

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Hassiba Benbouali de Chlef

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



THÈSE

Présentée pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT

Filière : Génie des procédés

Spécialité : Procédés Environnement

Par

Mr. Abdellatif RAHMANI

Thème :

Traitement des eaux produites de pétrole (EPP) par des microalgues et études des procédés de récupération de la biomasse

Soutenue le **23/04/2019** devant le jury composé de :

ACHOUR Djilali	Professeur	UHB Chlef	Président
DJAFER Lahcène	MCA	UHB Chlef	Rapporteur
ZERROUKI Djamal	Professeur	UKM Ouargla	Co-Rapporteur
BEBBA Ahmed Abdelhafidh	Professeur	UKM Ouargla	Examineur
FARES Chahinez	MCA	UHBChlef	Examinatrice
BENSEBIA Bensaber	MCA	UHBChlef	Examineur

Dédicace

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mon père

Ma mère

Mon épouse

Mes enfants

Mes frères

A tous ceux qui me sont chers

Rahmani Abdellatif

Remerciements

Cette thèse est le fruit de trois années de travail au cours desquelles de nombreuses personnes m'ont orienté, aidé et conseillé. Avant toute chose, Je tiens tout d'abord à remercier DIEU de m'avoir donné la force d'aller jusqu'au bout de ce travail.

Je souhaite remercier les membres du jury qui m'ont fait l'honneur de juger mon travail de thèse. Je tiens à remercier tout particulièrement Monsieur Le Professeur *ACHOUR Djilali*, de l'université de Chlef pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Je remercie également et très sincèrement Mme *FARES Chahinez*, Docteur à l'université de Chlef qui a accepté d'examiner ce travail.

Que Messieurs, *BEBBA Ahmed Abdellhafid*, Professeur à l'université de Kassdi Merbah de Ouargla et *BENSEBIA Bensaber*, Docteur à l'université de Chlef, trouvent ici mes plus vifs remerciements pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail en acceptant d'en être les examinateurs.

J'adresse mes chaleureux et grands remerciements et mon grand respect à mon Directeur de thèse Le Docteur *DJAFER Lahcène* et mon Co-directeur de thèse, M. Le Professeur *ZERROUKI Djamel* pour m'avoir fait l'honneur de diriger ce travail. Je suis très reconnaissant pour la confiance et le soutien permanent qu'ils m'ont témoignés au cours de cette étude ainsi que pour leurs compétences scientifiques et pédagogiques qui m'ont permis de mener à bien ce projet.

Que le Professeur *Abdallah OUAGUED*, Directeur de laboratoire Eau-Environnement soit remercié pour ses conseils et sa sympathie .

Il m'est agréable d'adresser mes vifs remerciements à M. Le Professeur *André AYRAL* de l'université de Montpellier pour sa contribution à la publication d'une partie des résultats de cette étude.

De nombreuses personnes ont participé à cette étude et ont permis son aboutissement. Je tiens à leur exprimer toute ma gratitude. Je pense à *B. HENNI CHEBRA*, *F. GUITARNI*, *B. MAIMOUN*, *A. HENNI*, *M. ABDESSALAM*.

Enfin, pour leurs encouragements et leurs soutiens sans faille, je serai éternellement reconnaissant aux enseignants du département de Génie des Procédés de l'université de Chlef.

Maintenant, venu le temps de remercier mes chers, je voudrais remercier tout d'abord mes parents, un grand MERCI à ma femme pour son soutien, ses encouragements et sa compréhension, pour ses sacrifices et pour sa patience tout au long de mes études doctorales.

Je remercie également mes enfants pour leur soutien moral durant ces trois années, qui ont cru en moi et m'ont encouragée pour terminer mes études.

Enfin je voudrais remercier ma famille, mes amis, et tous qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de cette thèse.

Résumé

Dans cette étude, nous avons évalué l'efficacité des microalgues en utilisant la souche *C. Pyrenoidosa*, dans le traitement de l'eau produite de pétrole (EPP). La culture des microalgues a été réalisée dans des systèmes ouverts dans les zones désertiques sous le soleil. Des résultats significatifs ont été obtenus, concernant l'élimination des nutriments ainsi que les métaux lourds, comparés au processus d'adsorption sur le charbon actif. Par exemple (DCO) 89,67%, (N-NH₄⁺) 100%, (PO₄³⁻) 100%, (Fe) 76,74%, (Pb) 72,86%, (Cu) 73,39%. La concentration maximale de la biomasse obtenue est de 1,15±0,07 g / L à la fin de la période de culture. Une nette augmentation comparée au milieu de culture synthétique (BG11). L'efficacité de la récolte de *C. Pyrenoidosa* a également été évaluée, par électrofloculation en utilisant une cellule photovoltaïque.

Les résultats obtenus en utilisant des électrodes en aluminium ont atteint un rendement plus élevé (95,83 ± 0.81) %, avec moins de perte de poids tout en récupérant une quantité importante de gaz d'hydrogène en tant que produit secondaire.

La production d'énergie à partir de l'hydrogène récupéré est estimée à 10-19% de l'énergie d'entrée. La consommation d'énergie pour la récolte de 1 kg varie entre 0,2 et 0,3kWh, cependant, la biomasse de *C. Pyrenoidosa* obtenue contient des concentrations variables de minéraux selon le métal d'électrode. L'électrode de carbone était la meilleure option pour éviter la contamination de la biomasse finale et la rendre appropriée pour la nourriture et les produits complémentaires. En outre, 35,2% des lipides ont été obtenus après le processus d'extraction et le rendement de la production de Biodiesel est de 53%.

Ces résultats pourraient fournir un guide pour la mise en place d'un procédé complet du traitement de l'eau produite de pétrole à base de microalgues dans les régions arides et de conversion la biomasse algale en biocarburant.

Mots-clés :

Traitement de l'eau produite de pétrole (EPP), récolte des microalgues, électrofloculation, photovoltaïque. Lipides, Biodiesel.

المخلص

في هذه الدراسة، قمنا بتقييم فعالية الطحالب الدقيقة باستخدام سلالة *C.Pyrenoidosa* في معالجة المياه المستخرجة مع البترول الخام. لقد أجريت زراعة الطحالب الدقيقة في أنظمة مفتوحة في منطقة صحراوية تحت أشعة الشمس حيث تم الحصول على نتائج هامة فيما يتعلق بإزالة المغذيات والمعادن الثقيلة بواسطة هذه السلالة بالمقارنة مع عملية الامتزاز بالكربون المنشط. على سبيل المثال فقد تم إزالة

(DCO): 89,67%, (N-NH₄⁺):100%, (PO₄³⁻):100%, (Fe): 76,74%, (Pb): 72,86%, (Cu): 73,39%

كما تم الحصول على أقصى تركيز للكتلة الحيوية (0.07 ± 1.15) غ / لتر في نهاية فترة الاستزراع وهي زيادة واضحة مقارنة مع وسط الزراعة الاصطناعي BG11 .

كما تم تقييم كفاءة حصاد *C.pyrenoidosa* بواسطة عملية التلبد (*électrofloculation*) باستخدام الخلايا الكهروضوئية كمولد للتيار الكهربائي تم الحصول على أفضل النتائج من حيث الكفاءة باستخدام أقطاب الألومنيوم , % (95,83±0,81) مع فقدان أقل للوزن في حين تمكنا من استرداد كمية كبيرة من غاز الهيدروجين كمنتج ثانوي. إن إنتاج الطاقة من الهيدروجين المسترجع يقدر من 10 إلى 19٪ من الطاقة المستهلكة حسب نوع القطب.

ويتراوح إستهلاك الطاقة لمحصول كيلو غرام واحد بين 0,2 و 0,3 كيلوواط ساعة، ومع ذلك فإن الكتلة الحيوية التي تم الحصول عليها تحتوي على تركيزات مختلفة من المعادن حسب نوع القطب الكهربائي و كان أفضل خيار لتجنب تلوث الكتلة الحيوية نهائيا وجعلها مناسبة للأغذية والمنتجات التكميلية هو إستعمال أقطاب الفحم. كما تم الحصول على 35,2% من الليبيدات (Lipides) بعد عملية الإستخلاص وكان مردود إنتاج الوقود الحيوي 53% (Biodisel).

يمكن أن توفر هذه النتائج دليلا لتنفيذ عملية كاملة لمعالجة المياه المستخرجة مع البترول الخام بالطحالب الدقيقة في المناطق القاحلة وتحويل الكتلة الحيوية إلى وقود حيوي.

الكلمات الرئيسية:

معالجة المياه المستخرجة مع البترول الخام، حصاد الطحالب الدقيقة، التلبد الكهربائي، الخلية الكهروضوئية، الليبيدات، الوقود الحيوي.

Summary

Summary

In this study, we evaluated the efficiency of microalgae by using the *C. Pyrenoidosa* strain in the treatment of oil produced water (OPW). We carried out microalgae cultivation in the open systems under the sun in the region a desert. We obtained the significant results with respect to the removal of the nutrients and the heavy metals by this strain compared to activated carbon adsorption.

For example : (COD) 89.67%, (N-NH₄⁺) 100%, (PO₄³⁻) 100%, (Fe) 76.74%, (Pb) 72.86%, (Cu) 73.39%.

We obtained the maximum concentration of biomass (1.15 ± 0.07) g / L, at the end of the period of cultivation there is a clear increase compared to BG11 medium.

We assessed the efficiency of the harvest of *C. pyrenoidosa* by electro-flocculation by using the photovoltaic cells as the generator of the current electricity.

The best results were obtained in terms of efficiency using aluminum electrodes (95.83 ± 0.81) %, with less loss of weight while recovering a large amount of hydrogen gas as a secondary product, the production of recovered hydrogen energy is estimated from 10% to 19% of the consumed energy and the consumption energy in one kilogram of hydrogen gas is between 0.2 and 0.3 kWh.

However, the obtained biomass contains different concentrations of metals according the type of electrode and the best option to avoid biomass pollution definitively and to make it suitable for food and supplementary products is the use of coal electrodes. Also we have obtained 35,2% of lipids after the process of the extraction and the yield of bio-fuel production (Bio-diesel) 53%.

These results are considered as a guide to the implementation of a complete process of micro-algae water treatment in arid zones and biomass conversion to bio-fuel.

Keywords :

Treatment of oil produced water (OPW), microalgae harvest, electro-flocculation, photovoltaïque. Lipids, Bio-diesel

SOMMAIRE

Dédicace	
Remerciements	
Résumé	
المخلص	
Summary	
Sommaire	I
Liste des figures	VI
Liste des tableaux	VIII
Liste des abréviations et des symboles	IX
Lexique	X
Introduction générale	01

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur les eaux usées industrielles.

I. Introduction	05
I.1. Les eaux usées	05
I.2. Origine des eaux usées	06
I.2.1. Les eaux usées industrielles	06
I.2.1.1. La composition des eaux usées industrielles	06
I.2.1.2. Principaux polluants rencontrés dans les eaux usées industrielles	07
I.3. Toxicité des effluents industriels	07
I.3.1. Toxicité des hydrocarbures	08
I.3.2. Toxicité des éléments traces métalliques	08
I.4. Paramètres de mesure de la pollution	09
I.4.1. Paramètres physico-chimique	09
I.4.1.1. Température	09
I.4.1.2. Conductivité électrique (CE)	09
I.4.1.3. Potentiel d'hydrogène (pH)	09
I.4.1.4. La demande chimique en oxygène (DCO)	09
I.4.1.5. La demande biochimique en oxygène (DBO ₅)	10
I.4.1.6. Les matières en suspension (MES)	10
I.4.1.7. L'oxygène dissous (OD)	10
I.4.1.8. Azote total (N _t)	11
I.4.1.9. Phosphore total (P _t)	11
I.4.1.10. Analyse bactériologique	12
I.5. Contexte juridique Algérienne	12
I.6. Le choix d'une technologie d'épuration	12
I.6.1. Caractéristiques des eaux usées	13
I.6.1.1. Une sous charge organique	13

SOMMAIRE

I.6.2. L'exploitation	13
I.6.3. Les coûts	14
I.7. Traitement des eaux usées industrielles	14
I.7.1. Les grandes étapes du traitement	14
I.7.1.1. Le prétraitement	14
I.7.1.2. Le traitement primaire	14
I.7.1.2.1. Décantation (processus physique)	15
I.7.1.2.2. Flottation (processus physique)	15
I.7.1.2.3. Flocculant (voie physico-chimique)	15
I.7.1.3. Traitement secondaire (La biodégradation)	15
I.7.1.4. Traitement tertiaire	16

Chapitre II : Techniques de mise en culture des microorganismes et récupération de la biomasse

II. Introduction	18
II.1. Les microorganismes	19
II.1.1. Les microalgues	19
II.1.1.1. Présentation générale des microalgues	19
II.2. Différents types des algues	20
II.2.1. Milieu de culture	21
II.3. Paramètres opératoires	22
II.3.1. La réponse à la lumière	22
II.3.2. Température	22
II.3.3. Salinité	23
II.3.4. Potentiel d'hydrogène (pH)	23
II.3.5. Taux d'oxygène	23
II.3.6. Contenu en nutriments	23
II.4. Les modes de cultures du phytoplancton	23
II.4.1. La culture en batch ou culture discontinue	23
II.4.2. La culture en continu	24
II.5. Différents modes de production de biomasse microalgale	24
II.5.1. Systèmes ouverts (Bassins de type " raceway ")	24
II.5.2. Systèmes fermés	25
II.5.2.1. Photobioréacteur (PBR)	26
II.6. Comparaison des deux systèmes de culture sélectionnés	26
II.7. Systèmes hybrides	27
II.8. Evolution de la croissance	27
II.9. Méthodes de traitement des eaux usées industrielle	28
II.9.1. Traitement des eaux usées par culture des microalgues	28
II.9.2. Traitement des eaux usées par culture de microalgues et bactéries	28

SOMMAIRE

II.10. Interactions microorganismes et métaux	29
II.11. Immobilisation des métaux	30
II.11.1. Biosorption	30
II.11.2. Bioaccumulation	30
II.11. 3. Précipitation	30
II.12. Procédés de récupération de la biomasse	30
II.12. 1. Coagulation-floculation	30
II.12.1.1. Coagulants-floculants inorganiques	31
II.12.1.2. Coagulants-floculants organiques	31
II.12. 2. Éctrofloculation	31
II.12. 3. Électrocoagulation	32
II.12. 4. Flottation	32
II.12. 5. Électroflotation	32
II.12. 6. Ultrasons	32
II.12. 7. Séchage	33
II.13. Mécanismes de déstabilisation d'une suspension algale	33
II.13. 1. Compression de la double-couche électrique	34

Partie expérimentale

Chapitre III : L'eau produite de pétrole (EPP) comme milieu de croissance de *Chlorella pyrenoidosa*

III. Introduction	38
III.1. Présentation climatique	39
III.1.1. La température	40
III.1.2. Les vents	41
III.1.3. L'insolation	41
III.1.4. L'évaporation	42
III.1.5. Précipitation	42
III.2. Présentation de la région d'étude	43
III.2.1. Présentation de la Zone d'échantillonnage	44
III.3. Matériels et méthodes	44
III.4. Paramètre à mesurer toute les 24h	45
III.5. Présentation de la souche utilisée (<i>Chlorella pyrenoidosa</i>)	45
III.5.1. Taxonomie de genre <i>Chlorella</i>	46
III.5.1.1. Classification scientifique	46
III.6. Pré-culture de <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	46
III.6.1. Culture dans le système Ouvert (Raceway)	47
III.6.1.2. Traitement d'eau produite de pétrole (EPP) par <i>Chlorella pyrenoidosa</i> acclimatée	47
III. 7. Résultats et discussion	48
III.7.1. Effet de l'EPP sur la croissance des algues	48
III.7. 2. Mesure de croissance de <i>Chlorella pyrenoidosa</i> dans le système ouvert	49

SOMMAIRE

III.7. 2.1. Phase de latence	49
III.7. 2.2. Phase d'accélération	49
III.7. 2.3. Phase exponentielle	50
III.7. 2.4. Phase stationnaire	50
III.7.2.5. Rendement de culture	50
III.7.2.6 La photosynthèse	50
III.7. 3. Mesure du pH et de l'Oxygène dissous	51
III.7. 4. Mesure de la conductivité électrique	53
III.7. 5. L'élimination des éléments nutritifs de l'eau produite de pétrole	54
III.7.5.1. Détermination des pollutions azotées	54
III.7.5.1.1. Variation des nitrites (N-NO ₂ ⁻)	54
III.7.5.1.2. Variation des nitrates (N- NO ₃ ⁻)	55
III.7.5.1.3. Variation de l'ammonium (N- NH ₄ ⁺)	55
III.7.5.1.4. Variation d'azote total (Nt)	55
III.7.6. Détermination des pollutions phosphorées	55
III.7.6.1. Variation d'Ortho phosphates (P- PO ₄ ³⁻)	56
III.7.6.2. Variation de phosphore total (Pt)	56
III.7.7. Variation de la demande chimique en oxygène (DCO)	56
III.7.8. Élimination et bioaccumulation de métaux lourds	57
III.7.8.1. Variation du Fer (Fe)	58
III.7.8.2. Variation du Plomb (Pb)	58
III.7.8.3. Variation du Cuivre (Cu)	58
III.7.8.4. Variation du cadmium (Cd)	59
III.7.9. Traitement des algues et du charbon activé	59
III.8. Caractérisation	60
III.8.1. Caractérisation de la biomasse par MEB	60
III.8.2. Caractérisation de la biomasse par EDX	60
III.9. Caractérisation de spectroscopie ATR de <i>C. pyrenoidosa</i> cultivée en EPP	60
III.9.1. Caractérisation de l'EPP avant et après le traitement des algues	63
Conclusion	64

Chapitre IV

Processus de récolte *Chlorella pyrenoidosa* et Synthèse de biodiesel

IV. Introduction	66
------------------	----

Partie A du Chapitre IV

Processus de récolte *Chlorella pyrenoidosa*

IV1. Matériaux et méthodes	68
IV.2. Processus (EFF) et (ECF)	68
IV.3. Comptage de microalgues sur une cellule de Malassez	69
IV.4. Matériaux d'électrodes	70
IV.4.1. Electrodes en Aluminium	70
IV.4.2. Electrodes en Zinc	71
IV.4.3. Electrodes en fer	71

SOMMAIRE

IV.4.4. Electrodes en Cuivre	71
IV.4.5. Electrodes en Carbone	71
IV.5. Production d'électricité photovoltaïque	72
IV.6. Estimation théorique	72
IV.7. Résultats et discussion	73
IV.7.1. L'irradiation solaire	74
IV.7.2. L'efficacité de l'électrofloculation	75
IV.7.3. Effet de la nature d'électrode sur le rendement de l'électro floculation	76
IV.7.4. Perte de masse et durée de vie de l'électrode	77
IV.7.5. Récupération de l'hydrogène	78
IV.8. Estimation de l'énergie consommée pour récolter 1kg de la biomasse	79
IV.9. Caractérisation de la biomasse récolte	79
IV.9.1. Biomasse récoltée en utilisant les différentes électrodes	80
IV.9.2. Biomasse récolter en utilisant l'électrode de carbone (C)	85
Conclusion de la partie A du chapitre IV	86

Partie B du Chapitre IV Synthèse de Biodiesel.

IV.10. Introduction	87
IV.11. Matériaux et méthodes	88
IV.12. Les étapes de production	88
IV.12.1. Préparation d'échantillon	88
IV.12.2. Les étapes d'extraction de lipides	88
IV.12.3. Les étapes de transestérification des lipides microalguaux	89
IV.13. Résultats et discussion	90
IV.13.1. Extraction de lipides	90
IV.13.2. Caractérisation par spectrophotométrie IR	90
IV.13.3. Rendement d'extraction	91
IV.13.5. La réaction de transestérification	91
IV.13.6. Le mécanisme de transestérification par catalyseur basique	92
IV.13.7. Rendement de réaction de transestérification	93
IV.13.8. Les caractéristiques du biodiesel	94
IV.13.8.1. Le pH	94
IV.13.8.2. L'indice de réfraction	94
Conclusion de la partie B du chapitre IV	94
Conclusion générale	96
Références bibliographiques	98
Annexes	110

LISTE DES FIGURES

LISTE DES FIGURES

Les Figures	Page
Chapitre II	
Figure II.1: Schéma d'une cellule de <i>Chlorella</i>	20
Figure II.2: Schéma d'un système de culture bassin raceway	25
Figure II.3: Photographie aérienne des bassins de type raceway	25
Figure II.4: Photobioréacteur	26
Figure II.5: Représentation schématique du taux de croissance des algues et la concentration des éléments nutritifs	27
Figure II.6: Potentiel électrique de particules colloïdales	34
Chapitre III	
Figure III.1: Répartition moyenne mensuelle de la température	40
Figure III.2: Répartition moyenne mensuelle de la vitesse de vents	41
Figure III.3: Répartition moyenne mensuelle de l'insolation	41
Figure III.4: Répartition moyenne mensuelle de l'Evaporation	42
Figure III.5: Répartition moyenne mensuelle de la précipitation	42
Figure III.6: Carte géographique la région d'Ouargla	43
Figure III.7: Image de <i>Chlorella pyrenoidosa</i> IMG X100	45
Figure III.8: Configuration expérimentale	47
Figure III.9: La variation de DO en fonction de % EPP/BG11	48
Figure III.10: Variation de la densité optique pendant la période de culture	49
Figure III.11: Variation de pH et Oxygène dissous avec le temps	52
Figure III.12: Variation de la conductivité avec le temps	53
Figure III.13: Les images de MEB de la biomasse <i>C. pyrenoidosa</i>	60
Figure III.14: Le spectre EDX de la biomasse <i>C. pyrenoidosa</i>	61
Figure III.15: Le spectre FTIR de la biomasse <i>C. pyrenoidosa</i> cultivée dans EPP et BG11	61
Figure III.16: Le spectre FTIR de l'EPP brut et traité par <i>C. pyrenoidosa</i>	64
Chapitre IV	
Figure IV.1: Installation expérimentale et une cellule d'électrofloculation Connectée au panneau solaire	68
Figure IV.2: Cellule de Malassez	69
Figure IV.3: Quadrillage de Malassez	70
Figure IV.4: Variation de l'irradiance solaire pendant une journée	74

LISTE DES FIGURES

Figure IV.5: Efficacités de l'électrofloculation	75
Figure IV.6: forme de cellule après le processus de floculation IMGX100	76
Figure IV.7: perte de masse d'électrode	77
Figure IV.8: Volume d'hydrogène récupéré à partir du procédé EF	78
Figure IV.9: MEB Biomasse Al	80
Figure IV.10: EDX Al	81
Figure IV.11: MEB Biomasse Cu	81
Figure IV.12: EDX de Cu avec la composition moyenne en pois de biomasse	82
Figure IV.13: MEB Biomasse Fe	82
Figure IV.14: EDX de Fe	83
Figure IV.15: MEB Biomasse Zn	83
Figure IV.16: EDX de Zn	84
Figure IV.17: Image par MEB de la Biomasse algal obtunue par EF en utilisant l'électrode de C.	85
Figure IV.18: Analyse élémentaire de la masse (EF-C).	85
Figure IV.19: Broyage de la biomasse sèche.	88
Figure. IV.20: Les étapes de l'extraction des lipides	90
Figure IV.21: Caractérisation par spectrophotométrie IR	90
Figure IV.22: La réaction de la transestérification	92
Figure IV.23: Mécanisme de transestérification par catalyseur basique	92
Figure IV.24: Glycerol	93
Figure IV.25: Biodiesel	93

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Chapitre II	
Tableau II.1: Principales espèces phytoplanctoniques représentatives des cours d'eau européens	21
Chapitre III	
Tableau III.1: Données climatiques de la ville d'Ouargla (1998- 2017)	40
Tableau III.2: les caractéristiques physicochimique de l'eau produite de pétrole avant et après la culture <i>C. pyrenoidosa</i> .	51
Tableau III.3: Les caractéristiques (éléments nutritifs) de l'eau produite de pétrole avant et après la culture <i>C. pyrenoidosa</i> .	54
Tableau III.4: les caractéristiques (les métaux lourds) de l'eau produite de pétrole avant et après la culture <i>C. pyrenoidosa</i> .	58
Tableau (III.5): Comparaison entre le traitement d'EPP par les algues et par le charbon actif	59
Tableau III.6: Absorption principale IR. bandes de <i>C. Pyrenoidosa</i> cultivées en EPP et en BG11	63
Chapitre IV	
Tableau IV.1: Rendement énergétique théorique à partir du produit d'hydrogène récolté et des besoins en énergie du processus d'électrofloculation.	74
Tableau IV.2: Contamination de la biomasse	79
Tableau IV.3: Composition moyenne en poids de biomasse Al	80
Tableau IV.4: Composition moyenne en poids de biomasse Cu	81
Tableau IV.5: Composition moyenne en poids de biomasse Fe	82
Tableau IV.6: Composition moyenne en poids de biomasse Zn	84
Tableau IV.7: Composition moyenne en poids de biomasse C	85
Tableau IV.8: Absorption principale IR. Bandes delipide	91
Tableau IV.9:	94
Caractéristiques de biodiesel obtenue	

LISTE DES ABRÉVIATIONS ET DES SYMBOLES

EPP	Eau produite de pétrole
pH	Potentiel d'Hydrangée
OD	Oxygène Dissous
DO	Densité optique
CE	Conductivité Electrique.
DCO	Demande Chimique en Oxygène
DBO ₅	Demande Biochimique en Oxygène en 5 jours
MES	Matière en Suspension
ETM	Éléments Traces Métalliques ou « métaux lourds »
N-NH ₄ ⁺	Azote ammoniacal
N-NO ₂ ⁻	Azote nitreux
N-NO ₃ ⁻	Azote nitrique
N _{org}	Azote organique
N _{inorg}	Azote inorganiques
NTK	Azote Kjeldahl
Nt	Azote total
N	Azote
N ₂	Azote gazeux
P	Phosphore
PO ₄ ³⁻	Orthophosphate
Pt	Phosphore total
CO ₂	Dioxyde de carbone
HCT	Hydrocarbures totaux
ERI	Eaux résiduaires industrielles
ONM	Office National Météorologique.
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
CA	Charbon actif
TSS	Solides totale en suspension
TVSS	Solides totale en suspension volatile
EF	Électrofloculation
EFF	Électrofloculation flottation
ECF	Électrocoagulation flottation
MEB	Microscopie électronique à balayage
EDX	Spectrométrie de rayons X à dispersion d'énergie
PV	Panneau solaire photovoltaïque
DC	Courant continu
FAME	Esters méthyliques d'acides gras
CI	Continental Intercalaire
CT	Complexe Terminal

Lexique

Biomasse : C'est une quantité de matière vivante. Au sens strict, elle devrait être exprimée en poids (frais ou sec) mais dans les conditions naturelles ou dans un bassin c'est techniquement impossible puisqu'elle est indissociable des autres compartiments. On l'exprime soit en nombre de cellules ou par un autre « proxy ». Elle est souvent exprimée par unité de volume d'eau. Sa dimension est donc « $M L^{-3}$ ».

Production : C'est la quantité de biomasse produite dans un intervalle de temps donné. Sa dimension est « $M L^{-3}T^{-1}$ ».

Autotrophie : C'est le mode de nutrition par lequel les algues élaborent, grâce à la photosynthèse, leur propre substance à partir des éléments minéraux dissous dans l'eau et du CO_2 .

Autotrophe : Qui utilise l'énergie lumineuse comme seule source d'énergie, qui est convertie sous forme d'énergie chimique par des réactions photosynthétiques.

Hétérotrophe : C'est le mode de nutrition qui permet l'assimilation directe des substances organiques, de façon plus ou moins indépendante de la photosynthèse qui utilise uniquement des composés organiques comme source d'énergie et de carbone.

Mixotrophe : Qui est capable de se nourrir aussi bien par autotrophie que par hétérotrophie.

Hydrolyse : Réaction de décomposition au cours de laquelle une molécule réagit avec l'eau pour donner de nouvelles molécules.

Introduction Générale

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La culture des microalgues a reçu une attention considérable ces dernières années en raison de l'efficacité de ces organismes dans l'absorption de certains polluants ainsi que pour leur capacité à produire de la biomasse valorisable dans différentes applications industrielles telles que l'agroalimentaire, les produits pharmaceutiques, les engrais, le biogaz et le biocarburant.

Dans les applications pour le traitement des eaux usées, par exemple, les microalgues peuvent assimiler les nutriments, absorber les métaux lourds et le CO₂, fournir de l'O₂ aux bactéries aérobies et produire de la biomasse qui peut être utilisée pour stimuler la production de biogaz à partir de digesteurs anaérobies.

Le déversement d'eaux usées riches en éléments nutritifs peut provoquer une eutrophisation, ce qui constitue un problème grave à l'environnement, la capacité des microalgues à se développer rapidement dans une eau riche en nutriments peut être utilisée positivement dans le traitement des eaux usées pour retirer les nutriments des eaux usées avant leur rejet dans la nature. Les microalgues ont un potentiel pour des systèmes alternatifs de traitement des eaux usées avec une concentration presque nulle de nutriments finaux.

L'eau produite au pétrole (EPP), peut se produire naturellement, dans des formations géologiques (formation d'eau) ou à la suite d'une injection d'eau, et peut aussi être un mélange des deux [1]. Dans l'industrie pétrolière et gazière, la gestion des eaux usées est considérée comme un facteur crucial dans l'étude de la faisabilité du développement de champs de pétrole et de gaz. En fait, ces eaux usées hautement polluantes, issues de l'industrie pétrolière sont générées avec du pétrole brut en grande quantité. Par exemple, la production actuelle de pétrole en Algérie de 1,5 million de barils par jour génère plus de 5 millions de barils d'EPP.

Les eaux usées issues de l'industrie pétrolière sont composées des constituants inorganiques généralement de sodium, chlorure, bicarbonate, sulfate, le calcium, le potassium, le sulfate. L'azote, l'ammoniaque, le fer, le cuivre, le manganèse, le molybdène et le zinc sont considérés comme des micronutriments nécessaires à toutes les microalgues.

La plupart des eaux usées industrielles contiennent essentiellement des polluants métalliques lourds et moins d'azote ou de phosphore que d'autres types d'eaux usées. La sélection de souches de microalgues à forte capacité de sorption des métaux est cruciale pour obtenir une efficacité élevée d'élimination des métaux. Jusqu'à présent, seules quelques espèces d'algues ont été étudiées pour la capacité de sorption des métaux. Plusieurs travaux évaluent l'élimination de l'azote, du phosphore et des métaux lourds des eaux usées industrielles en tant que milieu de croissance des algues. Cependant, peu d'études ont été effectuées dans des conditions extérieures, où la variation de la température et la fluctuation de l'intensité du rayonnement solaire influencent de manière significative l'efficacité de procédés. Des nombreux travaux ont été réalisés sur la culture de microalgues avec comme milieu de croissance les eaux produites au pétrole [2], [3].

Ce travail évalue le potentiel de culture de microalgue *C. pyrenoidosa* dans des eaux usées issues de l'industrie de pétrole dans des systèmes ouverts. En mettant l'accent sur l'efficacité de la culture sur l'alimentation des nutriments, l'absorption de métaux lourds, et la production de biomasse. La concentration maximale de la biomasse obtenue est de $1,15 \pm 0,07$ g/L à la fin de la période de culture. La qualité de l'eau traitée a été évaluée en vue d'une éventuelle utilisation.

La récolte des microalgues est une étape clé du processus puisqu'elle peut représenter 20 à 30 % des coûts de production de la filière algale. La récolte de la biomasse microalgale est un défi majeur, car les cellules sont petites et portent une charge de surface négative et leur concentration dans les cultures est relativement faible.

Il n'y a actuellement aucune technique parfaite pour récolter des algues microscopiques, pour cela nous avons développé une méthode peu coûteuse, non polluante, efficace et économe en énergie.

Nous avons mis en place une méthode d'électro-floculation-flottation sans agitation, pour la récupération de la biomasse. Ce procédé basé sur l'électrolyse de l'eau et la génération d'un gaz d'hydrogène dont la valorisation réduira l'énergie consommée d'environ 10 à 20 % en ajoutant que l'absence d'agitation aura également pour effet de réduire la consommation d'énergie.

En outre 35,2 % des lipides ont été obtenus après le processus d'extraction et le rendement de la production de biodiesel a été de 53%.

Les différents aspects, ainsi mis en évidence, amènent à articuler ce travail autour de quatre chapitres.

Le premier chapitre est consacré à une revue bibliographique portant sur les différents travaux sur les eaux usées industrielles et notamment les techniques de traitement et les caractéristiques des composés organiques et inorganiques.

Une étude sur le traitement des eaux usées par les microorganismes et les procédés de mise en culture a été abordée dans le deuxième chapitre. Dans cette partie, nous décrivons, plus particulièrement les différents facteurs affectant la production de la biomasse, ainsi que les techniques de récupération de la biomasse algale en vue de sa valorisation.

Le troisième et le quatrième chapitre ont été consacrés à la présentation et à la description du procédé de culture de *C. pyrenoidosa* dans les eaux usées issues de l'industrie de pétrole. Les différents résultats obtenus, ainsi que les méthodes de récolte de la biomasse, la valorisation de l'hydrogène, et les extractions des lipides ainsi que la production de biodiesel sont également décrits dans ces chapitres.

Enfin une conclusion générale.

Chapitre I

Généralités sur les eaux usées

industrielles

Chapitre I :

Généralités sur les eaux usées industrielles

I. Introduction

Les eaux usées industrielles sont l'une des sources de pollution les plus dangereuses qui touchent les milieux aquatiques, ce qui entraîne de graves problèmes pour les écosystèmes et la santé humaine directe ou indirecte avec le sol, la chaîne alimentaire (sol-plante-humain ou sol-plante-animal humain) [4].

L'adoption de microalgues pour le traitement des eaux usées peut résoudre le problème d'eutrophisation et traiter l'eau sans composés toxiques. De plus, les eaux usées peuvent être des nutriments pour les microalgues afin d'augmenter la biomasse des microalgues grâce au traitement des eaux usées [5].

Et c'est en conséquence que, la recherche combinant la production de microalgues et le traitement des eaux usées a reçu une attention croissante [6].

Le traitement des eaux usées par les microalgues nécessite parfois une dilution avant le traitement à cause de la présence de niveaux élevés de la DCO, de nutriments, de turbidité et une couleur foncée. En exemple, on peut citer les industries pétrolières produisant des effluents à forte charge organique. Ces effluents contiennent de la DCO et des métaux lourds et des hydrocarbures en quantité élevés et, constituent une grave menace pour la qualité de l'eau et devraient être traités de manière appropriée avant de se déverser dans l'environnement.

Le choix des microalgues à utiliser dans le traitement des eaux usées est déterminé par leur robustesse contre les eaux usées [7].

I.1. Les eaux usées

Une eau usée, appelée encore eau résiduaire ou effluent est une eau qui a subi une détérioration après usage, comme les eaux domestiques, les eaux industrielles ou les eaux de ruissellement [8].

