apport du CO₂ et l'élimination de l'oxygène qui pourrait être toxique pour la culture. Elle permet aussi d'éviter toute agrégation ou sédimentation d'algues. En fonction du système de culture, l'agitation peut s'effectuer *via* une pompe de recirculation ou encore par injection de gaz (air ou air enrichi en CO₂) dans le réacteur (Beigbeder, 2019 ; Atmani et Medjadj, 2017).

3 Epuration des eaux usées par culture mixte « Bactérie-Microalgues »

3.1 Interactions bactérie - microalgue

Dans le milieu naturel les communautés bactériennes cohabitent avec les microalgues, des interactions complexes et mal connue jusqu'aujourd'hui existent entre ces deux. De multiples modes d'interaction ont été rapporté (**Belanger-Lepine, 2019**) :

3.1.1 Mutualisme

Le mutualisme fait référence aux interactions où chaque organisme tire profit de l'autre. L'échange de nutriments (fer et vitamines) entre les bactéries et les microalgues, consistant en la libération de produits de la photosynthèse par les algues sous forme de matière organique, il peut être utilisé par les bactéries hétérotrophes comme source de nutriments. Les cellules d'algues mortes peuvent également être utilisées comme substrat. Les bactéries peuvent ensuite minéraliser cette matière organique en matière inorganique, la rendant à nouveau disponible pour les algues. Il a été observé que l'azote inorganique était recyclé, ce qui permettait la croissance des microalgues (**Nef, 2019**).

3.1.2 Commensalisme

Le commensalisme est une interaction bénéfique pour l'un des deux organismes. Les microalgues fournissent un habitat pour la croissance bactérienne et peuvent les protéger contre le stress environnemental défavorable. Il a été rapporté que des microalgues sécrètent des métabolites qui favorisent l'attachement des bactéries bénéfiques aux algues tout en inhibant l'attachement des opportunistes (**Li et al., 2022**). D'autre part, les bactéries décomposent des molécules complexes des eaux usées en matière organique simple utilisées facilement par les microalgues (**Crenn, 2016**).

3.1.3 Parasitisme et prédation

Le parasitisme et la prédation sont des relations dans lesquelles un organisme profite d'un autre en lui causant du préjudice (**Nef, 2019**). Les relations parasitaires sont principalement basées sur la compétition des nutriments, certaines bactéries peuvent affecter négativement les microalgues en se fixant aux parois et provoquant la lyse cellulaire (**Belanger-Lepine, 2019 ; Li et al., 2022**).

La relation entre microalgues et bactéries peut s'inscrire dans un contexte nutritionnel où les microalgues peuvent consommer des bactéries dans une relation proie/prédateur (**Nef, 2019**).

3.1.4 Amensalisme

L'amensalisme caractérise les interactions dans lesquelles une espèce en affecte négativement une autre. Ce type d'interaction peut être lié à des sécrétions bactériennes et microalgales (Nef, 2019). Des auteurs ont montré que les bactéries hétérotrophes et les algues s'inhibent mutuellement lorsqu'elles sont cultivées pendant de longues périodes. On dit que les algues ont des propriétés antibactériennes et les bactéries ont une activité anti-algale (Marcilhac, 2014). Dans le cas de la dénitrification qui se fait dans des conditions anoxiques, les microalgues-par l'oxygène produit de la photosynthèse peuvent inhiber le nitrate réductase (Fallahi et al., 2021).

3.2 Système de co-culture « association Bactérie- Microalgue »

L'utilisation des consortia mixtes microalgues-bactéries présente de multiples avantages par rapport au système simple (Bactéries seul) grâce aux interactions symbiotiques existantes, ce qui a suscité l'intérêt des chercheurs pour son application dans la bioremédiation des eaux usées (Fallahi et al., 2021).

3.2.1 Ratio d'inoculation

La densité d'inoculum de chaque partenaire affectera les résultats finals de co-culture. Cela peut être déterminé par l'analyse des taux de croissance des organismes en co-culture. Les ratios les plus utilisées sont (Microalgue/Bactérie) : (1 :1), (3 :1), (2 :1) (Padmaperuma et al., 2017).

3.2.2 Eliminations des polluants par association bactérie/ microalgue

Le consortium microalgues bactéries élimine efficacement les polluants des eaux usées par la dégradation de la matière organique (réduit la demande biologique en oxygène) et l'absorption des nutriments dissous (phosphore, azote). Les interactions symbiotiques entre les bactéries et microalgues dans le processus de traitement sous-tendent l'échange du CO₂, O₂ et d'ions NH₄⁺ (figure 14). Les bactéries oxydent la matière organique et libèrent le CO₂, ce dernier est utilisé comme source de carbone inorganique par les microalgues. Ces derniers produisent l'oxygène par photosynthèse qui est utilisé par les bactéries pour leurs respirations. (Khoo et al., 2021).

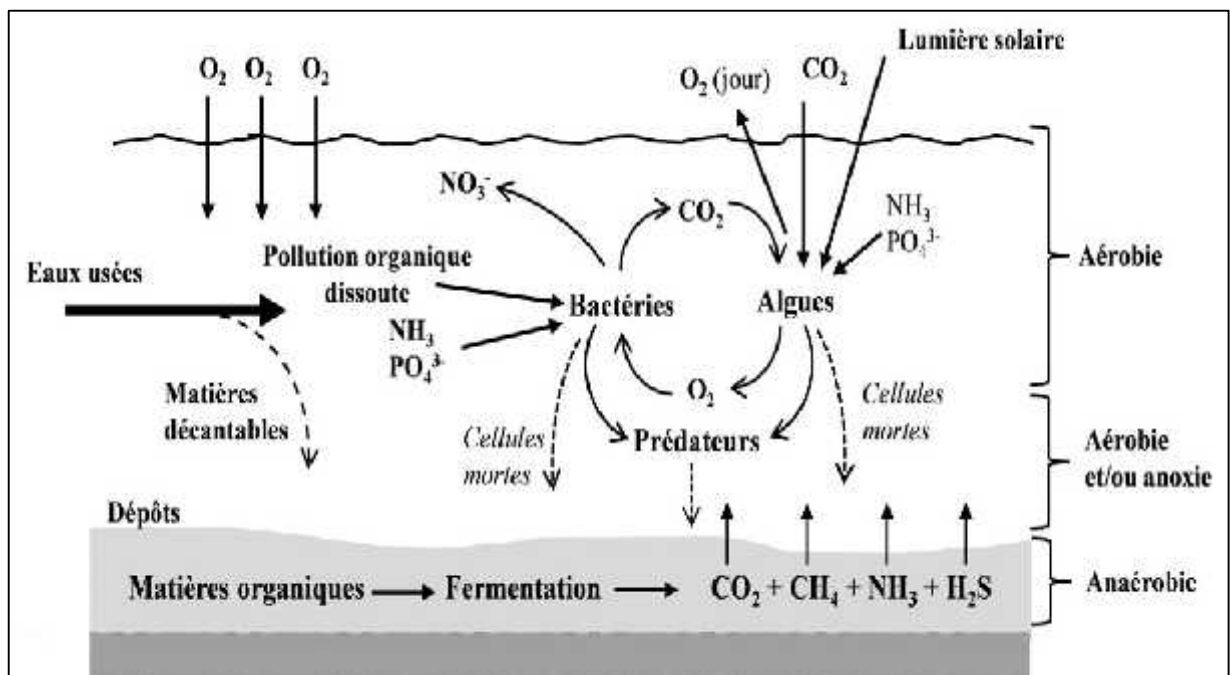


Figure 14 : Schéma représentative des voies d'élimination des polluants en culture mixte Microalgues/ Bactéries(De Laat, 2018).

3.2.3 Avantages des co-cultures Microalgues/ Bactéries

Les avantages du système de co-culture Microalgues/ Bactéries se résument en :

- Permettent d'éviter les réacteurs multiples et les systèmes complexes en éliminant simultanément les nutriments et la matière organique dans un seul réacteur(Mujtaba et Lee, 2017).
- Les microalgues pourraient remplacer les systèmes d'aération mécanique et réduire les coûts énergétiques pour l'aération des cultures (Nguyen et al., 2020).
- La présence des populations cellulaires différentes réussit de certaines cultures qui ont du mal à proliférer en monoculture (Goers et al.,2015).

Partie expérimentale

La partie expérimentale de ce travail a été réalisé au niveau des laboratoires du Centre national de Recherche en Biotechnologie de la wilaya de Constantine (laboratoires d'analyses environnementales, laboratoire de microbiologie, laboratoire de phytopathologie, laboratoire de culture *in vitro* des plantes).

1 Présentation du site de prélèvement

Le CET de la Wilaya de Batna se situe dans la commune d'Oued Chaâba(El Abiar), sur une carrière désaffectée, 3,5 km au Sud-ouest du dit-lieu et s'étalant sur 30 Ha (Figure 15). Sa durée d'exploitation est estimée à 25 ans. Sur les 8 casiers programmés, deux ont déjà été construits, d'une capacité de 6,5 Ha et dont un est déjà fermé. Les lixiviats sont stockés dans deux bassins de récupération étanches en géo-membrane (annexe n° 01). Le CET dispose d'une station de traitement des lixiviats par osmose inverse avec un système de prétraitement par filtration et d'un bassin d'homogénéisation, un autre bassin sert à stocker le concentrât issu du processus de traitement (annexe n° 01). Plus de 13 Ha des terres sont couvertes d'une végétation clairsemé mais renfermant plusieurs espèces caractéristiques des milieux perturbés. Le climat de cette wilaya est semi-aride.

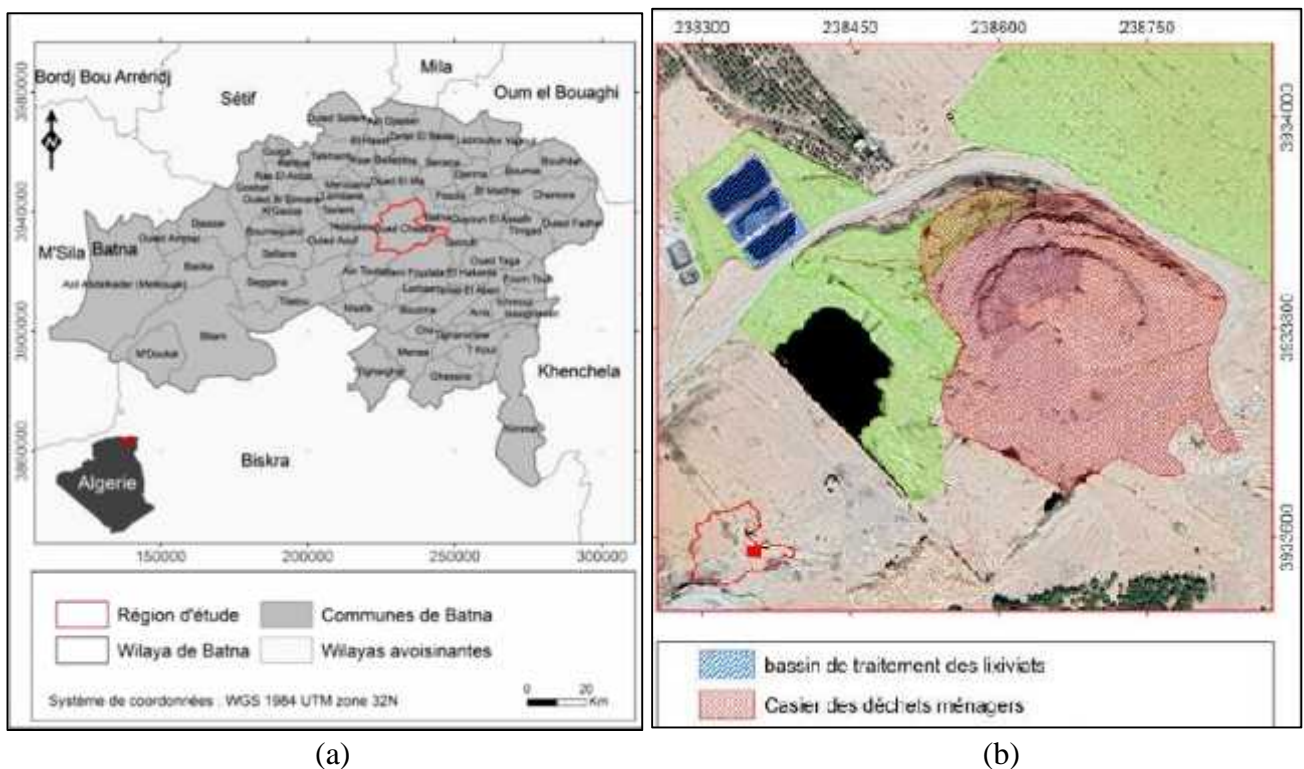


Figure 15 : Carte de localisation de la région d'étude (a) et la photo aérienne du CET (b).

Selon les statistiques de l'Agence National des Déchets (AND), la quantité de déchets générés par la wilaya de Batna était de 47 715 tonnes en 2015 cette quantité a augmenté en 2020 pour dépasser les 400 000 tonnes/an.

2 Prélèvement et échantillonnage

Les prélèvements du lixiviat jeune sont réalisés au mois de Mars 2023 à partir des bassins de stockage. Quatre bidons en PET de cinq litres sont remplis de lixiviats jeune pour les analyses physico-chimiques et les expériences ultérieures. Les prélèvements destinés à l'isolement des microorganismes sont réalisées dans des tubes Falcon stériles de 50 ml. C'est dernier sont stocké à 4°C dans une glacière jusqu'à l'arriver au laboratoire (figure16).



Figure 16 :Photos des échantillons de lixiviat.

3 Caractérisation physico-chimique du lixiviat jeune

3.1 Mesure *in situ*

Les paramètres physico-chimiques (T°, pH, conductivité électrique, nombre des solides dissous (TDS), salinité, oxygène dissous) sont mesurés *in situ* à l'aide d'un multi-paramètre de terrain **HI9829 (HANNA instruments)** (annexe n° 02).

3.2 Dosages au laboratoire

3.2.1 Dosage de l'azote kjeldahl et ammoniacal¹

a) Matériel et réactifs (annexe n°03)

b) Méthodes par titration

- L'étape de minéralisation (digestion) : un volume de 25ml de lixiviat brut est additionné par 10ml d'acide sulfurique contenant une concentration élevée de sulfate de potassium destiné à élever le point d'ébullition du mélange en présence de sélénium (catalyseur) à 420C° pendant une nuit pour former du sulfate d'ammonium, qui se libère par l'ajout de NaOH (annexe n° 03).
- L'étape de distillation : le mélange précédent est subis une distillation de l'ammoniac dans une solution d'acide borique contenant le colorant Tashiro (coloration rouge-violacé) pendant 6min. La coloration devient bleue à cause de captage d'ion d'ammonium (annexe n° 03).
- Puis le dosage par titrimétrie est réalisé avec l'HCl sous agitation, une coloration rouge apparaitre lors de titrage (annexe n° 03).
- Pour l'azote ammoniacal l'échantillon nécessite une filtration à l'aide d'une pompe vide et filtre ordinaire avant de suivre le même protocole mais avec élimination de l'étape de minéralisation (annexe n° 03).
- Dans ce protocole trois échantillons qui ont été réalisé.
- Les résultats des concentrations de l'azote kjeldahl et ammoniacal sont définies selon l'équation suivante (Eq. 2) :

$$[C] = ((V_1 - V_2) * C * 14.01 * 1000) / V_0 \quad (2)$$

- V_0 : Volume en ml de prise d'essai.
- V_1 : Volume en ml de solution titrée par HCl utilisée pour le titrage.
- V_2 : Volume en ml de solution titrée par HCl utilisée pour le titrage du blanc.
- C : concentration en mol/l de solution titrée de HCl utilisée pour le titrage.
- 14.01 : Masse atomique relative à l'azote.

¹Note : Nous avons mis les références pour plus de détails et pour savoir les précautions d'utilisation, car les produits sont dangereux

3.2.2 Dosage des nitrites

a) Matériel et réactifs (annexe n° 04)

b) Méthode par spectrométrie

- Etablir une courbe d'étalonnage (annexe n° 04): à partir une source de NO_2^- (Nitrate de sodium).
- Peser les quantités nécessaires pour la préparation des solutions étalons (Annexe n°) de NO_2^- fille à 0,0023g/L et mère à 0,25g/L avec une gamme étalons et selon la loi de $C_1V_1=C_2V_2$ ajouter des volumes correspondants à chaque concentration et compléter à 50ml d'eau.
- Ajouter 2ml de Zambelli (agiter et laisser 10min), 2ml d'ammoniaque pure sur ces volumes, une coloration jaune apparaitre puis la lecture à 435nm.
- Diluer le lixiviat 1000 fois, ajouter 50ml de lixiviat dilué dans les fioles et procéder les étapes précédentes.
- Dans ce protocole trois échantillons qui ont été réalisé.
- Les résultats des concentrations des nitrites définies par l'équation de la courbe d'étalonnage(Loi de BEER LAMBERT)

3.2.3 Dosage des nitrates

a) Matériel et réactifs (annexe n° 05)

b) Méthode par spectrométrie

- Etablir une courbe d'étalonnage (annexe n° 05) : à partir une source de NO_3^- (Nitrate de potassium).
- Pesé les quantités nécessaires pour la préparation des solutions étalons (annexe n° 05) de NO_3^- fille à 0,005g/L et mère à 0,1g/L avec une gamme étalons selon le protocole avec les volumes correspondants à chaque concentration dans des capsules.
- Evaporer à sec dans bain marie à 80C°, laisser refroidir. Ajouter 2ml d'acide sulfurique (repos 10min), 15ml d'eau distillée et 15ml de solution d'hydroxyde de sodium et detartrate double de sodium et de potassium, une coloration jaune apparaitre puis la lecture au spectrophotomètre à 420 nm.
- Diluer le lixiviat 500 fois, ajouter 10ml de lixiviat dans les capsules, puis procéder les mêmes étapes précédentes.
- Les résultats des concentrations des nitrites définies par l'équation de la courbe d'étalonnage (Loi de BEER LAMBERT).

