الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LARECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة قاصدي مرباح- ورقلة

UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA

FACULTE DES SCIENCES APPLIQUEES

DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDES

THÈSE EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLÔME DE DOCTORAT (LMD)

Spécialité : Énergétiques et procédés

Intitulé

Culture des microorganismes dans les eaux usées

Présentée et Soutenue publiquement par :

DEHMANI Siham

Le : 28/10/2018

Devant le jury composé de :

Mr. MESSAITFA Ammar	Professeur	U.K.M. Ouargla	Président
Mr. BEBBA Ahmed Abdelhafid	Professeur	U.K.M. Ouargla	Examinateur
Mr. DJAFER Lahcène	MCA	UHBC. Chlef	Examinateur
Mr. BOUTOUTAOU Djamel	Professeur	U.K.M. Ouargla	Examinateur
Mr. ZERROUKI Djamal	Professeur	U.K.M. Ouargla	Rapporteur

Année universitaire: 2017 – 2018

Résumé

L'utilisation simultanée des microalgues pour le traitement des eaux usées et la production d'une biomasse algale valorisable est une option faisable.

La capacité des microalgues à dégrader les matières organiques, l'élimination des nutriments, absorption des métaux lourds sont bien connus depuis longtemps, par contre utilisation des algues n'ait pas été entièrement exploitée pour le traitement des eaux usées.

Le succès de cette technologie dépend encore beaucoup de la sélection, de la culture et de la récolte efficaces des souches microalgales.

Par conséquent, ce manuscrit est concentré d'une partie à la culture des microalgues dans des systèmes fermés et ouverts en utilisant les eaux usées comme un milieu de culture.

Chlorella pyrenoidosa, Chlorococcum.sp, Heamatococcums.sp, Dunaliella salina, Isochrysis.sp, Chlorella sorokiniana, Spirulina et *Nannochloropsis. sp* ont été cultivées dans les eaux usées provenant de la station d'épuration (STEP) de Said Otba et de Sidi Khouiled. Les taux d'élimination des matières polluantes par ces microalgues étaient plus élevés que celles éliminées par le procédé de lagunage aéré de deux STEP.

D'une autre part, l'irrigation de deux légumes (laitue et épinard) par des eaux de forage (EF), des eaux usées traitées par les microalgues (EM) et des eaux usées traitées par lagunage aéré (ES) a montré que la teneur des métaux lourds dans les légumes était supérieure quand utilisant les eaux usées traitées par lagunage aéré dans l'irrigation.

Ensuite, la caractérisation de la biomasse a montré que *C.pyrenoidosa* était contaminé par deux souches bactériennes (*Listeria grayi* et *Cellulomonas.sp*). De plus, elle contient de 49% de carbone, de 7,06% d'hydrogène, de 35.49% d'oxygène, de 7.8% d'azote et de 0.65 % de soufre.

Mots clés : microalgues, culture, pollution, irrigation et biomasse.

Abstract

The Simultaneous approach for using microalgae for wastewater treatment and algal biomass production is a feasible opportunity.

The ability of microalgae for organic matter degradation, nutrient removal, heavy metal absorption have been well known for long time, however the use of algae for wastewater treatment has not been fully investigated.

The success of this technology is still highly dependent on the efficient strains selection, cultivation and harvesting.

Therefore, this manuscript is focused one microalgae culture in closed and open systems using wastewater as a culture medium.

Chlorella pyrenoidosa, Chlorococcum.sp, Heamatococcums.sp, Dunaliella salina, Isochrysis.sp, Chlorella sorokiniana, Spirulina and Nannochloropsis. Sp was grown in wastewater from the wastewater treatment plant (WWTP) of Said Otba and Sidi Khouiled. The obtained resultants showed that the nutrient removal rates were higher than those eliminated by the aerated lagoon process of two WWTPs.

However, irrigation of two vegetables (lettuce and spinach) by drilling water (EF), wastewater treated with microalgae (MS) and wastewater treated by aerated lagoon (ES) showed that the heavy metals content in vegetables was higher when using wastewater treated by aerated lagoon in irrigation.

The characterization of the harvested biomass showed that C. pyrenoidosa was contaminated by two bacterial strains (Listeria grayi and Cellulomonas.sp). In addition, it contains 49% carbon, 7.06% hydrogen, 35.49% oxygen, 7.8% nitrogen and 0.65% sulfur.

Key words: microalgae, culture, pollution, irrigation and biomass.

الملخص

إن الاستخدام المتزامن للطحالب المجهرية في معالجة مياه الصرف الصحي وإنتاج كتلة حيوية هو خيار ممكن. لطالما كانت قدرة الطحالب المجهرية على تحليل المادة العضوية ، إزالة المغذيات وامتصاص المعادن الثقيلة معروفة، غير أن استخدام الطحالب لم يتم استغلاله بالكامل لمعالجة مياه الصرف الصحي. لا يزال نجاح هذه التكنولوجيا يعتمد بشكل كبير على كفاءة اختيار، زراعة وحصاد سلالات الطحالب.

لذلك ، تركز هذه المذ كرة على زراعة الطحالب المجهرية في الأنظمة المغلقة والمفتوحة باستخدام مياه الصرف الصحي كوسط للزراعة.

وقد تمت زراعة كلوريلا بيرانودوزا، كلوروكوكيم، ايماتوكوكيس، دوناليلا صالينا، ايزوكرسيس، كلوريلا سوروكينينا، سبيرلينا و نانوكلوروبسيس في مياه الصرف الصحي من محطة التصفية سعيد عتبة و سيدي خويلد.كانت معدلات إزالة الملوثات بواسطة هذه الطحالب أعلى من تلك التي ازيلت بواسطة نظام احواض التهوية في محطتي التصفية. من ناحية أخرى، سقي نوعين من الخضروات (الخس ، السبانخ) بواسطة المياه الصالحة للشرب ، المياه المستعملة المعالجة بواسطة الطحالب و المياه المستعملة المعالجة بواسطة نظام احواض التهوية اثبت ان كمية المعادن الثقيلة في الخضروات تكون اكبر عند استعمال المياه المستعملة المعالجة بنظام التهوية في السقي.

ثم،ان تحليل كلوريلا بيرانودوزا اطهر انها ملوثة بسلالتين من البكتيريا (ليستيريا قرايي و سيلولوموناس).

بالاضافة الى ذلك، فهي تتكون من: 49 ٪ من الكربون، 7.06٪ من الهيدروجين، 35.49 ٪ من الاكسجين و 0.65٪ من الكبريت.

الكلمات المفتاحية: الطحالب، زراعة، الملوثات، السقي و الكتلة الحيوية.

REMERCIMENTS

On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination. Les quatre ans de maîtrise nous ont permis de bien comprendre la signification de cette phrase toute simple. Ce parcours, en effet, ne s'est pas réalisé sans défis.

Tout d'abord, louange à « Allah » le tout puissant qui nous a guidés sur le droit chemin tout au long du travail, et nous a inspiré les bons pas et les justes réflexes. Sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

Je tiens à remercier particulièrement mon directeur de thèse, monsieur le Professeur Zerrouki Djamal. Sa haute compétence, ses qualités humaines, sa disponibilité, son soutien et ses conseils ont été pour moi une source inestimable de réconfort et d'encouragement pour l'accomplissement de ce travail. Je le remercie d'avoir dirigé mes recherches .Qu'il soit assuré pour tout cela de ma profonde reconnaissance et de mon profond respect.

Une très grande reconnaissance va au Professeur Ammar Messaitfa de l'UKM, pour l'honneur qu'il nous fait de présider le jury de cette thèse.

J'adresse également mes sincères remerciements au Professeur Bebba Ahmed Abdelhafidde l'UKM d'avoir accepté de juger ce travail et d'apporter ses critiques tant constructives.

Je remercie chaleureusement le Professeur BOUTOUTAOU Djamel de l'UKM pour avoir bien voulu examiner ce travail et de contribuer par ces conseils tant souhaités.

Comme je remercie infiniment monsieur le Docteur Djafer Lahcène de l'UHBC d'avoir accepté de prendre part à l'appréciation de ce travail et d'apporter ses suggestions congruentes.

Mes remerciements vont également à Ahmed Faouzi Lacheleh que Dieu lui accorde santé et prospérité.

J’adresse ma profonde gratitude envers les différents membres de l’équipe de la STEP de Said Otba Ouargla : Makhloufi isma3il, Halima, Nadia , Samiha, Tante Aicha, Chettouh, Boukabouya et Zino.

Ma reconnaissance et mes vifs remerciements vont également au Ossama Oualed laid.

Je tiens à remercier Madame Korim Chef de service microbiologie de l’hôpital Mohamed Boudiaf pour sa contribution intéressante lors de la deuxième année de cette thèse, pour ses qualités humaines et sa richesse scientifique dans monde des bactéries.

Je remercie chaleureusement monsieur Khabab.

Je remercie tous mes chères collègues: Siham meflah, Mehdi sghiri, mahboube sara, Ali khshired, Abdesslam et Asma ayachi.

Je remercie tous les professeurs de la faculté des sciences appliquées particulièrement les professeurs du département de génie des procédés.

SIHAM

Dédicace

A cœur vaillant rien d'impossible
A conscience tranquille tout est accessible

Quand il y a la soif d'apprendre
Tout vient à point à qui sait attendre

Quand il y a le souci de réaliser un dessein
Tout devient facile pour arriver à nos fins
Malgré les obstacles qui s'opposent
En dépit des difficultés qui s'interposent

Les études sont avant tout
Notre unique et seul atout

Ils représentent la lumière de notre existence
L'étoile brillante de notre réjouissance

Comme un vol de gerfauts hors du charnier natal
Nous partons ivres d'un rêve héroïque et brutal

Espérant des lendemains épiques
Un avenir glorieux et magique

Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis
Jour et nuit, nous mènera vers le bonheur fleuri
Aujourd'hui, ici rassemblés auprès des jurys,
Nous prions dieu que cette soutenance
Fera signe de persévérance
Et que nous serions enchantés
Par notre travail honoré

Je dédie cette thèse à …

Je dédie cette thèse à mes parents, A ma très chère mère Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

A mon très cher père, Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A mes chères sœurs hafsa et chaimaa sans oublier ma prinssece belkeis

A mes chers frères, Salah, alaa, Mohamed, saif.

A mon cher frère Fateh, sa femme Soumia et ses enfants Aous et Soad.

A ma belle amie Raouia merci pour être là à ma cotée.

A mon adorable tante Hakima Mokhtari et ses enfants.

A mon cher ami Khnblouche Abdelkader.

A ma chère Becher soumia.

siham. D

Table des matières

LISTE DES ABREVIATIONS I

LISTE DES FIGURES III

LISTE DES TABLEAUX VI

INTRODUCTION GENERALE 1

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LA CULTURE DES MICROALGUES 3

I. 1. INTRODUCTION 3

I. 2. L'EVOLUTION DE LA CULTURE DES MICROALGUES 3

I. 3. CULTURE DES MICROALGUES 5

I. 3. 1. MILIEU DE CULTURE 5
I. 3. 2. SYSTEME DE CULTURE 5
I. 3. 2. 1. Système ouvert *6*
I. 3. 2. 1. 1. Avantages 9
I. 3. 2. 1. 2. Inconvénients et limitations 10
I. 3. 2. 2. Système fermé *10*
I. 3. 2. 2. 1. Avantages 12
I. 3. 2. 2. 2. Inconvénients et limitations 12
I. 3. 2. 3. Systèmes hybrides *12*
I. 3. 3. FACTEURS INFLUENÇANT LA CROISSANCE DES MICROALGUES 13
I. 3. 3. 1. Lumière *13*
I. 3. 3. 2. La température *14*
I. 3. 3. 3. Les nutriments *15*
I. 3. 3. 3. 1. L'azote 15
I. 3. 3. 3. 2. Le phosphore 16
I. 3. 3. 4. pH *16*
I. 3. 3. 5. CO_2 ..... *17*
I. 3. 3. 6. L'agitation *17*

CHAPITRE II. GENERALITES SUR LES EAUX USEES 19

II. 1. INTRODUCTION 19

II. 2. ORIGINE DES EAUX USEES BRUTES 19

II. 2. 1. LES EAUX USEES DOMESTIQUES 19
II. 2. 2. LES EAUX USEES INDUSTRIELLES 20
II. 2. 3. LES EAUX DE RUISSELLEMENT 20
II. 2. 4. LES EAUX USEES AGRICOLES 20

II. 3. COMPOSITION DES EAUX USEES 20

II. 3. 1. MICROORGANISMES 21
II. 3. 2. LES MATIERES EN SUSPENSION (MES) 21
II. 3. 3. LES ELEMENTS TRACES, MINERAUX OU ORGANIQUES 21
II. 3. 3. 1. Les métaux lourds *22*
II. 3. 3. 2. Les éléments toxiques organiques *22*
II. 3. 4. LES SUBSTANCES NUTRITIVES 22

II. 4. L'EPURATION DES EAUX USEES 23

II. 5. REUTILISATION DES EAUX USEES EPUREES DANS LE DOMAINE AGRICOLE 25

CHAPITRE III. CULTURE DES MICROALGUES DANS LES EAUX USEES 26

III. 1. INTRODUCTION **26**

III. 2. CARACTERISTIQUES PHYSICOCHIMIQUES DES EAUX USEES DE LA STATION D'OUARGLA **27**

A. pH 27
B. LES MATIERES EN SUSPENSION (MES) 28
C. LA DEMANDE CHIMIQUE EN OXYGENE (DCO) 29
D. L'AMMONIUM (NH_4^+) 30
E. NITRATES 31
F. PHOSPHATE 33

III. 3. CULTURE DES MICROALGUES DANS LES EAUX USEES DE LA STATION DE SAID OTBA **34**

III. 3. 1. SOUCHE ET CONDITIONS DE CULTURE 34
III. 3. 2. CULTURE DE *C. PYRENOIDOSA* DANS UN SYSTEME OUVERT A L'EXTERIEUR 34
III. 3. 3. METHODES ANALYTIQUES 35
III. 3. 4. LA CROISSANCE DES MICROALGUES DANS LES EAUX USEES 36
III. 3. 5. ÉLIMINATION DES NUTRIMENTS DES EAUX USEES 40
III. 3. 6. INTERACTION ENTRE LES BACTERIES ET LES MICROALGUES 45
III. 3. 6. 1. Elimination des nutriments *46*
III. 3. 6. 2. Comparaison entre les procédés de traitement *49*

III. 4. CULTURE DES MICROALGUES DANS LES EAUX USEES DE LA STATION DE SIDI KHOUILED **50**

III. 4. 1. SOUCHE ET CONDITIONS DE CULTURE 50
III. 4. 2. DETERMINATION DE LA CROISSANCE DES MICROALGUES 50
III. 4. 3. ÉVALUATION DE LA CROISSANCE DES MICROALGUES PENDANT LA PERIODE DE CULTURE 51
III. 4. 4. ÉLIMINATION DES NUTRIMENTS DES EAUX USEES 54

CHAPITRE IV. REUTILISATION DES EAUX USEES TRAITEES PAR LES MICROALGUES DANS L'IRRIGATION **58**

IV. 1. INTRODUCTION **58**

IV. 2. CONDITIONS EXPERIMENTALES **58**

IV. 3. METHODES ANALYTIQUES **59**

IV. 3. 1. ÉCHANTILLONNAGE ET ANALYSE DES EAUX UTILISEES 59
IV. 3. 2. ÉCHANTILLONNAGE ET ANALYSE DES SOLS 61
IV. 3. 3. ÉCHANTILLONNAGE ET ANALYSE DES PLANTES 61

IV. 4. RESULTATS ET DISCUSSIONS **62**

IV. 4. 1. LA QUALITE DES EAUX D'IRRIGATION 62
IV. 4. 2. CARACTERISTIQUES PHYSIQUES, CHIMIQUES ET MICROBIOLOGIQUES DU SOL 63
IV. 4. 3. L'EFFET DES EAUX D'IRRIGATION SUR LA CROISSANCE DES PLANTES 65
IV. 4. 3. 1. La qualité bactériologique des plantes *66*
IV. 4. 3. 2. L'accumulation des métaux lourds dans les plantes *67*

CHAPITRE V. CARACTERISATION DE LA BIOMASSE ALGALE **74**

V. 1. INTRODUCTION **74**

V. 2. PREPARATION ET ANALYSES DES POUDRES ALGALES **75**

V. 2. 1. RECOLTE DE LA BIOMASSE 75
V. 2. 2. ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES SOUCHES BACTERIENNES DANS LA POUDRE DE *C. PYRENOIDOSA* 75
V. 2. 3. COMPOSITION CHIMIQUE 76
V. 2. 4. DETERMINATION DE LA TENEUR EN LIPIDES 76
V. 2. 5. ANALYSE FTIR 77
V. 2. 6. ANALYSE ATG/DTG 77

V. 3. RESULTATS ET DISCUTIONS 77

V. 3. 1. IDENTIFICATION DES SOUCHES BACTERIENNES CONTAMINANTES DE LA BIOMASSE 77
V. 3. 2. LA COMPOSITION CHIMIQUE DE *C. PYRENOIDOSA* 80
V. 3. 3. THERMOGRAVIMETRIE DE LA BIOMASSE DE *C. PYRENOIDOSA* 86

CONCLUSION GENERALE 89

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 91

ANNEXE I 116

ANNEXE II 127

Liste des abréviations

CO_2	Dioxyde de carbone
H_2	hydrogène moléculaire
pH	potentiel hydrogène
PBR	photobioréacteur
Mg^{2+}	Magnésium
Ca^{2+}	Calcium
Mn^{2+}	Manganèse
Zn^{2+}	Zinc
Cu^{2+}	Cuivre
Mo	Molybdène
OMS	Organisation mondiale de la santé
FAO	Food and Agriculture Organisation
EDTA	Éthylène Diamine Tétra-Acétique
$MgSO_4$	Sulfate de magnésium
$NaNO_3$	nitrate de sodium
K_2HPO_4	hydrogénophosphate de potassium
$CaCl_2$	chlorure de calcium
H_3BO_3	acide borique
$MnCl_2$	chlorure de manganèse
$ZnSO_4$	sulfate de zinc
$NaMoO_4$	molybdate de sodium
TDS	solides dissouts totaux
E-Coli	Escherichia coli
ADN	acide désoxyribonucléique
ARN	acide ribonucléique
ATG	analyse thermogravimétrique
DTG	Dérivé thermogravimétrique
API	analytical profile index
ATP	Adénosine triphosphate
UFC	unité formant colonie
ppm	Partie par million
STEP	Station d'épuration
C. pyrenoidosa	Chlorella pyrenoidosa
C. sorokiniana	Chlorella sorikiniana
PT	Phosphore total
DCO	Demande chimique en oxygène
MES	Matière en suspension
$NaHCO_3$	bicarbonate de sodium
Na_2CO_3	carbonate de sodium
$CuSO_4$	sulfate de cuivre(II)
CH_2	méthylène
CH_3	méthyle
CaO	oxyde de calcium
MgO	oxyde de magnésium
SiO_2	dioxyde de silicium
P_2O_5	hémipentoxyde de phosphore

SO_3	trioxyde de soufre
NaO_2	dioxyde de sodium

Liste des figures

Fig1. Aztèque récoltant la Spiruline des lacs du Mexique. Dessin dans Nature humaine, mars 1978, par Peter T. Furst. 6
Fig.2. Femmes kanembu récoltant de la spiruline du lac Boudou Andja, au Tchad. Photo de Marzio Marzot du rapport de la FAO: L'avenir est un lac antique, 2004. 7
Fig.3. Lagune de Hutt en Australie et sa couleur rose due aux pigments de Dunaliella salina (β-carotène). Photo par Samuel Orchard. 7
Fig.4. Yaeyama sur l'île d'Okinawa, dans le sud du Japon, où les algues Chlorella sont cultivées dans des bassin circulaires. 8
Fig.5. Étang Raceway. Photo prise au Laboratoire de Biotechnologie Microalgal de la Faculté des Pêches de l'Université de çukurova à Adana, Turquie. 9
Fig.6. Photobioréacteurs tubulaires horizontaux 11
Fig 7. Photobioréacteur à plaques plates 12
Fig.8.les principaux étapes de traitement des eaux usées 24
Fig.9. Variation de pH en fonction du temps des eaux usées brutes et traitées par lagunage aéré (a) STEP de Said Otba –(b) STEP de Sidi Khouiled 28
Fig.10. Variation de MES en fonction du temps des eaux usées brutes et traitées par lagunage aéré (a) STEP de Said Otba –(b) STEP de Sidi Khouiled 29
Fig.11. variation de la demande chimique en oxygène en fonction du temps des eaux usées brutes et traitées par lagunage aéré (a) STEP de Said Otba –(b) STEP de Sidi Khouiled 30
Fig.12. variation de l'ammonium en fonction du temps des eaux usées brutes et traitées par lagunage aéré (a) STEP de Said Otba –(b) STEP de Sidi Khouiled 31
Fig.13. variation de nitrate en fonction du temps des eaux usées brutes et traitées par lagunage aéré (a) STEP de Said Otba –(b) STEP de Sidi Khouiled 32
Fig.14.variation de phosphate total en fonction de temps des eaux usées brutes et traitées par lagunage aéré (a) STEP de Said Otba –(b) STEP de Sidi Khouiled 33
Fig.15. Culture de*C.pyrenoidosa*dans les eaux usées-à gauche : eaux usées brutes 36
- à droite : eaux usées traitées par *C.pyrenoidosa*. 36
Fig.16. la biomasse de *C.pyrenoidosa* durant la période de culture 37
Fig.17.variation de température pendant la période de culture. 38

Fig.18. Variation de l'irradiance solaire durant la période de culture 39
Fig. 19. Oxygène dissous et variation du pH pendant la période de culture.....40
Fig.20. Variation d'ammonium pendant la durée de culture 42
Fig.21. Variation de nitrate pendant la durée de culture.....43
Fig.22.variation de phosphore durant la période de culture.....44
Fig.23. Variation de DCO pendant la durée de culture.....45
Fig.24.variation de la demande chimique en oxygène pendant la durée de culture.....47
Fig.25.variation de phosphore totale durant la période de culture.....48
Fig.26.variations de l'ammonium durant la période de culture 48
Fig.27. Le taux d'élimination des nutriments des eaux usées.....49
Fig.28. la croissance des microalgues pendant la période de culture 51
Fig.29.la croissance des microalgues.....52
Fig.30.variation de pH pendant la période de culture 53
Fig.31.variation de phosphore totale en mg/l des eaux usées brutes et des eaux usées traitées (ETU) 54
Fig.32.variation de la demande chimique en oxygène en mg/l des eaux usées brutes et des eaux usées traitées (ETU) 56
Fig.33.variation de l'ammonium en mg/l des eaux usées brutes et des eaux usées traitées (ETU) 57
Fig.34.les seaux avant plantation 59
Fig.35.culture de Chlorococcum dans les eaux usées.....60
Fig.36.la croissance des plantes –à gauche après 15 jours –à droite après mois 65
Fig.37.les plantes après 70 jours 66
Fig.38.la concentration de Nickel (mg / kg) dans les feuilles de la laitue 68
Fig.39. la concentration de cadmium (mg / kg) dans les feuilles de la laitue 69
Fig.40. la concentration de cuivre (mg / kg) dans les feuilles de la laitue 70
Fig.41. la concentration de zinc (mg / kg) dans les feuilles de la laitue 71
Fig.42. la concentration de chrome (mg / kg) dans les feuilles de la laitue 72
Fig.43. la concentration de cobalt (mg / kg) dans les feuilles de la laitue 72
Fig.44. Les systèmes d'identification galeries API Coryne - à gauche- avant incubation -à droite- après incubation. 78

Fig.45. Image en microscopie électronique à balayage de C. pyrendoisa 81
Fig.46. la biomasse sèche de C. pyrendoisa.....81
Fig.47. Image MEB de la biomasse calcinée à 500 ° C 83
Fig.48. Composition de la biomasse calcinée à 500 ° C (EDX) 83
Fig.49. Image MEB de la biomasse calcinée à 1200 °C 84
Fig.50. Composition de la biomasse calcinée à 1200 ° C (EDX) 84
Fig.51. Spectres FTIR de la biomasse de *C.pyrenoidosa* sèche et calcinées à 1200 ° C.....85
Fig.52. Analyse ATG/DTG en fonction de température.....88

Liste des tableaux

Tab.1. Les caractéristiques des eaux usées brutes 35
Tab.2. Caractéristiques des eaux usées après traitement 49
Tab.3. Les caractéristiques des eaux usée brutes de Sidi Khouiled 50
Tab.4. Analyse des eaux utilisées dans l'irrigation 62
Tab.5. Analyses chimiques et bactériologiques du sol 64
Tab.6. Analyse bactériologiques des plantes 67
Tab.7. Les résultats d'inoculation des différents isolats. 79
Tab.8. La sensibilité et la résistance aux antibiotiques 80
Tab.9. Analyse élémentaire des microalgues 82
Tab.10. Concentration des minéraux et métaux lourds dans les microalgues 82

Introduction générale

La demande en eau potable est actuellement une priorité mondiale. En raison de l'industrialisation, l'urbanisation, l'amélioration des conditions de vie de la population et la recherche du confort. Le volume des eaux usées généré en augmentation permanente. Les eaux potables deviennent de plus en plus polluées et le risque d'une pénurie augmente de jour en jour dans la plupart des pays en voie de développement. Le recours à un traitement efficace et économique pour la réutilisation des eaux usées est une nécessité.

Le principal défi des stations de traitement des eaux usées (STEP) est non seulement de produire de l'eau propre réutilisable, mais aussi de trouver des ressources pour soutenir ces nouveaux développements. L'investissement global actuel dans le traitement est considérablement élevé. Les STEP offrent généralement un traitement composé de plusieurs étapes basées sur des méthodes physiques, chimiques et biologiques. La combinaison de traitement des eaux usées avec la production de la biomasse microalgale est une approche adoptée pour réduire les matières organiques polluantes. La biomasse issue du traitement des eaux usées peut être utilisée pour la production d'énergie dans deux types d'utilisation: directe (chaleur et électricité) et indirecte (conversion du carburant de transport).

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés à étudier la culture de différentes souches microalgales dans les eaux usées brutes provenant de deux stations d'épuration d'Ouargla.

Cette thèse est répartie en cinq chapitres :

Le premier chapitre est une étude bibliographique qui donnera une aperçue générale sur les micros algues et sur le développement de leur culture au cours des années. Les systèmes de culture des microalgues et les éléments nutritifs nécessaires pour leur croissance ont été détaillés dans ce chapitre.

Le deuxième chapitre est consacré à une description générale sur la composition chimique et microbiologique des eaux usées. Ainsi, l'épuration et la réutilisation des eaux usées.

Ensuite, le troisième chapitre décrit les résultats de la culture de *C. pyrenoidosa* dans un bassin ouvert où les eaux usées de la station d'épuration de Said Otba sont utilisées comme un milieu de croissance. Les résultats obtenus à partir de la culture de huit souches microalgales dans des systèmes fermés ont été également présentés dans ce chapitre.

Dans le quatrième chapitre, nous montrons l'effet des eaux usées traitées par lagunage aéré et les eaux usées traitées par la souche *Chlorococcum. sp* valorisée dans l'irrigation et leurs effets sur la croissance des plantes.

Le dernier chapitre de ce manuscrit est consacré à la caractérisation de la biomasse algale obtenue en utilise les eaux usées comme milieu de culture.

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

Chapitre I. Généralités sur la culture des microalgues

I. 1. Introduction

Ce premier chapitre est consacré à une présentation générale sur les microalgues, leur milieu de culture, les systèmes de cultures utilisés et les paramètres affectant leur croissance.

Les microalgues peuvent être définies comme des microorganismes procaryotes (cyanobactérie) ou eucaryotes photosynthétique (Williams et al. 2010) qui ont la capacité de développer rapidement et de vivre dans des environnements différents.

Ces microorganismes ont besoin de la lumière, de CO_2, l'eau et d'autres nutriments pour la croissance (Kröger et al. 2012); capable de vivre dans des environnements marins et en eau douce (Rajvanshi et al. 2012). En effet, seulement 30000 espèces de microalgues ont été étudiées malgré que plus de 50000 espèces d'entre elles sont connues (Chaumont 1993; Mata et al. 2010).

Les microalgues sont classées selon des critères tels que la pigmentation, l'organisation des membranes photosynthétiques et d'autres caractéristiques morphologiques. Selon Hoek et al. (1995) les microalgues sont généralement subdivisées en groupes taxonomiques comprenant les algues vertes (Chlorophyceae), les diatomées (Bacillophyceae), les algues vert-jaune (Xanthophyceae), les algues dorées (Chrysophyceae), les algues rouges (Rhodophyceae), les algues brunes Phaeophyceae), dinoflagellés (Dinophyceae), Prasinophyceae et Eustigmatophyceae (Yanqun Li et al. 2008; Chac 2010).

I. 2. L'évolution de la culture des microalgues

Un grand nombre des techniques de culture des microalgues ont été décrites dans plusieurs travaux (Moore 1903; Küster 1907; Chodat 1913; Pringsheim 1924; Kufferath et al. 1932; Meier 1932; Chu 1946; Pringsheim 1946; Lewin 1966; Guillard 1975).

Le premier rapport de cultures pures d'algues provient du microbiologiste Hollandais Beijerinck (Beijerinck 1890), qui fut le premier à isoler la *Chlorella* et la *Scenedesmus* vivant libre dans des cultures stériles sans bactéries. Les études de Beijerinck sur les

algues vertes étaient celles des travaux de Miquel (Miquel 1890; Miquel 1892) sur les diatomées.

Les travaux sur la culture des microalgues à grande échelle ont débuté aux États-Unis d'Amérique en 1948-1950 et les premières études pilotes importantes pour la production de *Chlorella* ont été réalisées en 1951 au Massachusetts, États-Unis (Burlew 1953).

L'utilisation des microalgues a évolué au cours des années en fonction des besoins humains. Les microalgues ont été considérées comme une nouvelle source prometteuse de biomasse, complétant les cultures agricoles conventionnelles. De plus, la majeure partie de la biomasse peut être valorisée en raison de la teneur élevée en protéines et en lipides (Lam et al. 2012).

Les microalgues fournissent plusieurs nutriments comme les vitamines, les antioxydants, les protéines et les acides gras essentiels. La première culture commerciale à grande échelle de Chlorella a débuté au Japon au début des années 1960 par Nihon (Spolaore et al. 2006), suivie d'une installation de récolte et de culture de la Spiruline au Mexique (début des années 1970)(Wang et al. 2014).

Oswald et ses collaborateur en 1960 ont développé la culture des microalgues à grande échelle dans le traitement des eaux usées et la production de la biomasse (Oswald et al. 1960).

Dans les années 1990, le Ministère Japonais du Commerce International et de l'Industrie par l'intermédiaire de l'Organisation des Nouvelles Energies et Technologies Industrielles élaboraient des projets de l'Institut de Recherche sur les Technologies Innovantes pour la Terre, dont l'objectif était la mise en place des méthodes propres de fixation biologique du CO_2 basées sur l'intégration efficace des fonctions photosynthétiques des micro-organismes (Hanagata et al. 1992; Kurano et al. 1995). Des nouveaux résultats ont été découverts, concernant la croissance des microalgues pour les biocarburants en utilisant les gaz de combustion des centrales électriques comme source de CO_2 (Zighmi et al. 2017).

La production biologique d'hydrogène gazeux (H_2) a été largement étudiée dans les années 1970, mais les premières découvertes ont débuté dans les années 1940 avec la

production de H_2 à partir de cultures des microalgues vertes unicellulaires sous irradiation lumineuse (Gaffron 1939; Gaffron et al. 1942) .

La production de médicaments par des souches de microalgues est encore en développement, certains peuvent produire des substances antibiotiques, antifongiques ou antivirales (Chen et al. 2016). Alors que d'autres produisent des substances qui jouent un rôle important dans la prévention des maladies liées au stress oxydatif c'est-à-dire le cancer et les troubles neurologiques (Custódio et al. 2012).

I. 3. Culture des microalgues

I. 3. 1. Milieu de culture

Dans les milieux naturels, les microalgues obtiennent toutes les nutriments dont ils ont besoin dans l'eau dans laquelle ils vivent. Cependant, pour les développées en laboratoire, nous devons synthétiser des milieux de croissance.

Les milieux de culture des microalgues font référence à la solution ou à la culture dans laquelle les microalgues se multiplient. Tous les milieux ont plusieurs composants en commun: les sources d'azote (dans les nitrates et l'ammoniac), le phosphore, les vitamines et les éléments traces (Georgi et al. 2012). Parmi les milieux de culture synthétiques les plus utilisés par de nombreux chercheurs sont: BBM (milieu basal de Bold) (Bischoff et al. 1963), Allen (Allen 1959).

I. 3. 2. Système de culture

La culture des microalgues peut être réalisée dans des systèmes ouverts, fermés ou hybrides (Martins et al. 2009; Jankowska et al. 2017). Ces systèmes ont des avantages et des inconvénients en fonction du produit final souhaité. Malgré cela, le succès de chaque système de culture à petite ou à grande échelle dépend de nombreux paramètres tels que l'intensité efficace de la source lumineuse, transfert optimal de gaz et de liquide, facile à utiliser, faible niveau de contamination, faibles coûts de production, superficie minimale, maximisation des nutriments, et contrôle de la température (Novoveská et al. 2016; Wolf et al. 2016).

I. 3. 2. 1. Système ouvert

La culture des algues dans les systèmes ouverts est utilisée depuis les années 1950 (Brennan et al. 2010); certaines raisons de leur préférence sont les propriétés des algues à s'adapter à l'environnement local. Certaines conceptions de ce type peuvent être classées dans les eaux naturelles (lacs et lagunes) ainsi que dans les bassins artificiels. Les plus anciens relevés proviennent des Aztèques qui avaient l'habitude de récolter *Arthrospira* (*Spiruline*) du lac Texcoco dans le Mexique actuel (Figure 1) (Borowitzka et al. 2013).

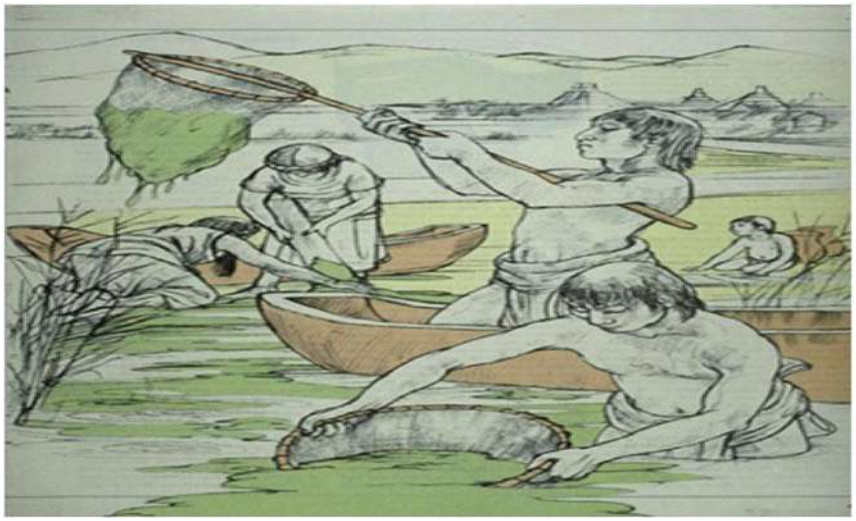


Fig1. Aztèque récoltant la Spiruline des lacs du Mexique. Dessin dans Nature humaine, par Peter T. Furst, mars 1978

Il existe de nombreux exemples de lacs eutrophies ou de petits bassins naturels qui ont été exploités pour la production de microalgues. Par exemple, le long de la bordure nord-est du lac de Tchad, on trouve de nombreux lacs temporaires ou permanents créent des conditions favorables à la croissance de *l'Arthrospira*. Ces lacs sont des systèmes naturels très productifs et certains d'entre eux sont exploités par les Kanembu (Figure 2) (Abdulqader et al. 2000).

Fig. 2. Femmes kanembu récoltant de la spiruline du lac Boudou Andja, au Tchad. Photo de Marzio Marzot du rapport de la FAO: L'avenir est un lac antique, 2004.

Dans les années 1970 et 1980, *Dunaliella* est également produit dans deux lagunes en Australie: Lagune de Hutt (Australie occidentale) et Whyalla (Australie méridionale) (Figure 3) (Tredici 2004).

Fig. 3. Lagune de Hutt en Australie et sa couleur rose due aux pigments de Dunaliella salina (β-carotène). Photo par Samuel Orchard.

D'autre part, les bassins artificiels sont des bassins peu profonds, des bassins circulaires, des systèmes de type incliné et des bassins ouverts (raceway).

Les bassins circulaires sont les plus anciens systèmes de culture d'algues à grande échelle. Ils ne sont pas favorisés dans la production de microalgues, car ils nécessitent une construction en béton coûteuse et un apport d'énergie élevé pour l'agitation assuré par un bras rotatif monté au centre de l'étang. Ces dispositifs sont largement utilisés au Japon (Figure 4), à Taïwan et en Indonésie pour la production de *Chlorella* (Lee 1997; Tredici 2004).

Fig. 4. Yaeyama sur l'île d'Okinawa, dans le sud du Japon, où les algues *Chlorella* sont cultivées dans des bassins circulaires.

Les bassins de types raceway (Figure 5) sont les plus utilisés pour la production commerciale de micro-algues. Ils sont les moins chers à construire et leur fonctionnement est simple (Borowitzka et al. 2013; Enzing et al. 2014). Ils sont constitués d'une boucle fermée avec des canaux de recirculation ovales, l'agitation se fait à l'aide d'une roue à aubes pour assurer l'homogénéisation de la culture. La roue à aubes est en fonctionnement continu pour empêcher la sédimentation (Borowitzkaet al. 2013).

Fig. 5. Étang Raceway. Photo prise au Laboratoire de Biotechnologie Microalgal de la Faculté des Pêches de l'Université de çukurova à Adana, Turquie.

Plusieurs expériences dans des bassins raceway ont été menées à travers le monde, par exemple, l'Earthrise Nutritionals en Californie a construit la plus grande installation de bassins de raceway couvrant une superficie de 440 000 m^2 (Milledge 2011). La productivité de la biomasse dans un système ouvert est affectée par plusieurs facteurs :

- Facteurs liés à l'environnement : localisation du système de culture, pluie et la lumière du soleil.
- Conception technique: profondeur du bassin, système de distribution de CO_2, méthodes d'agitation et la consommation d'énergie.
- Paramètres physiques et biologiques: pH, l'accumulation d'oxygène, la salinité et la présence de zooplancton pathogènes.

I. 3. 2. 1. 1. Avantages

Ces systèmes ont des avantages comme :

- Un faible coût de déploiement à grande échelle ainsi que nécessite moins d'énergie (Mata et al. 2010; Kröger et al. 2012).
- La maintenance, le nettoyage, la construction et la configuration sont faciles à réaliser (Richardson et al. 2012; Moreno et al. 2017).

I. 3. 2. 1. 2. Inconvénients et limitations

Parmi les problèmes majeurs auxquels ils sont confronter les cultures dans les bassins raceway:

- la difficulté de contrôler les conditions de croissance et la fluctuation de certains paramètres comme la variation de température, pH, salinité …. etc. Cela crée un environnement difficile pour la plupart des souches de microalgues (Borowitzka 1999; Carvalho et al. 2006; Chisti 2008; Schenk et al. 2008).
- Les menaces de contamination et de nombreuses souches luttent pour concurrencer les prédateurs et la compétition microbienne pour la lumière du soleil et les nutriments (De-Bashan et al. 2004; Kim et al. 2014).
- Les pertes par évaporation, la quantité de lumière solaire fournie tout au long de la journée et les fluctuations de température doivent tous être pris en compte afin de maximiser la croissance des microalgues (Lee 2001; Brennan et al. 2010;Ho et al. 2011).
- Le rendement de la biomasse de microalgues est également affecté par d'autres microorganismes (par exemple, le rotifère) qui peuvent contaminer ou consommer les microalgues (Chisti 2007; Collet et al. 2011).