La pollution de l'eau est une altération de sa qualité et de sa nature qui rend son utilisation dangereuse et/ou perturbe l'écosystème aquatique. Elle peut concerner les eaux superficielles

(rivières, plans d'eau) et/ou les eaux souterraines. Elle a pour origines principales, l'activité humaine, les industries, l'agriculture et les décharges de déchets domestiques et industriels[9].

I.2. Origine des eaux usées

On distingue trois grandes catégories d'eaux usées :

- Les eaux industrielles ;
- Les eaux domestiques ;
- Les eaux de ruissellement.

I.2.1. Les eaux usées industrielles

Elles sont très différentes des eaux usées domestiques. Leurs caractéristiques varient d'une industrie à l'autre. En plus de matières organiques, azotées ou phosphorées, elles peuvent également contenir des produits toxiques, des solvants, des métaux lourds, des micropolluants organiques et des hydrocarbures.

Les eaux usées industrielles (les eaux des procédés industriels) proviennent entre autre des secteurs industriels suivants [10] :

- Prospection ou mise en valeur des ressources, telles les ressources minières, forestières, pétrolières ou gazières,
- Industrie du ciment, plâtre et chaux,
- Les fabriques de pâtes et papiers,
- Les industries de textile et du vêtement,
- Industrie manufacturière ou de fabrication,
- Industrie de transformation, y compris la transformation alimentaire,
- Transport aérien ou maritime, y compris les opérations de nettoyage des conteneurs,
- Lixiviats des sites d'enfouissement,
- Effluent d'un site de traitement des boues ou de matières résiduelles,
- Rejets d'hôpitaux et de laboratoires, excluant les postes de soins infirmiers.

I.2.1.1. La composition des eaux usées industrielles

L'industrie rejette un bon nombre de substances qui iront polluer les rivières et les nappes, parfois même d'une manière d'autant plus pernicieuse que l'on n'en connaît pas les effets à

long terme, et que la la composition de ces eaux usées varie considérablement selon l'industrie [11].

Chaque secteur a sa propre combinaison particulière de polluants qui peuvent nécessiter des processus de traitement spécifiques avant d'être rejetées dans l'environnement ou les réseaux de collecte. Bien que quelque peu dépendant de la source, la plupart des eaux industrielles contiennent moins d'azote, de phosphore et de métaux lourds par rapport à la fois aux eaux usées municipales et agricoles.

I.2.1.2. Principaux polluants rencontrés dans les eaux industrielles

Un polluant peut être soit insoluble dans un rejet, soit soluble. La pollution particulaire (MES et colloïdes) est, par exemple, émise par les filières agroalimentaires (abattoirs, fromageries, laiteries...), industrie chimique, filières papetières ou encore les stations d'épuration. Néanmoins, la majorité des rejets sont des mélanges très complexes, constitués à la fois de pollutions particulaire et dissoute, et dont la composition varie selon leur provenance [12].

Une autre classification est fondée sur la capacité des substances à être dégradées. On distingue deux classes principales : Les matières biodégradables et les matières non biodégradables [12].

Les eaux usées provenant de l'industrie gazière et pétrolière présentent généralement des compositions très variables selon la nature du procédé. Celles-ci contiennent généralement de grandes quantités de :

- Matières organiques dissoutes (benzène, toluène, phénols et acides organiques),
- Matières organiques en suspension (ex : hydrocarbures, huiles et graisses),
- Matières inorganiques dissoutes : métaux lourds, (ex : fer, arsenic, chrome, vanadium, nickel) sulfates, nitrites et nitrates,
- Sels dissous (ex : chlorures et bromures).

I.3. Toxicité des effluents industriels

La toxicité des eaux usées industrielles peut s'expliquer par la présence du carbone organique total, des matières organiques volatiles, des hydrocarbures, des hydrocarbures aromatiques polycycliques et de métaux lourds ou de produits chimiques synthétiques.

Les polluants sont très persistants, alors que d'autres sont plus sensibles à la transformation physique, chimique ou biologique [13]. Ces produits chimiques, avec leur produits de biodégradation, peuvent s'accumuler dans l'environnement et potentiellement menacer l'intégrité de l'écosystème [14].

I.3.1. Toxicité des hydrocarbures

L'expression hydrocarbures totaux (HCT) comprend l'ensemble des hydrocarbures, saturés ou non. Les HCT sont des composés organiques comportant essentiellement du carbone et de l'hydrogène, d'autres éléments, tel le soufre, l'oxygène et l'azote sont minoritaires. En plus des divers dérivés des hydrocarbures, dans l'environnement, les hydrocarbures aliphatiques peuvent être présents sous différentes formes qui induisent des modes de contamination différentes. Par ordre d'importance, on notera l'inhalation, la pénétration à travers la peau, puis la digestion [15].

L'exposition prolongée aux hydrocarbures aromatiques monocycliques peut altérer la mémoire et certaines capacités psychiques. Ils ont aussi une toxicité prouvée sur l'oreille interne pouvant entraîner une diminution de l'audition, leur contact prolongé avec la peau ou les muqueuses aura une action dégraissante et desséchante se traduisant par des irritations ou des dermatoses. Le benzène est le plus toxique il se distingue par sa grande toxicité pour les cellules sanguines et les organes qui les produisent. Les affections en résultant vont de la simple anémie à la survenue du cancer du sang [16].

I.3.2. Toxicité des éléments traces métalliques

Les métaux lourds ou «Les éléments traces métalliques ETMs» sont des éléments ayant des poids atomiques compris entre 63,5 et 200,6 et une densité supérieure à 5,0g/cm³[17]. La plupart des métaux lourds sont des agents toxiques et cancérigènes bien connus et lorsqu'ils sont déversés dans les eaux usées, ils représentent une menace sérieuse pour la population humaine et la faune et la flore des masses d'eau réceptrices. Les organismes vivants exigent des traces de certains métaux lourds, parmi les plus abondants, on trouve le cobalt, le cuivre, le fer, le manganèse, le molybdène, le vanadium, le zinc [18].

On distingue deux formes différentes de toxicité : aiguë provoquant la mort ou de graves troubles physiologiques et la toxicité subaiguë ou à long terme.

De plus, la toxicité d'un métal est déterminée par la nature chimique de l'environnement aqueux et par la spéciation des ETMs (forme chimique sous laquelle le métal est considéré : minérale, organique, complexes) [19].

I.4. Paramètres de mesure de la pollution

L'estimation de la pollution industrielle est un problème complexe, et l'évaluation de la qualité de l'eau nécessite de nombreuses analyses, incluant le dosage de multiples paramètres physico-chimiques et des tests de différents paramètres servant à caractériser de manière globale et pertinente le niveau de la pollution présente dans les effluents. Parmi ces paramètres on cite les plus importants.

I.4.1. Paramètres physico-chimiques

I.4.1.1. Température

La température de l'eau est un facteur écologique qui entraîne d'importantes répercussions écologiques[20]. Elle agit sur la densité, la viscosité, la solubilité des gaz dans l'eau, la dissociation des sels dissous, de même que sur les réactions chimiques et biochimiques, le développement et la croissance des organismes vivants dans l'eau [21].

I.4.1.2. Conductivité électrique (CE)

C'est un paramètre important pour le contrôle de la qualité des eaux usées, qui constitue une bonne appréciation de la minéralisation d'une eau [22]. La conductivité électrique est mesurée aussi sur terrain, à l'aide d'un conductimètre elle est exprimée en mS/cm, ou $\mu\text{S/cm}$.

I.4.1.3. Potentiel d'hydrogène (pH)

La valeur du pH altère la croissance des microorganismes existant dans l'eau, leur gamme de croissance est comprise entre 5 et 9 en milieu aérobie [23].

I.4.1.4. La demande chimique en oxygène (DCO)

La DCO représente la quantité d'oxygène nécessaire pour la dégradation de toute matière contenue dans les eaux usées qu'elle soit biodégradable et non biodégradables présentes dans l'eau usée.

La mesure de ce paramètre permet la quantification de l'ensemble des composés organiques, présents sous forme solide, colloïdale ou dissoute ainsi que celle des minéraux oxydables, exprimée en (mg/L) [24].

Cette analyse est réalisée selon la Norme NF T90-101. Au cours de notre travail, nous avons utilisé la technique des tests en tube LANGE LCK.

I.4.1.5. La demande biochimique en oxygène (DBO₅)

La demande biochimique en oxygène est l'un des critères les plus largement utilisés pour l'eau évaluation de la qualité. Il fournit des informations sur la fraction biodégradable facile du charge organique dans l'eau [25].

La (DBO₅) est par définition la quantité d'oxygène nécessaire aux microorganismes vivants présents dans le milieu pour détruire ou dégrader biochimiquement les matières organiques biodégradables présentes dans l'eau usée pendant cinq (5) jours à l'obscurité et à 20 °C à l'abri de la lumière, exprimée en mg/L [23].

I.4.1.6. Les matières en suspension (MES)

Les MES représentent l'ensemble des matières solides et colloïdales flocculées, organiques ou minérales, contenues dans une eau usée et pouvant être retenues par filtration ou centrifugation, ce paramètre est exprimé en mg/L [24].

I.4.1.7. L'oxygène dissous (OD)

C'est un paramètre utile pour le diagnostic biologique de l'eau. L'oxygène de l'écosystème aquatique provient de l'atmosphère et de la production du phytoplancton.

La concentration en oxygène dissous présent dans le milieu aquatique dépend en grande partie de la solubilité de l'oxygène qui est principalement fonction de la température, et de la composition ionique de la solution [26].

L'oxygène joue le rôle le plus important pour évaluer la qualité biotique des eaux. Il est indispensable à la respiration des organismes et il facilite la dégradation de la matière organique dans les systèmes aqueux. Il est en fonction de l'origine de l'eau, exprimé en mg/L.

I.4.1.8. Azote total (N_t)

Les différentes réactions qui conduisent à l'élimination de l'azote dans un milieu aquatique sont :

- L'ammonification (transformation de l'azote organique en ammonium),
- La nitrification (oxydation de l'ammonium en nitrate),
- La volatilisation (transformation de l'ammonium en ammoniac)
- La dénitrification (réduction des nitrates en azote gazeux « N₂ »).

Chacune de ces réactions est dépendante de l'état d'oxydation du milieu et de la disponibilité en oxygène dissous [27].

Ce paramètre devient de plus en plus important. Sa valeur globale dans les eaux usées recouvre toutes les formes de l'azote. C'est la somme d'azote des formes réduites (organiques et ammoniacal) est appelé azote de KJELDAL et l'azote des formes oxydées (NO₂⁻, NO₃⁻) exprimé en mg/L.

Formes réduites : comprenant l'azote organique (protéines, polypeptides, Acides aminés, urée, hydrazine, etc.) et l'azote ammoniacal (N-NH₄⁺).

Formes oxydées : azote nitreux (N-NO₂⁻) et azote nitrique (N-NO₃⁻). L'azote Kjeldahl représente l'azote organique et l'azote ammoniacal. C'est un paramètre important pour la protection du milieu aquatique car sa transformation modifié l'équilibre biologique à l'aval des rejets.

Azote total (N_t) = Azote Kjeldahl total (NTK) + (NO₂⁻-N) + (NO₃⁻-N)

Azote Kjeldahl total (NTK) = Azote organique (N_{org}) + Azote ammoniacal (NH₄⁺-N)

Azote inorganique total (N_{inoorg}) = Azote ammoniacal (NH₄⁺-N) + Azote nitrate (NO₃⁻-N) + Azote nitrite (NO₂⁻-N).

Ils sont mesurés selon la méthode de test en tubes N5/25 (WTW) et à l'aide d'un Spectrophotomètre, nécessitant des réactifs propres à chacun d'entre eux.

I.4.1.9. Phosphore total (P_t)

Le phosphore se trouve dans les eaux résiduaires industrielles (ERI) sous formes, d'orthophosphate soluble, poly-phosphate qui a tendance à s'hydrolyser en orthophosphate, de phosphore non dissous.

La somme de ces diverses formes constitue le phosphore total, dont chaque forme peut être mesurée indépendamment des autres par spectrométrie [11].

I.4.1.10. Analyse bactériologique

L'objectif de l'analyse bactériologique d'une eau n'est pas d'effectuer un inventaire de toutes les espèces présentes, mais de rechercher celles qui sont susceptibles d'être pathogènes.

L'analyse bactériologique vise à la recherche et le dénombrement des germes suivants : germes totaux, coliformes totaux et fécaux, streptocoques fécaux, Clostridium sulfite-réducteurs.

Il faut signaler qu'un examen bactériologique ne peut être interprété que s'il est effectué sur un échantillon correctement prélevé dans un récipient stérile, selon un mode opératoire précis évitant toutes les contaminations accidentelles. De plus, il doit être correctement transporté au laboratoire et analysé sans délai ou après une courte durée de conservation dans des conditions satisfaisantes. L'identification et le dénombrement des germes pathogènes des eaux usées brutes et épurées sont réalisés suivant la méthode liquide [20].

I.5. Contexte juridique Algérien

Conscient de l'importance du potentiel hydraulique dans le processus du développement, l'Algérie s'est donnée pour tâche prioritaire d'assurer la préservation des ressources en eau. Dans ce but, le secteur s'est bien organisé par la promulgation de diverses dispositions de nature législative ou réglementaire visant notamment la protection de la santé publique. C'est le texte de loi (loi du 16 juillet 1983, notamment l'article 84) qui rend obligatoire le branchement d'égout en zone agglomérée, de toute habitation ou établissement rejetant des eaux usées. Les dispositions du décret d'application de la loi n° 93- 160 du 10 Juillet 1993 concernent les installations industrielles, et ces normes réglementent l'usage de l'effluent, selon que les eaux usées. Pour l'irrigation, ces normes alors les normes doivent être plus sévères.

Ces mêmes dispositions viennent d'être renforcées par un nouveau texte réglementaire : le décret exécutif n° 06- 141 du 19 Avril 2006, notamment dans la section 1, article 3. Les valeurs limites maximales de rejet d'effluents liquides fixées par ces textes réglementaires sont regroupées dans les tableaux 2 et 3 en annexe.

I.6. Le choix d'une technologie d'épuration

Le choix d'une technologie d'épuration devra prendre en compte les conditions de la mise en œuvre et d'utilisation qui peuvent varier très sensiblement en fonction de plusieurs paramètres.

I.6.1. Caractéristiques des eaux usées

I.6.1.1. Une sous charge organique

Par rapport aux valeurs prises en compte pour le dimensionnement des installations. Ce phénomène est lié à la réalisation par tranche de réseaux de collecte et aux délais apportés dans les raccordements des usagers.

Le rapport DCO/ DBO₅ est une indication très importante pour le choix du procédé de traitement à effectuer, on convient généralement des limites suivantes [28].

- DCO/ DBO₅ = 1 : Pollution totalement dégradable : Procédé biologique,
- $1 < \text{DCO/ DBO}_5 < 1,6$: Épuration biologique très poussée,
- $1,6 < \text{DCO/ DBO}_5 < 3,2$: Épuration biologique associée à un traitement biochimique,
- DCO/ DBO₅ > 3,2 : Traitement biochimique.

En outre, pour être performants, les micro-organismes épurateurs exigent des apports spécifiques en nutriments (DBO₅, azote et phosphore) dans les proportions DBO₅/N/P = 100/5/1. En fonction du traitement biologique recherché et des populations bactériennes à favoriser, il convient également de respecter les rapports nutritifs suivants :

- $10 < \text{DCO/N} < 60$, pour favoriser la dénitrification (transformation de l'azote sous forme de nitrates en azote gazeux),
- $30 < \text{DCO/P} < 300$, pour favoriser la déphosphatation (suraccumulation du phosphore par les bactéries).

C'est pourquoi, il peut être nécessaire d'apporter des nutriments à la biomasse (carbone, phosphore, azote) dans le cas où la qualité de l'eau à traiter serait trop éloignée des conditions optimales requises [8].

I.6.2. Exploitation

Les contraintes relatives à l'exploitation seront particulièrement décisives pour les petites collectivités qui disposent de moyens en personnel très limités et qui doivent souvent faire appel à des sociétés de service.

Les risques d'interventions lourdes relatives au remplacement d'un équipement coûteux par exemple doivent être très réduits. Les réglages nécessitant l'intervention d'un technicien très qualifié doivent être limités à ceux pouvant être définis par les services d'assistance technique. Par contre, on admettra que le passage quotidien d'un préposé constitue une contrainte normale.

I.6.3. Les coûts

Il est possible d'avancer que l'exploitation des différentes filières extensives est plus légère et, par conséquent, moins coûteuse que celle des techniques intensives en particulier en ce qui concerne le coût énergétique et le coût engendré par la gestion des boues. C'est le grand avantage de ces techniques qui, de plus, ne nécessitent pas de main d'œuvre spécialisée.

I.7. Traitement des eaux usées industrielle

I.7.1. Les grandes étapes du traitement

Pour obtenir une qualité d'eau traitée répondant aux normes de rejet, les effluents subissent un certain nombre de traitements décrits comme suit :

I.7.1.1. Le prétraitement

Le prétraitement a pour objectif l'extraction des matières les plus grossières. Actuellement, les traitements physiques constituent la majorité des techniques mises en œuvre.

Elles consistent à séparer et concentrer les polluants, sans les modifier [24]. Le prétraitement est appliqué lorsqu'il s'agit d'une simple séparation mécanique solide-liquide, sans introduction de réactifs. Il concerne les flottants ou les particules entraînées par le courant et susceptibles de décanter spontanément et rapidement. Leur présence perturbera la clarification ou risquera de provoquer des dommages.

I.7.1.2. Le traitement primaire

Ce traitement s'effectue par voie physico-chimique avec pour but d'extraire le maximum de matières en suspension et de matières organiques facilement décantable. Durant la phase de traitement primaire, une quantité importante de la pollution totale est éliminée (abattement des matières en suspension pouvant atteindre 90 % et de la Demande Biochimique en Oxygène de l'ordre de 35 % [24]).

La DCO et la concentration en azote peuvent également être réduites durant cette phase de traitement. Les matières solides extraites représentent ce que l'on appelle les boues primaires. Trois voies de traitement sont possibles :

- **Décantation (processus physique) :** Le principe de séparation solide-liquide est la pesanteur, les matières en suspension ou colloïdales tendent à se séparer du liquide par sédimentation.
- **Flottation (processus physique) :** Par opposition à la décantation, la flottation est un procédé de séparation solide-liquide ou liquide-liquide qui s'applique à des particules dont la masse volumique réelle ou apparente (flottation assistée) est inférieure à celle du liquide qui les contient.
- **Floculant (voie physico-chimique) :** Le principe est de favoriser l'agrégation des molécules en suspension grâce aux techniques de coagulation et de floculation de façon à augmenter la sédimentation grâce à l'obtention de floes plus gros.

I.7.1.3. Traitement secondaire (La biodégradation)

L'objectif du traitement secondaire est le traitement ultérieur de l'effluent provenant du traitement primaire pour éliminer les matières organiques résiduelles et les solides en suspension. L'effluent provenant du traitement primaire contient donc principalement des substances colloïdales et dissoutes, solides, organiques et inorganiques.

Les normes récentes sur les effluents et les normes de qualité de l'eau exigent un plus grand degré d'élimination des matières organiques des eaux usées que ce qui peut être accompli par le traitement primaire seul. Enlèvement additionnel de matières organiques peut être accompli par un traitement secondaire [15].

La biodégradation est le processus naturel de traitement des eaux usées, en utilisant de nombreux types de micro-organismes différents dans un environnement contrôlé. Plusieurs processus biologiques aérobies sont utilisés pour le traitement secondaire différant principalement par la manière dont l'oxygène est fourni aux microorganismes et par la vitesse à laquelle les organismes métabolisent la matière organique. Les microorganismes sont considérés comme un processus majeur. Et en sont responsables, en particulier les bactéries, les algues [29]. Ils peuvent être utilisés seuls ou en complément d'une autre technique.

Le lagunage aéré est un procédé de traitement biologique principalement aérobic, à cultures libres [30].

I.7.1.4. Traitement tertiaire

Certains rejets d'eaux traitées sont soumis à des réglementations spécifiques concernant l'élimination de l'azote, du phosphore ou des germes pathogènes qui nécessitent la mise en œuvre de traitements tertiaires.

Le traitement tertiaire est alors un affinage qui peut être obtenu par différentes techniques telles que, la filtration sur sable [31], l'adsorption sur charbon actif ou (sur des matériaux) ainsi que la photocatalyse au TiO₂ solaire, TiO₂ et son mélange avec du charbon actif (AC-TiO₂) [32].

Chapitre II

Techniques de mise en culture des microorganismes et récupération de la biomasse

Chapitre II

Techniques de mise en culture des microorganismes et Récupération de la biomasse

II. Introduction

On estime que l'augmentation des taux d'eaux usées industrielles dans les pays en développement est beaucoup plus élevée que ceux des pays développés. En raison de la complexité des eaux usées industrielles, le criblage et l'isolation des espèces et des souches de microalgues métalliques et organiques est essentielle pour atteindre une efficacité de croissance élevée. Néanmoins, seuls quelques travaux se sont rapportés à l'étude de la culture de microalgues avec une tolérance élevée aux métaux ainsi que l'élimination de l'azote et du phosphore.

Le traitement des eaux usées par les algues a une longue histoire, en particulier dans l'élimination des nutriments [33]. Les eaux usées peuvent également être considérées comme une ressource pour la croissance de la biomasse algale pour la production de biocarburants [34].

Les bioréacteurs à algues sont généralement à base d'algues en utilisant la photosynthèse pour fixer le dioxyde de carbone dans les composés organiques, ce qui entraîne la multiplication des microorganismes et la production de la biomasse et d'oxygène. Pendant la croissance des algues, les concentrations de nutriments dissous, par exemple l'azote (N) et le phosphore (P), sont absorbées par l'absorption d'algues [35].

En plus de l'eau et de la lumière, les microalgues ont besoin de grandes quantités de dioxyde de carbone pour croître et stocker des lipides en quantités suffisantes pour une production de biocarburant à l'échelle économique. L'utilisation de ce dioxyde de carbone fournit un autre avantage à cette technologie, la réduction des gaz atmosphériques qui contribuent au réchauffement climatique. L'utilisation de microalgues est souhaitable car ils peuvent jouer un double rôle de bioremediation des eaux usées et générer de la biomasse pour la production de biocarburants avec une séquestration concomitante de dioxyde de carbone [36]. Dans une large mesure, l'économie de la production de microalgues dépend de la technologie utilisée pour la récolte. Les difficultés de séparation des algues proviennent de leurs petites concentrations dans le milieu de culture, de leur très faible taille et du fait que leur densité

n'est que légèrement supérieure à celle de l'eau. Il existe un certain nombre de méthodes de séparation.

II.1. Les microorganismes

Les microorganismes sont des êtres vivants microscopiques généralement unicellulaires qui prolifèrent naturellement dans tous les milieux et dans des conditions très variables. Une grande diversité de bactéries et algues peut dégrader les polluants organiques dans l'eau usée (Biodégradation), tels que les hydrocarbures et leurs produits de dégradation ; dont les microorganismes se nourrissent et les transforment en eau et en CO₂. Cependant, tous les composés organiques ne seront pas dégradés de la même façon [37].

II.1.1. Les microalgues

II.1.1.1. Présentation générale des microalgues

Les microalgues contribuent à environ 40 à 50 % de l'oxygène dans l'atmosphère. Les algues sont la source originale de carbone fossile dans le pétrole brut et le gaz naturel. Les algues, à des fins pratiques, sont les seuls producteurs primaires dans les océans qui couvrent 71 % de la surface de la Terre. Les algues microscopiques et les algues soutiennent directement ou indirectement la plupart des formes de vie dans les mers [38].

Ils sont des organismes photosynthétiques, et font partie des premiers organismes vivants apparus sur notre planète [39]. Ce sont un groupe important d'organismes photosynthétiques microscopiques procaryotes ou eucaryotes, dont beaucoup sont présents de manière unicellulaire et se trouvent dans divers environnements.

Les microalgues n'ont pas de racine et se retrouvent dans des environnements divers [39] pouvant croître rapidement et vivre dans des conditions difficiles. Par exemples des microorganismes procaryotes sont les cyanobactéries (*cyanophycées*) et les microalgues eucaryotes sont par exemple des algues vertes (*Chlorophyta*) et les diatomées (*Bacillariophyta*) [40]. Il est estimé que plus de 50 000 espèces existent, mais seulement un nombre limité (environ 30 000) a été étudié et analysés.

Le terme phytoplancton s'avère plus approprié lorsqu'il est question à la fois d'algues et de cyanobactéries qui contient au sein de son cytoplasme de nombreux organites nécessaires à son fonctionnement et à son métabolisme chloroplastes, amyloplastes, oléoplastes, mitochondries et son noyau entouré de son enveloppe.

La membrane plasmique est une structure composée de polysaccharides et de protéines plus ou moins complexes et en proportions variables selon les espèces. Elle est chargée négativement, ce qui est attribuable à la composition des groupes fonctionnels qui y sont associés.

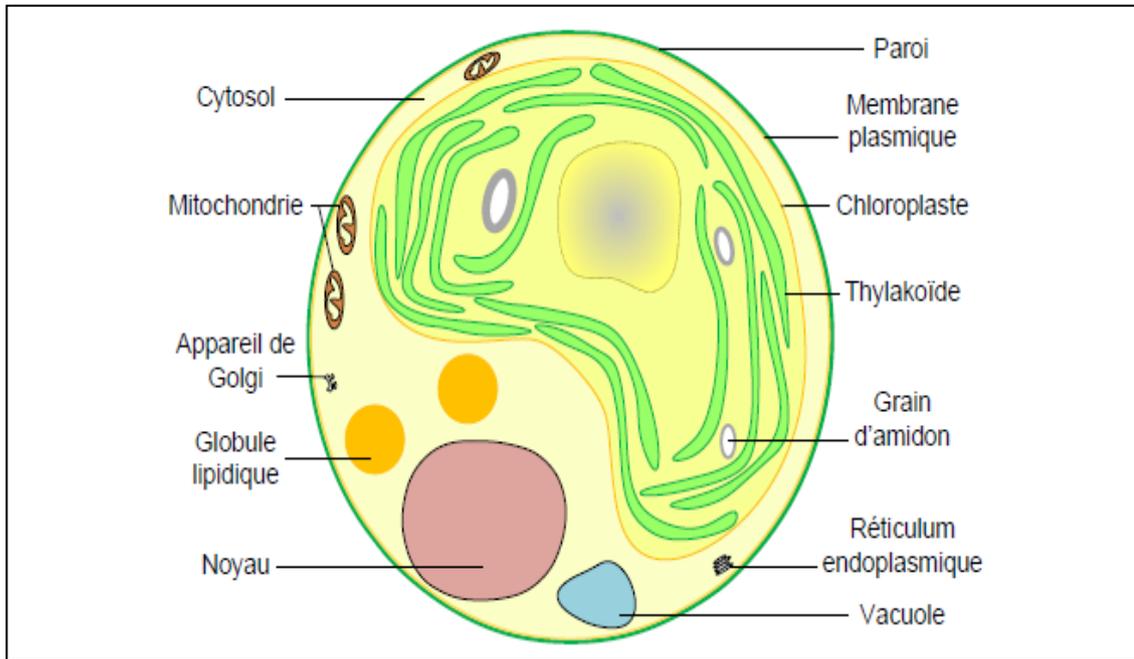


Figure II.1:Schéma d'une cellule de *Chlorella* [41].

Elle confère aux cellules une certaine résistance aux ions métalliques potentiellement toxiques, ce qui motive leur utilisation pour le traitement des eaux.

La composition chimique de diverses algues montre leur richesse en protéines. Toutefois, le profil des acides aminés indique une déficience en méthionine et en acides aminés soufrés. En revanche, les microalgues sont généralement riches en vitamines et en substances économiquement intéressantes. Des modifications de la composition chimique apparaissent néanmoins en fonction du milieu, du mode de culture, ou du moyen de conservation.

II.2. Différents types des algues

Sur le tableau, ci-dessous, sont regroupés les principales espèces phytoplanctoniques représentatives des cours d'eau européens

Tableau II.1: Principales espèces phytoplanctoniques représentatives des cours d'eau européens [42].

Groupe spectrale	Groupe taxinomique	Présence	Principaux genres
Algues brunes	Diatomées (bacillariophycées)	Dominance au printemps	Stephanodiscus, skeletonema, cyclotella, (Thalassiosira)
Algues vertes	Chlorophytes	Dominance en été	Scenedesmus, Monoraphidium, Pediastrum
Algues bleues-vertes	Cyanophytes ou cyanobacteria	Abondantes en été	Oscillatoria, Microcystis
Chrysophycées	Cryptophytes (cyanobactéries + riches en phycoérythrine, typiquement)	Présence modérée	Rhodomonas, Cryptomonas, Planktothrix rubescens (cyanobactéria)

II.2.1 Milieu de culture

Il est bien connu que les eaux douces présentent une richesse d'environnements et de flore algale. La répartition des espèces d'algues dans les eaux douces dépend non seulement de l'action sélective chimie-physique de l'environnement, mais aussi de la capacité de l'organisme à coloniser un environnement particulier. Par conséquent, divers milieux de culture ont été développés et utilisés pour l'isolement et la culture d'algues d'eau douce. Certains d'entre eux sont des modifications de recettes antérieures pour répondre à un objectif particulier, certains sont issus de l'analyse de l'eau dans l'habitat naturel, certains sont formulés après une étude détaillée des besoins nutritifs de l'organisme, et certains sont établis après prise en compte des paramètres écologiques [38].

Les microalgues vivent dans les milieux fortement aqueux. Elles vont assimiler les éléments minéraux nutritifs comme le potassium, le sodium, le calcium et le magnésium, des oligo-éléments (molybdène, zinc, cuivre) et le CO₂ dissous dans l'eau pour produire leurs constituants cellulaires. Les solutions mères des milieux sont généralement composées de trois types de composants ; macronutriments, des traces de métaux, et des vitamines.

II.3. Paramètres opératoires

La croissance des algues et l'activité photosynthétique dans différentes conditions environnementales ont été largement étudiées au cours des dernières décennies [43]. De plus, les nombreux paramètres environnementaux (lumière et température), opérationnels (pH, CO₂ et nutriments) qui influent sur le traitement des eaux usées ont été étudiés [44].

Parmi les paramètres les plus importants qui affectant la production d'algues :

II.3.1. La réponse à la lumière

La lumière est essentielle pour la croissance des algues, la photosynthèse augmente avec une intensité lumineuse croissante jusqu'à ce que le taux maximal de croissance des algues soit atteint au point de saturation de la lumière. L'augmentation de l'intensité de la lumière au-delà de ce point peut conduire à une photo-oxydation (également appelée photoinhibition). Les réactions photosynthétiques sont globalement dépendantes de l'énergie lumineuse captée [43].

Pour (Grima et al 1997) [45] l'optimum de croissance est atteint entre 820 et 1620 micromol.m⁻².s⁻¹ mais au-delà de cette valeur, l'irradiance devient photoinhibitrice [46].

Des cellules *Chlorella pyrenoidosa* cultivées dans un cycle de lumière/obscurité répété ont été étudiées. Pendant la nuit, des diminutions ont été observées dans la concentration de biomasse et les teneurs en glucides des cellules alors que leur teneur en protéines augmentait. Ces changements impliquent qu'en l'absence d'énergie lumineuse [47].

II.3.2. Température

La température de l'environnement d'un organisme est un paramètre important puisque l'état physiologique en dépend. Aussi, chaque microorganisme a une température de culture optimale [41]. Les températures optimales de la croissance et de l'activité des réactions chimiques des microorganismes varient selon l'espèce. L'intervalle de température favorable à la bonne activité microbienne se situe entre 20 et 37°C selon, (GIBBS et al ,2001) [37]. *Scenedesmus almeriensis* présente une vitesse de croissance maximale à 35°C, au-dessus de laquelle sa croissance chute [48].

Le contenu cellulaire va lui aussi varier avec la température. Chez *Scenedesmus almeriensis* la quantité de lutéine augmente en même temps que la température. La température optimale mesurée dans des conditions de taux maximal de croissance des algues (conditions nutritives et légères suffisantes) varie entre les espèces d'algues, mais est souvent comprise entre 28 et

35 °C pour de nombreuses algues à température peut également modifier les équilibres ioniques de l'eau du bassin, le pH, Et la solubilité des gaz (oxygène et CO₂), bien que différentes espèces d'algues soient influencées à des degrés différents par cet effet. Bien que la perte de biomasse puisse être réduite en agissant la température et en évitant le mélange de la culture pendant la nuit [49]. L'effet de la température de nuit sur la perte de biomasse est étudiée par certains travailleurs [50].

II.3.3. Salinité

La salinité diminue le nombre de microorganismes. Elle ralentit les processus de l'humification et de la minéralisation des matières organiques. En effet, de tous les processus biologiques, la nitrification est la plus touchée, ainsi que le dégagement de CO₂. Les fortes salinités constituent donc une barrière naturelle pour la biodégradation.

II.3.4. Potentiel d'hydrogène (pH)

L'activité microbienne est largement influencée par le pH. Il doit être situé entre 5 et 9 avec un optimum aux alentours de 7. Si le pH est acide, il peut favoriser la solubilisation des métaux lourds qui sont très toxiques pour les bactéries.

II.3.5. Taux d'oxygène

Le processus biologique aérobie est souhaitable pour la bioremediation de sol pollué par le diesel. Ainsi, la respiration aérobie semble être le mécanisme primaire pour la biodégradation des hydrocarbures. Plusieurs auteurs montrent que la biodégradation anaérobie est plus lente que la biodégradation aérobie.

II.3.6. Contenu en nutriments

Les nutriments sont indispensables à l'activité et au développement des microorganismes. Ce sont des corps simples qui peuvent être assimilés, sans transformation digestive par les organismes et favoriser la croissance des populations de bactéries. Les plus importants sont l'azote et le phosphore (N, P).

II.4. Les modes de cultures du phytoplancton

II.4.1. La culture en batch ou culture discontinue

La culture en batch est la manière la plus simple de produire du phytoplancton : Un inoculum contenant des cellules de phytoplancton à cultiver est injecté dans un récipient exposé à la lumière (ballon, bouteille, bac, etc.) contenant tous les éléments nutritifs nécessaires à leur

multiplication et donc à la croissance de la population phytoplanctonique. Après cette introduction initiale, il n'y a plus d'échanges d'éléments nutritifs, ni de biomasse avec l'extérieur. Cette méthode de culture est particulièrement utile pour l'étude des conditions limitantes pour la croissance cellulaire. En effet, lorsqu'il n'y a aucun ajout de nutriments.

II.4.2. La culture en continu

Le principe de la culture en continu est le maintien des jeunes cellules phytoplanctonique en phase de croissance exponentielle. Pour cela, il faut renouveler quotidiennement le volume de culture. Généralement, le maintien en culture continu n'excède pas trois semaines à cause des problèmes de vieillissement cellulaire et de contamination des milieux.