3.2.4 Demande biologique en oxygène (DBO5)

a) Matériel et réactifs (annexe n° 06)

b) Méthode

- Selon la charge polluante et les intervalles de DBO dans l'appareille, le volume est choisi. Verser 43,5ml de lixiviat brut dans un flacon DBO5 contenant un barreau aimanté, mettre la capsule sur le flacon contenant deux pastilles de NaOH et fermer avec le bouchon oxymètre (le volume ajouter est selon un intervalle trouvé sur le DBO-mètre).
- En parallèle, préparer 97 ml d'échantillon diluée 100 fois pour la comparaison. Les flacons ont placé sur un DBO-mètre (WTW) OxiTopet (annexe n° 06) incubés à 20 °C avec agitation dans l'obscurité. Après 5 jours d'incubation, la lecture est faite et les valeurs du DBO5 sont corrigées avec le facteur de dilution.
- Dans ce protocole trois échantillons sont réalisé.

3.2.5 Demande chimique en oxygène (DCO)

a) Matériel et réactifs (annexe n° 07)

b) Méthode

- La demande chimique en oxygène (DCO) a été mesurée par la méthode de dichromate de potassium. Dans deux tubes de DCO bien nettoyé, introduire successivement : 3ml de la solution acide préalablement préparée, 0,1 g de sulfate de mercure, 2ml de lixiviat dilué 500 fois et 1 ml de dichromate de potassium, avec un blanc effectué de l'eau distillée.
- Après fermeture hermétique et homogénéisation des tubes, ils sont placé les dans un bloc chauffant de modèle WTW.CR2200 pendant 2 h à 148°C (annexe n° 07).
- L'absorbance de différents échantillons préparés, ci-dessus, sont déterminés par spectrophotométrie UV-visible à la longueur d'onde de 440 nm, qui correspond à l'absorption maximale du dichromate de potassium.

3.2.6 Carbone Organique Total (COT)

a) Matériel et réactifs(annexe n° 08)

b) Méthode

- L'analyse de Carbone Organique Total est effectuée *via* l'analyseur Torch Combustion COT où l'analyse du COT est faite par la méthode de combustion catalytique à haute température et à détection infrarouge (annexe n° 08).

- La verrerie à utiliser est mise pendant une nuit dans un bain d'acide nitrique puis rincée à l'eau pure jusqu'à 5 fois pour éliminer toute trace de carbone.
- Le lixiviat est préalablement filtré puis dilué 100 fois. Une solution d'acide phosphorique est préparée puis mélangée (18 ml acide phosphorique solution à compléter jusqu'à 100 ml par l'eau pure). Le blanc est de l'eau pure.
- Les résultats sont lus après 2h.
- Formule de préparation des étalons pour courbe d'étalonnage (annexe n° 08).

3.2.7 Analyse par spectrophotométrie UV/visible

a) Matériel et réactifs (annexe n° 09)

b) Méthode

- Les analyses sont effectuées sur un spectrophotomètre UV-Visible (**HELIOS ZETA UV-VIS**) piloté par un ordinateur (annexe n° 09).
- Les longueurs d'ondes maximales sont obtenues directement par balayage automatique entre 200 et 800 nm.
- Des cuves en quartz de 1 cm de trajet optique sont utilisées.
- Le lixiviat est filtré puis dilué 100 fois.

4 Traitement primaire du lixiviat jeune par le procédé d'oxydation avancée « Système H₂O₂/UV »

Dispositif expérimental

- Cinq erlenmeyers ont subi le traitement chimique H₂O₂/UV (annexe n° 10), un pour les prélèvements destinés aux analyses qui suivent le procédé d'oxydation avancé, deux sont orientés pour le traitement biologique par le système simple (les bactéries), les deux autres pour le traitement biologique par le système combiné (bactérie + microalgue). Chacun contient 300 ml de lixiviat autoclavé et dilué 10 fois.
- Le lixiviat autoclavé est additionné de 9,19 ml de H₂O₂ à une concentration de [0,3 M] dans des conditions aseptique (annexe n° 10).
- Tous les erlenmeyers sont exposés à la lumière solaire sous agitation continue pendant toute la durée d'expérience.
- Des prélèvements sont pris tous les 15min, 30min, 45min, 60min et 120min.
- L'intensité lumineuse des rayons UV est mesurée à : T₀, 30min, 60min, 90min et 120min à des différentes longueurs d'ondes : $\lambda = 254\text{nm}$, $\lambda = 310\text{nm}$, $\lambda = 364\text{nm}$ par un radiomètre **UVP**.

- Le volume prélevé est de 14 ml, mis à l'obscurité dans des tubes falcons couverts par papier aluminium pour stopper la réaction de l' H_2O_2 (annexe n° 10).
- Ces échantillons sont prélevés pour les analyses de : COT, DCO et Spectrophotométrie UV /Vis.
- Le pH est mesuré au début et à la fin de l'essai à l'aide d'un pH-mètre (**Mettler Multi paramètres even Excellence**).

5 Traitement secondaire « Biologique » du lixiviat

5.1 Isolement et purification du matériel biologique

5.1.1 Isolement, purification et identification des microalgues

- L'isolement est réalisé sur un milieu d'enrichissement pour les microalgues vertes, le Bolt Basal Medium (BBM) (annexe n° 11).
- Le milieu est préalablement préparé, stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 20 min et coulé dans les boîtes de Petri.
- Deux dilutions décimales 10^{-1} , 10^{-2} sont préparées à partir de la solution mère du lixiviat jeune dans de l'eau physiologique stérile (annexe n° 11).
- 100 μ l de chaque dilution est étalé à la surface de la gélose (deux copies pour chaque dilution) avec un râteau stérile.
- Les boîtes sont incubées à l'envers dans une chambre éclairée (16h Lumière/8h obscurité) à 25°C jusqu'à ce que des colonies de couleurs vertes soient repérées (annexe n° 11).
- Les colonies suspectées être des microalgues d'aspect différent sont repiquées séparément sur des nouvelles boîtes par la méthode d'épuisement sur gélose, l'opération est répétée jusqu'à obtention d'isolats monoclonaux.
- La pureté des isolats est vérifiée sous microscope optique après préparation d'un frottis à l'état frais.
- Toutes les manipulations sont réalisées dans des conditions d'asepsie sous une hotte microbiologique à flux laminaire.

L'observation sous microscope d'un frottis à l'état frais permet de déterminer la morphologie des cellules algales et de la comparer à des clés d'identification (**Bellinger et Sigeo, 2015**).

- A l'aide d'une pipette Pasteur une colonie est prélevée et déposée sur une lame dans une petite quantité d'eau physiologie, le tout est homogénéiser.
- Une lamelle couvre objet est montée sur la suspension des microalgues puis observer sous microscope optique au Gx40 puis Gx100.
- Des photos des observations microscopiques sont prises à l'aide d'un appareil à photo à différents grossissements.

5.1.2 Isolement et purification des bactéries

- L'isolement des bactéries est réalisé sur une gélose nutritive (GN) préalablement préparée(annexe n° 12).
- Une série des dilutions décimales jusqu'à 10^{-7} sont préparées à partir de la solution mère du lixiviat jeune dans de l'eau physiologique stérile.
- Les colonies bactériennes obtenues sont sélectionnées selon leur aspect macroscopique : la couleur, la forme...etc.
- Les colonies d'aspect différent sont repiqués séparément sur des nouvelles boites par la méthode d'épuisement sur gélose. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'isolats pures.
- Toutes les manipulations sont réalisées dans des conditions d'aseptise sous une hotte microbiologique à flux laminaire.

5.2 Préparation des inocula

5.2.1 Inoculum de microalgue

Avant le début des expériences, l'inoculum de microalgues est préparé :

- Des fioles d'erlenmeyer de 250 ml contenant 100 ml de milieu BBM autoclavé sontensemencées par l'isolat microalgale pure à partir des cultures sur gélose.
- Les fioles d'erlenmeyers sont incubées dans la chambre de culture éclairés à 25°C et une intensité lumineuse de $250 \mu\text{mol m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ avec une photopériode 16h lumière/ 08hobscuritéet une agitation rotative continue de 150 rpm.
- Avant le lancement de l'essai d'une semaine, les cultures sont centrifugées dans des tubes de 50 ml à une vitesse de 7500 rpm pendant 10 min puis ré-suspendus dans du milieu BBM additionné de 10% de lixiviats jeune autoclavé, les cultures sont réincubés dans les mêmes conditions jusqu'au lancement de l'expérience (l'Age de l'inoculum algal doit être de 7 jours).

5.2.2 Inoculum du consortium bactérien

- Plusieurs boîtes pétries sont ensemencées par les isolats bactériens, la biomasse est raclée puis transférée dans des fioles d'erenmeyer de 250 ml contenant 100 ml de bouillon nutritif.
- Trois jours avant le lancement de l'expérience, les cultures sont centrifugées à 7500 rpm pendant 10 min, et le culot bactérien est transféré dans du bouillon nutritive neuf additionné de 10% de lixiviat jeune autoclavé. Cette étape est nécessaire afin de permettre aux bactéries de s'adapter au lixiviat.
- Les cultures sont réincubés dans les mêmes conditions jusqu'au lancement de l'expérience (inoculum âgé de 3 jours).

5.3 Configuration expérimentale

Les essais de biodégradation de la matière organique par voie biologique sont réalisés en mode batch dans des fioles d'Erlenmeyer de 500 ml, à un volume de travail de 300 ml de lixiviat jeune prétraité par le procédé d'oxydation avancé (H₂O₂/UV).

Les systèmes expérimentaux sont placés dans une chambre de culture thermostatée éclairée :

- L'éclairage est assuré par le haut des flacons à l'aide de 05 lampes LED (**LEDVANCE**) à une intensité lumineuse comprise entre 200-250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ mesurée à la surface des cultures par **Quantum PAR light mètre**, (Spectrum technologies, Inc, USA).
- L'incubation s'est déroulée à 28 °C avec une photopériode de 12h lumière/12h obscurité pendant 14 jours. Ces paramètres ont été choisis pour reproduire les conditions moyennes d'hiver et d'été au niveau des CET. La "photopériode" correspond à la durée de l'éclairage continu appliqué aux cultures au cours d'une période de 24 heures.
- L'agitation continue des cultures est assurée par un agitateur rotatif à 150rpm (**Edmund Buhler GmbH**).
- Le pH initial est ajusté à 7,6 avant inoculation des cultures.
- Deux systèmes de culture sont mis en œuvre afin d'évaluer les effets du consortium bactérien (système simple) et du consortium bactérien additionné de microalgue (système combiné) sur le taux de croissance et l'élimination de la matière organique. Toutes les cultures sont effectuées en double [figure 17 (b)].

- Les fioles d'Erlenmeyer (02 exemplaire) du système simple sont inoculées avec le consortium bactérien à un taux d'inoculation initiale de 1,5 g/l [Figure 17 (a)].
- Les fioles d'Erlenmeyer (02 exemplaire) du système combiné sont inoculées avec le consortium bactérien plus l'inoculum microalgale (Avec un ratio de bac/ microalgue : (1/1,5) et un taux d'inoculation initiale de microalgue de 0.9 g/l [Figure 17 (a)].

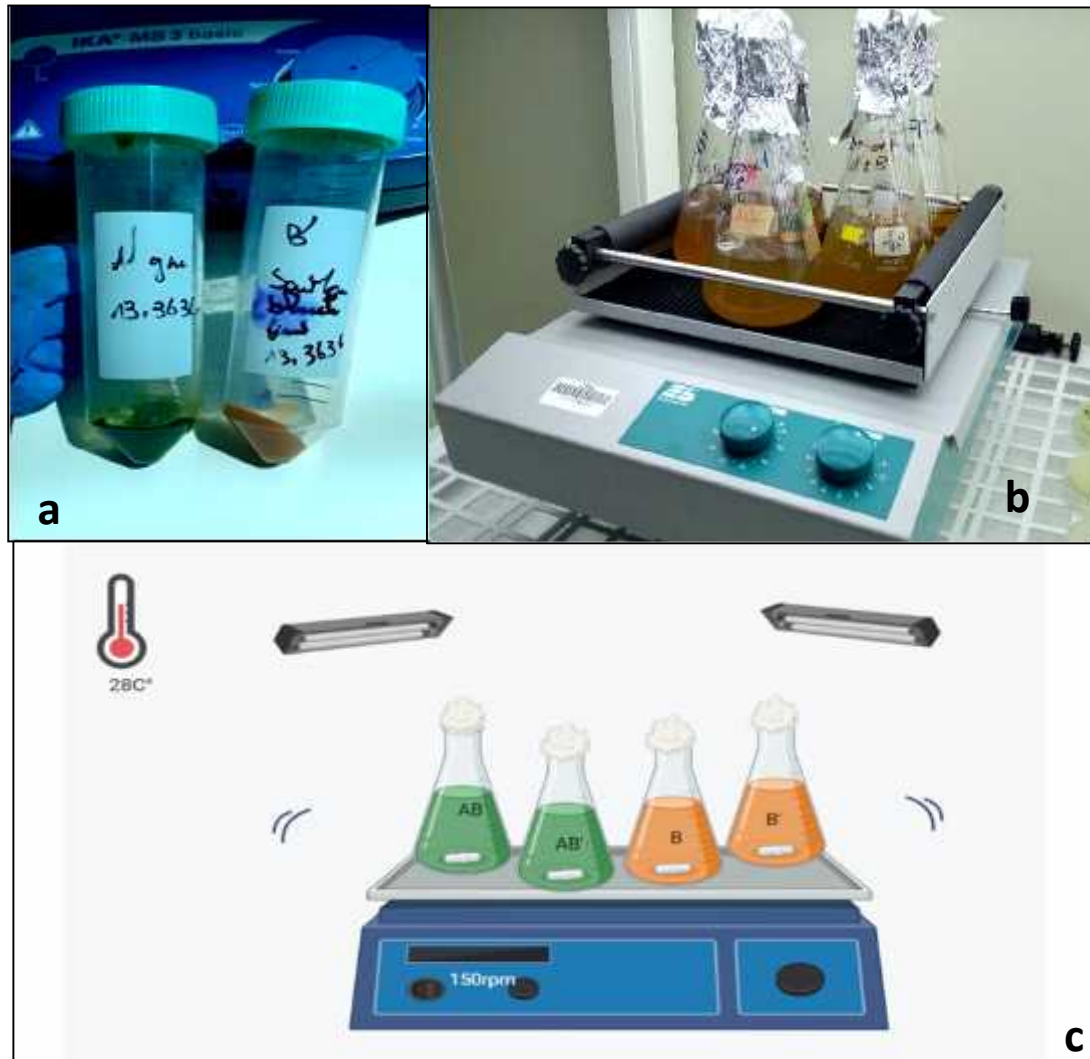


Figure 17 : Photos de (a) Inocula micro-algal et bactérien (b) systèmes de cultures traitement biologique (c) schéma des systèmes de cultures (B= Bactéries seules, AB= Bactéries + Microalgue).

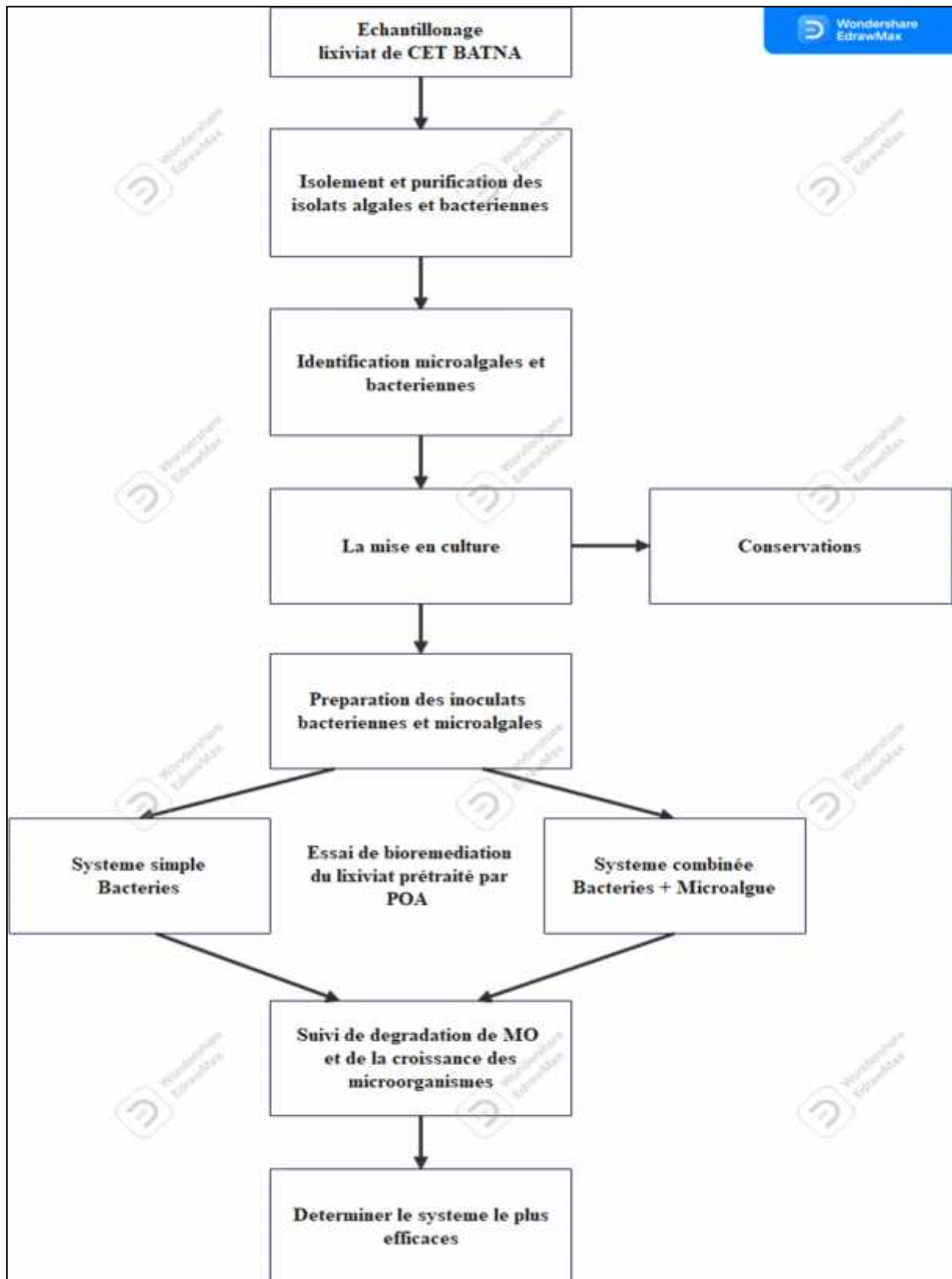


Figure 18 :Schéma récapitulatif.