I. 3. 2. 2. Système fermé

Les inconvénients et la limitation des bassins ouverts peuvent être surmenés par la conception et le développement de systèmes fermés, communément appelés photo bioréacteurs (Zittelli et al. 1999; Arenas et al. 2016), ces derniers sont des récipients fermés, fabriqués en matériaux transparents pour permettre à la lumière de pénétrer à l’intérieur de la culture (Martins et al. 2009; Zhou et al. 2015).

Les photobioréacteurs (PBR) sont appropriés pour être utilisés pour cultiver des souches de micro-algues sensibles à l'environnement car une construction fermée est relativement facile à contrôler la contamination ainsi que les paramètres environnementaux (Brennan et al. 2010; Rawat et al. 2011).

Actuellement, différents modèles de photobioréacteurs fermés ont été étudiés pour la culture de microalgues; les deux conceptions les plus utilisés étant les photobioréacteurs tubulaires et à plaques planes (Kiran et al. 2014). En effet , les

matériaux utilisés dans la construction des photobioréacteurs tubulaires sont soit des tubes en plastique ou du verre (Figure 6) (Demirbas 2010). L'aération du mélange est généralement effectuée par des pompes à air (Kiran et al. 2014). Ceux-ci peuvent être verticaux (Pirt et al. 1983) ou horizontaux (Molina et al. 2001).

L'agitation est généralement effectuée par un diffuseur fixé au fond du réacteur. Cette disposition améliore également le transfert de CO_2; en outre, il assure l'élimination de l'oxygène produit par la photosynthèse facilement (Leite et al. 2013).

Fig. 6. Photobioréacteurs tubulaires horizontaux

Dans les photobioréacteurs à plaques plates une couche mince de culture très dense est passée à travers un panneau transparent plat en verre ou en polycarbonate (Kiran et al. 2014). Les photobioréacteurs à plaques plates ont suscité un grand intérêt pour la recherche en raison de leur rapport surface / volume élevé et de leurs fortes densités cellulaires (> 80 g / l) (Brennan et al. 2010).

L'agitation est réaliser en le faisant tourner mécaniquement à l'aide d'un moteur ou en barbotent de l'air à travers un tube perforé (figure 7) (Bitog et al. 2011).

Les photobioréacteurs à plaque plate est le plus approprié pour la culture collective en raison de leur faible accumulation d'oxygène dissous et de leur efficacité photosynthétique élevée par rapport aux géométries tubulaires (Barbosa et al. 2005; Kiran et al. 2014).

Fig 7. Photobioréacteur à plaques plates

I. 3. 2. 2. 1. Avantages

Selon leur forme ou leur conception, les photobioréacteurs ont plusieurs avantages par rapport aux bassins ouverts:

- Mieux contrôler les conditions de culture et les paramètres de croissance (pH, température, CO_2 et O_2).
- Eviter l'évaporation, réduire les pertes de CO_2 et atteindre des densités de microalgues plus élevées ou des concentrations volumétriques plus élevées (Pulz 2001; Ugwu et al. 2008; Grobbelaar 2009; Harun et al. 2010).

I. 3. 2. 2. 2. Inconvénients et limitations

Les photobioréacteurs souffrent de plusieurs inconvénients qui doivent être résolus (Pulz 1998; Carvalho et al. 2006; Amin 2009). Leurs principales limites sont :

- la surchauffe.
- l'encrassement biologique.
- l'accumulation d'oxygène.
- le coût élevé de construction.

I. 3. 2. 3. Systèmes hybrides

Les systèmes de culture de microalgues peuvent être combinés afin d'optimiser le processus de production ; par conséquent, la majorité des bio-usines de microalgues

travaillent avec les systèmes dits hybrides (Schenk et al. 2008; Adesanya et al. 2014). Ces systèmes combinent principalement différents types de systèmes de culture, améliorant la performance globale du produit, combinant également deux stades de croissance.

Dans la première étape de la culture se déroule dans un photobioréacteurs où les conditions sont contrôlées pour minimiser la contamination par les micro-organismes (Brennan et al. 2010).

La deuxième étape consiste à faire pousser la culture dans un bassin ouvert où les cellules sont exposées à un certain stress nutritionnel afin d'augmenter la synthèse d'un métabolite spécifique (lipide, protéine ou carbohydrate) (Costa et al. 2013; Park et al. 2013; Adesanya et al. 2014).

I. 3. 3. Facteurs influençant la croissance des microalgues

La croissance des microalgues repose sur plusieurs facteurs, dont la lumière, la température, les nutriments, le pH, CO_2 du milieu et l'agitation de la culture (Caperon et al. 1972; Nurdogan et al. 1995; Pulz 2001; Torzillo et al. 2003; Ishika et al. 2017). En outre, l'importance de chaque paramètre varie en fonction des espèces de microalgues.

I. 3. 3. 1. Lumière

La lumière est une source principale d'énergie qui entraîne la photosynthèse chez les microalgues. L'un des facteurs limitants les plus importants pour la croissance des microalgues est l'intensité lumineuse. Les exigences pour ce facteur varient avec la profondeur de culture et la densité de culture.

L'intensité lumineuse la plus utilisée a été d'environ 200 µmol de photons $m^{-2}s^{-1}$ pour la plupart des espèces de microalgues (Evangelista et al. 2006). Cependant, en termes de qualité spectrale, les plages rouges (700 nm) et bleues (470 nm) du spectre ont été largement étudiées pour examiner l'effet des longueurs d'onde de la lumière sur la croissance des microalgues (Richmond 2004).

De façon générale, chaque espèce voit sa croissance optimisée à l'intérieur d'une plage spécifique de valeurs de luminosité en dehors de laquelle certains effets néfastes peuvent se produire, par exemple lorsque l'intensité lumineuse se situe au-delà des

valeurs optimales pour une espèce, un phénomène de photo-inhibition se produit (Tillett 1988; Walker 2009; Feng et al. 2014).

Bouarab et al. (2002) montrent que le taux de croissance de *Micractinium Pusilum*en en fonction de l'intensité lumineuse présente une évolution à deux phases: une première phase où il y a une relation linéaire entre la croissance et l'intensité lumineuse jusqu'à une valeur maximale (μmax) correspondante à une intensité optimale, au-delà de laquelle, il se produit la deuxième phase caractérisée par une diminution des taux de croissance en fonction de l'intensité lumineuse. Ces résultats sont expliqués par la photo-inhibition de la croissance. Dauta et al. (1990) présente la photo-inhibition comme un mécanisme purement photochimique associé à l'intensité lumineuse élevée avec un effet synergique de la température. Pour Ogbonna et al. (2000) puis Torzillo et al. (2003), la croissance algale est inhibée pour des intensités lumineuses supérieures à 200 μmol/m^2/s.

I. 3. 3. 2. La température

La température influe fortement sur la croissance des microalgues (Davison 1991). Par ailleurs, les cultures de microalgues devraient être maintenues à des températures similaires à celles observées dans les milieux où elles ont été recueillies (Hu 2004; Larsdotter 2006). Les espèces les plus étudiées peuvent pousser à des températures comprises entre 16 et 27°C (Evangelista et al. 2006).

D'autre part, chez certaines espèces, lorsque la cellule est exposée à des températures basses, son métabolisme est ralenti, mais la quantité d'énergie absorbée par la photosynthèse reste identique, elle absorbe donc trop d'énergie par rapport à sa capacité à l'utiliser et souffre donc de photo-inhibition (Degen et al. 2001; Pulz 2001; Pires et al. 2012).

Le contenu cellulaire va lui aussi varier avec la température. Par exemple, la quantité d'acides gras insaturés augmente avec une diminution de la température chez *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris* et *Botryococcus braunii* (Sushchik et al. 2003; Jiang et al. 2004), ainsi que des changements dans le taux des pigments (l'astaxanthine, β-carotène et cantaxanthine) ont été également observés lors de l'augmentation de la température (Robarts et al. 1987; Xin et al. 2011).

I. 3. 3. 3. Les nutriments

Pour une croissance optimale, les microalgues exigent un milieu de culture riche en nutriments qui sont des éléments nécessaires à la croissance et à la survie des cellules.

Dans le milieu naturel, le nombre de cellules varie en fonction des conditions environnementales ou des pollutions anthropogéniques.

En laboratoire, les milieux de culture sont adaptés pour éviter toute carence en ces éléments. Les changements de concentrations ont des répercussions sur les cellules des microalgues.

Les nutriments tels que le carbone, l'azote et le phosphore jouent un rôle important dans le métabolisme cellulaire et la composition biochimique des microalgues (Ishika et al. 2017). Une altération de concentration en ces nutriments peut provoquer une teneur plus ou moins importante de lipides, de sucres ou des éléments tels que le β-carotène ou l'astaxanthin (Richmond 2008).

La croissance des microalgues nécessite encore la présence d'oligo-éléments, en particulier des métaux, tels que le Mg, Ca, Mn, Zn, Cu et Mo (Grobbelaar 2004; Kumar et al. 2010), d'autres études ont rapporté l'utilisation de vitamines pour améliorer la croissance des micro-algues (Kumar et al. 2010).

I. 3. 3. 3. 1. L'azote

les principales sources d'azote sont les ions nitrate, nitrite, ammonium et l'urée (Xu et al. 2001; Gross 2003; Qin et al. 2016). Selon les études de Becker 2007 et Richmond 2008, la carence en azote augmente la teneur en lipides pour certaines espèces de microalgues et pour d'autres, elle augmente la teneur en carbohydrates.

Lourenço et al. (2004) ont montré que l'azote est principalement utilisé pour la synthèse protéique. Néanmoins, il est également présent sous la forme d'azote inorganique (NH_4^+ et NO_3^-), au sein des acides nucléiques (ARN et ADN) et en faible proportion dans la chlorophylle.

En outre, de nombreuses études se sont penchées sur l'effet de la concentration en cet élément dans le milieu de culture. Chez *Chlorella vulgaris* (Lv et al. 2010; Bhola et al. 2011; Dragone et al. 2011) et *Chlorella ellipsoidea* (Yang et al. 2011) une

augmentation de la concentration en azote dans le milieu entraîne une augmentation de la biomasse, de la quantité de protéines et de chlorophylle par cellule.

I. 3. 3. 3. 2. Le phosphore

Le phosphore est habituellement fourni sous forme d'orthophosphate et il joue un rôle important dans le transfert d'énergie et la biosynthèse des acides nucléiques dans les cellules (Evangelista et al. 2006; Kumar et al. 2010).

Comme l'azote, les carences en phosphore peuvent induire une augmentation de β- carotène ou d'astaxanthine (Richmond 2008). Le phosphore permet de réguler et réduire la toxicité des métaux par la formation des PPB (polyphosphate bodies) en maintenant des faibles niveaux cytoplasmiques de métaux.

le phosphore est en partie importants chez des microalgues tolérantes et aussi sensibles aux métaux (Torres et al. 2008); il intervient dans la séquestration des métaux lourds et toxiques comme Zn, Pb et Cd dans les microalgues. Le phosphore est un élément essentiel pour la cellule. Il intervient au cours de nombreux processus métaboliques (Chen et al. 2011). Il entre en jeu dans les chemins métaboliques régulant la division cellulaire. Sa concentration cellulaire va donc avoir un impact direct sur la production de biomasse. Il est aussi nécessaire dans la cellule pour satisfaire les besoins énergétiques et de biosynthèse des organites (Moseley et al. 2006).

Une limitation en phosphore entraîne une baisse de la biomasse, de la quantité de chlorophylle , de polysaccharides et de protéines dans la cellule (Peršić et al. 2009; Chia et al. 2013).

I. 3. 3. 4. pH

Le pH dépend principalement de la concentration en carbone inorganique dans le milieu, sous forme de CO_2, acide carbonique (H_2CO_3), bicarbonate (HCO_3^-) ou carbonate (CO_3^{2-}). En ce qui concerne l'effet du pH, la majorité des espèces de microalgues sont cultivées dans un intervalle de pH compris entre 7,0 et 9,0 (Hu 2004; Yen et al. 2014).

Cependant, certaines microalgues sont alcalophiles, tandis que d'autres sont acidophiles. Par exemple, *Spirulina platensis* est capable de pousser dans des

environnements de pH compris entre 9,0 et 10,0 , par contre *Chlorococcum littorale* préfère les milieux acides avec des valeurs de pH comprises entre 5,0 et 6,0 (Belkin et al. 1991; Iwasaki et al. 1996; Ota et al. 2009).

Le pH de l'eau affecte de nombreux processus biochimiques associés à la croissance des microalgues et au métabolisme (Lee et al. 2011).

Le pH est une fonction feedback de l'activité photosynthétique des microalgues, l'alcalinité et de la composition ionique du milieu de culture (Escobar et al. 2000; Heubeck et al. 2007; Park et al. 2010). La consommation de CO_2 par les microalgues au cours de la photosynthèse va principalement se traduire par une augmentation du pH (Kumar et al. 2010; Liu et al. 2013).

I. 3. 3. 5. CO_2

Dioxyde de carbone, carbone inorganique (par exemple, $NaHCO_3$ et Na_2CO_3) et carbone organique (tels que l'acétate de sodium, le glucose, le glycérol, etc.) est des sources de carbone pour la croissance des microalgues (Skjånes et al. 2007; Qin et al. 2016). De plus, l'air de l'atmosphère et les émissions des centrales industrielles sont également utilisés comme sources de carbone (Doucha et al. 2005). Certaines espèces de microalgues sont capables d'utiliser de fortes concentrations de CO_2 pour leur croissance. Par exemple, *Chlorococcum littorale* a une tolérance allant jusqu'à 40% (v / v) de CO_2 (Wilkie et al. 2002).

Certaines microalgues marines sont capables d'utiliser les carbonates comme source de carbone pour leur croissance (Ishika et al. 2017). L'utilisation de CO_2 provenant des gaz de combustion des centrales électriques pour la culture de microalgues a été rapportée par Cembella 2003 et Mendes 2013.

De plus, la fixation du dioxyde de carbone comme source de carbone dans la culture des microalgues a une valeur à la fois économique et environnementale, car elle réduit les effets du réchauffement climatique (Crofcheck et al. 2012).

I. 3. 3. 6. L'agitation

L'agitation lors de la culture des microalgues est indispensable pour obtenir des productivités importantes de biomasse. Elle permet de mieux éclairer les cellules, de

favoriser l'apport de CO_2 en améliorant le transfert gaz-liquide et d'éliminer l'oxygène produit qui pourrait être toxique à la culture (Moheimani 2005).

L'agitation est réalisée fréquemment en injectant le gaz, air ou air enrichi en CO_2 dans le réacteur sous forme de fines bulles, ce qui crée une circulation du liquide dans le système (Converti et al. 2009).

Des études expérimentales ont montré qu'à faibles densités cellulaires, l'agitation n'a pas un effet significatif sur la productivité de la biomasse. Toutefois, lorsque les densités cellulaires commencent à augmenter, il est nécessaire de favoriser l'agitation à l'intérieur de la culture (Eriksen 2008; Richmond 2008).

Certaines recherches ont montré que le taux d'injection de gaz à haut débit peut endommager les cellules (Eriksen 2008). Si le taux d'injection de gaz est trop élevé, les cellules risquent d'être cisaillées par les bulles et endommagées. Il est donc nécessaire de trouver le débit le plus approprié pour éviter ce risque.

Chapitre II. Généralités sur les eaux usées

II. 1. Introduction

Les éléments nutritifs essentiels à la croissance des microalgues sont le carbone, l'azote et le phosphore. Étant donné que les eaux usées présentent des concentrations considérables de ces nutriments, plusieurs études ont rapporté le potentiel de croissance des microalgues dans les eaux usées provenant de différentes sources (Yang et al. 2011; Hernández et al. 2013).

Ces études ont révélé que l'utilisation des eaux usées pour la culture de microalgues favorise un traitement efficace de ces eaux (les rendements d'élimination de l'azote et du phosphore correspondent de 60-99 % et de 54-95%, respectivement); tout en contribuant à la production de biomasse de microalgues à des coûts réduits et avec des impacts environnementaux moindres, puisque l'apport en nutriments et l'eau douce ne sont pas nécessaires (Boelee et al. 2011; Silva et al. 2012).

Dans ce chapitre, nous souhaiterons présenter comment les eaux usées peuvent couvrir le manque des nutriments pour la culture des microalgues.

II. 2. Origine des eaux usées brutes

Une eau usée ou résiduaire est une eau qui a subi une détérioration après usage. La pollution des eaux dans son sens le plus large est définie comme tout changement défavorable des caractéristiques naturelles (biologiques ou physico-chimiques) dont les causes sont directement ou indirectement en relation avec les activités humaines (Sonune et al. 2004).

II. 2. 1. Les eaux usées domestiques

Sont des eaux usées issues de l'utilisation de l'eau (potable dans la majorité des cas) par les particuliers pour satisfaire tous les usages ménagers (Kellogg et al. 2000). Lorsque les habitations sont en zone d'assainissement collectif, les eaux domestiques se retrouvent dans les égouts. Elles constituent l'essentiel de la pollution et se composent**:**

- Des eaux de cuisine, qui contiennent des matières minérales en suspension provenant du lavage des légumes, des substances alimentaires à base de matières organiques) et des produits détergents.
- Des eaux de buanderie, contenant principalement des détergents.
- Des eaux de salle de bains, chargées en produits utilisés pour l'hygiène corporelle, généralement de matières grasses hydrocarbonées.
- Des eaux de vannes, qui proviennent des sanitaires, très chargées en matières organiques hydrocarbonées, en composés azotés, phosphorés et en microorganisme.

II. 2. 2. Les eaux usées industrielles

Tous les rejets résultants d'une utilisation de l'eau autre que domestique sont qualifiés de rejets industriels. Cette définition concerne les rejets des usines, mais aussi les rejets d'activités artisanales ou commerciales : blanchisserie, laboratoire d'analyses médicales … etc (Bhatnagar et al. 2010).

II. 2. 3. Les eaux de ruissellement

Les eaux pluviales peuvent, elles aussi, constituer une source de pollution importante des cours d'eau, notamment pendant les périodes orageuses. L'eau de pluie se charge d'impuretés au contact de l'air (fumées industrielles), puis, en ruisselant, elle entraine des résidus déposés sur les toits et les chaussées des villes (huiles de vidange, carburants et métaux lourds. . .) (Ahluwalia et al. 2007).

II. 2. 4. Les eaux usées agricoles

Ce sont des eaux de drainage et des rejets de fermes. Ces eaux sont caractérisées par la présence de fortes concentrations de pesticides et d'engrais. (Kellogg et al. 2000).

II. 3. Composition des eaux usées

La composition des eaux usées est extrêmement variable en fonction de leur origine (Industrielle, domestique, etc). Elles peuvent contenir de nombreuses substances,

sous forme solide ou dissoute, ainsi que de nombreux micro-organismes. En fonction de leurs caractéristiques physiques, chimiques, biologiques et du danger sanitaire qu'elles représentent, ces substances peuvent être classées en quatre groupes: les microorganismes, les matières en suspension, les éléments traces minéraux ou organiques, et les substances nutritives (Jayakumar et al. 2017; Logroño et al. 2017).

II. 3. 1. Microorganismes

Les eaux usées contiennent tous les microorganismes excrétés avec les matières fécales. L'ensemble de ces organismes peut être classé en quatre grands groupes: les bactéries, les virus, les protozoaires et les helminthes (Koprivanac et al. 2009).

II. 3. 2. Les matières en suspension (MES)

Ce sont des matières biodégradables pour la plupart. Les micro-organismes sont le plus souvent adsorbés à leur surface et sont ainsi transportés par les MES. Elles donnent également à l'eau une apparence trouble, une mauvaise odeur.

Cependant, elles peuvent avoir un intérêt pour l'irrigation des cultures. Les particules en suspension peuvent, par définition, être éliminées par décantation. C'est une étape difficile et efficace pour réduire la charge organique et la teneur en germes pathogènes des eaux usées. Toutefois, un traitement beaucoup plus poussé est généralement requis pour faire face aux risques sanitaires (Mehanned et al. 2014).

II. 3. 3. Les éléments traces, minéraux ou organiques

Les micro-polluants organiques et non organiques résultent d'une pollution multiple et complexe. Les micropolluants sont des éléments présents en quantité infinitésimale dans les eaux usées. L'ingestion est la voie de contamination principale, dans le cas d'une réutilisation des eaux usées épurées (Jayakumar et al. 2017).

Certains micropolluants, comme les métaux lourds ou les pesticides, peuvent s'accumuler dans les tissus des êtres vivants, et notamment dans les plantes cultivées. Il peut donc y avoir une contamination de la chaîne alimentaire et une concentration de ces polluants dans les organismes (Yang et al. 2009).

II. 3. 3. 1. Les métaux lourds

Les métaux lourds que l'on trouve dans les eaux usées urbaines sont extrêmement nombreux (de l'ordre de quelques µg/l). Les plus abondants sont le zinc et le plomb. Les autres métaux (manganèse, aluminium, chrome, arsenic, sélénium, mercure, cadmium, molybdène, nickel, etc) sont présents à l'état de traces. Leur origine est multiple: ils proviennent des produits consommés au sens large par la population, des eaux pluviales dans le cas de réseau unitaire, des activités de service (santé, automobile) et éventuellement de rejets industriels (Kligerman et al. 2015). Les éléments cités dans la littérature comme étant les plus dangereux sont le plomb (Pb), l'arsenic (As), le mercure (Hg), le cadmium (Cd) et le nickel (Ni) (Gupta et al. 2008).

II. 3. 3. 2. Les éléments toxiques organiques

Les micros-polluants d'origine organique sont extrêmement nombreux et variés, ce qui rend difficile l'appréciation de leur dangerosité. Ils proviennent de l'utilisation domestique, des rejets industriels et des eaux de ruissellement sur les terres agricoles (Andreozzi et al. 2003). Parmi ces composés chimiques toxiques très persistants et qui ont une grande lipophilicité, on peut citer les hydrocarbures polycycliques aromatiques, les alkylphénols, chlorophénols, phtalates, les pesticides et les résidus pharmaceutiques actifs (Kimura et al. 2004).

II. 3. 4. Les substances nutritives

Les nutriments se trouvent en grande quantité dans l'eau usée, et constituent un paramètre de qualité important pour la valorisation de ces eaux en agriculture et en gestion des paysages. Les éléments les plus fréquents dans les eaux usées sont l'azote (NH_4^+, NO_3^- et NO_2^-), le phosphore, le potassium, le zinc, le bore et le soufre. Ces éléments se trouvent en quantités appréciables, mais en proportion très variables que ce soit, dans les eaux usées épurées ou brutes (Hamoda 2004).

II. 4. L'épuration des eaux usées

Au cours des dernières décennies, de grandes quantités d'eaux usées ont été produites, principalement en raison d'activités humaines, telles que les pratiques agricoles, l'urbanisation et l'industrialisation (Sonune et al. 2004; Aslan et al. 2006).

L'élimination continue des eaux usées sans traitement adéquat peut poser de sérieux problèmes de pollution. L'un des problèmes majeurs liés au rejet continu d'effluents dans les milieux récepteurs est le phénomène d'eutrophisation, l'enrichissement des ressources hydriques en nutriments, principalement en azote et en phosphore. Ce phénomène est responsable du développement des proliférations des algues, de la propagation des plantes aquatiques, de l'appauvrissement en oxygène et de la perte d'espèces clés, entraînant la dégradation complète des écosystèmes d'eau douce (Renuka et al. 2013; Ruiz et al. 2013). Cela démontre clairement la nécessité de méthodes de traitement efficaces, capables de réduire les concentrations d'azote et de phosphore en particulier dans les eaux usées avant de les déverser dans les milieux naturels

L'élimination de l'azote et du phosphore peut être réalisée par des méthodes chimiques, telles que la précipitation à l'aide de sels d'aluminium et de fer. Cependant, ces méthodes sont coûteuses et produisent de grandes quantités de boues contaminées par des composés chimiques (Wang et al. 2006).

Les procédés appliqués au traitement des effluents où l'eau contaminée est généralement classée en trois types: physique, chimique et biologique (figure 8).

Ceux-ci peuvent être utilisés individuellement ou en combinaison, en fonction de l'ampleur et du type de pollution. Afin d'atteindre les niveaux souhaités d'élimination des contaminants, les procédures individuelles de traitement des eaux usées sont regroupées dans divers systèmes, classés en traitements primaires, secondaires et tertiaires des eaux usées. La plupart des méthodes chimiques augmentent le pH, la conductivité et la charge globale de la matière dissoute dans les eaux usées. À cet égard, le biotraitement des eaux usées est une meilleure option.

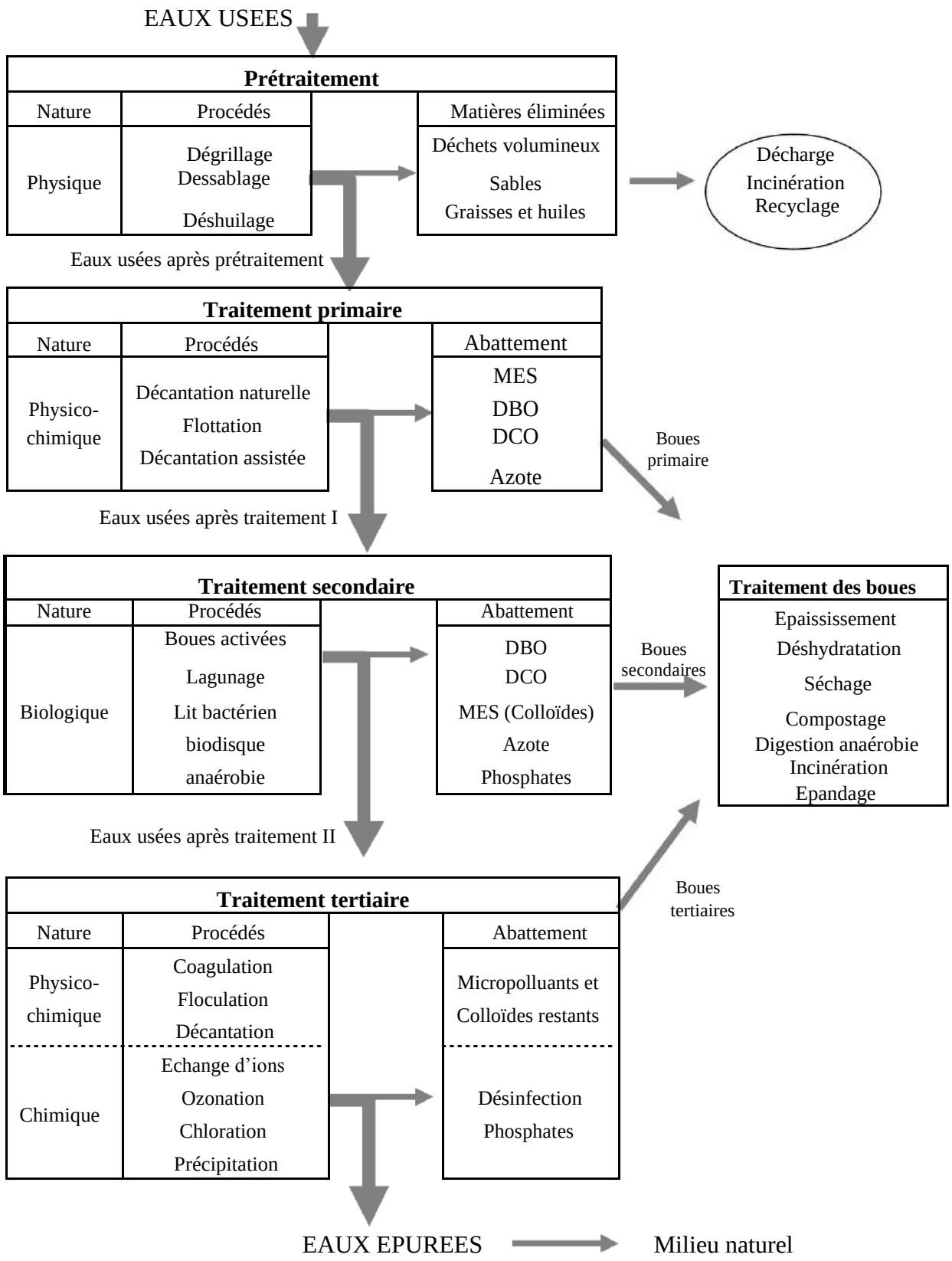


Fig. 8. les principaux étapes de traitement des eaux usées

II. 5. Réutilisation des eaux usées épurées dans le domaine agricole

La réutilisation des eaux usées pour l'irrigation dans l'agriculture est considérée comme une opportunité significative, où la pénurie de ressources en eau douce est critique pour l'agriculture et le développement urbain.

La nécessité d'augmenter la réutilisation des eaux usées dans l'agriculture est non seulement circonscrite par les pays arides et en développement, mais elle est également considérée comme un objectif primordial pour les pays où l'eau douce n'est pas considérée comme une ressource limitative (Angelakis et al. 2008).

Néanmoins, le changement climatique et l'augmentation de la demande en eau urbaine et industrielle contraignent la réutilisation des eaux usées dans l'agriculture (Dupont 2013). Malgré la réutilisation croissante des eaux usées dans le monde entier, de nombreux aspects de l'impact potentiel sur l'environnement et de l'évaluation de la sécurité et des risques doivent être étudiés (Dickin et al. 2016).

En effet, la variation du source des eaux usées (urbaines, eaux ménagères, industrielles, etc.) peuvent avoir des caractéristiques physico-chimiques et biologiques différentes, toute évaluation d'une réutilisation durable possible doit dépendre de la détermination de leur qualité chimique et biologique spécifique, de leur interaction avec l'environnement et avec des cultures irriguées (Barker 2014).

Chapitre III. Culture des microalgues dans les eaux usées

III. 1. Introduction

Un approvisionnement fiable en eau et en nutriments à faible coût est l'une des exigences les plus importantes pour réduire considérablement le coût de la production de la biomasse à partir d'algues (Slade et al. 2013).

L'utilisation des eaux usées pour la culture des microalgues diminue non seulement le besoin d'eau douce qui peut être dirigé pour d'autres utilisations concurrentes, mais fournit en même temps gratuitement des composés organiques, principalement de l'azote et du phosphore, essentiels à la croissance algale (Sekabira et al. 2011; Renuka et al. 2015).

La première recherche identifiée en tenant compte de la croissance des microalgues dans les eaux usées, d'un point de vue biotechnologique, a été publiée en 1997 (Vilchez et al. 1997). Cette étude a examiné l'utilisation de microalgues pour le traitement biologique des eaux usées et les sous-produits en mettant l'accent sur *Chlamydomonas reinhardtii*. De plus, la majorité des articles ont porté sur la production et la récolte d'algues (Munoz et al. 2006; Kumar et al. 2010; Pires et al. 2012; Razzak et al. 2013; Mehrabadi et al. 2015).

Alors que d'autres se sont concentrés spécifiquement sur les problèmes de récolte des microalgues (Gultom et al. 2013; Gerardo et al. 2015). Plusieurs scientifiques après 2010 examiner la production de biodiesel (Mata et al. 2010; Gong et al. 2011; Makareviciene et al. 2013; Zighmi et al. 2017). Plusieurs chercheurs , Dibenedetto 2011; Parmar et al. 2011; Singh et al. 2011; Singh et al. 2013; Zhou et al. 2014; Klinthong et al. 2015 considèrent les traitement des eaux usées par les microalgues comme une stratégie de bioraffinerie.

En effet, plusieurs espèces de microalgues ont été étudiées pour le traitement des eaux usées. Les plus utilisés sont *Chlorella* (Yun et al. 1997; Muñoz et al. 2009;

Petrovič et al. 2015), *Botryococcus* (Sawayama et al. 1995), *Scenedesmus* (Martınez et al. 2000; Hodaifa et al. 2008) et *Spiruline* (Chojnacka et al. 2005).

III. 2. Caractéristiques physicochimiques des eaux usées de la station d'Ouargla

La qualité des eaux usées de la ville d'Ouargla est essentiellement domestique, la majorité de ces eaux sont destinées vers la station d'épuration (STEP) de Said Otba et de Sidi Khouiled. Ces dernières basées sur la technique de lagunage aérée (la présentation de la zone d'étude se trouve dans l'annexe I).

L'évolution annuelle de quelques paramètres physico-chimiques de l'eau usée brute et traitée de chaque station d'épuration est présentée dans les figures ci-dessous.

a. pH

Une eau usée urbaine possède un pouvoir tampon élevé. La figure 9 représente les valeurs de pH des eaux usées des stations d'épuration de Said Otba et de Sidi Khouiled avant et après traitement pendant les quatre ans précédents de l'année 2014 jusqu'à 2017.

Cependant, les valeurs de pH des eaux usées brutes des stations de Said Otba et de Sidi Khouiled varient de 7. 41 à 7. 74 et de 7. 75 à 8. 25 respectivement, qui sont une caractéristique des eaux résiduaires, dont le pH est souvent de l'ordre de 7. 5 à 8, le plus favorable à l'action bactérienne, pour les processus d'épuration aérobies et anaérobie (Franck 2002).

D'après Sevrin et al. (1995), le pH alcalin et la température modérée constituent des conditions de milieu idéales pour la prolifération des microorganismes qui établit un parfait équilibre biologique, permettant la dégradation de la matière organique ce qui conduit à la décontamination de l'eau.

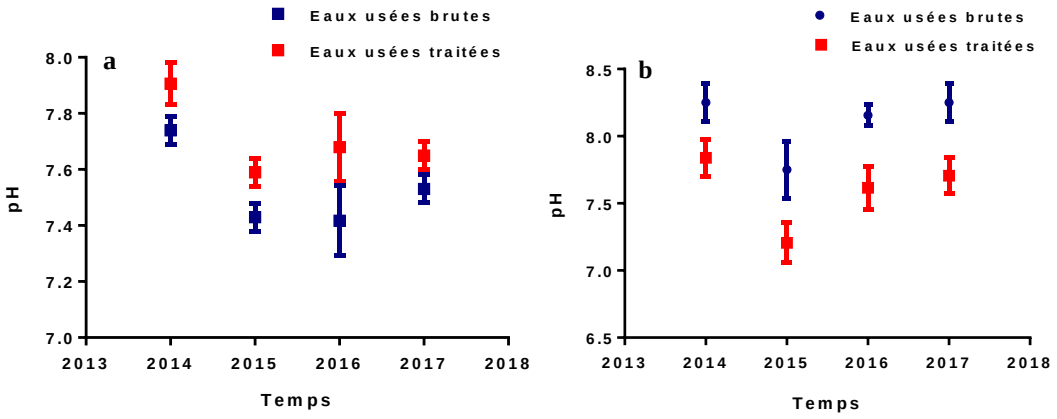


Fig. 9. Variation de pH en fonction du temps des eaux usées brutes et traitées par lagunage aéré (a)STEP de Said Otba –(b)STEP de Sidi Khouiled

En ce qui concerne les eaux usées traitées, le pH de la station de Said Otba est supérieur à celui enregistré à l'entrée. Les valeurs varient entre 7.59 et 7.9, par contre, dans le cas de la station de Sidi Khouiled les valeurs de pH sont inférieurs à celles de l'entrée. Le pH varie entre 7.2 et 7.84, respectant la norme OMS de rejet délimitée entre 6.5 et 8.5**.**

b. Les matières en suspension (MES)

Les matières en suspension (MES) représentent l'ensemble des particules minérales et organiques insolubles, flottantes ou en suspension, contenus dans les eaux usées. Elles sont en majeure partie biodégradable (Celerier et al. 2003).

Les variations de MES des stations de Said Otba et de Sidi Kouiled pendant les années précédentes sont présentées dans la figure10.

Les valeurs enregistrées au cours des années révèlent une réduction de MES entre les eaux usées brutes et traitées dans les deux stations d'épuration. Elles se situent entre 137 mg/l et 146.6 mg/l pour les eaux brutes de la station de Said Otba. En revanche, pour la station de Sidi Khouiled les valeurs de MES situent entre 147.5 mg/l et 223 mg/l.

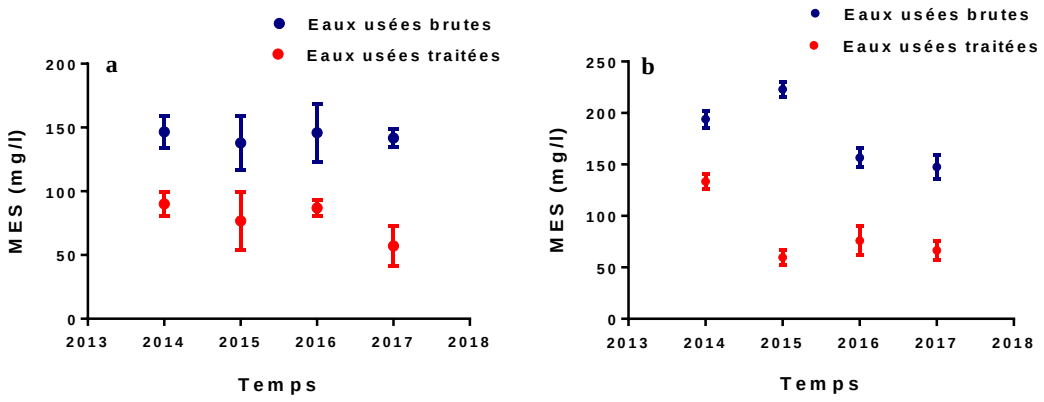


Fig. 10. Variation de MES en fonction du temps des eaux usées brutes et traitées par lagunage aéré (a)STEP de Said Otba –(b)STEP de Sidi Khouiled

Concernant les eaux épurées, le taux de MES de la station de Said Otba et de Sidi Khouiled varie de 57. 03 mg/l à 90.13 mg/l et de 59.66 mg/l à 133.5 mg/l respectivement. Ces valeurs sont supérieures à la norme de rejet de l'OMS (30 mg/l) qui est principalement due à la prolifération massive des algues surtout à partir de la température de 20°C.

L'existence de quantité élevée des matières en suspension dans les rejets, n'entrave pas leur utilisation dans l'irrigation des cultures. Selon Ayers et al. (1994), la valeur maximale tolérée peut atteindre 2000 mg/l. En effet, l'utilisation des eaux avec une telle charge, doit être faite avec précaution pour éviter le colmatage de la porosité du sol aux conséquences néfastes sur la perméabilité.

c. La demande chimique en oxygène (DCO)

Dans le domaine des eaux usées, pour déterminer la pollution d'une eau, on utilise très souvent des paramètres globaux, qui décrivent la somme des pollutions provoquées par des polluants appartenant à un groupe déterminé de composés. L'un de ces paramètres est la demande chimique en oxygène (DCO), qui est une indication sur les quantités de substances organiques chimiquement oxydables, présentes dans l'eau (Bliefert et al. 2007).

La figure 11 représente les concentrations en DCO des eaux usées brutes et traitées des stations d'épuration pendant les années précédentes.

On remarque que dans la station de Said Otba, les valeurs de DCO de l'eau usée brute oscillent entre 328.69 mg O_2/l et 345.14 mg O_2/l. D'autre part, les eaux usées brutes de la station de Sidi Khouiled ont des concentrations en DCO plus élevé que la station de Said Otba, ces concentrations varient de 307 mg O_2/l à 460 mg O_2/l.

