

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
المدرسة العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل
Ecole nationale supérieur des sciences de la mer et de l'aménagement du littoral



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur et diplôme Start-up

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Hydrobiologie Marine et Continental

Spécialité : Biotechnologie Marine

Isolement, purification et criblage des microalgues pour le traitement des eaux usées aquacoles

Présenté par :

MEBERBECHE Ratiba

HAMADOUCHE Chahira

Soutenu le 25/09/2023 devant le jury :

Encadré par :

ZENATI. B

Promoteur

CNRDPA

AIT SAADI. A

Co-promoteur

ENSSMAL

KHELIFA. N

Présidente

ENSSMAL

CHAOU. N

Examinatrice

ENSSMAL

MAOUEL.D

Examinatrice

ENSSMAL

Année universitaire : 2022- 2023

لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
المدرسة العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل
Ecole nationale supérieur des sciences de la mer et de l'aménagement du littorale



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur et diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Hydrobiologie Marine et Continental

Spécialité : Biotechnologie Marine

Isolement, purification et criblage des microalgues pour le traitement des eaux usées aquacoles

Présenté par :

MEBERBECHE Ratiba

HAMADOUCHE Chahira

Soutenu le 25/09/2023 devant le jury :

Encadré par :

ZENATI. B

Promoteur

CNRDPA

AIT SAADI. A

Co-promoteur

ENSSMAL

KHELIFA. N

Présidente

ENSSMAL

CHAOU. N

Examinatrice

ENSSMAL

MAOUEL.D

Examinatrice

ENSSMAL

Année universitaire : 2022- 2023

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier Allah, le Tout Puissant et le Miséricordieux, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation.

Ce mémoire n'aurait jamais été entrepris ni achevé sans l'assistance, les conseils et les orientations, que nous a prodigués notre promoteur Mr ZENATI B. et notre Co-promoteur Mr AIT SAAIDI. Nous leurs témoignons ici, notre gratitude et notre reconnaissance.

Nos vifs remerciements vont aux membres du jury pour avoir accepté de présider et d'examiner notre travail. Par leurs conseils et remarques, ils vont certainement contribuer à améliorer la qualité de ce travail.

Nous remercions fortement le centre national de recherche et de développement de la pêche et de l'aquaculture (CNRDPA) qui nous a accueilli chaleureusement et nous a offert tous les moyens pour réaliser ce projet. Merci à tout le personnel au près duquel nous avons trouvé l'aide et l'assistance dont on avait besoin. Nos remerciements s'adressent particulièrement à M. GENACHI B. et Mme Ghribi S. ainsi qu'à toute l'équipe qualité qui ont partagé généreusement toute leur expérience avec nous et qui nous ont transmis la passion du métier.

Nos profonds remerciements vont aussi à M. BOUDJELAL et Mme IDALIA et M. OROUA et à tous les ingénieurs de laboratoire pour leur disponibilité, leur aide technique et leur patience.

Un grand merci à M. Sikadour R., chef de service maintenance à la STEP de Chenoua de nous avoir facilité l'accès pour prélever les échantillons d'eaux usées.

Nous saisissons cette occasion pour exprimer notre profonde gratitude à l'ensemble des enseignants de L'ENSSMAL, à tous ceux qui nous ont aidé à

*accomplir ce travail qu'ils trouvent ici l'expression de notre profonde
gratitude.*

Dédicace

Je tiens à dédier ce modeste travail à :

Mon chère père MOULAY et Ma chère mère FATIHA et, depuis le premier

Instant où vous m'avez pris par la main et m'avez soutenu et

Encouragé, vous ne m'avez jamais laissé seul. Vos paroles

Encourageantes et votre présence rassurante m'ont donné la confiance

Et la détermination pour persévérer dans la poursuite du succès. Je

Vous suis reconnaissant pour votre amour qui est inconditionnel et infini.