6 Méthodes d'analyse

Dans cette étude, le lixiviat traité par H₂O₂/UV est utilisé comme milieu nutritif pour la croissance du consortium bactérien et de la souche de microalgue.

Des échantillons (15ml) de surnageant de culture sont prélevés à j0, j1, j2, j5, j7, j9, j12 et j14 à la même heure de la journée (au début du cycle lumineux) et analysés conformément aux méthodes normalisées dans des conditions d'asepsie (annexe n° 13).

Les paramètres suivants sont mesurés : pH, poids de la biomasse sèche, Spectrophotométrie UV/vis, COT, DCO et les analyses sont faites selon la disponibilité des produits.

Le suivi de la croissance des bactéries et des microalgues est réalisé par la mesure de la densité optique à 625nm pour les bactéries et à 680nm pour les microalgues et le poids de la biomasse sèche.

a) Mesure du poids sec de la biomasse des bactéries dans le système simple

- Un tube en verre est séché pendant 24 h dans une étuve (**memmert**) à 80°C, puis pesée par une balance électronique (**OHAUS**) pour déterminer son poids à vide.
- Dans le même tube 10 ml d'échantillon de culture sont centrifugés par une centrifugeuse (**SiGMA**) à 7500 rpm pendant 20min.
- Le surnageant est récupéré pour l'analyse du Spectre UV-vis et le COT.
- Le culot est séché 80°C pendant 24h puis le tube est pesé pour déterminer le poids final.
- Le poids sec net de la biomasse est calculé en soustrayant le poids initial du tube en verre du poids final.

b) Détermination de la croissance microalgale

- La densité optique des cultures d'algues est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (**SIGMA1-6P**).
- La densité de la biomasse algale est estimée en utilisant la densité optique de l'échantillon à 680 nm (DO algue₆₈₀) (**Kirk, 2011**). Elle est calculée en soustrayant la densité optique du surnageant de culture (DO blanc₆₈₀, sans cellule algales) de la

densité optique de la culture d'algue dans le lixiviat à partir 5ml d'échantillon afin de tenir compte de la couleur de fond du surnageant de culture (Eq. 5).

$$DO_{680\text{algue}} = DO_{680\text{ culture}} - DO_{680\text{surnageant}} \quad (5)$$

c) Détermination de la croissance bactérienne

- La densité de la biomasse bactérienne est estimée en utilisant la densité optique de l'échantillon à 625 nm ($DO_{\text{bactérie}625}$) (Samantha et al., 2016). Elle est calculée en soustrayant la densité optique du surnageant de culture ($DO_{\text{blanc } 625}$, sans cellule bactérienne) de la densité optique de la culture de la bactérie dans le lixiviat à partir 5ml d'échantillon afin de tenir compte de la couleur de fond du surnageant de culture (Eq. 6).

$$DO_{625\text{ Bactérie}} = DO_{625\text{ culture}} - DO_{625\text{ surnageant}} \quad (6)$$

d) Taux d'élimination de la matière organique (R_{MO})

Sont déterminés à la fin de l'expérience selon l'équation suivante (Eq. 7) :

$$R_{MO} = (S_0 - S_f/S_0) * 100 \quad (7)$$

Où R_{MO} représente le taux d'élimination de la matière organique, S_0 sa concentration initiale à $t = 0$, S_f est sa concentration finale à $t_f = 14$ jrs.

e) Etat moyen d'oxydation (EMO)

L'EMO est un paramètre très utile pour estimer le degré d'oxydation des solutions mixtes et donne une information indirecte sur la biodégradation et il est calculée selon l'équation suivante (Eq. 8) (Sarria et al., 2003):

$$EMO = 4 * (COT - DCO) / COT \quad (8)$$

g) Nombre de la couleur

Repose sur la mesure du coefficient d'absorption spectrale dans le domaine visible à trois longueurs d'onde différentes à partir les courbes des spectres (annexe n° 14), comme indiqué dans (Eq.9) (El Mrabet et al., 2020):

$$CN = \frac{Abs_{436}^2 + Abs_{525}^2 + Abs_{620}^2}{Abs_{436} + Abs_{525} + Abs_{620}} \quad (9)$$

Résultats et Discussions

1 Caractérisations physico-chimiques du lixiviat jeune

Les résultats des paramètres physico-chimiques du lixiviat prélevé à partir du CET de Batna sont illustré dans le tableau ci-dessous.

Tableau 06 : Caractéristiques physico-chimiques du lixiviat jeune.

Paramètres	Valeurs	Tatsi et <i>al.</i> , 2003	IM et <i>al.</i> , 2001	Trabelsi, 2012	Bennama et <i>al.</i> , 2010).	Mehdi et al., 2007
pH	8.26	6,7	7,6	8,15	8,19	/
Température (C°)	22	/	/	29,8	23,7	/
Conductivité (ms/cm)	38.3	35,5	/	39,7	120,3	/
TDS (mg/L)	25600	32000	/	/	/	/
Salinité (ppm)	21.7	/	/	/	/	/
O₂ dissous (%)	0.1	/	/	/	/	/
DBO5 (mgO₂/L)	1163,33	9500	9250	/	3301	200
DBO5 Diluée 100 fois(mgO₂/L)	36	/	/	/	/	/
DCO (mg/L)	99792,44	115000	26940	10200	19333	1200
COT (ppmC)	22400	/	/	4940	343	/
Nitrate (mg/L)	1255,1	/	/	/	/	/
Nitrite (mg/L)	454,05	/	/	/	/	/
NTK (mg/L)	1266,504	2000	1708	/	/	/
N ammoniacal (mg/L)	1098	/	/	/	/	/

Le lixiviat prélevé est un liquide opaque d'une couleur brunâtre à noir. Cette couleur constitue un premier indicateur de pollution (**Mehdi et al., 2007**). Les résultats montrent une grande variabilité de la composition et les caractéristiques physicochimiques par rapport à des études antérieures nationales et internationales du lixiviat.

Notre lixiviat de CET de Batna est caractérisé par un pH basique à 22C°, à une valeur de 8,26 proche de celle rapporté par Kjeldsen en 2002 (entre 4,5-9) (Tableau 06). Le pH des lixiviats est influencé par les saisons il diminue pendant la période hivernale à cause de la dilution par précipitation et augmente en saison chaude à cause de l'activité des microorganismes (**Belle, 2008**).

Les valeurs de la DCO et la DBO5 sont très élevées de l'ordre 99792,44mg/L, 1163,33mg/L respectivement par rapport aux résultats enregistré en Algérie de Benaama et al en 2010 et Mahdi et al en 2007 qui sont de l'ordre de 155 mg/L et 780 mg/L pour la DCO et entre 20 mg/L et 50 mg/L pour la DBO5, et proche des études internationales rapporté par Tatsi et al en 2003 et IM et al en 2001 (la DCO entre 9250mg/L et 115000mg/L).

La DBO5 est 9250mg/L), ainsi que celle du COT avec une valeur de 22400mg/L qui est supérieure aussi aux études algériennes mentionnées et tunisiennes de Trabelsi en 2012 à une valeur de 4940 mg/L, indiquent une charge organique très élevée (Tableau 06).

Selon Mejraoua et Zine (2017), les valeurs élevées de la DCO des lixiviats montrent que les effluents se trouvent dans des conditions réductrices (taux d'oxygène très bas) qui est représenté dans notre cas d'étude le pourcentage d'oxygène dissous ne dépasse pas le 0,1% et confirme la prédominance du phénomène d'anaérobiose dans les bassins de stockage du lixiviat au niveau du CET de Batna. En effet, l'oxygène est fortement sollicité pour la dégradation de la matière organique et l'oxydation des minéraux présents dans l'effluent (**Mejraoua et Zine, 2017**).

Par ailleurs, le lixiviat présente une pollution azotée remarquable, il présente une concentration importante en azote total kjeldahl de l'ordre de 1266,504mg/L dont 1098mg/L d'azote ammoniacal qui est proche au résultat de Tatsi et al. (2003). Les nitrates et nitrites aussi enregistrent des valeurs très élevés (Tableau 06). Les concentrations en azote ammoniacal ne diminuent pas de manière significative au cours du temps même si les lixiviats sont matures (**Oumar et al., 2016**). Cela est dû, d'une part, à l'ammonification des substances azotées comme les protéines et les acides aminés, et d'autre part, aux conditions anaérobies dominantes dans le lixiviat et qui ne favorise pas les réactions de nitrification ; ainsi la pollution azotée est considérée comme une contamination persistante (**Kjeldsen et al., 2002**).

En ce qui concerne la conductivité, qui permet généralement d'apprécier la totalité des sels dissous dans l'eau et la minéralisation globale. La valeur enregistrée 38,3ms/cm est voisine de celle rapportées par Chadli (2015) (39,7 ms/cm), les valeurs sont élevés cela à cause de la forte présence des ions inorganiques tels que les sulfates, chlorures, calciums et magnésiums lors de la minéralisation (**Chadli, 2015**).

La salinité enregistrée dans le lixiviat est importante et avoisine de 21,7 ppm. Selon Tchich et *al.* 2016, la salinité est fortement influencée par la température et le taux de précipitation, les températures élevées impliquent le phénomène d'évaporation, par conséquent, une concentration élevée en sels. D'autre part, les précipitations conduisent à la dilution du lixiviat et par conséquent l'abaissement de la salinité.

Le totale des solides dissous (TDS) présente une valeur très élevée de 25600mg/L par rapport aux normes de l'OMS (1000mg/L), et voisine de résultat de Tatsi et *al* en 2003. Il permet d'évaluer la concentration des substances dissoutes provenant des déchets qui sont généralement composés de sels inorganiques (chlorure, calcium, magnésium, potassium et bicarbonate) et de sels organiques (**Peng et al., 2020**).

D'une manière globale, les résultats montrent que notre lixiviat présente une forte charge organique avec les valeurs obtenues qui sont proches de celles rapportées dans d'autres études nationales et internationales (**Hakkou et al., 2001 ; Trabelsi, 2012 ; IM et al., 2001 ; Tatsi et al., 2003 ; Chadli, 2005 ; Bennama et al., 2010**).

- **Analyse par spectrophotométrie UV/visible**

Le résultat du spectre qui a été réalisé entre 200 et 800 nm est représenté dans figure (19).

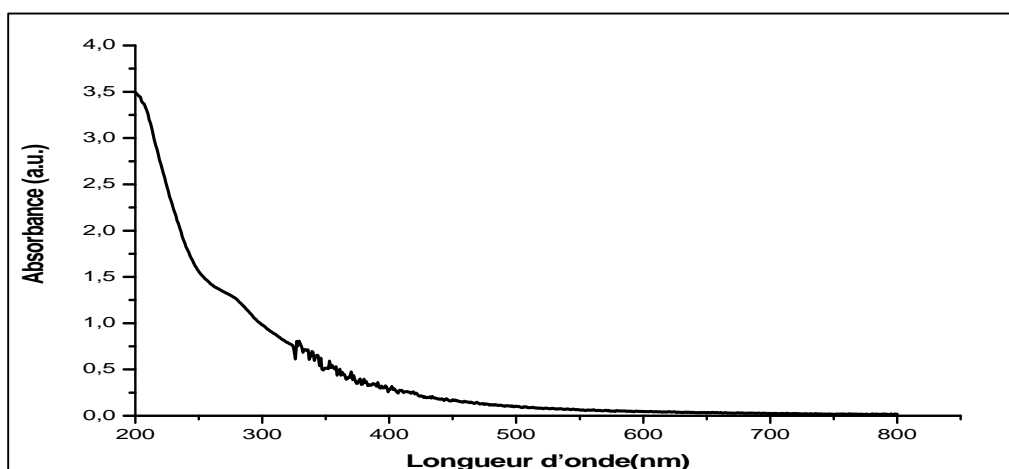


Figure 19 : Evolution spectrale du lixiviat brut diluée 10 fois.

La bande de spectre d'absorption à 254nm représente la matière organique (les polluants cycliques). Une absorbance initiale de 3,5 à 200nm signifie une charge polluante élevée dans le lixiviat jeune (figure 19).

2 Isolement et purification de microalgue

2.1 Observation macroscopique

Après 15 jours d'incubation dans le milieu BBM, des petites colonies de couleur verte et de forme ronde apparaissent, elles ont une consistance visqueuse (figure 20).

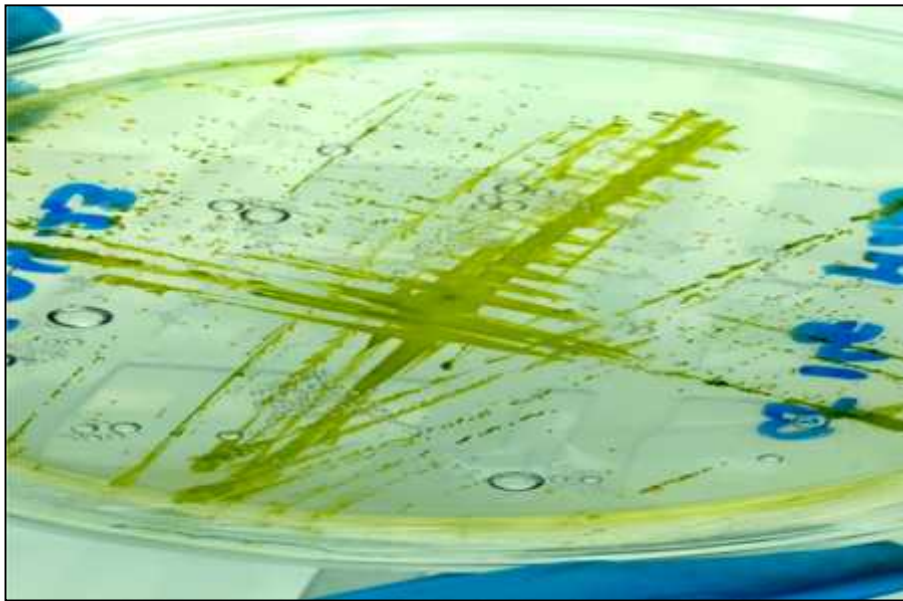
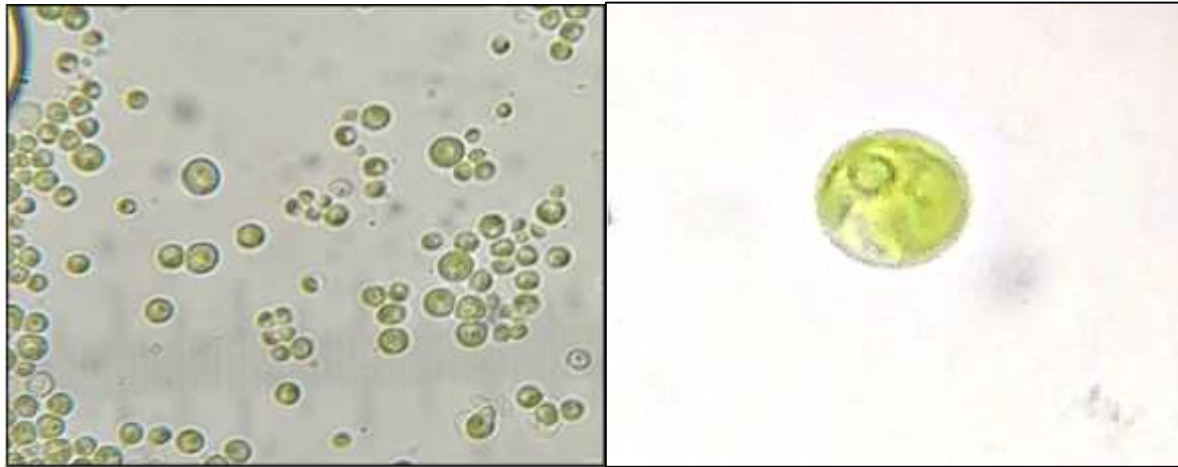


Figure 20 : Photo de l'isolat microalgale sur gélose BBM.

2.2 Identification microscopique

L'observation au microscope optique de la souche microalgale à différents grossissements (G x40 et G x100) nous a permis de mettre en évidence un seul type cellulaire. Des cellules de petite taille, non mobiles, ayant une forme sphérique et sans caractéristiques morphologiques distinctes. Les cellules sont séparées les unes des autres et ne présentent aucune forme de regroupement colonial (figure 21). Ces cellules correspondent au genre *Chlorella* selon une clé morphologique utilisée dans la littérature (**Bellinger et Sigeo, 2015**).



(Gx40)

(Gx100)

Figure 21 : Photo d'observation microscopique de *Chlorella sp.*

- **Classification**

Selon Berramdani, 2019, Cette souche est de :

Division :Chlorophyta.

Classe : Chlorophyceae.

Ordre: Chlorococcales.

Famille :Chlorellaceae

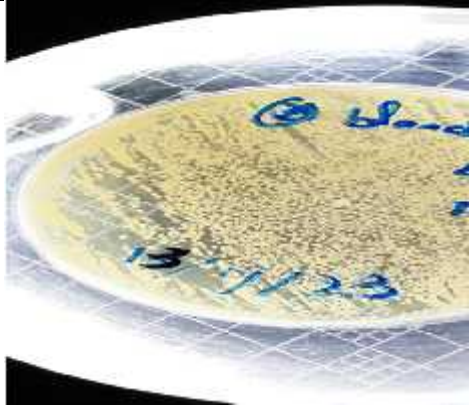

Genre :*Chlorella*

Espèces : *Chlorella sp.*

3 Isolement et purification des bactéries

En se basant sur l'aspect morphologique des colonies, deux souches ont été purifiées par repiquage successif sur gélose nutritif. Les colonies présentent des différences dans la forme, la taille, le relief et la couleur. Le tableau ci-dessous présente l'aspect macroscopique des isolats sélectionnés.