II.5. Différents modes de production de biomasse microalgale

La culture d'algues dans les systèmes de production en bassin ouvert a été utilisée depuis les années 1950 pour le traitement des eaux usées et la récupération des ressources [51], [52], [53].

Ces systèmes peuvent être catégorisés en eaux naturelles (lacs, lagunes et étangs) et en bassins artificiels ou en conteneurs. Divers systèmes de culture sont aujourd'hui utilisés pour produire les biomasses algales. On classe ces différents systèmes en deux catégories, les systèmes ouverts (les bassins) et fermés (les photobioréacteurs). Quel que soit le système de production, la culture d'algues nécessite une source d'énergie lumineuse, et un apport en dioxyde de carbone et sels inorganiques dans le milieu de culture.

II.5.1. Systèmes ouverts (Bassins de type "Raceway")

Les systèmes de cultures sont dits ouverts lorsqu'il n'y a pas de séparation physique entre la culture et l'environnement extérieur.

Ce sont des technologies facilement extrapolables puisque généralement basiques dans leur conception. L'avantage économique des systèmes ouverts s'explique entre autres par le fait qu'il n'y a pas de contrôle des paramètres, tels l'éclairage et la température qui nécessitent un apport énergétique important, contrairement aux systèmes fermés. Techniquement, l'évaporation du milieu n'est également pas contrôlée et la culture est exposée à des contaminations extérieures.

La grande majorité des systèmes de culture ouverts fonctionnent en utilisant l'énergie solaire. L'une des technologies ouvertes les plus répandues est le système "raceway". Les cultures d'algues à l'air libre se fait principalement à l'aide de bassins de type raceway. Est un canal de recirculation en boucle fermée à fonctionnement continu utilisé pour cultiver la biomasse algale. Ces systèmes sont construits comme des bassins individuels ou comme des groupes de bassins disposés en série et généralement construits en béton ou en terre compactée. Une roue à aubes est utilisée pour conduire l'eau autour du circuit, gardant les algues dans une suspension bien mélange [55]. Concentration faible en organismes épurateurs, de la dimension d'un étang, utilisé lorsque de grands espaces sont disponibles, coûts de construction et de fonctionnement faibles, rendement élevé, fonctionnement relativement stable.

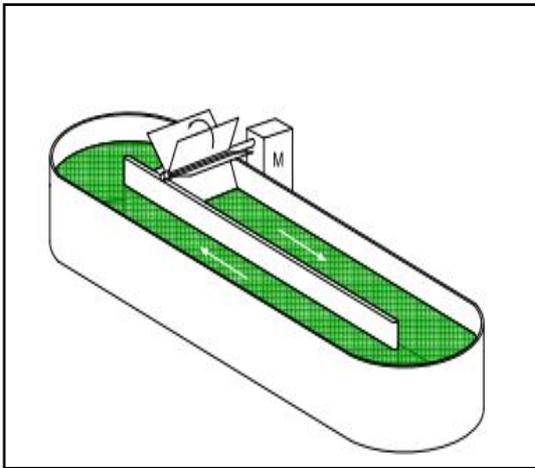


Figure II.2: Schéma d'un système de culture bassin raceway [41]



Figure II.3 : Photographie aérienne des bassins de type raceway [54]

II.5.2. Systèmes fermés

Les systèmes fermés permettent un meilleur contrôle des conditions de culture que les systèmes ouverts. Il s'agit ici de faire croître l'algue dans un environnement sélectif isolé, ce qui n'exclut pas la culture en systèmes fermés utilisant la lumière solaire.

Le contrôle des conditions permettant d'atteindre une croissance optimale est facilité dans ce type de systèmes. Les risques de contamination sont bien moindres que pour une culture ouverte.

II.5.2.1. Photobioréacteur (PBR)

Un photobioréacteur est défini comme un système clos à l'intérieur duquel se déroulent la culture, en présence d'énergie lumineuse, des interactions biologiques que l'on cherche à contrôler en maîtrisant les conditions de culture. En son sein, une réaction biochimique de photosynthèse a lieu dans le but de produire de la biomasse végétale à partir de microalgues, de CO₂ et de lumière [46].

Dans le cas des algues, on utilise du photobioréacteur, construit dans des matériaux transparents laissant passer la lumière et autorisant les réactions de photosynthèse. L'éclairage se fait à partir de la lumière solaire ou artificielle avec des tubes fluorescents.

Le principal avantage de cette technique est qu'elle permet de contrôler les conditions de culture et aussi de maintenir la stérilité de la culture. Les géométries du photobioréacteur sont très variables. Ces réacteurs peuvent contenir de 0,5 à 15 L pour ceux utilisés en laboratoire, de 20 à 1000L pour ceux servant à des tests en vue de l'industrialisation facile à installer et à entretenir simple à utiliser, automatisé pour le contrôle des paramètres essentiels (pH, T° ...). peu encombrant [46].



Figure II.4: Photobioréacteur [54].

II.6. Comparaison des deux systèmes de culture sélectionnés

Malgré de très bons résultats, les systèmes artificiels présentent l'inconvénient de l'importante consommation énergétique, alors que l'utilisation de l'énergie solaire est possible. Le choix entre les deux méthodes de culture utilisant l'énergie solaire est plus délicat.

Le système « raceway » nécessite des infrastructures plus simples et un investissement financier moins important que le photobioréacteur. Les bassins de type « raceway » présentent toutefois des points faibles non négligeables.

Ces bassins étant à ciel ouvert, la productivité peut être affectée par des contaminations non désirées et la perte d'eau par évaporation peut jouer un rôle significatif. De plus, le volume de biomasse produite y est moindre (plus de 13 fois supérieure Comparaison des deux systèmes dans un photobioréacteur). La productivité étant un facteur particulièrement important pour notre production. Les systèmes ouverts présentent de nombreux défauts en comparaison avec les systèmes fermés.

II.7. Systèmes hybrides

Les systèmes hybrides sont en fait l'association en série de système fermé et système ouvert. Comme indiqué plus haut, les étangs ouverts sont des méthodes relativement bon marché et très efficace pour la culture d'algues, mais peuvent être facilement contaminés par des espèces microbiennes indésirables. D'autre part, photobioréacteur (PBR), tandis que trop cher pour la culture d'algues de masse, sont une excellente méthode pour maintenir une culture intacte. Ainsi, une option est d'utiliser un système hybride.

II.8. Evolution de la croissance

L'évolution de la croissance se fait selon cinq phases représentées par la Figure II.5.

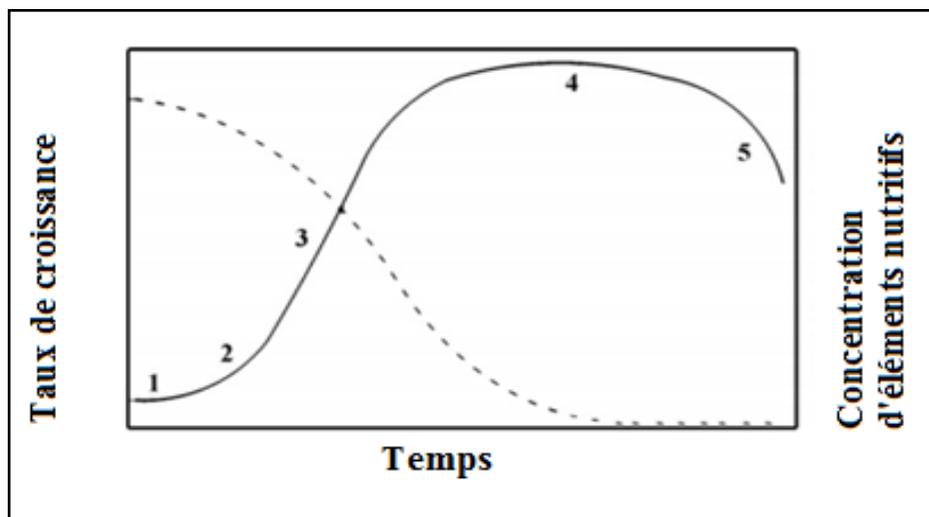


Figure II.5: Représentation schématique du taux de croissance des algues en culture. discontinue (ligne continue) et la concentration des éléments nutritifs (ligne pointillée) [40].

Les phases se succèdent à mesure que les nutriments du milieu sont consommés :

- (1) phase de latence ;
- (2) la phase d'accélération ;
- (3) phase de croissance exponentielle ;
- (4) phase de croissance stationnaire ;
- (5) phase de décroissance (déclin ou de mort).

II.9. Méthodes de traitement des eaux usées industrielles

Les micro-algues sont capables d'assimiler de nombreux nutriments nécessaires à leur croissance, elles peuvent donc éliminer certains éléments présents dans les eaux usées. Elles permettent ainsi de baisser les taux de phosphates et nitrates. Elles ont une action détoxifiante et dépolluante et peuvent agir selon deux modes: soit directement grâce à leur capacité à fixer les métaux lourds, soit indirectement afin de fournir de l'oxygène dissous aux bactéries permettant la dépollution des eaux contaminées [56].

II.9.1. Traitement des eaux usées par culture des microalgues

La disponibilité des terres et la génération de l'eau usée à grande échelle amènent la production de microalgues. Pour ces raisons, les lagunes se distinguent comme des installations de production d'algues prometteuses.

Bien que la majorité des systèmes de production d'algues utilisent des cultures en suspension dans des bassins ouverts ou des réacteurs fermés, et les cultures immobilisées, y compris les systèmes à matrice immobilisée et biofilms, l'utilisation de cultures attachées peut présenter plusieurs avantages. Les systèmes de production à grande échelle les plus courants sont en pratique les étangs à algues à taux élevé, également appelés HRAP ou étangs de raceway, les étangs des cours d'eau sont ouverts, des étangs peu profonds.

II.9.2. Traitement des eaux usées par culture de microalgues et bactéries

C'est le système le plus simple. Dans le bassin de ce système, on y trouve les bactéries et les algues microscopiques. La minéralisation de la matière organique soluble en suspension est assurée par les bactéries qui la transforment en eau, gaz carbonique, nitrates et phosphates. Ces composés vont être assimilés par les algues qui grâce à la lumière du soleil vont effectuer la photosynthèse pour assurer leur métabolisme et libérer de l'oxygène pour la vie des

bactéries. Cette photosynthèse aboutit à la production de biomasse dans laquelle sont captés les composés organiques et les minéraux qui sont en excès dans l'eau :

L'eau est ainsi épurée [19]. Il a été mis en évidence que les algues et les bactéries avaient une relation symbiotique [57].

Il y a d'autres méthodes de traitement des eaux usées et nous en citons les suivantes, sans pour autant être exhaustifs :

- Le traitement par l'adsorption sur charbon actif : Le charbon actif (CA) est largement utilisé dans l'élimination des métaux lourds. Son utilité provient principalement de sa grande porosité et le volume de surface élevée qui en résulte. Un grand nombre de chercheurs ont étudié l'utilisation de du charbon actif pour éliminer les métaux lourds [58], [59], l'obtention de performances optimales implique l'élimination avant adsorption du quasi totalité des matières en suspension et de la pollution biodégradable pour éviter une prolifération bactérienne dans la masse du lit de charbon actif.
- Traitement par des méthodes électrochimiques: Ont attiré une grande attention pour la dernière décennie [60],[61],[62]. Parmi les méthodes électrochimiques, l'électrooxydation, électrocoagulation, électrofenton. Dans une étude de [60], les résultats obtenus à partir des méthodes électrochimiques ont été comparés les uns aux autres.
- L'élimination complète du phénol et de la DCO peut être obtenue dans presque toutes les méthodes électrochimiques, à l'exception de l'électrocoagulation, à condition que le temps d'électrolyse soit prolongé.

II.10. Interactions microorganismes et métaux

Les microalgues utilisent des processus similaires à ceux utilisés par les autres microorganismes, soit par adsorption à la surface des cellules ou par des mécanismes d'absorption utilisant par exemple les phytochélatines.

Les microalgues peuvent utiliser de nombreux mécanismes pour retenir les métaux et ceux-ci peuvent varier en fonction des conditions de culture. Par exemple, le pH change non seulement la chimie des métaux, mais modifie également le positionnement et la disponibilité des groupes fonctionnels à la surface des membranes cellulaires.

Les microalgues peuvent donc autant accumuler les métaux à l'intérieur de leur cellule en créant des poches temporaires pour emprisonner les métaux et prévenir leur toxicité que forcer leur précipitation grâce à des composés se trouvant à la surface des membranes cellulaires.

II.11. Immobilisation des métaux

II.11.1. Biosorption

Des nombreux chercheurs ont montré la possibilité d'utiliser les organismes comme nouveaux adsorbants pour les ions métalliques [63], [64]. Les avantages dans l'application des algues comme biosorbant résultent de la grande disponibilité, du faible coût, de la capacité de sorption élevée et de qualité assez régulière [28]. Réaction rapide, aspécifique, dépend des propriétés des parois microbiennes. La réactivité des parois bactériennes est essentiellement due aux groupements carboxyliques du peptidoglycane et aux groupements phosphates de l'acide téichoïque et téichuronique [65].

II.11.2. Bioaccumulation

Il s'agit du piégeage des métaux dans la cellule par des composés similaires aux métallothionéines ou aux phytochélatines.

II.11.3. Précipitation

Précipitation des métaux par réduction des composés métalliques par les bactéries sulfato-réductrices ou par sécrétion d'oxalate, phosphates et carbonates [65].

II.12. Procédés de récupération de la biomasse

II.12.1. Coagulation-floculation

La coagulation a pour but principal de déstabiliser les particules en suspension, c'est-à-dire de faciliter leur agglomération. En pratique, ce procédé est caractérisé par l'injection et la dispersion de produits chimiques. La floculation a pour but de favoriser, à l'aide d'un mélange lent, les contacts entre les particules déstabilisées.

Ces particules s'agglutinent pour former un floc qu'on pourra facilement éliminer par décantation. Donc, l'opération de coagulation-floculation a pour but la croissance des particules (qui sont essentiellement colloïdales) par déstabilisation des particules en

suspension puis formation de floccs par absorption et agrégation. Les floccs ainsi formés seront décantés et filtrés par la suite [66].

II.12.1.1 Coagulants-floculants inorganiques

Les sels métalliques multivalents (FeCl_3 ; $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$; $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) sont souvent utilisés comme coagulants pour les microalgues, notamment dans le traitement des eaux. Lorsque le pH de l'eau est situé dans une plage acide ou neutre, le flocc, constitué de molécules de $\text{Al}(\text{OH})_3$ ou de $\text{Fe}(\text{OH})_3$, possède habituellement une charge positive. Ces derniers neutralisent les charges négatives de surface des algues et servent de site d'adsorption des microalgues [66].

La présence de certains anions et de particules colloïdales accélère la formation du précipité. Les particules colloïdales jouent le rôle de noyaux lors de la formation du flocc. Les doses optimales de coagulants dépendent des algues et de leurs conditions de culture. La force ionique du milieu notamment a un effet significatif sur les doses optimales, plus la force ionique est élevée, plus la dose optimale de sels d'aluminium ou de fer est importante.

II.12.1.2. Coagulants-floculants organiques

Les coagulants-floculants organiques sont des polymères dérivés de substances naturelles ou synthétisées. On retrouve des polymères sans groupe fonctionnel ionisable, les non ioniques, des polymères anioniques et des cationiques.

Les polymères cationiques sont efficaces pour les algues dont la charge de surface est négative les floculants organiques se différencient par leur poids moléculaire et leur densité de charge. Les salinités importantes, peuvent inhiber l'efficacité des floculants organiques. Cette baisse d'efficacité pour les forces ioniques importantes s'explique par la déstructuration des polymères.

II.12.2. Éctrofloculation

L'éctrofloculation se base sur le principe de mouvement des particules chargées dans un champ électrique. Elle consiste à faire perdre la charge de surface négative des algues, par attraction vers l'anode (+), et contact avec cette dernière, pour faciliter l'agrégation des algues. On ne sacrifie pas l'anode, contrairement à l'éctrocoagulation, mais dans certaines conditions, un encrassement de la cathode par des précipités de calcium et magnésium peut réduire les performances du procédé Dans la même étude, on constate que plus la tension

appliquée est importante plus la séparation est rapide, mais de fortes tensions entraînent de fortes consommations énergétiques [67].

La réduction des coûts énergétiques passe aussi par une diminution de la surface des électrodes et par une augmentation de la distance cathode/anode. Il s'agit de trouver le compromis entre efficacité de séparation et coûts.

II.12.3. Electrocoagulation

L'électrocoagulation s'appuie sur la libération d'ions métalliques par oxydo-réduction lors du passage d'un courant dans des électrodes à base de Fe ou d'Al. La libération des ions métalliques (coagulants) s'effectue à l'anode tandis que de l'hydrogène est libéré à la cathode [66]. Les coagulants déstabilisent la suspension algale par la réduction de leur potentiel zêta et permettent l'agrégation des algues comme dans le cas d'une coagulation chimique [67].

II.12.4. Flottation

La flottation est un procédé de séparation solide-liquide ou liquide-liquide qui s'applique à des particules dont la masse volumique est inférieure à celle de l'eau qui les contient [66]. Les méthodes de flottation sont basées sur le piégeage de cellules d'algues en utilisant les bulles de micro-air dispersées et donc, contrairement à la floculation, ne nécessitent aucune addition de produits chimiques. Certaines souches flottent naturellement à la surface de l'eau à mesure que la teneur en lipides des microalgues augmente. Bien que la flottation ait été mentionnée comme une méthode de récolte potentielle, il existe très peu de preuves de sa viabilité technique ou économique [69].

II.12.5. L'électroflottation

Ce procédé consiste à faire remonter à la surface de l'eau les matières en suspension grâce à des bulles en gaz. Dans le cas de l'électroflottation c'est l'hydrogène à la cathode. Pour faciliter les opérations on ajoute de petites quantités de produits coagulants (sels métalliques) ou tensioactifs (qui sont déjà présent dans les eaux usées) [11].

II.12.6. Ultrasons

De nouvelles techniques permettent d'améliorer l'efficacité de la coagulation en utilisant préalablement un traitement par ultrasons. Ce traitement permet la concentration dans

certaines espaces de la matière algale et augmente ainsi les probabilités de rencontre des algues. Ce traitement aux ultrasons peut aussi être utilisé seul. La génération du champ acoustique entraîne la concentration des cellules dans les zones où le potentiel est minimum et où elles s'agrègent. Cette technique ne semble pas utilisable sur de très grands volumes de traitement du fait de ses coûts opératoires, bien qu'elle puisse être opérée en continu.

II.12.7. Séchage

Le séchage est un processus intensif en énergie et peut représenter jusqu'à 30% des coûts de production totaux. Le séchage naturel (solaire et éolien) est le moyen le plus économique [39].

La suspension de biomasse récoltée (5-15% de solides secs) doit être traitée rapidement, ou elle peut se détériorer en quelques heures dans un climat chaud. Le traitement post-récolte spécifique nécessaire dépend fortement du produit souhaité. La déshydratation ou le séchage de la biomasse est couramment utilisé pour prolonger la durée de conservation de la biomasse, en particulier si la biomasse est le produit final [70]. Le séchage solaire ne nécessite pas d'énergie fossile, mais dépend des conditions météorologiques et peut provoquer une dénaturation considérable des composés organiques. Le séchage solaire est l'option de séchage la moins onéreuse, mais de grandes surfaces sont nécessaires car seulement environ 100 g de matière sèche peuvent être produits à partir de chaque mètre carré de surface solaire [71].

II.13. Mécanismes de déstabilisation d'une suspension algale

La plupart des microalgues sont chargées négativement et par interactions électrostatiques elles attirent des ions chargés positivement et disponibles dans la solution. Certains de ces ions s'adsorbent à la surface de la microalgue pour former une couche dense.

D'autres ne restent liés que par des interactions électrostatiques, ils forment la couche diffuse. Cette distribution d'ions est précisément décrite par le modèle de Stern basé sur des critères de densité en ion. Pour simplifier le modèle on peut caractériser la notion de double couche par des critères hydrodynamiques. Dans ce nouveau modèle, on ne parle plus de couches denses et diffuse mais de couches liées (les ions restent liés à la microalgue si elle se déplace) et non liées. Le plan qui sépare la couche liée de la couche non-liée est baptisé plan de cisaillement (PC).

Le potentiel au plan de cisaillement est baptisé potentiel Zêta (ζ). A partir du potentiel Zêta et de la théorie DLVO on peut réaliser le bilan des forces exercées par une algue sur une

autre et comprendre la stabilité d'une suspension. Ce bilan est fonction de la distance entre les algues montre que lorsque deux algues sont éloignées elles n'exercent pas d'interaction l'une sur l'autre. Lorsque ces algues se rapprochent, elles rencontrent une région dans laquelle les forces électrostatiques de répulsion sont prédominantes sur les forces attractives de Van der Waals. La résultante est une répulsion mutuelle des algues qui explique la stabilité des suspensions.

Si cette force de répulsion est vaincue et cette zone franchie (quelle que soit la manière), les algues rencontrent alors une zone où les forces d'attraction sont prédominantes sur les forces répulsives, elles rentrent alors en contact.

La déstabilisation des suspensions algales par coagulation-floculation peut être la résultante d'un ou plusieurs mécanismes [67].

- La compression de la double couche électrique
- L'adsorption et neutralisation de charge
- L'adsorption et pontage et/ou le piégeage dans un précipité que l'on baptise

II.13.1. Compression de la double-couche électrique

L'agglomération des particules peut être favorisée soit par la diminution du potentiel de répulsion entre les particules (augmentation de la force ionique), soit par l'augmentation de l'énergie cinétique.

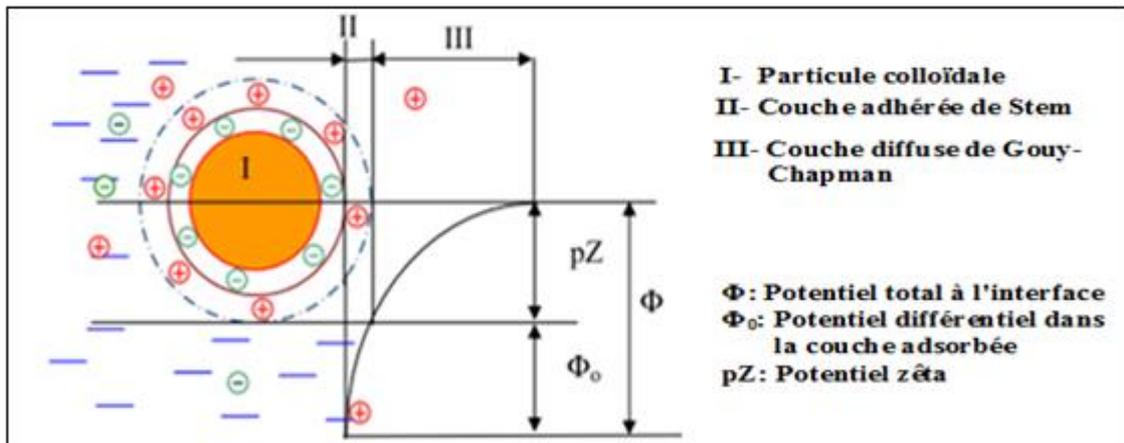


Figure II.6: Potentiel électrique de particules colloïdales [72].

La force ionique est représentée par l'équation suivante :

$$\mu = 1/2 \sum_{i=1}^n C_i Z_i^2 \quad (01)$$

où:

μ = force ionique de l'eau

C_i = concentration de l'ion i (mol/L)

Z_i = valence de l'ion i

La théorie de la double couche n'explique pas le phénomène de déstabilisation des particules lorsqu'on augmente la quantité de coagulant, plus la force ionique de la solution augmente, plus, le potentiel Zêta des microalgues diminue en valeur absolue du fait du rétrécissement de l'épaisseur de la couche non-liée. Cette diminution entraîne une réduction des forces électrostatiques de répulsion. Cette dernière peut mener à la disparition de la barrière énergétique présente initialement et engendrer l'agglomération des microalgues grâce aux forces de Van Der Waals devenues prédominantes.

Partie Expérimentale

Chapitre III

L'eau produite de pétrole (EPP)

comme milieu de

Croissance de *Chlorella pyrenoidosa*

Chapitre III

L'eau produite de pétrole (EPP) comme milieu de Croissance de *Chlorella pyrenoidosa*

Introduction

L'eau produite de pétrole (EPP) contient un mélange de composés chimiques organiques et inorganiques et une grande quantité de sous-produits engendrés lors des opérations de récupération de pétrole et de gaz. La plupart des champs pétroliers sont situés dans des régions avec un niveau de stress hydrique élevé ; pour cela le traitement de l'eau usée issue des secteurs pétroliers est une préoccupation potentielle afin de gérer de meilleure manière les approvisionnements en eau.

La gestion des eaux usées est devenue un problème commercial majeur pour les industries du pétrole et du gaz en raison des législations rigoureuses. Le traitement de l'EPP est considéré comme crucial pour la faisabilité du développement du champ pétrolier et gazier.

Les eaux usées de l'industrie pétrolière, généralement hautement polluantes, sont issues du processus de récupération des hydrocarbures et générées avec du pétrole brut en grande quantité. Par exemple, la production actuelle de pétrole en Algérie est de 1,5 million de barils par jour, génère plus de 5 millions de barils d'EPP, par contre à titre d'exemple, la production pétrolière iranienne accompagnée de plus de 6 millions de barils d'EPP pour une production de pétrole plus grande. Aux États-Unis la production d'EPP dépasse 18 milliards de barils par an [73]. Les données disponibles les plus récentes pour l'EPP ont montré que les États-Unis ont extrait 3 367 453 million de litres (ML) d'EPP avec du pétrole et du gaz en 2012 [3]. 800 ML d'EPP sont extraits par jour, dans le plus grand champ d'Oman [2].

Plusieurs processus de traitement des EPP ont été développés tels que la filtration sur membrane, la flottation de gaz, l'adsorption, l'oxydation chimique [74]. Quelques études seulement ont rapporté l'utilisation de l'EPP pour la culture des algues (Talebi et al. 2016) [73]. Winckelmann et collaborateurs en 2015 [2] ont cultivé la souche *Dunalliella sp* dans les EPP d'un puits de pétrole brut dans le sud-ouest de l'Iran et ils ont constaté que le milieu de culture améliore la production de la biomasse et des lipides.

Madadi et al. (2016) [75] ont montré la possibilité de cultiver *Scenedesmus sp* en bassin ouvert dans une région aride en utilisant les eaux usées prétraitées comme milieu de croissance à Oman. L'efficacité d'une combinaison de tensioactifs et de *Chlorella vulgaire* pour le prétraitement d'EPP a été également rapportée [3].

L'utilisation de l'EPP pour la culture des microalgues est réalisable, avec une possibilité considérable d'élimination des éléments nutritifs et de la production de biomasse. Zheng et Ke (2017) [76] ont étudié l'efficacité de l'élimination des nutriments à partir du champ pétrolier en utilisant un consortium bactérien et *Scenedesmus obliquus* dans un réacteur à lit fluidisé.

Généralement les études consacrées à la culture des micros algues en utilisant différents types d'eaux usées ont été effectuées dans des conditions et paramètres relativement contrôlés (lumière, température, apport en CO₂ et agitation). Cependant, peu d'études ont été effectuées dans des conditions extérieures (systèmes ouverts), où la variation de la température et la fluctuation de l'intensité du rayonnement solaire influencent de manière significative la division cellulaire et la performance de l'apport en éléments nutritifs.

Le présent chapitre a pour objet de présenter les modes opératoires et les principaux résultats obtenus concernant la culture d'une souche d'algue connue sous le nom *C.pyrenoidosa* en utilisant l'EPP comme milieu de propagation, tout en mettant l'accent sur l'efficacité de l'élimination des nutriments et les métaux lourds ainsi que la production de la biomasse algale. L'efficacité de traitement à base de microalgal a été mise en évidence par une comparaison avec les procédés à base de charbon actif utilisé actuellement au niveau industriel.

III.1. Présentation climatique

Les paramètres climatiques ont été recueillis de l'Office National de la Météorologie d'Ouargla (ONM).

L'analyse des données climatiques d'Ouargla permet de tirer les conclusions suivantes : la région d'Ouargla (région aride) est caractérisée par un climat de type saharien avec des températures élevées, une faible pluviométrie et une forte évaporation.

Tableau III.1: Données climatiques de la ville d'Ouargla (1998- 2017), (ONM).

	Température moyenne (°C)	Vitesse du vent (m/s)	Évaporation (mm)	Insolation (H/mois)	Précipitation (mm)
Janvier	11,54	3,17	96,17	245,35	12,56
Février	14,40	3,46	126,65	236,21	4,08
Mars	18,00	4,00	198,07	274,73	7,73
Avril	23,59	4,69	262,06	282,55	2,25
Mai	28,75	4,91	316,90	288,04	3,83
Juin	32,60	4,61	404,00	286,2	1,42
Juillet	34,20	4,45	451,28	332,56	2,8
Aout	35,04	3,99	416,95	327,20	3,57
Septembre	30,59	3,83	300,72	259,76	5,62
Octobre	28,97	3,28	218,22	260,44	8,33
Novembre	17,10	2,83	131,18	245,42	9,5
Décembre	12,65	2,72	106,58	208,57	4,25

III.1.1. La température

La température moyenne annuelle est de 23,5 °C, avec un maximum de 35,04 °C au mois d'Août et un minimum de 11,54 °C au mois de janvier.

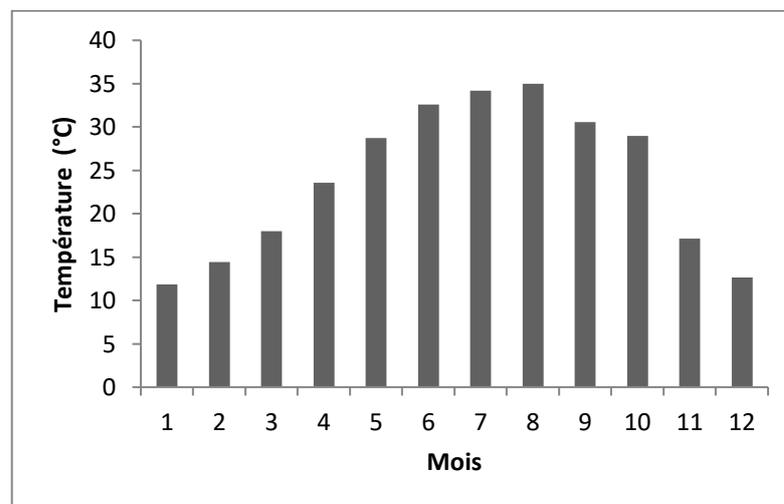


Figure III.1: Répartition moyenne mensuelle de la température.

III.1.2. Les vents

Les vents dominants sont les vents N/NE et S/SE. Le siroco se manifeste principalement pendant le printemps. La vitesse du vent atteint un maximum de 4,91 m/s au mois de mai et un minimum de 2,72 m/s au mois de décembre.

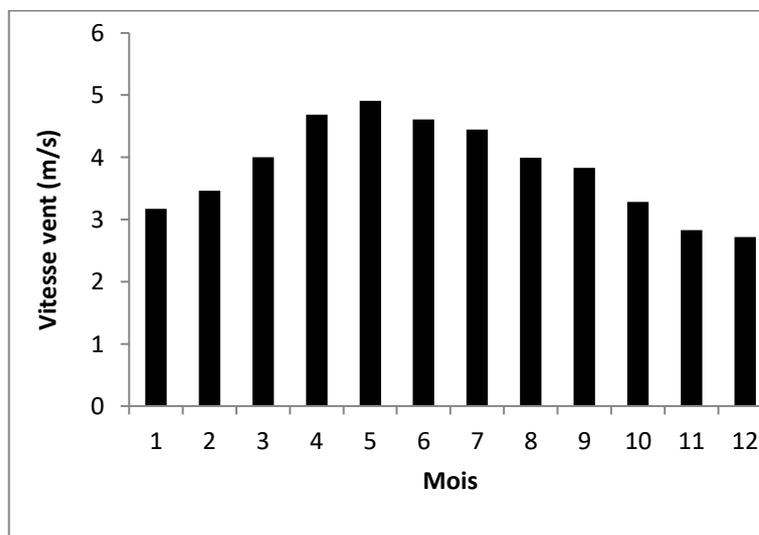


Figure III.2: Répartition moyenne mensuelle de la vitesse de vents.

III.1.3. L'insolation

Dans la région d'Ouargla, le rayonnement solaire est excessif durant l'année. La répartition des moyennes mensuelles d'insolation nous permet de constater que la brillance du soleil est maximale au cours du mois de juillet de 332,51 (heures/mois) avec une moyenne de 352,29 (heures/mois) heures, le phénomène est régulier passant d'un minimum en décembre (208,57 heures/mois).

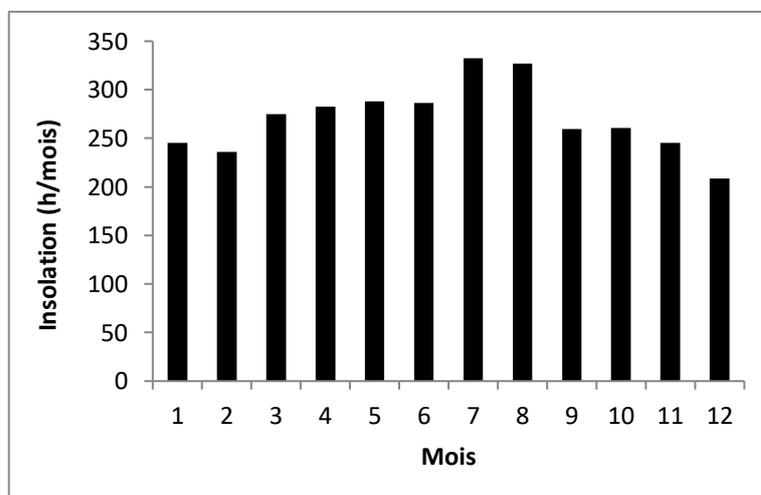


Figure III.3: Répartition moyenne mensuelle de l'insolation.

III.1.4. L'évaporation

Notre région d'étude est caractérisée par une évaporation très importante, L'évaporation moyenne annuelle est de 273,72 mm avec 451,26 mm au mois de juillet et 96,19 mm au mois de janvier.