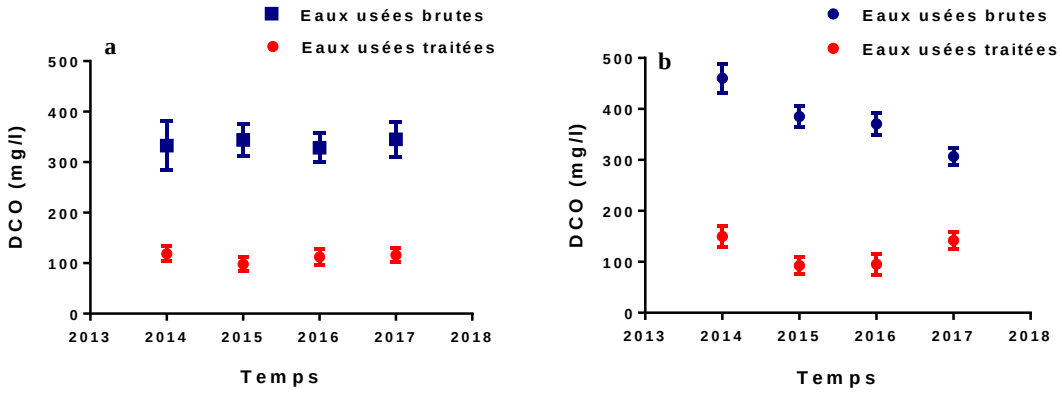


Fig. 11. variation de la demande chimique en oxygène en fonction du temps des eaux usées brutes et traitées par lagunage aéré(a)STEP de Said Otba –(b)STEP de Sidi Khouiled

Concernant les effluents traités, les valeurs enregistrées de DCO sont largement inférieures à celle de l'eau usée brute pour les deux stations d'épuration.

Les valeurs de DCO de la station de Said Otba et de Sidi Khouiled varient de 98.28 à 118.47 mg O_2/l et de 92 à 149.66 mg O_2/l respectivement.

Par ailleurs, les concentrations en DCO obtenue à la sortie de chaque STEP, obéissent aux normes algériennes de rejet (120 mg O_2/l), celle du journal officiel de la communauté européenne (125 mg O_2/l), mais supérieure à celles des normes de l'OMS (<90 mg).

d. L'ammonium (NH_4^+)

L'azote est un constituant essentiel de la matière vivante, mais sa présence en quantités importantes dans les eaux usées nécessite une surveillance attentive. Cependant,

il est présent dans les effluents sous différentes formes : azote organique (Norg), azote ammoniacal (ammoniac NH_3, ion ammonium NH_4^+), nitrates (NO_3^-), nitrites (NO_2^-). L'évaluation des concentrations en ammonium des eaux usées brutes et traitées est présentée dans la figure 12.

Les valeurs d'ammonium enregistrées au cours des années situent entre 27.03 mg/l et 33.78 mg/l pour les eaux usées brutes de la station de Said Otba. En revanche, pour la station de Sidi Khouiled les valeurs d'ammonium situent entre 53 mg/l et 56 mg/l.

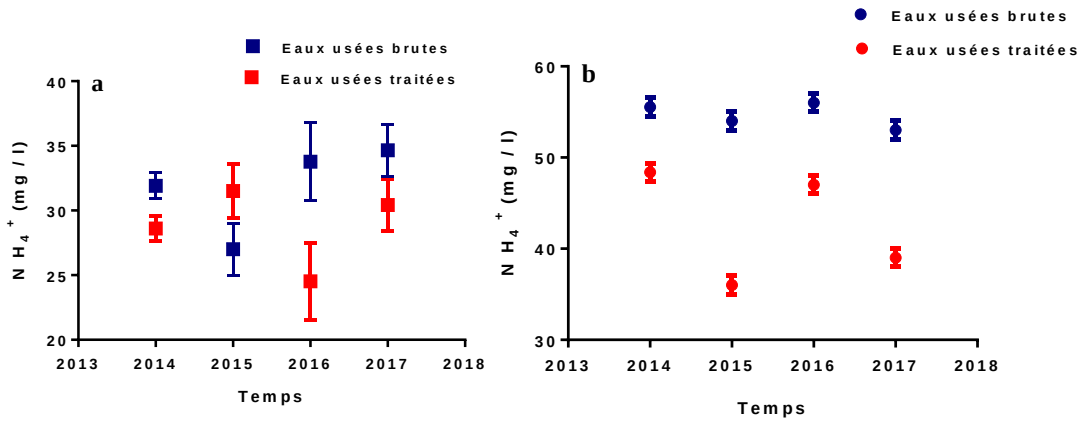


Fig. 12. variation de l'ammonium en fonction du temps des eaux usées brutes et traitées par lagunage aéré (a)STEP de Said Otba –(b)STEP de Sidi Khouiled

En ce qui concerne les eaux usées traitées, les valeurs d'ammonium de la station de Said Otba et de Sidi Khouiled varient de 24.53 à 31.5 mg/l et de 36 à 48.39 mg/l respectivement. Ces valeurs sont supérieures à la norme de rejet de l'OMS (< 5mg/l).

e. Nitrates

La figure 13 représente l'évaluation des concentrations en nitrates des eaux usées brutes et traitées de chaque station pendant une période de temps de quatre ans.

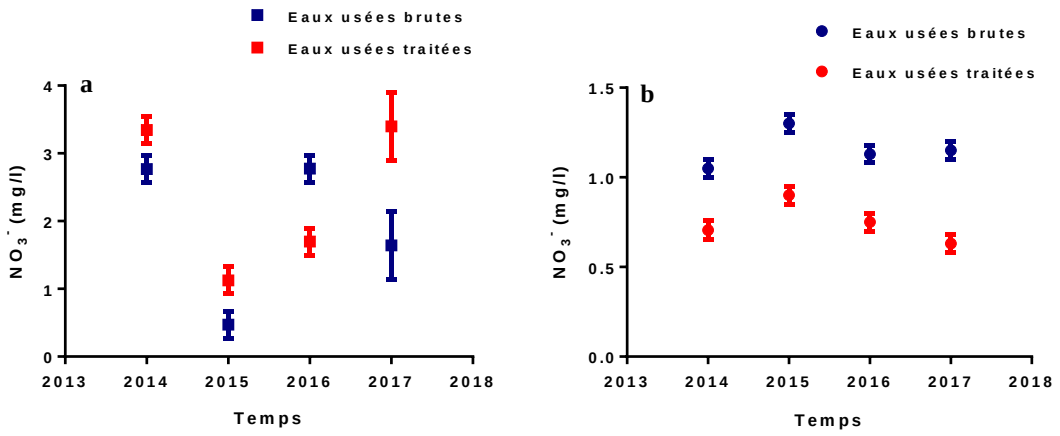


Fig. 13. variation de nitrate en fonction du temps des eaux usées brutes et traitées par lagunage aéré (a)STEP de Said Otba –(b)STEP de Sidi Khouiled

D'après la figure ci-dessus (figure 13), les valeurs des nitrates se situent entre 0.472 mg/l et 2.77 mg/l pour les eaux usées brutes de la station de Said Otba. En revanche, pour la station de Sidi Khouiled les valeurs de nitrate situent entre 1.049 mg/l et 1.3 mg/l.

Cependant, les faibles teneurs en nitrates au niveau des eaux usées brutes sont probablement dues au fait que l'azote contenu dans les eaux résiduaires domestiques a essentiellement une origine naturelle.

Concernant les eaux usées épurées, les concentrations de nitrate de la station de Said Otba et de Sidi Khouiled varie de 1.124 à 3.4 mg/l et de 0.63 à 0.9 mg/l respectivement.

Dans le cas de la station de Said Otba, on remarque que la plupart de taux de nitrate a augmenté considérablement au niveau des eaux usées traitées par rapport aux eaux usées brutes.

La présence des microorganismes autotrophes vis-à-vis de l'azote, dégrade les protéines en azote ammoniacal. Les bactéries autotrophes telles que *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*, transforment l'azote ammoniacal (NH_4^+) en présence d'oxygène pour produire des nitrites (NO_2^-) puis des nitrates (NO_3^-).La capacité d'aération est en effet souvent suffisante pour assurer une nitrification poussée. Le plus souvent, au niveau des petites stations d'épuration, les aérateurs étant généralement surdimensionnés par rapport

à la charge polluante reçue (Chachuat et al. 2001). Les eaux usées épurées sont chargées en nitrates, mais en moyenne restent inférieures aux normes internationales des eaux destinées à l'irrigation selon l'OMS (<50mg/l).

f. Phosphate

Le phosphore a été identifié comme l'élément clé de l'eutrophisation dans les eaux usées par un grand nombre de chercheurs (Doemel et al. 1975; Doran et al. 1979; Holmgren 1985).

En effet, le phosphore des eaux usées, particulaire ou soluble, est essentiellement constitué : de phosphore inorganique (essentiellement des polyphosphates) et des orthophosphates dont une part provient de l'hydrolyse des polyphosphates, de phosphore organique : phospholipides, esters, polynucléotides, ATP et ADP.

D'après les résultats (figure 14), les valeurs de phosphore totales varient du minimum de 3.86 mg/l au maximum de 4.04 mg/l au niveau des eaux usées brutes de la station de Said Otba. Concernant la station de Sidi Khouiled le phosphore total varie de 4.5 mg/l à 6.71mg/l.

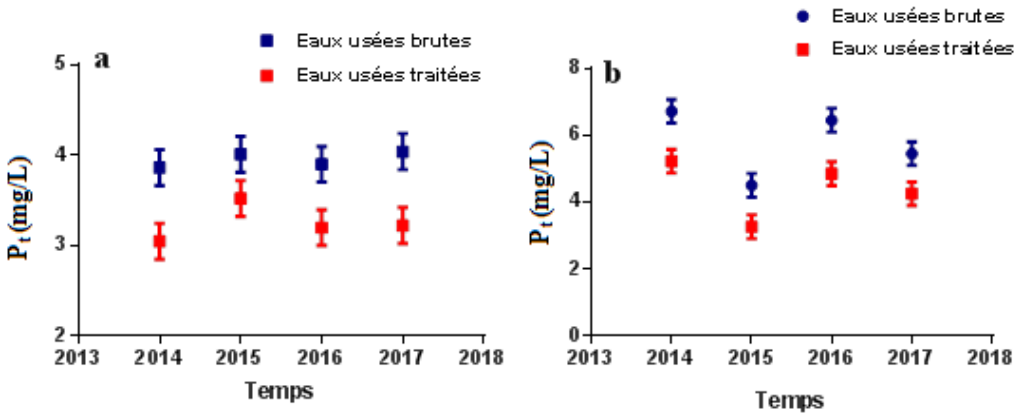


Fig. 14. variation de phosphate total en fonction de temps des eaux usées brutes et traitées par lagunage aéré (a)STEP de Said Otba –(b)STEP de Sidi Khouiled

Par ailleurs, les concentrations de phosphore total des eaux usées épurées de la station de Said Otba et de Sidi khouiled varient de 3.046 à 3.52 mg/l et de 3.26 à 5.22

mg/l respectivement. La teneur moyenne en phosphore total des eaux usées traitées des stations d'épuration semble inférieure à celle enregistrée dans les eaux usées brutes, cela est dû à l'activité des microorganismes qui participent à la transformation du phosphore organique en polyphosphates et orthophosphates. Ces valeurs sont élevées et dépassent les normes internationales des rejets (OMS) (<2 mg/l).

III. 3. Culture des microalgues dans les eaux usées de la station de Said Otba

III. 3. 1. Souche et conditions de culture

Chlorella pyrenoidosa a été utilisé dans cette étude. Les microalgues ont été cultivées en laboratoire. Toutes les inoculations ont été effectuées dans des conditions stériles. 6 mL (7,5 - 10^6 cellules / mL) de *C. pyrenoidosa* ont été inoculés dans 500 ml de milieu BG11 stériles dans des erlenmeyers de 1000 mL. Une fois qu'une densité suffisante a été atteinte, ils ont été inoculés dans trois flacons coniques de 1000 ml.

La composition du milieu BG 11 est constituée de: (g /L) $NaNO_3$ (1,5), K_2HPO_4 (0,04),$MgSO_4$,$7H_20$ (0,075), $CaCl_2$,H_20 (0,036), Na_2CO_3 (0,02), acide citrique (0,006), EDTA (0,001) et 1 mL de solution d'oligoéléments ayant la composition suivante (g / L): H_3BO_3 (2,86); $MnCl_2$,$4H_2O$ (1,81); $ZnSO_4$,$7H_2O$ (0,222); $NaMoO_4$,$2H_20$ (0,39); $CuSO_4$,$5H_2O$(0,079); Co $(N0_3)_2$,$6H_2O$(0,0494).

III. 3. 2. Culture de *C. pyrenoidosa* dans un système ouvert à l'extérieur

La culture a été réalisée en hiver (de 6 à 24 décembre 2015) en utilisant le soleil comme une source de lumière. Cette expérience est effectuée au niveau de la station d'épuration de Said Otba Ouargla.

Les températures ont varié entre 18 et 31 °C pendant la journée et entre 6 et 15 °C pendant la nuit. La durée de l'insolation au cours de cette saison était d'environ 9 h par

jour (de 7 h à 17 h); l'irradiance maximale était d'environ1100 W / m^2. Ceci a été mesuré à l'aide d'un solarimètre.

Les eaux usées brutes utilisées dans cette étude ont été obtenues directement après l'étape de prétraitements. Les caractéristiques de ces eaux sont résumées dans le tableau 1.

Tab. 1. Les caractéristiques physicochimiques des eaux usées brutes

Paramètres	unité	valeur
pH	/	7. 82
Oxygène dissous	mg/L	0. 2
Conductivité électrique	mS/cm	7. 97
Salinité	g/L	4. 4
DCO	mg/L	426
NH_4^+	mg/L	46. 2
Phosphore total (P_t)	mg/L	3. 22
NO_3^-	mg/L	1. 156

L'expérience a été menée pendant 19 jours dans un bassin ouvert galvanisé d'une capacité de 360 L (longueur de 1,5 m, largeur de 0,6 m et profondeur de 0,4 m) au niveau de la station de Said Otba. Ce bassin a été inoculé avec des suspensions algales à 6% (v / v) du volume de travail (165 litres). Les concentrations initiales de cellules d'inoculum étaient de 7,5* 10^6 cellules / mL.

Le mélange et la recirculation du milieu de culture ont été réalisés à l'aide d'un système d'agitation, qui consistait en une roue à aubes en acier galvanisé et fixé à un essieu. Cela a été alimenté par un moteur électrique de 70W (figure 15).

III. 3. 3. Méthodes analytiques

La biomasse algale a été calculée en mesurant les solides en suspension totale des eaux usées avant l'inoculation moins les solides volatils totaux des eaux usées avec des algues selon la méthode standard (Ma et al. 2014).

L'oxygène dissous (DO) et le pH ont été mesurés à l'aide d'analyseurs multi paramètres (Consort C3020, Belgique). La demande chimique en oxygène (DCO) a été déterminée avec des kits de tests en cuve LCK 314 (15-150 mg DCO / L) et LCK 514 (100-2000 mg DCO / L), conformément à la norme DIN 38049-4.

La concentration de l'ammonium-N (NH_4-N) et du nitrate-N (NO_3-N) obtenu en utilisant les kits d'analyse en cuvette LCK303 (2,0-47,0 mg / L NH_4-N) et LCK 339

(0,23-13. 50 mg NO_3-N / L), suivant les normes DIN38406-E 5-1 et DIN 38402-A51, le phosphore total (PT) a été mesuré selon les normes ISO 6878-1-1986, DIN 38405 D11-4, en utilisant les kits d'analyse en cuvette LCK 349 de PO_4-P (2-20 mg PT / L). La conversion de l'absorbance en concentration (mg / L) a été effectuée en utilisant un spectrophotomètre DR 2800 (Hach Lange, Allemagne).

III. 3. 4. La croissance des microalgues dans les eaux usées

D'après les caractéristiques physicochimiques des eaux usées brutes (Tableau 1), on peut voir que la quantité d'éléments nutritifs dans les eaux usées est supérieure à celle du milieu synthétique BG11. Les eaux usées contiennent d'azote en abondance, disponible sous forme de NO_3-N (1,15 mg / L) et de NH_4-N (46,2 mg / L) ainsi de phosphore (P) sous forme de phosphore total (P_t) (3,22 mg / L).

À partir des concentrations de P_t et de NH_4-N, on a émis l'hypothèse que cette eau usée soutiendrait la croissance des microalgues. Plusieurs études ont démontré une croissance efficace des microalgues dans les eaux usées municipales et agricoles (De Godos et al. 2009; Wang et al. 2010; Yang et al. 2015).

En effet, la figure 16 représente la croissance de *Chlorella pyrenoidosa* dans les eaux usées de la station de Said Otba. La biomasse algale a montré une croissance typique avec la phase exponentielle durant environ 3-15 jours. Ceci a été suivi par une phase stationnaire. Les résultats ont montré une phase de latence ; cependant, cela n'a duré que 3 jours et peut être considéré comme insignifiant. Ceci indique que *C.pyrenoidosa* s'est bien adapté aux eaux usées utilisées. En effet, la productivité moyenne de la biomasse a montré un rendement élevé de 1,71 ± 0,04 g / L (figure 16).

Fig. 15. Culture de *C. Pyrenoidosa* dans les eaux usées à gauche : eaux usées brutes

- à droite : eaux usées traitées par *C. pyrenoidosa*.

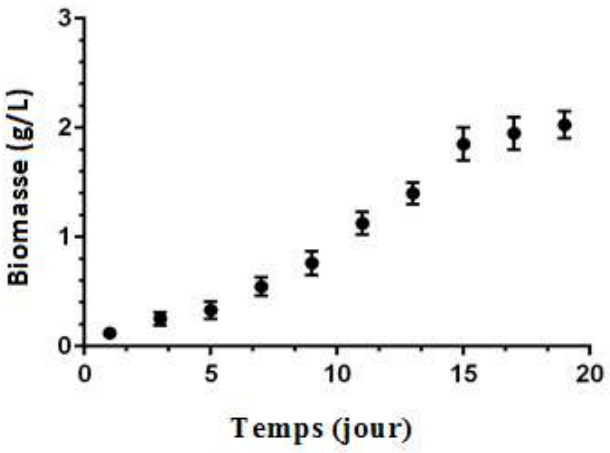


Fig. 16. la biomasse de *C. pyrenoidosa* durant la période de culture

Des modèles de croissance similaires ont été observés par Cabanelas et al. (2013) et Hongyang et al. (2011). Dans l'étude de Cabanelas et al. (2013), la concentration maximale de biomasse atteinte était de 2,05 ± 0,12 g / L. Hongyang et al. (2011), ont constaté que la croissance de *C. pyrenoidosa* passait de 2,09 g / L à 6,20 g / L lorsqu'elle était cultivée dans les eaux usées de traitement du soja avec un supplément de glucose (10 g / L) comme source de carbone.

- **Température et l'irradiance solaire**

La variation de température au cours de l'expérience variait entre 18 et 31 °C (figure 17). Zhao et al. (2015) ont montré qu'à une température de 35 °C, *C. pyrenoidosa* était capable d'atteindre une productivité en biomasse de 0,16 g / L. Jour.

La figure (17) montre que la température maximale pendant la période de culture atteint 31 °C. Cela peut être considéré comme faible par rapport aux autres saisons. Pendant l'été (juillet-août) la température à la région d'Ouargla peut atteindre 50 °C. Les latitudes et l'absence de couverture dans la zone désertique laissent les niveaux annuels de rayonnement solaire significativement plus élevés que dans d'autres zones.

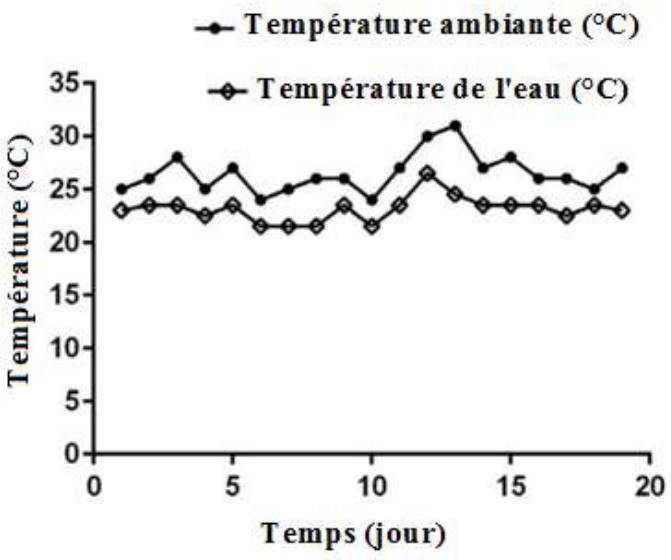


Fig. 17. Variation de température pendant la période de culture.

Des niveaux d'irradiance incidentes élevés et uniformes présentent un avantage pour la culture de microalgues en augmentant le rayonnement photosynthétique actif (García-González et al. 2003), qui représente environ 43% du rayonnement solaire. Premièrement, l'intensité du rayonnement solaire est un facteur majeur qui influence la croissance des algues en culture extérieure.

L'irradiation solaire maximale moyenne par jour était de 992 ± 40 W / m^2, mesurée entre 12 h et 13 h. D'après l'étude actuelle, il a été conclu que la durée d'éclairage optimale était comprise entre 8 h et 17 h (figure 18).

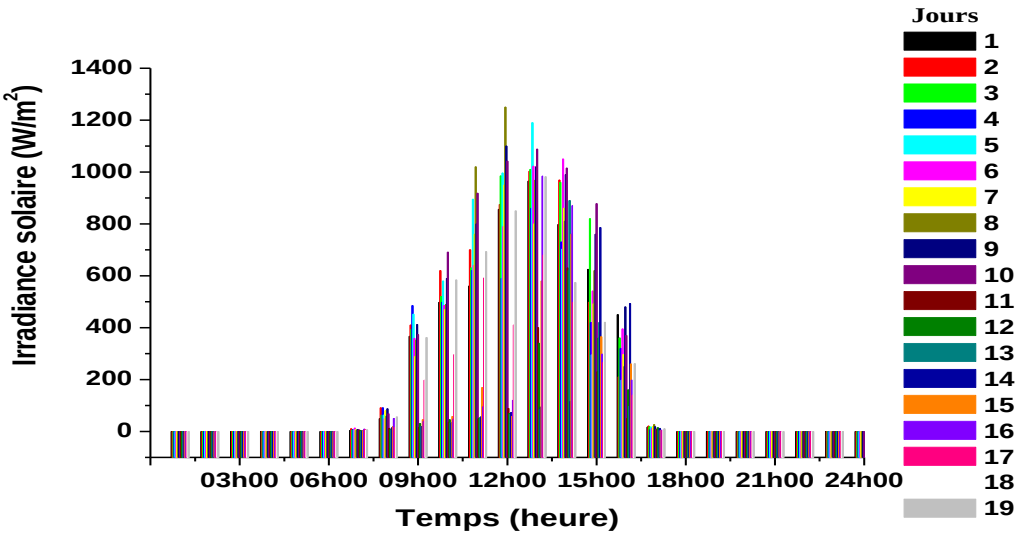


Fig. 18. Variation de l'irradiance solaire durant la période de culture

- **pH**

Au début de l'expérimentation, le pH était de 7,8 (figure 19). Cela a progressivement augmenté à 9,2. Cela était principalement lié à l'activité photosynthétique.

Plusieurs recherches ont révélé que la plupart des microalgues et des cyanobactéries peuvent incorporer du CO_2 et du HCO_3^- à travers la membrane cellulaire (Price et al. 2007; Maberly et al. 2009).

Selon l'équation d'équilibre suivante: $H^+ + HCO_3^- \rightleftharpoons CO_2 + H_2O$, H^+ est consommé lors de la conversion de HCO_3^- en CO_2, et ce CO_2 est finalement fixé par ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase (Rubisco) lors de la photosynthèse. Ainsi, l'utilisation en régime permanent de HCO_3^- comme source de carbone originale pour la photosynthèse laisse OH^- dans la cellule, et ceci doit être neutralisé par l'absorption de H^+ à partir de l'environnement extracellulaire (Chi et al. 2011).

La réduction de H^+ dans le milieu de culture conduit inévitablement à un pH accru.

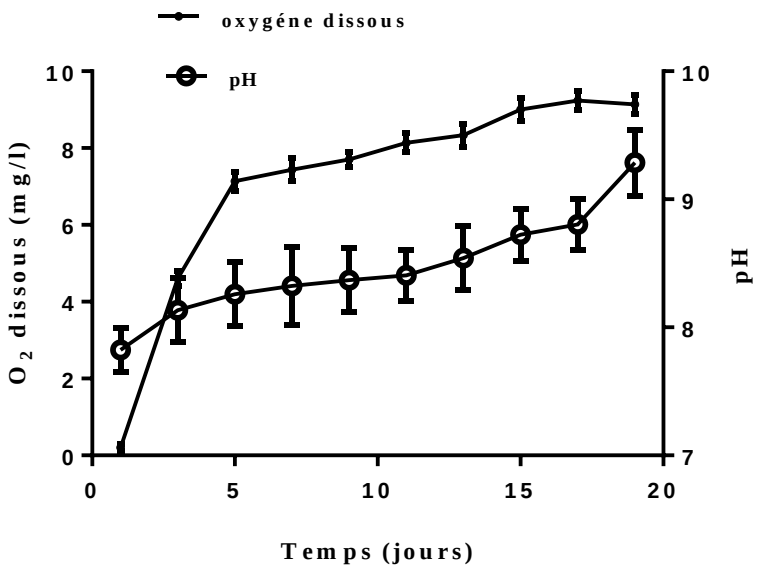


Fig. 19. Oxygène dissous et variation du pH pendant la période de culture

- **Oxygène dissous**

La figure ci-dessus (figure 19) montre la variation d'oxygène dissous (OD) au cours de la période expérimentale. On peut voir que l'OD le plus bas était au 1^{er}jour. Ceci était potentiellement attribué à des organismes tels que les bactéries qui nécessitaient l'OD pour décomposer toute matière organique dans les eaux usées. Il a ensuite augmenté progressivement jusqu'à une concentration approximative de 9 mg / L pendant la période de culture.

D'après les résultats, on peut voir que la croissance des microalgues augmente avec l'OD. Les micro-algues effectuent une photosynthèse, qui peut être exprimée comme une réaction d'oxydoréduction entraînée par la lumière dans laquelle le dioxyde de carbone est converti en carbohydrate et l'oxygène est libérée en tant que produit secondaire dans le milieu de culture. À mesure que la densité de culture augmentait, il y avait une augmentation des niveaux d'OD dans le milieu.

III. 3. 5. Élimination des nutriments des eaux usées

L'azote et le phosphore sont des facteurs limitant la croissance des algues. La valeur optimale du rapport azote: phosphore (N: P) pour les algues d'eau douce a été

suggérée se situer entre 6,8 et 10 (Wang et al. 2010). Cependant, le rapport (N: P) dans cette étude était d'environ 14,74. Ce rapport plus élevé peut induire une limitation (Wang et al. 2010).

- **Élimination d'ammonium**

En général, les microalgues sont capables d'assimiler l'azote provenant de diverses sources d'azote, y compris l'ammonium, le nitrate, le nitrite et l'urée (Perez-Garcia et al. 2011).

La concentration initiale en NH_4-N était d'environ 46,2 mg / L. Les algues ont une capacité intracellulaire considérable pour stocker des molécules d'azote solubles et organiques. L'azote est rapidement absorbé, car il est indispensable à la régulation des voies métaboliques. Il est utilisé pour produire les acides aminés et d'autres macromolécules contenant de l'azote organique.

À des concentrations trop élevées, le NH_4-N devient toxique, ce qui inhibe la croissance des algues. La limitation de l'azote diminue la teneur en protéines de microalgues. Le stress de limitation diminue la synthèse de pigments et de protéines photosynthétiques impliquées dans la biosynthèse, donc affecte les taux de croissance de la biomasse microalgale (Ramanna et al. 2014).

L'élimination du NH_4-N a été réalisée par l'utilisation directe par les microalgues. La concentration initiale était significativement réduite à 2,1 mg / L. À la fin de la période de culture, les taux d'élimination moyens étaient de 95% (figure 20).

Dans notre expérience, la concentration de NO_3-N dans les eaux usées peut également être vue dans Tableau 1. Il ne semble pas être assimilé par les microalgues, par contre on remarque que l'ammonium soit la source d'azote préférée.

Ruiz-Marin et al. (2010) ont rapporté que les microalgues *C.vulgaris* et *S.obliques* présentaient des préférences pour l'ammonium à toute autre forme d'azote présente dans les eaux usées. Sous des conditions autotrophes et hétérotrophes, l'ammonium est transporté à travers la membrane par un groupe de protéines appartenant à la famille des transporteurs d'ammonium, un groupe de protéines apparentées à l'évolution communément présente dans les bactéries, levures, algues et plantes supérieures (Wilhelm et al. 2006).

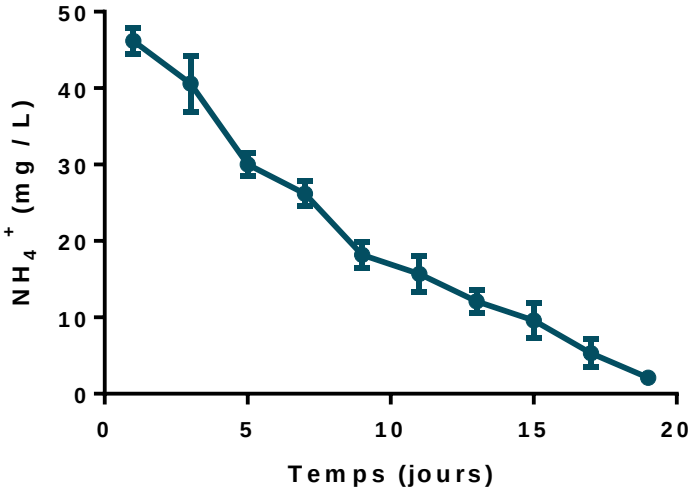


Fig. 20. Variation d'ammonium pendant la durée de culture

À 25 ° C ainsi que dans toutes les autres conditions, l'ordre de priorité pour la consommation de sources d'azote était comme prévu ammonium (NH_4^+) d'abord, puis (NO_3^-). Le nitrate utilisé seulement par les cellules algales après que la concentration de NH_4-N soit appauvrie.

Une concentration élevée en NH_4 influence directement l'absorption de NO_3 par les microalgues (Komolafe et al. 2014). Cela explique la diminution significative de la concentration de NO_3-N dans l'eau usée.

En fait, à la fin de l'étude, cette concentration a augmenté. Une réduction de NO_3 a été seulement remarquée vers la fin de la période de culture où près de 90% de NH_4-N a été éliminé (figure 21).

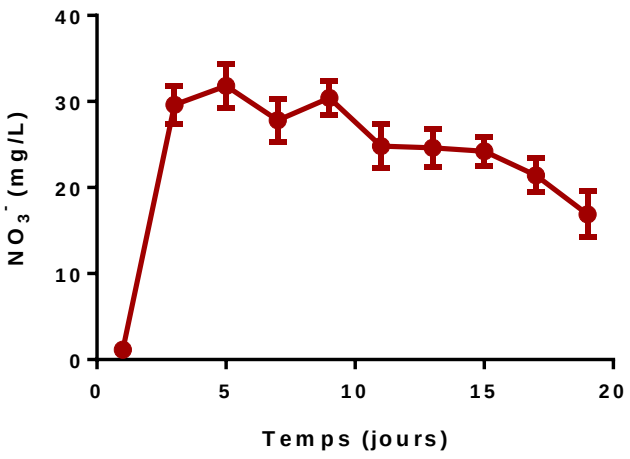


Fig. 21. Variation de nitrate pendant la durée de culture

- **Élimination de phosphore**

Le phosphore total a été considérablement réduit de 3,22 mg / L à 0,59 mg / L. Le phosphore est considéré comme l'intermédiaire dans le transfert d'énergie et la synthèse d'acide nucléique.

Ce nutriment pénètre dans les cellules de microalgues par transport actif à la membrane plasmique sous forme de $H_2PO_4^-$et HPO_4^{2-} (Wang et al. 2014).

De Godos et al. (2009) ont indiqué que l'absorption de phosphore et les précipitations expliquent l'élimination de phosphore à des pH alcalins compris entre 9 et 11. Le pH n'a dépassé 9 que le dernier jour (figure 19) ; par conséquent, l'effet de précipitation pourrait avoir été négligé. La cinétique d'absorption de phosphore était légèrement lente au début de la culture par rapport à NH_4-N, les efficacités finales d'élimination du phosphore totale étaient de 81% (figure 22).

Wang et al. (2010) ont évalué l'efficacité d'élimination des nutriments de *Chlorella. sp* dans les échantillons des eaux usées collectés à différents points de la station d'épuration, *Chlorella. sp* a pu éliminer 83,2 % du phosphore des eaux usées avant la décantation primaire. De plus, Cho et al. (2011) ont rapporté que *Chlorella. sp* éliminait 84,86 % du phosphore total des eaux usées municipales traitées avec une membrane de 0,2 µm.

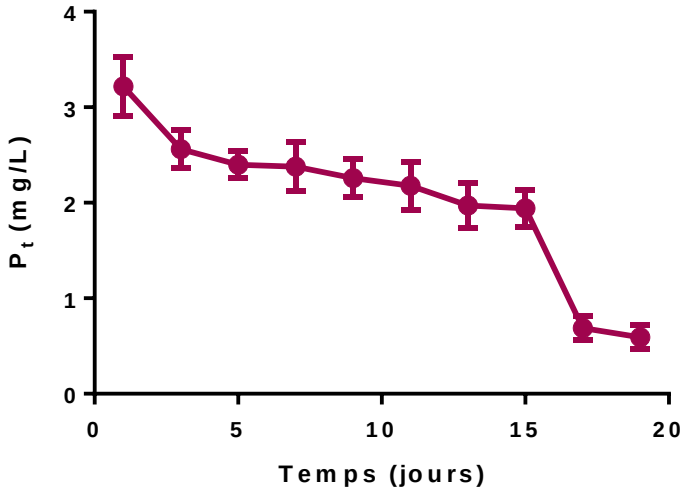


Fig. 22. Variation de phosphore durant la période de culture

- **Elimination de DCO**

La demande chimique en oxygène (DCO) exprime la charge organique globale (matière dissoute et en suspension) des eaux usées. La concentration initiale en DCO dans les eaux usées brutes était d'environ 426 mg / L (tableau 1). Les concentrations élevées de carbone affectent la voie métabolique de *C. pyrenoidosa* (Yang et al. 2015). Initialement, l'élimination efficace de la DCO était légèrement élevée, mais a chuté à mesure que l'expérience progressait (figure 23).

Près de 65% de DCO a été éliminé au cours des deux premiers jours. Cela a provoqué une carence nutritionnelle pour la croissance des algues. Des résultats similaires ont été observés par Ma et al. (2014) où 80% de DCO ont été éliminés au cours des 2 premiers jours de culture. Cela peut s'expliquer par la participation de bactéries natives des eaux usées utilisant des composés organiques comme source de carbone dans le processus de dégradation (Ma et al. 2014). À la fin de la culture, la concentration en DCO était de 90 mg / L (tableau 1).

L'efficacité moyenne d'élimination de DCO était de 78% (figure 23). Aziz et al. (1992) ont signalé que le taux d'élimination de DCO de *C. pyrenoidosa* dans les eaux usées domestiques et les eaux usées industrielles provenant d'un élevage de porcs et d'huile de palme était respectivement de 70% et 82% avec un temps de séjour de 15 jours, ceci est en accord avec notre résultat avec un temps de séjour de 19 jours.

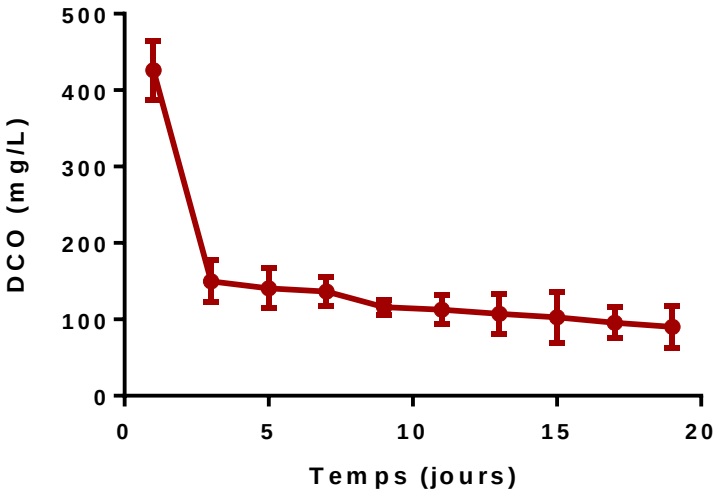


Fig. 23. Variation de DCO pendant la durée de culture

III. 3. 6. Interaction entre les bactéries et les microalgues

Dans le traitement des eaux usées à base de microalgue, l'étude de l'interaction entre les microalgues et les bactéries a déjà été rapportée dans la littérature (Fukami et al. 1997; Mun et al. 2006; Natrah et al. 2014; Unnithan et al. 2014).

En ce qui concerne les interactions compétitives, les microalgues et les bactéries peuvent avoir des effets indésirables les uns sur les autres. Plusieurs études ont déjà rapporté l'excrétion de métabolites de microalgues présentant un effet bactéricide (Najdenski et al. 2013).

De plus, l'augmentation du pH et de la température résultant de l'activité photosynthétique peut avoir un effet néfaste sur les bactéries cocultivées (Mun et al. 2006; Unnithan et al. 2014).

Les bactéries peuvent excréter des métabolites présentant un effet algicide (Natrah et al. 2014). En effet, pendant la photosynthèse, les microalgues libèrent des composés organiques qui peuvent être utilisés par les bactéries comme source de carbone, d'énergie et d'O_2 qui est utilisée pour l'oxydation de la matière organique. Les bactéries libèrent le CO_2 nécessaires aux réactions photosynthétiques (Moriarty 1997; Paerl et al. 1996; Bordeaux 2012; Fouilland 2012).

Les interactions coopératives entre les microalgues et les bactéries sont plus complexes que les simples échanges de nutriments. Les micro-algues peuvent servir d'habitat pour les bactéries, les protégeant des conditions environnementales défavorables (Unnithan et al. 2014) et peuvent améliorer la croissance bactérienne par la libération de métabolites extracellulaires. Mandal et al. (2011) ont démontré que les substances polymériques extracellulaires produites par *Amphidinium carterae* ont stimulé la croissance de la bactérie *Bacillus pumilus*.

Les bactéries sont responsables de l'excrétion des facteurs favorisant la croissance, tels que les vitamines (par exemple la biotine, la thiamine et la cobalamine) et les sidérophores (agents chélateurs importants pour la croissance des microalgues dans des conditions déficientes en fer) (Subashchandrabose et al. 2011). En augmentant la croissance des microalgues, on s'attend également à une augmentation des taux d'absorption des nutriments.

Dans l'étude réalisée par De-Bashan et al. (2004), la coculture d'*Azospirillum brasilense* avec *C. vulgaris* et *Chlorella sorokiniana* dans des billes d'alginate a stimulé la croissance des microalgues et amélioré l'élimination de l'azote et du phosphore d'une eau usée municipale utilisée comme milieu de culture.

III. 3. 6. 1. Elimination des nutriments

Les effets des bactéries natives des eaux usées sur l'élimination des nutriments ont également été étudiés dans cette partie. Des échantillons d'eaux usées brutes et stériles ont été inoculés avec une culture d'algues. Les absorptions d'éléments nutritifs ont été comparées. Les eaux usées ont été stérilisées par l'autoclave à 121 °C pendant 30 minutes avant l'ajout des microalgues. Cette expérience a été effectuée en laboratoire pendant une période de 7 jours.

Le traitement des eaux usées implique l'élimination des déchets en utilisant des processus physiques dans les étapes initiales pour éliminer les matériaux solides et les particules organiques fines. Ceci est suivi par un traitement biologique (traitement secondaire) où les micro-organismes natifs dans l'eau usée utilisent l'oxygène pour convertir la matière organique en biomasse.

- **Elimination de DCO**

D'après la figure 24, on remarque que la concentration de DCO a considérablement diminué de 352 à 149. 8 mg/l dans les eaux usées brutes, et de 206 à 130 mg/l dans les eaux usées stériles dans les premiers trois jours de culture. À la fin de l'expérience, 77,54% et 55,46% de DCO étaient éliminées respectivement dans les eaux usées brutes et stériles. Cela signifiait que les bactéries natives des eaux usées participaient au processus de dégradation en consommant des composés organiques comme source de carbone.