Tableau 07 :Aspect macroscopique des deux souches bactériennes sélectionnées.

Les isolats	Forme	Couleur	Taille	Relief	Photos
Souche 1	Ronde	Blanche	Petite	Convexe	
Souche 2	Ronde	Saumon	Moyenne	Convexe	

4 Traitement de lixiviat par les différents procédés (H₂O₂/UV, Traitement simple par les bactéries, Traitement combinée par bactéries+ microalgues)

Le lixiviat utilisée est diluée 10 fois afin de diminuer la charge polluante et pour permet la pénétration de rayon UV pendant le traitement par POA, puis autoclavé pour éliminer la flore indésirable qui s'installe au cours du transport de lixiviat de CET au laboratoire, et testé uniquement nos souches.

L'exposition aux rayons UV en présence de H₂O₂ à une concentration de [0,3M] été utilisée comme prétraitement pour améliorer la biodégradation à un pH initiale de 10,13. La mesure de l'intensité pendant le traitement à différentes longueurs d'onde est illustré dans le tableau ci-dessous :

Tableau 08 : Les valeurs de l'intensité des rayons UV.

Intensité (mW/cm²)	
Longueur d'onde (nm)	Valeurs
254	2.76
310	21.06
364	36.28

Les valeurs de l'intensité des rayons UV mesurée au cours du traitement par H₂O₂/UV à 254nm, 310nm et 364nm étaient 2.76, 21.06 et 36.28 mW/cm² respectivement (Tableau 08).

5 Suivi de la dégradation de la Matière Organique

5.1 Analyse COT et DCO

Les conditions établies lors des traitements par différents système sont les suivantes :

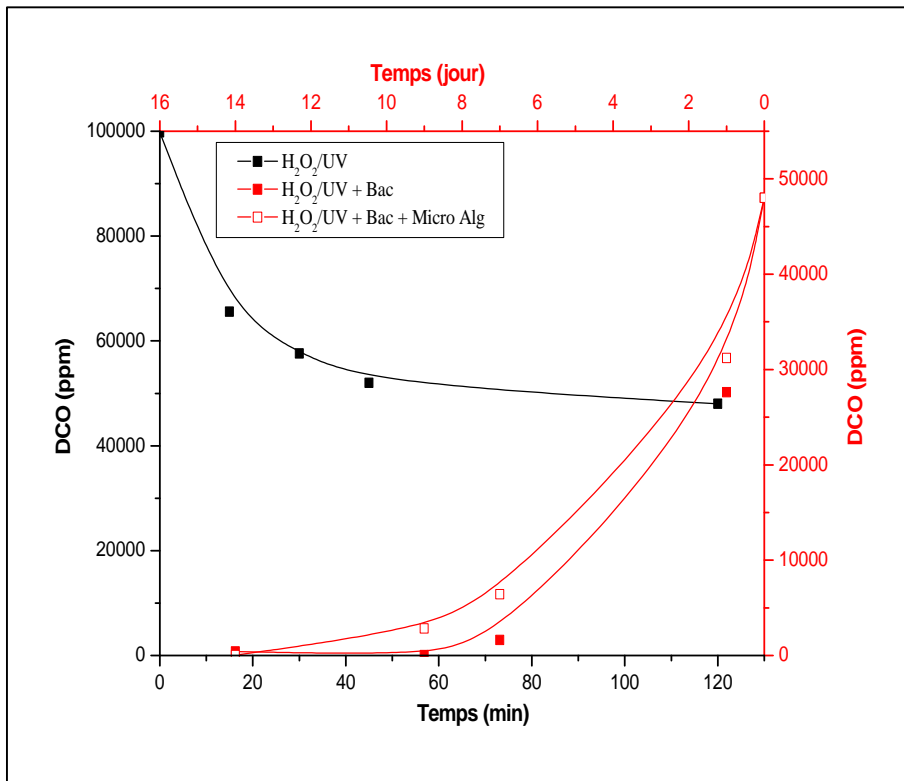
- Traitement par le procédé d'oxydation avancé par H₂O₂/UV

pH = 10,13.

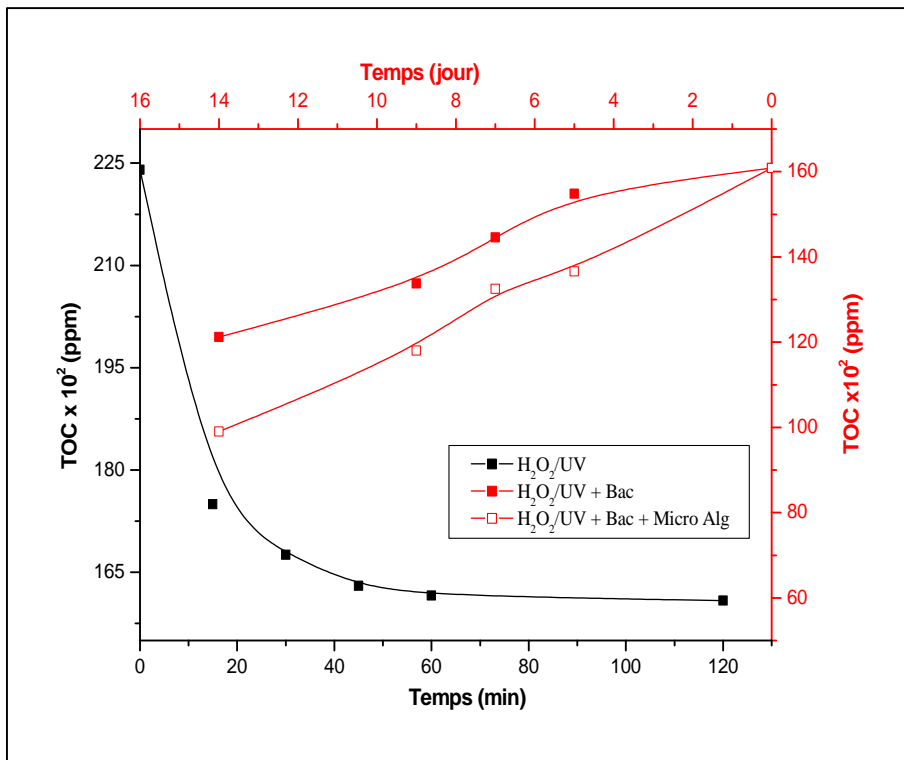
[H₂O₂] = 0,3M

- Traitement biologique (système simple et système combinée)

pH = 7,6

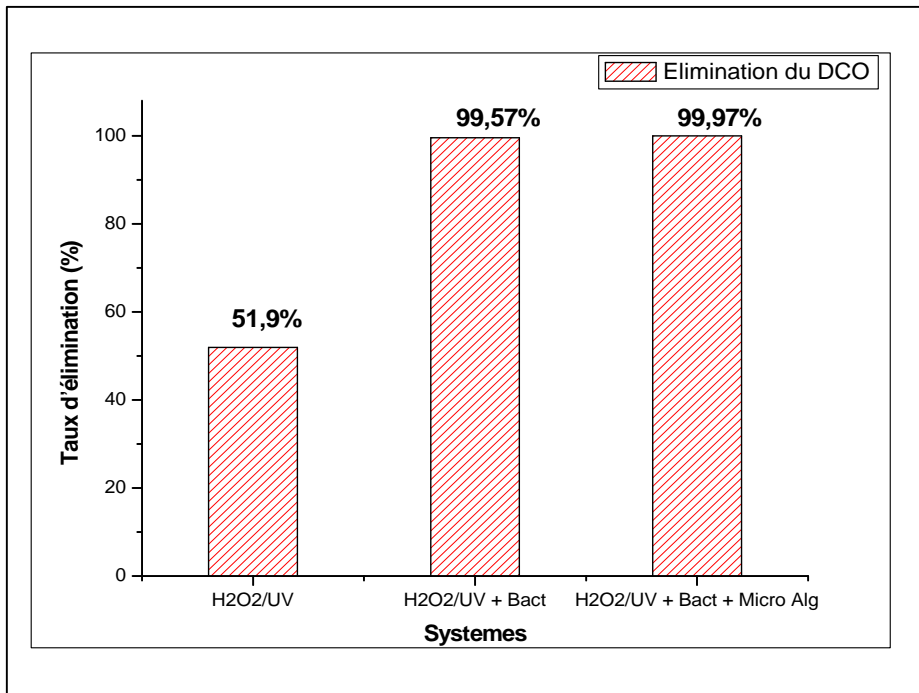


(a)

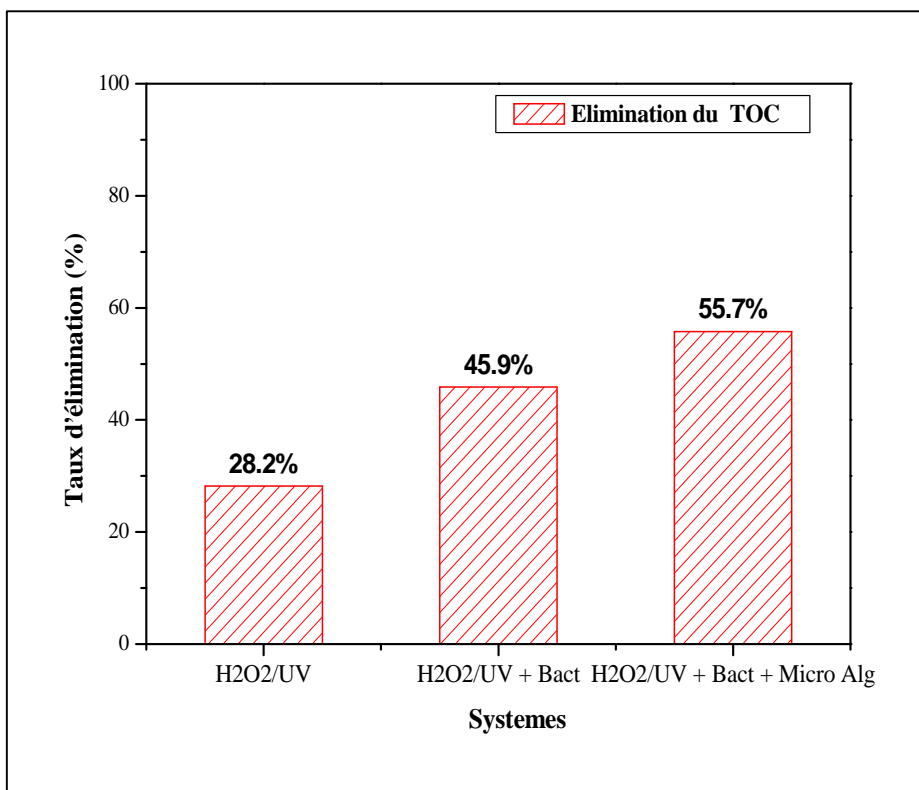


(b)

Figure 22 : Courbes de suivi de (a) La demande chimique en oxygène (DCO) (b) La concentration de carbone organique total (COT) par différent systèmes



(a)

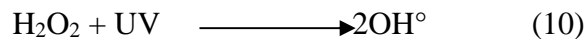


(b)

Figure 23 : Histogrammes de taux d'élimination (a) de la DCO et (b) du COT par différents systèmes.

Le procédé d'oxydation avancé vise à dégrader la matière organique, les résultats montrent une diminution remarquable de la DCO et du COT après 120 min d'irradiation par UV avec une concentration de 47995,48 mg/L, 16084 mg/L respectivement dans le système POA par H₂O₂/ UV (figure 22). Le taux d'élimination du COT et de la DCO est respectivement 28,2%, 51,9% (figure 23).

En effet, des radicaux hydroxyles se forment dans le milieu par l'action des rayons UV sur l'H₂O₂, ces radicaux attaquent les composés organiques du lixiviat et les dégradent, selon les réactions suivantes (**Hong et al., 1996**):



L'épuisement de l'H₂O₂ marque à fin de la réaction de POA. La biodégradation de la matière organique se poursuit par les traitements biologiques et reste remarquable pour les deux systèmes de traitement biotique. Le traitement par le système simple (bactéries seules) abouti à la fin d'incubation, à une diminution du COT et de la DCO de l'ordre de 12120 ppm pour le COT et 424,41 mg/L respectivement. En parallèle, le traitement par le système combiné (bactéries + microalgues) présente une diminution plus importante qui est de l'ordre de 24,57mg/L pour la DCO et 9903ppm pour le COT (figure 22).

Selon les résultats, le taux d'élimination de la DCO est presque similaire dans le système simple et dans le système combiné (bactéries + microalgue) (figure23), qui sont de 99,57% et 99,97% respectivement. Par contre le suivi du taux d'élimination de la matière organique par le COT, révèle une différence de 9,8% entre les deux systèmes (figure23). Ces valeurs indiquent que la minéralisation de la matière organique dans l'analyse du COT est partielle, elle vise que le carbone organique dégradé par les bactéries et montre une amélioration de la minéralisation en présence des microalgues. Par contre, l'analyse de la DCO représente la quantité d'oxygène consommée par les matières oxydables chimiquement contenues dans l'eau. Elle est représentative de la majeure partie des composés organiques et des sels minéraux oxydables (**Mejraoua et Zine, 2017**).

Ces résultats supposent que l'association Bactéries/ Microalgue améliore la dégradation de la matière organique du lixiviat par comparaison au consortium bactérien seul.

En effet, un phénomène de symbiose s'établie entre la souche *chlorella sp.* et le consortium bactérien. L'oxygène fournit par l'activité photosynthétique des microalgues est utilisé par les bactéries pour l'oxydation de la matière organique. A leur tour les microalgues consomment le CO₂ libéré par les bactéries comme source de carbone inorganique. Alors que dans le système simple l'O₂ constitue un facteur limitant qui influe sur la dégradation de la matière organique.

Par ailleurs, les bactéries dégradent efficacement les composés organiques azotés générant de l'ammonium, ce dernier est consommée par les microalgues comme source d'azote (Fito et Alemu, 2019).

De plus, Une variété de substances organiques telle que les protéines, les lipides et les acides nucléiques produits par l'activité métabolique des algues peut être utilisée par les bactéries comme substrat potentiel. Tandis que la croissance bactérienne améliore le métabolisme des algues en réduisant les concentrations d'O₂ dans le milieu (Fito et Alemu, 2019).

Les résultats obtenus concordent avec ceux rapportés par Fito et Alemu en 2019, qui ont enregistré un taux d'élimination de la DCO de 43,7 % dans le système simple et combiné de 84,3%.

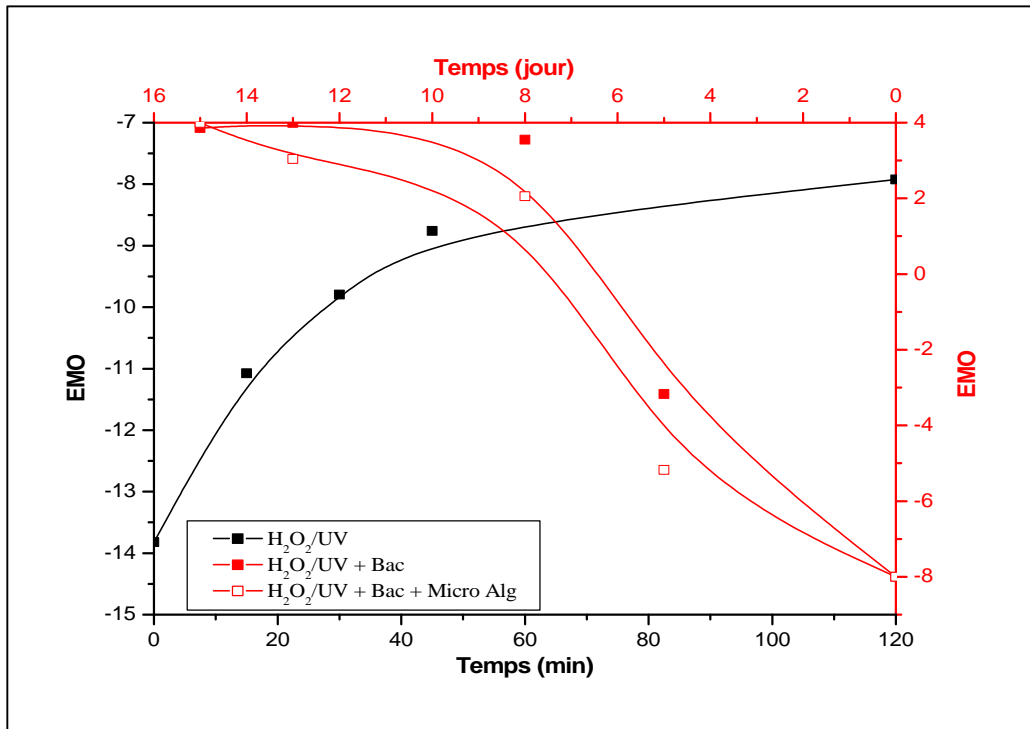


Figure 24 : Courbe d'évolution de l'état moyen d'oxydation (EMO).

On observe une augmentation de l'état moyen d'oxydation (EMO) dans le système H₂O₂/UV, ainsi que dans le système simple (bactéries) et combinée. Ces résultats confirment la diminution des valeurs du DCO et COT et indiquent la dégradation du lixiviat au cours des 120 minutes de traitement chimique. Ensuite la diminution progressive du DCO et COT est probablement dû à la dégradation rapide de la matière organique facilement biodégradable par les bactéries (système simple) avec une augmentation rapide d'EMO (Figure 24).

De plus, la consommation de l'oxygène dissous et la production du CO₂, par la nitrification et la respiration bactérienne, favorisent le cycle photosynthétique chez les microalgues dans le système combinée et donne une meilleure efficacité d'élimination des contaminants et la diminution du DCO et COT pendant les 14 jours avec un EMO significatif.