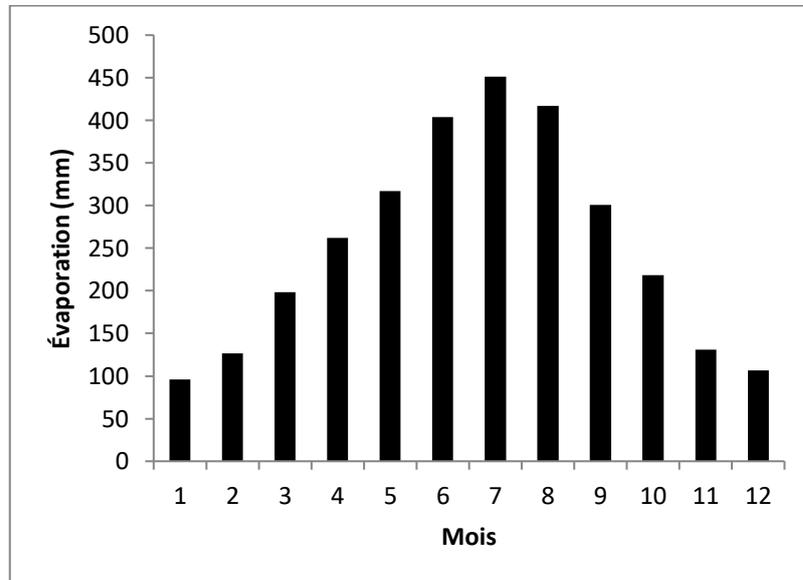


Figure III.4: Répartition moyenne mensuelle de l'Évaporation.

III.1.5. Précipitation

Les précipitations sont rares et irrégulières. Elles sont de l'ordre de 65,87 mm/an et surviennent généralement de septembre à novembre courant janvier et mars.

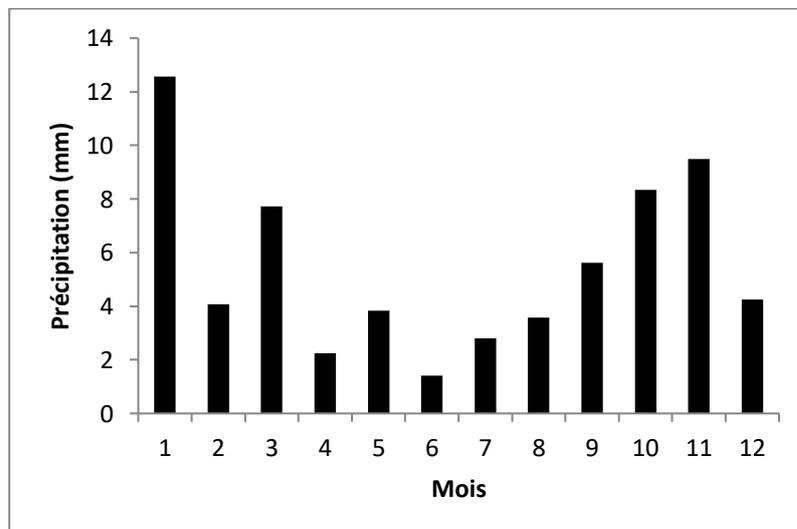


Figure III.5: Répartition moyenne mensuelle de la précipitation.

III.2. Présentation de la région d'étude

L'étude a été réalisée dans la région d'Ouargla, qui est située au Sud- Est de l'Algérie, à une distance de 850 km de la capitale Alger.

Elle couvre une superficie de 163,233 km². Les coordonnées géographiques de cette région susud-est sont :

- Longitude : Est, 5° 19' -1"
- Latitude Nord : 31° 57' -1"
- Altitude moyenne : 134 m.

la région d'étude est limitée au nord par les wilayas de Djelfa, Biskra et d'El-Oued, à l'est par la Tunisie, au sud par les wilayas de Tamanrasset et d'Illizi et à l'ouest par la wilaya de Ghardaïa [77]. À Ouargla, comme dans la plupart des oasis du Sahara, les seules ressources hydriques disponibles sont d'origine souterraine.

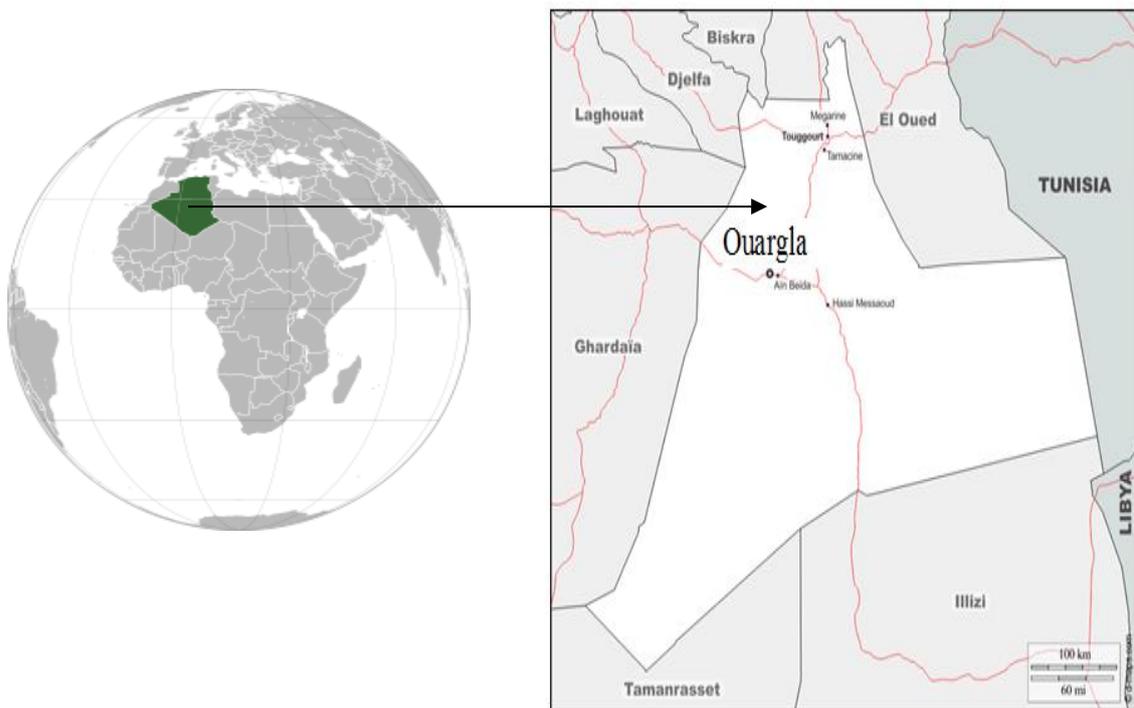


Figure III.6: Carte géographique de la région d'Ouargla

III.2.1. Présentation de la Zone d'échantillonnage

Les échantillons des EPP sont récupérés du champ pétrolier, Bir Seba, Ouargla. Ce champ assure une production initiale de 20.000 barils/j, avant de passer à 40.000 barils/j à l'horizon 2019. Ses réserves sont de l'ordre de 758 millions de barils, et génère 50.000 barils/jour d'EPP.

III.3. Matériels et méthodes

La partie expérimentale de ce travail et les analyses physico-chimiques ont été réalisées au niveau du laboratoire dynamique Interaction et Réactivité des Systèmes (DIRS), Université kasdi Merbah d'Ouargla et au laboratoire Eau-Environnement (LEE), Université Hassiba ben-boulai de Chlef.

- ✓ La température (°C) et l'intensité de la lumière (W/m^2) ont été mesurées par un solaromètre (SL200, instrument KIMO, France). L'Oxygène dissous (OD), le pH et la conductivité ont été mesurés à l'aide d'analyseurs multiparamétriques (Consort C3020, Belgique).
- ✓ La croissance microorganique a été évaluée par mesure de la densité optique à 680 nm (DO 680 nm) en utilisant la spectrophotométrie UV/vis (Spectrophotomètre UV 2300). Cependant, la densité optique (DO) à 680 nm liée aux matières en suspension (MS) présente dans les eaux usées a été soustraite de la DO 680 nm total (avec de la biomasse), la concentration de MS dans les eaux usées est considéré constante avec le temps.
- ✓ La concentration finale en biomasse des algues a été calculée en soustrayant la matière en suspension totale (MST) des eaux usées, mesurées avant l'inoculation des solides de suspension volatile totale (TVSS) des eaux usées avec des algues mesurées à la pondent de la culture selon la méthode standard.
- ✓ La demande chimique en oxygène (DCO) a été déterminée avec des kits de tests LCK 514 (100-2000 mg DCO/L), selon la norme DIN 38049-4.
- ✓ Azote total (Nt), azote ammoniacal ($N-NH_4^+$), azote nitreux ($N-NO_2^-$) et azote nitrique ($N-NO_3^-$) (mg/L) : Les différentes formes de l'azote sont dosées directement par les méthodes normalisées (NF EN 25663 – ISO 5663), (NF T90 – 015), (NF EN 26 – 777), (NF T90 – 045) respectivement (O. I. Eau, 2005). Ils sont mesurés selon la méthode de test en tubes N5/25 (WTW) et à l'aide d'un Spectrophotomètre de type WTW Photolab spectral, nécessitant des réactifs propres à chacun d'entre eux .
- ✓ Le phosphore total (P_t) a été mesuré selon les normes ISO 6878-1-1986, DIN 38405 D11-4. Hach Lange test kit LCK 349 gammes de $P-PO_4$ (2-20 mg TP/L
- ✓ Pour l'analyse de DCO, tous les échantillons ont été chauffés pendant 2 h à 148 °C avant d'être lus sur le spectrophotomètre.
- ✓ Pour l'analyse de phosphore total, les échantillons ont été chauffés pendant 60 minutes à 100 °C dans un thermostat à haute température (HT 200S, Allemagne).

- ✓ Les teneurs en métaux lourds ont été déterminées à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique (AAS) dont le principe de fonctionnement est cité en l'annexe.

III.4. Paramètre à mesurer tout les 24 h

Au cours, de notre étude nous avons suivi l'évolution d'un certain nombre de paramètres, toutes les 24 heures :

- ✓ Suivi du pH et de la conductivité
- ✓ Suivi de la concentration en oxygène dissous (OD)
- ✓ La concentration en biomasse par la mesure de la densité optique (DO) est à l'aide d'un spectrophotomètre (absorbance à 680 nm).

III.5. Présentation de la souche utilisée (*Chlorella pyrenoidosa*)

La souche *Chlorella pyrenoidosa* utilisée dans cette étude est une microalgue verte unicellulaire d'eau douce, qui se reproduit à taux rapide. Une seule cellule de *Chlorella* peut se diviser en quatre cellules toutes les 16-20 h. *Chlorella* contient des protéines de chlorophylle, de fibres diététiques et de grandes quantités de minéraux et de vitamines [78].



Figure III.7: Image de *Chlorella pyrenoidosa* IMG X100

La souche se présente avec une forme sphérique, ellipsoïdale, ou aplatie de 2 à 6 micromètres de diamètre, le noyau essentiellement simple, parfois double, de taille variable, composée uniquement de chromatine. La reproduction est basée sur la croissance cellulaire par divisions successives en deux, les produits de la division deviennent libres par rupture de la paroi cellulaire de la cellule mère [79].

La paroi cellulaire est lisse et contient une glucosamine (chitosane). Elle ne présente qu'un seul noyau et un seul chloroplaste, généralement situés sur les bords de la cellule.

Le nom de l'espèce *pyrenoidosa* se réfère à la présence d'un pyrénioïde visible et unique dans le chloroplaste *Chlorella* [79]. Ces dernières ont démontré des caractéristiques intéressantes pour le traitement des eaux usées contaminées.

III.5.1. Taxonomie de genre *Chlorella*

III.5.1.1. Classification scientifique [79].

La classification scientifique de l'espèce utilisée se présente comme suit :

Domaine : Eucaryotes
Règne : Plantae
Sous-Regne : Viridiplantae
Embranchement : Chlorophyta
Sous-embranchement : Chlorophytine
Classe : Trebouxiophyceae
Ordre : Chlorellales
Famille : Chlorellaceae
Genre : *Chlorella*.

III.6. Pré-culture de *Chlorella pyrenoidosa* dans le système fermie (Bioréacteur)

Les cultures ont été effectuées en laboratoire. Toutes les inoculations ont été effectuées dans des conditions stériles : 6 mL ($7,6 \times 10^6$ cellules/mL) de *C.pyrenoidosa* ont été inoculés dans 500 mL du milieu BG11[80].

Une fois qu'une densité suffisante a été atteinte et afin de déterminer le meilleur rapport de dilution des eaux usées (EPP) la culture est transférée dans des flacons de 1,0 L dans un milieu de culture (BG11 additionné d'EPP) à raison de (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%).

La densité cellulaire a été mesurée initialement et après 14 jours,

La cinétique de croissance a été étudiée pour déterminer le meilleur rapport de dilution,

La composition du milieu BG11 consiste en (g/L) :

NaNO₃ (1,5),
K₂HPO₄ (0,04),
MgSO₄, 7H₂O (0,075),
CaCl₂, H₂O (0,036),
Na₂CO₃ (0,02),
Acide citrique (0,006),
EDTA (0,001).

Une solution de 1 mL d'oligo-éléments ayant la composition suivante (g/L) :

- H₃BO₃ (2,86),
- MnCl₂·4H₂O (1,81),
- ZnSO₄·7H₂O (0,222),
- NaMoO₄·2H₂O (0,39),
- CuSO₄·5H₂O (0,079),
- Co (NO₃)₂·6H₂O (0,0494).

Le pH de la solution se situait entre 7 et 7,5 et le mélange a été réalisé par injection continue de l'air. Toutes les cultures ont été placées dans une chambre de culture où la température était maintenue à 22 ± 1°C.

La lumière est fournie par des tubes fluorescents bleus et rouges (LED) (intensité incidente de 150 à 200 µm de photons m⁻² s⁻¹) sous un régime de 24 heures /24 heures.

III.6.1. Culture dans le système Ouvert (Raceway)

Les expériences de culture des microalgues ont été menées en plein air en hiver en utilisant la lumière du soleil comme sources de lumière. Les températures variaient entre 16-31°C pendant la journée et 3-10 °C pendant la nuit. La durée de l'insolation pendant cette saison était d'environ 10 h par jour (7 h 30 à 17 h 30), l'irradiante maximale était environ 1036 W/m².

III.6.1.2. Traitement d'eau produite de pétrole par *Chlorella pyrenoidosa* acclimatée

Le système ouvert est constitué d'un bassin de forme rectangulaire, type « raceway » (Figure III.8) de dimensions : 90 cm de long, 45 cm de largeur et 20 cm de profondeur. *Chlorella pyrenoidosa* acclimatée (à 10% (v/v)) a été inoculé à raison de 30 %, du volume de travail de 25 litres d'EPP.



Figure III.8: Configuration expérimentale

Le système était placé à l'extérieur près des champs de pétrole et les expériences ont été menées pendant 21 jours.

Le mélange et la recirculation du milieu ont été obtenus par un système d'agitation de la roue à aubes. L'agitation du milieu est nécessaire pour de multiples raisons [54] :

- ✓ Permettant une meilleure captation de l'énergie solaire.
- ✓ Elle évite l'agrégation des cellules et leur dépôt au fond du bassin.
- ✓ L'agitation permet de faciliter l'addition des nutriments et du CO₂.
- ✓ Améliore la productivité de microalgues,

III.7. Résultats et discussion

III.7.1. Effet de l'EPP sur la croissance des algues

L'impact de l'EPP sur les paramètres de croissance et la production de biomasse a été étudié avec les différents rapports du (milieu BG11 additionné EPP) à raison de (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%) dans une culture intérieure (échelle laboratoire) pour préparer une pré-culture pour l'inoculation en plein air. Le changement adaptatif de la culture a été étudié pendant 14 jours en mesurant la densité optique.

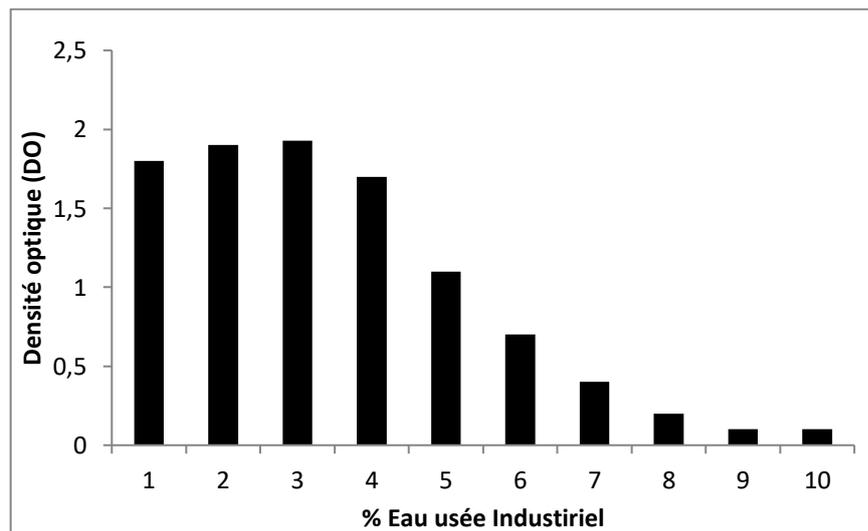


Figure III.9: La variation de DO en fonction de rapport EPP/BG11

Les résultats obtenus ont montré que les algues cultivées dans 30 % de (EPP) ont atteint une valeur élevée de DO ce qui correspond à un meilleur rapport de dilution pour la croissance optimale. (Madadi et al 2016) [75], ont étudié la croissance de *Chlorella vulgaris* dans les eaux usées pétrochimiques brutes, ainsi que dans les eaux usées diluées à raison de 25%, 50% et 75%

dilués. Les résultats obtenus (Figure III.9) ont révélé que la cinétique de croissance représentée par la densité cellulaire était significativement influencée par l'inclusion de l'EPP.

III.7.2. Mesure de croissance de *Chlorella pyrenoidosa* dans le système ouvert

La culture a été échantillonnée quotidiennement pendant 21 jours, la densité optique (l'absorbance) pendant la période de culture a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre. Les résultats obtenus ont montré qu'il y avait une augmentation du nombre de cellules au cours de la période de culture.

Comme le montre la figure III.10, il a été mis en évidence que la croissance cellulaire passait par quatre phases.

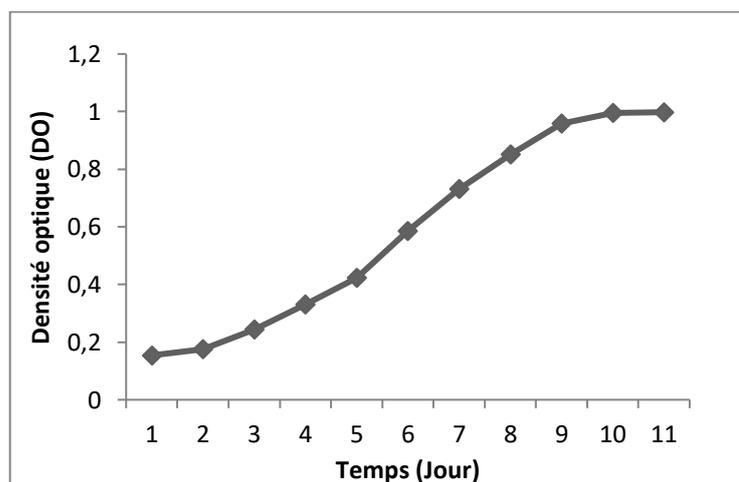


Figure III.10: Variation de la densité optique pendant la période de culture

III.7.2.1. Phase de latence

La phase de latence a duré de 1 à 3 jours et le schéma de croissance a montré une augmentation graduelle du nombre de cellules jusqu'au 2^{ème} jour. La cellule a besoin d'un temps d'adaptation aux nouvelles conditions de culture qui lui est appliquée et la croissance est très faible durant cette phase.

III.7.2.2. Phase d'accélération

Par la suite, l'augmentation était rapide du 3^{ème} au 7^{ème} jour. Les cellules ont accumulé suffisamment de composés intracellulaires et ont doublé leur matériel génétique.

La population commencée à croître. Les cellules se divisent donc en deux cellules filles identiques contenant chacune la moitié du contenu de la cellule mère et qui par la suite se divisera elles-mêmes en deux.

III.7.2.3. Phase exponentielle

Ensuite, du 7^{ème} au 16^{ème} jour la croissance des algues présentait une allure exponentielle. La vitesse de croissance de la culture reste constante et maximale. Les conditions du milieu sont optimales pour la croissance cellulaire.

III.7.2.4. Phase stationnaire

La croissance des algues a été stationnaire du 16^{ème} au 21^{ème} jour. La vitesse de croissance diminue. Cependant tant que les cellules possèdent des produits de stockage leur permettant d'alimenter leur métabolisme, elles survivent [48]. La quantité de cellules qui se reproduisent est égale à la quantité de cellules qui meurent ce qui conduit à une concentration cellulaire constante.

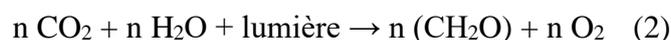
III.7.2.5. Rendement de culture

Après trois semaines de culture, la concentration de la biomasse la plus élevée était de $1,15 \pm 0,07$ g/L. Certaines études ont rapporté que la culture d'algues en plein air dans les eaux usées industrielles, donnait un rendement acceptable. Tan et al en 2016 [73], [81] ont évalué le potentiel de *Dunalliella sp.* Dans le traitement de l'eau produite par le pétrole, une productivité de 2,75 g/L a été obtenue en utilisant un milieu dilué. Par contre Siham et al.[80], ont obtenu une croissance de $1,71 \pm 0,04$ g/L de *C.pyrenoidosa* dans les eaux usées domestiques cultivées en plein air dans la zone aride.

III.7.2.6. La photosynthèse

La conversion photosynthétique de l'énergie solaire en biomasse d'algues dans les cultures extérieures est contrôlée par la disponibilité de la lumière du soleil, la température et la disponibilité des nutriments.

La majorité des champs pétrolifères en Algérie est située dans une zone désertique caractérisée par des niveaux élevés de rayonnement solaire. En l'absence de limitation de nutriments, la photosynthèse augmente avec l'intensité lumineuse. L'équation finale simplifiée de la photosynthèse est donc la suivante :



La photosynthèse permet donc l'utilisation de l'énergie lumineuse pour réduire le CO₂, avec synthèse de glucide et libération d'oxygène.

L'irradiation solaire moyenne pendant la période de culture variait entre $20 \pm 2,3$ et 1036 ± 30 W/m² avec un maximum relevé entre 12 h et 13 h. À partir de l'étude actuelle, on a conclu que la durée optimale de l'éclairage était de 10 heures en hiver et 12 heures en été, ce qui signifiait que la lumière du soleil n'était pas le facteur limitant pendant les expériences de croissance.

Grimaet al. (1997) [45], ont trouvé que l'optimum de croissance est atteint entre 820 et 1620 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$; mais au-delà de cette valeur, l'irradiance devient photoinhibitrice.

La zone désertique se caractérise par une température élevée pendant la saison estivale d'été pouvant atteindre 50°C; cependant, en hiver pendant la période d'expérience, la température maximale a atteint 30°C.

C. pyrenoidosa pourrait survivre dans les conditions de terrain et tolérer une large gamme de température à 15-38°C [82]. (Tan et al 2016) [81] ont montré que la teneur en lipides augmentait d'environ 40% dans *C. pyrenoidosa* lorsqu'elle était cultivée à des températures variant de 30 à 36°C, par rapport à la culture maintenue en dessous de 30°C.

III.7.3. Mesure du pH et de l'Oxygène dissous

Le bassin de culture nécessite une agitation constante, un mélange et une recirculation de la culture. Le système d'agitation fournit une lumière homogène aux microalgues. Le pH et l'Oxygène dissous ont été mesurés tous les jours et les résultats indiquent que le niveau de pH a augmenté du jour au jour.

Tableau III.2: les caractéristiques physicochimique de l'eau produite de pétrole avant et après la culture *C. pyrenoidosa*

Caractéristiques	(EPP) Brute	Traitement des algues
pH	5,19	7,5
Oxygène dissous OD (mg/L)	2	8,5
Conductivité (mS/cm)	24,1	33,4

Le pH initial de l'EPP brute était de 5,19. Les algues attirent le CO₂ du milieu pour l'utiliser pendant la photosynthèse, et l'élimination du CO₂ de l'eau, laisse progressivement augmenter le pH pour atteindre 7,5 à 21 jours, comme le montre la figure (III.11).

Le CO₂ peut se dissocier en HCO₃⁻ et en CO₃²⁻. L'équilibre entre les trois espèces s'écrit :



La consommation de CO₂ par les algues au cours de la photosynthèse se traduit principalement par une augmentation du pH [83]. Le CO₂ réagit en effet avec les carbonates de la manière suivante :

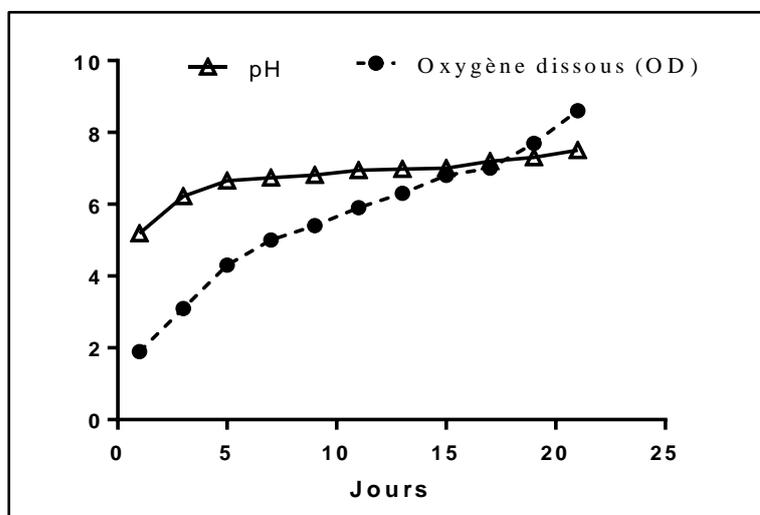


Figure III.11: Variation de pH et Oxygène dessous avec le temps

Ainsi, pour chaque molécule de dioxyde de carbone mobilisée, deux molécules de HCO₃⁻ vont se dissocier et une molécule de CO₃²⁻ sera produite [26]. Cette molécule excédentaire va ensuite s'hydrolyser selon la réaction :



Il se reconstitue une molécule de bicarbonate, mais il y a augmentation du pH. De ce fait, toutes les valeurs du pH enregistrées sont conformes dans l'intervalle des valeurs limites de rejet direct dans le milieu récepteur selon les normes algériennes [10], ainsi que selon la norme internationale [84], et aux normes des eaux usées épurées utilisées à des fins d'irrigation (6,5 < pH < 8,5) [85].

En conséquence les algues émettent de l'O₂ qui induit une augmentation de l'oxygène dissous de 2,25 mg /L à 8,6 mg /L, cette valeur est supérieure à la norme de rejet (5 mg/L) établie par l'OMS en 2004 [86].

Au cours de nos expériences, les teneurs en O₂ dissoutes, enregistrées à la sortie, sont nettement supérieures à celles de l'entrée, ceci est dû à la bonne aération des eaux au niveau du bassin d'aération. Cette opération est nécessaire pour le développement des microorganismes aérobies tout en assurant l'oxydation des matières organiques, ce qui conduit à une bonne épuration biologique des eaux usées.

L'oxygène est présent dans l'eau sous forme dissoute ou gazeuse. À une température et une pression donnée, il existe une quantité maximale d'oxygène sous forme dissoute. La présence de l'oxygène dans l'eau résulte d'une diffusion à partir de l'air au niveau de la surface et le déplacement de l'eau par l'agitation, et surtout de l'activité photosynthétique des algues. La teneur en oxygène du milieu est variable au cours de la journée.

III.7.4. Mesure de la conductivité électrique

La conductivité électrique (EC) est une expression numérique de la capacité d'une solution à conduire le courant électrique. La plupart des sels minéraux en solution sont de bons conducteurs. La mesure de la conductivité constitue une bonne appréciation du degré de minéralisation d'une eau où chaque ion agit par sa concentration et sa conductivité spécifique.

D'après la figure (III.12), nous remarquons que la conductivité électrique des eaux enregistrée varie dans un intervalle qui va d'un minimum de 25.1 ms/cm à un maximum de 38.4 ms/cm. Cette variation entre l'eau brute et l'eau traitée est due au changement de la concentration en sels dissous.

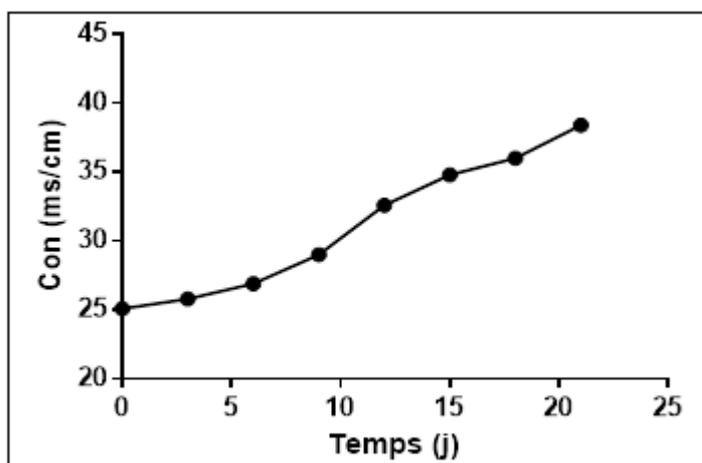


Figure III.12: Variation de la conductivité avec le temps

III.7.5. Elimination des éléments nutritifs de l'eau produite de pétrole

L'EPP contient des sources de nutriment abondantes comme N-NO₃⁻ (24 mg /L) et N-NH₄⁺ (0,88 mg/L) et Phosphore en tant que phosphore total (4,9 mg/L).

Les microalgues ont une capacité à absorber l'azote inorganique (NH₄⁺, NO₃⁻, NO₂⁻) et le phosphore. Le rapport N/P et la concentration initiale en éléments nutritifs sont considérés comme les facteurs importants qui influent sur la croissance des algues et l'efficacité de l'élimination des éléments nutritifs. Le rapport N/P optimal pour la croissance des algues est suggéré dans la gamme de 6,8 à 10.

Dans la présente étude, le rapport N/P de EPP Brute était de 11,42, c'est-à-dire supérieur au ratio optimal, ce qui indique la limitation en P. Les caractéristiques physicochimiques des (EPP) brutes et après la culture des algues sont présentées dans le tableau III.3.

Tableau III.3 : les caractéristiques (éléments nutritifs) de l'eau produite de pétrole avant et après la culture *C. pyrenoidosa*.

Caractéristiques	EPP Brute	Traitement des algues	% d'élimination
DCO(mg/L)	3873	400	89,67%
Nitrogen Total (Nt) (mg/L)	56	24	57,14%
Phosphates Total (P_t) (mg/L)	4,9	1,2	75,51%
NH₄⁺-N (mg/L)	0,88	0	100%
NO₃⁻-N (mg/L)	24	28,79	19,95%
NO₂⁻-N (mg/L)	0,3	0,06	80%
PO₄³⁻ (mg/L)	1,46	0	100%

III.7.5.1. Détermination des pollutions azotées

L'évolution de l'azote au cours du traitement peut avoir un caractère organique ou minéral. L'azote organique est principalement constitué par des composés tels que des protéines, des polypeptides, des acides aminés, de l'urée. Le plus souvent ces produits ne se trouvent qu'à de très faibles concentrations. Quant à l'azote minéral (ammoniaque, nitrate, nitrite), il constitue la majeure partie de l'azote total [8].

III.7.5.1.1. Variation des nitrites (N-NO₂⁻)

D'après les résultats obtenus, au cours de l'étude et reportés sur le tableau (III.4), , on remarque que la teneur en azote nitreux des eaux, brutes et traitées est très faible. La concentration

moyenne de (N-NO₂⁻) d'eau brute est de l'ordre de 0,3 mg/L et la concentration moyenne de (N-NO₂⁻) dans l'eau traitée de l'ordre de 0,06 mg/L.

Nous remarquons que les concentrations en nitrite rejeté sont en dessous des concentrations entrantes, donc il y a une dégradation de nitrite cest à dire une nitrification. Les nitrites proviennent soit d'une oxydation incomplète de l'ammoniaque où la nitrification n'était pas conduite à son terme, soit d'une réduction des nitrates sous l'influence d'une action dénitrifiante à des températures élevées, cette dernière joue un rôle important pour le fonctionnement du système de traitement [87].

Le processus implique une oxydation à N-NO₂⁻, suivi d'une oxydation de N-NO₂⁻ en N-NO₃⁻, qui sera consommée une fois que la concentration de N-NH₄⁺ atteindra zéro.

III.7.5.1.2. Variation des nitrates (N-NO₃⁻)

Les résultats des analyses de l'azote nitrique dans les eaux usées brutes montrent que les teneurs moyennes de (N-NO₃⁻) 24 mg/L, et la teneur moyenne en azote nitrique obtenu pour les eaux traitées et de l'ordre de 28,79mg/L. La concentration de N-NO₃⁻ (mg /L) a augmenté de 24 à 28,79. Les concentrations dans les eaux sortantes est supérieures à celle des eaux entrantes, et cette augmentation indique qu'il y a une nitrification de l'N-NH₄⁺, et que la dénitrification est absente ou bien très faible par rapport la nitrification. Ceci résulte de l'abondance de l'oxygène.

III.7.5.1.3. Variation de l'ammonium (N-NH₄⁺)

La concentration moyenne de l'azote ammoniacal (NH₄⁺) des eaux usées brutes était de l'ordre de 0,88 mg/L et la concentration moyenne de l'eau traitée de l'ordre de 0 mg/L. En conséquence, le taux de réduction de N-NH₄⁺ a atteint environ 100%. Les cellules algales ont pris particulièrement N et P.

Les résultats ont montré l'augmentation du pH et de l'oxygène dissous était liée à une diminution de l'ammoniac.

III.7.5.1.4. Variation d'azote total (N_T)

D'après les résultats obtenus (tableau III.3), on remarque que la teneur moyenne en azote totale (N_T) d'eau brute est de l'ordre de 56 mg/L. Cette valeur très élevée a été enregistrée dans les eaux usées brutes, et la teneur moyenne d'eau traitée et de l'ordre de 24 mg/L. L'efficacité d'élimination totale de l'azote total (N_T) 57,14% atteinte a été de de 56 à 24 mg /L.

III.7.6. Détermination des pollutions phosphorées

Le phosphore des eaux usées, particulaire ou soluble, est essentiellement constitué :

- ✓ De phosphore minéral, dérivé de l'acide phosphorique comme les orthophosphates (PO_4^{3-} , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}) ou condensé comme polyphosphates,
- ✓ et de phosphore organique, élément constitutif de biomolécules comme phospholipides, polynucléotides [88].

III.7.6.1. Variation d'Ortho phosphates (P- PO_4^{3-})

Le tableau (III.4) montre que les concentrations moyennes de la (P- PO_4^{3-}) des eaux brutes était de l'ordre de 1,46 mg/L, et les concentrations moyennes des eaux traitées était de l'ordre de 0 mg/L, ce qui indique que la valeur des concentrations moyennes de la (P- PO_4^{3-}) dans les brutes et traitées est très faible.

Le rendement d'abattement de l'orthophosphate est 100%. En raison de tous les dérivés du phosphore, il constitue un élément essentiel pour la croissance des algues, et par l'accumulation de biomasse d'algues. Les teneurs relevées au cours de notre étude sont inférieures aux normes spécifiques des rejets directs dans les milieux récepteurs selon les normes internationale de rejet (<0,94 mg/L) selon [86].