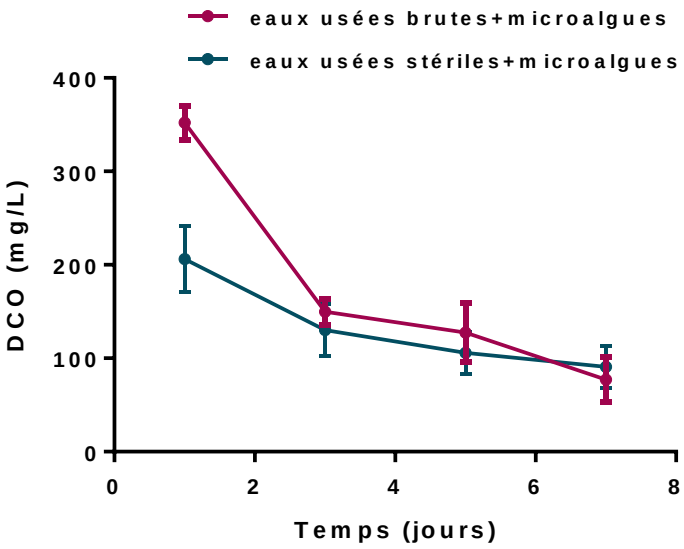


Fig. 24. Variation de la demande chimique en oxygène pendant la durée de culture

- **Elimination de phosphore**

La figure 25 montre que le phosphore total a été radicalement réduit dans les eaux usées brutes et stériles durant la période de culture. Les efficacités finales d'élimination du PT dans les eaux usées brutes et les eaux usées stériles étaient respectivement de 83% et 69%. L'élimination des phosphores était beaucoup plus importante que celles rapportées dans d'autres études utilisant les eaux usées municipales (Tam et al. 1989; de-Bashan et al. 2008).

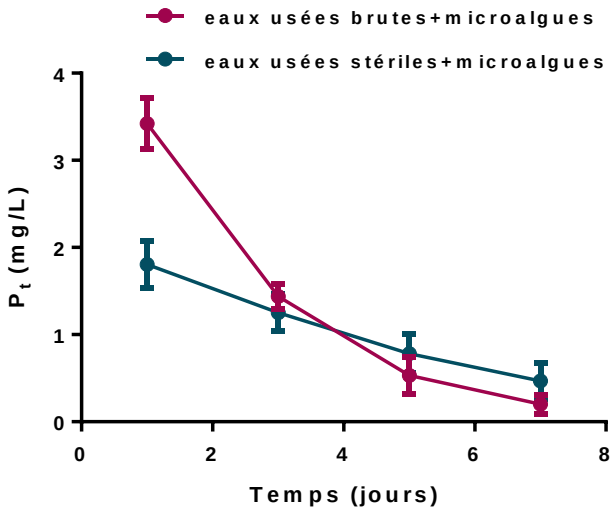


Fig. 25. Variation de phosphore total durant la période de culture

- **Élimination d'ammonium**

D'après la figure 26, on remarque que plus de 95% de NH_4^+-N (95. 09% dans les eaux usées stériles et 98.37% dans les eaux usées brutes) ont été éliminés à la fin de l'expérience, bien que les efficacités d'élimination soient supérieures à celles des autres études. Lau (1995) et Yecong Li (2011) ont rapporté que le taux d'élimination de l'ammonium était de 88% et 93% respectivement.

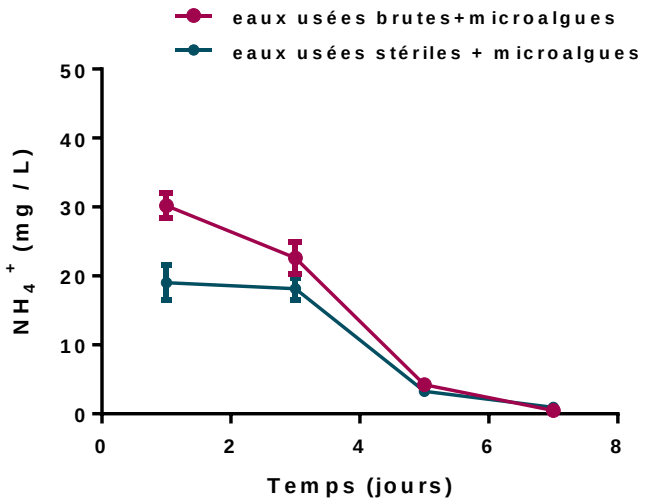


Fig. 26. Variations de l'ammonium durant la période de culture

III. 3. 6. 2. Comparaison entre les procédés de traitement

Le tableau 2 résume les caractéristiques des eaux usées après traitement par lagunage aéré et par microalgues.

Tab. 2. Caractéristiques physicochimiques des eaux usées brutes et traitées

Paramètres	unité	Eaux usées brutes	Eaux usées traitées par lagunage aéré	Réduction %	Eaux usées traitées par microalgues	Réduction %
pH	/	7.82	7. 43	/	9. 36	/
Oxygène dissous	mg/L	0.2	4. 5	/	9. 4	/
DCO	mg/L	426	110. 75	75	90	78
NH_4^+	mg/L	46.2	32	30	2. 1	95
P_t	mg/L	3.22	2. 41	25	0. 596	81

D'après la figure ci-dessous (figure 27), on peut voir que le traitement secondaire des microalgues a éliminé 95% du NH_4-N tandis que le procédé de lagunage aéré n'en a éliminé que 30%.

La même tendance peut être observée avec la demande chimique en oxygène (microalgues, lagune) (78%, 75%) et avec le phosphore total (81%, 25%). Les résultats actuels, par conséquent, démontre l'efficacité de l'absorption des nutriments par les microalgues.

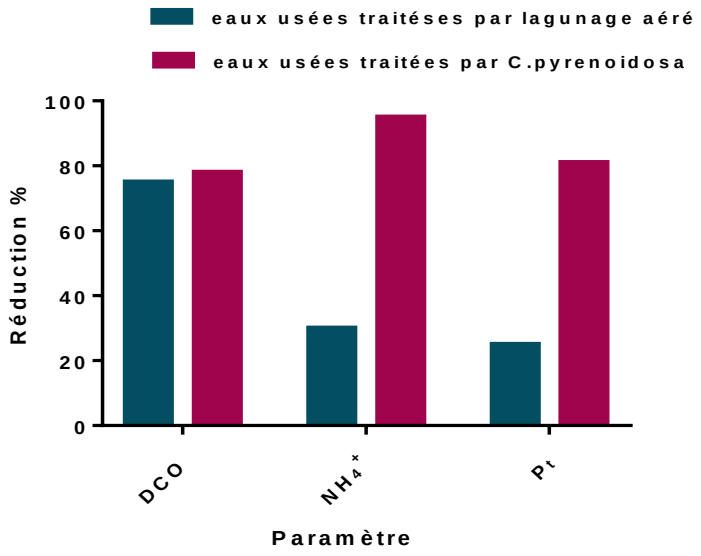


Fig. 27. Le taux d'élimination des nutriments des eaux usées

III. 4. Culture des microalgues dans les eaux usées de la station de Sidi Khouiled

III. 4. 1. Souche et conditions de culture

Les microalgues utilisées dans cette étude étaient *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella sorokiniana, Dunaliella salina, Isochrysis, Heamatococcus, Chlorococcum, Nannochloropsis* et *Spirulina*.

Ces microalgues ont été inoculées dans 500 ml de milieu BG11 stérile dans des erlenmeyers de 1000 ml. Ensuite, des suspensions d'algues à 10% (v / v) ont été inoculées dans des erlenmeyers de 1000 ml d'eau usée obtenue après les prétraitements de la station d'épuration de Sidi Khouiled. Les concentrations initiales de cellules d'inoculum étaient de 7,5 * 10^6 cellules / ml.

Le tableau ci-dessous résume les caractéristiques des eaux usées brutes utilisées dans cette expérience.

Tab. 3. Les caractéristiques des eaux usées brutes de Sidi Khouiled

Paramètres	unité	valeur
pH	/	7. 15
Oxygène dissous	mg/L	0. 3
Conductivité électrique	mS/cm	6. 18
TDS	g/L	6. 69
DCO	mg/L	334
NH_4^+	mg/L	136. 59
P_t	mg/L	6. 53
NO_3^-	mg/L	1. 03

III. 4. 2. Détermination de la croissance des microalgues

La croissance a été surveillée chaque jour par mesure de l'absorbance à 680 nm (spectrophotomètre UV-2300 II, Techcomp). L'inoculum et la pureté de culture ont été vérifiés périodiquement pendant la croissance, à travers l'observation microscopique (microscope Euromex Oxion).

III. 4. 3. Évaluation de la croissance des microalgues pendant la période de culture

La figure 28 montre la courbe de croissance de différentes souches microalgales dans les eaux usées. Ces courbes présentent toutes les phases de croissance caractéristiques à l'exception de la phase de latence des algues en culture. L'absence d'une phase de latence visible peut être due au fait que la majorité des cellules microalgales au moment où elles ont été transférées dans le milieu de culture étaient déjà en phase exponentielle.

Cependant, les faits montrent que les cellules ont pris leur vitesse de croissance immédiatement après l'inoculation sans phase de latence notable et que les eaux usées brutes ont maintenu une croissance algale à un taux raisonnable et que le niveau d'accumulation de la biomasse indique que l'eau usée brute est un milieu de culture prometteur (Lau et al. 1995).

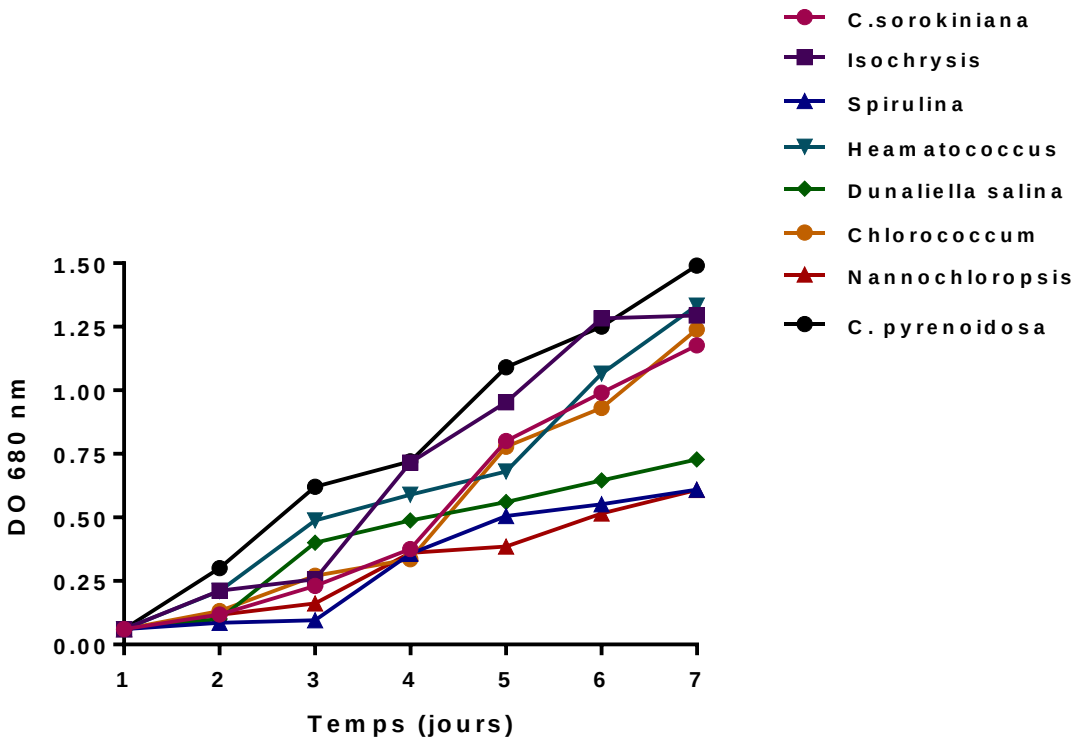


Fig. 28. La croissance des microalgues pendant la période de culture

La productivité moyenne de la biomasse des microalgues est présentée dans la figure 29.

Les résultats montrent que la plus faible production moyenne de biomasse (0. 94 ± 0. 16 g/L) a été observée avec la souche *spirulina* et la plus forte accumulation de biomasse (2. 01± 0. 13 g / L) avec la souche *Chlorella pyrenoidosa*.

En effet, dans cette expérience la production de biomasse d'Haematococcus. sp était de 1. 45 ±0. 1 g/L, d'une façon identique, Kang et al. (2006) ont rapporté que Haematococcus pluvialis peut aussi produire 1,43 g/L de biomasse.

Concernant la souche *C. sorokiniana*, la production de la biomasse était plus élevée (1. 4 ±0. 06 g/L) par rapport les autres études. Lizzul (2014) et Yecong Li (2011) ont observé que *Chlorella sorokiniana* produisait 0,33 et 0.76 g /L respectivement de biomasse dans les eaux usées municipales.

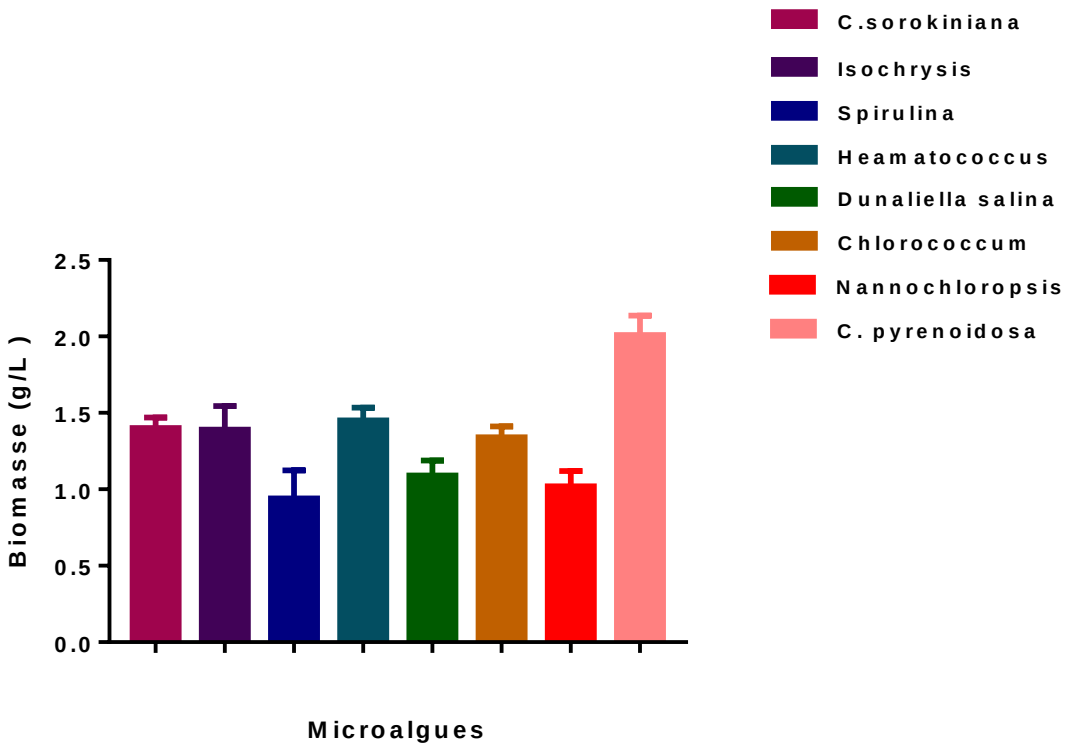


Fig. 29. La croissance des microalgues

La production de la biomasse de *Chlorococcum. sp* (1.34 ±0.1 g/L) était beaucoup plus importante que celles rapportées par Yecong Li et al. (2011).

Dans cette étude, la concentration de biomasse de microalgues *Nannochloropsis.* était de 1.01±0.1 g/L, ce qui est supérieur ou comparable à ceux rapportés dans la littérature.

Cai (2013) et Liu (2011) ont rapporté que la concentration maximale de biomasse de *Nannochloropsis.sp* cultivé dans les eaux usées municipales sont respectivement 0.92 et 0.212 g/L.

Par ailleurs, la production de la biomasse d'*Isochrysis.sp* (1.39 ± 0.15) était assez supérieur à celle-ci rapporté par Ammar et al. (2018).

- **pH**

D'après la figure ci-dessous (figure 30), on remarque que les valeurs de pH ont augmenté en fonction du temps de culture des microalgues. Les valeurs de pH varient au minimum de 8.71 avec *chlorella pyrenoidaosa* et au maximum de 8.96 avec Heamatococcus.*sp.*

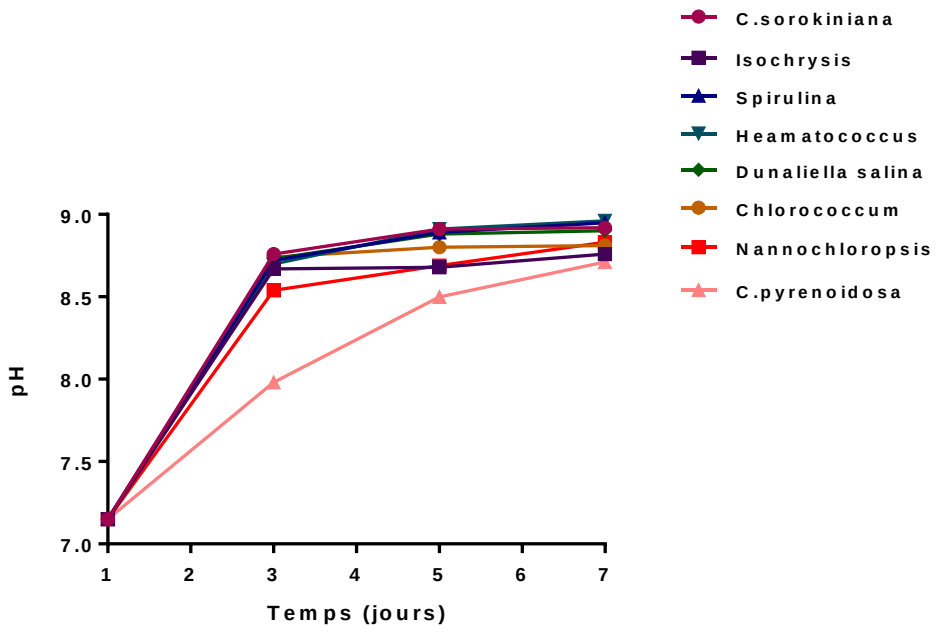


Fig. 30. Variation de pH pendant la période de culture

III. 4. 4. Élimination des nutriments des eaux usées

• Phosphore

La figure 31 représente la concentration de phosphore total en mg/L des eaux usées brutes ainsi que les eaux usées traitées par lagunage aéré et 8 souches différentes de microalgues.

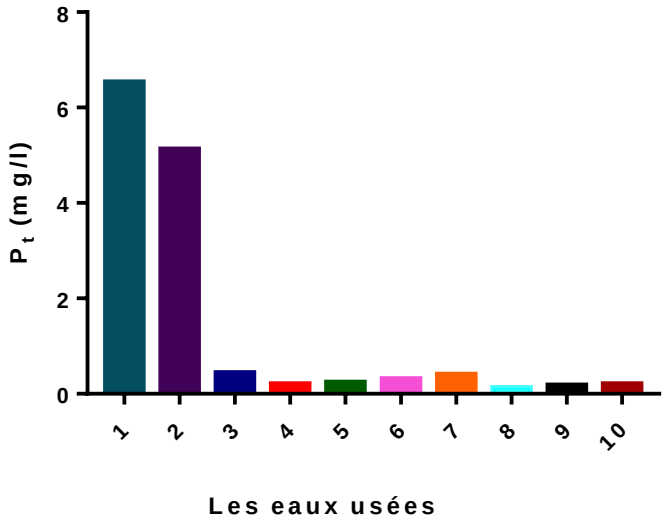


Fig. 31. Variation de phosphore totale en mg/ldes eaux usées brutes et des eaux usées traitées (EUT) : (**1**) eaux usées brutes, (**2**) EUT par lagunage aéré, (**3**) EUT par C. Sorokiniana, (**4**) EUT par Isochrysis, (**5**) EUT par Spirulina, (**6**) EUT par Heamatococcus, (**7**) EUT par Dunaliella salina, (**8**) EUT par Chlorococcum, (**9**) EUT par Nannochloropsis, (**10**) EUT par C. Pyrenoidosa.

Les microalgues utilisées dans cette expérience peuvent être efficacement utilisées pour éliminer une quantité importante de phosphore, d'après les résultats obtenus, on observe que six souches de microalgues ont une efficacité d'élimination supérieure à 95% et les deux autres souches (*C. sorokiniana, Dunaliella salina*) ont une efficacité de réduction respectivement de 93.3% et 93.85%. En revanche, les eaux usées traitées par lagunage aéré ont éliminé seulement 21.59% de phosphore total.

L'élimination du phosphore des eaux usées brutes par C. *pyrenoidosa* dans la présente expérience était relativement élevée 96.92%, tandis que l'élimination dans d'autres études était plus faible. Hongyang (2011), Jiang (2011), Kothari (2012) et Pathak (2014) ont observé que *C. pyrenoidosa* éliminait 70, 71.8, 85 et 87% respectivement du phosphore total.

La quantité de phosphore total des eaux usées brutes a été éliminée par *C. sorokiniana* d'une efficacité de 93.3%. De même, Hernandez (2006), Shriwastav (2014) et Kim (2017) ont rapporté que *C.sorokiniana* diminuait respectivement 72, 59.27 et 88.71 % du phosphore total.

La réduction maximale du phosphore total était obtenue par *Chlorococcum. sp* (98.10%). En revanche, Aravantinou et al. (2013) ont rapporté que *Chlorococcum. sp* éliminait 94.34% du phosphore total.

De plus, l'efficacité d'élimination de PT par *Spirulina. sp* était plus élevée que celle trouvée dans la littérature (96.32%). Mezzomo (2010) et Nur (2014) ont trouvé que la réduction de PT par *Spirulina. sp* était de 41.6 et 85.32 %.

Les quantités de phosphore des eaux usées brutes ont été consommées par *Dunaliella salina* et *Nannochlropsis* d'une efficacité égale respectivement à 93.85 et à 97.25%. Aravantinou et al. (2013) ont montré que *Dunaliella salina* et *Nannochlropsis* éliminait 54 et 33.25% du phosphore total respectivement.

- **La demande chimique en oxygène (DCO)**

D'après la figure ci-dessous (figure 32), on remarque que l'élimination de DCO soit au maximum quand on utilise les souches *Dunaliella salina* et *Spirulina* (85.47%,85.65%).

Le traitement des eaux usées brutes par lagunage aéré reste toujours moins efficace que le traitement par les microalgues (64.07%).

En ce qui concerne la souche *Spirulina. sp*, la réduction de DCO était plus élevée (85.65%) par rapport les autres études. Mezzomo (2010), Markou (2012)
et Nur (2014) ont mentionné que *Spirulina. sp* éliminait 84.3, 73 et 50.76 % de DCO respectivement.

Sun et al. (2013) Ont démontré que *C.pyrenoidosa* réduisait plus de 89 % de DCO. En revanche, dans la présente étude l'élimination de DCO par *C. pyrenoidosa* était 72.90%.

Ammar et al. (2018) Ont démontré que *Nannochloropsis. sp et Isochrysis. sp* ont une capacité d'éliminer la demande chimique en oxygène (DCO) varie de 54 à 90% et de 56 à 83% respectivement. Par contre, dans notre expérience on a trouvé que les

efficacités d'élimination de DCO par *Nannochloropsis. sp et Isochrysis. sp* étaient 81.13 et 81.97 respectivement.

Concernant la souche *C. sorokiniana*, l'élimination de DCO était 84.97%. De plus, Nwuche (2014) et Ansari (2017) ont rapporté que *C .sorokiniana* éliminait 66 et 69% de DCO respectivement.

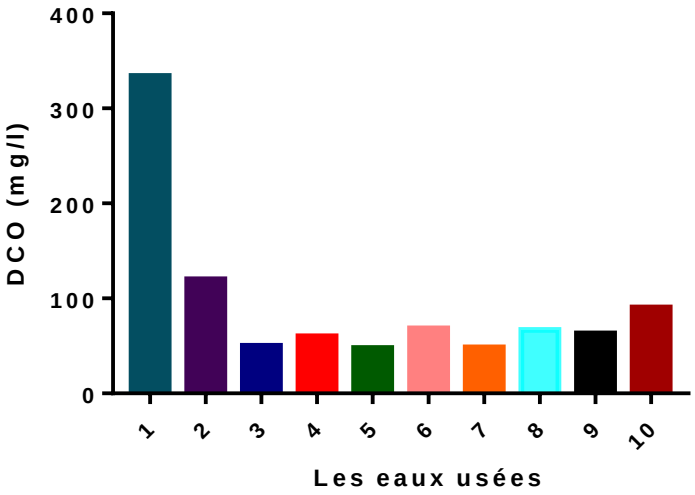


Fig. 32. variation de la demande chimique en oxygène en mg/l des eaux usées brutes et des eaux usées traitées (ETU):(**1**) eaux usées brutes, (**2**) EUT par lagunage aéré, (**3**) EUT par C. Sorokiniana, (**4**) EUT par Isochrysis, (**5**) EUT par Spirulina, (**6**) EUT par Heamatococcus, (**7**) EUT par Dunaliella salina, (**8**) EUT par Chlorococcum, (**9**) EUT par Nannochloropsis, (**10**) EUT par C. Pyrenoidosa.

- **Ammonium**

D'après la figure 33 qui représente la concentration de l'ammonium, on observe que la quantité d'ammonium des eaux usées brutes est presque totalement dégradée grâce aux microalgues.

Les efficacités d'élimination de NH_4^+ des sept souches de microalgues sont supérieures à 94% sauf *Spirulina. sp* qui a une capacité de réduire 84.75% d'ammonium. Par contre, le traitement par lagunage aéré n'a pu qu'éliminer 22.15% d'ammonium.

Min et al. (2011) ont également trouvé que *Chlorella. sp* a été capable d'éliminer L'ammonium (61%) des eaux usées domestiques. De même. *C. pyrenoidosa* utilisé dans notre expérience éliminait 97.68% d'ammonium.

En effet, González et al. (2008) ont rapporté que la culture de *C.sorokiniana* mélangée à des boues activées a éliminé 87% du NH4-N. Cette élimination semble assez inférieure de l'efficacité obtenue par *C. sorokiniana* dans la présente étude (98.22%).

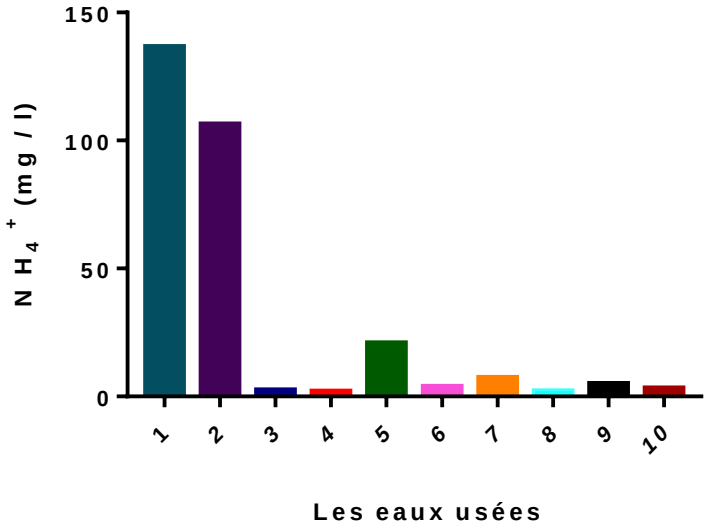


Fig. 33. variation de l'ammonium en mg/l des eaux usées brutes et des eaux usées traitées (ETU):(**1)** eaux usées brutes, (**2)** EUT par lagunage aéré, (**3)** EUT par C. Sorokiniana, (**4)** EUT par Isochrysis, (**5)** EUT par Spirulina, (**6)** EUT par Heamatococcus, (**7)** EUT par Dunaliella salina, (**8)** EUT par Chlorococcum, (**9)** EUT par Nannochloropsis, (**10)** EUT par C. Pyrenoidosa.

D'après les résultats obtenus dans ce chapitre on constate que la culture des microalgues dépend de plusieurs facteurs, dont les microalgues, le milieu de croissance, le type de réacteur utilisé / méthodes de culture, le milieu léger, etc. Les eaux usées brutes de Said Otba et de Sidi Khouiled contiennent des nutriments qui sont les principaux ingrédients nécessaires à la croissance des microalgues.

L'un des aspects les plus importants de l'intensification d'un processus de production d'algues est la sélection d'une souche d'algues appropriée.

Chapitre IV. Réutilisation des eaux usées traitées par les microalgues dans l'irrigation

IV. 1. Introduction

La réutilisation des eaux usées attire de plus en plus l'attention, car c'est une option pour résoudre le problème de la pénurie d'eau dans les zones arides et semi-arides en particulier. Cependant, les eaux usées doivent être réutilisées avec précaution, car c'est une source des contaminants chimiques et biologiques et des polluants qui peuvent avoir des impacts négatifs sur l'environnement et la santé (Singh et al. 2004; Hamilton et al. 2006; Muchuweti et al. 2006; Fatta-Kassinos et al. 2011).

Plusieurs études liées à l'utilisation des eaux usées traitées en agriculture ont été réalisées. Pedrero et al. (2012) ont cultivé le citron irrigué en eau usée traitée par boue activée. Ainsi, Cirelli et al. (2012) ont cultivé l'aubergine et la tomate en utilisant des eaux usées traitées tertiaire dans l'irrigation. Ces auteurs ont conclu qu'outre les avantages de l'utilisation des eaux usées traitées dont, l'augmentation de la production, les nutriments et la réduction du dosage des engrais, certains inconvénients comme la salinisation des sols, l'endommagement des cultures sensibles et la perte d'infiltration du sol.

Le but de cette étude était d'évaluer les effets de l'irrigation de la laitue et l'épinard avec 3 types différents d'eaux, sur l'accumulation de métaux lourds dans ces plantes ainsi que les risques potentiels pour la santé humaine associés à la consommation de ces plantes.

IV. 2. Conditions expérimentales

L'expérience a été menée dans une serre entre les mois de février et mars 2017. Des graines d'épinard et de laitue ont été semées dans des seaux, qui ont été perforés au fond (pour le drainage). Ces seaux ont été remplis avec un échantillon de sol (figure 34).

Un programme d'irrigation uniforme a été suivi dans tous les seaux (irrigation goutte à goutte) afin de maintenir des conditions similaires tout au long de la croissance des plantes.

Fig. 34. les seaux avant plantation

IV. 3. Méthodes analytiques

IV. 3. 1. Échantillonnage et analyse des eaux utilisées

Trois types d'eaux ont été utilisés pour l'expérience:

- les eaux usées traitées par lagunage aéré de la station d'épuration de Sidi Khouiled Ouargla (ES).
- les eaux de forage sont les eaux de robinet de Said Otba (EF).
- les eaux usées traitées par les microalgues (EM) obtenues par la culture de *Chlorococcum. sp* dans les eaux usées récupérées après l'étape de prétraitement de la station de Sidi khouiled dans un aquarium de 45L de capacité (40 L volume réel) en plein air utilisant le soleil comme source de lumière pendant 19 jours (figure 35).

Fig. 35. Culture de Chlorococcum dans les eaux usées

Les paramètres mesurés au laboratoire comprennent les paramètres physicochimiques tels que le pH, la conductivité, les solides dissous totaux (TDS) et l'oxygène dissous (OD).

Les paramètres chimiques mesurés comprennent l'azote total, l'ammonium, le phosphore, le potassium, le chlorure, le sodium, le magnésium, le carbone organique total et la demande chimique en oxygène (DCO) selon les procédures décrites par (APHA 1998), tandis que les analyses bactériologiques et parasitologies mesurées étaient coliformes totaux, coliformes fécaux, streptocoque D, les œufs de nématodes et les œufs d'helminthes. Les paramètres ci-dessus ont été sélectionnés en fonction de leur importance dans le traitement des eaux usées et leur réutilisation pour l'irrigation.

Le pH qui est parmi les paramètres physico-chimiques peut aider à comprendre les conditions de fonctionnement du système. De plus, TDS, Conductivité et OD peuvent fournir l'indication primaire des constituants chimiques disponibles dans les eaux usées.

Le potassium et le phosphore sont les nutriments essentiels à la croissance des plantes et l'intérêt de l'étude était de connaître les quantités utilisées dans l'effluent final et de se mettre à la disposition des plantes.

La demande chimique en oxygène (DCO) a été mesurée pour aider à quantifier la quantité de charges organique, car les composés organiques élevés épuisent l'oxygène dans l'environnement récepteur et il est souhaitable que l'effluent final soit de faible charge organique. Coliformes fécaux sont utilisés comme un indicateur de la pollution

fécale, il a donc été utilisé pour représenter une image de la charge de pollution biologique.

IV. 3. 2. Échantillonnage et analyse des sols

Le sol utilisé dans cette expérience provenait de la ferme de Hassi Ben Abdellah Ouargla. Il a été prélevé à une profondeur de 0 à 20 cm et n'a pas été traité avec des engrais synthétiques ou naturels. Les grosses pierres et les déchets grossiers ont été enlevés du sol.

Avant le début de l'expérience, les paramètres physicochimiques analysés comprennent : bases échangeables : Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^+; micronutriments (Mn, Cu, Zn, Fe); pH; conductivité électrique; azote total (NT); phosphore (P). En effet, le pH du sol a été déterminé dans un rapport sol / solution de 1: 2,5 (poids / volume) (Jackson 1958).

La conductivité électrique a été quantifiée à partir de l'extrait de saturation des échantillons de sol à l'aide d'un conductimètre électrique.

À partir des extraits de sol, les bases échangeables Na +, K +, Ca^{2+} et Mg^{2+} ont été extraites en NH_4Cl 1M et analysées par spectroscopie d'émission atomique (pour Na^+ et K^+) et spectroscopie atomique d'absorption de flamme (pour Ca^{2+} et Mg^{2+}) (Pratt 1965). L'azote total (NT) a été déterminé en suivant la procédure de Kjeldahl décrite par Bremner (1965).

IV. 3. 3. Échantillonnage et analyse des plantes

Les plantes ont été récoltées pour l'analyse microbiologique comprenant des coliformes totaux, coliformes fécaux, *Streptocoque D*, *Staphylococcus* et *Salmonella* en utilisant les méthodologies décrites par Schraft et al. 2005.

Les feuilles de laitue irriguées par les 3 types d'eaux ont été séchées dans un étuve à 75 °C pendant 72 h puis broyés en poudre dans un mortier en porcelaine, puis digéré dans un mélange de HNO_3 et $HClO_4$ (3: 1, V / V) jusqu'à ce que la solution devienne transparente (Allen 1986). Après la minéralisation, tous les échantillons ont été ajoutés de l'eau distillée pour atteindre 10 ml. La teneur en métaux lourds a été déterminée après filtration des échantillons digérés à l'aide d'ICP-AES (Plasma à couplage inductif couplé à un spectromètre d'émission atomique).

IV. 4. Résultats et discussions

IV. 4. 1. La qualité des eaux d'irrigation

Les résultats des paramètres physico-chimiques et microbiologiques des eaux utilisées dans l'irrigation des plantes sont présentés dans le tableau 4. Les valeurs de pH moyennes pour les eaux de forage (EF), les eaux traitées par lagunage aéré (ES) et les eaux usées traitées par les microalgues (EM) ont été 7.18 ,6.96 et 7.25 respectivement. Ces valeurs se situent dans les limites autorisées par l'OMS et la FAO à des fins de consommation et d'irrigation. La limite de tolérance du pH pour l'eau d'irrigation varie de 6,0 à 9,0 (Singh et al. 2009).

Tab. 4. Analyse des eaux utilisées dans l'irrigation

	Unité	EF	EM	ES
pH	/	7. 18	7. 25	6. 96
EC	mSm^{-1}	2. 59	10. 25	6. 54
TDS	$(g\ L^{-1})$	1. 96	7. 78	4. 96
Dureté totale	$mg\ L^{-1}(CaCO_3)$	1100	1400	1000
TAC	$mg\ L^{-1}(CaCO_3)$	915	815	5075
N total	mgL^{-1}	2. 08	6. 53	216. 81
$N\text{-}NH_4^+$	mgL^{-1}	0. 09	4. 21	106. 33
$N\text{-}NO_2^-$	mgL^{-1}	0. 02	6. 36	0. 084
P total	mgL^{-1}	0. 127	0. 2	5. 12
COT	mgL^{-1}	4. 36	5. 15	16. 27
COD	mgL^{-1}	10. 1	86. 4	120
SO_4^{2-}	mgL^{-1}	761. 34	654. 6	427. 59
K^+	mgL^{-1}	16. 72	82. 61	59. 99
Na^+	mgL^{-1}	316. 79	935. 12	725. 19
Cl^-	mgL^{-1}	1627. 29	2761. 79	2619. 98
Mg^{2+}	mgL^{-1}	194. 44	194. 44	72. 92
Ca^{2+}	mgL^{-1}	120. 24	240. 48	280. 56
Germes totaux	UFC/100mL	<10	$3*10^2$	$2.8*10^3$
Coliformes totaux	UFC/100mL	absence	46	110
Coliformes fécaux	UFC/100mL	absence	12	34
staphylococcus	UFC/100mL	20	180	410
Salmonella	UFC/100mL	absence	absence	absence
Streptocoque D	UFC/100mL	absence	absence	12
Œufs de nématodes	UFC /Litre	absence	absence	absence
Œufs d'helminthes	UFC /Litre	absence	absence	absence

Les concentrations moyennes de coliformes totaux dans les trois types d'eau utilisée dans cette expérience étaient plus moins que la limite requise pour l'irrigation des légumes verts décrite par Trani et al. (2011), $5*10^3$ UFC/100mL.

D'après les résultats résumés dans le tableau 4, on remarque que les eaux usées traitées par les microalgues ont des concentrations en coliformes totaux, coliformes fécaux ,germes totaux et streptocoque inférieurs à celles trouvées dans les eaux usées traitées par lagunage aéré. De plus, ça signifie que les microalgues ont une capacité remarquable d'éliminer les bactéries plus efficaces que le procédé de lagunage aéré.

Certains auteurs étudient les avantages de la réutilisation de l'eau dans l'agriculture, car les eaux usées traitées contiennent généralement une forte concentration d'éléments nutritifs comme l'azote et le phosphore, ce qui réduit l'utilisation d'engrais et améliore la production (Cirelli et al. 2012; Marinho et al. 2013; Nogueira et al. 2013).

En comparant les caractéristiques des eaux utilisées dans l'irrigation, il a été possible d'observer que les concentrations de sodium, calcium, azote, potassium et phosphore dans les deux eaux usées traitées étaient supérieurs aux concentrations des mêmes nutriments dans l'eau potable (tableau 4).

En effet, la demande chimique en oxygène (DCO) a également été évaluée, car elle peut influencer l'absorption d'eau par les racines de la plante. Comme le montre le tableau 4, la valeur maximale de DCO était observée dans les eaux usées traitées par lagunage aéré (120 mg/l).

Par ailleurs, Souza et al. (2015) ont conclu que la qualité des eaux usées traitées est acceptable pour l'irrigation agricole, mais avec la recommandation de ne pas utiliser l'irrigation par aspersion, car l'irrigation goutte à goutte serait plus appropriée pour éviter la contamination par les agents pathogènes et surveiller la salinité en raison de la forte concentration de Na^+ dans l'effluent.

IV. 4. 2. Caractéristiques physiques, chimiques et microbiologiques du sol

Le tableau 5 présent les caractéristiques et la concentration totale des paramètres physico-chimiques et bactériologiques dans le sol échantillonné dans notre expérience.