Par la suite on peut dire que le système le plus efficace d'après la différence marquée entre les résultats du COT utilisée pour évaluer l'EMO et la biodégradation des trois systèmes : c'est le système combinée le plus oxydant et le plus efficace.

5.2 Suivre de la croissance des bactéries et de microalgue

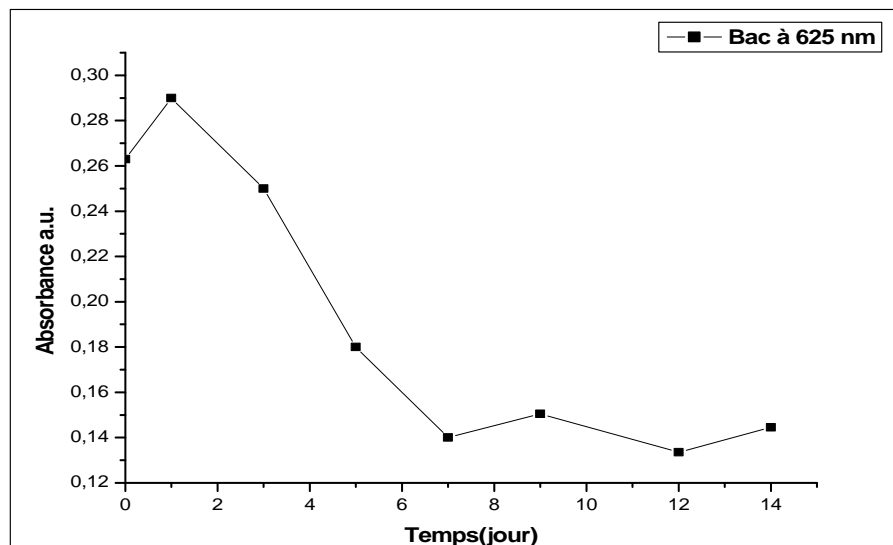
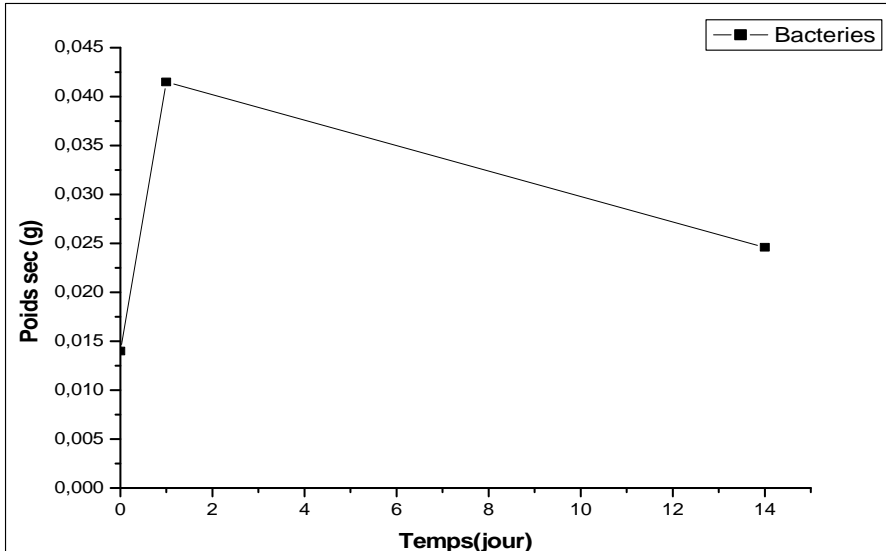


Figure 25 : Courbes de suivi de la croissance bactériennes au cours du traitement par système simple.

La courbe de l'évolution de l'absorbance du système simple montre une augmentation rapide de la densité optique mesurée à 625nm dans les premières 24h d'incubation. Le même profil est observé pour l'évolution du poids sec qui augmente pour atteindre le maximum (0,0415g) après 24h (figure 25). Cette prolifération bactérienne est due forcément à la dégradation de la matière organique présente dans le lixiviat et l'utilisation des produits comme substrats de croissance. On observe aussi l'absence d'une phase de latence, ce qui indique une préadaptation du consortium bactérien au milieu de culture.

On remarque une diminution de la densité optique et du poids sec, à partir du 1^{er} jour jusqu'à la fin de l'incubation (figure 25). Ce comportement peut être attribué à l'apparition dans le milieu de culture de composés intermédiaires résultat de la dégradation de la matière organique. Ces nouvelles molécules peuvent avoir un effet inhibiteur sur la croissance des cellules bactériennes (Pelmont, 2005).

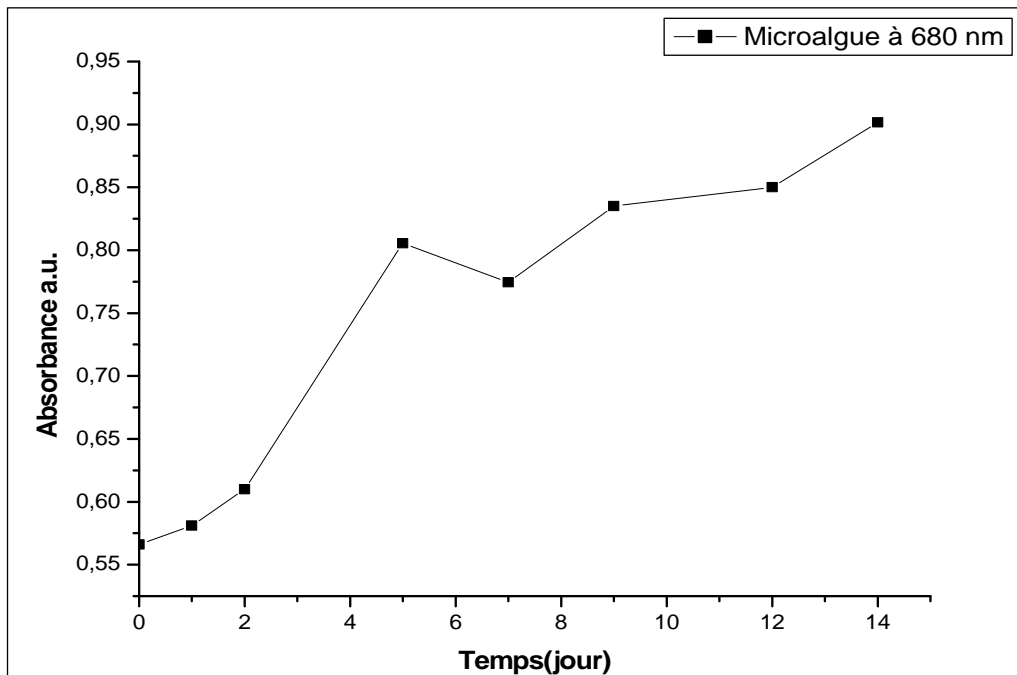


Figure 26 : Courbe de suivi de la croissance microalgale au cours du traitement par système combinée.

Selon le graphe qui présente l'évolution de l'absorbance des microalgues mesurée à 680nm dans le système combiné, on remarque une stabilité durant les 2 premiers jours d'incubation (figure 26). Cette phase peut être expliquée par une courte période d'adaptation des cellules de *Chlorella sp.* au milieu de culture (lixiviat) à partir duquel elles étaient isolées.

Ensuite, une phase exponentielle s'installe et perdure pendant le reste de la période du traitement. Cette croissance serait dû à la consommation des nutriments présentés dans le lixiviat ainsi que les nutriments résultats de l'oxydation de la matière organique par les bactéries. Le CO₂ libéré par les bactéries constitue quant à lui une source de carbone pour la microalgue. D'une manière globale, la relation symbiotique qui s'installe entre le consortium

bactérien et la microalgue favorise le développement de cette dernière. Ce profil a été aussi observée dans d'autres études similaire (Geremia, et al., 2021).

5.3 Variation du pH

A la fin de l'essai de POA, la valeur du pH est avoisinante le 9,1. Elle est ensuite ajustée à 7,6 pour les autres traitements.

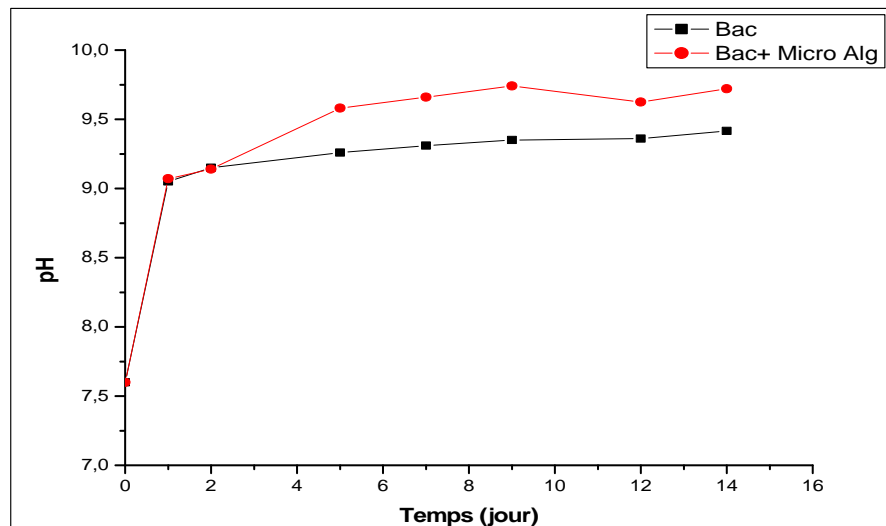


Figure 27 : Courbe de suivi du pH au cours de traitement biologique par les deux systèmes.

Comme il est indiqué sur le graphe de l'évolution du pH dans le système combiné, une augmentation significative du pH a été enregistré tout au long du traitement jusqu'à, il atteint une valeur maximale de 9,72 au 14^{ème} jour d'incubation (figure 27). Ce phénomène est du probablement à la prolifération des cellules de *Chlorella sp*, qui utilisent le CO₂ comme source de carbone inorganique au cours du processus de photosynthèse. En effet le CO₂ libéré par l'activité bactérienne se dissous dans l'eau causant la formation de l'acide carbonique responsable de la diminution du pH. La consommation du CO₂ par la microalgue provoque quant à elle l'alcalinisation du milieu de culture (Ben Amor, 2016).

D'après le résultat obtenu par Sirven en 2009, et qui sont accordés par plusieurs autres études similaires, le pH du milieu de culture dans un système simple utilisant les bactéries seules diminue d'une façon significative lors de leur prolifération, ce qui n'est pas le cas pour notre étude où les résultats montrent une importante augmentation du pH.

5.4 Variation de nombre de la couleur

Le résultat de la dégradation de la couleur est représenté dans la figure ci-dessous.

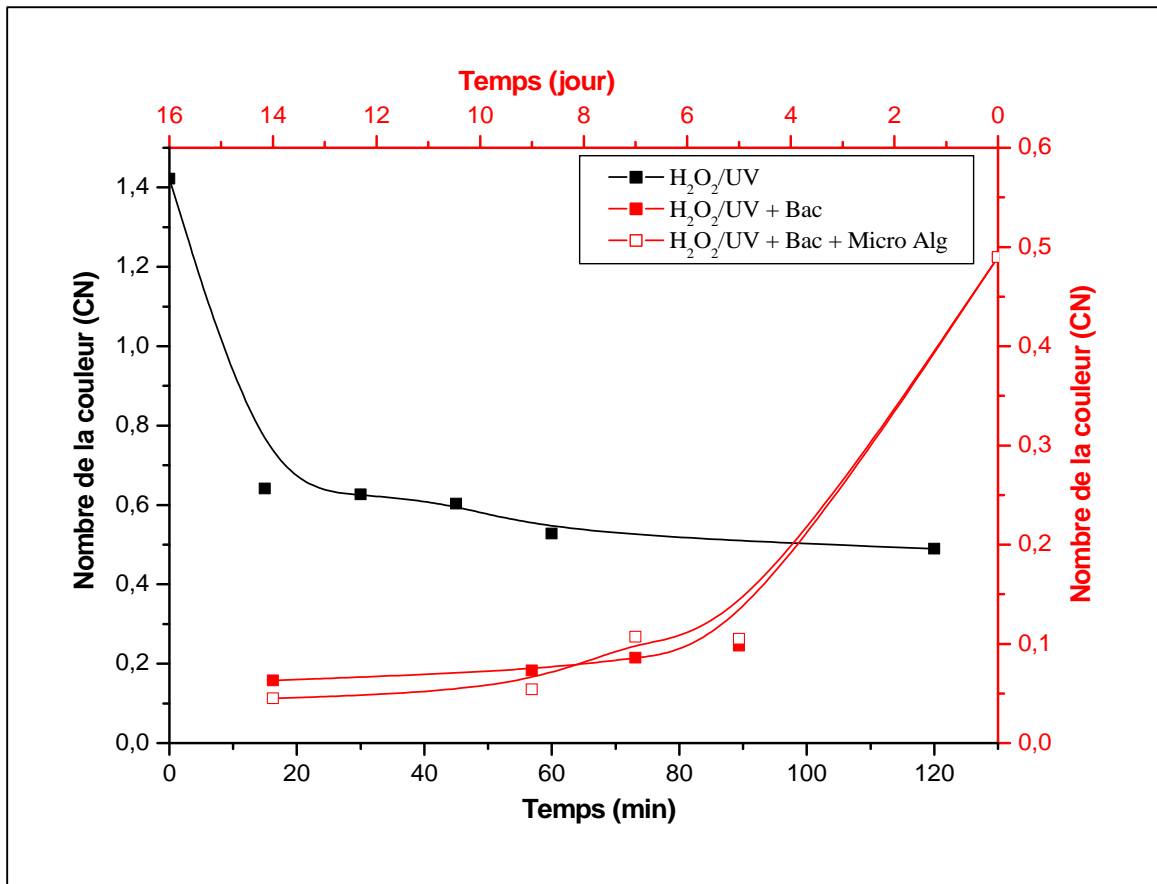


Figure 28 : Courbe d'évolution du Nombre de la Couleur (CN) du Lixiviat au cours des différents traitements.

Le lixiviat subit également une décoloration visuellement remarquable (figure 29) dans la courbe de nombre de couleur qui évolue avec le temps (figure 28). La couleur du lixiviat change à cause des réactions chimiques avec H₂O₂ qui modifie la structure du lixiviat colorés et les rendant claire. Au début du traitement la couleur est opaque brunâtre, et après 120min du traitement chimique, la couleur devient marron claire, puis après les 14jours du traitement biologique par les deux systèmes (simple et combinée) la couleur devient jaune claire.

Cette dégradation de couleur indique la dépollution de ces effluents donc la dégradation de la matière organique (figure 29).

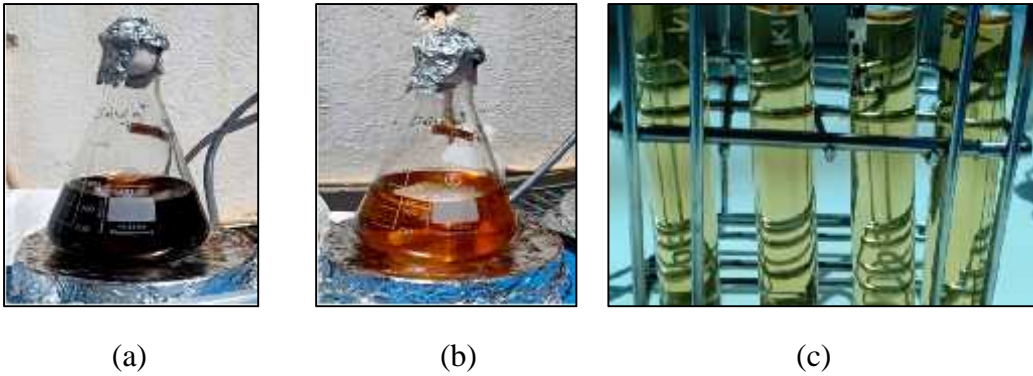


Figure 29 :Photos de la dégradation de couleur (a) lixiviat brut, (b) lixiviat après traitement H_2O_2/UV , (c) lixiviat après traitement biologique.

5.5 La souche bactérienne après traitement

Les boîtesensemencées à partir des Erlenmeyers des deux systèmes sur milieu GN après incubation de 3 jrs ont montré la présence d'une seule souche bactérienne résistante jusqu'à la fin du traitement (figure 30).

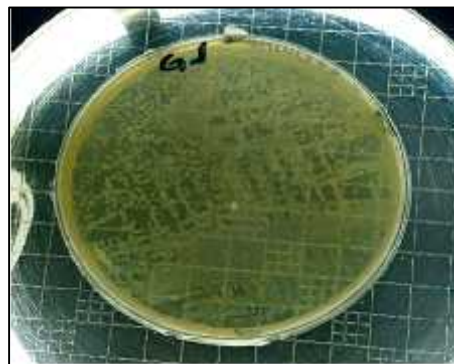


Figure 30 :Photo de la souche bactérienne résistante après traitement biologique par les deux systèmes.

La croissance de la souche bactérienne après traitement biologique dans le système simple laisse à supposer que la souche bactérienne est entrée dans un état de dormance vers la fin du traitement. Cela est dû probablement à cause de l'installation des conditions défavorables, révélées par la diminution de DO, et l'augmentation du pH. Une fois les conditions de culture redevenues favorable sur milieu GN, la bactérie a pu reprendre sa croissance dans la boîte de Petri.

Conclusion

Les résultats de notre étude suggèrent que l'utilisation d'un consortium de bactéries indigènes peut être une approche alternative viable pour le traitement des lixiviats traités.

L'évaluation des performances de la technologie de traitement du consortium de bactéries associé à la microalgue a montré également que l'élimination de la matière organique était plus efficace dans le système combiné, ce qui suggère l'effet de la coopération des algue-bactéries naturellement présentes dans le lixiviat.

Les bactéries jouent un rôle clé dans le processus de traitement en dégradant les composés organiques présents dans le lixiviat ce qui réduit considérablement la charge polluante par un taux d'abattement de COT et DCO très importants. Les microalgues par la photosynthèse fournissent l'oxygène nécessaire aux bactéries et absorbent les éléments résiduels tels que l'azote et le phosphore pour une dépollution efficace.