III.7.6.2. Variation de phosphore total (P_t)

Le phosphore total (P_t) a été considérablement réduit de 4,9 mg /L dans les eaux brutes à 1,2 mg/L avec une efficacité d'élimination de 75,51%. Le principal mécanisme d'élimination du phosphore était l'accumulation de biomasse d'algues et la précipitation du phosphate pourrait avoir une influence mineure ici en raison de la faible valeur du pH.

III.7.7. Variation de la demande chimique en oxygène (DCO)

Le tableau (III.4) montre que les concentrations moyennes de la DCO des eaux brutes était de l'ordre de 3873 mg/L. L'EPP se caractérise par une forte demande chimique en oxygène (DCO) en raison de la présence de composés organiques dû vraisemblablement à l'effet de la quantité des huiles présente.

Concernant l'effluent traité, les valeurs enregistrées de la DCO sont largement inférieures à celle de l'eau brute pour moyenne qui sont de 400 mg/L. La DCO évolue en sens inverse avec l'oxygène dissous, ce qui traduit une probable utilisation de l'oxygène pour la dégradation de la matière carbonée [89].

L'efficacité d'élimination à la fin de la culture était de 89,67%, de nombreuses études ont montré l'efficacité de l'élimination de la DCO chez les algues où la présence de bactéries joue un supplémentaire dans l'élimination L'efficacité d'élimination dans une culture mixte

bactérienne-algues était de 70,8% par rapport aux algues ou bactéries seuls 65,7% et 41,3% respectivement [90].

III.7.8. Élimination et bioaccumulation de métaux lourds

L'élimination des métaux lourds dans les eaux produites de pétrole (EPP) devient un défi majeur en raison de la méthode de traitement coûteuse.

Les algues sont connues pour être des adsorbants environnementaux solides pour les métaux et les métaux nocifs peuvent être absorbés par des voies nutritionnelles. De nombreuses d'algues ont la capacité d'adsorber les métaux et il existe un potentiel considérable pour les utiliser dans les procédés de traitement des eaux usées.

Les microalgues vivantes et non vivantes ont été utilisées pour l'élimination des métaux lourds. La biomasse des algues vivantes nécessite des nutriments minimaux et des conditions environnementales, alors que les algues mortes ne nécessitent pas de nutriments spécifiques ou d'oxygène. Les microalgues ont le potentiel de réduire la contamination des métaux dans les systèmes aquatiques.

Au début, les ions métalliques sont physiquement adsorbés rapidement sur les surfaces des algues ; ensuite, ces ions métalliques se déplacent lentement dans le cytoplasme des algues, ce qui est connu sous le nom de la chimisorption [91].

Le mécanisme de l'accumulation de métaux lourds dans les algues implique deux processus de biosorption et de bioaccumulation.

La biosorption : Est un processus physico-chimique naturel et passif (ne requérant pas d'énergie), rapide où les ions métalliques s'adsorbent sur la surface de la cellule. A court terme et indépendamment du métabolisme l'ion métallique en solution se lie aux poly- électrolytes présents dans les parois cellulaires des algues telles que la cellule algale.

La paroi possède de nombreux groupes fonctionnels, tels que, l'hydroxyle (OH), le phosphoryle (PO_3^{2-}), l'amino (NH_2), le carboxyle (COOH), le sulfhydryle (SH), par des interactions électrostatiques : les forces de Van der Waals, avec un pH croissant, généralement de nombreux sites remplacés par des charges négatives qui augmentent l'attraction des cations.

La bioaccumulation : Un transfert de pollution du milieu de culture vers la cellule. En fait, la cellule possède des mécanismes qui lui permettant d'absorber ou d'adsorber les contaminants et de les accumuler, soit à l'intérieur ou à la surface de la membrane cellulaire [92].

Tableau III.4: les caractéristiques de l'eau produite de pétrole (en métaux lourds) avant et après la culture *C. pyrenoidosa*.

Caractéristiques	Brute (EPP)	Traitement des algues	% d'élimination
Fe ²⁺	4,73	1,10	76,74%
Pb ²⁺	3,648	0,99	72,86%
Cu ²⁺	3,27	0,87	73,39%
Cd ²⁺	0,095	0,049	48,42%

III.7.8.1. Variation de la concentration du Fer (Fe)

Le fer est l'un des éléments les plus importants requis, car il implique des réactions enzymatiques fondamentales telles que la photochimie dans le photosystème II (PSII), la consommation d'azote et la synthèse de la chlorophylle. D'autre part, le fer est indispensable au bon développement des cellules algales.

La concentration moyenne de fer (Fe²⁺) dans les eaux usées brutes était de 4,73 mg/L et cette teneur a été réduite à 1,10 mg/L, pour l'eau traitée ce qui donne un rendement d'abattement de 76,74%. Les teneurs relevées lors de notre étude sont inférieures aux normes, spécifiques algériens, des rejets directs dans les milieux récepteurs (3 mg/L).

III.7.8.2. Variation de la concentration du Plomb (Pb)

Les valeurs de la concentration moyenne des eaux usées brutes en plomb (Pb²⁺) étaient de 3,64 mg/L, et a été réduite à 0,99 mg/L dans les eaux traitées. Le Pb a été réduit de 72,80%. Les valeurs sont inférieures aux normes des rejets directs dans les milieux récepteurs algériens (0,5 mg/L).

III.7.8.3. Variation de la concentration du Cuivre (Cu)

La concentration moyenne des eaux usées brutes de Cuivre (Cu²⁺) est de 3,27 mg/L, et la concentration moyenne des eaux traitées est de 0,87 mg/L. Le rendement d'abattement est de 73,39 % par *C. pyrenoidosa* pendant une longue période de culture. Shi et al. [93] ont montré que la biosorption de Cu par la biomasse de *C. pyrenoidosa* se déroule rapidement au cours des 30 à 40 dernières minutes. Ces valeurs de cuivre sont proches de l'intervalle des valeurs spécifiques des rejets directs dans les milieux récepteurs en Algérie, qui sont de (0,5 mg/L).

III.7.8.4. Variation de la concentration du cadmium (Cd)

Il existe un intérêt certain pour limiter les rejets de cadmium dans le milieu aqueux et atmosphérique et de se préoccuper donc attentivement de l'épandage des boues de traitement

des eaux usées. D'autre part, les traitements habituels des eaux, notamment la précipitation et l'échange d'ions, permettent une élimination importante du cadmium [28].

Au cours de notre étude, les résultats obtenus indiquent des teneurs en Cd^{2+} dans les eaux brutes de 0,095 mg/L et de 0,049 mg/L dans les eaux traitées. L'efficacité d'élimination de Cd^{2+} est donc de 48,42 %. Les teneurs des rejets sont inférieures aux normes des valeurs limites spécifiques des rejets directs dans les milieux récepteurs algériens (0,2 mg/L).

III.7.9. Traitement par les algues et le Carbone activé

Dans un processus de traitement utilisant le carbone activé (CA) comme adsorbant dans une étape de finition, le CA peut facilement se surcharger avec des produits organiques ; ce qui nécessite une régénération alors que la fréquence de l'utilisation de ces substrats, est l'un des principaux coûts opérationnels. Le carbone activé granulaire Filresorb 400 (GAC, Calgon Carbon, IL, États-Unis) a été utilisé comme référence à la performance des traitements à base d'algues.

Les traitements à base d'algues génèrent une biomasse économique qui peut être utilisée pour l'extraction des lipides, le carburant ou l'engrais.

Du tableau (III.5), on constate que le traitement à base d'algues a éliminé 100% du $N-NH_4^+$ alors que le processus avec carbone activé supprimait 92 %. La même tendance peut être observée avec la DCO (*C. pyrenoidosa*, CA) (89,67%, 54,45%) et P_t (75,51%, 2,04%). Les résultats actuels démontrent donc l'efficacité de l'absorption des nutriments des algues.

Tableau III. 5 : Comparaison entre le traitement d'EPP par les algues et par le charbon actif

Caractéristiques	Brute (EPP)	Traitement des algues		Charbon activé	
			%		%
DCO(mg/L)	3873	400	89,67%	1764	54,45%
Nitrogen Total (Nt) (mg/L)	56	24	57,14%	36	37,71%
Phosphates Total (Pt) (mg/L)	4.9	1.2	75,51%	4.8	2,04%
NH_4^+-N (mg/L)	0.88	0	100%	0.07	92,04
Fe^{2+}	4.73	1.10	76,74%	1.39	70,61
Pb^{2+}	3.648	0.99	72,86%	2.936	19,51
Cu^{2+}	3.27	0.87	73,39%	3.06	6,42%
Cd^{2+}	0.095	0.049	48,42%	0.070	26,31%

L'élimination des métaux lourds en utilisant le carbone activé comme adsorbant est conditionnée par la disponibilité et l'accessibilité des sites d'adsorption, le pH et le temps de

contact qui sont des facteurs impératifs qui régissent l'adsorption des ions métalliques. Un taux élevé d'élimination du métal lourd a été noté en utilisant de la *C. pyrenoidosa*.

III.8. Caractérisation

III.8.1. Caractérisation microscopique de la biomasse

La microscopie électronique à balayage (MEB) combinée à la spectrométrie dispersive d'énergie (EDX) a été menée pour élucider la morphologie et les éléments de la biomasse de *C. pyrenoidosa* récolté à travers le traitement à base d'algues d'EPP. Les images de MEB de la biomasse récoltée sont présentées à la figure (III.13).

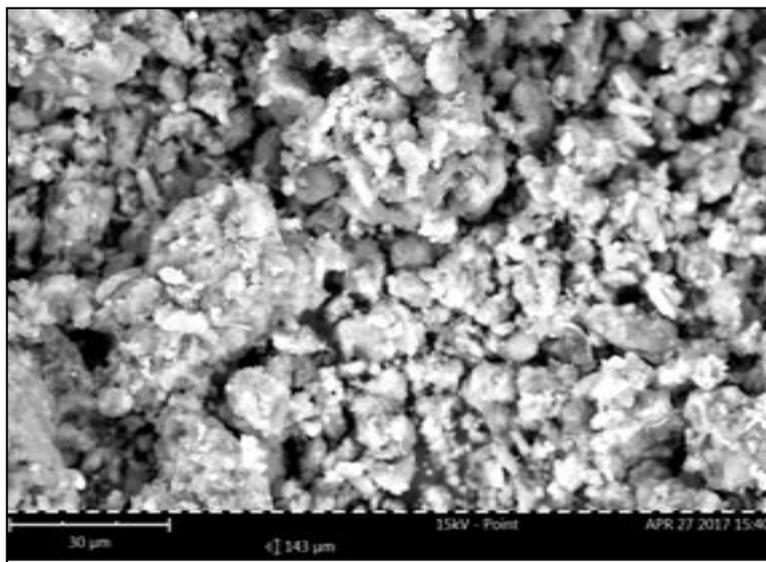


Figure III.13: Les images de MEB de la biomasse *C. pyrenoidosa*

Les microalgues ont une forme variée en raison de l'agglomération due au processus de séchage.

III.8.2. Caractérisation de la biomasse par EDX

Les Résultats de l'analyse EDX, effectuée pour déterminer la composition élémentaire, sont illustrés par la figure (III.14). Le spectre EDX est composé de carbone (47,6%), d'oxygène (21,5%), de chlore (2,7%), de fer (9,9%), de calcium (3,4%), de phosphore (2%), de soufre (1,3) de potassium (1,3%), des atomes de silicium (0,8), de zinc (9%) et d'aluminium (0,6%), respectivement.

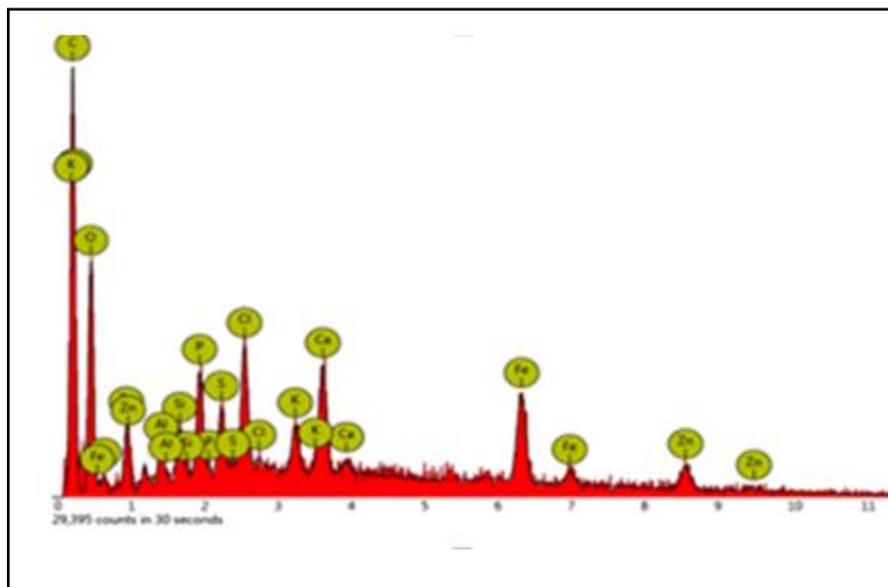


Figure III.14: Le spectre EDX de la biomasse *C. pyrenoidosa*

La présence de carbone et d'oxygène provient des hydrates de carbone, des lipides et des protéines alors que celle du chlore, du zinc et de l'aluminium peut provenir du milieu de croissance (EPP).

III.9. Caractérisation de spectroscopie ATR de *C. pyrenoidosa* cultivée en EPP

Le spectre après le traitement montre une diminution du nombre de pics. Par conséquent, on peut conclure que *C. pyrenoidosa* adsorbe avec succès des composés organiques présents dans l'EPP. Le spectre FTIR de la biomasse *C. pyrenoidosa* cultivée dans EPP et BG11 est illustré à la figure (III.15).

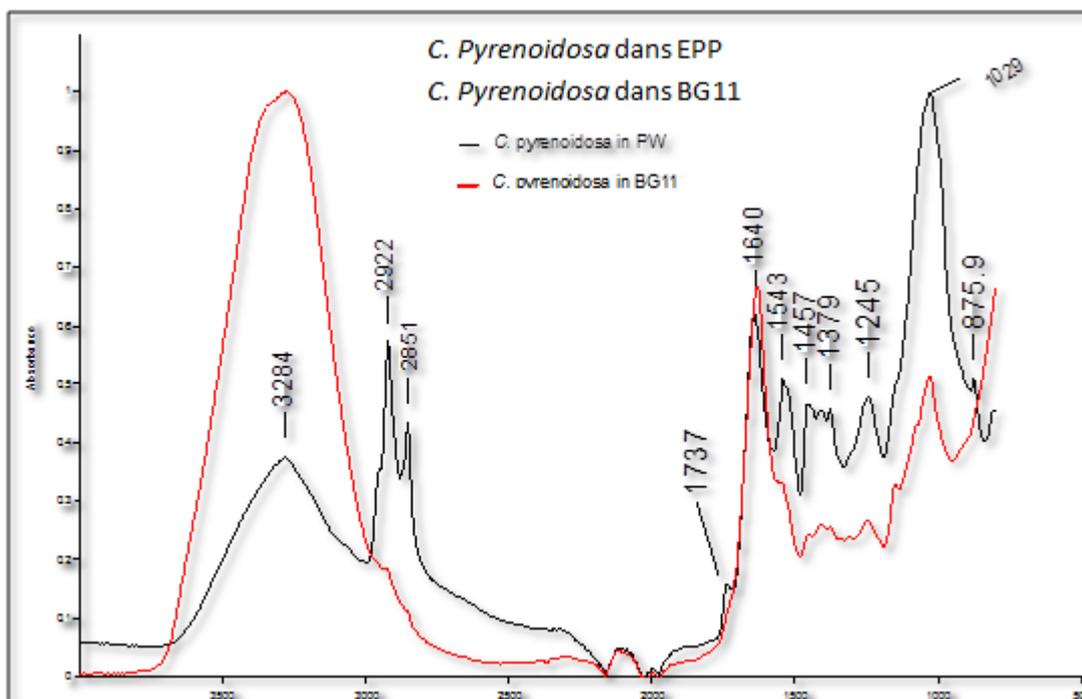


Figure III.15: Le spectre FTIR de la biomasse *C. pyrenoidosa* cultivée dans EPP et BG11.

On observe onze bandes sur le nombre complet de la gamme (400-4000 / cm) où chaque pic est attribué à un groupe fonctionnel [94-96].

La plupart du temps, ces bandes représentent les composants cellulaires tels que les protéines, les lipides et les glucides, un pic à 3284 cm⁻¹ correspond à l'étirement OH du groupe hydroxyle et à l'étirement protéiné ν (NH), 2922 cm⁻¹ attribué au Lipid - glucide essentiellement asymétrique et étirement symétrique ν_{as} (CH₂) et ν_s (CH₂), 2851 cm⁻¹ attributs à l'étirement ν_s (CH₂), ν_s (CH₃) du groupe méthyle et méthylène.

Bande à 1735 cm⁻¹ attribuée aux lipides membranaires, vibration des acides gras d'étirement symétrique ν (C = O) ester de lipides et d'acides gras, 1640 cm⁻¹ protéines amide I principalement bande affectée à symétrique ν (C = O), 1543 cm⁻¹ protéines la bande Amide II est principalement attribuée à un étirement symétrique ν (CH) et une déformation symétrique de δ (NH) 1457 cm⁻¹ ADN (adénine).

Protéine δ_{as} (CH₂) et δ_{as} (CH₃) de flexion du groupe méthyle carboxylique ν (CO) étirement, 1244 cm⁻¹ ν_{sPO} d'acides nucléiques, groupes phosphoryle, protéines phosphoryles, 1379 cm⁻¹ $\delta_{as}CH_3$ et $\delta_{as}CH_2$ de protéines ν_s CO de groupes carboxyliques, 1029 cm⁻¹ gammes d'ondes comprises entre 1020-957 cm⁻¹.

Principalement attribué aux siloxanes étirement symétrique ν (Si-O), élongation de la liaison des silanes Si-OH ν (CO) étirement, ARN-ADN Ribose ν_{as} (P = O), 875 cm⁻¹ la liaison de 866-839 cm⁻¹ affectée au puit de la cellule (polysaccharides) et la déformation asymétrique du groupe silanol δ_{as} (Si-OH). La même bande a observé dans la culture *C. pyrenoidosa* dans BG11 avec moins d'intensité.

Une évaluation plus détaillée des assignations de bande pour les groupes fonctionnels d'algues est donnée dans le tableau III.4.

La teneur relative en lipides a été déterminée en calculant le rapport de la bande de lipides (1737cm⁻¹) à la bande amide I (1640 cm⁻¹) [96], [97],[98].

Le rapport lipide : bande amide était relativement élevée en (EPP) par rapport à BG11 (0.11 à 0.06), ce qui signifie que l'EPP augmente la teneur en lipides.

Tableau III.6: Bandes d'absorption principale IR. de *C. Pyrenoidosa* cultivées en (EPP) et en BG11.

Nombre d'ondes [1/cm]	Attribution des bandes
3283	O-H d'eau, NH amide, CO carbohydrates
2960	CH ₃ groupe méthyle
2922	CH ₂ groupe éthyle
2851	CH ₂ et CH ₃ groupe éthylène et groupe méthyle
1735	CO groupe fonctionnel ester de lipides et d'acides gras
1640	CO d'amide associé à la protéine (amide I)
1543	δ NH d'amide associé à la protéine (amide II)
1457	δ CH ₃ et δ CH ₂ lipides et protéine
1379	Δ CH ₃ et δ CH ₂ protéine vs CO groupes carboxyliques
1244	vs PO des acides nucléiques, des groupes phosphoryle, phosphorylés protéine
1200-900	v polysaccharide / siloxane
1028	v CO carbohydrates

C. pyrenoidosa a également montré qu'il consommait des concentrations élevées de composants organiques dans l'EPP, ce qui a entraîné une production importante de biomasse et de lipides et pourrait atteindre une teneur moyenne en lipides de 37% et une productivité lipidique élevée d'environ 0,4 g L⁻¹j⁻¹ et ce, en utilisant des eaux usées de traitement de soja et sans apport supplémentaire des nutriments [99], [100].

III.9.1. Caractérisation de l'EPP avant et après le traitement des algues

Les groupes chimiques présents dans le (EPP) ont été déterminés par des spectres ATR-FTIR enregistrés entre 400 et 4000 cm⁻¹. La figure (III.16) montre le spectre FTIR d'EPP brute et traitée par *C. pyrenoidosa*. La comparaison du spectre avant et après le traitement, montre une diminution du nombre de pics. Par conséquent, on peut conclure que le processus de traitement a éliminé avec succès la plupart des composés organiques présents dans les eaux usées. La principale bande identifiée dans les spectres EPP brutes est attribués à la présence de traces d'huile qui disparaissent après le traitement.

Les pics à la longueur d'onde 2923 et 2852 cm⁻¹ attribués à l'étirement C-H de la saturation. Toutefois, la bande à 1460 cm⁻¹ et 1377 cm⁻¹ représente la déformation symétrique et asymétrique de la liaison C-H respectivement.

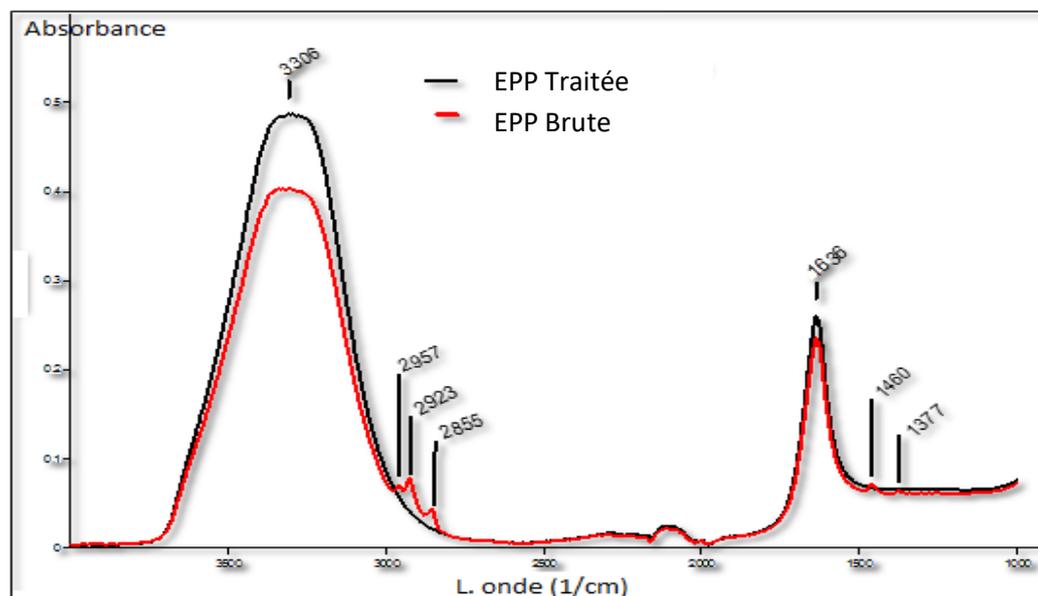


Figure III.16: Le spectre FTIR de l'EPP brute et traitée par *C. pyrenoidosa*

L'absorption à 1643 et 3306 cm^{-1} est due à la vibration du groupe hydroxyle présent dans l'eau. Les mêmes pics ont été observés dans l'eau traitée.

Conclusion

Les eaux usées produites aux champs pétroliers (EPP) qui ont été collectées, ont été utilisées comme milieu de croissance (sans prétraitement) pour la culture en plein air des microalgues *Chlorella pyrenoidosa*. Les expériences ont été menées sous la lumière du soleil naturel dans un système extérieur ouvert situé dans la zone désertique.

L'approche présentée, ici, semble très prometteuse concernant le traitement (EPP) et offre une approche durable pour améliorer la production d'algues.

Les traitements à base de *C. pyrenoidosa* ont montré une efficacité d'élimination élevée pour les éléments nutritifs et les métaux lourds, par rapport au procédé d'adsorption de charbon activé.

Ces résultats pourraient fournir une ligne directrice pour un traitement efficace de l'eau produite à base de microalgues dans les régions arides avec de graves pénuries d'eau douce.

L'utilisation de l'EPP grâce à la culture de microalgues basée sur les ressources disponibles en matière d'insolation terrestre et solaire fournit, par ailleurs, d'autres options d'élimination.

Chapitre IV

**Processus de récolte de la *Chlorella*
*pyrenoidosa***

**Caractérisations de la biomasse et
Synthèse de biodiesel**

Chapitre IV

Processus de récolte de la *Chlorella pyrenoidosa*

Caractérisations de la biomasse et synthèse de biodiesel

Introduction

Les microalgues représentent une source prometteuse de biomasse renouvelable pour la production de biocarburants et de produits chimiques de haute valeur ajoutée. Cependant, des technologies de culture et de récolte efficaces sur le plan énergétique sont nécessaires pour améliorer la viabilité économique.

La récolte de la biomasse microalgale est un défi majeur, car les cellules sont petites et portent une charge de surface négative et leur concentration dans les cultures est relativement faible. Le processus de récolte implique actuellement des méthodes mécaniques, chimiques, biologiques et électriques.

La génération d'une biomasse microalgale à faible coût est actuellement considérée comme irréalisable en raison du coût associé à la culture en général et à la récolte en particulier. Les principaux obstacles comprennent l'apport de nutriments, l'empreinte hydrique, la récolte et l'extraction des lipides en raison de la faible valeur du produit final [101].

L'environnement unique des zones arides et désertiques est l'un des avantages importants pour la culture des microalgues, la disponibilité de ressources en eau saline, les terres inutilisées et l'irradiation solaire abondante [2], [80].

La disponibilité de l'énergie solaire offre une possibilité d'intégration des systèmes photovoltaïque qui permettra d'atteindre un bilan énergétique positif pour la production de la biomasse algale. Le réseau photovoltaïque convertit l'énergie solaire absorbée en énergie électrique nécessaire pour mélanger, thermoréguler, récolter la culture et même sécher la biomasse produite.

Plusieurs études ont montré que dans le cas de la production d'algues dans un système ouvert, les coûts de la récolte peuvent contribuer pour 20 et 30 % aux coûts totaux [45], et dans une autre étude, peut représenter 20 à 60 % des coûts totaux de production de microalgues [102].

(Gao et al, 2009) [103] ont étudié l'élimination des algues par électrocoagulation, flottation (ECF). Sous des conditions optimales, 100 % des cellules d'algues ont été récoltés avec une

consommation d'énergie inférieure à $0,4 \text{ kWh}\cdot\text{m}^{-3}$. La floculation électrolytique s'est révélée efficace à une échelle de laboratoire, un taux d'élimination de 95 % a été rapporté avec une consommation d'énergie de $0,3 \text{ kWh m}^{-3}$ [104].

(Milledge et al, 2013) [105] ont rapporté que l'énergie d'exploitation pour la centrifugation est approximativement quatre fois supérieure à celle de l'énergie disponible dans le biodiesel d'algues et la récolte d'un kg nécessite un MJ d'énergie en utilisant la centrifugation.

Le processus d'électrofloculation (EF) est l'un des processus les plus prometteurs pour la récolte des microalgues, où les flocculants sont produits grâce aux ions métalliques générés à partir d'électrode sacrificielle [101].

Par contre dans le cas d'une électrode non sacrificielle, le processus de flottation est dominant. Lors de l'électrolyse de l'eau des bulles en oxygène (O_2) et hydrogène (H_2) traversent la suspension d'algues et ces dernières ont tendance à se coller aux parois des cellules en les entraînant ensuite vers le haut de la suspension.

L'électrolyse étant une opération énergétiquement coûteuse, l'intégration d'un processus basé sur l'énergie solaire pour générer de l'hydrogène à partir de l'électrolyse de l'eau a été développée et évaluée par plusieurs chercheurs [106], [107]. Yilmaz et al, 2016 [106] ont présenté les méthodes de production d'hydrogène à base d'énergie solaire; ils concluent que la production d'hydrogène à partir de l'énergie solaire est l'une des productions d'hydrogène à base d'énergie renouvelable les plus importantes avec de faibles émissions de gaz à effet de serre ; cependant, ces technologies sont encore coûteuses et peu efficaces.

Dans ce travail, une technique de récupération d'hydrogène comme sous produit d'une EF lors de la récolte des microalgues *C. Pyrenoidosa* est présentée. Le réacteur discontinu a été alimenté directement par un panneau photovoltaïque sans batteries. Des électrodes en aluminium, zinc, cuivre, fer et carbone ont été étudiés et leur efficacité a été évaluée. La récupération de gaz hydrogène comme produit secondaire ainsi que l'extraction de lipides et la synthèse de Biodiesel ont été réalisées dans cette partie. Les rendements en hydrogène expérimental sont comparés à ceux calculés à partir de la théorie. La demande nette en énergie du processus EF a été estimée.

Partie (A) du chapitre IV

Processus de récolte de la *Chlorella pyrenoidosa*.

Caractérisations de la biomasse

IV.1. Matériaux et méthodes

Le panneau photovoltaïque (PV) est composé d'un module photovoltaïque polycristallin d'une puissance (20W). Les tensions et courants ont été mesurés à l'aide de voltmètres numériques (HONTEX A830L). L'intensité du rayonnement solaire a été mesurée à l'aide d'un solémètre (SL200, instrument KIMO) positionné parallèlement à la surface du module.

Pour examiner la composition élémentaire de la biomasse récoltée et estimer le taux de contamination, on a utilisé le microscope électronique à balayage (MEB-Phenom ProX) couplée à l'analyse par spectrométrie de rayons X à dispersion d'énergie (EDX).

IV.2. Processus d'électrofloculation-Flottation (EFF) et L'électrocoagulation-Flottation (ECF)

Les expériences d'électrofloculation ont été effectuées à l'extérieur du laboratoire selon un procédé électrochimique, dans un réacteur discontinu rempli de 600 mL de culture d'algues. La concentration de la biomasse a été mesurée par la méthode gravimétrique et a été trouvée de l'ordre de $2,2 \pm 0,15$ g/L.

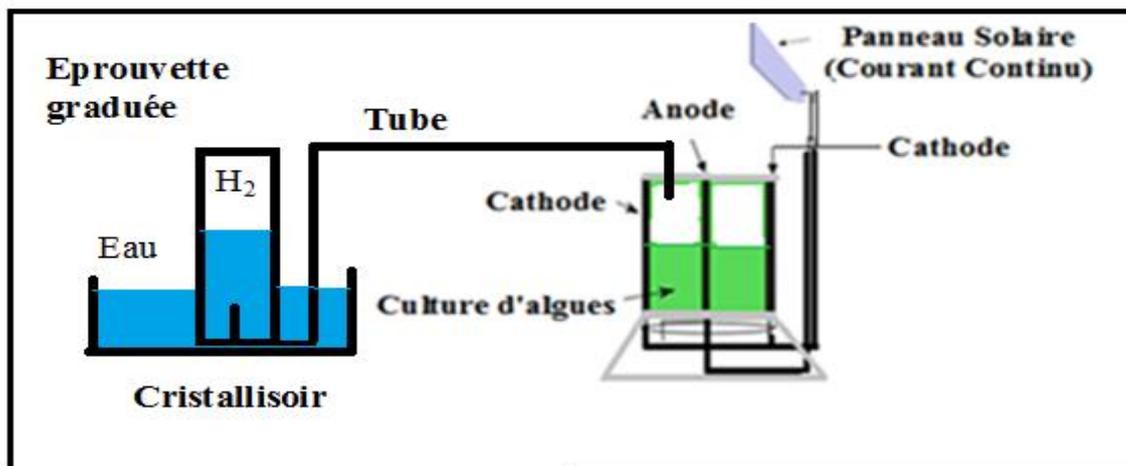


Figure IV.1: Installation expérimentale (une cellule d'électrofloculation Connectée au panneau solaire).

Les électrodes en métaux de dimensions (10 x 2,5 x 0,5 cm) sont disposées verticalement en parallèle dans la suspension d'algues. Deux cathodes séparées par une anode avec 3cm d'intervalle sont placées.

La profondeur d'immersion a entraîné une zone de submersion de 60 cm².

Avant et après chaque utilisation, les électrodes sont nettoyées à l'aide d'un papier abrasif, rincées puis et séchées à l'étuve pendant 2 heures à 100 °C, puis peser. Les électrodes sont connectées directement au panneau solaire photovoltaïque qui produit un courant continu.

L'efficacité de d'électrofloculation-Flottation (EFF) et de l'électrocoagulation-Flottation (ECF) sont déterminés par le prélèvement d'un 1 mL de la suspension chaque 1min à une profondeur de 2 cm au-dessous de la surface. La cellule Malassez a été utilisée pour compter le nombre de cellules. À la fin de processus, la biomasse récoltée est collectée puis séchée à 105°C.

L'étude de la contamination de la biomasse est réalisée à l'aide d'un Microscope électronique à balayage Phenom ProX équipée d'une microanalyse aux rayons X.

IV.3. Comptage de microalgues sur une cellule de Malassez

Le comptage de microalgues peut s'effectuer sur des lames de verre quadrillées baptisées hématimètre, c'est la méthode choisie dans cette étude.



Figure IV.2: Cellule de Malassez

Des lames quadrillées utilisées dans ce projet sont plus précisément nommées cellules de Malassez (figure IV.2 et figure IV.3). Elles sont recouvertes de lamelles permettant d'assurer l'exactitude de la profondeur entre lame et lamelle.

Cette configuration permet de pouvoir remonter à un nombre de microalgues contenu dans un volume connu ou en d'autres termes, à une concentration cellulaire.

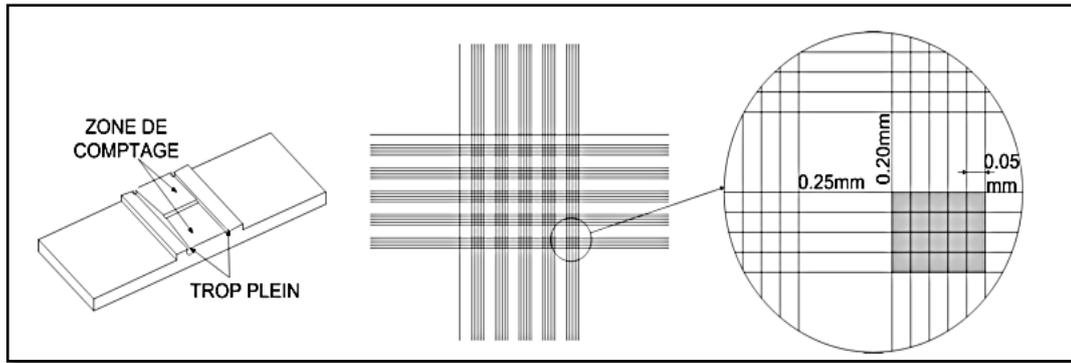


Figure IV.3: Quadrillage de Malassez

L'observation de la lame se fait sous un microscope équipé d'une caméra. Le protocole de comptage manuel sur ces cellules de Malassez est proposé en annexe.