La valeur moyenne du pH de sol était de 7. 51. Le pH est l'un des facteurs influençant la biodisponibilité et le transport des métaux lourds dans le sol. La mobilité des métaux lourds diminue avec l'augmentation du pH du sol due à la précipitation des hydroxydes, des carbonates ou la formation de complexes organiques insolubles (Smith et al. 1992).
En effet, selon la méthode de l'hydromètre (Gee et al. 1986), la texture du sol était sableuse. La concentration moyenne de matière organique dans le sol étudié était de
1. 03%. La concentration moyenne de fer enregistrée dans le sol était 260 mg/kg. De plus, les concentrations de Zn et Cu étaient 5 mg/kg. Ces valeurs ont été observées dans leurs
limites autorisées fixées par l'OMS.

Tab. 5. Analyses chimiques et bactériologiques du sol

Paramètre	Unité	Valeur
pH	/	7. 51
EC	mSm^{-1}	2. 35
TDS	$g\ L^{-1}$	1. 063
Sal	$g\ L^{-1}$	1. 1
N total	ppm	29. 688
$N\text{-}NH_4^+$	$mgKg^{-1}$	3. 56
$N\text{-}NO_3^-$	$mgKg^{-1}$	23. 92
K^+	$mgKg^{-1}$	162. 49
MO	%	1. 03
SO_4^{2-}	$mgKg^{-1}$	1594. 45
Na^+	$mgKg^{-1}$	886. 2
Cl^-	$mgKg^{-1}$	5654. 75
Mg^{2+}	ppm	488. 35
P	$mgKg^{-1}$	91. 37
Cu	$mgKg^{-1}$	5
Fe	$mgKg^{-1}$	260
Mn	$mgKg^{-1}$	61
Zn	$mgKg^{-1}$	5
Coliformes totaux	UFC/g	$1.5*10^2$
Coliformes fécaux	UFC/g	14
Salmonella	UFC/g	absence
Streptocoque D	UFC/g	absence
Œufs de nématodes	UFC/g	absence
Œufs d'helminthes	UFC/g	absence

La teneur en P, K^+, Na^+, SO_4^{2-} et Mg^{2+} de l'échantillon de sol était de 91.37,

162. 49, 886.2, 1594.45 et 488.35 $mgKg^{-1}$ respectivement. Les symptômes de la carence en Mg^{2+} peuvent survenir à des teneurs inférieures à 60 mg / kg.

IV. 4. 3. L'effet des eaux d'irrigation sur la croissance des plantes

Tous les paramètres de croissance des deux légumes soumis aux différents traitements des eaux ont augmenté avec le temps.

L'augmentation de la croissance des deux légumes est due à la contribution de la matière organique et d'autres nutriments (par exemple N, K et P). Ces résultats concordent avec ceux d'autres chercheurs. Al-Absi 2008, Areola et al. 2011, Abegunrin et al. 2013 qui ont signalé une augmentation de la croissance des plantes et une amélioration du rendement sous l'irrigation des boues et des eaux usées.

La figure 36 représente les effets des eaux usées traitées par lagunage aéré (1), des eaux de forage (2) et des eaux usées traitées par les microalgues sur la croissance des deux plantes.

Fig. 36. La croissance des plantes –à gauche après 15 jours –à droite après mois

En outre, les plantes ont été récoltées après 70 jours (figure 37).

Fig. 37. les plantes après 70 jours

IV. 4. 3. 1. La qualité bactériologique des plantes

Les charges microbiennes moyennes sur les légumes irrigués avec 3 types d'eaux sont présentées dans le tableau 6.

Tous les légumes échantillonnés pendant la période d'étude ont enregistré différents niveaux de Germes totaux. Le plus haut niveau de germes totaux a été enregistré dans l'épinard, suivi par la laitue irriguée par les eaux usées traitées par lagunage aéré.

Les concentrations moyennes de coliformes totaux étaient <10 pour les deux légumes. Les valeurs moyennes de la contamination par les bactéries *Staphylococcus* sur la laitue irriguée par EF, EM et ES étaient de 1160, 1560 et 4260 respectivement. Les dénombrements bactériens (*Staphylococcus*) sur l'épinard irrigué par les eaux usées traitées par lagunage aéré étaient plus élevés que ceux irrigués par les deux autres eaux.

Tab. 6. Analyse bactériologique des plantes

	Unité	Laitue			épinard		
		EF	EM	ES	EF	EM	ES
Germes totaux	UFC/g	1160	1560	4260	70	100	620
Coliformes totaux	UFC/g	<10	<10	<10	<10	<10	<10
Coliformes fécaux	UFC/g	absence	absence	absence	absence	absence	absence
staphylococcus	UFC/g	640	1540	16720	6	10	520
Anaérobie SR 46	UFC/g	absence	présence	présence	absence	absence	présence
salmonella	UFC/g	absence	absence	absence	absence	absence	absence

IV. 4. 3. 2. L'accumulation des métaux lourds dans les plantes

Les résultats de cette étude indiquent que les concentrations moyennes de métaux lourds dans les feuilles de laitue irriguée par les différentes eaux sont de l'ordre de Zn> Cu> Cr> Cd>Co>Ni.

Les variations des concentrations de métaux lourds sont dues au fait que l'absorption des métaux lourds dans les légumes dépend de la composition du sol, de l'eau, de l'équilibre nutritionnel et de la permissivité des métaux (Ahmad et al. 2010) et variait grandement parmi les espèces végétales et parmi les génotypes au sein d'une même espèce (Hu et al. 2014).

L'accumulation substantielle de métaux lourds dans les légumes-feuilles peut constituer un point d'entrée possible pour ces métaux dans la chaîne alimentaire (Nabulo et al. 2010).

La chaîne alimentaire (plante / humaine / sol) est reconnue comme l'une des principales voies d'exposition humaine à la contamination du sol. La bioaccumulation des métaux lourds dans les légumes est influencée par un certain nombre de facteurs tels que le climat, les dépôts atmosphériques, les concentrations de métaux lourds dans le sol, la nature du sol sur lequel les légumes sont cultivés et le degré de maturité des plantes au moment de la récolte (Bhargava et al. 2012; Ali et al. 2013).

A. Nickel

Le nickel a été considéré comme un oligoélément essentiel pour la santé humaine et animale (Hasan et al. 2012). La limite admissible de nickel dans les plantes recommandée par l'OMS est de 10 mg/kg. La concentration de nickel dans les échantillons des feuilles de la laitue irriguée par les 3 eaux était 0.1 mg/kg, ce qui est inférieur à la limite permise.

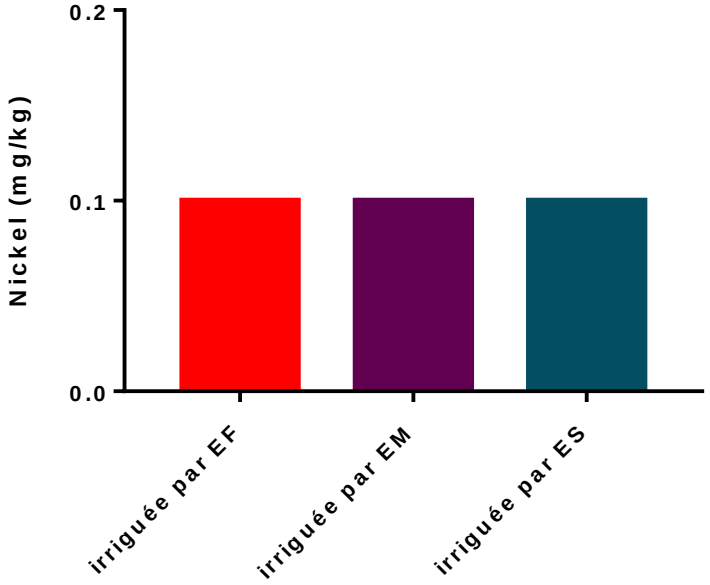


Fig. 38. la concentration de Nickel (mg / kg) dans les feuilles de la laitue

B. Cadmium

La limite permise de cadmium dans les plantes, recommandées par l'OMS, est de 0,2 mg / kg. Dans les feuilles de laitue irriguée par les eaux usées traitées par lagunage aéré, la concentration de cadmium a été trouvée supérieure à la limite permise (2.45 mg/kg). On outre, les concentrations de cadmium dans les feuilles de laitue irriguée par EF et EM étaient 0.1 et 0.21 mg/kg respectivement.

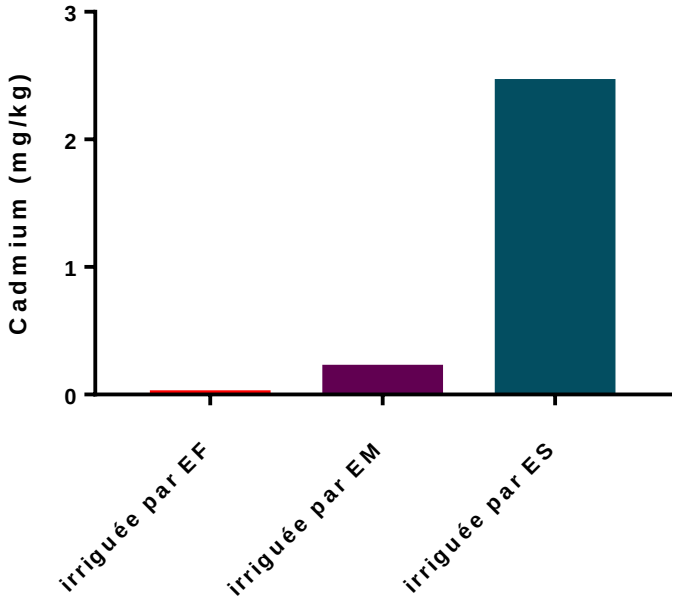


Fig. 39. la concentration de cadmium (mg / kg) dans les feuilles de la laitue

C. Cuivre

La limite permise de cuivre dans les plantes est de 40 mg / kg recommandés par l'OMS (Chauhan et al. 2014). Dans tous les échantillons de feuilles prélevés, la concentration de cuivre a été enregistrée en dessous de la limite permise (figure 40). La contamination par un taux élevé de cuivre peut entraîner une anémie chronique (Iqbal et al. 2011). La toxicité du cuivre est une cause fondamentale de la maladie de Wilson (Mebrahtu et al. 2011).

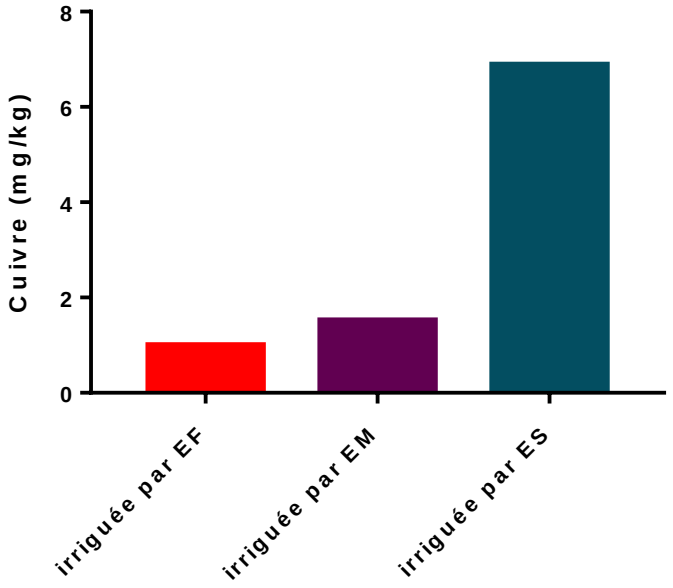


Fig. 40. la concentration de cuivre (mg / kg) dans les feuilles de la laitue

D. Zinc

Le zinc est un élément essentiel pour les plantes, sa présence en quantités excessives peut être préjudiciable à la croissance des plantes (Wang et al. 2009). Des quantités plus élevées de Zn peuvent réduire la biomasse végétale, car elle peut entraîner une carence de micronutriments telle que le phosphore (An et al. 2004).

La figure 41 montre que les échantillons des feuilles de laitue irriguées par EM étaient inférieurs à ceux-ci enregistrée pour les deux autres eaux d'irrigation. De plus, la limite de zinc recommandée par l'OMS pour les plantes est de 60 mg / kg (Shah et al. 2013).

Khan et al. (2008) ont démontré que Zn est facilement transférable aux feuilles des légumes (laitue et épinards), tandis que le transfert de Cr et de Cu a rencontré beaucoup plus de résistances.

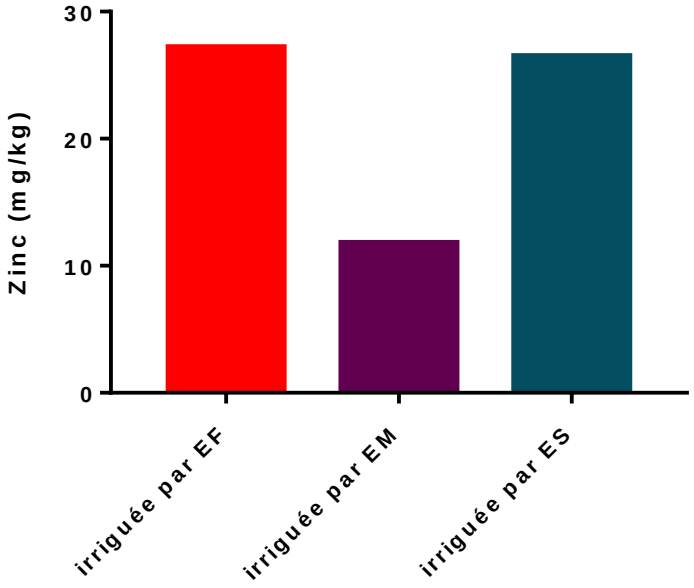


Fig. 41. la concentration de zinc (mg / kg) dans les feuilles de la laitue

E. Chrome

Les valeurs moyennes de chrome dans les feuilles de laitue irriguée par EF, EM et ES étaient de 0.1, 0.16 et 2.8 mg/kg respectivement. De même, Qureshi et al. (2016) ont rapporté que la concentration de chrome dans la laitue était 1.2 mg/kg.

Les recherches traitant des interactions entre le chrome et les plantes sont relativement limitées (Cary et al. 1990). De plus, Zayed et al. (2003) notent que la quasi-totalité du Cr absorbé (>99%) reste dans les racines où il est rapidement réduit.

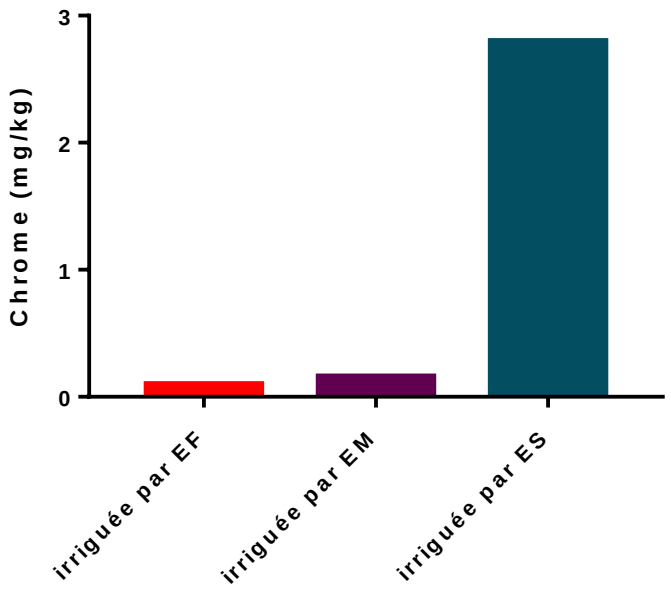


Fig. 42. la concentration de chrome (mg / kg) dans les feuilles de la laitue

F. Cobalt

D'après la figure 43, les résultats montrent que les concentrations de cobalt dans la laitue irriguée par ES étaient supérieurs à celles trouvées dans le cas d'irriguer par EF et EM.

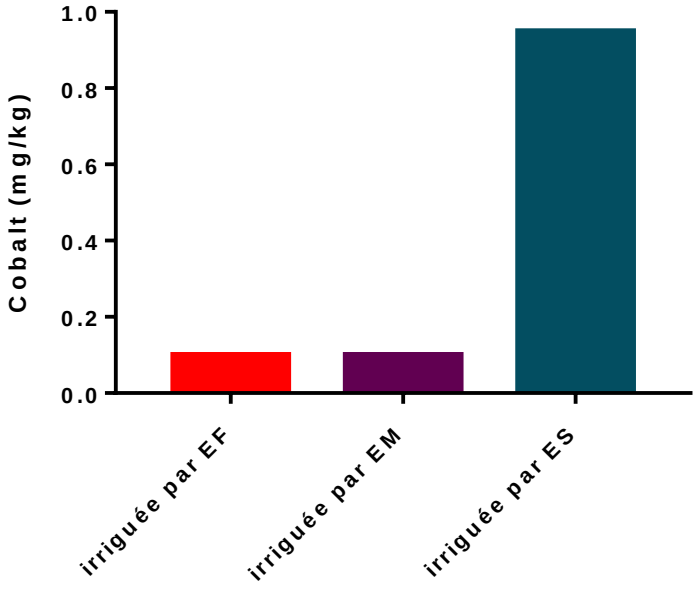


Fig. 43. la concentration de cobalt (mg / kg) dans les feuilles de la laitue

Les résultats de cette étude indiquent que l'utilisation des eaux usées traitées dans l'irrigation d'une plante de culture courte, comme laitue ou épinard pourrait être une alternative pour augmenter la disponibilité de l'eau d'irrigation en période de pénurie d'eau avec l'avantage d'améliorer les nutriments du sol et d'augmenter la productivité sans causer de dommages sur la structure du sol. Les laitues récoltées ne présentaient pas de contamination par les coliformes fécaux, mais l'évaluation des cultures avec un cycle de culture plus long avec plus de répétitions est recommandée. Les recherches futures utilisant les mêmes conditions de cette étude sur le terrain sont encouragées.

Chapitre V. Caractérisation de la biomasse algale

V. 1. Introduction

Les sources primaires d'énergie fossile telles que le charbon, le pétrole et le gaz naturel se sont progressivement épuisées au cours des dernières décennies, contribuant au développement de sources d'énergie propres et renouvelables comme l'énergie éolienne, solaire et la biomasse. La conversion de la biomasse en biocarburants est devenue l'un des points importants dans le domaine des énergies renouvelables, en termes de production de biodiesel et de bioéthanol à partir de plantes cultivées (Williams et al. 2010; Anastasakis et al. 2011; López-González et al. 2014).

Les microalgues sont la source prometteuse de biocarburant en raison de leur structure cellulaire simple, de leur taux de croissance plus élevé et de leur teneur en lipides que les cultures oléagineuses conventionnelles (Becker 2007). Il est intéressant de noter que certaines espèces d'algues stockent régulièrement 50 à 60% de leur poids sec en tant que lipides, ce qui a été augmenté en adoptant diverses conditions de stress environnementales et nutritionnelles (Illman et al . 2000; Breuer et al . 2012; Lin et al . 2012).

Cependant, il convient également de noter que l'accumulation de lipides induite par le stress correspond souvent à une productivité réduite de la biomasse (Rodolfi et al. 2009).

La compréhension des propriétés physiques et chimiques des microalgues est essentielle au développement du processus approprié pour la production commerciale de biocarburants. À cet égard, Ross et al . 2008 ont rapporté que les microalgues riches en lipides pourraient constituer une source future de biocarburants et de produits chimiques de troisième génération.

Ce chapitre vise à caractériser les propriétés chimiques, microbiologiques et biochimiques de *C. pyrenoidosa* qui peuvent être utilisées comme matières premières pour biocarburants.

V. 2. Préparation et analyses des poudres algales

V. 2. 1. Récolte de la biomasse

La biomasse de *C. pyrenoidosa* cultivée dans les eaux usées de la station d'épuration de Said Otba a été récolté par centrifugation à 10000 tr / min pendant 5 min, cette biomasse a été lavée deux fois avec l'eau distillée, puis elle a été séchée au four à 80 ° C pendant 24h.

V. 2. 2. Isolement et identification des souches bactériennes dans la poudre de *C. pyrenoidosa*

Un gramme de poudre de *C. pyrenoidosa* a été mélangé dans 10 ml d'eau distillée. Les dilutions ont été faites jusqu'à 10^{-9} en ajoutant 1 mL de la solution précédente à la dilution suivante. Des échantillons dilués en série ont ensuite inoculé sur les boîtes de gélose nutritive par étalement suivi d'incubation pendant 24 heures à 37 ° C. Les colonies individuelles ont été isolées et repiquées deux fois pour assurer la pureté.

Tous les isolats bactériens ont d'abord été colorés au Gram pour une identification Gram positif et Gram négatif et testé pour l'activité oxydase. L'identification des isolats a été réalisée sur la base de la méthode décrite par Sakazaki et al. (1986). La coloration de Gram visait à différencier les réactions de Gram, les tailles, les formes et la disposition des cellules des isolats (Length 2011).

La méthode de Kirby-Bauer (Raschid-Sally et al . 2005) a été utilisée pour tester les isolats pour leur résistance / sensibilité: Douze disques différents d'antibiotiques (Sensi-Disc®, Becton Dickinson et Co. , Cockeysville, MD), qui inhibent apparemment la croissance d'une large gamme de micro-organismes testés, ont été utilisés dans cette étude. Ils étaient Gentamicine, Ciprofloxacine, Ceftriaxone, Cefotaxime, Tobramycine, Aztreonam, Amoxicilline, Chloramphenicol, Levofloxacin, Piperacillin-tazobactam, Erythromycine et Tétracycline.

V. 2. 3. Composition chimique

La poudre de *C. pyrenoidosa* a été étudiée en utilisant la microscopie électronique à balayage (PhenomProx X). L'échantillon a été analysé par SEM (Scanning Electron Microscopy) pour leur étude morphologique.

La composition élémentaire de *C. pyrenoidosa* a été déterminée en utilisant un analyseur CHNS/O (2400 CHNS/O Séries II System Perkin Elmer). Approximativement 1,0 mg d'échantillon a été pesé dans une capsule d'étain et placé dans l'échantillonneur automatique. La température a été réglée à 1000 ° C pour l'analyse. L'oxygène, l'azote et l'hélium ont été utilisés comme gaz vecteurs. De plus, le pouvoir calorifique supérieur (PCS) de la biomasse de *C. pyrenoidosa* a été calculé à partir des données d'analyse finales présentées dans le tableau 9 en utilisant la formule de Dulong (Raheem et al. 2015) donnée comme suit:

$$33.86*C+144.4*(H-O/8) + 9.428*S$$

La teneur en minéraux a été mesurée en utilisant un ICP-AES(Plasma à couplage inductif couplé à un spectromètre d'émission atomique) selon la procédure décrite par Cotillas et al. (2013).

V. 2. 4. Détermination de la teneur en lipides

Les lipides totaux ont été extraits de la biomasse algale à l'aide d'une méthode modifiée de Bligh et Dyer (Bligh and Dyer 1959). 50 mg de biomasse algale séchée ont été placés dans un tube à essai de 15 mL et 1,6 mL d'eau, 4,0 mL de méthanol et 2,0 mL de chloroforme ont été ajoutés. La solution a été mélangée pendant 30 secondes.

Par la suite, 2,0 mL supplémentaires de chloroforme et 2,0 mL d'eau ont été ajoutés et le contenu du tube à essai a été mélangé pendant 30 secondes. Les tubes à essai ont été centrifugés à 5000 tr / min pendant 10 minutes. La couche supérieure a été retirée en utilisant une pipette et la phase de chloroforme inférieur contenant les lipides extraits a été transférée dans un tube de culture de 30 mL. La matière solide laissée au fond du tube d'extraction a été extraite avec la même procédure deux fois de plus et les phases de chloroforme ont été mélangées ensemble et ensuite évaporées dans un

évaporateur rotatif jusqu'à l'obtention d'un lipide sec. Les lipides totaux ont été mesurés par gravimétrie, puis la teneur en lipides a été calculée.

V. 2. 5. Analyse FTIR

Les spectres infrarouges ont été recueillis sur un spectromètre Agilent Cary 630 équipé d'une cellule de réflectance iATR à cristaux de diamant avec un détecteur DTGS balayant sur la plage de 4 000 à 400 cm^{-1} à une résolution de 4 cm^{-1}. Environ 4-6 mg de biomasse séchée en poudre déposée sur la surface du cristal, puis pressée sur la tête de cristal. Les spectres ont été enregistrés en utilisant le logiciel spectroscopique Spectrum (Micro Lab).

V. 2. 6. Analyse ATG/DTG

L'analyse thermogravimétrique a été réalisée à l'aide d'un analyseur thermique (SDT Q600 de TA instruments). La poudre algale a été tamisée et les particules plus petites que 20 µm ont été utilisées pour minimiser les effets de transfert de masse et de chaleur pendant le processus.

Dans notre expérience, 12.0550 mg de biomasse de *C. pyrenoidosa* séchée a été dispersée dans un creuset d'alumine. Le processus de pyrolyse a été effectué à partir de températures ambiantes jusqu'à 900 ° C à une vitesse de chauffage égale à 10 ° C / min. L'azote de haute pureté (99,99%) était à 100 ml / min en tant que gaz de purge inerte pour déplacer l'air pendant la pyrolyse, évitant l'oxydation indésirable dans l'échantillon. La perte de poids a été enregistrée en fonction de la température. Le taux de perte de poids (dx / dt) dans la biomasse pendant la pyrolyse a été enregistré comme une courbe de thermogravimétrie dérivée (DTG).

V. 3. Résultats et discutions

V. 3. 1. Identification des souches bactériennes contaminantes de la biomasse

Les résultats de cette étude montrent que les bactéries isolées à partir de la poudre de *C. pyrenoidosa* ont été identifiées sur la base d'une croissance sur gélose nutritive

(identification primaire), microscopie, croissance sur des milieux sélectifs (identification secondaire) et analyse biochimique. Les deux bactéries obtenues d'après l'isolation et la purification ont été observées au microscope optique. Il est clair que ces deux bactéries étaient gram-positives.

Le test d'identification bactérienne est réalisé à l'aide d'un système de galeries, qui est un système standardisé pour l'identification des bactéries corynéformes (GRAM +) utilisant des tests tubes, ainsi qu'une base de données spécifique. Le test se compose d'une galerie constituée de 20 tubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres.

Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense qui réhydrate les substrats enzymatiques. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les substrats sucrés. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré. Après l'incubation, la lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture (Annexe II) et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

- **Réactions biochimiques des isolats**

L'identification est obtenue à partir du profil numérique : sur la fiche de résultats, les tests sont séparés par groupes de trois et une valeur 1, 2 ou 4 est indiquée pour chacun. En additionnant à l'intérieur de chaque groupe les valeurs correspondant à des réactions positives, on obtient 7 chiffres qui constituent le profil numérique; la réaction de catalase qui constitue le 21ème test est affectée de la valeur 4 lorsqu'elle est positive (figure 44).

Fig. 44. Les systèmes d'identification galeries API Coryne- à gauche- avant incubation -à droite- après incubation.

Les résultats résumés dans le tableau 7 montrent que les deux souches bactériennes sont également avérées être positif à la catalase et ne pas fermenter le lactose et le glucose, mais il a été constaté qu'ils fermenter le saccharose et le maltose. De plus, la première souche a présenté des réactions positives au mannitol et oxydase négative.

En revanche, la deuxième était évidemment souche oxydase positive. Elle a réagi positivement au mannitol.

Par conséquent, les souches bactériennes identifiées1et2 sont respectivement *Listeria grayi* et *Cellulomonas. sp.*

D'après Bille et al. (1992), *Listeria grayi* est un synonyme hétérotypique antérieur de *Listeria murrayi* et donc les deux ont été assignés à une seule espèce, *Listeria grayi*. Les cellules sont des bacilles à Gram-positif, anaérobies facultativement, mobiles, non pathogéniques, non hémolytiques, réguliers et lisses.

Tab. 7. Les résultats d'inoculation des différents isolats.

Bactérie	Gram	Oxydase	Réactions biochimiques							
			NIT	PY2	PYRA	PAL	βGUR	βGAL	αGLU	βNAG
Souche. 1	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Souche. 2	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+

Réactions biochimiques											
ESC	URE	O	GEL	SAC	GLU	RIB	XYL	MAN	MAL	GLYC	CAT
+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+
+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+

D'autre part, *Cellulomonas. sp* qui est un genre de bactéries Gram-positives, en forme de tige. L'une de leurs principales caractéristiques distinctives est leur capacité à dégrader la cellulose, en utilisant des enzymes telles que l'endoglucanase et l'exoglucanase. Ils sont membres des actinobactéries.

En effet, Dermoun et al. (1988) ont montré que *Cellulomonas. sp* solubilise dans une large mesure les celluloses microcristallines dans des conditions de croissance anaérobie. Au cours de la dégradation de la cellulose, le substrat proprement dit pour la croissance est cellobiose, le principal produit de la cellulolyse par les espèces de *Cellulomonas. sp*.

- **Réaction aux antibiotiques**

La sensibilité et la résistance aux antibiotiques de deux isolats obtenus dans la présente étude sont présentées dans le tableau 8. Toutes les souches ont montré une sensibilité à Gentamicine, Ciprofloxacine, Ceftriaxone, Amoxicilline, Levofloxacin, Piperacillin-tazobactam et Erythromycine.

Cellulomonas. Sp a montré une résistance à Cefotaxime, Tobramycine et Aztreonam.

D'après Russell et al. (1996), la résistance aux antibiotiques peut être conférée par divers mécanismes. Elle est souvent associée à des éléments génétiques mobiles ou à des plasmides transférables.

Tab. 8. La sensibilité et la résistance aux antibiotiques

ATB	Code ATB	Concentration d'ATB (µg. mL^{-1})	*Listeria grayi*	*Cellulomonas-sp*
Gentamicine	CN	120	S	S
Ciprofloxacine	CIP	5	S	S
Ceftriaxone	CRO	/	S	S
Cefotaxime	CT	10	S	R
Tobramycine	TOB	10	S	R
Aztreonam	ATM	30	S	R
Amoxicilline	AML	25	S	S
chloramphenicol	C	30	R	S
Levofloxacin	LEV	5	S	S
Piperacillin-tazobactam	PT	/	S	S
Erythromycine	E	15	S	S
Tétracycline	TE	/	R	S

V. 3. 2. La composition chimique de *C. pyrenoidosa*

Les caractéristiques de la biomasse algales dépendent de la technique de récolte, des conditions environnementales, de la période de culture et du milieu de culture.

La figure 45 montre que *C. pyrenoidosa* était de forme sphérique. De même, Ponnuswamy et al. (2013) ont également observé que *C. vulgaris* était unicellulaire de couleur verte et de forme sphérique.

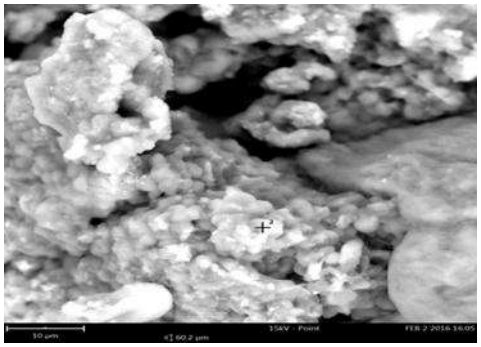


Fig. 45. Image en microscopie électronique à balayage de C. pyrendoisa

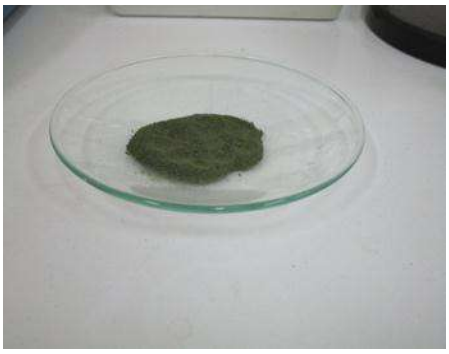


Fig. 46. la biomasse sèche de C. pyrendoisa

- **Analyse élémentaire**

Il est essentiel d'effectuer une analyse élémentaire des microalgues afin de comprendre les effets bénéfiques de leur utilisation en tant que matière première pour l'obtention de biocarburant avant leur traitement ultérieur (Suárez-Garcıa et al. 2002).

Une teneur élevée en oxygène n'est pas une propriété souhaitée pour les biocarburants à haute densité énergétique. Par contre, une faible teneur en azote et en soufre dans la biomasse des microalgues est hautement souhaitable pour la production de biocarburants respectueux de l'environnement.

Les résultats résumés dans le tableau 9 montrent que *C. pyrenoidosa* contient 49% de carbone, 7,06% d'hydrogène, 35. 49% d'oxygène, 7. 8% d'azote et 0. 65% de soufre. Des pourcentages proches sont disponibles dans la littérature (tableau 9).

D'après Illman et al. (2000), une augmentation de la valeur calorifique chez les microalgues est liée à une augmentation de la teneur en lipides plutôt qu'à un changement dans d'autres composants cellulaires tels que les glucides et les protéines.

Tab. 9. Analyse élémentaire des microalgues

Microalgue	Composition élémentaire %					PCS (MJ kg^{-1})	Références
	C	H	N	S	O		
CP	49	7. 06	7. 8	0. 65	35. 49	20. 44	Dans cette étude
C. sp	47. 54	7. 1	6. 73	/	38. 63	/	Phukan et al. (2011)
CV	47. 84	6. 41	9. 01	1. 46	25	21. 88	Chen et al. (2011)
CP	48. 56	6. 8	8. 39	1. 76	41. 29	/	Hu et al. (2015)
CP	51. 2	6. 8	11. 3	/	30. 7	/	Gai et al. (2015)
C. sp	46. 1	6. 1	6. 7	0. 4	19. 1	19. 5	Rizzo et al. (2013)

(CP) *Chlorella pyrenoidosa,* **(C. sp)** *Chlorella. sp,* **(CV)***Chlorella vulgaris.*

- **Les éléments minéraux et les métaux lourds**

L'analyse des minéraux existant dans la biomasse des microalgues fournit également des informations précieuses pour la culture des microalgues sous l'aspect des besoins en nutriments.

D'après Valverde (2014)**,** les concentrations de zinc, d'aluminium et de sodium sont inférieures à ceux trouvés dans notre étude. De même, *Nannochloropsis* (Valverde 2014**)** contiennent des quantités en manganèse et en fer plus élevées que *C. pyrenoidosa.*

Tab. 10. Concentration des minéraux et métaux lourds dans les microalgues

	Éléments (ppm)								Réf
	Na	**Ca**	**Fe**	**Zn**	**Mn**	**Cu**	**Al**	**Si**	
CP	6363. 89	2989. 86	1096. 4	2272. 61	159. 93	33. 52	651. 42	1565	dans cette étude
CV	5277	10397	711. 6	177. 8	121. 8	144. 2	107. 3	14817	Valverde (2014)
SC	4402	7297	2768. 6	83. 9	469. 5	-	106. 1	11239	
NG	41620	7493	2414. 9	77. 9	339. 6	-	433. 1	38394	
	Eléments (ppm)								**Réf**
	Cr	**Pb**	**Cd**	**As**	**Ni**				
CP	1. 67	23. 59	1. 55	1. 84	5. 1				dans cette étude

(CP) *Chlorella pyrenoidosa,* **(CV)** *Clorella vulgaris,* **(SC)** *Scenedesmus almeriensis,*
(NG) *Nannochloropsis gaditana,* **(NS)** *Nannochloropsis salina.*

- **Calcination de *C. pyrenoidosa* à 500 °C**

La forme de rétrécissement des particules montrées sur la figure 47 résultait de la déshydratation de *C. pyrenoidosa* pendant le processus de séchage (calcination à 500 °C).

D‘après la figure 48, les spectrogrammes EDX de la biomasse de *C. pyrenoidosa* calcinée à 500 °C donne une composition approximative en (poids%) carbone (48%), oxygène (21%), calcium (3.5%), phosphore (4.3%), magnésium (4.2%), soufre (2.3%), chlore (4.5%), sodium (3%), silicium (6.3%) et potassium (2.9%).

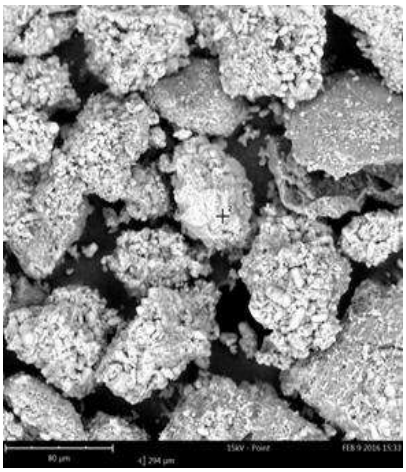


Fig. 47. Image SEM de labiomasse calcinée à 500 ° C

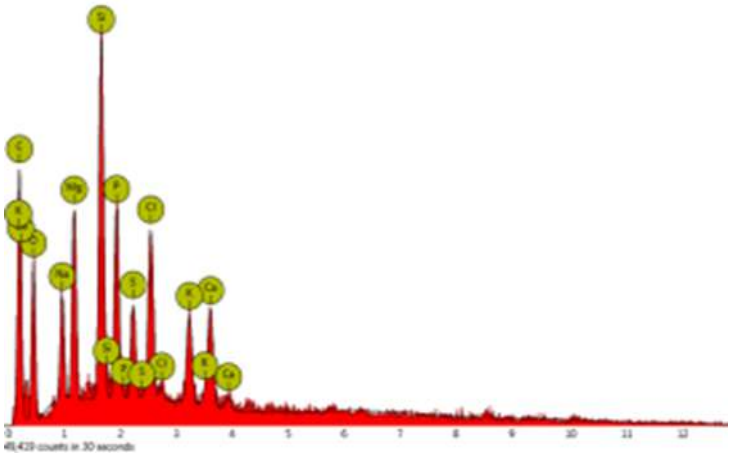


Fig. 48. Composition de la biomasse calcinée à 500 ° C (EDX)

- **Calcination de *C. pyrenoidosa* à 1200 °C**

La microscopie électronique à balayage de la biomasse calcinée à 1200 °C montre une image SEM représentative de la cendre d'algues.

Le résidu de cendre contient des flocons comme des grains et certaines particules avec des formes irrégulières (figure 47), la composition chimique montrée dans les spectrogrammes EDX (figure 50), les éléments inorganiques présents dans les cendres sont (Ca, O, Si, Mg, S, P, Cl, Na, N) ces éléments présents sous forme d'oxydes métalliques comme SiO_2, CaO, MgO, NaO_2, P_2O_5, SO_3.

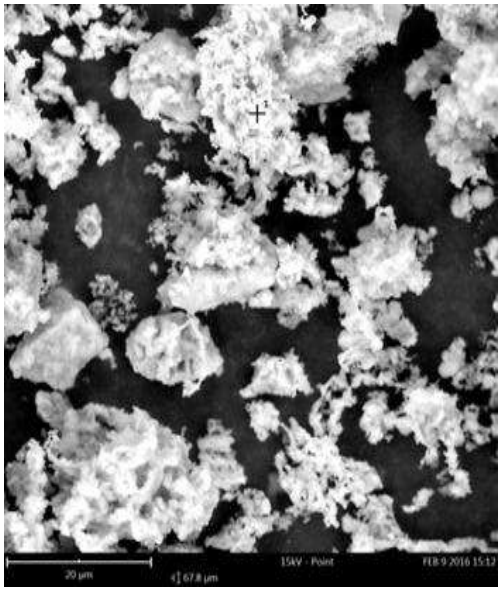


Fig. 49. Image SEM de la biomasse calcinée à 1200 °C

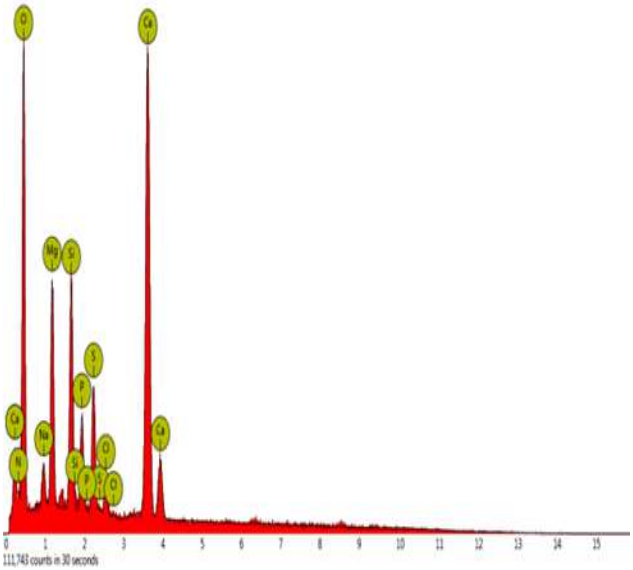


Fig. 50. Composition de la biomasse calcinée à 1200 ° C (EDX)

- **Spectre infrarouge**
- **Biomasse de C. pyrenoidosa**

À partir des spectres d'infrarouge de *C. pyrendoisa* et leur résidu de cendre (figure 51), onze bandes ont été observées sur le nombre entier (400-4000 / cm), chaque pic ayant un groupe fonctionnel.