En conclusion, il est prometteur d'étendre cette technologie à l'échelle industrielle pour la gestion des lixiviats au niveau des centre d'enfouissement, et ce par l'installation de bassins ouverts de type raceway qui semblent être une solution technique peu coûteuse. L'oxygénation du milieu fournie par les microalgues remplacera les turbines d'aération, et l'énergie solaire profitera aux microalgues pour le processus de photosynthèse. Cependant, d'autres études seront nécessaires afin d'évaluer l'effet du scaling up sur le comportement des espèces microbiennes, l'effet des conditions environnementales sur les performances d'épuration, la recherche et le criblage de nouvelles souches microbiennes plus tolérantes aux polluants et résistantes aux stress environnementaux.

En perspectives, la biomasse algale de l'effluent final pourrait constituer un coproduit à récupérer et à valoriser. À cet égard, l'utilisation d'espèces aux propriétés épuratoires et productrices de substances à haute valeur ajoutée doit être considérée. De plus, la récupération de la biomasse algale semble être un processus difficile à mettre en œuvre à grande échelle, à cause des contraintes techniques, il est donc essentiel de penser à des mécanismes efficaces et le moins coûteux.

Références bibliographiques

- **Abadli, M., Harkati, G. (2015).**Contribution à l'inventaire des quelques microalgues vertes d'intérêt nutritionnel dans quelques zones humides de la wilaya d'El oued (Lac Ayata, Chott Merouane, Sife Lemnade, Step Kouinine). Mémoire Master. Université Echahid Hamma Lakher, 60p.
- **AFNOR NF EN 1899-2 (mai, 1998).** Détermination de la demande biochimique en oxygène après n jours (DBO), partie 2 : Méthode pour les échantillons non dilués (indice de classement T90 103-2).
- **Alcaine, A. (2010).**Biodiesel from microalgae, Final degree project. *Royal school of technology*. 92p.
- **Aries, F., Mellit, A., Labiad, H. (2020).** Adaptation des microalgues aux métaux lourds : techniques de culture et procédés de bioremédiation. Mémoire Master. Université de Jijel, 29p.
- **Asfour, N. (2019).**Production en masse de microalgue : Optimisation des paramètres physico-chimiques. Thèse de Doctorat. Université Ahmed Ben Bella, 165p.
- **Atmani, M., Medjadj, L. (2017).**Utilisation d'une biomasse algale pour le traitement des eaux. Mémoire Master. Université de Blida 1, 69p.
- **Bada, N., Assobhei, O., Kabbabi, A., Mhamdi, R., Mountadar, M. (2015).**Caractérisation et prétraitement du lixiviat de la décharge de la ville d'Azemmour. *Déchets, sciences et technique*, 58p.
- **Becker, E. (1994).***Microalgae biotechnology and microbiology*. C. U. Press. Cambridge, 293p
- **Beigbeder, J. (2019).** Phytoremédiation d'eaux usées industrielles. Thèse de doctorat. Université Sherbrooke, 130p.
- **Belanger-Lepine, F. (2019).**Culture d'un consortium d'algues-bactéries dans des eaux usées industrielles pour l'obtention de produits biosourcés utilisables par les entreprises locales. Thèse de Doctorat. Université du Québec, 159p.
- **Belle, E. (2008).**Évolution de l'impact environnemental de lixiviats d'ordures ménagères sur les eaux superficielles et souterraines, approche hydrobiologique et hydrogéologique. Site d'étude : décharge d'Étueffont, Territoire de Belfort – France, 288p.
- **Bellinger, E. G. and Sigeo, D. C. (2015).**Freshwater algae: identification, enumeration and use as bioindicators". *ActaBotanicaHungarica*, **57**, 443p.

- **Ben Amor, H. (2016).** Etude et optimisation de bioaccumulation de Mg²⁺ dans les microalgues “ *Chlorellavulgaris*”. Thèse de Doctorat. Université de Sfax. 183p
- **Bennama, T., Younsi, A., Debab, A. (2010).** Caractérisation et traitement physico-chimique des lixiviats de la décharge publique d’El-Kerma (Algérie) par adsorption en discontinu sur de la sciure de bois naturelle et activée chimiquement. *Water Qual. Res. J. Can*, **45** (1) 81-90p.
- **Berramdani, R. (2019).** Contribution à la production des microalgues isolées partir du barrage ManbaaElghizlene-Biskra. Mémoire Master. 62p
- **Berthe, C. (2006).** Etude de la matière organique contenue dans des lixiviats issus de différentes filières de traitement des déchets ménagers et assimilés. Thèse de doctorat. Université de Limoges. 167p.
- **Bessenasse, M. (2012).** Réalités des centres d’enfouissement technique en Algérie : cas de CET de Soumaa (W Blida). *Agrobiologia*, **3**, 71-76p.
- **Boileau, M. (2015).** Evaluation du potentiel d’utilisation d’une eau usée industrielle comme substrat de culture pour des microalgues d’eau douce dans une optique de production de biocarburants de 3^{ème} génération : évaluation du potentiel d’utilisation d’une eau usée industrielle. Thèse de Doctorat. Centre universitaire de formation en environnement et développement durable, Université de Sherbrooke, 97p.
- **Byrne, P. (2013).** Les systèmes innovants de dessalement d’eau de mer. [Photo] In *Research gate*. Disponible sur : https://www.researchgate.net/figure/15-Principe-de-losmose-inverse_fig3_281418361 (Consulté le : 13/03/2023).
- **B2 life. (s.d).** *Forme nutritive de Spiruline*. [Photo] In : *B2life*. Disponible sur : <https://b2life.net/produit/spiruline-80-gelules/> (page consulté le 08/03/2023).
- **Cantin, I. (2010).** La production biodiesel à partir des Microalgues ayant un métabolisme hétérotrophe. Mémoire doctorat. Université de Sherbrooke. 87p.
- **Chadli, A. (2015).** Isolement et caractérisation de bactéries biodégradantes d’hydrocarbure à partir du lixiviat du centre d’enfouissement technique d’Ain Timouchent. Thèse de Doctorat. Université Ahmed Ben Bella, 106p.
- **Chihaoui, G. (2017).** Les centres d’enfouissement technique pour la protection de l’environnement en Algérie. Mémoire Master. Université sidi belabaesse, 79p.

- **Clement-Iarosière, B. (2012).** Etude de la croissance de *Chlorella vulgaris* en photobioréacteur Batch et continue, en présence de concentration élevée de CO₂. Thèse de Doctorat. Ecole centrale Paris, 202p.
- **Crenn, k. (2016).** Interactions entre microalgues et bactéries dans l'environnement marin. Thèse de doctorat. Université du Québec, 267p.
- **De Laat, J (2018).** Pourquoi et comment traiter les eaux usées urbaines ? *Encyclopedie de l'environnement*, 1-13p.
- **Djemaci, B. (2012).** La gestion des déchets municipaux en Algérie : Analyse prospective et éléments d'efficacité. Thèse de Doctorat. Université de Rouen, 375p.
- **Elhifnawy, C. (2016).** Identifier des microalgues pour le traitement des eaux usées et la production de biocarburant. *Rapport du stage Master 2 Recherche*. Lebanon, 55p.
- **El Mrabet, I., Benzina, M., Valdes, H., Zaitan, H. (2020).** Treatment of landfill leachates from Fez city (Morocco) using a sequence of aerobic and Fenton processes. *Scientific African*, 8.
- **Emparan, Q., Harun, R., Danquah, M. (2018).** Role of phycoremediation for nutrient removal from wastewaters : A review. *Applied ecology and environmental research*, 17(1), 889-915p.
- **Ets travaux Géomembrane. (2018).** *Alvéole couvert*. [Photo] In : *prestageo* : Disponible sur <https://www.prestageo.com/references/> (Page consulté le 19 février 2023).
- **Fallahi, A., Fariba, R., Asgharnejad, H., Khorshidi, E. (2021).** Interactions of microalgae-bacteria consortia for nutrient removal from wastewater: A review. *Chemosphere*, 272, 1-15p.
- **Fettouch, S. (2014).** Synthèse des membranes et leurs applications dans le traitement du lixiviat. Mémoire Master. Université Abdelhamid Ibn Badis, 40p.
- **Filali, R. (2012).** Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique de CO₂. Thèse de Doctorat. Ecole Doctorale Sciences et Technologies de l'Information des Télécommunications et des Systèmes, 224p.
- **Fito, J., Alemu, K. (2019).** Microalgae-bacteria consortium treatment technology for municipal wastewater management. *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 4(4), 9p.

- **Foo, K., Hameed, B. (2009).**An overview of landfill leachate treatment via activated carbon adsorption. *Journal of Hazardous Materials*, **171**,54-60p.
- **Futura. (s.d.).***Structures cellulaires d'une algue eucaryote.* [Schema] In : *futura*. Disponible sur <https://www.futura-sciences.com/planete/dossiers/botanique-algues-surprenants-vegetaux-aquatiques-523/page/8/> (page consulté le 08/03/2023).
- **Gael, B., Bruno, S.(2014).**Microalgues : de petits végétaux aux grandes promesses.*Biofutur*, **360**, 28-31p.
- **Gaignard, C. (2019).**Criblage, identification et caractérisation physico-chimique d'exopoly saccharides de microalgue et cyanobactérie. Thèse de Doctorat. Université Clermont Auvergne, 321p.
- **Geremia, E., Caton, C., Ripa, M., Ulgiati, S. (2021).** A Review about Microalgae Wastewater Treatment for Bioremediation and Biomass Production—A New Challenge for Europe. *Environments*, **8**, 136p.
- **Gestion de l'environnement, (2021).***Le stockage des déchets.* [Schéma] In : *wikimemoire* : Disponible sur <https://wikimemoires.net/2021/01/le-sCOTkage-des-dechets-linstallation-et-lenfouissement/> (Page consulté le 19 février 2023).
- **Goers, L., Freemont, P., Poliizi, M. (2015).**Co-culture systems and technologies: Taking synthetic biology to the next level. *The royal society interface*, (11).
- **Grisey, E. (2013).**Impact de l'évolution des déchets d'une installation de stockage de déchets non dangereux sur l'environnement. Thèse de Doctorat. Université de Franche comté, 208p.
- **Hakkou, R., Wahbi, M., Bachnou, A., Elamari, K. (2001).**Impact de la décharge publique de Marrakech (Maroc) sur les ressources en eau. *Bulletin of Engineering Geology and the Environment*,**60**, 325-336p.
- **Hamaidi-chargui, F., Zoubiri, A., Hamaidi, M., Debib, A., Kais, H. (2016).**Evaluation de l'efficacité de la station d'épuration de Médea (Algeria). *Larys journal*, **26**, 113-128p.
- **Heeg, J. S. Wolf, M. (2015).**ITS2 and 18S rDNA sequence-structure phylogeny of Chlorella and allies (Chlorophyta, Trebouxiophyceae, Chlorellaceae). *Plant Gene*, **4**, 20-28p

- **IM, J., Woo, J.,CHOL.,HAN, B.,KIM, C. (2001).**Simultaneous organic and nitrogen removal from municipal landfill leachate using an anaerobic-aerobic system. *Water Res.*, **35**, 2403-2410p.
- **ISO 5663 :1984 (F).**Qualité de l'eau — Dosage de l'azote Kjeldahl — Méthode après minéralisation au sélénium.
- **ISO 6777-1984 (F).**Qualité de l'eau - Dosage des nitrites - Méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire.
- **ISO 7890-3 :1988 (F).**Qualité de l'eau - Dosage des nitrates -Partie 3 : Méthodes spectrométrique avec l'acide sulfosalicylique.
- **Journal officiel de la République algérienne. Numéro 36, juin 2009.** Valeurs limites maximales pour la teneur en substance des eaux usées nocives autres que domestiques de leur rejet dans un réseau d'assainissement public ou dans une station d'épuration.
- **Kehila, Y., Mezouari, F.,Matejka, G. (2015).** Impact de l'enfouissement des déchets solides urbains en Algérie : Expertise de deux centres d'enfouissement technique (CET) à Alger et Biskra. *Déchets, sciences et techniques*, **56**(4), 29-38p.
- **Khaldi, H., Zeggaoui, Z. (2014).**Contribution à l'étude de la production de biomasse chez une microalgue verte *Chlorella sp.* souche isolé dans le parc national du Djurdjura (Foret de Darna). Mémoire Master. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 46p.
- **Kirk, J. (2011).**Light and photosynthesis in aquatic ecosystems. Edition: Cambridge university press, England.
- **Kjeldson, P., Barlaz, M., Rooker, P.,Baun, A. (2002).** Present and long-term composition of MSW landfill leachate: A review *Crit. Rev. Env. Sci. Tec.*, **32**, 297-336p.
- **Laceb, N., Meziani, H. (2013).**Caractérisation des lixiviats de la décharge d'Ouled Fayet et leurs traitements par adsorption sur Hydroxyapatite. Mémoire Master. Université Mouloud Mammeri-Tizi-Ouzou, 59p.
- **Lanini, S. (1998).**Analyse et modélisation des transferts de masse et de chaleur au sein des déchets- d'ordures ménagères. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse,174p.
- **Le conseil de l'Union européenne. Directive 1999/31/CE du conseil 26 avril 1999 concernant la mise en décharge des déchets.** Journal officiel des communautés européennes, n° 182, 32p.

- **Li, S., Zhang, C., Li, F., Ho, S. (2022).**Recent advances of algae-bacteria consortia in aquatic remediation, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*.
- **Lucchetti, A. (2014).***Modélisation et conception d'un système de culture de microalgue*. Thèse de Doctorat. Ecole nationale supérieure des mines de Paris, 175p.
- **Leong, W., Kiatkittipong, K., Wang, C., Kee, M. (2020).**Comparative Performances of Microalgal-Bacterial Co-Cultivation to Bioremediate Synthetic and Municipal Wastewaters. *Whilst Producing Biodiesel Sustainably Processes*, **8**, 1427p.
- **Leblond, P. Fischer, G. Francou, F. X. Berger, F. Guérineau, M. Decaris, B. (1966).** The unstable region of *Streptomyces ambofaciens* includes 210 kb terminal inverted repeats flanking the extremities linear chromosomal DNA. *Molecular Microbiology*,**19** (2) 261–271p.
- **Marcilhac, C. (2014).**Etude des conditions de culture d'un écosystème complexe microalgues / bactéries: application au développement d'un procédé d'extraction-valorisation des nutriments issus des digestats. Thèse de Doctorat. Ecole doctorale SDLM université de Rennes1, 267p.
- **Mary, K. (2011).**Bioremediation on overview.*Industrial Pollution Control*,**27**(2), 161-168p.
- **Maynard, H., Ouki, S., Williams, S. (1999).**Tertiary lagoons: are view of removal mechanisms and performance, *Water Research*, **33**(1), 1–13p.
- **Mehdi, M. M., Belabbed, B. E., Djabri, L., Hani, A., amp; Laour, R. (2007).** Caractéristiques de la décharge publique de la ville de Tiaret et son impact sur la qualité des eaux souterraines. *Courrier du Savoir*, **8**, 893-99p.
- **Mezouari, F. (2011).**Conception et exploitation des centres de stockage des déchets en Algérie et limitation des impacts environnementaux. Thèse de Doctorat. Université de Limoges, 243p.
- **Mohammedi, D. (2016).**Les risques de la pollution du milieu naturel par les lixiviats des décharges contrôlées : cas de centre d'enfouissement technique Tlemcen. Mémoire Master. Université Tlemcen, 69p.
- **Morin Crini, N., Crini, G. (2020).** Eaux Industrielles contaminées : Réglementation, Paramètres chimiques et biologiques et Procédés d'épuration innovants : Procédés d'oxydation avancée pour le traitement des eaux : Presses universitaires de Franche-Comté, 417-445p.