IV.4. Matériaux d'électrodes

Quatre types d'électrodes métalliques "zinc, aluminium, fer, et cuivre", ont été testés. L'électrocoagulation s'appuie sur la libération d'ions métalliques par oxydoréduction lors du passage d'un courant dans des électrodes à base de Fe, Zn, Al ou Cu. La libération des ions métalliques (coagulants) s'effectue à l'anode tandis que de l'hydrogène est libéré à la cathode. Les coagulants déstabilisent la suspension algale et permettent l'agrégation des algues comme dans le cas d'une coagulation chimique.

Lorsque le pH de l'eau est situé dans une plage acide ou neutre, le floc, constitué de molécules de $Al(OH)_3$, $Fe(OH)_3$, $Cu(OH)_2$, $Zn(OH)_2$, possède habituellement une charge positive. Ces derniers neutralisent les charges négatives de surface des algues et servent de site d'adsorption des microalgues [66]. Les demi-réactions dominantes aux anodes et cathodes sont détaillées dans les paragraphes IV.4.1.à IV.4.5.

IV.4.1. Électrodes en Aluminium [103], [108], [109]

Les demi-réactions dominantes aux anodes et aux cathodes sont les suivantes :

A l'anode:

Pour un $pH < 2,9$



Pour $2,9 < pH < 11,6$

$Al(OH)_3$ (s) est stable à partir de pH supérieur à 2,9 et pH inférieur à 11,6.



A la cathode:



IV.4.2. Electrodes en Zinc : [101], [103], [109]

A l'anode:

Pour un pH<5,5



Pour 5,5<pH<13,65



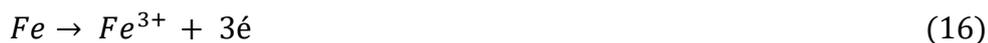
A la cathode:



IV.4.3. Électrodes en fer : [103]

A l'anode :

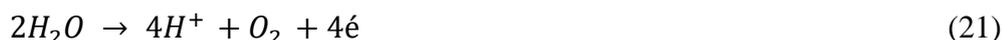
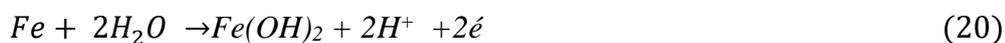
Pour un pH<1,33



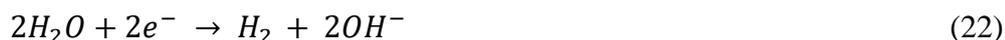
Pour 1,33<pH<6,5



Pour pH > 6,5



A la cathode :



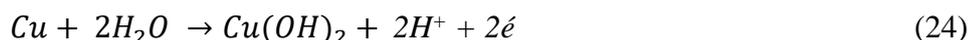
IV.4.4. Electrodes en Cuivre : [103], [109]

A l'anode :

Pour un pH < 3



Pour $\text{pH} > 5$



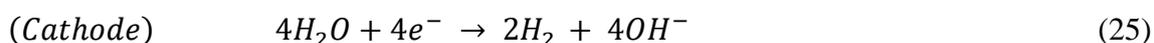
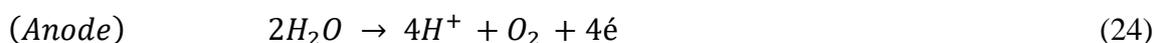
A la cathode



IV.4.5. Electrodes en Carbone

L'électrode en carbone a été utilisée comme une électrode non sacrificielle. L'électrofloculation se base sur le principe du mouvement des particules chargées dans un champ électrique. Elle consiste à faire neutraliser la charge négative de surface des algues, par attraction vers l'anode (+), en contact avec cette dernière, pour faciliter l'agrégation des algues. On ne sacrifie pas l'anode, contrairement à l'électrocoagulation.

La demi-réaction dominante se produit à l'anode et la cathode sont les suivantes :



IV.5. Production d'électricité photovoltaïque

Un panneau solaire photovoltaïque (PV) produit un courant continu (DC). Le panneau était directement connecté aux électrodes, la tension de sortie et le courant varient en fonction de l'heure du jour. L'expérience a été menée dans la ville d'Ouargla (sud-est de l'Algérie), zone aride à haute irradiation solaire. L'expérience a été réalisée pendant la matinée où la tension de sortie était très faible.

IV.6. Estimation théorique

L'efficacité de l'électrofloculation (EF) est calculée selon l'expression suivante :

$$\mu = \frac{(CN_{t_0} - CN_t)}{CN_{t_0}} \times 100 \quad (26)$$

Où : CN_{t_0} et CN_t sont le nombre de cellules initial avant EFF et le nombre de cellules à l'instant t, respectivement.

La quantité théorique et expérimentale d'hydrogène générée pendant le processus d'électrolyse sont données respectivement par :

$$n = \frac{I t}{F Z} \quad (\text{loi de Faraday}) \quad (27)$$

$$n_{\text{exp}} = V_{\text{exp}}/V_M \quad (28)$$

Où :

n: La quantité d'hydrogène libéré (mol),

t: Le temps d'électrolyse (s),

Z: Le nombre de transferts d'électrons

F: La constante de Faraday (96 485 C.mol⁻¹),

I: L'intensité de courant (A).

V_{exp}: Volume de gaz d'hydrogène expérimental

V_M: Volume molaire

La quantité d'électrodes consommée (g/m³) est donner par la formule suivante [129] :

$$m \text{ (g/m}^3\text{)} = (I \times t \times M) / (z \times F \times v) \quad (29)$$

Où : M est la masse molaire (g/mol) et V est le volume des microalgues (m³).

L'énergie du gaz d'Hydrogène a été calculée en utilisant l'équation suivante [129] :

$$E_{H_2} = m. HHV \quad (30)$$

Où : m est la masse de l'hydrogène produit (g) et HHV est la haute valeur calorifique de l'hydrogène (39 kWh / kg) ou (141 kj/g).

La consommation d'énergie électrique est [112] :

$$E_e \text{ (KWh)} = (U \times I \times t) \quad (31)$$

Où : U est la tension (V), t est le temps (h), I est le courant appliqué (A),

L'énergie électrique du processus d'électrofloculation (en kWh / kg de microalgues récupérées), a été calculé comme [112] :

$$E \text{ (kWh / kg)} = UIt / 1000 V\mu C_i \quad (32)$$

Où :

I : Le courant appliqué (A),

t : Le temps (h) du processus de récolte,

V : Le volume de la solution de microalgues traitée (m³),

C_i : La concentration initiale (réelle) de microalgues (kg /m³),

μ : l'efficacité de récupération des microalgues (récolte).

La récupération de l'énergie du système est estimée à l'aide de l'équation suivante :

$$E_{\text{récupéri}} = E - E_{H_2} \quad (33)$$

Où : E est l'énergie électrique du processus d'électrofloculation.

L'efficacité énergétique du système a été calculée en utilisant l'équation suivante [109] :

$$EEF = EH_2 / E_e \quad (34)$$

Où : EH_2 : la teneur en énergie du gaz hydrogène,

E_e : énergie électrique.

IV.7. Résultats et discussion

Les différentes électrodes ont été testées et le rendement en EEF et ECF ainsi que l'efficacité de récupération de l'hydrogène ont été également évalués. Au cours du mois d'avril 2016, l'expérience a été menée au cours des matinées à 8 heures.

La tension de sortie fournie par le (PV) était de 7V et le courant de 0,6 mA. La profondeur d'immersion a entraîné une zone de submersion de 60 cm² ce qui correspond à une densité de courant de 100 mA/m² dans la cellule.

Le processus d'EF a été effectué pendant 5 minutes pour toutes les électrodes.

Tableau IV.1: Rendement énergétique théorique à partir d'hydrogène récolté et les besoins en énergie du processus d'électro floculation.

Nature de l'électrode	VH ₂ (10 ⁶)	EH ₂ (kwh/m ³)	EH ₂ (kwh/kg)	EF%	EH ₂ /E _{in}	Perte de masse(g/m ³)	Consommation d'Énergie (kwh/kg)
Al	20±4.20	0.116	0.0527	95.83±0.87	19.91	17.73±1.18	0.28
C	19±3.22	0.110	0.0500	79.16±0.58	17.13	0	0,34
Cu	10.5±2.70	0.061	0.0277	93.75±0.97	10.35	45.03±0.88	0.32
Zn	11.7±2.60	0.067	0.0304	83.33±0.17	11.35	84.04±1.15	0.28
Fe	16.4±40	0.095	0.0431	70.83±0.36	16.53	44.32±1.78	0.37

VH₂ : Volume d'hydrogène expérimental pendant 5 minutes.

EF (%) : efficacité de l'électro-floculation.

H₂ (%) : le rendement en hydrogène a été calculé comme le rapport entre le volume expérimental et théorique.

L'efficacité énergétique de la récupération de l'hydrogène est calculée comme le rapport entre l'EH₂ récupéré et la consommation d'énergie électrique ($E_{in} = 0,35 \cdot 10^{-3} \text{KWh}$). Les données sont exprimées en moyenne \pm écart-type ($n = 3$).

IV.7.1. L'irradiation solaire (W/m^2)

La figure (IV.4) représente l'irradiation solaire moyenne pendant la période de culture qui variait entre 20 et 1289 W/m^2 avec un maximum enregistré entre 9 h et 16 h.

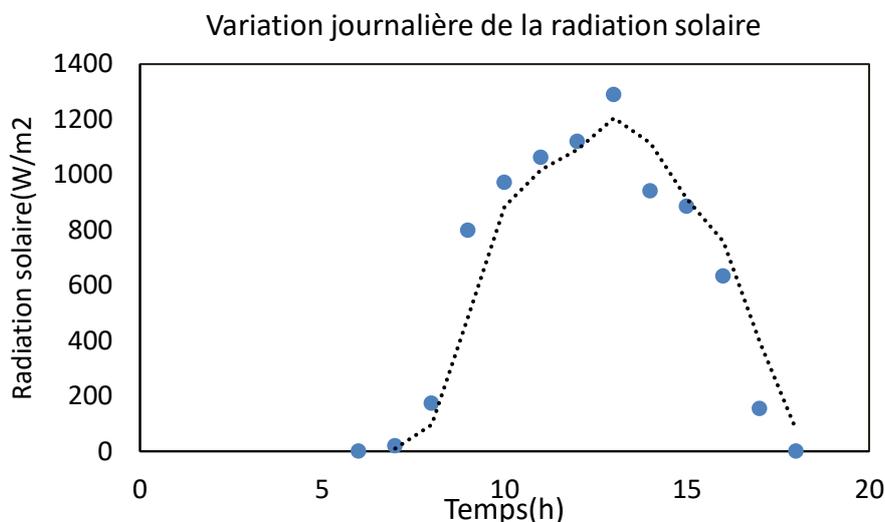


Figure IV.4: Variation de l'irradiation solaire pendant la journée.

IV.7.2. L'efficacité de l'EFF et l'ECF

Les résultats d'EF sont présentés dans la figure (IV.5) pour chaque électrode : l'électrode en Aluminium ($95,83 \pm 0,87$ %), en Zinc ($83,33 \pm 0,17$ %) en Cuivre ($79,16 \pm 0,58$ %), en carbone ($70,83 \pm 0,36$ %), et l'électrode en Fer ($93,75 \pm 0,97$ %).

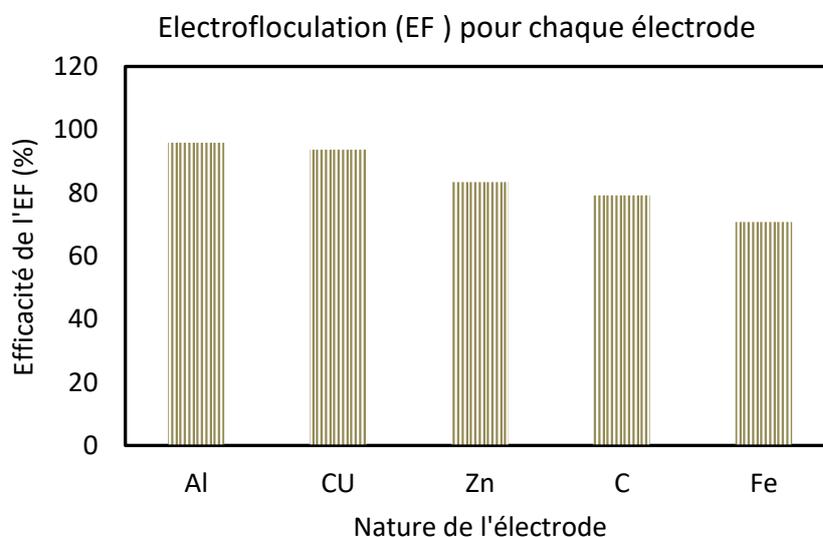


Figure IV.5: Efficacités de l'électroflocculation

Certaines études ont rapporté l'utilisation de l'électrode en zinc et électrode en cuivre pour la récupération d'algues.

(Balabel et al, 2014) [110] ont rapporté que le temps d'incubation nécessaire pour récolter 90 % de la souche *Scenedesmus acuminantes* était de 42 minutes avec une électrode en aluminium et 52 min avec le Zinc et 61 min avec le Cuivre.

Pour *Chlorella vulgaris* (Vandamme et al, 2011) [111] ont rapporté une efficacité de récolte de 95 % après 50 min avec une densité de courant de 15 A.m^{-2} . Cependant, pour *P. tricornutum*, 80 % ont été atteints après 30 min en utilisant une densité de courant de 5 A.m^{-2} .

L'utilisation d'électrode non sacrificielle en carbone a été récemment étudiée pour la récolte de microalgues *S. bliquus* et un rendement de 73% a été obtenu pour un courant de 1,5 A et un temps d'incubation d'environ 1h [112].

Dans la présente étude, la morphologie des microalgues récoltées a été étudiée sous des observations microscopiques optiques. Cette étude a mis en évidence une forme de cellule intacte après le processus de floculation électrochimique, Figure (IV.6).

L'utilisation d'une densité de courant élevée pendant le processus d'électro floculation pourrait endommager les cellules, elle peut influencer négativement aussi sur le contenu en protéine et lipides dans la biomasse algale.

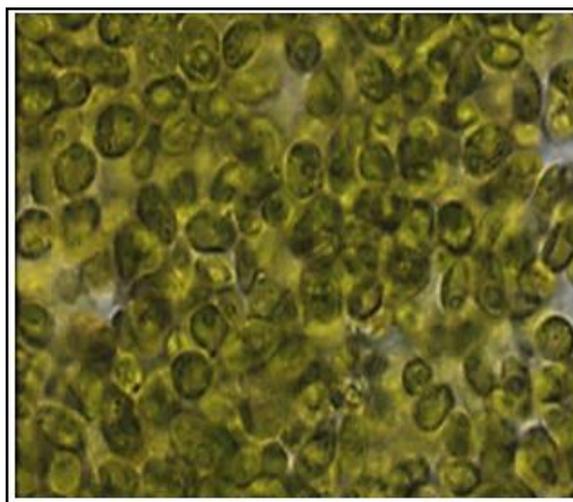


Figure IV.6: forme de cellule après le processus de floculation IMGX100

IV.7.3. Effet de la nature d'électrode sur le rendement de l'électrofloculation

Sous des conditions expérimentales identiques, le rendement le plus élevé a été obtenu avec l'aluminium comparativement à d'autres électrodes. Diverses études réalisées à l'aide d'aluminium et d'électrodes de fer ont démontré l'efficacité de l'aluminium pour le processus

d'électrocoagulation par rapport à d'autres types d'électrodes [68], [113]. Les électrodes de fer se caractérisent par une efficacité inférieure à celles d'aluminium.

Le pH initial de la suspension étant fixé à 7,5. Il est bien connu que la valeur initiale du pH est importante pour le processus ECF. À faible pH, la formation d'hydroxydes à charge positive est privilégiée. Ils interagissent avec les cellules chargées négativement. Cependant, à pH alcalin élevé, la formation de charges négatives et les hydroxydes insolubles sont favorisés.

La déstabilisation des algues est accomplie par des phénomènes de floculation et d'entraînement. Pendant le processus d'électrolyse, la valeur du pH du milieu augmente à 8 en raison de la libération du H₂ et de la formation de (OH⁻). (Spilling et al, 2011) [114] ont montré qu'à un pH élevé (11,3) la *Scenedesmus cf. obliquus* floccule.

Pendant le processus d'ECF avec des électrodes métalliques (Al, Zn, Cu, Fe), trois étapes principales auront lieu :

1. La réaction à la surface de l'électrode se produit tout d'abord
2. La formation de coagulants dans l'eau,
3. Adsorption sur les cellules d'algues.

Les électrodes de fer, aluminium, de cuivre et de zinc génèrent des cations de type Fe³⁺, Al³⁺, Cu²⁺, Zn²⁺ respectivement, qui réagissent spontanément pour produire des hydroxydes ou des polyhydroxydes correspondants tels que Al(OH)₃, Fe(OH)₃. D'autres formes complexes peuvent également exister selon le pH.

IV.7.4. Perte de masse et durée de vie de l'électrode

Une observation visuelle de la solution après l'électrofloculation a révélé un changement de couleur du milieu, avec la formation d'hydroxyde de métal insoluble (Al: blanc laiteux, Fe: marron, Cu: vert bleu, Zn: blanc) : cela indique la formation d'hydroxyde de métal et perte de masse d'électrodes métallique.

Cependant, aucun changement de la solution lors de l'utilisation d'électrode en carbone n'est observé.

Le choix du matériau des électrodes est important pour le processus d'EFF et ECF. Ils doivent être bon marché et efficaces. Pendant les processus, les électrodes métalliques sont dissoutes.

À la fin du processus, toutes les électrodes sacrificielles ont montré une perte de masse.

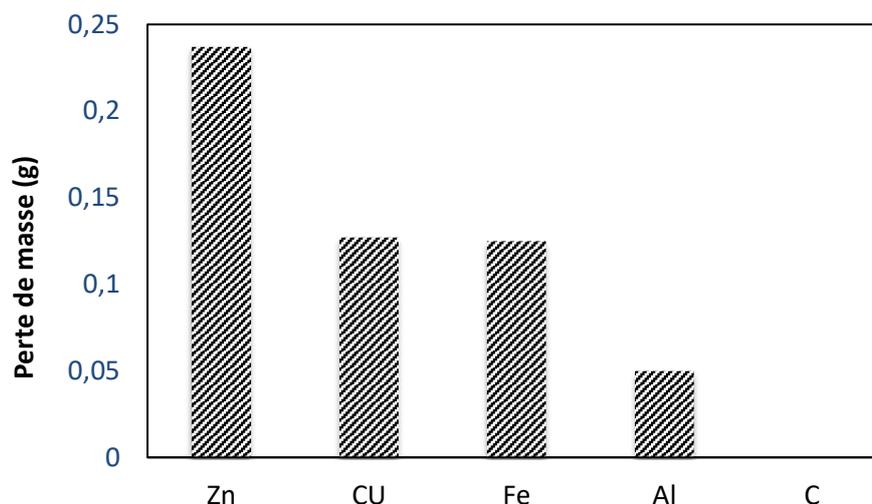


Figure IV.7: Perte de masse des électrodes

L'aluminium a montré la perte de masse la plus basse ($17,73 \pm 1,18$ gm⁻³). La valeur la plus élevée a été enregistrée pour le zinc avec ($48,04 \pm 1,15$ gm⁻³). La perte de masse de cuivre et le fer respectivement ($45,03 \pm 0,88$ gm⁻³) et ($44,32 \pm 1,78$ gm⁻³).

Une corrélation linéaire entre la perte de masse et l'hydrogène produit peut-être vérifiée. La perte de masse et l'accroissement du taux d'hydrogène augmentent la densité de courant et le temps d'incubation.

Pour une application à grande échelle, le coût du matériau est un important problème en termes de choix.

Le prix du cuivre est actuellement de dix fois celui du fer. Le prix du zinc et de l'aluminium est d'environ trente fois celui du fer. Bien que le fer soit le matériau le moins cher, il présente une efficacité d'EF la plus basse avec une perte de masse élevée, les électrodes Zn et Cu sont les plus coûteuses bien qu'elles présentent une EF élevée associé à une importante perte de masse.

IV.7.5. Récupération de l'hydrogène

La quantité d'hydrogène récupérée à partir du procédé (d'EFF et ECF) est illustrée sur la Figure (IV.8).

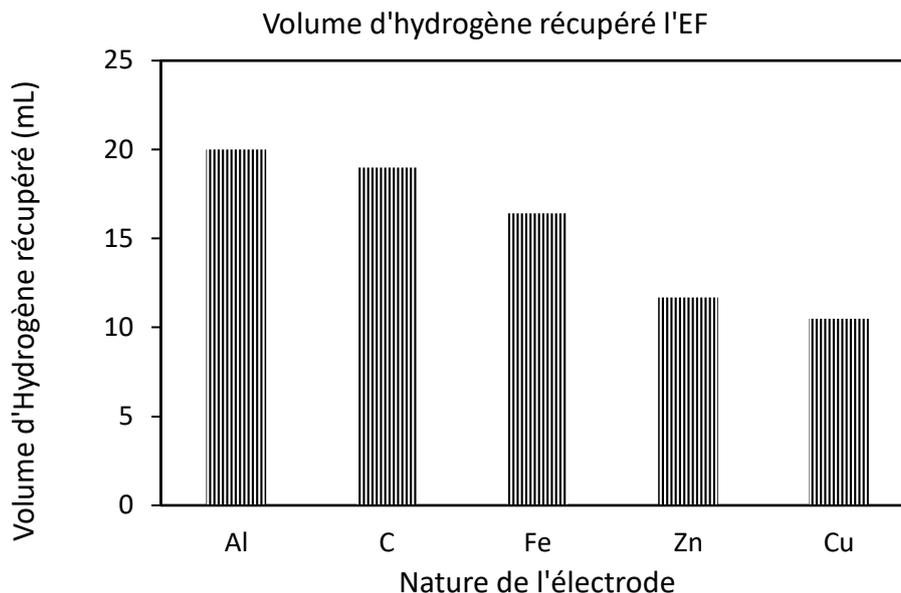


Figure IV.8: Volume d'hydrogène récupéré à partir du procédé EF

Le volume d'hydrogène récupéré à partir des électrodes Al ($20 \pm 4,20$) mL, C ($19 \pm 3,22$) mL, Fe ($16,4 \pm 40$) mL, Zn ($11,7 \pm 2,60$) mL, Cu ($10,5 \pm 2,70$) mL est mesuré comme étant le volume du déplacement du liquide et le rendement en hydrogène a été calculé comme le rapport de la quantité d'hydrogène obtenue lors des expériences et la quantité théorique d'hydrogène prévue par la loi de Faraday. Ces résultats dépendent du temps d'incubation (5 min) et du courant électrique appliqué (0,6 mA).

IV.8. Estimation de l'énergie consommée pour récolter 1kg de la biomasse

L'énergie utilisée pour réaliser le processus d'EF était $0,58 \text{Wh.m}^{-3}$; tandis que l'énergie électrique nécessaire pour récolter un kilogramme de biomasse variait entre 0,28 et 0,37 kWh (tableau IV.1) et a été calculés selon la méthode présentée par Vandamme (Vandamme, 2011) [111].

Les consommations d'énergie augmentent avec la puissance fournie et diminuent avec l'augmentation de l'efficacité de la récolte. L'efficacité élevée de récupération des microalgues a été de $(95,83 \pm 0,87) \%$ ce qui donne une consommation de $0,28 \text{kWh.kg}^{-1}$. Une forte consommation d'énergie par kilogramme a été obtenue avec l'électrode du fer et du carbone ($0,34 \text{kWh.kg}^{-1}$).

Misra et al en 2015, ont constaté, au cours de leurs travaux [112] que la puissance consommée était de $7,32 \text{kWh.kg}^{-1}$ pour une efficacité de récupération de 73% où la puissance fournie était de $14,33 \text{kWh.m}^{-3}$ en utilisant une électrode non sacrificielle.

IV.9. Caractérisation de la biomasse récolte

L'accumulation de matériaux d'électrodes dans la biomasse récupérée a été étudiée. Le (MEB) couplé à l'analyse (EDX) ont été utilisés pour examiner la morphologie de la surface et la composition chimique élémentaire de la biomasse d'algues séchées. Le tableau, ci-dessous, présente la composition moyenne des métaux dans la biomasse.

Tableau IV.2: Contamination de la biomasse

Type d'électrode	Composition moyenne en poids
Fer	41.2%
Zinc	45.6%
Cuivre	51.1%
Aluminium	21.3%
Carbone	0%

IV.9.1. Biomasse récoltée en utilisant les différentes électrodes.

Nous représentons sur les figures IV.9 à IV.18 et sur les tableaux IV.3 à IV.7, ci-dessous, les résultats obtenus en utilisant les différentes électrodes (Al, Cu, Zn et Carbone) ; en présentant :

- ✓ Les images MEB de la biomasse algale obtenu par l'EFF et l'ECF
- ✓ La composition moyenne en poids de la biomasse récoltée,
- ✓ L'analyse élémentaire de la masse.

Electrode d'aluminium (Al)

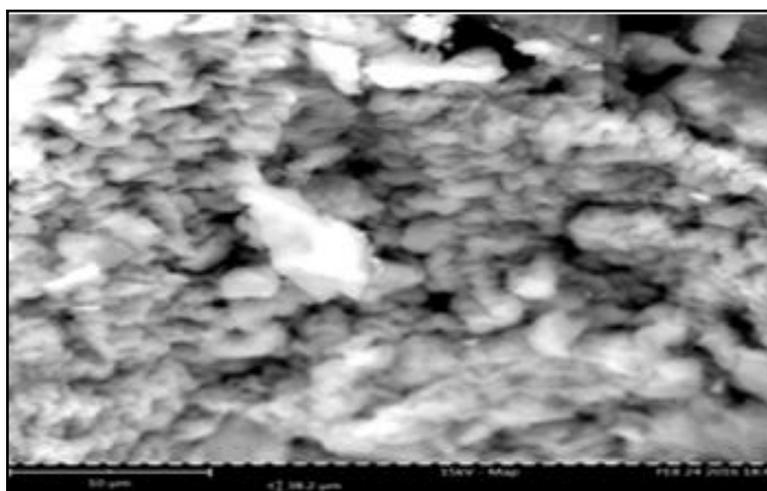


Figure IV.9: Image MEB de la Biomasse algale obtenu par EF utilisant l'électrode d'Al.

Tableau IV.3: Composition moyenne en poids de biomasse Al

Élément	Poids (%)	Erreur (%)
Al	21,3	0,0
O	55,1	0,1
Na	2,0	0,1
N	10,3	1,4
C	11,3	0,3

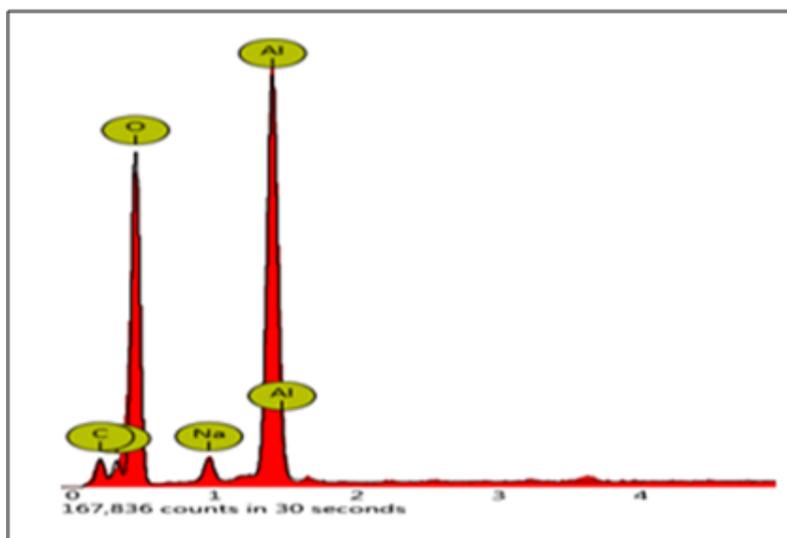


Figure IV.10: Analyse élémentaire de la masse (EF-Al)

Electrode en cuivre (Cu)

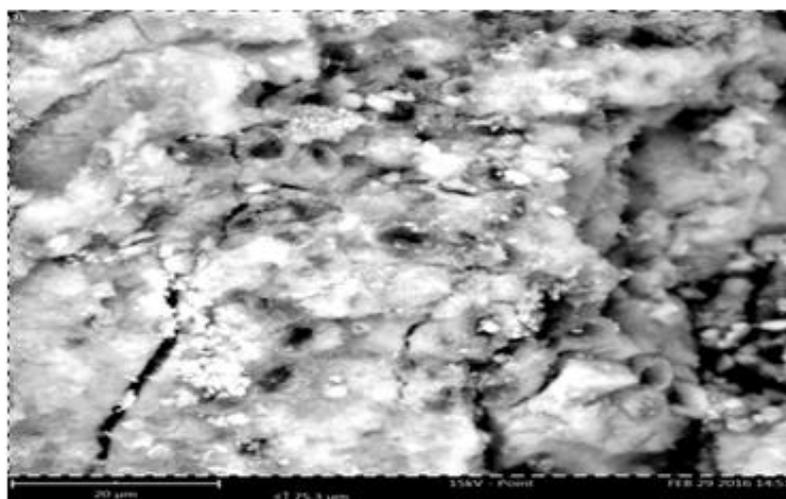


Figure IV.11: Image MEB de la Biomasse algale obtenue par EF utilisant l'électrode de Cu

Tableau IV.4: Composition moyenne en poids de biomasse Cu

Élément	Poids (%)	Erreur (%)
O	29,4	0,1
Cu	51,1	0,1
C	10,5	0,2
Na	3,1	1,3
N	5,9	1,2

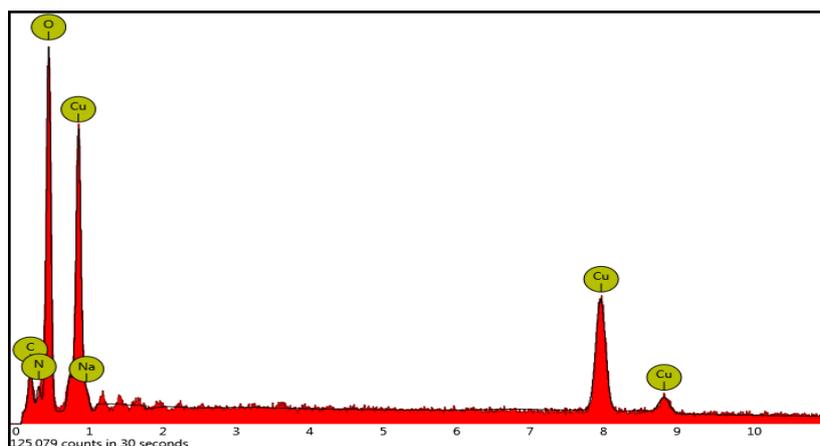


Figure IV.12: Analyse élémentaire de la masse (ECF-Cu)

Electrode en cuivre de Fer (Fe)

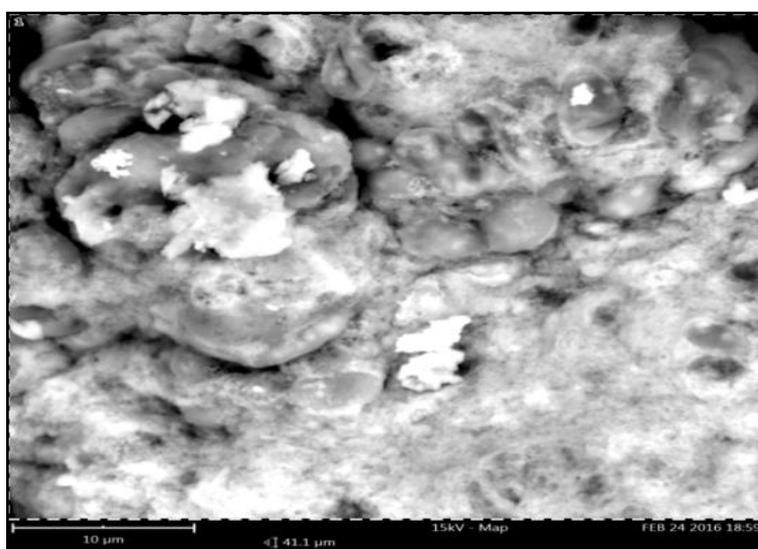


Figure IV.13: Image MEB de la Biomasse algale obtenue par ECF utilisant l'électrode de Fe.

Tableau IV.5 : Composition moyenne en poids de biomasse.

Élément	Poids (%)	Erreur (%)
Fe	41,2	0,0
O	21,6	0,1
Ca	4,2	0,1
Si	3,1	1,1
C	22,1	1,3
P	1,2	0,7

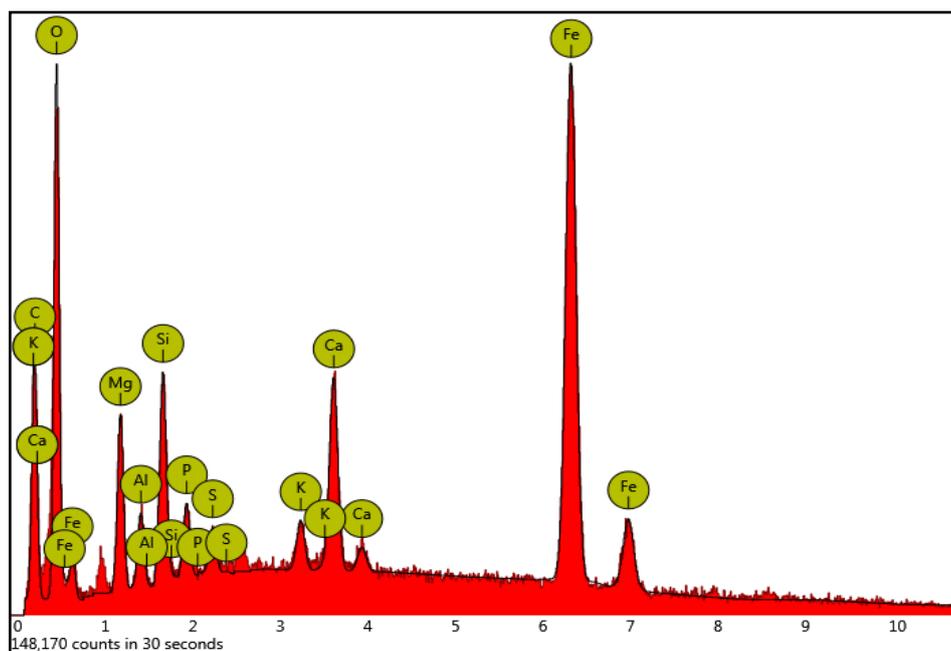


Figure IV.14: Analyse élémentaire de la masse (EF-Fe).