Généralement, ces bandes représentent les composants cellulaires tels que les protéines, les lipides et les carbohydrates, un pic à 3277 cm^{-1} correspond à l'élongation OH du groupe hydroxyle et à l'élongation NH de la protéine, la bande localisée à 2921 cm^{-1}associées à des élongations asymétriques et symétriques des groupements CH_2.

La bande 2857 cm^{-1} attribué à l'élongation (CH_2), (CH_3) du groupe méthyle et méthylène. La bande entre 2108 cm^{-1} et 2334 cm^{-1} pourrait être affectée au mode de vibration de CO_2, la bande à 1792 cm^{-1} provient de l'élongation symétrique des groupements C=O des esters des lipides et des acides gras. L'élongation symétrique des groupements C=O des amides I des protéines induit une bande vers 1639 cm^{-1}. La bande à 1529 cm^{-1} attribué à l'élongation symétrique (CH) des amides II des protéines et à la déformation des groupements (N-H). L'élongation des groupements COO, CH_2 et CH_3 des ADN des protéines forme une bande à 1416 cm^{-1}.

La bande localisée entre 1020 et 957 cm^{-1} assignées principalement à l'élongation symétrique (Si-O) des siloxanes, à l'élongation (Si-OH) des silanols, à l'élongation (C-O) et à l'élongation (P = O) des ARN et ADN. La bande entre 866 et 839 cm^{-1} attribuée à la déformation asymétrique du groupe (Si-OH) des silanols et à la paroi cellulaire (polysaccharides).

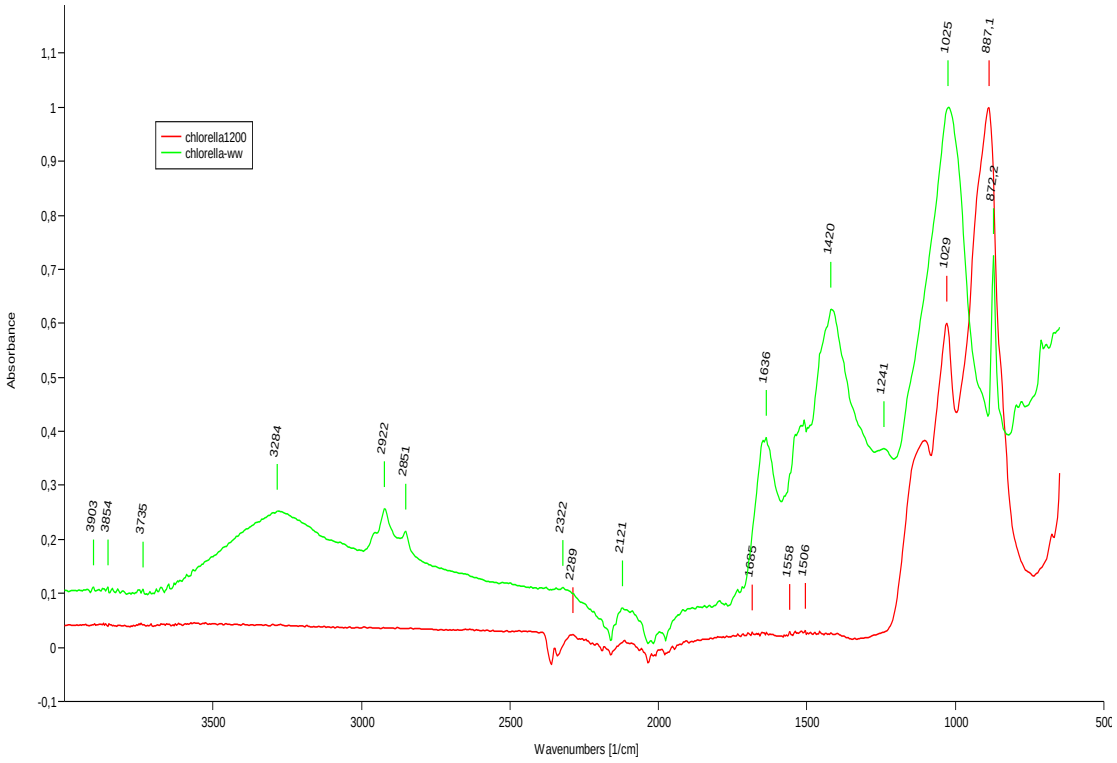


Fig. 51. Spectres FTIR de la biomasse de *C. pyrenoidosa* sèche et calcinés à 1200 °C

- ***C. pyrenoidosa* calciné à 1200 °C**

Les spectres infrarouges du résidu de biomasse après calcination à 1200 °C donnent trois pics. Après calcination les composés présents sont pour la plupart inorganiques, ces composants vibrent à des nombres d'ondes inférieurs à 400cm^{-1}, donc il est difficile de les identifier à cause du chevauchement des spectres, les spectres analysés présentaient essentiellement trois pics au nombre d'ondes de 887 cm^{-1},1029 cm^{-1} et 1112 cm^{-1}.

La bande à 1029 cm^{-1}provient de l'élongation asymétrique de Si-O-Si. Le pic 1112cm^{-1} indique la présence de sulfates, car ils présentent un pic caractéristique dans cette région. La présence de carbonates de calcium ($CaCO_3$) caractérisée par un pic entre 1495 cm^{-1} et 1410 cm^{-1} et un pic moyen entre 885 cm^{-1} et 870 cm^{-1}. Ceci était principalement conforme à l'analyse EDX.

- **Les lipides**

La connaissance du profil lipidique peut offrir des informations pour la recherche sur les biocarburants, telles que la sélection de souches de microalgues et l'optimisation de la croissance et des conditions d'extraction des microalgues. Le profil lipidique est l'une des caractéristiques les plus importantes dans la fabrication du biodiesel.

Les résultats ont montré que la teneur en lipides dans *C. pyrenoidosa* (23. 2%) était plus élevée que celle mentionnée dans la littérature.

Asyraf (2014), Valverde (2014), Bui(2015) et Tibbetts (2015) ont rapporté que la quantité de lipides dans *Chlorella. sp* était <1, 13.5, 6.85 et 15.7 %.

V. 3. 3. Thermogravimétrie de la biomasse de *C. pyrenoidosa*

La biomasse de *C. pyrenoidosa* a été pyrolyse sous azote inerte à 10 ° C / min; les courbes ATG et DTG sont présentées dans la figure 52.

On peut observer que les courbes ATG/DTG pour *C. pyrenoidosa* montrent qu'il y a trois étapes principales au cours du processus de chauffage de la pyrolyse.

- **Stade I**

La première étape (stade I) était de température ambiante à 144. 95 °C. Cette étape de perte de masse résulte probablement de la déshydratation en termes d'élimination de l'eau dans les cellules algales et de l'eau externe délimitée par la tension superficielle (Peng et al. 2001).

En résumé, il s'agit d'une étape de faible perte de masse due à la faible teneur en humidité des microalgues. De plus, la teneur en eau de la biomasse diffère considérablement selon le type de biomasse et le stockage de la biomasse. La teneur en humidité est d'une grande importance en ce qui concerne la sélection de la technique de conversion de la biomasse.

Les biocombustibles à faible teneur en humidité sont plus adaptés à la technique de conversion thermique tandis que ceux à haute teneur en humidité sont plus adaptés au processus biochimique tel que la conversion de fermentation (McKendry 2002). Il est proposé que dans un concept de bioraffinerie, la chaleur résiduelle provenant de la combustion du gaz de pyrolyse puisse être utilisée pour sécher la biomasse entrante afin de réduire cette teneur en humidité si nécessaire.

La teneur en eau dans *C. pyrenoidosa* était 4.87%. De même, Phukan (2011) et Ceylan (2015) ont mentionné que le taux d'humidité dans *Chlorella. sp* et *Ulva prolifera* était 6.8 et 9.92 % respectivement.

- **Stade II**

Le deuxième stade de perte de masse (stade II) débutait à environ 145 °C et se terminait à environ 767. 83 °C. Il présentait une perte de poids importante pour notre biomasse algale, ce qui correspond à la décomposition / dépolymérisation de la substance organique des microalgues incluant les protéines, glucides et lipides (matières volatiles).

Dans la présente étude, la teneur en matières volatiles était de 57,13%, similaire à celle d'autres espèces, comme 55,6% pour *Chlorococcum humicola* (Kirtania et al. 2012), 44,85% pour Sargassum natans (Wang et al. 2013), 55.37 pour *C. vulgaris* (Chenet al. 2011) et 68,79% pour *Saccharina japonica* (Kim et al. 2012). Une teneur élevée en matières volatiles est souhaitable pour la formation de gaz et de produits liquides par pyrolyse.

- **Stade III**

La troisième étape était comprise entre 768 ° C et la température finale (900°C). Une très légère perte de masse pourrait être observée durant cette étape. Ceci est principalement dû à la décomposition des matériaux carbonés retenus dans les résidus solides (Liu et al. 2012).

Après la troisième étape, il y avait toujours environ 38% en poids de *C. pyrenoidosa* conservé en tant que résidus solides. Les résidus solides sont principalement composés de carbone fixe et de cendres (Kumar et al. 2008). De plus, Chen et al. (2011) ont rapporté que le résidu total de *C. vulgaris* était 44%.

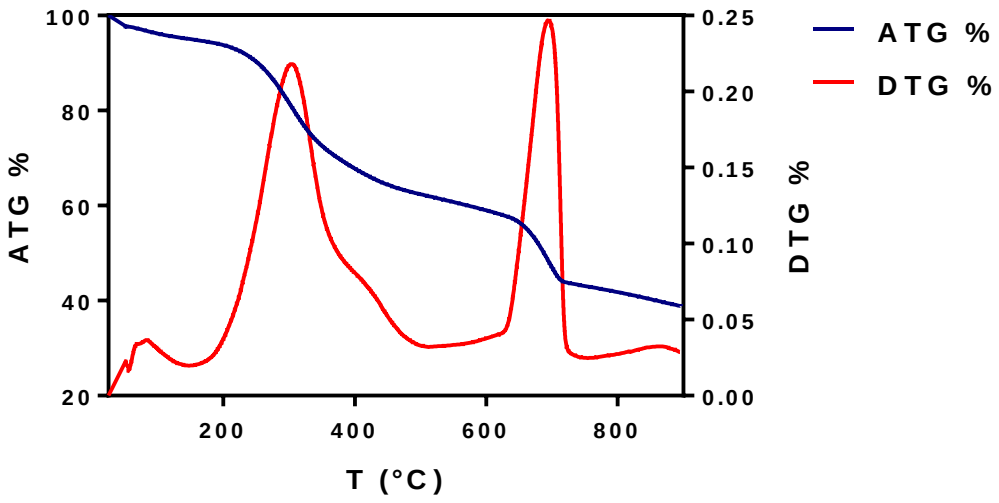


Fig. 52. Analyse ATG/DTG en fonction de température

L'analyse ATG a montré que la biomasse de *C. pyrenoidosa* contient généralement des quantités de matières volatiles et des cendres. L'analyse élémentaire a indiqué que notre microalgue est une option pour produire un biocarburant à haute valeur calorifique en raison de leur teneur en carbone plus élevée.

Conclusion générale

La culture des microalgues dans les eaux usées est un moyen prometteur de la production de la biomasse algale et traitement des eaux usées. Malgré les résultats prometteurs obtenus jusqu'à présent, il existe toujours un besoin de connaissances scientifiques qui peuvent aider à réduire les coûts de la culture d'algues et à permettre la maitrise des différents paramètres influent sur le rendement en biomasse et la qualité des eaux traitées.

Les résultats présentés dans cette thèse montrent comment la culture de quelques souches microalgues dans les eaux usées domestiques peut être réalisée plus efficacement, dans des conditions réelles en zone aride. Plus précisément, les principales conclusions de ce travail sont:

- Les résultats démontrent le succès de la culture de *C. pyrenoidosa* dans les eaux usées dans des systèmes ouverts utilisant le soleil comme une source de lumière. La productivité moyenne de la biomasse a montré un rendement élevé de 1,71 ± 0,04 g / L.
- Les traitements à base algues montrent des efficacités plus élevées pour l'élimination des nutriments (95% NH_4-N, 78% DCO et 81% P_t) par rapport au traitement par lagunes (30% de NH_4-N, 75% de DCO et 25% de P_t). Ces résultats pourraient fournir une ligne directrice pour un traitement des eaux domestiques efficace basé sur les microalgues dans les zones arides où l'ensoleillement est élevé.
- Huit souches microalgales ont été cultivées dans les eaux usées provenant de la station de Sidi Khouiled ont montré un taux élevé d'élimination des nutriments (plus de 95% de P_t, plus de 70% de DCO et plus de 84% de NH_4-N). Par contre, l'élimination des nutriments par le procédé de lagunage aéré était 21.59 % de P_t, 64.07 de DCO et 22.15 de NH_4-N.
- L'accumulation des métaux lourds dans les légumes ça diffère selon le type d'eau utilisée dans l'irrigation. De plus, les légumes irrigués par les eaux usées traitées par *Chlorococcum.sp* contenaient des teneurs basses en métaux lourds (11.8 mg/kg de Zinc, 1.52 mg/g de Cuivre, 0.21 mg/kg de Cadmium, 0.16 mg/kg de chrome et de 0.1 mg/kg de Nickel et Cobalt).

Les résultats obtenus dans ce travail ouvrent de nombreuses perspectives. Les recommandations suivantes peuvent être suggérées pour les prochains travaux :

- Des travaux supplémentaires utilisant d'autres souches, et en particulier évaluations des cultures mixtes de souches locales, car cela pourrait être une approche plus réaliste pour l'intégration des microalgues dans de traitement des eaux usées.
- l'extraction de biodiesel à partir des microalgues en utilisant des catalyseurs à base de graphène(Zighmi et al. 2017).
- L'évaluation des activités antioxydantes, antifongiques et antibactériennes des huiles provenant de l'extraction des microalgues.

Références bibliographiques

Abdulqader, Gatugel, Laura Barsanti, and Mario R Tredici. 2000. "Harvest of Arthrospira Platensis from Lake Kossorom (Chad) and Its Household Usage among the Kanembu." *Journal of Applied Phycology* 12 (3–5). Springer: 493–98.

Abegunrin, T P, G O Awe, D O Idowu, O O Onigbogi, and O E Onofua. 2013. "Effect of Kitchen Wastewater Irrigation on Soil Properties and Growth of Cucumber (Cucumis Sativus)." *Journal of Soil Science and Environmental Management* 4 (7). Academic Journals: 139–45.

Adesanya, Victoria O, Erasmo Cadena, Stuart A Scott, and Alison G Smith. 2014. "Life Cycle Assessment on Microalgal Biodiesel Production Using a Hybrid Cultivation System." *Bioresource Technology* 163. Elsevier: 343–55.

Ahluwalia, Sarabjeet Singh, and Dinesh Goyal. 2007. "Microbial and Plant Derived Biomass for Removal of Heavy Metals from Wastewater." *Bioresource Technology* 98 (12). Elsevier: 2243–57.

Ahmad, Jasim Uddin, and Md Abdul Goni. 2010. "Heavy Metal Contamination in Water, Soil, and Vegetables of the Industrial Areas in Dhaka, Bangladesh." *Environmental Monitoring and Assessment* 166 (1–4). Springer: 347–57.

Al-Absi, Khalid M. 2008. "Effect of Irrigation with Treated Industrial Effluent on Growth and Biochemical Constituents of Olives." *Bulg. J. Agric. Sci* 14 (6): 564–75.

Ali, Hazrat, Ezzat Khan, and Muhammad Anwar Sajad. 2013. "Phytoremediation of Heavy Metals—concepts and Applications." *Chemosphere* 91 (7). Elsevier: 869–81.

Allen, Mary Belle. 1959. "Studies with Cyanidium Caldarium, an Anomalously Pigmented Chlorophyte." *Archiv Für Mikrobiologie* 32 (3). Springer: 270–77.

Allen, Paula Gunn. 1986. *The Sacred Hoop: Recovering the Feminine in American Indian Traditions: With a New Preface*. Beacon Press.

Amin, Sarmidi. 2009. "Review on Biofuel Oil and Gas Production Processes from Microalgae." *Energy Conversion and Management* 50 (7). Elsevier: 1834–40.

Ammar, Saad H, Hussein J Khadim, and Ahmed Isam Mohamed. 2018. "Cultivation of Nannochloropsis Oculata and Isochrysis Galbana Microalgae in Produced Water for Bioremediation and Biomass Production." *Environmental Technology & Innovation* 10. Elsevier: 132–42.

An, Youn-Joo, Young-Mi Kim, Tae-Im Kwon, and Seung-Woo Jeong. 2004. "Combined Effect of Copper, Cadmium, and Lead upon Cucumis Sativus Growth and Bioaccumulation." *Science of the Total Environment* 326 (1–3). Elsevier: 85–93.

Anastasakis, K, and A B Ross. 2011. "Hydrothermal Liquefaction of the Brown Macro-Alga Laminaria Saccharina: Effect of Reaction Conditions on Product Distribution and Composition." *Bioresource Technology* 102 (7). Elsevier: 4876–83.

Andreozzi, Roberto, Marotta Raffaele, and Paxéus Nicklas. 2003. "Pharmaceuticals in STP Effluents and Their Solar Photodegradation in Aquatic Environment." *Chemosphere* 50 (10). Elsevier: 1319–30.

Angelakis, A N, and B Durham. 2008. “Water Recycling and Reuse in EUREAU Countries: Trends and Challenges.” *Desalination* 218 (1–3). Elsevier: 3–12.

Ansari, Faiz Ahmad, Poonam Singh, Abhishek Guldhe, and Faizal Bux. 2017. “Microalgal Cultivation Using Aquaculture Wastewater : Integrated Biomass Generation and Nutrient Remediation.” *ALGAL* 21. Elsevier B.V.: 169–77. doi:10.1016/j.algal.2016.11.015.

Apha, Awwa. 1998. “WPCF, 1998.” *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* 20.

Aravantinou, Andriana F, Marios A Theodorakopoulos, and Ioannis D Manariotis. 2013. “Bioresource Technology Selection of Microalgae for Wastewater Treatment and Potential Lipids Production.” *Bioresource Technology* 147. Elsevier Ltd: 130–34. doi:10.1016/j.biortech.2013.08.024.

Arenas, E G, M C Rodriguez Palacio, A U Juantorena, and S E L Fernando. 2016. “Microalgae as a Potential Source for Biodiesel Production : Techniques , Methods , and Other Challenges.” doi:10.1002/er.

Aslan, Sebnem, and Ilgi Karapinar Kapdan. 2006. “Batch Kinetics of Nitrogen and Phosphorus Removal from Synthetic Wastewater by Algae.” *Ecological Engineering* 28 (1). Elsevier: 64–70.

Asyraf, Mohd, Kawnish Kirtania, David De La, and Nasser Cura. 2014. “Thermogravimetric Analysis and Kinetic Characterization of Lipid-Extracted Tetraselmis Suecica and Chlorella Sp .” *ALGAL* 6. Elsevier B.V.: 39–45. doi:10.1016/j.algal.2014.08.010.

Ayers, R S, and D W Westcot. 1994. “FAO Irrigation and Drainage Paper.” *Water Quality for Agriculture*, no. 29: 156.

Aziz, M A, and W J Ng. 1992. “Feasibility of Wastewater Treatment Using the Activated-Algae Process.” *Bioresource Technology* 40 (3). Elsevier: 205–8.

Barbosa, Maria J, Jan Willem Zijffers, Adrian Nisworo, Woulter Vaes, Jan van Schoonhoven, and René H Wijffels. 2005. “Optimization of Biomass, Vitamins, and Carotenoid Yield on Light Energy in a Flat-panel Reactor Using the A-stat Technique.” *Biotechnology and Bioengineering* 89 (2). Wiley Online Library: 233–42.

Barker, S Fiona. 2014. “Risk of Norovirus Gastroenteritis from Consumption of Vegetables Irrigated with Highly Treated Municipal Wastewater—evaluation of Methods to Estimate Sewage Quality.” *Risk Analysis* 34 (5). Wiley Online Library: 803–17.

Becker, E W. 2007. “Micro-Algae as a Source of Protein” 25: 207–10. doi:10.1016/j.biotechadv.2006.11.002.

Beijerinck, M W. 1890. “Culturversuche Mit Zoochlorellen, Lichenengonidien Und Anderen Niederen Algen.” *Bot. Zeitung* 48: 781–85.

Belkin, Shimshon, and Sammy Boussiba. 1991. “Resistance of Spirulina Platensis to Ammonia at High pH Values.” *Plant and Cell Physiology* 32 (7). Oxford University Press: 953–58.

Bhargava, Atul, Francisco F Carmona, Meenakshi Bhargava, and Shilpi Srivastava. 2012. “Approaches for Enhanced Phytoextraction of Heavy Metals.” *Journal of Environmental Management* 105. Elsevier: 103–20.

Bhatnagar, Ashish, Monica Bhatnagar, Senthil Chinnasamy, and K C Das. 2010. “Chlorella Minutissima—a Promising Fuel Alga for Cultivation in Municipal Wastewaters.” *Applied Biochemistry and Biotechnology* 161 (1–8). Springer: 523–36.

Bhola, Virthie, Ramesh Desikan, Sheena Kumari Santosh, Karthikeyan Subburamu, Elumalai Sanniyasi, and Faizal Bux. 2011. “Effects of Parameters Affecting Biomass Yield and Thermal Behaviour of Chlorella Vulgaris.” *Journal of Bioscience and Bioengineering* 111 (3). Elsevier: 377–82.

Bille, J, B Catimel, E Bannerman, C Jacquet, M N Yersin, I Caniaux, D Monget, and J Rocourt. 1992. “API Listeria, a New and Promising One-Day System to Identify Listeria Isolates.” *Applied and Environmental Microbiology* 58 (6). Am Soc Microbiol: 1857–60.

Bischoff, H. W., Bold, H. C. 1963. “Some Soil Algae from Enchanted Rock and Related Algal Species.” *Phycological Studies IV. University of Texas Publ. No. 6318* 6318. University of Texas Publ.: 1–95.

Bitog, J P, I-B Lee, C-G Lee, K-S Kim, H-S Hwang, S-W Hong, I-H Seo, K-S Kwon, and E Mostafa. 2011. “Application of Computational Fluid Dynamics for Modeling and Designing Photobioreactors for Microalgae Production: A Review.” *Computers and Electronics in Agriculture* 76 (2). Elsevier: 131–47.

Bliefert, Claus, and Robert Perraud. 2007. *Chimie de L’environnement: Air, Eau, Sols, Déchets*. De Boeck Superieur.

Bligh, E Graham, and W Justin Dyer. 1959. “A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification.” *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37 (8). NRC Research Press: 911–17.

Boelee, N C, H Temmink, M Janssen, C J N Buisman, and R H Wijffels. 2011. “Nitrogen and Phosphorus Removal from Municipal Wastewater Effluent Using Microalgal Biofilms.” *Water Research* 45 (18). Elsevier: 5925–33.

Bordeaux, Académie De. 2012. “DETERMINATION DE LA DEMANDE CHIMIQUE EN OXYGENE (DCO) :,” 2–5.

Borowitzka, Michael A. 1999. “Commercial Production of Microalgae: Ponds, Tanks, Tubes and Fermenters.” *Journal of Biotechnology* 70 (1–3). Elsevier: 313–21.

Borowitzka, Michael A, and Navid Reza Moheimani. 2013. “Open Pond Culture Systems.” In *Algae for Biofuels and Energy*, 133–52. Springer.

Bouarab, L, M Loudiki, and A Dauta. 2002. “Croissance En Autotrophie et En Mixotrophie de La Microalgue Micractinium Pusillum Fres. Isolée D´ Un Lagunage Naturel: Influence de La Lumière et de La Température.” *Revue Des Sciences de l’eau/Journal of Water Science* 15 (1): 73–86.

Bremner, J M. 1965. “Total Nitrogen 1.” *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*, no. methodsofsoilanb. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America: 1149–78.

Brennan, Liam, and Philip Owende. 2010. “Biofuels from Microalgae—a Review of Technologies for Production, Processing, and Extractions of Biofuels and Co-Products.” *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14 (2). Elsevier: 557–77.

Breuer, Guido, Packo P Lamers, Dirk E Martens, René B Draaisma, and René H Wijffels. 2012. "The Impact of Nitrogen Starvation on the Dynamics of Triacylglycerol Accumulation in Nine Microalgae Strains." *Bioresource Technology* 124. Elsevier: 217–26.

Bui, Hau-huu, Khanh-quang Tran, and Wei-hsin Chen. 2015. "Bioresource Technology Pyrolysis of Microalgae Residues – A Kinetic Study." *BIORESOURCE TECHNOLOGY*. Elsevier Ltd. doi:10.1016/j.biortech.2015.08.069.

Burlew, John S. 1953. "Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant." *Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant.* Carnegie Institution of Washington Publ.

Cabanelas, Iago Teles Dominguez, Jésus Ruiz, Zouhayr Arbib, Fábio Alexandre Chinalia, Carmen Garrido-Pérez, Frank Rogalla, Iracema Andrade Nascimento, and José A Perales. 2013. "Comparing the Use of Different Domestic Wastewaters for Coupling Microalgal Production and Nutrient Removal." *Bioresource Technology* 131. Elsevier: 429–36.

Cai, Ting, Stephen Y Park, Ratanachat Racharaks, and Yebo Li. 2013. "Applied Ene Rgy Cultivation of Nannochloropsis Salina Using Anaerobic Digestion Effluent as a Nutrient Source for Biofuel Production." *APPLIED ENERGY* 108. Elsevier Ltd: 486–92. doi:10.1016/j.apenergy.2013.03.056.

Caperon, John, and Judith Meyer. 1972. "Nitrogen-Limited Growth of Marine phytoplankton—I. Changes in Population Characteristics with Steady-State Growth Rate." In *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts*, 19:601–18. Elsevier.

Carvalho, Ana P, Luís A Meireles, and F Xavier Malcata. 2006. "Microalgal Reactors: A Review of Enclosed System Designs and Performances." *Biotechnology Progress* 22 (6). Wiley Online Library: 1490–1506.

Cary, Earle E, and Joe Kubota. 1990. "Chromium Concentration Plants: Effects of Soil Chromium Concentration and Tissue Contamination by Soil." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 38 (1). ACS Publications: 108–14.

Celerier, Jean-Luc, Jean-Antoine Faby, G LOISEAU, and C JUERY. 2003. "La Dégradation de La Qualité de L'eau Potable Dans Les Réseaux." *Document Technique. Ministère de L'agriculture, de L'alimentation, de La Pêche et Des Affaires Rurales. P* 98.

Cembella, Allan D. 2003. "Chemical Ecology of Eukaryotic Microalgae in Marine Ecosystems." *Phycologia* 42 (4). The International Phycological Society Phycologia Business Office, Allen Press, 810 East 10th Street, PO Box 1897, Lawrence, KS 66044-8897: 420–47.

Ceylan, Selim, and Jillian L Goldfarb. 2015. "Green Tide to Green Fuels : TG – FTIR Analysis and Kinetic Study of Ulva Prolifera Pyrolysis." *ENERGY CONVERSION AND MANAGEMENT* 101. Elsevier Ltd: 263–70. doi:10.1016/j.enconman.2015.05.029.

Chac, T L. 2010. "Microalgae for ' Healthy ' Foods — Possibilities and Challenges" 9. doi:10.1111/j.1541-4337.2010.00132.x.

Chachuat, Benoit, Nicolas Roche, and Razak Latifi. 2001. "Nouvelle Approche Pour La Gestion Optimale de L Aération Des Petites Stations D Épuration Par Boues Activées." *L" Eau, l" Industrie, Les*

Nuisances 240 (LA-ARTICLE-2007-029): 53–59.

Chauhan, Geetanjali, and U K Chauhan. 2014. "Human Health Risk Assessment of Heavy Metals via Dietary Intake of Vegetables Grown in Wastewater Irrigated Area of Rewa, India." *International Journal of Scientific and Research Publications* 4 (9). Citeseer: 1–9.

Chaumont, Daniel. 1993. "Biotechnology of Algal Biomass Production: A Review of Systems for Outdoor Mass Culture." *Journal of Applied Phycology* 5 (6): 593–604. doi:10.1007/BF02184638.

Chen, Chunxiang, Xiaoqian Ma, and Kai Liu. 2011. "Thermogravimetric Analysis of Microalgae Combustion under Different Oxygen Supply Concentrations." *Applied Energy* 88 (9). Elsevier Ltd: 3189–96. doi:10.1016/j.apenergy.2011.03.003.

Chen, Meng, Haiying Tang, Hongzhi Ma, Thomas C Holland, K Y Simon Ng, and Steven O Salley. 2011. "Effect of Nutrients on Growth and Lipid Accumulation in the Green Algae Dunaliella Tertiolecta." *Bioresource Technology* 102 (2). Elsevier: 1649–55.

Chen, Yi-xuan, Xiao-yan Liu, Zheng Xiao, Yi-fan Huang, and Bin Liu. 2016. "Antioxidant Activities of Polysaccharides Obtained from Chlorella Pyrenoidosa via Different Ethanol Concentrations." *International Journal of Biological Macromolecules*. Elsevier B.V. doi:10.1016/j.ijbiomac.2016.05.086.

Chi, Zhanyou, James V. O'Fallon, and Shulin Chen. 2011. "Bicarbonate Produced from Carbon Capture for Algae Culture." *Trends in Biotechnology* 29 (11). Elsevier Ltd: 537–41. doi:10.1016/j.tibtech.2011.06.006.

Chia, Mathias Ahii, Ana Teresa Lombardi, G Melão Maria da Graça, and Christopher C Parrish. 2013. "Lipid Composition of Chlorella Vulgaris (Trebouxiophyceae) as a Function of Different Cadmium and Phosphate Concentrations." *Aquatic Toxicology* 128. Elsevier: 171–82.

Chisti, Yusuf. 2007. "Biodiesel from Microalgae." *Biotechnology Advances* 25 (3). Elsevier: 294–306.

Chisti, Yusuf. 2008. "Biodiesel from Microalgae Beats Bioethanol." *Trends in Biotechnology* 26 (3). Elsevier: 126–31.

Cho, Sunja, Thanh Thao Luong, Dukhaeng Lee, You-Kwan Oh, and Taeho Lee. 2011. "Reuse of Effluent Water from a Municipal Wastewater Treatment Plant in Microalgae Cultivation for Biofuel Production." *Bioresource Technology* 102 (18). Elsevier: 8639–45.

Chodat, R. 1913. *Monographie D'algues En Culture Pure.* Beitr. Kryptogamenfl. Schweiz 4(2):1–266.

Chojnacka, Katarzyna, Andrzej Chojnacki, and Helena Gorecka. 2005. "Biosorption of Cr3+, Cd2+ and Cu2+ Ions by Blue–green Algae Spirulina Sp.: Kinetics, Equilibrium and the Mechanism of the Process." *Chemosphere* 59 (1). Elsevier: 75–84.

Chu, S. P. 1946. *Note on the Technique of Making Bacteria- Free Cultures of Marine Diatoms.* J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 26:296–302.

Cirelli, G L, S Consoli, F Licciardello, R Aiello, F Giuffrida, and C Leonardi. 2012. "Treated Municipal Wastewater Reuse in Vegetable Production." *Agricultural Water Management* 104. Elsevier: 163–70.

Collet, Pierre, Arnaud Hélias, Laurent Lardon, Monique Ras, Romy-Alice Goy, and Jean-Philippe Steyer.

2011. “Life-Cycle Assessment of Microalgae Culture Coupled to Biogas Production.” *Bioresource Technology* 102 (1). Elsevier: 207–14.

Converti, Attilio, Alessandro A Casazza, Erika Y Ortiz, Patrizia Perego, and Marco Del Borghi. 2009. “Effect of Temperature and Nitrogen Concentration on the Growth and Lipid Content of Nannochloropsis Oculata and Chlorella Vulgaris for Biodiesel Production.” *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 48 (6). Elsevier: 1146–51.

Costa, Jorge Alberto Vieira, and Michele Greque de Morais. 2013. “16 Microalgae for Food Production.” *Fermentation Processes Engineering in the Food Industry*. CRC Press, 405.

Cotillas, Salvador, Javier Llanos, Pablo Cañizares, Sara Mateo, and Manuel A Rodrigo. 2013. “Optimization of an Integrated Electrodisinfection/electrocoagulation Process with Al Bipolar Electrodes for Urban Wastewater Reclamation.” *Water Research* 47 (5). Elsevier: 1741–50.

Crofcheck, Czarena L, Michael Monstross, E Xinyi, Aubrey P Shea, Mark Crocker, and Rodney Andrews. 2012. “Influence of Media Composition on the Growth Rate of Chlorella Vulgaris and Scenedesmus Acutus Utilized for CO2 Mitigation.” In *2012 Dallas, Texas, July 29-August 1, 2012*, 1. American Society of Agricultural and Biological Engineers.

Custódio, Luísa, Tiago Justo, Laura Silvestre, Ana Barradas, Catarina Vizetto Duarte, Hugo Pereira, Luísa Barreira, Amélia Pilar Rauter, Fernando Alberício, and João Varela. 2012. “Microalgae of Different Phyla Display Antioxidant, Metal Chelating and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities.” *Food Chemistry* 131 (1). Elsevier: 134–40.

Dauta, Alain, Jean Devaux, Françoise Piquemal, and Lhoussaine Boumnich. 1990. “Growth Rate of Four Freshwater Algae in Relation to Light and Temperature.” *Hydrobiologia* 207 (1). Springer: 221–26.

Davison, Ian R. 1991. “Environmental Effects on Algal Photosynthesis: Temperature.” *Journal of Phycology* 27 (1). Wiley Online Library: 2–8.

De-Bashan, Luz E, Juan-Pablo Hernandez, Taylor Morey, and Yoav Bashan. 2004. “Microalgae Growth-Promoting Bacteria as ‘helpers’ for Microalgae: A Novel Approach for Removing Ammonium and Phosphorus from Municipal Wastewater.” *Water Research* 38 (2). Elsevier: 466–74.

de-Bashan, Luz E, Adan Trejo, Volker a R Huss, Juan-Pablo Hernandez, and Yoav Bashan. 2008. “Chlorella Sorokiniana UTEX 2805, a Heat and Intense, Sunlight-Tolerant Microalga with Potential for Removing Ammonium from Wastewater.” *Bioresource Technology* 99 (11): 4980–89. doi:10.1016/j.biortech.2007.09.065.

De Godos, Ignacio, Saúl Blanco, Pedro A García-Encina, Eloy Becares, and Raúl Muñoz. 2009. “Long-Term Operation of High Rate Algal Ponds for the Bioremediation of Piggery Wastewaters at High Loading Rates.” *Bioresource Technology* 100 (19). Elsevier: 4332–39.

de Oliveira Marinho, Luccas Erickson, Adriano Luiz Tonetti, Ronaldo Stefanutti, and Bruno Coraucci Filho. 2013. “Application of Reclaimed Wastewater in the Irrigation of Rosebushes.” *Water, Air, & Soil Pollution* 224 (9). Springer: 1669.

Degen, Jörg, Andrea Uebele, Axel Retze, Ulrike Schmid-Staiger, and Walter Trösch. 2001. “A Novel

Airlift Photobioreactor with Baffles for Improved Light Utilization through the Flashing Light Effect." *Journal of Biotechnology* 92 (2). Elsevier: 89–94.

Demirbas, Ayhan. 2010. "Use of Algae as Biofuel Sources." *Energy Conversion and Management* 51 (12). Elsevier: 2738–49.

Dermoun, Z, C Gaudin, and J P Belaich. 1988. "Effects of End-Product Inhibition of Cellulomonas Uda Anaerobic Growth on Cellobiose Chemostat Culture." *Journal of Bacteriology* 170 (6). Am Soc Microbiol: 2827–31.

Dibenedetto, Angela. 2011. "The Potential of Aquatic Biomass for CO2-Enhanced Fixation and Energy Production." *Greenhouse Gases: Science and Technology* 1 (1). Wiley Online Library: 58–71.

Dickin, Sarah K, Corinne J Schuster-Wallace, Manzoor Qadir, and Katherine Pizzacalla. 2016. "A Review of Health Risks and Pathways for Exposure to Wastewater Use in Agriculture." *Environmental Health Perspectives* 124 (7). National Institute of Environmental Health Science: 900.

Doemel, W N, and A E Brooks. 1975. "Detergent Phosphorus and Algal Growth." *Water Research* 9 (8). Elsevier: 713–19.

Doran, Michael D, and William C Boyle. 1979. "Phosphorus Removal by Activated Algae." *Water Research* 13 (8). Elsevier: 805–12.

Doucha, Jiří, František Straka, and Karel Lívanský. 2005. "Utilization of Flue Gas for Cultivation of Microalgae Chlorella Sp.) in an Outdoor Open Thin-Layer Photobioreactor." *Journal of Applied Phycology* 17 (5). Springer: 403–12.

Dragone, Giuliano, Bruno D Fernandes, Ana P Abreu, António A Vicente, and José A Teixeira. 2011. "Nutrient Limitation as a Strategy for Increasing Starch Accumulation in Microalgae." *Applied Energy* 88 (10). Elsevier: 3331–35.

Dupont, Diane P. 2013. "Water Use Restrictions or Wastewater Recycling? A Canadian Willingness to Pay Study for Reclaimed Wastewater." *Water Resources and Economics* 1. Elsevier: 61–74.

Enzing, Christien, Matthias Ploeg, Maria Barbosa, and Lolke Sijtsma. 2014. "Microalgae-Based Products for the Food and Feed Sector: An Outlook for Europe." *Vigani, M., Parisi, C., Rodríguez Cerezo, E., Eds*.

Eriksen, Niels T. 2008. "The Technology of Microalgal Culturing." *Biotechnology Letters* 30 (9). Springer: 1525–36.

Escobar, R, S García-Domínguez, A Guiraum, O Montes, F Galvan, and F F de La Rosa. 2000. "A Flow Injection Chemiluminescence Method Using Cr (III) as a Catalyst for Determining Hydrogen Peroxide. Application to H2O2 Determination in Cultures of Microalgae." *Luminescence* 15 (3). Wiley Online Library: 131–35.

Evangelista, Valtere, Anna Maria Frassanito, Vincenzo Passarelli, Laura Barsanti, and Paolo Gualtieri. 2006. "Microspectroscopy of the Photosynthetic Compartment of Algae." *Photochemistry and Photobiology* 82 (4). Wiley Online Library: 1039–46.

Fatta-Kassinos, D, I K Kalavrouziotis, P H Koukoulakis, and M I Vasquez. 2011. "The Risks Associated

with Wastewater Reuse and Xenobiotics in the Agroecological Environment." *Science of the Total Environment* 409 (19). Elsevier: 3555–63.

Feng, Xiaoyu, Terry H Walker, William C Bridges, Charles Thornton, and Karthik Gopalakrishnan. 2014. "Biomass and Lipid Production of Chlorella Protothecoides under Heterotrophic Cultivation on a Mixed Waste Substrate of Brewer Fermentation and Crude Glycerol." *Bioresource Technology* 166 (August). Elsevier Ltd: 17–23. doi:10.1016/j.biortech.2014.03.120.