- **Mujtaba, G., Lee, K. (2017).**Treatment of real waste water using co-culture of obilized *Chlorella vulgaris* and suspended activated sludge. *Water research*.**120**, 174-184p.
- **Mustafa, S., Nawaz B., Munazza, M., Munawar, I. (2021).**Microalgae biosorption, bioaccumulation and biodegradation efficiency for the remediation of wastewater and carbon dioxide mitigation: Prospects, challenges and opportunities. *Journal of Water Process Engineering*,41p.
- **Nef, C. (2019).** Metabolisme et interactions bactériennes en lien avec la vitamine B12 chez la microalgue haptophyte *Tisochrysis lutea*. Thèse de Doctorat. Université de Bretagne Loire, 261p.
- **Nguyen, T., An Binh, Q., Bui, T., Hao Ngo, H., Vo, N., Andrew Lin, Y., Guo, W. (2020).**Co-culture of microalgae-activated sludge for waste water treatment and biomass production: Exploring their role under different inoculation ratios,*journal Pre-proofs*,1-770p.
- **Olguin, J. (2003).** Phycoremediation: key issues for cost-effective nutrient removal processes. *Biotechnology Advances*, **22** (2), 81-91p.
 - **Ouali, M., Smail, B. (2017).**Effet de la supplémentation du milieu de culture en carbone sur la croissance et la composition biochimique d'une souche microalgale marine (*Nannochloropsis gaditana*). Mémoire Master. Université Ibn Badis Mostaganm, 45p.
 - **Oumar, D., Drogui, P., Buelna, G. (2016).**Utilisation des procédés électrochimiques et leurs combinaisons avec les procédés biologiques pour le traitement des lixiviats de sites d'enfouissement sanitaires - revue de littérature. *Journal of Water Science*. Revue des sciences de l'eau, **29** (1) 63-89p
 - **Padmaperuma, G., Kapoore, R., Gilmour, J. (2017).**Microbial consortia: a critical look at microalgae co-cultures for enhanced biomanufacturing, *Critical Reviews in Biotechnology*, 1-9p.
 - **Paddock, M. (2019).** Microalgae Wastewater Treatment: A Brief History. *Biological and Agricultural Engineering*, 1-25p.
 - **Pauline, S., Claire., Duran., Isambert. (2006).**Commercial Applications of Microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*,**101** (6), 201-211p.
 - **Pelmont J., (2005).**Biodégradations et métabolismes : les bactéries pour les technologies de l'environnement. Edition EDP Science(France), 593p

- **Peng, J., Kumar, K., Gross, M., Kunetz, T. (2020).**Removal of total dissolved solids from waste water using a revolving algal biofilm reactor. *Water Environment Research*, **92**, 766-778p.
- **Pépin, M. (2006).**Expertises des centres d'enfouissement techniques de déchets urbains dans les PED : contribution à l'élaboration d'un guide méthodologique a sa validation expérimentale sur sites. Thèse de Doctorat. Université de Limoges, 192p.
- **Person,J. (2011).***Livre turquoise – Algue, filières du futur.* Édition : Adebiotech, Romainville, 163 p.
- **Plöhn, M., Spain, O., Sema S., Silva., M., Funk, Ch. (2021).**Waste water treatment by microalgae. *Physiologia Plantarum*, **173**,568–578p.
- **Portillo. (2022).** *Lixiviat : Définition, exemples et traitement.*[Photo] In : *projetecolo*: Disponible sur <https://www.projetecolo.com/lixiviat-definition-exemples-et-traitement-692.html> (Page consulté le 19 février 2023).
- **Pruvost, J. (2022).***La première voiture au biocarburant algal.* [Photo] In : *Gepea*. Disponible sur : <https://up-lrsy.univ-nantes.fr/conferences/alimentation-energie-depollution-les-microalgues-une-solution-aux-enjeux-de-demain-par-jeremy-pruvost> (page consulté le 08/03/2023).
- **Samantha, E., Mcbirney, K., Wong, B., Armani, A. (2016).**Wavelength-normalized spectroscopic analysisof *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* growth rates. *Biomedical optics express*,**7** (10).
- **Sarria, V., Deront, M., Peringer, P., Pulgarin, C. (2003).**Degradation of abiorecalcitrant dye precursor present in industrial wastewaters by a new integrated iron(III) photoassisted–biological treatment. *Applied Catalysis B: Environmental*, **40**, 231-246p.
- **Sialve, B., Steyer J. (2013).**Les microalgues, promesses et défis. *Innovation gronomiques*, **26**, 25-39p.
- **Silva, A., Dezotti, M., Sant'Anna, G. (2004).**Treatment and detoxification of a sanitarylandfillleachate, *Chemosphere*, **55**(2), 207–214p.
- **Siouane, Z. (2018).***Centres d'enfouissement technique : Un taux de saturation à plus de 90%.*[Photo]In : *algerie 360* : Disponible sur <https://www.algerie360.com/centres-denfouissement-technique-un-taux-de-saturation-a-plus-de-90/> (Page consulté le 19 février 2023).

- **Souahi, F et Lessoued, R. (2017).**Optimisation du traitement des lixiviats par électrocoagulation. Ecole nationale polytechnique.
- **Souid, S. (2017).** Contribution à l'étude de fonctionnement du Centre d'Enfouissement Technique de Metlili. Mémoire Master. Université de Ghardaïa, 74p.
- **Sirven, J. (2006).**Détection de métaux lourds dans les sols par spectroscopie d'émission sur plasma induit par laser(LIBS). Thèse de Doctorat. Université de Bordeaux **1**. 250p.
- **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**, 67-73p.
- **Sumi, Y. (2009).** Microalgae Pioneering the Future -Application and Utilization. *Life Science Research Unit, quarterlyreview*, **34**, 1-20p.
- **Sydevom04, (2022).***Le fonctionnement d'un centre d'enfouissement technique.* [Schéma] In : *Sydevom*: Disponible sur <https://www.sydevom04.fr/gestion-des-dechets-dans-le-departement/> (Page consulté le 20 février 2023).
- **Tirry, N. (2015).**Isolement et sélection de souches bactériennes en vue de les utiliser dans le traitement des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès. Mémoire Master. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah.60p.
- **Thalado. (s.d).***Crème solaire à base d'algue.* [Photo] In : *Thalado*. Disponible sur : https://www.thalado.fr/creme-solaire-visage-spf50-xml-381_213-2481.html (page consulté le 08/03/2023).
- **Trabelsi, S. (2011).** Etudes de traitement des lixiviats des déchets urbains par les procédés d'oxydation avancée photochimiques et électrochimiques : Application aux lixiviats de la décharge tunisienne « JebelChakir ».Thèse de Doctorat. Université Paris-Est, 190p.
- **Tchich, N.,Echchelh, A.,Rannane, Y., Cordonnier, C., Rassam, A. (2016).** Pysicochemical and bacteriological characterization of discharge's leachate of Kénitra in Morocco. *Der Pharmacia Lettre*, **8** (19), 8-15p.
- **Thomas, O., Mazas, N. (1986).**La mesure de la demande chimique en oxygène dans les milieux faiblement pollués. *Analisis*, **14** (6),300-302p.

- **Wikimemoires. (2021).**Les aménagements du centre d'enfouissement technique[Photo] In : *wikimemoires.net*. Sur <https://wikimemoires.net/2021/01/les-amenagements-du-centre-denfouissement-technique/> (page consulté le 1 mars 2023).
- **Yamina, A. (2021).** Contribution au suivi de la gestion et la valorisation des déchets dans le centre d'enfouissement technique : Cas du CET Zef Zef (Wilaya de Skikda). Mémoire Master. Université de skikda, 63p.
- **Zaviska, F., Drogui, P., Mercier, G., Blais, J. (2009).** Procédés d'oxydation avancée dans le traitement des eaux et des effluents industriels: Application à la dégradation des polluants réfractaires, *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*,(4), 535-564p.
- **Zouboulis, A., Jun, W., Katsoyiannis, I. (2003).** Removal of humicacids by flotation, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **231**(1), 181-193p.

Annexes

Annexe 01: Photos de la station de traitement du lixiviat et bassins de stockage du lixiviat jeune.



Annexe 02: Photo d'un multi-paramètre de terrain HANNA HI9829.



Annexe 03:

A. Materiel et reactifs pour le dosage de NTK

Tableau : Matériels et réactifs utilisé dans le dosage de l'azote kjeldahl et ammoniacal.

Matériels	Réactifs	Référence
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Erlenmeyers. ▪ Eprouvette graduée. ▪ Burette graduée. ▪ Béchers. ▪ Les matras kjeldahl. ▪ Minéralisateur kjeldahl. ▪ Distillateur kjeldahl. ▪ Balance de précise. ▪ Micropipette. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Acide sulfurique. ▪ Sélénium en pastille. ▪ Acide borique à 50 %. ▪ NaOH à 50 %. ▪ Tashiro (préparé par vert de bromcresol + rouge de méthyle). ▪ HCl à 0.2N. 	ISO 5663 :1984 (F)

B. Photos de Minéralisation (a) Distillation (b) Titration (c).



(a)



(b)



(c)

C. Photos de filtration du lixiviat pour le dosage de N ammoniacale.



Annexe 04 :

A. Matériel et réactifs pour le dosage des nitrites

Tableau: Matériels et réactifs utilisé dans le dosage des nitrites.

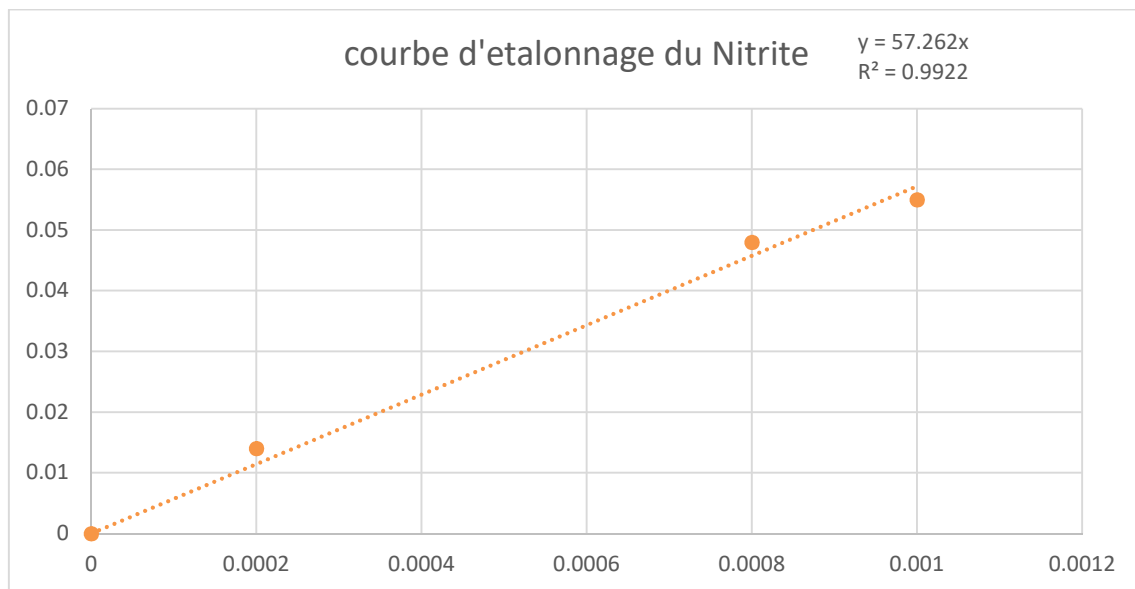
Matériels	Réactifs	Référence
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Fioles jaugées différents volumes. ▪ Micropipette. ▪ Spectrophotomètre. ▪ Bain marie. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Ammoniaque pure. ▪ Zambelli (préparé par acide chlorhydrique pure + Acide sulfanilique + Phénol cristallise + Chlorure d'ammonium). ▪ Nitrate de sodium. 	ISO 6777-4984 (F)

B. Préparation des solutions étalons

Tableau : Les solutions étalons des nitrites.

N° des fioles	T	1	2	3	4	5
SF à 0,0023g/L	0	50	41,3	21,73	17,39	4,34
[N] g/L	0	0,0023	0,0019	0,001	0,0008	0,0002
Eau distillée	50	0	8,7	28,2	32,6	45,6

C. Courbe d'étalonnage des Nitrites



Annexe 05 :

A. Matériel et réactifs pour le dosage des nitrates

Tableau : Matériels et réactifs utilisé dans le dosage des nitrates.

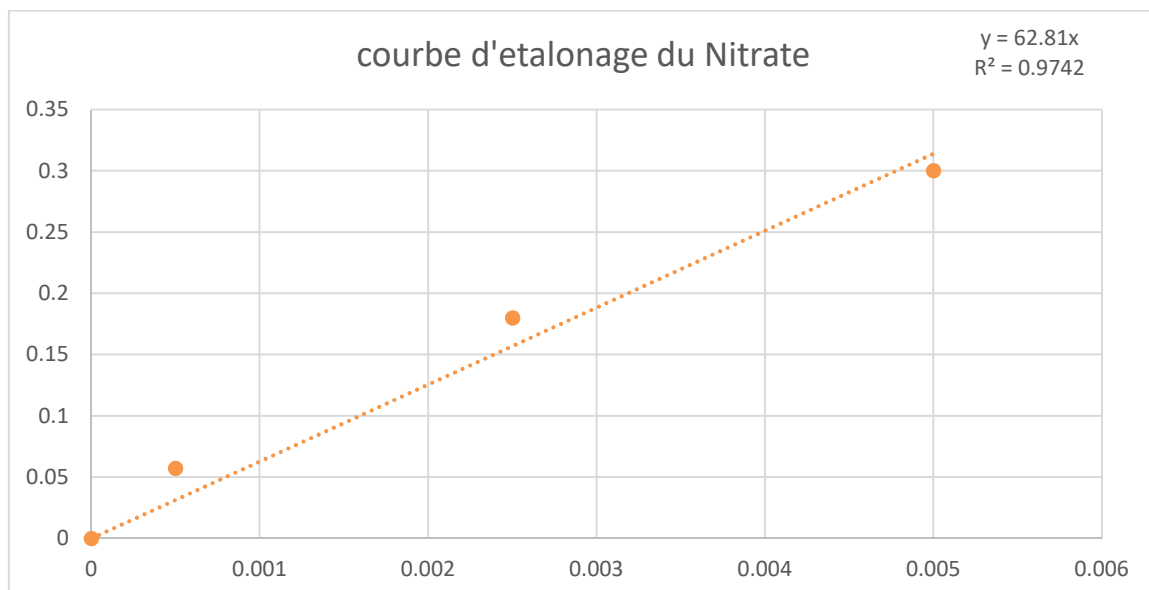
Matériels	Réactifs	Référence
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Capsules. ▪ Bêchers. ▪ Micropipette. ▪ Spectrophotomètre. ▪ Bain marie. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Salicylate de sodium a 0,5%. ▪ Acide sulfurique concentré. ▪ Solution d'hydroxyde de sodium et de tartrate double sodium et de potassium (préparé par hydroxyde de sodium + tartrate double). ▪ Solution azote nitrique (par nitrate de potassium). 	ISO 7890-3 :1988 (F)

B. Préparation des solutions étalons

Tableau:Les solutions étalon des nitrates.

N° de capsules	T	1	2	3	4
SF à 0,005g/L	0	1	2	5	10
[N] en g/L	0	0,0005	0,001	0,0025	0,005
Eau distillée	10	9	8	5	0
Salicylate de sodium	1	1	1	1	1

C. Courbe d'étalonnage des Nitrates



Annexe 06 :**A. Tableau: Matériels et réactifs utilisé dans la DBO5.**

Matériels	Réactifs	Référence
<ul style="list-style-type: none">▪ DBO Mètre (WTW) OxiTop.▪ Flacon ambré.▪ Pastille de NaOH.▪ Oxymètre.▪ Barreaux magnétiques.▪ Eprouvettes graduée.	<ul style="list-style-type: none">▪ Hydroxyde de sodium.▪ Eaux distillée.	AFNOR NF EN 1899-2 (mai, 1998)

B. Photo d'un DBO-mètre.**Annexe 07 :****A. Tableau :Matériels et réactifs utilisé à la mesure de la DCO.**

Matériels	Réactifs	Référence
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Bloc chauffant. ▪ Tubes de DCO. ▪ Micropipette. ▪ Bécher. ▪ Fioles. ▪ Barreaux magnétiques. ▪ Balance de précision. ▪ Spatule. ▪ Papier aluminium. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ H₂SO₄ concentré (d=1,83) contenant AgSO₄ (6,6 g/L). ▪ Sulfate de mercure purifié en poudre HgSO₄. ▪ Dichromate de potassium K₂Cr₂O₇ 8,33.10⁻³ mol/l (2,4518 g/L). ▪ Eau distillée. 	AFNOR T90-101

B. Photo d'un (a) Bloc chauffant et (b) Des tubes DCO



Annexe 08 :

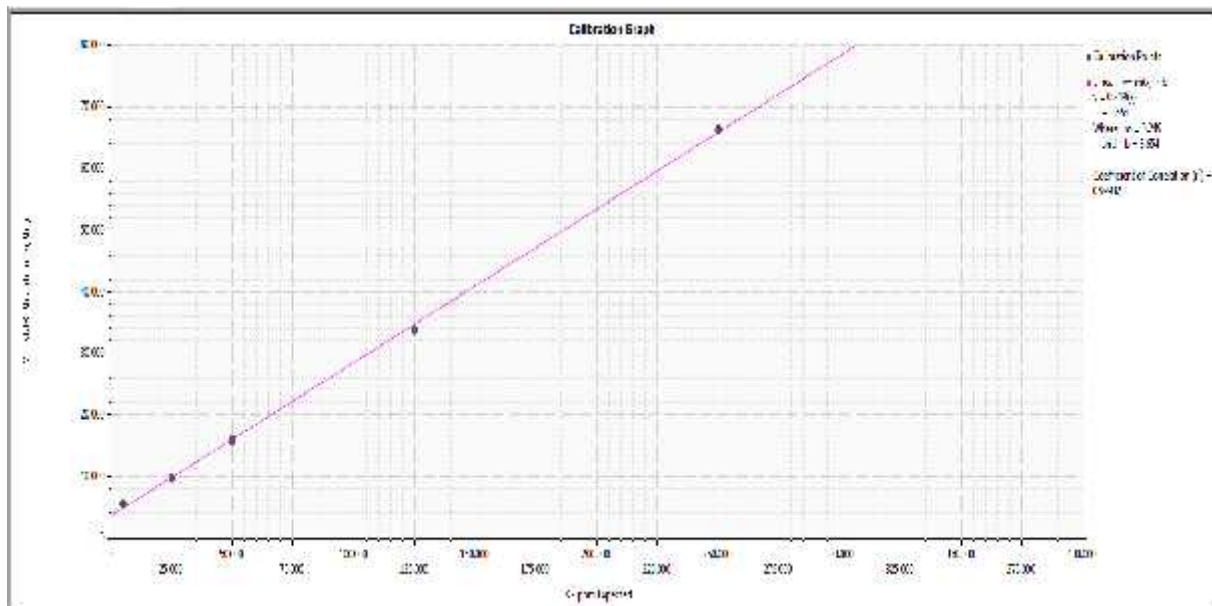
A. Tableau: Matériels et réactifs utilisé à la mesure du COT.

Matériels	Réactifs	Référence
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Analyseur TorchCombustion COT. ▪ Des flacons. ▪ Bécher. ▪ Filtre seringues de 0,45 micromètre. ▪ Micropipette de 10 ml. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Eau pure. ▪ Acide phosphorique. ▪ Acide nitrique 5%. 	Teledyne Tekmar COT Torch

B. Photo d'un analyseur Torch combustion COT



C. Courbe d'étalonnage de COT



Concentration en ppm	Absorbance Ajustée
5	5.596
25	9.7787
50	15.9473
125	33.8130
250	66.3750

- Formule de préparation des étalons pour courbe d'étalonnage

Pour les autres solutions mères d'étalonnage, utiliser la formule suivante (Eq. 3) pour déterminer la concentration en carbone des solutions mères

$$\text{Concentration finale mgC/L (ppmC)} = \frac{[p - \frac{(m)}{L}] * \% C}{V_i} \quad (3)$$

Où %C = fraction décimale de carbone dans le matériau de référence, c'est-à-dire KHP = 0,4705.