*Mes frères, FAUZI et ABD EL RAHMEN, ma sœur NESRINE, votre
présence Dans ma vie a été un cadeau précieux, et je suis honorée de vous
avoir Comme membres de ma famille.*

MALAK, à tous les moments où j'ai douté de moi-même, où j'ai

Ressenti des difficultés, vous avez été là pour me rappeler ma valeur,

Mes talents et ma capacité à réussir.

Mon promoteur pour sa patience, sa sincérité, je vous remercie d'avoir

Nous encadrer. Mes enseignants tout au long de mon parcours scolaire.

Toute la promotion biotechnologie marine de l'ENSSMAL.

Que cette dédicace soit le témoignage de mon amour éternel pour vous tous.

Vous êtes mes piliers, mes héros et mes plus grands soutiens.

Puissiez-vous recevoir en retour toute la joie et le bonheur que vous

M'avez apporté.

MEBERBECHÉ RATIBA

Dédicace

*À mes chers parents, mon très cher papa EL-HADJ et ma très chère
Maman KHIRA.*

*À tous mes frères MOUHAMMED, AHMED, RACHIDE, FARID,
MOULOUD, SOULIAMAN, KARIM, mes sœurs HOURIA ET SAMIA
Pour l'éducation qu'ils m'ont prodiguée avec tous les moyens et au prix de
Tous les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard, pour leur patience,
Leur amour et leurs encouragements pour que je puisse atteindre mes
Objectifs.*

*À Mon neveu et ami MOUSSA, je lui souhaite une vie pleine de réussite.
Que dieu, le tout puissant, les préserve et les accorde l'amour, le bonheur,
la santé et une longue vie. Que ce travail leur apporte la joie et la fierté.
À ma jolie PISSA, qui m'a accompagnée tout au long de cette période et l'une
des meilleures personnes que je connais dans ma vie universitaire
À ma chère binôme et amie RATIBA, pour sa présence, sa patience et ses
Sacrifices tout au long de notre connaissance.*

À tout échec dans ma vie, merci.

À toute la famille.

À tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

CHAHIRA

TABLES DES MATIERS

Remerciements

Dédicaces

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction1

Chapitre I : Généralités

I.1. Microalgues : taxonomie, besoin nutritionnel et propriétés.....	4
I.1.1. Généralités sur les microalgues	4
I.1.2. Propriétés des microalgues.....	4
I.1.3. Classification des microalgues :	5
I.1.3.1. Les procaryotes :	5
I.1.3.2. Les Eucaryotes:.....	6
I.1.4. Modes de culture des microalgues :.....	9
I.1.4.1. Culture photoautotrophe des microalgues :	9
I.1.4.2. Culture hétérotrophe des microalgues :	10
I.1.4.3. Culture mixotrophe des microalgues :.....	10
I.1.4.4. Culture photohétérotrophe de microalgues :.....	11
I.1.5. Milieux de culture et nutriments essentiels à la croissance des microalgues :.....	12
I.1.5.1. Les milieux de culture formulés :.....	12
I.1.5.2. Les milieux de culture modifiés :.....	12
I.1.6. Facteurs influençant la croissance des microalgues	13
I.1.6.1. La lumière :.....	13
I.1.6.2. La température :	14
I.1.6.3. Le pH :.....	15
I.1.6.4. L'agitation :.....	15
I.1.6.5. La salinité :.....	15
I.1.6.6. Les nutriments :.....	16
I.1.6.7. Les macronutriments	16
I.1.6.7.1. Les micronutriments :.....	18
I.2. Traitement des eaux usées par microalgues dans le concept de l'économie circulaire .	18
I.2.1. Concept de l'économie circulaire	18
I.2.2. Traitement des eaux usées par microalgues	19
I.2.3. Séquestration du CO ₂ en utilisant les microalgues :.....	20
I.2.4. Elimination des nutriments par microalgae.....	21