Fonseca Souza, Claudinei, Reinaldo Gaspar Bastos, Marcus Paulo de Moraes Gomes, and André Arashiro Pulschen. 2015. "Eficiência de Estação de Tratamento de Esgoto Doméstico Visando Reusoagrícola." *Ambiente & Água-An Interdisciplinary Journal of Applied Science* 10 (3). Universidade de Taubaté.

Fouilland, Eric. 2012. "Biodiversity as a Tool for Waste Phycoremediation and Biomass Production." *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 11 (1). Springer: 1–4.

Franck, RESJEK. 2002. "Analyse Des Eaux, Aspects Réglementaires et Techniques." *Edition CRDP Aquitaine Décembre*.

Fukami, Kimio, Toshitaka Nishijima, and Yuzaburo Ishida. 1997. "Stimulative and Inhibitory Effects of Bacteria on the Growth of Microalgae." In *Live Food in Aquaculture*, 185–91. Springer.

Gaffron, Hans. 1939. "Reduction of Carbon Dioxide with Molecular Hydrogen in Green Algae." *Nature* 143 (3614). Nature Publishing Group: 204.

Gaffron, Hans, and Jack Rubin. 1942. "Fermentative and Photochemical Production of Hydrogen in Algae." *The Journal of General Physiology* 26 (2). Rockefeller University Press: 219–40.

Gai, Chao, Zhengang Liu, Guanghua Han, Nana Peng, and Aonan Fan. 2015. "Bioresource Technology Combustion Behavior and Kinetics of Low-Lipid Microalgae via Thermogravimetric Analysis." *BIORESOURCE TECHNOLOGY* 181. Elsevier Ltd: 148–54. doi:10.1016/j.biortech.2015.01.045.

García-González, M, J Moreno, J P Canavate, V Anguis, A Prieto, C Manzano, F J Florencio, and M G Guerrero. 2003. "Conditions for Open-Air Outdoor Culture of Dunaliella Salina in Southern Spain." *Journal of Applied Phycology* 15 (2–3). Springer: 177–84.

Gee, Glendon W, and James W Bauder. 1986. "Particle-Size analysis1." *Methods of Soil Analysis: Part 1—Physical and Mineralogical Methods*, no. methodsofsoilan1. Soil Science Society of America, American Society of Agronomy: 383–411.

Georgi Petkov, Albena Ivanova, Ivan Iliev, Irina Vaseva. 2012. "Review Article A Critical Look at the Microalgae Biodiesel," 103–11. doi:10.1002/ejlt.201100234.

Gerardo, Michael L, Sofie Van Den Hende, Han Vervaeren, Thea Coward, and Stephen C Skill. 2015. "Harvesting of Microalgae within a Biorefinery Approach: A Review of the Developments and Case Studies from Pilot-Plants." *Algal Research* 11. Elsevier: 248–62.

Gong, Yangmin, and Mulan Jiang. 2011. "Biodiesel Production with Microalgae as Feedstock: From Strains to Biodiesel." *Biotechnology Letters* 33 (7). Springer: 1269–84.

González, Cristina, Judith Marciniak, Santiago Villaverde, Pedro A García-Encina, and Raúl Muñoz. 2008. "Microalgae-Based Processes for the Biodegradation of Pretreated Piggery Wastewaters." *Applied*

Microbiology and Biotechnology 80 (5). Springer: 891–98.

Grobbelaar, Johan U. 2004. "Algal Nutrition–Mineral Nutrition." *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Wiley Online Library, 95–115.

Grobbelaar. 2009. "Factors Governing Algal Growth in Photobioreactors: The 'open' versus 'closed' Debate." *Journal of Applied Phycology* 21 (5). Springer: 489.

Gross, Elisabeth M. 2003. "Allelopathy of Aquatic Autotrophs." *Critical Reviews in Plant Sciences* 22 (3–4). Taylor & Francis: 313–39.

Guillard, R. R. L. 1975. *Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates.* In: Smith, W. L., and Chanley M. H., eds.Culture of Marine Invertebrate Animals. Plenum Press, New York, pp. 26–60.

Gultom, Sarman Oktovianus, and Bo Hu. 2013. "Review of Microalgae Harvesting via Co-Pelletization with Filamentous Fungus." *Energies* 6 (11). Multidisciplinary Digital Publishing Institute: 5921–39.

Gupta, N, D K Khan, and S C Santra. 2008. "An Assessment of Heavy Metal Contamination in Vegetables Grown in Wastewater-Irrigated Areas of Titagarh, West Bengal, India." *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 80 (2). Springer: 115–18.

Hamilton, Andrew J, Frank Stagnitti, Robert Premier, Anne-Maree Boland, and Glenn Hale. 2006. "Quantitative Microbial Risk Assessment Models for Consumption of Raw Vegetables Irrigated with Reclaimed Water." *Applied and Environmental Microbiology* 72 (5). Am Soc Microbiol: 3284–90.

Hamoda, Mohamed F. 2004. "Water Strategies and Potential of Water Reuse in the South Mediterranean Countries." *Desalination* 165. Elsevier: 31–41.

Hanagata, Nobutaka, Toshifumi Takeuchi, Yoshiharu Fukuju, David J Barnes, and Isao Karube. 1992. "Tolerance of Microalgae to High CO2 and High Temperature." *Phytochemistry* 31 (10). Elsevier: 3345–48.

Harun, Razif, Manjinder Singh, Gareth M Forde, and Michael K Danquah. 2010. "Bioprocess Engineering of Microalgae to Produce a Variety of Consumer Products." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14 (3). Elsevier: 1037–47.

Hasan, Zaigham, Zubair Anwar, Khalid Usman Khattak, Mazhar Islam, Rizwan Ullah Khan, and Jabar Zaman Khan Khattak. 2012. "Civic Pollution and Its Effect on Water Quality of River Toi at District Kohat, NWFP." *Research Journal of Environmental and Earth Sciences* 4 (3). Maxwell Science Publishing: 334–39.

Hernández, D, B Riaño, M Coca, and M C García-González. 2013. "Treatment of Agro-Industrial Wastewater Using Microalgae–bacteria Consortium Combined with Anaerobic Digestion of the Produced Biomass." *Bioresource Technology* 135. Elsevier: 598–603.

Hernandez, Juan-Pablo, Luz E de-Bashan, and Yoav Bashan. 2006. "Starvation Enhances Phosphorus Removal from Wastewater by the Microalga Chlorella Spp. Co-Immobilized with Azospirillum Brasilense." *Enzyme and Microbial Technology* 38 (1–2). Elsevier: 190–98.

Heubeck, S, R J Craggs, and A Shilton. 2007. "Influence of CO2 Scrubbing from Biogas on the Treatment Performance of a High Rate Algal Pond." *Water Science and Technology* 55 (11). IWA Publishing:

193–200.

Ho, Jeong-geol Na, Se Lee, and You-kwan Oh Ji-yeon Park. 2011. “Rapid Estimation of Triacylglycerol Content of Chlorella Sp . by Thermogravimetric Analysis,” 957–60. doi:10.1007/s10529-011-0522-y.

Ho, Shih-Hsin, Chun-Yen Chen, Duu-Jong Lee, and Jo-Shu Chang. 2011. “Perspectives on Microalgal CO 2-Emission Mitigation Systems—a Review.” *Biotechnology Advances* 29 (2). Elsevier: 189–98.

Hodaifa, Gassan, Ma Eugenia Martínez, and S Sánchez. 2008. “Use of Industrial Wastewater from Olive-Oil Extraction for Biomass Production of Scenedesmus Obliquus.” *Bioresource Technology* 99 (5). Elsevier: 1111–17.

Hoek, Christiaan, David Mann, and Hans Martin Jahns. 1995. *Algae: An Introduction to Phycology*. Cambridge university press.

Holmgren, Staffan. 1985. “Phytoplankton in a Polluted Subarctic Lake before and after Nutrient Reduction.” *Water Research* 19 (1). Elsevier: 63–71.

Hongyang, Su, Zhang Yalei, Zhang Chunmin, Zhou Xuefei, and Li Jinpeng. 2011. “Cultivation of Chlorella Pyrenoidosa in Soybean Processing Wastewater.” *Bioresource Technology* 102 (21). Elsevier Ltd: 9884–90. doi:10.1016/j.biortech.2011.08.016.

Hu, Mian, Zhihua Chen, Dabin Guo, Cuixia Liu, Bo Xiao, Zhiquan Hu, and Shiming Liu. 2015. “Thermogravimetric Study on Pyrolysis Kinetics of Chlorella Pyrenoidosa and Bloom-Forming Cyanobacteria.” *Bioresource Technology* 177 (February). Elsevier Ltd: 41–50. doi:10.1016/j.biortech.2014.11.061.

Hu, Qiang. 2004. *Environmental Effects on Cell Composition*. Vol. 1. Blackwell Science Ltd.: Oxford, UK.

Hu, Wenyou, Yong Chen, Biao Huang, and Silvana Niedermann. 2014. “Health Risk Assessment of Heavy Metals in Soils and Vegetables from a Typical Greenhouse Vegetable Production System in China.” *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal* 20 (5). Taylor & Francis: 1264–80.

Illman, A M, A H Scragg, and S W Shales. 2000. “Increase in Chlorella Strains Calorific Values When Grown in Low Nitrogen Medium.” *Enzyme and Microbial Technology* 27 (8). Elsevier: 631–35.

Iqbal, Muhammad Adnan, Muhammad Nawaz Chaudhary, Shujah Zaib, Muhammad Imran, Khuram Ali, and Asma Iqbal. 2011. “Accumulation of Heavy Metals (Ni, Cu, Cd, Cr, Pb) in Agricultural Soils and Spring Seasonal Plants, Irrigated by Industrial Waste Water.” *Journal of Environmental Technology and Management* 2 (1).

Ishika, Tasneema, Navid R. Moheimani, and Parisa A. Bahri. 2017. “Sustainable Saline Microalgae Co-Cultivation for Biofuel Production: A Critical Review.” *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 78 (April). Elsevier Ltd: 356–68. doi:10.1016/j.rser.2017.04.110.

Iwasaki, Ikuko, Norihide Kurano, and Shigetoh Miyachi. 1996. “Effects of High-CO2 Stress on Photosystem II in a Green Alga, Chlorococcum Littorale, Which Has a Tolerance to High CO2.” *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 36 (3). Elsevier: 327–32.

Jackson, Marion LeRoy. 1958. *Soil Chemical Analysis*. Prentice-Hall, Inc.; Englewood Cliffs.

Jankowska, Ewelina, Ashish K. Sahu, and Piotr Oleskowicz-Popiel. 2017. “Biogas from Microalgae: Review on Microalgae’s Cultivation, Harvesting and Pretreatment for Anaerobic Digestion.” *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 75 (October 2015). Elsevier: 692–709. doi:10.1016/j.rser.2016.11.045.

Jayakumar, Saravanan, Mashitah M Yusoff, Mohd Hasbi Ab Rahim, Gaanty Pragas Maniam, and Natanamurugaraj Govindan. 2017. “The Prospect of Microalgal Biodiesel Using Agro-Industrial and Industrial Wastes in Malaysia.” *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 72. Elsevier: 33–47.

Jiang, Hanming, and Kunshan Gao. 2004. “Effects of Lowering Temperature during Culture on the Production of Polyunsaturated Fatty Acids in the Marine Diatom Phaeodactylum Tricornutum (Bacillariophyceae).” *Journal of Phycology* 40 (4). Wiley Online Library: 651–54.

Jiang, Zheng, Li Zhongbao, Lu Yinghua, Tang Xuemin, Lu Bin, Li Yuanyue, Lu Zhiqiang, Lin Yaojiang, and Zhou Jixin. 2011. “Cultivation of the Microalga, Chlorella Pyrenoidosa, in Biogas Wastewater.” *African Journal of Biotechnology* 10 (61). Academic Journals (Kenya): 13115–20.

Kang, Chang Duk, Jin Young An, Tai Hyun Park, and Sang Jun Sim. 2006. “Astaxanthin Biosynthesis from Simultaneous N and P Uptake by the Green Alga Haematococcus Pluvialis in Primary-Treated Wastewater.” *Biochemical Engineering Journal* 31 (3). Elsevier: 234–38.

Kellogg, Robert L, Charles H Lander, David C Moffitt, and Noel Gollehon. 2000. “Manure Nutrients Relative to the Capacity of Cropland and Pastureland to Assimilate Nutrients: Spatial and Temporal Trends for the United States.” *Proceedings of the Water Environment Federation* 2000 (16). Water Environment Federation: 18–157.

Khan, S, Q Cao, Y M Zheng, Y Z Huang, and Y G Zhu. 2008. “Health Risks of Heavy Metals in Contaminated Soils and Food Crops Irrigated with Wastewater in Beijing, China.” *Environmental Pollution* 152 (3). Elsevier: 686–92.

Kim, Byung-Hyuk, Rishiram Ramanan, Dae-Hyun Cho, Hee-Mock Oh, and Hee-Sik Kim. 2014. “Role of Rhizobium, a Plant Growth Promoting Bacterium, in Enhancing Algal Biomass through Mutualistic Interaction.” *Biomass and Bioenergy* 69. Elsevier: 95–105.

Kim, Ga-Yeong, Yeo-Myeong Yun, Hang-Sik Shin, and Jong-In Han. 2017. “Cultivation of Four Microalgae Species in the Effluent of Anaerobic Digester for Biodiesel Production.” *Bioresource Technology* 224. Elsevier: 738–42.

Kim, Seung-Soo, Hoang Vu Ly, Gyeong-Ho Choi, Jinsoo Kim, and Hee Chul Woo. 2012. “Pyrolysis Characteristics and Kinetics of the Alga Saccharina Japonica.” *Bioresource Technology* 123. Elsevier: 445–51.

Kimura, Katsuki, Shiho Toshima, Gary Amy, and Yoshimasa Watanabe. 2004. “Rejection of Neutral Endocrine Disrupting Compounds (EDCs) and Pharmaceutical Active Compounds (PhACs) by RO Membranes.” *Journal of Membrane Science* 245 (1–2). Elsevier: 71–78.

Kiran, Bala, Ritunesh Kumar, and Devendra Deshmukh. 2014. “Perspectives of Microalgal Biofuels as a Renewable Source of Energy.” *Energy Conversion and Management* 88. Elsevier: 1228–44.

Kirtania, Kawnish, and Sankar Bhattacharya. 2012. “Application of the Distributed Activation Energy Model to the Kinetic Study of Pyrolysis of the Fresh Water Algae Chlorococcum Humicola.” *Bioresource Technology* 107. Elsevier: 476–81.

Kligerman, Debora Cynamon, and Edward J Bouwer. 2015. “Prospects for Biodiesel Production from Algae-Based Wastewater Treatment in Brazil: A Review.” *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 52. Elsevier: 1834–46.

Klinthong, Worasaung, Yi-Hung Yang, Chih-Hung Huang, and Chung-Sung Tan. 2015. “A Review: Microalgae and Their Applications in CO2 Capture and Renewable Energy.” *Aerosol Air Qual Res* 15 (2): 712–42.

Komolafe, Oladapo, Sharon B Velasquez Orta, Ignacio Monje-Ramirez, Isaura Yáñez Noguez, Adam P Harvey, and María T Orta Ledesma. 2014. “Biodiesel Production from Indigenous Microalgae Grown in Wastewater.” *Bioresource Technology* 154. Elsevier: 297–304.

Koprivanac, Natalija, and Hrvoje Kušić. 2009. *Hazardous Organic Pollutants in Colored Wastewaters*. Nova Science Publishers, Inc.

Kothari, Richa, Vinayak V Pathak, Virendra Kumar, and D P Singh. 2012. “Bioresource Technology Experimental Study for Growth Potential of Unicellular Alga Chlorella Pyrenoidosa on Dairy Waste Water : An Integrated Approach for Treatment and Biofuel Production.” *Bioresource Technology* 116. Elsevier Ltd: 466–70. doi:10.1016/j.biortech.2012.03.121.

Kröger, Michael, and Franziska Müller-Langer. 2012. “Review on Possible Algal-Biofuel Production Processes.” *Biofuels* 3 (3). Taylor & Francis: 333–49.

Kufferath, H. n.d. *La Culture Des Algues.* Revue Algol. 4:127–346.

Kumar, Ajay, Lijun Wang, Yuris A Dzenis, David D Jones, and Milford A Hanna. 2008. “Thermogravimetric Characterization of Corn Stover as Gasification and Pyrolysis Feedstock.” *Biomass and Bioenergy* 32 (5). Elsevier: 460–67.

Kumar, Amit, Sarina Ergas, Xin Yuan, Ashish Sahu, Qiong Zhang, Jo Dewulf, F Xavier Malcata, and Herman Van Langenhove. 2010. “Enhanced CO2 Fixation and Biofuel Production via Microalgae: Recent Developments and Future Directions.” *Trends in Biotechnology* 28 (7). Elsevier: 371–80.

Kurano, N, H Ikemoto, H Miyashita, T Hasegawa, H Hata, and S Miyachi. 1995. “Fixation and Utilization of Carbon Dioxide by Microalgal Photosynthesis.” *Energy Conversion and Management* 36 (6–9). Elsevier: 689–92.

Küster, E. 1907. *Anleitung Zur Kultur Der Mikroorganismen (1. Auflage).* Verlag B. G. Teubner, Leipzig, Germany, 201 pp. (2nd ed. 1913, 3rd ed. 1921).

Lam, Man Kee, and Keat Teong Lee. 2012. “Microalgae Biofuels : A Critical Review of Issues , Problems and the Way Forward.” *Biotechnology Advances* 30 (3). Elsevier Inc.: 673–90. doi:10.1016/j.biotechadv.2011.11.008.

Larsdotter, Karin. 2006. “Wastewater Treatment with Microalgae-a Literature Review.” *Vatten* 62 (1). FORENINGEN FOR VATTENHYGIEN: 31.

Lau, P. S., N. F Y Tam, and Y. S. Wong. 1995. “Effect of Algal Density on Nutrient Removal from Primary Settled Wastewater.” *Environmental Pollution* 89 (1): 59–66. doi:10.1016/0269-7491(94)00044-E.

Lee, Yuan-Kun. 1997. “Commercial Production of Microalgae in the Asia-Pacific Rim.” *Journal of Applied Phycology* 9 (5). Springer: 403–11.

Lee. 2001. “Microalgal Mass Culture Systems and Methods: Their Limitation and Potential.” *Journal of Applied Phycology* 13 (4). Springer: 307–15.

Leite, Gustavo B, Ahmed E M Abdelaziz, and Patrick C Hallenbeck. 2013. “Algal Biofuels: Challenges and Opportunities.” *Bioresource Technology* 145. Elsevier: 134–41.

Length, Full. 2011. “Isolation and Identification of Pathogenic Bacteria Associated with Frozen Mackerel Fish (Scomber Scombrus) in a Humid Tropical Environment” 6 (8): 1947–51. doi:08.5897/AJAR10.268.

Lewin, J. 1966. *Silicon Metabolism in Diatoms. V. Germanium Dioxide, a Specific Inhibitor of Diatom Growth.* Phycologia 6:1–12.

Li, Yanqun, Mark Horsman, Bei Wang, Nan Wu, and Christopher Q Lan. 2008. “Effects of Nitrogen Sources on Cell Growth and Lipid Accumulation of Green Alga Neochloris Oleoabundans,” 629–36. doi:10.1007/s00253-008-1681-1.

Li, Yecong, Yi-Feng Chen, Paul Chen, Min Min, Wenguang Zhou, Blanca Martinez, Jun Zhu, and Roger Ruan. 2011. “Characterization of a Microalga Chlorella Sp. Well Adapted to Highly Concentrated Municipal Wastewater for Nutrient Removal and Biodiesel Production.” *Bioresource Technology* 102 (8). Elsevier Ltd: 5138–44. doi:10.1016/j.biortech.2011.01.091.

Li, Yecong, Wenguang Zhou, Bing Hu, Min Min, Paul Chen, and Roger R Ruan. 2011. “Bioresource Technology Integration of Algae Cultivation as Biodiesel Production Feedstock with Municipal Wastewater Treatment : Strains Screening and Significance Evaluation of Environmental Factors.” *Bioresource Technology* 102 (23). Elsevier Ltd: 10861–67. doi:10.1016/j.biortech.2011.09.064.

Lin, Qiang, Na Gu, and Junda Lin. 2012. “Effect of Ferric Ion on Nitrogen Consumption, Biomass and Oil Accumulation of a Scenedesmus Rubescens-like Microalga.” *Bioresource Technology* 112. Elsevier: 242–47.

Liu, Chien-Hung, Chin-Yen Chang, Qiang Liao, Xun Zhu, and Jo-Shu Chang. 2013. “Photoheterotrophic Growth of Chlorella Vulgaris ESP6 on Organic Acids from Dark Hydrogen Fermentation Effluents.” *Bioresource Technology* 145 (October). Elsevier Ltd: 331–36. doi:10.1016/j.biortech.2012.12.111.

Liu, Jin, Junchao Huang, Zheng Sun, Yujuan Zhong, Yue Jiang, and Feng Chen. 2011. “Bioresource Technology Differential Lipid and Fatty Acid Profiles of Photoautotrophic and Heterotrophic Chlorella Zofingiensis : Assessment of Algal Oils for Biodiesel Production.” *Bioresource Technology* 102 (1). Elsevier Ltd: 106–10. doi:10.1016/j.biortech.2010.06.017.

Liu, Yong-Qiang, Lingo R X Lim, Jing Wang, Rong Yan, and Aparat Mahakhant. 2012. “Investigation on Pyrolysis of Microalgae Botryococcus Braunii and Hapalosiphon Sp.” *Industrial & Engineering*

Chemistry Research 51 (31). ACS Publications: 10320–26.

Lizzul, a M, P Hellier, S Purton, F Baganz, N Ladommatos, and L Campos. 2014. "Combined Remediation and Lipid Production Using Chlorella Sorokiniana Grown on Wastewater and Exhaust Gases." *Bioresource Technology* 151 (January). Elsevier Ltd: 12–18. doi:10.1016/j.biortech.2013.10.040.

Logroño, Washington, Mario Pérez, Gladys Urquizo, Abudukeremu Kadier, Magdy Echeverría, Celso Recalde, and Gábor Rákhely. 2017. "Single Chamber Microbial Fuel Cell (SCMFC) with a Cathodic Microalgal Biofilm: A Preliminary Assessment of the Generation of Bioelectricity and Biodegradation of Real Dye Textile Wastewater." *Chemosphere* 176. Elsevier: 378–88.

López-González, D, M Fernandez-Lopez, J L Valverde, and L Sanchez-Silva. 2014. "Kinetic Analysis and Thermal Characterization of the Microalgae Combustion Process by Thermal Analysis Coupled to Mass Spectrometry." *Applied Energy* 114. Elsevier: 227–37.

Lourenço, Sergio O, Elisabete Barbarino, Paris L Lavín, Ursula M Lanfer Marquez, and Elizabeth Aidar. 2004. "Distribution of Intracellular Nitrogen in Marine Microalgae: Calculation of New Nitrogen-to-Protein Conversion Factors." *European Journal of Phycology* 39 (1). Taylor & Francis: 17–32.

Lv, Jian-Ming, Li-Hua Cheng, Xin-Hua Xu, Lin Zhang, and Huan-Lin Chen. 2010. "Enhanced Lipid Production of Chlorella Vulgaris by Adjustment of Cultivation Conditions." *Bioresource Technology* 101 (17). Elsevier: 6797–6804.

Lwoff, A. 1932. *Recherches Biochimiques Sur La Nutrition Des Protozoaires. Le Pouvoir de Synthèse.* Monographies de l'Institut Pasteur. Masson, Paris, 158 pp.

Ma, Xiaochen, Wenguang Zhou, Zongqiang Fu, Yanling Cheng, Min Min, Yuhuan Liu, Yunkai Zhang, Paul Chen, and Roger Ruan. 2014. "Effect of Wastewater-Borne Bacteria on Algal Growth and Nutrients Removal in Wastewater-Based Algae Cultivation System." *Bioresource Technology* 167 (September). Elsevier Ltd: 8–13. doi:10.1016/j.biortech.2014.05.087.

Maberly, Stephen C, Lucy A Ball, John A Raven, and Dieter Sültemeyer. 2009. "Inorganic Carbon Acquisition by Chrysophytes." *Journal of Phycology* 45 (5). Wiley Online Library: 1052–61.

Makareviciene, Violeta, Virginija Skorupskaite, and Vaida Andruleviciute. 2013. "Biodiesel Fuel from Microalgae-Promising Alternative Fuel for the Future: A Review." *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 12 (2). Springer: 119–30.

Mandal, Subir Kumar, Ravindra Pal Singh, and Vipul Patel. 2011. "Isolation and Characterization of Exopolysaccharide Secreted by a Toxic Dinoflagellate, Amphidinium Carterae Hulburt 1957 and Its Probable Role in Harmful Algal Blooms (HABs)." *Microbial Ecology* 62 (3). Springer: 518–27.

Markou, Giorgos, Iordanis Chatzipavlidis, and Dimitris Georgakakis. 2012. "Cultivation of Arthrospira (Spirulina) Platensis in Olive-Oil Mill Wastewater Treated with Sodium Hypochlorite." *Bioresource Technology* 112. Elsevier: 234–41.

Martins, A, Nidia S Caetano, and Teresa M Mata. 2009. "Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications : A Review." doi:10.1016/j.rser.2009.07.020.

Martınez, M E, S Sánchez, J M Jimenez, F El Yousfi, and L Munoz. 2000. "Nitrogen and Phosphorus

Removal from Urban Wastewater by the Microalga Scenedesmus Obliquus." *Bioresource Technology* 73 (3). Elsevier: 263–72.

Mata, Teresa M., António A. Martins, and Nidia S. Caetano. 2010. "Microalgae for Biodiesel Production and Other Applications: A Review." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 14 (1): 217–32. doi:10.1016/j.rser.2009.07.020.

McKendry, Peter. 2002. "Energy Production from Biomass (Part 1): Overview of Biomass." *Bioresource Technology* 83 (1). Elsevier: 37–46.

Mebrahtu, Gebrekidan, and Samuel Zerabruk. 2011. "Concentration and Health Implication of Heavy Metals in Drinking Water from Urban Areas of Tigray Region, Northern Ethiopia." *Momona Ethiopian Journal of Science* 3 (1). Mekelle University: 105–21.

Mehanned, S, A Chahlaoui, A Zaid, M Samih, and M Chahboune. 2014. "Typologie de La Qualité Physicochimique de L'eau Du Barrage Sidi Chahed-Maroc [Typology of the Physic-Chemical Quality of the Waters of the Dam Sidi Chahed-Morocco]." *Journal of Materials and Environmental Science* 5 (2): 1633–42.

Mehrabadi, Abbas, Rupert Craggs, and Mohammed M Farid. 2015. "Bioresource Technology Wastewater Treatment High Rate Algal Ponds (WWT HRAP) for Low-Cost Biofuel Production." *Bioresource Technology* 184. Elsevier Ltd: 202–14. doi:10.1016/j.biortech.2014.11.004.

Meier, F. 1932. *1932. Cultivating Algae for Scientific Research.* Ann. Rep. Board Regents Smithsonian Inst. 1932:373–83.

Mendes, Leonardo Brantes Bacellar, and Alane Beatriz Vermelho. 2013. "Allelopathy as a Potential Strategy to Improve Microalgae Cultivation." *Biotechnology for Biofuels* 6 (1). BioMed Central: 152.

Mezzomo, Natália, Adriana Galon Saggiorato, Rochele Siebert, Pihetra Oliveira Tatsch, Maria Cristina Lago, Marcelo Hemkemeier, Jorge Alberto Vieira Costa, Telma Elita Bertolin, and Luciane Maria Colla. 2010. "Cultivation of Microalgae Spirulina Platensis (Arthrospira Platensis) from Biological Treatment of Swine Wastewater." *Food Science and Technology* 30 (1). SciELO Brasil: 173–78.

Milledge, John J. 2011. "Commercial Application of Microalgae Other than as Biofuels: A Brief Review." *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 10 (1): 31–41. doi:10.1007/s11157-010-9214-7.

Min, Min, Liang Wang, Yecong Li, Michael J Mohr, Bing Hu, Wenguang Zhou, Paul Chen, and Roger Ruan. 2011. "Cultivating Chlorella Sp. in a Pilot-Scale Photobioreactor Using Centrate Wastewater for Microalgae Biomass Production and Wastewater Nutrient Removal." *Applied Biochemistry and Biotechnology* 165 (1). Springer: 123–37.

Miquel, P. 1890. "De La Culture Artificielle Des Diatomées. Culture Des Diatomées Sous Le Microscope. De L'avenir Des Cultures de Diatomées." *Le Diatomiste* 1: 165–72.

Miquel, P. 1892. "Recherches Expérimentales Sur La Physiologie, La Morphologie et La Pathologie Des Diatomées." *Ann. Microgr* 4 (273): 5.

Moheimani, Navid Reza. 2005. "The Culture of Coccolithophorid Algae for Carbon Dioxide

Bioremediation." Murdoch University.

Molina, E, J Fernández, F G Acién, and Y Chisti. 2001. "Tubular Photobioreactor Design for Algal Cultures." *Journal of Biotechnology* 92 (2). Elsevier: 113–31.

Moore, George Thomas. 1903. "Methods for Growing Pure Cultures of Algae." In . .J. Appl. Microsc. Labor. Meth. 6:2309–14.

Moreno-Garcia, L., K. Adjallé, S. Barnabé, and G. S.V. Raghavan. 2017. "Microalgae Biomass Production for a Biorefinery System: Recent Advances and the Way towards Sustainability." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 76 (May 2016): 493–506. doi:10.1016/j.rser.2017.03.024.

Moriarty, David J W. 1997. "The Role of Microorganisms in Aquaculture Ponds." *Aquaculture* 151 (1–4). Elsevier: 333–49.

Moseley, Jeffrey L, Chiung-Wen Chang, and Arthur R Grossman. 2006. "Genome-Based Approaches to Understanding Phosphorus Deprivation Responses and PSR1 Control in Chlamydomonas Reinhardtii." *Eukaryotic Cell* 5 (1). Am Soc Microbiol: 26–44.

Mosime, L, O Areola, and O Dikinya. 2011. "Comparative Effects of Secondary Treated Waste Water Irrigation on Soil Quality Parameters under Different Crop Types." Global Science Books, http://www. globalsciencebooks. info/Journals/AJPSB. html.

Muchuweti, Maud, J W Birkett, E Chinyanga, R Zvauya, Mark D Scrimshaw, and J N Lester. 2006. "Heavy Metal Content of Vegetables Irrigated with Mixtures of Wastewater and Sewage Sludge in Zimbabwe: Implications for Human Health." *Agriculture, Ecosystems & Environment* 112 (1). Elsevier: 41–48.

Mun, Raul, and Benoit Guieysse. 2006. "Algal – Bacterial Processes for the Treatment of Hazardous Contaminants : A Review" 40: 2799–2815. doi:10.1016/j.watres.2006.06.011.

Munoz, Raul, and Benoit Guieysse. 2006. "Algal–bacterial Processes for the Treatment of Hazardous Contaminants: A Review." *Water Research* 40 (15). Elsevier: 2799–2815.

Muñoz, Raul, Claudia Köllner, and Benoit Guieysse. 2009. "Biofilm Photobioreactors for the Treatment of Industrial Wastewaters." *Journal of Hazardous Materials* 161 (1). Elsevier: 29–34.

Nabulo, Grace, S D Young, and C R Black. 2010. "Assessing Risk to Human Health from Tropical Leafy Vegetables Grown on Contaminated Urban Soils." *Science of the Total Environment* 408 (22). Elsevier: 5338–51.

Najdenski, Hristo M, Liliana G Gigova, Ivan I Iliev, Plamen S Pilarski, Jaromir Lukavský, Iva V Tsvetkova, Mariana S Ninova, and Vesselin K Kussovski. 2013. "Antibacterial and Antifungal Activities of Selected Microalgae and Cyanobacteria." *International Journal of Food Science & Technology* 48 (7). Wiley Online Library: 1533–40.

Natrah, Fatin M I, Peter Bossier, Patrick Sorgeloos, Fatimah Md Yusoff, and Tom Defoirdt. 2014. "Significance of Microalgal–bacterial Interactions for Aquaculture." *Reviews in Aquaculture* 6 (1). Wiley Online Library: 48–61.

Nogueira, S F, B F F Pereira, T M Gomes, A M De Paula, J A Dos Santos, and C R Montes. 2013. "Treated

Sewage Effluent: Agronomical and Economical Aspects on Bermudagrass Production." *Agricultural Water Management* 116. Elsevier: 151–59.

Novoveská, Lucie, Anastasia K.M. Zapata, Jeffrey B. Zabolotney, Matthew C. Atwood, and Eric R. Sundstrom. 2016. "Optimizing Microalgae Cultivation and Wastewater Treatment in Large-Scale Offshore Photobioreactors." *Algal Research* 18. Elsevier B.V.: 86–94. doi:10.1016/j.algal.2016.05.033.

Nur, M M A. 2014. "Lipid Extraction of Microalga Chlorella Sp. Cultivated in Palm Oil Mill Effluent (POME) Medium." *World Applied Sciences Journal* 31 (5). IDOSI Publications: 959–67.

Nurdogan, Yakup, and William J Oswald. 1995. "Enhanced Nutrient Removal in High-Rate Ponds." *Water Science and Technology* 31 (12). IWA Publishing: 33–43.

Nwuche, Charles Ogugua, Doris Chidimma Ekpo, Chijioke Nwoye Eze, Hideki Aoyagi, and James Chukwuma Ogbonna. 2014. "Use of Palm Oil Mill Effluent as Medium for Cultivation of Chlorella Sorokiniana."

Ogbonna, James C, and Hideo Tanaka. 2000. "Light Requirement and Photosynthetic Cell cultivation–Development of Processes for Efficient Light Utilization in Photobioreactors." *Journal of Applied Phycology* 12 (3–5). Springer: 207–18.

Oswald, W J, H B Gotaas, C G Golueke, W R Kellen, E F Gloyna, and E R Hermann. 1957. "Algae in Waste Treatment [with Discussion]." *Sewage and Industrial Wastes* 29 (4). JSTOR: 437–57.

Oswald, William J, and Claeence G Golueke. 1960. "Biological Transformation of Solar Energy." In *Advances in Applied Microbiology*, 2:223–62. Elsevier.

Ota, Masaki, Yoshitaka Kato, Hiromoto Watanabe, Masaru Watanabe, Yoshiyuki Sato, Richard L Smith, and Hiroshi Inomata. 2009. "Effect of Inorganic Carbon on Photoautotrophic Growth of Microalga Chlorococcum Littorale." *Biotechnology Progress* 25 (2). Wiley Online Library: 492–98.

Paerl, H W, and J L Pinckney. 1996. "A Mini-Review of Microbial Consortia: Their Roles in Aquatic Production and Biogeochemical Cycling." *Microbial Ecology* 31 (3). Springer: 225–47.

Park, J B K, and R J Craggs. 2010. "Wastewater Treatment and Algal Production in High Rate Algal Ponds with Carbon Dioxide Addition." *Water Science and Technology* 61 (3). IWA Publishing: 633–39.

Park, Young-Tae, Hongkyun Lee, Hyun-Shik Yun, Kyung-Guen Song, Sung-Ho Yeom, and Jaeyoung Choi. 2013. "Removal of Metal from Acid Mine Drainage Using a Hybrid System Including a Pipes Inserted Microalgae Reactor." *Bioresource Technology* 150. Elsevier: 242–48.

Parmar, Asha, Niraj Kumar Singh, Ashok Pandey, Edgard Gnansounou, and Datta Madamwar. 2011. "Cyanobacteria and Microalgae: A Positive Prospect for Biofuels." *Bioresource Technology* 102 (22). Elsevier: 10163–72.

Pathak, V V, D P Singh, R Kothari, and A K Chopra. 2014. "Phycoremediation of Textile Wastewater by Unicellular Microalga Chlorella Pyrenoidosa." *Cell Mol Biol* 60 (5): 35–40.

Peng, Weimin, Qingyu Wu, and Pingguan Tu. 2001. "Pyrolytic Characteristics of Heterotrophic Chlorella Protothecoides for Renewable Bio-Fuel Production." *Journal of Applied Phycology* 13 (1). Springer:

5–12.

Perez-Garcia, Octavio, Froylan M E Escalante, Luz E de-Bashan, and Yoav Bashan. 2011. “Heterotrophic Cultures of Microalgae: Metabolism and Potential Products.” *Water Research* 45 (1). Elsevier: 11–36.

Peršić, Vesna, Janja Horvatić, Elizabeta Has-Schön, and Ivan Bogut. 2009. “Changes in N and P Limitation Induced by Water Level Fluctuations in Nature Park Kopački Rit (Croatia): Nutrient Enrichment Bioassay.” *Aquatic Ecology* 43 (1). Springer: 27–36.

Petrovič, A, and M Simonič. 2015. “The Effect of Carbon Source on Nitrate and Ammonium Removal from Drinking Water by Immobilised Chlorella Sorokiniana.” *International Journal of Environmental Science and Technology* 12 (10). Springer: 3175–88.

Phukan, Mayur M., Rahul S. Chutia, B. K. Konwar, and R. Kataki. 2011. “Microalgae Chlorella as a Potential Bio-Energy Feedstock.” *Applied Energy* 88 (10): 3307–12. doi:10.1016/j.apenergy.2010.11.026.

Pires, J C M, M C M Alvim-Ferraz, F G Martins, and M Simões. 2012. “Carbon Dioxide Capture from Flue Gases Using Microalgae: Engineering Aspects and Biorefinery Concept.” *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16 (5). Elsevier: 3043–53.

Pirt, S John, Yuan Kun Lee, Marek R Walach, Margaret Watts Pirt, Hushang H M Balyuzi, and Michael J Bazin. 1983. “A Tubular Bioreactor for Photosynthetic Production of Biomass from Carbon Dioxide: Design and Performance.” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 33 (1). Wiley Online Library: 35–58.

Ponnuswamy, Indhumathi, Soundararajan Madhavan, and Syed Shabudeen. 2013. “Isolation and Characterization of Green Microalgae for Carbon Sequestration , Waste Water Treatment and Bio-Fuel Production” 5 (2): 17–26.

Pratt, P F. 1965. “Potassium.” *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*, no. methodsofsoilanb. American Society of Agronomy, Soil Science Society of America: 1022–30.

Price, G Dean, Murray R Badger, Fiona J Woodger, and Ben M Long. 2007. “Advances in Understanding the Cyanobacterial CO2-Concentrating-Mechanism (CCM): Functional Components, Ci Transporters, Diversity, Genetic Regulation and Prospects for Engineering into Plants.” *Journal of Experimental Botany* 59 (7). Oxford University Press: 1441–61.

Pringsheim, E. G. 1924. *Algenkultur. In: Abderhalden, E., Ed.* Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. XI (2/1).Urban und Schwarzenberg, Berlin, pp. 377–406.

Pringsheim. 1946. *Pure Cultures of Algae.* Cambridge Univ. Press, London, 119 pp.

Pulz, Otto. 2001. “Photobioreactors: Production Systems for Phototrophic Microorganisms.” *Applied Microbiology and Biotechnology* 57 (3). Springer: 287–93.

Pulz, Otto, and Karl Scheibenbogen. 1998. “Photobioreactors: Design and Performance with Respect to Light Energy Input.” In *Bioprocess and Algae Reactor Technology, Apoptosis*, 123–52. Springer.

Qin, Lei, Zhongming Wang, Yongming Sun, Qing Shu, and Pingzhong Feng. 2016. “Microalgae Consortia

Cultivation in Dairy Wastewater to Improve the Potential of Nutrient Removal and Biodiesel Feedstock Production," 8379–87. doi:10.1007/s11356-015-6004-3.

Qin, Lei, Zhongming Wang, Yongming Sun, Qing Shu, Pingzhong Feng, Liandong Zhu, Jin Xu, and Zhenhong Yuan. 2016. "Microalgae Consortia Cultivation in Dairy Wastewater to Improve the Potential of Nutrient Removal and Biodiesel Feedstock Production." *Environmental Science and Pollution Research* 23 (9). Springer: 8379–87.