Electrode en cuivre de Zinc (Zn)

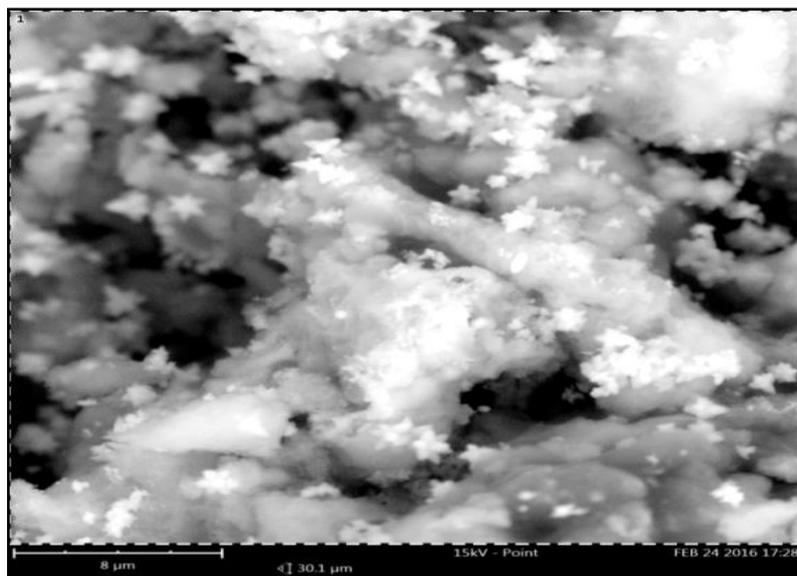


Figure IV.15: Image MEB de la Biomasse algale obtenu par ECF utilisant l'électrode de Zn.

Tableau IV.6 : Composition moyenne en poids de biomasse Zn.

Élément	Poids (%)	Erreur (%)
O	31,8	0,1
Zn	45,6	0,1
C	16,0	0,1
N	6,1	1,2
C	22,1	1,3
Al	0,6	0,3

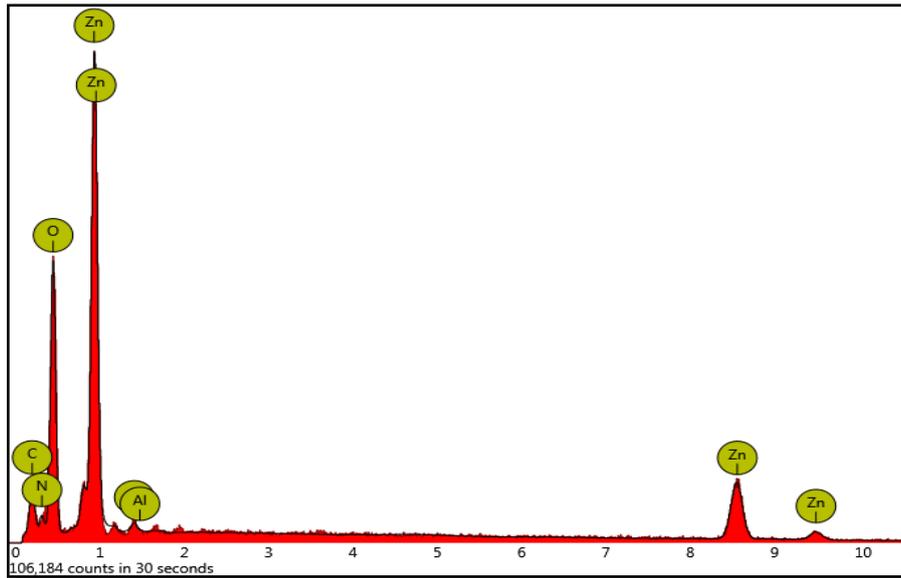


Figure IV.16: Analyse élémentaire de la masse (EF-Zn).

Les résultats obtenus ont révélé que le contenu moyen de l'élément d'électrode dans la biomasse récoltée était plus élevé lors de l'utilisation de cuivre, de zinc et des électrodes de fer avec 51,1%, 45,6 % et 41,6 % en poids respectivement. L'aluminium représente 21 % en poids de la matière flocculée après séchage.

À signaler que la teneur en aluminium était de 21,3 % en poids dans l'agglutinat d'algue lors de l'utilisation d'électrode en aluminium pour le processus d'élimination des algues par électrocoagulation.

La haute concentration d'hydroxyde métallique dans la biomasse récoltée peut rendre le produit de microalgues inadapté à une utilisation ultérieure comme matière première destinée à la consommation humaine.

Néanmoins, la diminution de la contamination pourrait être réalisée en prévoyant une agitation lente pour améliorer le contact entre les coagulants et les cellules microalgale. Cela pourrait réduire la concentration du métal en diminuant le temps de l'ECF.

IV.9.2. Biomasse récoltée en utilisant l'électrode de carbone (C)

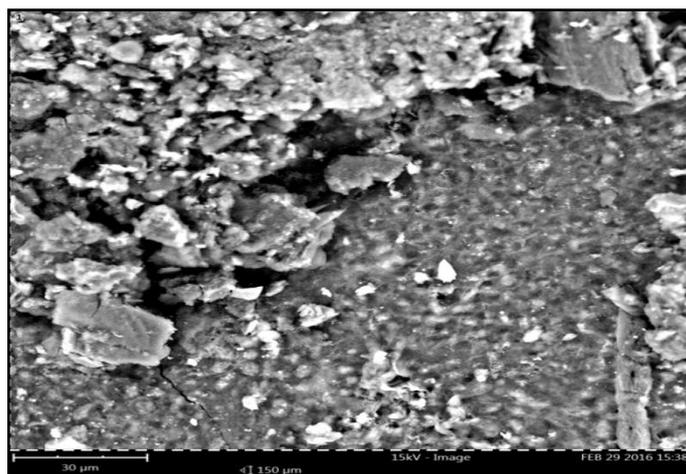


Figure IV.17: Image par MEB de la Biomasse algal obtenue par EF en utilisant l'électrode de C.

Tableau IV.7: Composition moyenne en poids de biomasse C.

Symbole de l'élément	C	O	Si	Na	Al	P	Cl	Ca	S	N	K
Concentration de poids (%)	39.0	35.9	1.4	2.9	1.6	0.9	0.9	1.0	0.7	15.2	0.4
Erreur	0.1	0.2	0.3	0.1	0.1	0.7	0.7	0.8	1.1	1.7	0.4

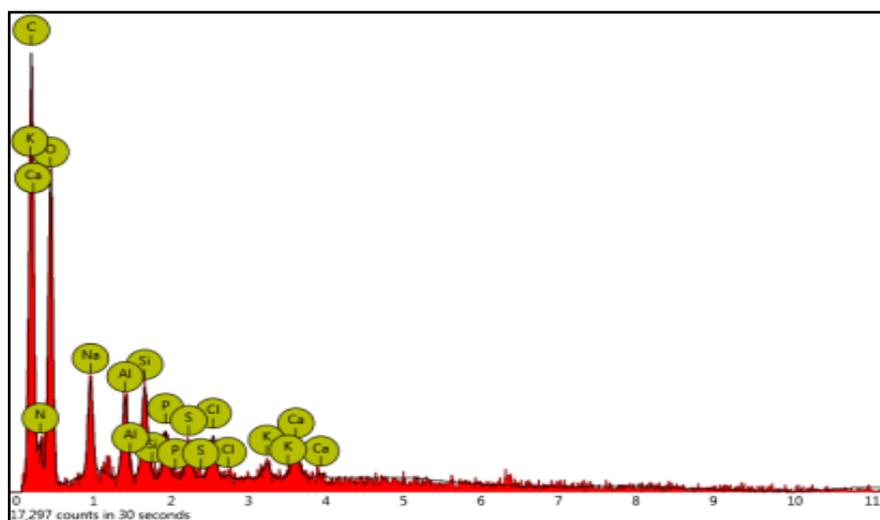


Figure IV.18 : Analyse élémentaire de la masse (EF-C).

L'absence de traces de contamination a été observée dans le cas de l'électrode non sacrificielle. Cependant, la floculation est réalisée grâce à des micro-bulles de gaz qui sont responsable de la flottation de microalgues floculé. L'électrode en carbone est très respectueuse de l'environnement.

La masse de l'électrode de carbone durant l'expérience reste constante, ce qui indique qu'il n'y a pas de consommation d'électrode. L'un des avantages de ce type d'électrode est d'éviter un remplacement périodique de l'électrode et la contamination métallique de l'eau de sortie et de la biomasse récoltée.

Conclusion de la partie A du chapitre IV

Dans ce travail, un processus intégré utilisant l'énergie photovoltaïque pour récolter des microalgues par (EFF et ECF) et récupération d'hydrogène est présenté. Le système présenté est principalement favorable dans les régions à forte radiation solaire. L'efficacité (EFF et ECF) des microalgues *Chlorella pyrenoidosa* a été étudiée à l'aide de différents types d'électrodes (aluminium, fer, zinc, cuivre et une électrode non sacrificielle de carbone).

Les meilleurs résultats concernant (EFF et ECF) et la contamination de la biomasse ont été obtenus avec des électrodes en aluminium et en carbone où la puissance électrique fournie pour la récolte de 1 kg de biomasse d'algues était de 0,28 et 0,34 kWh, respectivement, tandis que le rendement énergétique de l'hydrogène récolté était de 0,052 et 0,005 kWh kg⁻¹, respectivement.

La plus grande efficacité de récolte était de (95,83 ± 0,87) % et a été obtenue avec l'électrode en aluminium. Les rendements expérimentaux d'hydrogène obtenus étaient comparables à ceux calculés à partir de la théorie. Avec une faible demande énergétique nette, l'EF de microalgue peut être une technologie utile et peu coûteuse.

Le rendement énergétique de l'hydrogène généré variait de 10,35 à 19,91 % de la demande d'énergie du procédé (EFF et ECF). Avec la réduction de la demande énergétique nette, la récolte d'algues par un processus (EFF et ECF) directement alimentée par un réseau photovoltaïque peut devenir une méthode à envisager pour réduire le coût et proposer des solutions aux problèmes environnementaux. La mise à l'échelle du processus est significativement possible en utilisant un réacteur continu pour ajuster le débit / la densité du courant, qui est affecté par l'irradiation solaire instantanée.

Partie B du Chapitre IV

Synthèse de Biodiesel

Introduction

Les microalgues présentent des propriétés intéressantes en termes de potentiel de production des biocarburants. Ce sont en effet des composés photosynthétiques à fort taux de croissance et leur teneur en lipides peut atteindre plus de 50 %. Les chercheurs estiment que les microalgues ont un potentiel de productivité 2 à 10 fois plus élevé que les cultures classiques destiné au biocarburant comme le Soja, Tournesol, Jatropha, Palmier à huile [115].

L'intégration du traitement des eaux usées avec la culture de microalgues pour la production de biodiesel est une voie prometteuse pour la production économique de biocarburants [116]. En effet, l'un des moyens pour réduire les coûts de la culture d'algues consiste à intégrer le traitement des eaux usées à la production de biomasse d'algues, ce qui a été suggéré pour la première fois dans les années 1960 [117].

Le biodiesel, est un substitut prometteur des carburants pétroliers, car ce biocarburant présente des attraits par rapport au concept prégnant de la durabilité et de sécurité énergétique, car il provient d'huiles végétales ou de graisses animales et a des impacts par rapport aux émissions de gaz à effet de serre beaucoup plus faibles.

Les microalgues, à la base de la synthèse du biodiesel, sont capables d'être produites toute l'année ; de plus elles nécessitent moins d'eau que les cultures terrestres et sont des réducteurs biologiques potentiellement efficaces du dioxyde de carbone en raison de leur capacité à convertir le CO₂ (et les nutriments) en biomasse, qui peut à leur tour être utilisé pour obtenir du biodiesel [118].

La transestérification est le processus de conversion des lipides microalgals crus (triacylglycérol / acides gras libres) pour donner du biodiesel renouvelable, non toxique et biodégradable. La réaction est réversible et nécessite donc l'apport d'excès d'alcool pour maintenir le changement d'équilibre vers le produit et améliorer le taux de réaction.

La transestérification est une réaction de l'huile mère avec un alcool à chaîne courte, habituellement du méthanol, en présence d'un catalyseur. Les produits de la réaction sont les esters méthyliques d'acides gras (FAME) et le glycérol.

Les catalyseurs qui participent à la réaction sont des acides, des bases ou des enzymes. La catalyse de base est une réaction plus rapide, mais limitée par la teneur en acides gras libres. Les teneurs en acides gras libres dans la région de 20-50 % sont responsables de la saponification lors de la transestérification catalysée par la base.

IV.10. Matériaux et méthodes

Les lipides totaux ont été extraits de la biomasse des microalgues en utilisant une méthode modifiée de (Bligh et Dyer 1959).

Pour la transestérification des lipides on a utilisé la méthode Lepage et Roy (1984), avec de légères modifications

Pour déterminer l'indice de réfraction, nous avons utilisé un réfractomètre de type Abbe. Le matériel utilisé se compose essentiellement d'une centrifugeuse, d'une étuve de laboratoire, d'un broyeur et d'un rotavapeur.

Les solvants utilisés lors de la préparation de la biomasse étaient le méthanol et le chloroforme.

IV.11. Les étapes de production

IV.11.1. Préparation d'échantillon

Les cellules d'algues ont été traitées par centrifugation à 10.000 tr / min, pendant 10 min. Le surnageant a été décanté et les culots cellulaires ont été lavés avec de l'eau distillée et ensuite lyophilisée sous une température entre 60 ° et 80 °C pour environ 24 h. Les flocons de la biomasse séchée ont été ensuite broyée en utilisant un mortier (Figure IV.20).



Figure IV.19: Broyage de la biomasse sèche.

IV.11.2. Les étapes d'extraction de lipides

Les lipides totaux ont été extraits de la biomasse des micros algues en utilisant une méthode modifiée de (Bligh et Dyer 1959) [119]. La procédure suivante a été adoptée :

1. 50 mg de biomasse de microalgue séchés ont été placés dans un tube à essai de 15 mL ;
2. On a ajouté 1,6 mL d'eau, 4,0 mL de méthanol et 2,0 mL de chloroforme. La solution a été mélangée pendant 30 s ;
3. Ensuite, on a ajouté 2,0 mL supplémentaires de chloroforme et 2,0 mL d'eau et on a mélangé le contenu du tube à essai pendant 30 s. Les tubes à essai ont été centrifugés à 5.000 tr / min pendant 10 minutes. La couche supérieure a été retirée en utilisant une pipette et la phase chloroforme inférieure contenant les lipides extraits a été transférée dans un tube de culture de 30 mL ;
4. Le matériau solide laissé au fond du tube d'extraction a été extrait par la même procédure encore deux fois et les phases chloroforme ont été mélangées ensemble puis évaporées dans un rotavapor jusqu'à obtention de lipide sec ;
5. Ensuite, les lipides totaux ont été mesurés gravimétriquement, puis la teneur en lipides et les rendements lipidiques ont été calculés.

IV.11.3. Les étapes de transestérification des lipides microalgal

Dans cette étude, pour la transestérification des lipides extraits de la biomasse des microalgues afin d'obtenir FAME, on a utilisé la méthode Lepage et Roy (1984), avec de légères modifications comme suit :

1. Le brut des lipides (environ 10 mg) a été dissous en utilisant 2 mL d'un mélange fraîchement préparé de chloroforme-méthanol (2 :1, v/v) dans un tube Pyrex de 10 mL avec un bouchon ;
2. 1 mL de méthanol en tant que réactif et 0,3 mL de NaOH 1M (en tant que catalyseur ont été ajoutés, pour la transestérification d'environ 10 mg de lipides ;
3. Le tube avec le mélange a été pesé ; ensuite vigoureusement secoué pendant 5 min ;
4. Enfin, la réaction du mélange dans le tube porté à 100 ° C, pendant 10 min, dans un puis refroidissement du tube à température ambiante ;
5. 1 mL d'eau distillée ajouté pour la séparation des phases (en ajoutant de l'eau, on forme deux phases distinctes la couche supérieure riche en eau, méthanol, glycérol et acide sulfurique, et la couche inférieure riche en chloroforme et esters).
6. Addition de 1 mL d'eau distillée pour un lavage doux des esters avec de la couche de chloroforme (plus dense que la couche d'eau) suivie du rejet de la couche supérieure riche en eau (moins dense). Cette étape était répétée deux fois plus.
7. La couche riche en esters a été filtrée et le chloroforme est évaporé à température ambiante (environ 25°C).

Le biodiesel a été lavé avec 5 % d'eau puis séché et maintenu sous le ventilateur pendant 12 heures jusqu'à évaporation totale de l'humidité [124].

IV.12. Résultats et discussion

IV.12.1. Extraction des lipides

Les expériences ont été dupliquées trois fois. La figure (IV.20) montre l'extraction des lipides totaux de *C.pyrenoidosa*, en utilisant une méthode modifiée de (Bligh et Dyer 1959).

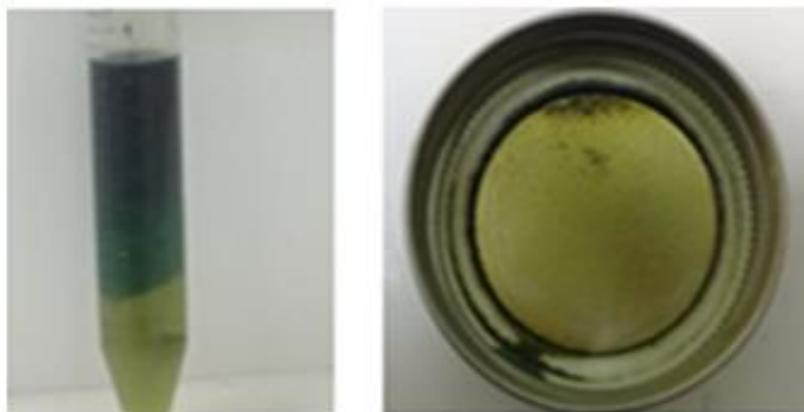


Figure. IV.20: l'extraction des lipids.

IV.12.2. Caractérisation par spectrophotométrie IR

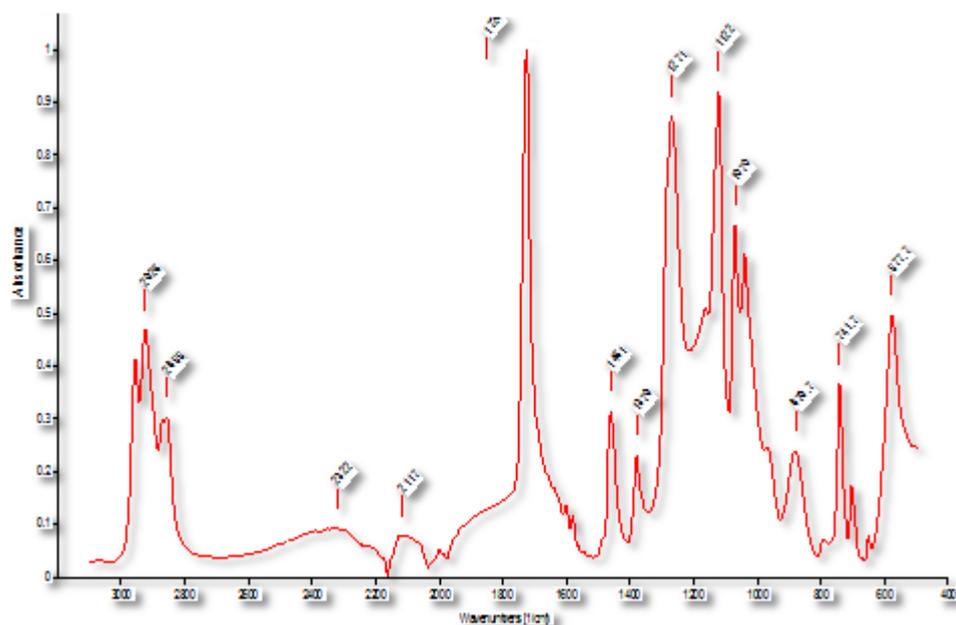


Figure IV.21: Caractérisation par spectrophotométrie IR des lipides obtenus.

Tableau IV.8: Principales bandes d'absorption IR pour les lipides

Nombre d'onde [1/Cm]	Interprétation
2961	CH ₃ groupe methyl
2926	Groupe méthylène CH ₂
2855	CH ₂ et CH ₃ méthylène et groupe méthyle
1726	CO de groupe ester fonctionnel (lipide)
1461	δasCH ₃ et δasCH ₂ de lipides
1379	δasCH ₃ et δasCH ₂ des protéines vs CO des groupes carboxyliques
1271	v s PO d'acides nucléiques, de groupes phosphorylés, de protéines phosphorylées

IV.12.3. Rendement d'extraction

Une fois les lipides totaux obtenus ont été mesurés par gravimétrie puis la teneur en lipides (%) a été calculée par les équations suivantes :

$$\text{Rd}(\%) = \frac{\text{masse de lipides totaux (g)}}{\text{masse de biomasse algue sèche (g)}} \cdot 100 \quad (32)$$

Avec 17.6 mg de lipides totaux et 50 mg de biomasse algue sèche, le rendement obtenu est :

$$\text{Rd}(\%) = \left(\frac{0,0176}{0,0500} \right) \cdot 100 = 35,2\% \quad (33)$$

La teneur moyenne en lipides des microalgues *C. Pyrenoidosa* dans notre travail est de 35,2% de la biomasse en poids sec, qui se situe dans les fourchettes (2-58,7%) rapportées pour *C. Pyrenoidosa*, selon (Xue et al 2016) [120]. Des résultats similaires ont été obtenus par (Liandong et al 2013) [121].

IV.12.4. La réaction de transestérification

Le biodiesel est généralement produit par la transestérification des lipides triglycéridiques par le méthanol ou l'éthanol en présence de catalyseurs acides ou basiques. La transestérification nécessite 3 moles d'alcool pour chaque mole de triglycérides pour

produire 1 mole de glycérol et 3 moles d'esters méthyliques (figure IV.22). La réaction est un équilibre.

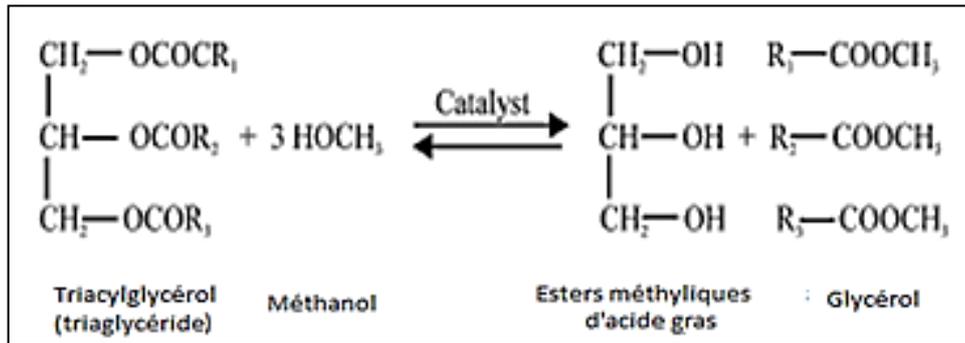


Figure IV.22: La réaction de la transestérification [122],[123],[124].

Les procédés industriels utilisent six (6) moles de méthanol pour chaque mole de triglycéride [125]. Un grand excès de méthanol assure que la réaction est entraînée dans le sens des esters méthyliques, c'est-à-dire vers le sens de la production du biodiesel.

La transestérification est catalysée par des acides, des alcalis [125], [126], la lipase et les enzymes [127].

La transestérification catalysée par des alcalis est environ 4000 fois plus rapide que la réaction catalysée par les acides [125]. Par conséquent, les alcalis tels que, l'hydroxyde de sodium et de potassium sont couramment utilisés comme catalyseurs commerciaux à une concentration d'environ 1 % en poids d'huile.

IV.12.5. Le mécanisme de transestérification par catalyseur basique

La force de la basicité influence de manière significative la vitesse de la réaction.

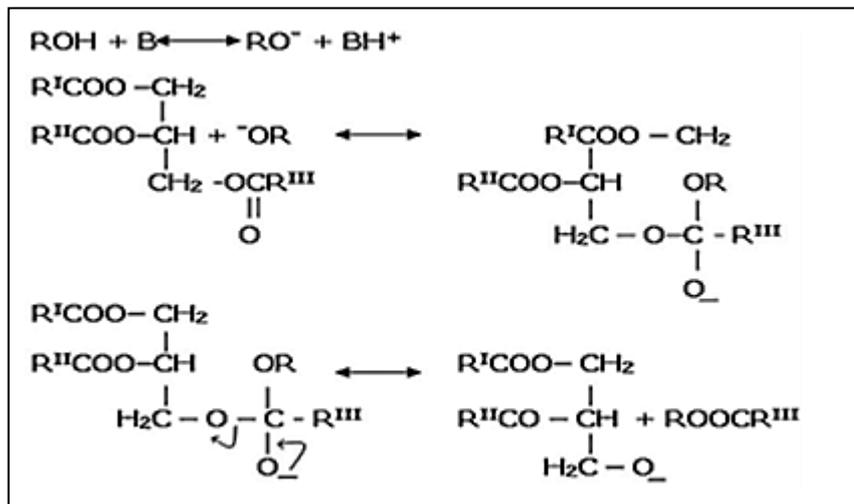


Figure IV.23: Mécanisme de transestérification par catalyseur basique [123].

Les bases des sites interagissent préférentiellement avec l'alcool et enlevant BH^+ et en formant un groupe alkoxyde (RO^-), qui est le principal composant actif qui attaque l'ester

Les sites basiques les plus forts sont plus favorables à la formation des Alcoxyde. De même, une basicité forte favorise la subsistance le livage et la formation de glycérol, et par conséquent la réaction globale.

IV.12.6. Rendement de réaction de transestérification

Calcul du rendement en biodiesel :

$$Rd = \left(\frac{\text{masse expérimental de biodiesel}}{\text{masse théorique de biodiesel}} \right) \cdot 100 \quad (34)$$

$$Rd = \left(\frac{0,0053}{0,010} \right) \cdot 100 = 53\% \quad (35)$$

Pratiquement le rendement (Rd) = 53%

Le rendement en biodiesel dans notre cas est proche, à celui obtenu pour le *Chlorella sp* 78,1%- 96,2%.

Le rendement de la transestérification est très dépendant des conditions de fonctionnement ; en effet, une température trop élevée du milieu réactionnel provoque la dégradation de l'huile utilisée.



Figure IV.24 Biodiesel algal



Figure IV.25: Glycérol

IV.12.7. Les caractéristiques du biodiesel

Les propriétés physicochimiques du biodiesel présentant le plus grand intérêt sont le pH, et l'indice de réfraction. Le Tableau IV.9 présente les valeurs des paramètres mesurés.

Tableau IV.9: Caractéristiques de biodiesel obtenu

Paramètre	Valeur mesurée
pH	4,37
Indice de réfraction	1,45

IV.12.7.1. Le pH

Le pH d'un biodiesel varie généralement entre 3,6 et 5,6 [128]. Dans notre cas, on a obtenu un pH de 4,37 qui se situe dans cette plage.

IV.12.7.2. L'indice de réfraction

Dans cette étude, le biodiesel synthétisé a une valeur d'indice de réfraction de 1,45. L'indice de réfraction est considéré, comme une propriété importante pour la caractérisation du combustible. Ce paramètre peut être utilisé comme une propriété physique fiable pour prédire la progression de la réaction de transestérification.

La valeur de l'indice de réfraction du gasoil varie souvent entre 1,45 et 1,47, il est bien inclus dans ces valeurs indiquées, il est également proche des valeurs du gasoil et du biodiesel dont les indices de réfraction à 25°C sont 1,465 et 1,454 respectivement [129].

Conclusion de la partie B

Les algues sont un choix économique pour la production de biodiesel, en raison de leur disponibilité et de leur faible coût. Nos résultats prouvent que le biodiesel peut être produit à partir de la souche de *Chlorella pyrenoidosa*.

L'extraction permet de recueillir environ 35,2 % de lipides (g lipide/g matières sèches). Qui ont été converties en biodiesel par transesterification avec un catalyseur basique NaOH. Le rendement de biodiesel obtenu est de 53%.

D'après les résultats, on peut dire que l'algue *Chlorella pyrenoidosa* est riche en lipides et par conséquent est très prometteuse pour l'exploitation en tant que matière première pour le biodiesel. Le biodiesel de *C.pyrenoidosa* est techniquement faisable, où l'huile peut être utilisée seule ou associée à d'autres huiles afin de satisfaire aux exigences de qualité du biodiesel afin d'être compétitif sur le plan économique.

Conclusion Générale

Conclusion générale

Notre travail a clairement mis en évidence la capacité de la souche *C. pyrenoidosa*, dans le traitement des eaux usées produites au champ pétrolier (EPP). Ainsi :

- ✓ pour la pollution organique le taux d'élimination a atteint 89,67 %, pour la (DCO) ;
- ✓ pour la pollution organique azoté, le taux d'élimination a atteint 100 %, pour (N-NH₄⁺), 80 % pour (N-NO₂⁻) et 57,14 % pour (N_t) ;
- ✓ pour la pollution organique par le phosphore, le taux d'élimination a atteint 100 % pour (PO₄³⁻) et 75,51 % pour (P_t)
- ✓ pour les métaux lourds on a atteint : 76,74 %, pour (Fe) 72,86 %, (Pb) 73,39 % pour (Cu) et 51,11 % pour (Cd).

L'objectif de cette étude était de démontrer la capacité et la performance de *C. pyrenoidosa* dans pour le traitement de (EPP), dans les bassins ouverts de type « Rasway » dans les zones désertiques sous le soleil.

La concentration maximale de la biomasse obtenue après 21 jours a été de (1,15±0,07) g/L. L'efficacité de la récolte de *C. pyrenoidosa* a également été évaluée, par électrofloculation en utilisant une cellule photovoltaïque. L'efficacité de (EFF et ECF) des microalgues de *Chlorella pyrenoidosa* a été étudiée à l'aide de différents types d'électrodes (aluminium, fer, zinc, cuivre et une électrode non-sacrificielle de carbone).

Les meilleurs résultats concernant l'EF et la contamination par la biomasse ont été obtenus avec des électrodes en aluminium et en carbone où la demande d'énergie électrique du procédé de récolte de 1 kg de biomasse d'algues était de (0,28 et 0,34) kWh, respectivement, tandis que le rendement énergétique de l'hydrogène récolté était de 0,052 et 0,005 kWhkg⁻¹, respectivement. La plus grande efficacité de récolte de (95,83 ± 0,87) % a été obtenue avec l'électrode en aluminium.

La présente étude a présenté une méthode intégrée pour la production de biodiesel à partir de la souche de *Chlorella pyrenoidosa*. L'extraction a permis de recueillir environ 35,2 % de lipides (g lipide/g matières sèche) et le rendement de biodiesel obtenu est de 53 %. Les résultats laissent augurer que l'algue *Chlorella pyrenoidosa* est riche en lipides et par conséquent son utilisation est très prometteuse pour l'exploitation en tant que matière première pour la fabrication de biodiesel.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] P. C. A. P. Carvalho, E. L. Foletto, E. L. Barros Neto, and O. Chiavone-Filho, “Oil Removal From Oilfield Produced Water By Sand Filter,” *Brazilian J. Pet. Gas*, vol. 10, no. 3, pp. 161–170, 2016.
- [2] D. Winckelmann, F. Bleeke, B. Thomas, C. Elle, and G. Klöck, “Open pondcultures of indigenous algae grown on non-arable land in an arid desert using wastewater,” *Int. Aquat. Res.*, no. May 2016, pp. 221–233, 2015.
- [3] T. R. c Enid J. Sullivan Grahamf, , Cynthia A. Dean a, ThomasM. Yoshida a, Scott N. Twary b, MunehiroTeshima b, Mark A. Alvarez b, Tawanda Zidenga b, Jeffrey M. Heikoop c, George B. Perkins c and P. L. e Gregory L.Wagner d, “Oil and gas produced water as a growth medium for microalgae cultivation : A review and feasibility analysis,” *Algal Res.*, pp. 1–13, 2017.
- [4] Raymond A. and F. E. Okieimen, “Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation,” *Int. Sch. Ressearch Netw. Ecol.*, vol. 2011, pp. 1–20, 2011.
- [5] D. Hoh, S. Watson, and E. Kan, “Algal biofilm reactors for integrated wastewater treatment and biofuel production: A review,” *Chem. Eng. J.*, vol. 287, pp. 466–473, 2015.
- [6] L. Christenson and R. Sims, “Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment , biofuels , and bioproducts,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 29, no. 6, pp. 686–702, 2011.
- [7] J. Shi, B. Podola, and M. Melkonian, “Removal of nitrogen and phosphorus from wastewater using microalgae immobilized on twin layers: An experimental study,” *J. Appl. Phycol.*, vol. 19, no. 5, pp. 417–423, 2007.
- [8] Ammar, “Épuration des eaux usées par lagunage aéré en zone aride – cas de la région d’el-oued paramètres influents et choix des conditions optimales,” *Dr. en Sci. Génie procédés Univ. Kasdi Merbah- Ouargla*, pp. 2017–2018, 2018.
- [9] T. Ainane, “Valorisation de la biomasse algale du Maroc : Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales,cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*” 2011.
- [10] Journal officiel de la république algérienne (JORA a) “Decret_executif_06-141_19-Avril-2006_valeurs_limites_rejets_effluents_liquides_industriels.pdf,” pp. 4–9, 2006.
- [11] M. M. Abdelkader, “Traitement des eaux de rejet d’une raffinerie-region de Bejaia et

- valorisation de déchets oleicoles,” Dr. d'état Univ. Badji Mokhtar Annaba, 2006.
- [12] B. Sancey, “Développement de la bio-adsorption pour des effluents de rejets industriels : abattement chimique et gain environnemental To cite this version ;,” Dr. en Sci. la vie l'Environnement Univ. Fr., 2014.
- [13] F. Gagné and C. Blaise, “Evaluation of the genotoxicity of environmental contaminants in sediments to rainbow trout hepatocytes,” *Environ. Toxicol. Water Qual.*, vol. 10, no. 3, pp. 217–229, 1995.
- [14] M. U. Beg, S. Al-Muzaini, T. Saeed, P. G. Jacob, K. R. Beg, M. Al-Bahloul, K. Al-Matrouk, T. Al-Obaid, and A. Kurian, “Chemical contamination and toxicity of sediment from a coastal area receiving industrial effluents in Kuwait,” *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, vol. 41, no. 3, pp. 289–297, 2001.
- [15] KHELIL, “Mme KHELIL-RADJI Fatima Zohra Amel Evaluation du potentiel hydrocarbonoclaste des bactéries marines isolées de la côte oranaise,” 2014.
- [16] S. Battaz, “Etude comparative de la dégradation d'une terre polluée par des hydrocarbures lourds,” *MAGISTER Chim. Univ.* 20 Août 1955- Ski. P126, 2009.
- [17] N. K. Srivastava and C. B. Majumder, “Novel biofiltration methods for the treatment of heavy metals from industrial wastewater,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 151, no. 1, pp. 1–8, 2008.
- [18] J. O. Duruibe, “Heavy metal pollution and human biotoxic effects,” *Int. J. Phys. Sciences*, vol. 2, no. 5, pp. 112–118, 2007.
- [19] Z. B en Salem, “Étude de la bioaccumulation des éléments traces métalliques chez les macrophytes et les poissons dans la décharge d'Étuefont (Belfort, France): Intérêts de l'utilisation de l'approche moléculaire pour la détection de génotoxicité,” *Dr. UNIVERSITÉ Fr.*, vol. 6249, 2014.
- [20] Rodier J, Bazin O, Broutin J. P, Chambon P, Champsaur H et Rodi L. L'analyse de l'eau. Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. Dunod, 8ème éd. Paris; p. 42, 1383. 2005.
- [21] Rahmouni et al, “Les Algues Indicatrices De L'â€™eutrophisation Et De La Contamination De La Lagune De Korba (Cap Bon Tunisie),” *Eur. Sci. J.*, vol. 12, no. 17, pp. 149–172, 2016.
- [22] Fagrouch et al, “Etude d'impact des eaux usées de la ville de taourirt sur la qualité physico-chimique des eaux de l'oudza,” pp. 63–77, 2012.
- [23] Belaid, “Utilisation d'un charbon actif préparé a partir des noyaux de dattes locales dans l'épuration des eaux usées urbaines. influence de la variete de dattes.” *Dr. Génie*

des procédés Environnement. Univ. KASDI MERBAH – OUARGLA, 2017.