I.2.5. Enjeux liés au développement des systèmes de microalgues pour le traitement des eaux usées.....	22
I.3. L'aquaculture assistée par microalgues :	23
I.3.1. Méthodes de traitement des usées aquacoles :	23
I.3.1.1. Modèle d'aquaculture en recirculation :	24
I.3.1.2. Méthode biologique :	25
I.3.1.3. Méthode physicochimique :	25
I.3.2. Traitement des rejets aquacoles par microalgues	25
I.3.2.1. Principes de l'aquaculture assistée par microalgues	25
I.3.2.2. Avantage :	26

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Isolement des souches de microalgues	29
II.1.1. Prélèvement d'échantillons	29
II.1.2. Caractérisation des échantillons prélevés.....	31
II.1.2.1. Demande chimique en oxygène	31
II.1.2.2. Matières en suspension.....	32
II.1.2.3. Dosage des sels nutritifs	34
II.1.2.3.1. Dosage de l'ammonium.....	35
II.1.2.3.2. Dosage Des nitrites et des nitrates	35
II.1.2.3.3. Dosage des ortophosphate	36
II.1.2.3.4. Dosage du silicate	36
II.1.2.3.5. Dosage d'azote totale/phosphore totale.....	37
II.1.3. Protocole d'isolement des microalgues.....	37
II.1.3.1. Milieux de culture	37
II.1.3.2. Méthodes d'isolement des microalgues.....	39
II.1.4. Purification des isolats de microalgues.....	41
II.2. Traitement des eaux aquacoles par les microalgues purifiées	41
II.2.1. Nature de l'effluent à traiter	41
II.2.2. Préculture et sélection des souches performantes.....	42
II.2.3. Identification des isolats performants	42
II.2.4. Traitement d'effluent	43
II.2.5. Suivi de l'efficacité de traitement.....	44

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Isolement des d'espèces de microalgues à partir des eaux usées.....	47
III.1.1. Caractérisation des échantillons	47
III.1.2. Isolement de microalgues épuratrices d'eaux usées	51
III.2. Traitement d'une eau usée aquacole par les isolats de microalgues obtenus	52
III.2.1. Caractérisation de l'effluent	52
III.2.2. Croissance des isolats de microalgues	53
III.2.2.1. Identification des isolats sélectionnés	53

III.2.2.2. Cinétique de croissance des isolats de microalgues dans l'effluent du Tilapia ..	55
III.2.3. Elimination de la pollution organique et des nutriments par les isolats sélectionnés	58
III.2.3.1. Elimination de la pollution organique	58
III.2.3.2. Elimination des nutriments	59
III.2.3.2.1. Elimination de l'azote total.....	59
III.2.3.2.2. Elimination du phosphore total.....	61
III.2.3.2.3. Elimination des nitrites.....	62
III.2.3.2.4. Elimination des nitrates	63
III.2.3.2.5. Elimination de l'ammonium	64
III.2.3.2.6. Elimination des orthophosphates	65
III.2.3.2.7. Elimination des silicates	66
III.3. Efficacité de traitement de l'effluent du Tilapia par les isolats de microalgues sélectionnés	67
Conclusion	73
Références bibliographiques	
Annexes	

LISTE DES FIGURES :