- Formule pour les solutions d'étalonnage (Solutions filles)

Pour les autres solutions d'étalonnage, utiliser la formule suivante (Eq. 4) pour déterminer la concentration en carbone des solutions de travail.

$$\text{Concentration finale mgC/L (ppmC)} = \frac{C_i}{V_i} \frac{\left(\frac{m}{L}\right) * \% C}{(L) * 1} (m) \quad (4)$$

Annexe 09 :

A. Tableau : Matériels et réactifs utilisé à la mesure de l'analyse par spectrophotométrie UV/vis.

Matériels	Réactifs	Référence
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Spectrophotomètre à double faisceau. ▪ Cuve en quartz. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Eau distillée. 	/

B. Photo d'un spectrophotomètre (HELIOS ZETA UV-VIS).



Annexe 10 : Photos de (a) La solution de peroxyde d'hydrogène (b) Le lixiviat autoclavé, diluée (c) Les échantillons.



(a)

(b)

(c)

Annexe 11 :

A. Préparation de milieu de culture BBM

Dans cette expérience on doit utiliser le milieu BBM (Bold Basal Medium). On a préparé 500ml liquide et 500ml additionné de l'agar (6,5g), le pH doit être 6,6. Puis autoclavé le milieu.

Tableau : La composition de BBM (Bold 1949 ; Bischoff et Bold 1963)

Composition Quantité pour 1l

NaNO₃ : 0.25g

CaCl₂.2H₂O : 0.025g

MgSO₄.7H₂O : 0.075g

K₂HPO₄ : 0.075g

KH₂PO₄ : 0.175g

NaCl : 0.025g

EDTA solution : 1ml

Solution de fer acidifiée : 1ml

H3BO3 : 1ml

Solution traces métaux : 1ml

EDTA solution

Composition : Quantité pour 10ml

EDTA : 0.5g

KOH : 0.31

H3BO3 solution

Composant : Quantité pour 100ml

H3BO4 : 1.142g

Solution de fer acidifiée

Composition : Quantité pour 100ml

FeSO4.7H2O : 0.5g

H2SO4 (96%) : 0.31

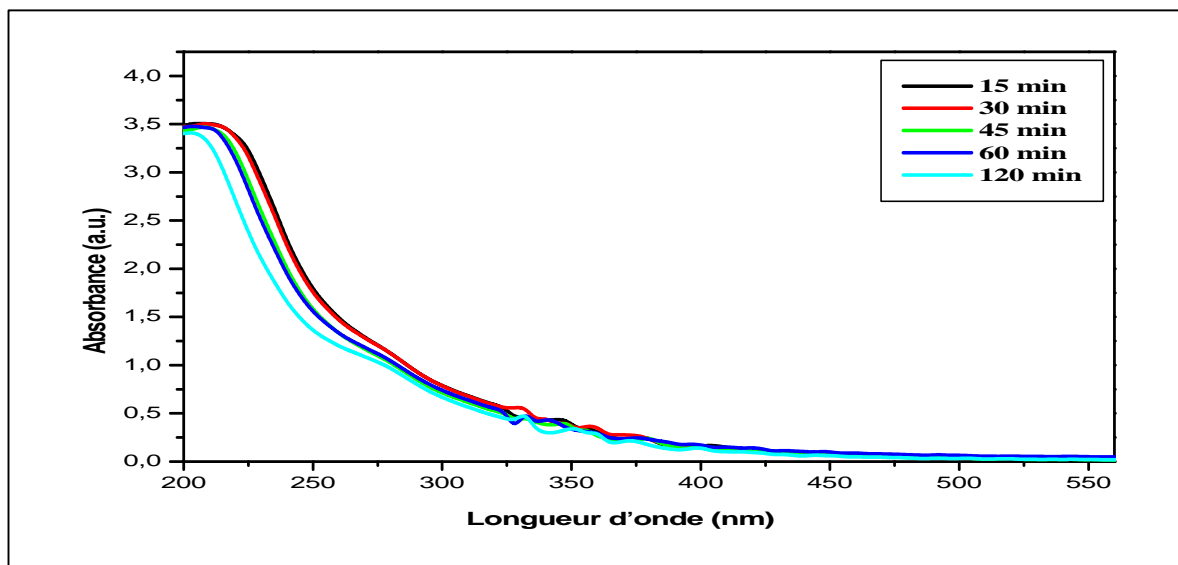
B. Photos de (a) Echantillon de lixiviat (b) Tubes des dilutions décimales de l'échantillon (c) Les boîtes des microalgues au cours d'incubation



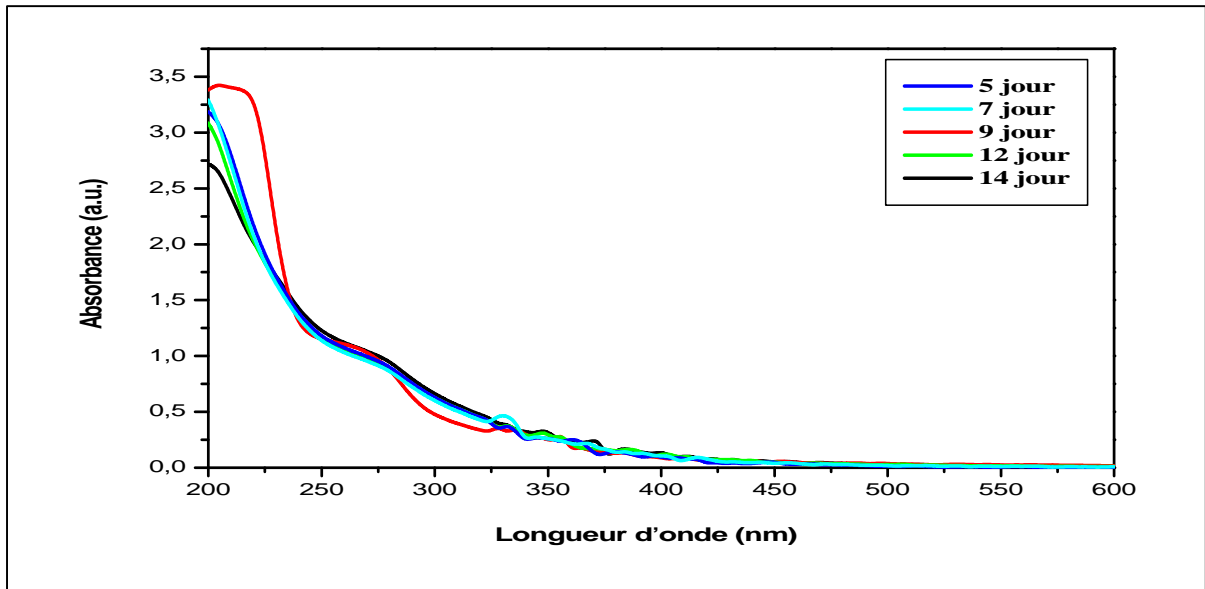
Annexe 12 :**GN (gélose nutritive)**

Pesé 28g de poudre (contient tous les ingrédients) dans 1000ml d'eau distillé.

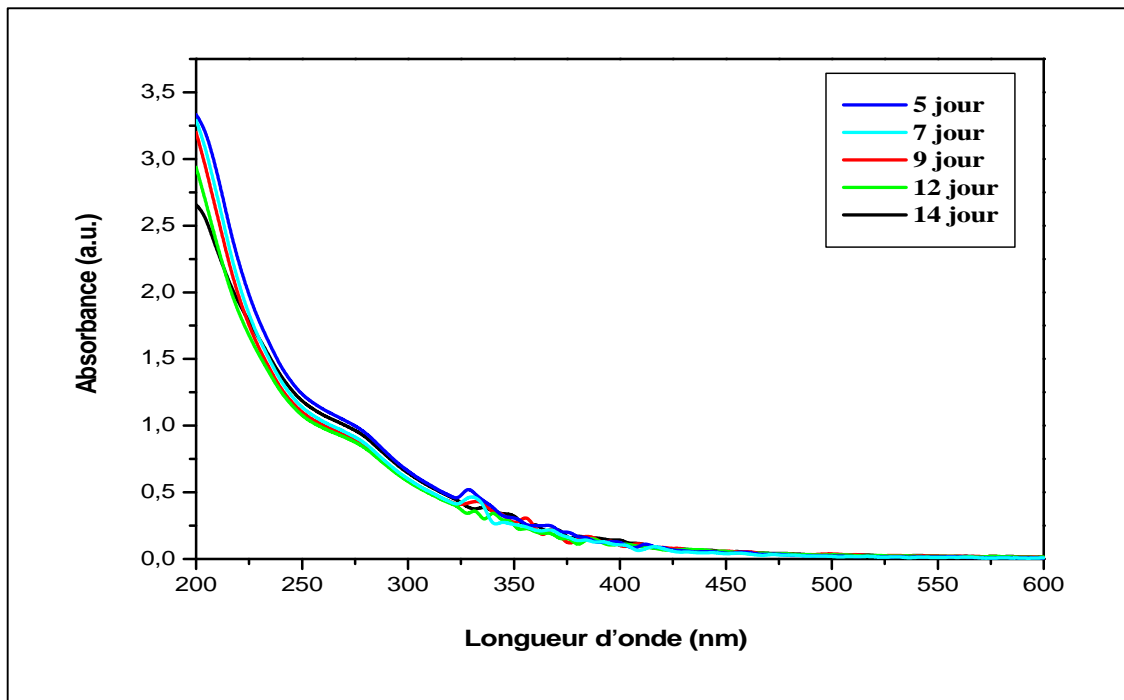
Laisse agiter sous une température élevée pendant 1h puis autoclavé à 121° pendant 20min.

Annexe 13 : Photo du déroulement des prélèvements quotidiens.**Annexe 14 : Courbes d'évolution spectrale par différent procédé****1/ Courbe d'évolution spectrale de la dégradation du Lixiviat par le procédé de POA par H₂O₂/UV**

2/ Courbe d'évolution spectrale de la biodégradation du Lixiviat par traitement simple (Bactéries) après traitement par le procédé de POA par H₂O₂/UV.



3/Courbe d'évolution spectrale de la biodégradation du Lixiviat par traitement combinée (Bactéries+ Microalgue) après traitement par le procédé de POA par H₂O₂/UV.



Annexe 15: Extraction d'ADN

Note : en vue de limite des produits et du temps on a fait uniquement l'extraction

1. Extraction de l'ADN bactérien

L'ADN total est extrait par la méthode telle que décrite par Leblond et *al.*, (1966).

(a) Préparation des solutions :

Tris-HCL 2M (pour 1000ml) :

- Tris base: 242g
- H₂O ultra pur (UP) : 1000ml
- Le pH est ajusté à 8 avec du NaOH 2N

EDTA 0,5M (pour 1000ml) :

- EDTA : 146,1g
- H₂O UP : 1000ml
- Le pH est ajusté à 8 avec du NaOH 2N ensuite la solution est autoclave à 120°C pendant 15min.

SDS soduimdodecyl sulfate 10% (pour 100ml) :

- SDS : 10g
- H₂O UP : 100ml
- Le pH est ajusté à 7.2 avec du NaOH 2N ensuite la solution est autoclave à 120°C pendant 15min.

Lysozyme (pour 1ml):

- Lysozyme : 50mg
- H₂O UP : 1ml

Protéinase K (pour 1ml):

- Protéinase K : 20mg
- H₂O UP : 1ml

Acétate de potassium 3M (pour 10ml) :

- Acétate de potassium à 5M : 2,94g/6ml
- Acide acétique : 1,15ml
- H₂O UP : 2,85ml

(b) Mode opératoire

- A partir de culture de 24h sur bouillon nutritif centrifugée, 1ml de Tris-Hcl à 10 mM est ajouté au culot ensuite centrifugé à 11000 rpm pendant 10 min à 4°C. Le surnageant est par la suite pipeté et 500µl de Tris-Hcl à 10 mM est ajouté au culot et Vortexer ;

- Ajouter 20 μ l de lysozyme 50mg/ml au tube. Vortexer et incuber au bain sec à 37°C pendant 40min ;
- Ajouter 60 μ l d'EDTA à 0,5M et 10 μ l protéinase K 20mg/ml et incuber à 37°C pendant 10min ;
- Ajouter 60 μ l SDS 10% et incuber à 50°C pendant 40min ;
- Ajouter 350 μ l d'acétate de potassium 3M et placer au bain de glace pendant 10 min ;
- Centrifuger à 12000rpm pendant 10min et récupérer le surnagent ;
- Ajouter 1ml isopropanol au surnagent, récupéré et agiter, l'ADN précipité est observé ;
- Centrifuger à 10000 rpm pendant 4 min, récupérer le culot ;
- Ajouter 1ml éthanol 70% au culot récupéré ;
- Centrifuger à 10000 rpm pendant 4 min, et récupérer le culot ;
- Séchage de culot à l'air libre pendant 30 min ensuite ajouter 50 μ l d'eau ultra pur ;
- Mesurer la concentration et la pureté de l'ADN génomique à l'aide d'un spectrophotomètre (**nanodrop**).
- Les échantillons ainsi récupérés sont congelés à -20°C.

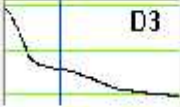


2. Extraction de l'ADN microalgale

- A partir de culture microalgale sur BBM centrifugée, procéder les mêmes étapes précédentes.

3. Mesure de la concentration et la pureté de l'ADN Génomique

- Le dosage de l'ADN se fait par mesure de l'absorbance à 260 et 280 nm. La pureté de l'ADN est donnée par le rapport(A260/A280). Ce rapport doit être voisin de 1,8. Un rapport plus élevé indique une contamination par les ARN, alors que les protéines ou le phénol diminuent cette valeur. Les mesures d'absorbances sont effectuées grâce au spectrophotomètre (**NanoDrop 8000 Thermo Scientific**). La concentration de l'ADN dans l'échantillon doit être au minimum 20 μ g/ml, alors que le rapport d'absorbance entre 260 et 280nm enregistrées est compris entre 1,6 et 1,8.

4. Résultat d'extraction d'ADN bactérien et microalgale

Active <input type="checkbox"/>	#	-		D3	Sample #	1	nm 1 abs.	1,144	4-260	1,144	ng/ul
Sample D	MB				A-280	0,801	250/280	1,43	260/230	1,42	57,19
Active <input type="checkbox"/>	#	-		E3	Sample #	1	nm 1 abs.	0,605	4-260	0,605	ng/ul
Sample D	MS				A-280	0,436	250/280	1,39	260/230	1,37	30,26
Active <input type="checkbox"/>	#	-		F3	Sample #	1	nm 1 abs.	0,429	4-260	0,429	ng/ul
Sample D	Mm4				A-280	0,355	250/280	1,21	260/230	1,28	21,46

- **Interprétation de résultat donne les informations suivantes :**

Un rapport de la bactérie blanche $A_{260}/280 = 1,43$, un rapport de la bactérie saumon $A_{260}/280 = 1,39$, un rapport de la microalgue $A_{260}/280 = 1,21$ qui sont $<$ à 1,8 des normes se signifie une contamination par les protéines donc les échantillons ne sont pas purs.

On distingue des bonnes concentrations d'ADN qui sont $>20\mu\text{g/ml}$ de la norme

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

Intitulé :

Evaluation du pouvoir bioremédiateur des microalgues en combinaison avec des bactéries dans le traitement du lixiviat de Centre d'Enfouissement Technique de la Wilaya de Batna

Résumé La présente étude s'inscrit dans l'optique de rechercher de nouvelles technologies pour le traitement des effluents pollués qui sont rentables, efficaces et compatibles avec l'environnement. Elle a pour objectif d'étudier le potentiel des consortiums natifs de microalgues et de bactéries pour l'élimination des polluants organiques des lixiviats de CET ayant subi un traitement primaire. La première partie du travail consiste à isoler des bactéries et des microalgues à partir d'un échantillon de lixiviat du CET de la wilaya de Batna. On a pu isoler deux souches de bactéries aérobies hétérotrophes et une microalgue eucaryote verte identifiée comme appartenant au genre *Chlorella* (Classe : Chlorophyceae). Dans la deuxième partie du travail, le pouvoir de bioremédiation des isolats est évalué en traitement secondaire sur du lixiviat préalablement traité. Le lixiviat jeune a subi un traitement primaire par un procédé d'oxydation avancée couplant l' H_2O_2 à l'UV dans le but de réduire le taux de la matière organique. Le traitement (biologique) secondaire est réalisé en batch, dans des fioles d'erlenmeyer agitées, incubées dans une chambre de culture éclairée. Deux systèmes sont mises en œuvre, un système simple inoculé avec le consortium bactérien seul, et un système combiné inoculé avec le consortium bactérien en association avec la microalgue. Les résultats de la comparaison entre les deux systèmes montrent que la combinaison entre les bactéries et la microalgue a conduit à une réduction significative de la matière organique par rapport au système simple, avec un taux d'élimination de la concentration du carbone organique totale (COT) de 55,7% et de la demande chimique en oxygène (DCO) de 99,97%. D'une manière générale, l'évaluation des performances de la technologie de traitement combiné microalgues-bactéries s'est révélée efficace pour la gestion des lixiviats prétraité, et prometteuse pour une mise à l'échelle au niveau pilote.

Mot clés : lixiviat, polluants organiques, *Chlorella sp.*, bactéries, bioremédiation, photo-bioréacteur.

Membre du jury :

Président de jury : MEGHNOUS Ouissem (MCB - UFM, Constantine 1).

Examinatrice : KASSA-LAOUAR Mounia (MCB - UFM, Constantine 1).

Encadrant : BELAHMADI Mohamed Seddik Oussama (MRB – C.R.Bt, Constantine).

Co-encadrant : BOULAOUAD Ilyes (Attaché de recherche – C.R.Bt, Constantine).

**Présentée par : SEGHIRI Meriem
HAMAD Ibtihel**

Année universitaire : 2022-2023