- [24] C. Bassompierre, “Procéd a boues activées pour le traitement d’effluents papetiers : de la conception d’un pilotè a la validation demo eles,” 2007.
- [25] Jouanneau et al, “Methods for assessing biochemical oxygen demand (BOD): A review,” *Water Res.*, vol. 49, no. 1, pp. 62–82, 2014.
- [26] Baya, “Étude de l’autofloculation dans un chenal algal a haut rendement,” Dr. en Sci. Univ. Liège Belgique, 2012.
- [27] Kone, “Épuration des eaux usées par lagunage à microphytes et à macrophytes en afrique de l’ouest et du centre: etat des lieux, performances épuratoires et critères de dimensionnement,” Dr. en Sci. Univ. Luxemb. arion Belgique, 2002.
- [28] Rodier J, Legube B, Merlet N, Brunet R et coll, *Analyse de l'eau. Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer.* Dunod, 9ème éd. Paris ;. p.945-1020, 1113, 1411, 1579. 2009.
- [29] E. Safonova, K. V. Kvitko, M. I. Iankevitch, L. F. Surgko, I. A. Afti, and W. Reisser, “Biotreatment of industrial wastewater by selected algal-bacterial consortia,” *Eng. Life Sci.*, vol. 4, no. 4, pp. 347–353, 2004.
- [30] Kadouche, “Utilisation Des Biomatériaux Dans Le Traitement Des Eaux,” These Dr. Chim. appliquée Univ. mouloud mammeri tizi ouazou, pp. 47–50, 2013.
- [31] M. F. Hamoda, I. Al-Ghusain, and N. Z. AL-Mutairi, “Sand filtration of wastewater for tertiary treatment and water reuse,” *Desalination*, vol. 164, no. 3, pp. 203–211, 2004.
- [32] J. Araña, J. A. Herrera Melián, J. M. Doña Rodríguez, O. González Díaz, A. Viera, J. Pérez Peña, P. M. Marrero Sosa, and V. Espino Jiménez, “TiO₂-photocatalysis as a tertiary treatment of naturally treated wastewater,” *Catal. Today*, vol. 76, no. 2–4, pp. 279–289, 2002.
- [33] Xiao et al, “Wastewater treatment and microbial communities in an integrated photo-bioelectrochemical system affected by different wastewater algal inocula,” *Algal Res.*, vol. 12, pp. 446–454, 2015.
- [34] Clarens, “Environmental life cycle comparison of algae t other boenergy feedstocks,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 44, no. 5, pp. 1813–1819, 2009.
- [35] Woertz, “Algae Grown on Dairy and Municipal Wastewater for Simultaneous Nutrient Removal and Lipid Production for Biofuel Feedstock,” *J. Environ. Eng.*, vol. 135, no. 11, pp. 1115–1122, 2009.
- [36] W. Mulbry, S. Kondrad, C. Pizarro, and E. Kebede-westhead, “Bioresource

- Technology Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae : Algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers,” vol. 99, pp. 8137–8142, 2008.
- [37] Amel, “Utilisation des souches bactériennes telluriques autochtones dans la biodétection et la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures,” Magister biol. Univ. Kasdi Merbah-Ouargla, 2010.
- [38] Andersen et Robert, *Algal Culturing Techniques*. Academic Press is an imprint of Elsevier .2005.
- [39] P. Chen, M. Min, Y. Chen, L. Wang, Y. Li, Q. Chen, C. Wang, Y. Wan, X. Wang, Y. Cheng, S. Deng, K. Hennessy, X. Lin, Y. Liu, Y. Wang, B. Martinez, and R. Ruan, “Review of the biological and engineering aspects of algae to fuels approach,” *Int. J. Agric. Biol. Eng.*, vol. 2, no. 4, pp. 1–30, 2009.
- [40] Teresa M. Mataa, António A. Martins, Nidia S. Caetano, “Microalgae for biodiesel production and other applications : A review,” vol. 14, pp. 217–232, 2009.
- [41] A. Souliès, “Contribution à l’étude hydrodynamique et à la modélisation des photobioréacteurs à haute productivité volumique,” Thèse Dr. en génie des procédés Fr., 2014.
- [42] L. F. A. et F. Lizon, “Mesures en continu de la biomasse et de la physiologie des microalgues dans la deûle,” Etude réalisée par le Lab. d’Océanologie Géosciences Université Lille Nord Fr., 2009.
- [43] J. B. K. Park, R. J. Craggs, and A. N. Shilton, “Bioresource Technology Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production,” *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no. 1, pp. 35–42, 2011.
- [44] J. C. Weissman and R. P. G. M. Products, “Production of Liquid Fuels and Chemicals by Microalgae A Final Subcontract Report Production of Liquid Fuels and,” *Sol. Energy Res. Inst.*, no. March, 1985.
- [45] Grima, “Evaluation of photosynthetic efficiency in microalgal cultures using averaged irradiance,” *Enzyme Microb. Technol.*, vol. 21, no. 5, pp. 375–381, 1997.
- [46] OLIVO, “Conception et étude d’un photobioréacteur pour la production en continu de microalgues en ecloséries aquacoles,” Dr. en Génie des Procédés, 2007.
- [47] S. S. & I. O. Adir Noam, Hagit Zer, “Photoinhibition - A historical perspective,” *Photosynth. Res. J.*, vol. 76, no. 1–3, pp. 343–370, 2003.
- [48] Barbara, “Etude de la croissance de *Chlorella vulgaris* en photobioréacteur batch et continu, en présence de concentrations élevées de CO₂,” 2012.

- [49] J. C. Ogbonna, "Night Biomass Loss and Changes in Biochemical Composition of Cells during Light / Dark Cyclic Culture of *Chlorella pyrenoidosa*," vol. 82, no. 6, pp. 558–564, 1996.
- [50] G. Torzillo, A. Sacchi, and R. Materassi, "Temperature as an Important Factor Affecting Productivity and Night Biomass Loss in *Spirulina platensis* Grown Outdoors in Tubular Photobioreactors," vol. 38, pp. 95–100, 1991.
- [51] Y. Chisti, "Biodiesel from microalgae beats bioethanol," *Biotechnol. Adv.*, vol. 26, no. 3, pp. 126–131, 2008.
- [52] D. L. Sutherland, M. H. Turnbull, P. A. Broady, and R. J. Craggs, "Science Direct Wastewater microalgal production , nutrient removal and physiological adaptation in response to changes in mixing frequency," *Water Res.*, vol. 61, pp. 130–140, 2014.
- [53] Oswald, "Biological Transformation of Solar Energy," *Div. Sanit. Eng. Sch. Public Heal. Univ. California. Berkeley. Calif.*, 1960.
- [54] Juliette, "Dimensionnement d'une raffinerie de biodiesel," *ingénieur Chim. Verte Bioprocédés Ec. Natl. Supérieure Chim. Montpellier*, 2009.
- [55] P. E. Wiley, J. E. Campbell, and B. Mckuin, "Production of Biodiesel and Biogas from Algae : A Review of Process Train Options," *Water Environ. Res.*, 2011.
- [56] Céline, "Eco-Extraction et Analyse de lipides de micro-algues pour la production d'algo -carburant," 2013.
- [57] X. Ma, W. Zhou, Z. Fu, Y. Cheng, M. Min, Y. Liu, Y. Zhang, P. Chen, and R. Ruan, "Effect of wastewater-borne bacteria on algal growth and nutrients removal in wastewater-based algae cultivation system," *Bioresour. Technol.*, vol. 167, pp. 8–13, 2014.
- [58] Kadirvelu, "Removal of heavy metals from industrial wastewaters by adsorption onto activated carbon prepared from an agricultural solid waste," *Bioresour. Technol.*, vol. 76, no. 1, pp. 63–65, 2000.
- [59] Meena et al, "Removal of heavy metal ions from aqueous solutions using carbon aerogel as an adsorbent," *J. Hazard. Mater.*, vol. 122, pp. 161–170, 2005.
- [60] Yavuz et al, "Treatment of petroleum refinery wastewater by electrochemical methods," *Desalination*, vol. 258, no. 1–3, pp. 201–205, 2010.
- [61] Yavuz, "Electrochemical oxidation of phenol in a parallel plate reactor using ruthenium mixed metal oxide electrode," *J. Hazard. Mater.*, vol. 136, no. 2, pp. 296–302, 2006.
- [62] Kornienko, "Electrochemical oxidation of phenol on boron-doped diamond

- electrode,” *Russ. J. Electrochem.*, vol. 47, no. 2, pp. 225–229, 2011.
- [63] Schmitt, “The adsorption kinetics of metal ions onto different microalgae and siliceous earth,” *Pergamon Elsevier Sci. Ltd. All rights Reserv. Print. Gt. Britain*, vol. 35, no. 3, pp. 779–785, 2000.
- [64] Yuen, “Removal of heavy metal ions from aqueous solutions using various low-cost adsorbents,” vol. 102, pp. 291–302, 2003.
- [65] A. Braud, “Procédé de phytoextraction couplé à la bioaugmentation d’un sol agricole polycontaminé par du chrome, du mercure et du plomb,” 2007.
- [66] Wahida, “Etude de la cinétique de sédimentation des matières en suspension dans le calcul des décanteurs,” *Magister Hydraul. Univ. Badji-Mokhtar-ANNABA*, 2009.
- [67] Besson, “Étude multi-échelle de la récolte de *Dunaliella salina* - Développement d’un procédé d’autofloculation-flottation de microalgues,” *Dr. Université Toulouse*, 2013.
- [68] Zongo, “Electrocoagulation for the treatment of textile wastewaters with Al or Fe electrodes: Compared variations of COD levels, turbidity and absorbance,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 169, no. 1–3, pp. 70–76, 2009.
- [69] L. Brennan and P. Owende, “Biofuels from microalgae -A review of technologies for production , processing , and extractions of biofuels and co-products,” *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 2009.
- [70] Grima et al, “Recovery of microalgal biomass and metabolites: Process options and economics,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 20, no. 7–8, pp. 491–515, 2002.
- [71] J. J. Milledge and S. Heaven, “A review of the harvesting of micro-algae for biofuel production,” pp. 165–178, 2013.
- [72] Zongo, “Étude expérimentale et théorique Du Procédé d’electrocoagulation : Application au Traitement de deux effluents textiles et d’un effluent simulé de tannerie,” *Dr. en génie des procédés Inst. National Polytech. Lorraine Ouagadougou*, 2009.
- [73] Ahmad Farhad Talebi, Seyed Mohammad Mehdi Dastgheib, Hassan Tirandaz, Ebrahim Alaie, Meisam Tabatabaei, “Enhanced algal-based treatment of petroleum produced water and biodiesel production,” *RSC Adv.*, 2016.
- [74] Ebenezer T. Igunnu and George Z. Chen, “Produced water treatment technologies,” *Int. J. Low-Carbon Technol. Adv.*, pp. 1–21, 2012.
- [75] “Treatment of Petrochemical Wastewater by the Green Algae *Chlorella vulgaris*,” *Int. J. Environ. Res*, vol. 10, no. 4, pp. 555–560, 2016.

- [76] T. Zheng and C. Ke, "Treatment of oilfield wastewater using algal – bacterial fluidized bed reactor," *Sep. Sci. Technol.*, vol. 52, no. 13, pp. 2090–2097, 2017.
- [77] Messrouk, "Contribution à l'évaluation et au traitement des eaux usées dans la région de Ouargla: Cas des composés phénoliques," *Magister en Chim. Org. Univ. Kasdi Merbah*, 2011.
- [78] Morita et al, "Nutrient Interactions and Toxicity *Chlorella* Accelerates Dioxin Excretion in Rats," *Am. Soc. Nutr. Sci.*, no. March, pp. 1731–1736, 2018.
- [79] H. Chick, "A Study of a Unicellular Green Alga, Occurring in Polluted Water, with Especial Reference to Its Nitrogenous Metabolism," *Proc. R. Soc. London*, vol. 71, no. 17, pp. 458–476, 1902.
- [80] Dahmani Siham, Zerrouki Djamel, Ramanna Luveshan, Rawat Ismail, Bux Faizal, "Cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in outdoor open raceway pond using domestic wastewater as medium in arid desert region," *Bioresour. Technol.*, vol. 219, pp. 749–752, 2016.
- [81] Xiao-Bo Tan, Ya-Lei Zhang, Li-Bin Yang, Hua-Qiang Chu, Jun Guo, "Outdoor cultures of *Chlorella pyrenoidosa* in the effluent of anaerobically digested activated sludge: The effects of pH and free ammonia," *Bioresour. Technol.*, vol. 200, pp. 606–615, 2016.
- [82] Alessia Guccione, Natascia Biondi, Giacomo Sampietro, Liliana Rodolfi, Niccolò Bassi and Mario R Tredici, "Chlorella for protein and biofuels: From strain selection to outdoor cultivation in a Green Wall Panel photobioreactor," *Biotechnol. Biofuels*, vol. 7, no. 1, pp. 1–12, 2014.
- [83] A. sukenik , w. schroder , J. lauer , G. shelefiI and C. J. soeder . Coprecipitation of microalgal biomass with calcium and phosphate ions. *J. Phys. Chem. Solids*, 44(2), pp.171–174. 1983
- [84] Food and Agriculture Organisation (FAO). *L'irrigation avec les eaux usées traitées. Manuel d'utilisation. Bureau Régional pour le proche orient et l'Afrique du Nord. Le Caire Egypte; p. 68-73. 2003.*
- [85] *Journal officiel de la république algérienne (JORA). Les spécifications des eaux usées épurées utilisées à des fins d'irrigation et la liste des cultures pouvant être irriguées avec des eaux usées épurées: Arrêté interministériel du 2 Janvier 2012, JORA n° 41 du 15 Juillet 2012.p. 19-21*
- [86] Organisation Mondiale de la Santé (OMS). *Guidelines for drinking-water quality. Recommandations, 3rd, Ed. World Health Organization. Geneva, 1 : 2004.*

- [87] Choubert, “Analyse et optimisation du traitement de l’azote par boues activées à basse température,” THESE Dr. Présentée Université Louis Pasteur - Strasbg., 2002.
- [88] Deronzier, “Traitement du phosphore dans les petites stations d’épuration à boues activées.,” Doc. Tech. FNDAE n° 29 Ministère l’Agriculture, l’Alimentation, la Pêche des Aff. Rural., p. 49, 2004.
- [89] Kone., Epuration des eaux usées par lagunage à microphytes et à macrophytes en afrique de l’ouest et du centre: état des lieux, performances, épuratoires et critères de dimensionnement. Dr. en sciences université luxembourgeoise arion Belgique. 2002.
- [90] Grobbelaar et al, “Factors governing algal growth in photobioreactors: The ‘open’ versus ‘closed’ debate,” J. Appl. Phycol., vol. 21, no. 5, pp. 489–492, 2009.
- [91] A. P. Vanerkar, A. B. Fulke, S. K. Lokhande, M. D. Giripunje, and S. Satyanarayan, “Recycling and treatment of herbal pharmaceutical wastewater using *Scenedesmus quadricuada*,” Curr. Sci., vol. 108, no. 5, pp. 979–983, 015.
- [92] Yang, “Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation,” J. Trace Elem. Med. Biol., vol. 18, no. 4, pp. 339–353, 2005.
- [93] Wen Shi, Zanfeng Jin, Shiyin Hu, Xiaoman Fang, Feili Li, “Dissolved organic matter affects the bioaccumulation of copper and lead in *Chlorella pyrenoidosa*: A case of long-term exposure,” Chemosph. J., vol. 174, pp. 447–455, 2017.
- [94] J. K. Pittman, A. P. Dean, and O. Osundeko, “Bioresource Technology The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources,” Bioresour. Technol., vol. 102, no. 1, pp. 17–25, 2011.
- [95] Junying Liu, Joy Mukherjee Jeremy J. Hawkesc and Stephen Wilkinson, “Optimization of lipid production for algal biodiesel in nitrogen stressed cells of *Dunaliella salina* using FTIR analysis Optimization of lipid production for algal biodiesel in nitrogen stressed cells of *Dunaliella salina* using FTIR analysis,” Soc. Chem. Ind., no. October, 2013.
- [96] Murdock, “FT-IR microspectroscopy enhances biological and ecological analysis of algae,” Appl. Spectrosc. Rev., vol. 44, no. 4, pp. 335–361, 2009.
- [97] Joshua J. Mayers, Kevin J. Flynn, Robin J. Shields, “Rapid determination of bulk microalgal biochemical composition by Fourier-Transform Infrared spectroscopy,” Bioresour. Technol., vol. 148, pp. 215–220, 2013.
- [98] Meng, “Application of fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy in determination of microalgal compositions,” Bioresour. Technol., vol. 151, pp. 347–354, 2013.

- [99] Hongyang,. Cultivation of *Chlorella pyrenoidosa* in soybean processing wastewater. *Bioresource Technology*, 102(21), pp.9884–9890. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.016>. 2011.
- [100] Giorgos Markou ,,Dimitris Iconomou , Koenraa Muylaert, “Applying raw poultry litter leachate for the cultivation of *Arthrospira platensis* and *Chlorella vulgaris*,” *Algal Res.*, vol. 13, pp. 79–84, 2016.
- [101] Lee, A.K., Lewis, D.M. & Ashman, P.J., 2013. Harvesting of marine microalgae by electroflocculation: The energetics, plant design, and economics. *Applied Energy*, 108(March 2013), pp.45–53.
- [102] Van Den Hende et al, 2014. Treatment of industrial wastewaters by microalgal bacterial flocs in sequencing batch reactors. *Bioresource Technology*, 161, pp.245–254. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.057>.
- [103] Gao,. Electro-coagulation-flotation process for algae removal. *Journal of Hazardous Materials*, 177(1–3), pp.336–343. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.12.037>. 2010.
- [104] Poelman,. Potential of electrolytic flocculation for recovery of micro-algae. *Resources, Conservation and Recycling*, 19(1), pp.1–10. 1997.
- [105] Milledge, J.J. & Heaven, S., 2013. A review of the harvesting of micro-algae for biofuel production. , pp.165–178.
- [106] Mohamed, "Study of hydrogen production by solar energy as tool of storing and utilization renewable energy for the desert areas". *International Journal of Hydrogen Energy*,41(45), pp.20788–20806.
- [107] Yilmaz,. A review of solar based hydrogen production methods. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 56, pp.171–178.V.2016.
- [108] Jothinathan Lakshmi & Ganapathy Sozhan & Subramanyan Vasudevan,. Recovery of hydrogen and removal of nitrate from water by electrocoagulation process. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(4), pp.2184–2192. 2013.
- [109] Ali etYaakob,. Electrocoagulation for Treatment of Industrial Effluents and Hydrogen Production. <http://dx.doi.org/10.5772/48633>. Available at: <http://dx.doi.org/10.5772/48633>. 2012;
- [110] Balabel,. Optimum Operating Conditions for Alkaline Water Electrolysis Coupled with Solar PV Energy System. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 39, pp.4211–4220. 2014.
- [111] Vandamme, 2011. Evaluation of electro-coagulation-flocculation for harvesting

- marine and freshwater microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, 108(10), pp.2320–2329.
- [112] Misra,. Evaluation of operating conditions for sustainable harvesting of microalgal biomass applying electrochemical method using non sacrificial electrodes. *Bioresource Technology*, 176, pp.1–7. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.014>. 2015.
- [113] Ozyonar,. Operating Cost Analysis and Treatment of Domestic Wastewater by Electrocoagulation Using Aluminum Electrodes. , 20(1), pp.173–179. 2011.
- [114] Spilling,. Inducing autoflocculation in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* through CO₂ regulation. *Journal of Applied Phycology*, 23(6), pp.959–966. 2011.
- [115] Lemaire, 2005. L ' utilisation des microalgues pour la fabrication de biocarburants : analyse de la chaîne de valeur - contexte français et international. Rapport de Stage effectué à la Direction Générale de l'Énergie et du Climat (Ministère de l'Écologie, du Développement Durable et de l'Énergie français.
- [116] Farooq, 2013. Two-stage cultivation of two *Chlorella* sp. strains by simultaneous treatment of brewery wastewater and maximizing lipid productivity. *Bioresource Technology*, 132(June), pp.230–238.
- [117] Yecong Li , Yi-Feng Chen, Paul Chen, Min Min, Wenguang Zhoua, Blanca Martinez ,Jun Zhu, Roger Ruan. Characterization of a microalga *Chlorella* sp. well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. *Bioresource Technology*, 102(8), pp.5138–5144. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2011.01.091>.
- [118] Bartley,. Effects of salinity on growth and lipid accumulation of biofuel microalga *Nannochloropsis salina* and invading organisms. *Biomass and Bioenergy*, 54, pp.83–88. 2013.
- [119] Feng,. Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium. *Bioresource Technology*, 102(1), pp.101–105. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.016>. 2010.
- [120] Xue,. The pivotal role of malic enzyme in enhancing oil accumulation in green microalga *Chlorella pyrenoidosa*. *Microbial Cell Factories*, 15(1), pp.1–9. 2016.
- [121] Liandong Zhua, Zhongming Wang, Qing Shu, Josu Takala , Erkki Hiltunen, Pingzhong Feng , Zhenhong Yuan. Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment. *Water Research*, 47(13), pp.4294–4302.

- [122] I. Rawat, R. Ranjith Kumar, T. Mutanda, F. Bux. Dual role of microalgae : Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy*, 88(10), pp.3411–3424. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.11.025.apenergy.2010>.
- [123] Teresa M. Mataa, Adélio M. Mendesa, Nídia S. Caetano , António A. Martins . Sustainability and economic evaluation of microalgae grown in brewery wastewater. *Bioresource Technology*, 168, pp.151–158.
- [124] Hossain, A. B M Sharif Salleh, Aishah Boyce, Amru Nasrulhaq Chowdhury, Partha Naquiuddin, Mohd. Biodiesel fuel production from algae as renewable energy. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 2008.
- [125] Fukuda, Hideki, Kondo, Akihiko, Noda, Hideo. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2001.
- [126] Meher LC, Vidya Sagar D, Naik SN. Technical aspects of biodiesel production by transesterification — a review. *Renew Sustain Energy Rev* 2006;10:248–68.
- [127] Sharma R, Chisti Y, Banerjee UC. Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnol Adv* 2001;19: 627–62.
- [128] M. Saad Khan, I. Ahmed, M. I. Abdul Mutalib and M. A. Bustam, "Characterization of Diesel-Hydrogen Peroxide Fuel Blend", *Journal of Energy Technologies and Policy*, Vol.3, No.11, pp.274-279, 2013.
- [129] M. R. Riazi, *Characterization and Properties of Petroleum Fractions*, First Edition, Philadelphia, USA, January 2005, pp. 325

ANNEXES

Tableau 1. Données climatologiques enregistrées au niveau de la station Météorologique d'Ouargla (2015-2017)

Ministère des travaux publics et des transports									
Année	Mois	TN en °C	TX en °C	UN en %	UX en %	FX en m/s	RR en mm	INS en Heure	EVA en mm
2015	Janvier	4.0	18.3	26	72	8.4	0.8	259.0	93.0
	Février	6.9	18.8	26	63	9.9	24.5	218.9	91.0
	Mars	10.1	24.6	17	59	8.6	4.7	299.4	158.9
	Avril	16.3	32.1	12	41	9.3	0.0	272.1	256.5
	Mai	20.7	37.0	11	33	9.1	0.0	347.5	334.1
	Juin	24.7	39.8	10	33	9.0	0.0	239.0	365.4
	Juillet	26.5	42.0	10	32	6.9	0.0	339.0	346.7
	Août	29.1	42.8	13	39	9.7	Trace	310.8	366.6
	Septembre	23.9	37.9	17	50	8.3	1.3	226.2	233.8
	Octobre	17.6	31.8	22	56	7.9	Trace	259.0	158.5
	Novembre	10.9	24.3	30	72	6.8	0.0	270.8	98.2
	Décembre	4.8	20.0	34	81	4.7	0.0	253.9	75.2
2016	Janvier	6.5	21.2	25	63	6.6	Trace	259.8	135.8
	Février	8.1	22.7	20	57	7.7	0.0	249.0	187.0
	Mars	9.7	25.7	14	45	8.3	2.0	302.0	259.4
	Avril	16.7	32.8	14	49	10.3	1.0	285.6	288.6
	Mai	21.3	36.0	11	35	12.3	0.0	259.8	388.3
	Juin	24.9	41.0	11	32	10.5	0.0	190.7	479.6
	Juillet	27.4	42.6	10	30	8.9	0.0	322.1	486.1
	Août	26.9	41.3	12	32	9.0	0.0	352.1	473.1
	Septembre	24.3	38.0	17	49	8.7	4.6	282.0	301.9
	Octobre	19.4	34.2	19	56	8.3	4.3	251.0	278.9
	Novembre	10.5	24.5	25	67	3.8	0.7	228.8	157.7
	Décembre	8.1	19.5	41	87	6.6	4.5	211.0	85.3
2017	Janvier	3.4	17.5	27	72	8.7	0.3	263.2	110.7
	Février	8.5	23.1	22	58	10.0	0.0	204.2	172.6
	Mars	11.5	26.1	18	57	9.9	20.7	285.1	239.2

ANNEXES

Avril	15.2	29.9	17	50	11.7	0.8	272.1	283.9
Mai	22.9	37.5	12	37	11.8	Trace	283.9	464.9
Juin	25.5	40.4	12	35	11.7	0.2	205.3	433.3
Juillet	27.3	43.1	11	27	9.9	0.0	325.3	505.1
Août	27.1	42.9	10	32	10.5	0.0	366.1	439.3
Septembre	21.9	36.6	18	56	10.3	12.8	266.0	270.4
Octobre	16.1	29.4	25	68	8.0	22.6	296.4	187.2
Novembre	9.4	22.9	29	76	8.5	14.6	240.1	129.2
Décembre	5.4	18.2	33	80	9.4	2.6	226.0	80.3

Légendes

TN Température moyenne minimale
en °C

TX Température moyenne maximale en °C

UN Humidité relative minimale en %

UX Humidité relative maximale en %

FX Vent max en m/s

RR Cumul des pluies en mm

EVA Evaporation totale en mm

INS Durée d'Insolation en Heure

Trace Quantité de pluie inférieure à 0.1 mm

ANNEXES

Tableau 2. Normes des rejets d'effluents liquides industriels : Décret exécutif n° 06-141 du 19 Avril 2006.

PARAMETRES	UNITES	VALEURS MAXIMALES
Températures	C°	30
pH	-	6,5 à 8,5
MES	mg/L	35
DBO5	mg/L	45
DCO	mg/L	120
Azote Kjeldahl	mg/L	30
Phosphore total	mg/L	10
Cyanures	mg/L	0,1
Aluminium	mg/L	3
Cadmium	mg/L	0,2
Fer	mg/L	3
Manganèse	mg/L	1
Nickel total	mg/L	0,5
Plomb total	mg/L	0,5
Zinc total	mg/L	3
Cuivre total	mg/L	0,5
Mercure total	mg/L	0,01
Huile et Graisses	mg/L	20
Hydrocarbures totaux	mg/L	10
Indice de Phénols	mg/L	0,3
Composé organique Chlorés	mg/L	5

ANNEXES

Tableau 3 : Les valeurs de pH et d'Oxygène dissous pendant 21 jours

Oxygène dissous (OD)	pH	Jours
1.9	5.19	1
3.1	6.22	3
4.3	6.65	5
5	6.74	7
5.4	6.81	9
5.9	6.95	11
6.3	6.98	13
6.8	7	15
7	7.2	17
7.7	7.3	19
8.6	7.5	21

Total des solides en suspension (TSS) en (mg /L)

Poids du papier filtrant propre mL = 0,4818 g

Poids du papier filtrant propre et le résidu m² = 0,4856 g

Poids du résidu m = 0,0038 g

Volume de l'échantillon v = 100 mL

TSS= (0.0038 x 1000) /100

TSS= 38 mg/L

	EPP Brut	Traitement des algues	Traitement Charbon activé
TSS (mg/L)	38	1188	37

Microscopie électronique à balayage Phenom ProX équipée d'une microanalyse aux rayons X

Les systèmes MEB de table PHENOM peuvent être équipés d'un grand nombre de logiciels, parmi laquelle cartographie d'images automatique et Particule Métrique pour la mesure et la classification automatiques de la forme et de la taille de particules.

Le PHENOM est équipé d'un microscope optique couleur qui fournit un aperçu continu de votre échantillon. Grâce à cette fonctionnalité « Never lost » vous pouvez naviguer rapidement et aisément vers la zone à analyser de l'échantillon qui vous intéresse sans perdre pour autant la vue globale de celui-ci.

Chaque échantillon peut être fixé simplement dans un porte-échantillon spécifique à votre besoin. Après le chargement automatique, vous obtenez immédiatement une image optique et une image électronique en seulement 30 secondes.

Le MEB de table PHENOM est équipé d'une platine mobile selon 2 axes (X-Y), motorisée et pilotée par ordinateur, qui permet d'analyser et d'imager rapidement chaque emplacement sur l'échantillon.



Spectroscopie d'absorption atomique (SAA)

La spectrométrie par absorption atomique est basée sur l'absorption de photons par des atomes à l'état fondamental. C'est une méthode qui a l'heure actuelle acquiert une réputation dans le domaine de la chimie comme une technique de permettant de doser plusieurs éléments chimiques à l'état de traces (quelques mg/litre) dans une variété de types d'échantillons.



Figure : Spectrophotométrie d'absorption atomique.

Caractéristiques techniques du spectrophotomètre d'absorption atomique (SAA):

- Type VARIAN 220.
- Monochromateur à contrôle automatique.
- Boîte de gaz automatique ou 'HAMER' programmable.
- Quatre positions fixes pour lampes à cathodes creuses avec sélection par levier ou miroir automatique.
- Chambre de nébulisation /nébuliseur Mark 7 avec brûleur Mark VII.
- Correcteur de fond Deutérium et détecteur PM large gamme.
- Gaz utilisé : mélange Air- acétylène.
- Contrôlé Par le logiciel SpectrAA résidant dans un ordinateur PC sous Windows 98.

Principe de fonctionnement

Le dispositif expérimental utilisé en absorption atomique se compose d'une source, une lampe à cathode creuse, un brûleur et un nébuliseur, un monochromateur et un détecteur relié à un amplificateur et un dispositif d'acquisition.

L'échantillon à analyser est en solution. Celle-ci est aspirée au moyen d'un capillaire par le nébuliseur. A l'orifice du nébuliseur, du fait de l'éjection d'un gaz à grande vitesse, il se crée une dépression (effet Venturi). La solution d'analyse est alors aspirée dans le capillaire et à la sortie, elle est pulvérisée en un aérosol constitué de fines gouttelettes. Cet aérosol pénètre

ANNEXES

alors dans la chambre de nébulisation dont le rôle est de faire éclater les gouttelettes et d'éliminer les plus grosses. Ce brouillard homogène pénètre alors dans le brûleur.

L'aérosol pénètre dans le brûleur puis dans la flamme. Au bout d'un certain parcours au seuil de la flamme, le solvant de la gouttelette est éliminé, il reste les sels ou particules solides qui sont alors fondus, vaporisés puis atomisés par la flamme (air-acétylène) qui est la plus répandue et permet de réaliser le dosage de nombreux éléments. Sa température est de 2500°C environ.

Le monochromateur reçoit le signal émet par les atomes atomisés puis ce signal est arrivé ensuite sur le détecteur pour mesurer les intensités lumineuses nécessaires au calcul des absorbances. Il est relié à un amplificateur et un dispositif d'acquisition.

MODE D'UTILISATION D'UNE CELLULE DE MALASSEZ

Une cellule de Malassez est une lame spéciale quadrillée qui permet le comptage de différents types de cellules

Mode opératoire

Pour réaliser le remplissage de la cellule, il faut :

- ✓ Humidifier les glissières latérales sur lesquelles va reposer la lamelle
- ✓ Déposer la lamelle sur les rebords, celle-ci doit adhérer par un "effet ventouse"
- ✓ Placer l'extrémité de la pipette contre la lamelle et délivrer par capillarité le liquide en évitant tout débordement vers les rigoles.

Principe de comptage

La totalité de la cellule est composée de 100 rectangles dont les dimensions sont :

Long.= 0,25 mm / larg.= 0,20 mm / Prof. = 0,20 mm,

Le volume total de la cellule est de 1 mm³: (100x2,5 x 0,2 x 0,20),

Le quadrillage est donc constitué de 10 bandes verticales (0,25 mm) et de 10 bandes horizontales (0,20 mm) formant ainsi 100 rectangles,

On ne compte les cellules que dans 10 des 25 rectangles non contigus pris au hasard dans la cellule.

On totalise le nombre de cellules présentes dans chaque rectangle.

Arbitrairement, il est convenu de ne tenir compte que des cellules positionnées sur les côtés droits et inférieurs.

On calcule le nombre moyen de cellules par rectangle (total des cellules observées dans 10 rectangles divisé par le nombre de rectangles comptés),

ANNEXES

On multiplie le nombre obtenu par 100 pour connaître le nombre d'entités cellulaires par mm³,

Comme dans toute expériences, il est important de faire des réplicats. Ce type de comptage manuel, bien que fastidieux, est économique et facile à mettre en place dans un laboratoire. Cependant, après le comptage il est essentiel de nettoyer les lames en verre pour éviter toutes contaminations croisées.

Pour pallier ce risque de contamination, des lames en plastique à usage unique ont été développées :

Ces lames en plastique comportent 2 chambres de dépôt avec chacune 2 quadrillages permettant d'effectuer 2 comptages à partir d'une seule lame.