Figure 1 : Diversité morphologique des quelques microalgues	5
Figure 2 : Forme de quelques espèces de microalgues procaryotes de la famille des Cyanophytes. 1- Chroococcus turgidus, 2- Stigonema mamillosum 3- Oscillatoria margaritifera, 4- Anabaena spiroides, 5- Merismopedia elegans (Abadli, 2014).	6
Figure 3: Schéma d'une structure de microalgue eucaryote unicellulaire (Chlorelle) (Dejoye, 2013).	7
Figure 4: Formes microscopiques de quelques espèces de microalgues eucaryotes	9
Figure 5: Besoins en lumière, en carbone inorganique et en carbone organique pour la culture photoautotrophique, hétérotrophique, mixotrophique et photohétérotrophique de microalgues (Daneshvar et al, 2021).	12
Figure 6: Influence de la lumière sur l'activité photosynthétique des microalgues (Masojidek et al, 2004).	13
Figure 7: Formes du carbone dissous dans l'eau selon le pH du milieu	17
Figure 8: Classification des technologies de traitement des eaux aquacole (Ahmad et al, 2022).	24
Figure 9: Comparaison entre l'aquaculture conventionnelle et l'aquaculture assistée par les microalgues (Tom et al, 2021).	26
Figure 10: Prélèvement d'eaux usées à partir du bassin d'aération de la STEP de Chenoua.....	29
Figure 11: Prélèvement d'eaux usées à partir du décanteur secondaire de la STEP de Chenoua.....	30
Figure 12 : Prélèvement d'eaux usées à partir du bassin de collecte des eaux usées aquacoles de la ferme marine du CNRDPA.....	30
Figure 13: Schéma de l'isolement des microalgues sur milieu solide.	40
Figure 14: Etapes de préparation pour l'analyse par microscope inversé en chambre de sédimentation	43
Figure 15: Aspects macroscopique et microscopique de quelques isolats obtenus à partir des trois sites d'échantillonnage. (Les trois dernières photos ont été prises avec un grossissement de 100 fois sous microscope photonique.)	52
Figure 16: Visualisation microscopique des isolats de microalgues. a) Isolat 1 G×100, a') Isolat 1 G×40 ; b) Isolat 2 G×100, b') Isolat 1 G×40 ; c) Isolat 4 G×100, c') Isolat 4 G×40 ; d) Isolat 5 G×100, d') Isolat 5 G×20 ; e) Isolat 10 G×100, e') Isolat 1 G×100. ...	54
Figure 17: Croissance des isolats de microalgues dans l'effluent issu du bassin d'élevage du Tilapia	55
Figure 18: Evolution temporelle de la DCO de l'effluent du Tilapia traité par les isolats de microalgues.	58
Figure 19: Evolution temporelle de l'azote total de l'effluent du Tilapia traité par les isolats de microalgues.	60
Figure 20: Evolution temporelle du phosphore total de l'effluent du Tilapia traité par les isolats de microalgues.	61
Figure 21: Evolution temporelle des nitrites de l'effluent du Tilapia selon les différents traitements par microalgues	62
Figure 22: Evolution temporelle des nitrates de l'effluent du Tilapia selon les différents traitements par microalgues	63
Figure 23: Evolution temporelle de l'ammonium de l'effluent du Tilapia selon les différents traitements par microalgues	64

Figure 24: Evolution temporelle des orthophosphates de l'effluent du Tilapia selon les différents traitements par microalgues	65
Figure 25: Evolution temporelle des silicates de l'effluent du Tilapia selon les différents traitements par microalgues	66

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 1 : Gamme de température supportée par cinq groupes taxonomiques de microorganismes photosynthétique (Ras et al., 2013).	14
Tableau 2: Composition du milieu BG11 et de la Concentration de la solution mère	38
Tableau 3: Solution Trace métallique du milieu BG11	38
Tableau 4: Caractérisation physico-chimique des eaux usées de la STEP de Chenoua avant et après traitement	47
Tableau 5: Caractérisation physico-chimiques d'échantillons d'eaux usées prélevées de la STEP de Chenoua.	49
Tableau 6: Caractérisation physico-chimiques d'échantillons d'eaux usées prélevées du bassin de la ferme marine du CNRDPA	49
Tableau 7: Caractérisation de l'eau d'élevage du Tilapia avant (AV) et après (AP) autoclavage.....	52
Tableau 8: Performance de croissance des isolats de microalgues développés sur l'effluent du Tilapia.	56
Tableau 9: Rendement d'abattement des paramètres de pollution caractérisant l'effluent du Tilapia par les microalgues sélectionnés	68

Résumé :