Qureshi, Asad Sarwar, M Iftikhar Hussain, Shoaib Ismail, and Qaisar Mehmood Khan. 2016. "Chemosphere Evaluating Heavy Metal Accumulation and Potential Health Risks in Vegetables Irrigated with Treated Wastewater." *Chemosphere* 163. Elsevier Ltd: 54–61. doi:10.1016/j.chemosphere.2016.07.073.

Raheem, Abdul, S Sivasangar, W A K G Wan Azlina, Y H Tau, Michael K Danquah, and Razif Harun. 2015. "Thermogravimetric Study of Chlorella Vulgaris for Syngas Production" 12: 52–59. doi:10.1016/j.algal.2015.08.003.

Rajvanshi, Shalini, and Mahendra Pal Sharma. 2012. "Microalgae : A Potential Source of Biodiesel" 2012 (September): 49–59.

Ramanna, Luveshan, Abhishek Guldhe, Ismail Rawat, and Faizal Bux. 2014. "Bioresource Technology The Optimization of Biomass and Lipid Yields of Chlorella Sorokiniana When Using Wastewater Supplemented with Different Nitrogen Sources." *BIORESOURCE TECHNOLOGY*. Elsevier Ltd. doi:10.1016/j.biortech.2014.03.064.

Raschid-Sally, Liqa, Richard Carr, and Stephanie Buechler. 2005. "Managing Wastewater Agriculture to Improve Livelihoods and Environmental Quality in Poor Countries." *Irrigation and Drainage* 54 (SUPPL. 1): 11–22. doi:10.1002/ird.182.

Rawat, I, R Ranjith Kumar, T Mutanda, and F Bux. 2011. "Dual Role of Microalgae : Phycoremediation of Domestic Wastewater and Biomass Production for Sustainable Biofuels Production." *Applied Energy* 88 (10). Elsevier Ltd: 3411–24. doi:10.1016/j.apenergy.2010.11.025.

Razzak, Shaikh A, Mohammad M Hossain, Rahima A Lucky, Amarjeet S Bassi, and Hugo de Lasa. 2013. "Integrated CO2 Capture, Wastewater Treatment and Biofuel Production by Microalgae culturing—A Review." *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 27. Elsevier: 622–53.

Renuka, N, A Sood, R Prasanna, and A S Ahluwalia. 2015. "Phycoremediation of Wastewaters : A Synergistic Approach Using Microalgae for Bioremediation and Biomass Generation," 1443–60. doi:10.1007/s13762-014-0700-2.

Renuka, Nirmal, Anjuli Sood, Sachitra K Ratha, Radha Prasanna, and Amrik S Ahluwalia. 2013. "Evaluation of Microalgal Consortia for Treatment of Primary Treated Sewage Effluent and Biomass Production." *Journal of Applied Phycology* 25 (5). Springer: 1529–37.

Richardson, James W, Myriah D Johnson, and Joe L Outlaw. 2012. "Economic Comparison of Open Pond Raceways to Photo Bio-Reactors for Profitable Production of Algae for Transportation Fuels in the Southwest." *Algal Research* 1 (1). Elsevier: 93–100.

Richmond, Amos. 2004. “Biological Principles of Mass Cultivation.” *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Wiley-Blackwell, London, 125–77.

———. 2008. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. John Wiley & Sons.

Rizzo, Andrea Maria, Matteo Prussi, Lorenzo Bettucci, Ilaria Marsili Libelli, and David Chiaramonti. 2013. “Characterization of Microalga Chlorella as a Fuel and Its Thermogravimetric Behavior.” *Applied Energy* 102. Elsevier Ltd: 24–31. doi:10.1016/j.apenergy.2012.08.039.

Robarts, Richard D, and Tamar Zohary. 1987. “Temperature Effects on Photosynthetic Capacity, Respiration, and Growth Rates of Bloom-forming Cyanobacteria.” *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 21 (3). Taylor & Francis: 391–99.

Rodolfi, Liliana, Graziella Chini Zittelli, Niccolò Bassi, Giulia Padovani, Natascia Biondi, Gimena Bonini, and Mario R Tredici. 2009. “Microalgae for Oil: Strain Selection, Induction of Lipid Synthesis and Outdoor Mass Cultivation in a Low-cost Photobioreactor.” *Biotechnology and Bioengineering* 102 (1). Wiley Online Library: 100–112.

Ross, A B, J M Jones, M L Kubacki, and T Bridgeman. 2008. “Classification of Macroalgae as Fuel and Its Thermochemical Behaviour.” *Bioresource Technology* 99 (14). Elsevier: 6494–6504.

Ruiz-Marin, Alejandro, Leopoldo G Mendoza-Espinosa, and Tom Stephenson. 2010. “Growth and Nutrient Removal in Free and Immobilized Green Algae in Batch and Semi-Continuous Cultures Treating Real Wastewater.” *Bioresource Technology* 101 (1). Elsevier: 58–64.

Ruiz, J, Z Arbib, P D Álvarez-Díaz, C Garrido-Pérez, J Barragán, and J A Perales. 2013. “Photobiotreatment Model (PhBT): A Kinetic Model for Microalgae Biomass Growth and Nutrient Removal in Wastewater.” *Environmental Technology* 34 (8). Taylor & Francis: 979–91.

Russell, A D, and M J Day. 1996. “Antibiotic and Biocide Resistance in Bacteria.” *Microbios* 85 (342): 45–65.

Sakazaki, RlICHI, and TOSHIO Shimada. 1986. “Vibrio Species as Causative Agents of Food-Borne Infection.” *Developments in Food Microbiology*.

Sawayama, Shigeki, Seiichi Inoue, Yutaka Dote, and Shin-Ya Yokoyama. 1995. “CO2 Fixation and Oil Production through Microalga.” *Energy Conversion and Management* 36 (6–9). Elsevier: 729–31.

Schenk, Peer M, Skye R Thomas-Hall, Evan Stephens, Ute C Marx, Jan H Mussgnug, Clemens Posten, Olaf Kruse, and Ben Hankamer. 2008. “Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production.” *Bioenergy Research* 1 (1). Springer: 20–43.

Schraft, H, and L A Watterworth. 2005. “Enumeration of Heterotrophs, Fecal Coliforms and Escherichia Coli in Water: Comparison of 3M^{TM} Petrifilm^{TM} Plates with Standard Plating Procedures.” *Journal of Microbiological Methods* 60 (3). Elsevier: 335–42.

Sekabira, K, H Oryem Origa, T A Basamba, G Mutumba, and E Kakudidi. 2011. “Application of Algae in Biomonitoring and Phytoextraction of Heavy Metals Contamination in Urban Stream Water.” *International Journal of Environmental Science & Technology* 8 (1). Springer: 115–28.

Sevrin-Reyssac, Josette, J de La Noue, and Daniel Proulx. 1995. “Le Recyclage Du Lisier de Porc Par Lagunage.” Londres (United Kingdom) Technique et Documentation-Lavoisier.

Shah, Afzal, Abdul Niaz, Nazeef Ullah, Ali Rehman, Muhammad Akhlaq, Muhammad Zakir, and Muhammad Suleman Khan. 2013. “Comparative Study of Heavy Metals in Soil and Selected Medicinal Plants.” *Journal of Chemistry* 2013. Hindawi Publishing Corporation.

Shriwastav, Amritanshu, Sanjay Kumar Gupta, Faiz Ahmad Ansari, Ismail Rawat, and Faizal Bux. 2014. “Adaptability of Growth and Nutrient Uptake Potential of Chlorella Sorokiniana with Variable Nutrient Loading.” *Bioresource Technology* 174 (December). Elsevier Ltd: 60–66. doi:10.1016/j.biortech.2014.09.149.

Silva-Benavides, Ana Margarita, and Giuseppe Torzillo. 2012. “Nitrogen and Phosphorus Removal through Laboratory Batch Cultures of Microalga Chlorella Vulgaris and Cyanobacterium Planktothrix Isothrix Grown as Monoalgal and as Co-Cultures.” *Journal of Applied Phycology* 24 (2). Springer: 267–76.

Singh, Anita, Rajesh K Sharma, Madhoolika Agrawal, and F Marshall. 2009. “Effects of Wastewater Irrigation on Physicochemical Properties of Soil and Availability of Heavy Metals in Soil and Vegetables.” *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 40 (21–22). Taylor & Francis: 3469–90.

Singh, Kunwar P, Dinesh Mohan, Sarita Sinha, and R Dalwani. 2004. “Impact Assessment of Treated/untreated Wastewater Toxicants Discharged by Sewage Treatment Plants on Health, Agricultural, and Environmental Quality in the Wastewater Disposal Area.” *Chemosphere* 55 (2). Elsevier: 227–55.

Singh, Nirbhay Kumar, and Dolly Wattal Dhar. 2011. “Microalgae as Second Generation Biofuel. A Review.” *Agronomy for Sustainable Development* 31 (4). Springer: 605–29.

Singh, Uday Bhan, and A S Ahluwalia. 2013. “Microalgae: A Promising Tool for Carbon Sequestration.” *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change* 18 (1). Springer: 73–95.

Skjånes, Kari, Peter Lindblad, and Jiri Muller. 2007. “BioCO2–A Multidisciplinary, Biological Approach Using Solar Energy to Capture CO2 While Producing H2 and High Value Products.” *Biomolecular Engineering* 24 (4). Elsevier: 405–13.

Slade, Raphael, and Ausilio Bauen. 2013. “Micro-Algae Cultivation for Biofuels: Cost, Energy Balance, Environmental Impacts and Future Prospects.” *Biomass and Bioenergy* 53. Elsevier: 29–38.

Smith, S R, and K E Giller. 1992. “Effective Rhizobium Leguminosarum Biovar Trifolii Present in Five Soils Contaminated with Heavy Metals from Long-Term Applications of Sewage Sludge or Metal Mine Spoil.” *Soil Biology and Biochemistry* 24 (8). Elsevier: 781–88.

Sonune, Amit, and Rupali Ghate. 2004. “Developments in Wastewater Treatment Methods.” *Desalination* 167. Elsevier: 55–63.

Spolaore, Pauline, Claire Joannis-Cassan, Elie Duran, and Arsène Isambert. 2006. “Commercial Applications of Microalgae.” *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101 (2). Elsevier: 87–96.

Suárez-Garcıa, F, A Martınez-Alonso, M Fernández Llorente, and J M D Tascón. 2002. “Inorganic Matter Characterization in Vegetable Biomass Feedstocks.” *Fuel* 81 (9). Elsevier: 1161–69.

Subashchandrabose, Suresh R, Balasubramanian Ramakrishnan, Mallavarapu Megharaj, Kadiyala Venkateswarlu, and Ravi Naidu. 2011. “Consortia of Cyanobacteria/microalgae and Bacteria: Biotechnological Potential.” *Biotechnology Advances* 29 (6). Elsevier: 896–907.

Sun, Xuefei, Cunwen Wang, Zihao Li, Weiguo Wang, Yanjie Tong, and Jiang Wei. 2013. “Microalgal Cultivation in Wastewater from the Fermentation Effluent in Riboflavin (B2) Manufacturing for Biodiesel Production.” *Bioresource Technology* 143. Elsevier: 499–504.

Sushchik, N N, G S Kalacheva, N O Zhila, M I Gladyshev, and T G Volova. 2003. “A Temperature Dependence of the Intra-and Extracellular Fatty-Acid Composition of Green Algae and Cyanobacterium.” *Russian Journal of Plant Physiology* 50 (3). Springer: 374–80.

Tam, N. F.Y., and Y. S. Wong. 1989. “Wastewater Nutrient Removal by Chlorella Pyrenoidosa and Scenedesmus Sp.” *Environmental Pollution* 58 (1): 19–34. doi:10.1016/0269-7491(89)90234-0.

Tibbetts, Sean M, Joyce E Milley, and Santosh P Lall. 2015. “Chemical Composition and Nutritional Properties of Freshwater and Marine Microalgal Biomass Cultured in Photobioreactors,” 1109–19. doi:10.1007/s10811-014-0428-x.

Tillett, David McIlvain. 1988. “Lipid Productivity and Species Competition in Laboratory Models of Algal Mass Cultures.” Georgia Institute of Technology.

Torres, Moacir A, Marcelo P Barros, Sara C G Campos, Ernani Pinto, Satish Rajamani, Richard T Sayre, and Pio Colepicolo. 2008. “Biochemical Biomarkers in Algae and Marine Pollution: A Review.” *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71 (1). Elsevier: 1–15.

Torzillo, G, T Goksan, C Faraloni, J Kopecky, and J Masojídek. 2003. “Interplay between Photochemical Activities and Pigment Composition in an Outdoor Culture of Haematococcus Pluvialis during the Shift from the Green to Red Stage.” *Journal of Applied Phycology* 15 (2–3). Springer: 127–36.

Trani, P E, S W Tivelli, and O A Carrijo. 2011. “Fertirrigação Em Hortaliças. Campinas: Instituto Agronômico, 2011. 51p. Série Tecnologia APTA.” *Boletim Técnico IAC* 196.

Tredici, Mario R. 2004. “Mass Production of Microalgae: Photobioreactors.” *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology* 1. Blackwell Publishing Ltd.: Oxford, UK: 178–214.

Ugwu, C U, H Aoyagi, and H Uchiyama. 2008. “Photobioreactors for Mass Cultivation of Algae.” *Bioresource Technology* 99 (10). Elsevier: 4021–28.

Unnithan, Veena V, Adrian Unc, and Geoffrey B Smith. 2014. “Mini-Review : A Priori Considerations for Bacteria – Algae Interactions in Algal Biofuel Systems Receiving Municipal Wastewaters.” *ALGAL* 4. Elsevier B.V.: 35–40. doi:10.1016/j.algal.2013.11.009.

Valverde, J L. 2014. “Kinetic Analysis and Thermal Characterization of the Microalgae Combustion Process by Thermal Analysis Coupled to Mass Spectrometry.” *Applied Energy* 114. Elsevier Ltd: 227–37. doi:10.1016/j.apenergy.2013.09.055.

Vilchez, Carlos, Inés Garbayo, Maria V Lobato, and JoséM Vega. 1997. “Microalgae-Mediated Chemicals

Production and Wastes Removal." *Enzyme and Microbial Technology* 20 (8). Elsevier: 562–72.

Walker, David Alan. 2009. "Biofuels, Facts, Fantasy, and Feasibility." *Journal of Applied Phycology* 21 (5). Springer: 509–17.

Wang, Chao, Song He Zhang, Pei Fang Wang, Jun Hou, Wen Jing Zhang, Wei Li, and Zhi Ping Lin. 2009. "The Effect of Excess Zn on Mineral Nutrition and Antioxidative Response in Rapeseed Seedlings." *Chemosphere* 75 (11). Elsevier: 1468–76.

Wang, Liang, Yecong Li, Paul Chen, Min Min, Yifeng Chen, Jun Zhu, and Roger R Ruan. 2010. "Anaerobic Digested Dairy Manure as a Nutrient Supplement for Cultivation of Oil-Rich Green Microalgae Chlorella Sp." *Bioresource Technology* 101 (8). Elsevier: 2623–28.

Wang, Liang, Min Min, Yecong Li, Paul Chen, Yifeng Chen, Yuhuan Liu, Yingkuan Wang, and Roger Ruan. 2010. "Cultivation of Green Algae Chlorella Sp. in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant." *Applied Biochemistry and Biotechnology* 162 (4). Springer: 1174–86.

Wang, Meng, Wenye Camilla Kuo-Dahab, Sona Dolan, and Chul Park. 2014. "Kinetics of Nutrient Removal and Expression of Extracellular Polymeric Substances of the Microalgae, Chlorella Sp. and Micractinium Sp., in Wastewater Treatment." *Bioresource Technology* 154. Elsevier: 131–37.

Wang, Shuang, Qian Wang, Xiumin Jiang, Xiangxin Han, and Hengsong Ji. 2013. "Compositional Analysis of Bio-Oil Derived from Pyrolysis of Seaweed." *Energy Conversion and Management* 68. Elsevier: 273–80.

Wang, Weiliang, Feifei Han, Yuanguang Li, Yinsong Wu, Jun Wang, Ronghua Pan, and Guomin Shen. 2014. "Bioresource Technology Medium Screening and Optimization for Photoautotrophic Culture of Chlorella Pyrenoidosa with High Lipid Productivity Indoors and Outdoors." *BIORESOURCE TECHNOLOGY* 170. Elsevier Ltd: 395–403. doi:10.1016/j.biortech.2014.08.030.

Wang, Xue-Jiang, Si-Qing Xia, Ling Chen, Jian-Fu Zhao, N J Renault, and Jean-Marc Chovelon. 2006. "Nutrients Removal from Municipal Wastewater by Chemical Precipitation in a Moving Bed Biofilm Reactor." *Process Biochemistry* 41 (4). Elsevier: 824–28.

Wilhelm, Christian, Claudia Büchel, Joachim Fisahn, Reimund Goss, Torsten Jakob, Julie LaRoche, Johann Lavaud, Martin Lohr, Ulf Riebesell, and Katja Stehfest. 2006. "The Regulation of Carbon and Nutrient Assimilation in Diatoms Is Significantly Different from Green Algae." *Protist* 157 (2). Urban & Fischer: 91–124.

Wilkie, Ann C, and Walter W Mulbry. 2002. "Recovery of Dairy Manure Nutrients by Benthic Freshwater Algae." *Bioresource Technology* 84 (1). Elsevier: 81–91.

Williams, Peter J. Le B., and Lieve M. L. Laurens. 2010. "Microalgae as Biodiesel & Biomass Feedstocks: Review & Analysis of the Biochemistry, Energetics & Economics." *Energy & Environmental Science* 3 (5): 554. doi:10.1039/b924978h.

Wolf, J., E. Stephens, S. Steinbusch, J. Yarnold, I. L. Ross, C. Steinweg, A. Doebbe, et al. 2016. "Multifactorial Comparison of Photobioreactor Geometries in Parallel Microalgae Cultivations." *Algal Research* 15. Elsevier B.V.: 187–201. doi:10.1016/j.algal.2016.02.018.

Xin, Li, Hu Hong-Ying, and Zhang Yu-Ping. 2011. “Growth and Lipid Accumulation Properties of a Freshwater Microalga Scenedesmus Sp. under Different Cultivation Temperature.” *Bioresource Technology* 102 (3). Elsevier: 3098–3102.

Xu, Nianjun, Xuecheng Zhang, Xiao Fan, Lijun Han, and Chengkui Zeng. 2001. “Effects of Nitrogen Source and Concentration on Growth Rate and Fatty Acid Composition of Ellipsoidion sp.(Eustigmatophyta).” *Journal of Applied Phycology* 13 (6). Springer: 463–69.

Yang, Jia, Xin Li, Hongying Hu, Xue Zhang, Yin Yu, and Yongsheng Chen. 2011. “Growth and Lipid Accumulation Properties of a Freshwater Microalga, Chlorella Ellipsoidea YJ1, in Domestic Secondary Effluents.” *Applied Energy* 88 (10). Elsevier: 3295–99.

Yang, Libin, Xiaobo Tan, Deyi Li, Huaqiang Chu, Xuefei Zhou, Yalei Zhang, and Hong Yu. 2015a. “Nutrients Removal and Lipids Production by Chlorella Pyrenoidosa Cultivation Using Anaerobic Digested Starch Wastewater and Alcohol Wastewater.” *Bioresource Technology* 181. Elsevier: 54–61.

———. 2015b. “Nutrients Removal and Lipids Production by Chlorella Pyrenoidosa Cultivation Using Anaerobic Digested Starch Wastewater and Alcohol Wastewater.” *Bioresource Technology* 181 (January). Elsevier Ltd: 54–61. doi:10.1016/j.biortech.2015.01.043.

Yang, Yong, Fu-Suo Zhang, Hua-Fen Li, and Rong-Feng Jiang. 2009. “Accumulation of Cadmium in the Edible Parts of Six Vegetable Species Grown in Cd-Contaminated Soils.” *Journal of Environmental Management* 90 (2). Elsevier: 1117–22.

Yen, Hong-Wei, I-Chen Hu, Chun-Yen Chen, and Jo-Shu Chang. 2014. “Design of Photobioreactors for Algal Cultivation.” In *Biofuels from Algae*, 23–45. Elsevier.

Yun, Yeoung-Sang, Sun Bok Lee, Jong Moon Park, Choong-Il Lee, and Ji-Won Yang. 1997. “Carbon Dioxide Fixation by Algal Cultivation Using Wastewater Nutrients.” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 69 (4). Oxford [Oxfordshire]: Published for the Society of Chemical Industry by Blackwell Scientific Publications, c1986-: 451–55.

Zayed, Adel M, and Norman Terry. 2003. “Chromium in the Environment: Factors Affecting Biological Remediation.” *Plant and Soil* 249 (1). Springer: 139–56.

Zhao, Fangchao, Xiaobo Tan, Yalei Zhang, Huaqiang Chu, Libin Yang, and Xuefei Zhou. 2015. “Effect of Temperature on the Conversion Ratio of Glucose to Chlorella Pyrenoidosa Cells: Reducing the Cost of Cultivation.” *Algal Research* 12. Elsevier: 431–35.

Zhou, Wenguang, Paul Chen, Min Min, Xiaochen Ma, Jinghan Wang, Richard Griffith, Fida Hussain, Pu Peng, Qinglong Xie, and Yun Li. 2014. “Environment-Enhancing Algal Biofuel Production Using Wastewaters.” *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 36. Elsevier: 256–69.

Zhou, Xinping, Shuo Yuan, Ranchi Chen, Reccab M Ochieng, Xinping Zhou, Shuo Yuan, Ranchi Chen, and Reccab M Ochieng. 2015. “Sustainable Production of Energy from Microalgae : Review of Culturing Systems , Economics , and Modelling Sustainable Production of Energy from Microalgae : Review of Culturing Systems , Economics , and Modelling” 12701 (May). doi:10.1063/1.4906919.

Zighmi, Souad, Segni Ladjel, Mohamed Bilal Goudjil, and Salah Eddine Bencheikh. 2017. “Renewable Energy from the Seaweed Chlorella Pyrenoidosa Cultivated in Developed Systems.” *International Journal of Renewable Energy Research* 7: 49–57.

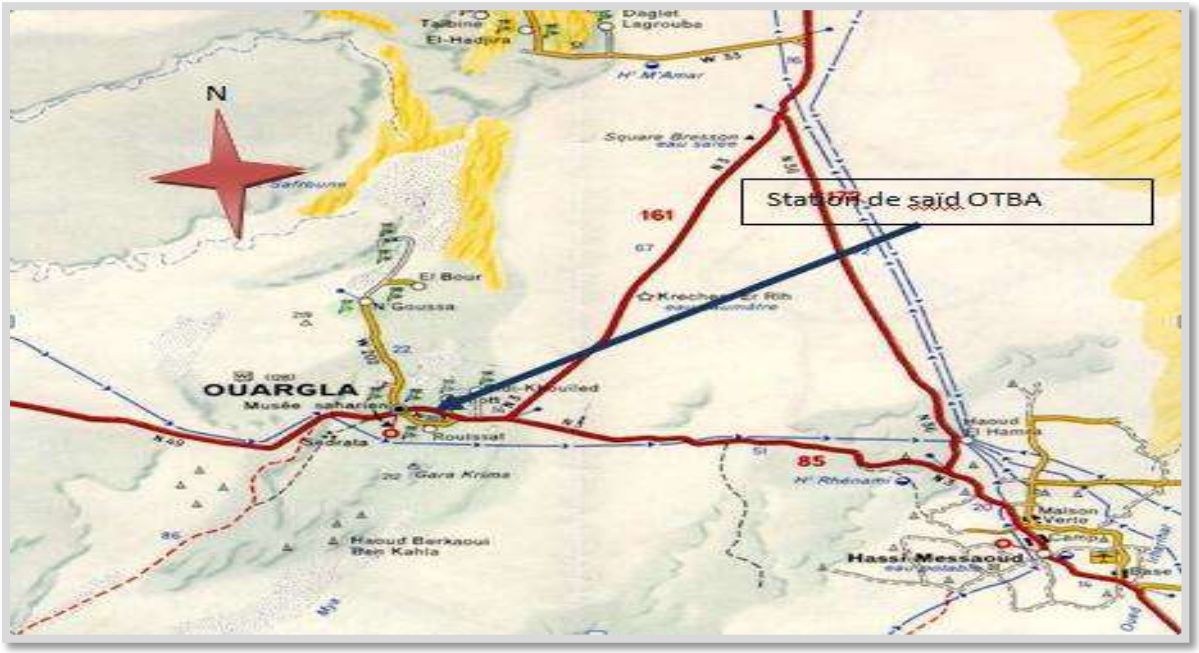
Zittelli, G Chini, F Lavista, A Bastianini, L Rodolfi, M Vincenzini, and M R Tredici. 1999. “Production of Eicosapentaenoic Acid by Nannochloropsis Sp. Cultures in Outdoor Tubular Photobioreactors.” *Journal of Biotechnology* 70 (1–3). Elsevier: 299–312.

Annexe I

I. La STEP de Said Otba Ouargla

I. 1. Situation géographique de la STEP de Said Otba Ouargla

Le site d'implantation se situe au Nord-est de Ouargla entre les deux branches du canal de drainage.



- **Fig. 53. situation géographique de la STEP**

I. 2. Présentation de la STEP de Said Otba

La station d'épuration de Said OTBA est de type de lagunage aéré.

La filière de traitement retenue est constituée de :

- Prétraitement.
- Un premier étage de traitement par lagunage aéré.
- Un deuxième étage de traitement par lagunage aéré.
- Un troisième étage bassin de finition.
- Lits de séchage des boues.

Fig. 54. schéma présentatif de la STEP

I. 3. Principe de traitement

Les eaux usées arrivant à la STEP sont refoulées par l'intermédiaire de 05 stations de refoulement qui débouchent dans un regard de dégazage. Ce dernier assure une oxygénation naturelle des eaux brutes. Cette opération permet d'évacuer de H_2S qui pourrait se former dans les conduites de refoulement.

A partir du regard de dégazage, les eaux brutes débouchent dans un canal regroupant les installations de dégrillage et de dessablage.

A l'entrée et à la sortie, un canal venturi associé à une sonde ultrason de mesure de la hauteur d'eau en amont permet de mesurer de manière continue les débits.

I. 3. 1. Prétraitement

Le prétraitement comporte les procédés suivants :

I. 3. 1. 1. Dégrillage

Le système comprend un ensemble de 02 dégrilleurs automatiques (espace entre barreaux de 25 mm) disposés en parallèle. Le dimensionnement de chaque grille1,80 m de largeur et longueur, l'épaisseur de10 mm.

Un canal de secours équipé d'une grille statique disposé en parallèle permet de by-passer complètement l'ensemble des prétraitements, en cas de mis hors service des dégrilleurs automatiques.

Les refus de l'ensemble des dégrilleurs sont acheminés au moyen d'une vis de convoyage vers une benne à déchets.

Fig. 55. ouvrage de dégrillage

I. 3. 1. 2. Dessablage

Le dessablage est réalisé par l'intermédiaire de trois canaux en parallèle de 2 m de large et de 23 m de long et la profondeur est de 3,92 m. Chaque ouvrage est équipé d'un pont racleur permettant de ramener les sables décantés dans une fosse placée à l'extrémité de chaque chenal. Une pompe permet l'extraction des sables vers in classificateur à sable.

Fig. 56. Ouvrage de dessablage

I. 3. 1. 3. Ouvrage de répartition

L'ouvrage de répartition est disposé en tête de station en aval des ouvrages de prétraitement, il permet de répartir les eaux usées vers les lagunes du premier étage. Cette répartition est assurée par 06 seuils déversant identiques de 1. 5 m de largeur.

Fig. 57. Répartiteur

I. 4. Traitement secondaire

A la suite de prétraitement, les eaux à traiter subissent un traitement par le système de lagunage aéré.

Cette étape est constituée de deux étages d'aération et d'un étage de finition.

La STEP de Ouargla est composée de 08 bassins en cascade à trois niveaux où :

I. 4. 1. Le 1er niveau

Les effluents sont répartis entre les 04 lagunes grâce à un répartiteur. Dans l'étage d'aération, l'oxygénation est assurée par des aérateurs de surface (chaque lagune comporte 12 aérateurs). Cette aération mécanique favorise le développement des bactéries qui dégradent la matière organique et assimilent les nutriments. La surface totale de ces lagunes est de 15 hectares (la surface de chaque bassin est de 2. 4 hect), et le volume total est de 511200 m^3 (le volume de chaque bassin est de 85200 m^3) et une profondeur de 3. 5 m. Le temps de séjour est 07 jours.

La canalisation gravitaire de liaison (fabriquée en béton) entre répartition et les lagunes de 1er étage, ainsi que la liaison entre deux lagunes d'étages différents est revêtus d'un géomembrane du même type PHD (Polyéthylène haute densité) afin de faciliter la soudure et d'éviter les infiltrations et donc les affaissements. Cette géomembrane est constituée par un liant bitumineux qui vient imprégner à cœur et surface un géotextile non tissé polyester. Le géotextile confère à la géomembrane ses propriétés mécaniques et le liant l'étanchéité.

Actuellement, il n'y a que deux lagunes qui fonctionnent au niveau de cet étage.

I. 4. 2. Le 2ème niveau

Au deuxième étage, le nombre d'aérateurs (07 aérateurs de chaque lagune) et de bassins est inférieur au premier (02 bassins). Les eaux en cours de traitement transitent de façon gravitaire des lagunes aérées de 1er étage vers les lagunes aérées de 2ème étage (lagunes de décantation). La surface totale de ces lagunes est de 12. 2 Hectares (la surface de chaque bassin est de 4. 1 hect), et le volume total est de 340800 m^3 (le volume de chaque bassin est de 113600 m^3) et une profondeur de 2. 8 m. le temps de séjours est 05 jours. Actuellement il y a qu'une seule lagune qui fonctionne au niveau de cet étage.

I. 4. 3. Le 3ème niveau

Les eaux sortant des lagunes aérées du 2ème étage sont dirigées vers deux lagunes de finitions. C'est le lieu de séparation physique d'eau épurée et de la boue biologique, cette dernière est formée après une lente agglomération des matières en suspension (amas de micro-organismes et de particules piégées). La surface totale est 14. 8 hectares (la

surface de chaque bassin est 4. 9 hect), le volume totale est de 222081 m^3 (le volume de chaque bassin est de 74027 m^3), et une profondeur de 1. 5 m. Le temps de séjours est 2-4 jours.

Actuellement, il y a qu'une seule lagune qui fonctionne au niveau de cet étage.

Fig. 58. Canal venturi

I. 5. Traitement des boues

Le système consiste à sécher les boues décantées au fond des lagunes à l'air libre sur des lits de séchage. Ces lits sont des bassins recouverts de couches successives disposées comme suit :

- Un géomembrane.
- Un géotextile.
- Une couche de gros gravier.
- Une couche de gravier fin.
- Une couche de sable.

Le transport des boues du fond des lagunes vers les lits de séchage est réalisé par des conduites flexibles.

La siccité de ces boues augmente au fur et à mesure grâce à l'évaporation naturelle couplée à un système de drainage. Ce dernier favorise l'évacuation de la plus grande

partie de l'eau par simple ressuyage. Cette eau sera évacuée en tête de station d'épuration par l'intermédiaire d'un poste de refoulement.

A l'issue de ce séchage, les boues sont évacuées leur destination finale, mais en décharge ou épandage sur des cultures pour lesquelles elles constituent un amendement organique intéressant.

Fig. 59. lits de séchage

II. La STEP de Sidi Khuiled

II. Présentation de la STEP de Sidi Khuiled

La station d'épuration de Sidi Khouiled, mise en service en 01/12/2008, a été réalisée par la société allemande Dywidag pour le compte de l'ONA, l'épuration des effluents générés par la commune de Sidi Khouiled consiste à traiter l'ensemble des eaux usées à partir d'une station d'épuration de type lagunage aéré. Le site retenu pour la mise en place de la station d'épuration est situé à proximité du point de rejet ancien du réseau d'eaux usées de l'autre côté de la route de Sidi Khouiled vers Hassi Ben Abdelah.

La station d'épuration est dimensionnée pour assurer le traitement des effluents jusqu'à l'horizon 2030. La configuration retenue consiste à réaliser trois étages en série :

-2 lagunes aérées (1 ère étage).

-2 lagunes aérées (2éme étage).

-1 lagune de finition (3éme étage).

Fig. 60. schéma présentatif de la STEP

II. 1. Le réseau d'assainissement de la ville de Sidi Khuiled

Les caractéristiques des rejets sont typiquement celles d'un rejet domestique ; la part des rejets industriels reste limitée même à l'horizon du projet, le taux de raccordement au réseau d'assainissement collectif est actuellement de l'ordre de 90%.

Les eaux usées collectées par le réseau sont acheminées sans traitement vers une zone dépressionnaire.

Ce point de rejet constitue une mare colonisée par des roseaux où l'autoépuration est réduite car le niveau de la nappe phréatique est proche de la surface . Les effluents transitant dans le réseau d'assainissement présentent les caractéristiques d'un effluent biodégradable.

II. 2. LES CACRACTERISTIQUE TECHNIQUE de la STEP

II. 2. 1. Les prétraitements

A partir du poste de relevage, les eaux brutes débouchent dans un canal regroupant le dégrillage et le dessablage.

-1 dégrilleur de type automatique (espaces inter barreaux de 25 mm) associé à une grille manuelle (espaces inter barreaux de 40 mm) de sécurité en cas de by-pass.

-2 ouvrages de dessablage statique de type chenal

II. 2. 1. 1. Dégrillage

Le dégrillage permet de protéger les équipements électromécaniques, et de ne pas gêner le fonctionnement des étapes suivantes du traitement, le système comprend un ensemble de 2 dégrilleurs automatiques disposés en parallèle. Ces ouvrages sont encastrés dans des

chenaux en béton. Un canal de secours équipé d'une grille statique disposée en parallèle permettra de by passer complètement l'ensemble des prétraitements, en cas de problème sur les dégrilleurs automatiques. Les refus de l'ensemble des dégrilleurs sont acheminés au moyen d'une vis de convoyage vers une benne à déchets. Cette vis assure également un compactage des refus et permet ainsi de réduire le volume des déchets.

Fig. 61. Dégrilleurs

Tab. 11. Caractéristiques des dégrilleurs

Critère de dimensionnement	unité	Valeur
Vitesse maximum de passage	m/s	0. 6
Coefficient de colmatage	/	0. 5
Espace libre entre les barreaux	mm	25
Epaisseur des barreaux	mm	10
Coefficient d'ouverture	/	0. 7
Angle d'inclinaison	°	90
Largeur d'une grille	m	0. 5
Nombre de dégrilleur	/	1
Surface utile de grilles	m^2	0. 2
Tirant d'eau	m	0. 4
Longueur mouillée d'une grille	m^2	0. 4

II. 2. 1. 2. Dessablage

Le dessablage permet la décantation des résidus les plus denses (sable). L'élimination du sable évite l'ensablement des bassins. Le dessablage sera réalisé à partir de 3 chenaux rectangulaires disposés en parallèle et dans lesquels se produit une décantation des sables. Les sables décantent et sont concentrés en fond d'ouvrage au niveau d'une fosse à sable. Une pompe assure l'extraction des sables vers un classificateur qui permet l'égouttage des sables avant stockage dans une benne.

La vitesse d'entraînement des particules permet de définir la section transversale utile des dessableurs. La vitesse de sédimentation permet de calculer la section horizontale humide.

Fig. 62. Dessablage

Tab. 12. Caractéristiques des déssableurs

Critère de dimensionnement	unité	Valeur
Vitesse d'entrainement des particules	m/s	0. 3
Vitesse de passage	m/h	60
Type de déssableur	Canal statique	
Nombre des canaux	u	1
Section transversal humide d'un canal	m^2	0. 1
Tirant d'eau	m	0. 3
Largeur d'un canal	m	0. 5
Section horizontal d'un canal	m^2	2. 3
Surface utile de grilles		
Tirant d'eau	m	0. 4
Longueur d'un canal	m	4. 6

II. 2. 2. Traitement secondaire

A la suite de ces prétraitements, les effluents sont répartis entre les deux lagunes du premier étage grâce à un répartiteur. Les eaux en cours de traitement transitent de façon gravitaire des lagunes aérées N°1 vers les lagunes aérées N°2, puis vers la lagune de finition. Il est prévu, à la sortie de chaque lagune, un ouvrage muni d'une crête déversant permettant de contrôler le niveau d'eau dans la lagune.

Les eaux épurées seront reprises par un collecteur de restitution auquel sera raccordé l'ouvrage de sortie.

En entrée et sortie, un canal venturi associé à une sonde ultrason de mesure de la hauteur d'eau en amont permettra de mesurer de manière continue les débits.

Les lagunes d'aération sont pourvues d'un système d'aération artificielle qui assure l'oxygénation des eaux usées ; il s'agit d'aérateurs flottants.

Tab. 13. Caractéristiques des lagunes de la STEP

Caractéristiques et dimensionnements	unité	valeur
Volume total	m^3	11000
Lagune aéré N°1		
Volume par bassins	m^3	3300
Hauteur d'eau	m	2,8
Nombre d'aérateur par bassin	/	2
Puissance unitaire d'un aérateur	kw	5,5
Lagune aéré N°2		
Volume par bassins	m^3	2200
Hauteur d'eau	m	2,5
Nombre d'aérateur par bassin	/	1
Puissance unitaire d'un aérateur	kw	5,5
Lagune de finition		
Volume total	m^3	3282
Surface total	m^2	2188
Nombre de bassins	/	1

Les figures ci-dessous représentent la station d'épuration de Sidi Khouiled.

Fig. 63. La STEP de Sidi Khouiled

Annexe II

Tab. 14. Les tests biochimiques dans les galeries API par ordre

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NIT	potassium nitrate	0. 136	réduction des NITrates	Incolore / rose très pâle	Rose intense / rouge
PY2	pyrazinecarboxamide	0. 56	PYrazinamidase	incolore /brun très pâle /orange très pâle	brun orange
PYRA	acide pyroglutamique-β-naphtylamide	0. 0256	PYRrolidonylArytamidase	incolore / orange pâle	orange
PAL	2-naphtyt-phosphate	0. 0244	Phosphatase ALcaline	incolore beige - pourpre pâle orange pâle	pourpre
βGUR	acide naphtol-ASBI-glucuronique	0. 0548	β-Glucuronidase	Incolore/ gris pâle beige pâle	bleu
βGAL	2-naphtyl-βD-galactopyranoside	0. 0312	β-GALactosidase	incolore beige - pourpre pâle	pourpre
αGLU	2-naphtyl-αD-glucopyranoside	0. 0308	α-GLUcosidase	incolore beige - pourpre pâle vert pâle	pourpre
βNAG	1-naphtyl-N-acétyl-βD-glucosaminide	0. 0348	N-Acétyl-β-Glucosaminidase	incolore beige - pourpre pâle brun pâle gris pâle	brun
ESC	esculine / citrate de fer	0. 546 0. 078	β-glucosidase (ESCuline)	incolore gris	noir
URE	Urée	0. 76	UREase	jaune	rouge
GEL	gélatine (origine bovine)	0. 6	Hydrolyse (GELatine)	pas de diffusion de pigment noir	diffusion de pigment noir
0 GLU RIB XYL MAN MAL LAC SAC GLYG	Témoin négatif D-glucose D-ribose D-xylose D-manrutol D-maltose D-lactose (origine bovine) D-saccharose Glycogène	1. 56 1. 4 1. 4 1. 36 1. 4 1. 4 1. 32 1. 28	Fermentation Fermentation (GLUcose) Fermentation (RIBose) Fermentation (XYLose) Fermentation (MANnitol) Fermentation (MALtose) Fermentation (LACtose) Fermentation (SACcharose) Fermentation (GLYcoGène)	rouge orange	jaune jaune - orangé
CAT	(test ESC ou GEL)	-	CATalase	absence de bulles	présence de bulles