L'objectif principal de la présente étude est d'isoler des microalgues pouvant avoir une efficacité épuratoire vis-à-vis des effluents aquacoles. A cet effet, deux échantillons d'eaux usées et un troisième, ont été prélevés respectivement à partir d'une station d'épuration et d'un bassin de collecte des rejets aquacoles marins. La méthode d'isolement consiste en l'ensemencement des échantillons sur milieu solide (BG11) tout en fournissant les conditions optimales pour la croissance des microalgues (température, lumière). Les souches des microalgues ainsi isolées, ont été soumises à des purifications successives afin d'obtenir des souches axéniques. Une fois purifiées, ces souches ont été identifiées sommairement par microscopie. Cinq souches de microalgues de la sélection ont été testées par la suite, dans le traitement d'une eau usée issue de l'élevage du *Tilapia*. Les résultats obtenus ont montré une croissance bonne à modérée des microalgues sélectionnées sur cet effluent (DO à 600 nm entre 1,37 à 0,67) et une efficacité remarquable dans la réduction de la pollution organique (exprimée par la demande chimique en oxygène DCO) jusqu'à 100% après 27 jours de traitement. De plus, pour les nitrites, nitrates, ammonium, orthophosphates, silicates, azote total (NT) et phosphore total (PT), des taux d'élimination élevés ont été enregistrés, variant de 75,86% à 98,39% en fonction de l'élément nutritif et de la durée du traitement (11 ou 19 jours). Ces résultats mis en évidence de la capacité épuratoire importante des microalgues qui peuvent constituer une solution adéquate aux problèmes de gestion et de traitement des eaux dans les installations aquacoles.

Mots clés : Isolement, microalgues, eaux usées aquacoles, paramètres de pollution, traitement.

Abstract: This study attempted to isolate efficiency microalgae strains for aquaculture wastewater treatment. For this purpose, two wastewater samples and another were collected from a wastewater treatment plant and a marine aquaculture effluent basin, respectively. The isolation method is based on inoculating the samples on a solid medium (BG11) while providing optimal conditions for microalgae growth (temperature, light). The isolated microalgae strains were purified successively to obtain axenic strains. The purified strains were then preliminarily identified by microscopy. Five selected microalgae strains were subsequently used to treat wastewater from *Tilapia* cultivation tank. The results showed good to moderate growth of microalgae strains on this effluent (OD at 600 nm ranging from 1.37 to 0.67) and high efficiency in reducing organic pollution (expressed as chemical oxygen demand, COD), reaching 100% after 27 days of treatment. In addition, high removal rates were recorded for nitrites, nitrates,

ammonium, orthophosphates, silicates, total nitrogen (TN), and total phosphorus (TP), which ranged from 75.86% to 98.39% depending on the nutrient and treatment duration (11 or 19 days). Overall, this study highlighted the significant purification capacity of microalgae, making them a suitable solution to water management and treatment problems in aquaculture facilities.

Keywords : Isolation, microalgae, aquaculture wastewater, pollution parameters, treatment.

ملخص:

الهدف الرئيس من هذه الدراسة هو عزل طحالب دقيقة لها القدرة على معالجة مياه الصرف لشعبة تربية الأحياء المائية. لتحقيق ذلك، تم جمع عينتين من مياه الصرف الصحي وعينة أخرى على التوالي من محطة لمعالجة مياه الصرف الصحي وحوض لجمع النفايات السائلة من شعبة لتربية الأحياء المائية البحرية. تتضمن طريقة العزل زرع العينات على وسط صلب (BG11) مع توفير الظروف المثلى لنمو الطحالب الدقيقة (درجة الحرارة والضوء). قمنا بعد ذلك بعمليات تنقية متتالية لسلاسل الطحالب الدقيقة المعزولة وذلك من أجل الحصول على سلالات محبوسة. تم تحديد أصناف هذه السلالات مبدئيًا من خلال الفحص المجهرى. اختبرنا لاحقًا خمس سلالات من الطحالب الدقيقة في معالجة مياه الصرف الصحي من بركة لاستزراع سمك البلطي. أظهرت النتائج نموًا جيدًا إلى معتدل للطحالب الدقيقة المختارة على هذا النفايات السائلة (OD عند 600 نانومتر تتراوح من 1.37 إلى 0.67) وكفاءة عالية في تقليل التلوث العضوي (معيّرًا عنه بالطلب الكيميائي على الأكسجين، COD) لامست 100% بعد 27 يومًا من المعالجة. إضافة إلى ذلك، تم تسجيل معدلات إزالة عالية للنترت، النترات، الأمونيوم، الأرتوفوسفات، السيليكات، إجمالي النيتروجين (TN) وإجمالي الفوسفور (TP)، والتي تراوحت من 75.86% إلى 98.39% اعتمادًا على نوع المغذي ومدة المعالجة (11 أو 19 يومًا). إجمالاً، سلطت هذه الدراسة الضوء على القدرة الكبيرة للطحالب الدقيقة في تنقية المياه المستعملة، مما يؤهلها أن تكون حلاً مناسباً لمواجهة تحديات إدارة المياه ومشاكل معالجتها في مرافق تربية الأحياء المائية.

كلمات مفتاحية: عزل، طحالب دقيقة، مياه الصرف الصحي، تربية الأحياء المائية، معلمات التلوث، معالجة.

INTRODUCTION

Introduction

L'eau, ressource essentielle à la vie sur notre planète, est confrontée à des enjeux majeurs concernant sa disponibilité et sa qualité. Alors que la population mondiale continue de croître, l'accès à une eau de qualité devient un impératif pour préserver notre environnement et garantir un développement durable. Parmi les nombreuses pressions pesant sur les ressources en eau, l'aquaculture, secteur en plein essor, qui joue un rôle vital dans l'approvisionnement alimentaire mondial (FAO, 2016). Cependant, le secteur est confronté à des défis considérables ; notamment, la disponibilité et l'accessibilité limitées à une eau de qualité ; des facteurs susceptibles de compromettre sa production aquacole future (Tom *et al*, 2021). De plus, l'expansion de la pisciculture suscite des préoccupations environnementales croissantes dans le monde entier ; entre autres, les excréments et les aliments non utilisés sont devenus des polluants majeurs qui libèrent des niveaux élevés de N et de P dans les eaux usées rejetées en milieux aquatiques. Les fortes charges d'azote et de phosphore entraînent une augmentation des concentrations de ces éléments et de la demande chimique en oxygène (DCO) dans les milieux aquatiques adjacents aux installations aquacoles, y compris les lacs, les réservoirs et les rivières, et provoquent l'eutrophisation, qui constitue une grave menace pour l'environnement et l'économie (Nie *et al*, 2020).

Face à ces défis cruciaux, l'élaboration de technologies durables pour le traitement des eaux usées de l'aquaculture s'avère impérative. L'application biotechnologique de cultures de microalgues émerge comme une solution prometteuse, ouvrant des perspectives passionnantes dans divers secteurs. En particulier, elle offre un potentiel considérable dans le domaine du traitement des eaux (Nitsos *et al*, 2020). À la différence des processus de nitrification et de dénitrification basés sur les bactéries (qui convertissent les nutriments en N_xO ou en N_2), les microalgues absorbent les nutriments et les convertissent en biomasse qui peut être bien exploitée, en agriculture comme engrais ou en nutrition aquacole comme substitut de farine de poisson (Nie *et al*, 2020). Cette approche innovante s'inscrit dans le concept de l'économie circulaire, où les déchets deviennent des ressources précieuses, contribuant ainsi à la préservation des écosystèmes aquatiques tout en répondant aux besoins de l'aquaculture (Reno *et al*, 2020).

Dans ce contexte, notre projet de fin d'étude se positionne comme une réponse aux défis environnementaux et économique qui émergent du développement de l'aquaculture en Algérie, notamment l'aquaculture d'eau douce, fonctionnant en circuit fermé. Notre première étape

consiste à identifier des souches de microalgues adaptées à l'environnement spécifique des effluents d'une station d'épuration. Nous mettons l'accent sur leur capacité à assimiler les nutriments présents, contribuant ainsi à la régénération des ressources aquatiques. L'isolement de ces souches potentiellement prometteuses représente une étape cruciale dans le développement de solutions durables pour le traitement des eaux usées aquacoles.

Par la suite, nous nous attacherons à purifier ces souches, éliminant ainsi les souches non axéniques qui vivent en symbiose. Cette purification permettra la préparation de cultures de microalgues pures et de haute qualité, prêtes à être utilisées dans le traitement des eaux. Notre étude inclura également une évaluation de l'efficacité de ces microalgues purifiées dans le traitement des effluents d'aquaculture (un effluent issu d'un bassin d'élevage de tilapia). Cette évaluation nous permettra de mesurer leur contribution à la réduction des niveaux d'azote, de phosphore et de matières organiques dans cet environnement spécifique. En comprenant les mécanismes d'adaptation des microalgues aux environnements pollués et en évaluant leur efficacité dans le traitement des effluents aquacoles, notre recherche contribuera de manière significative à la quête de solutions durables pour la préservation des ressources aquatiques et la gestion efficace des eaux usées.

CHAPITRE I. GÉNÉRALITÉ

I.1. Microalgues : taxonomie, besoin nutritionnel et propriétés

I.1.1. Généralités sur les microalgues

Les microalgues, également appelées microphytes, sont de petites algues invisibles à l'œil nu qui peuvent mesurer de quelques micromètres à plusieurs centaines de micromètres, selon les espèces (Boileau, 2015). Elles sont des microorganismes unicellulaires photosynthétiques, qu'ils soient eucaryotes ou procaryotes, et appartiennent au groupe des thallophytes, ne possédant ni racines ni feuilles. Ces microalgues sont capables de convertir l'énergie lumineuse et le dioxyde de carbone (CO₂) en composés organiques grâce à la photosynthèse (Khatab et Toumi, 2019).

Ces microorganismes photosynthétiques jouent un rôle crucial en tant que premiers producteurs d'oxygène, essentiel à la respiration de la plupart des êtres vivants. Ils ont joué également un rôle majeur dans la transformation de la composition atmosphérique en fixant le CO₂ et en rejetant de l'oxygène (Sumi, 2009). Leur présence a rendu possible le développement de la vie végétale et animale sur notre planète. Les microalgues sont souvent regroupées sous le terme de "phytoplancton" (Sumi, 2009).

En plus de leur rôle écologique important, les microalgues constituent une source alimentaire pour les premiers stades larvaires de nombreux organismes, notamment marins (Coutteau et al, 1997). De plus, leur composition biochimique en fait une source d'intérêt pour les êtres humains (Yúfera et Lubián, 1990 ; Brown et al, 1997).

I.1.2. Propriétés des microalgues

Les microalgues sont capables de synthétiser de l'oxygène et des métabolites organiques primaires tels que les glucides, les lipides et les protéines par le biais de la photosynthèse (Filali, 2012). Au niveau de leur structure cellulaire, les microalgues possèdent un noyau et une membrane plasmique qui contiennent des organites essentiels à leur fonctionnement, tels que les chloroplastes, les amyloplastes, les oléoplastes et les mitochondries (Sadi, 2012). Les microalgues présentent une grande diversité morphologique : elles peuvent être sphériques, en forme de croissant, de spirale, en forme de gouttelette et même en forme d'étoile (Figure 1) (Falkowski et Raven, 2007).

Sur le plan nutritionnel, les microalgues sont principalement "photoautotrophes", ce qui signifie qu'elles utilisent une source de carbone inorganique telle que le dioxyde de carbone ou le bicarbonate pour leur croissance (Dejoye 2013). Cependant, certaines microalgues peuvent également être "hétérotrophes" ou "mixotrophes". Les microalgues hétérotrophes utilisent des

sources de carbone organique pour leur développement, tandis que les mixotrophes sont capables d'utiliser à la fois des sources de carbone inorganique et organique (c.-à-d., ils combinent les modes de nutrition autotrophe et hétérotrophe) (Kafi, 2017).

La reproduction des microalgues peut être soit asexuée par mitose, où une cellule se divise en deux cellules filles identiques, soit sexuée par l'union des gamètes, qui sont les cellules reproductrices (Filali, 2012).

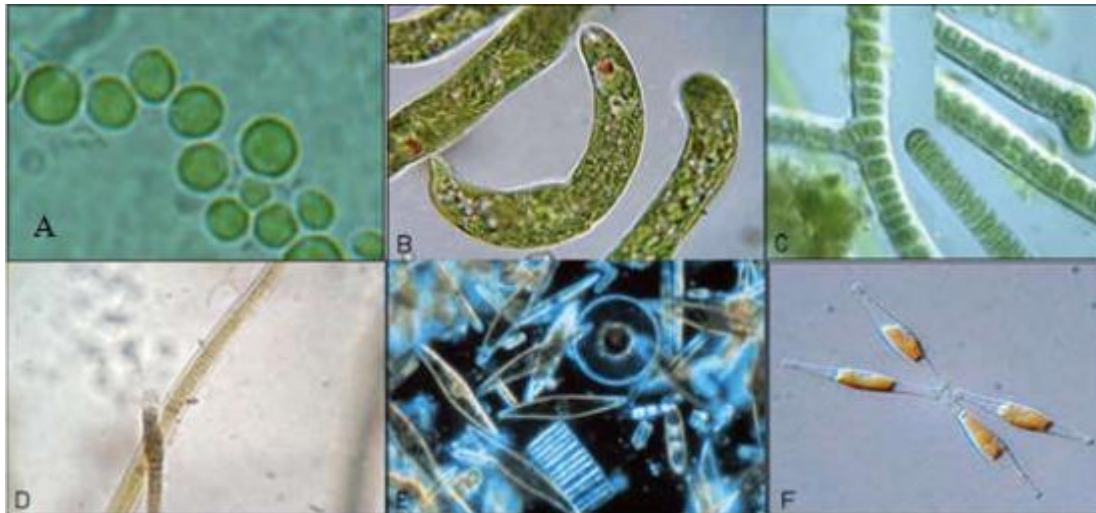


Figure 1 : Diversité morphologique de quelques microalgues

A) *Chlorellavulgaris*, B) *Euglena sp.*, C, D) *Cyanobactéries*, E) *Thalassiosira pseudonana*, F) *Phaeodactylum tricornutum* (Legrand, 2002).

I.1.3. Classification des microalgues :

Les microalgues sont classées en fonction de diverses propriétés, telles que le type de cycle de vie, la composition chimique des produits de réserve photosynthétiques (les composés accumulés à l'intérieur des cellules), l'organisation des membranes photosynthétiques, la pigmentation et d'autres caractéristiques morphologiques (Carlsson et al, 2007). Il existe plus de 30 000 espèces différentes de microalgues, mais seule une cinquantaine d'entre elles sont étudiées en détail dans les laboratoires de recherche, et une dizaine d'espèces sont exploitées à des fins industrielles et commerciales (Cavalla, 2000). En général, on distingue deux grands groupes principaux de microalgues : les procaryotes et eucaryotes.

I.1.3.1. Les procaryotes :

Ce sont des organismes unicellulaires qui sont dépourvus de noyau et ne présentent que très rarement des organites cellulaires.

- **Les Cyanophycées :** appelées également cyanobactéries sont de petites algues procaryotes de couleur bleue verte, mesurant environ 10 μm , elles sont autotrophes pouvant fixer le carbone

de CO₂ en libérant du dioxygène (Hamedi, 2018). Elles sont capables de se développer dans une grande variété d'habitats, tels que les eaux douces, salées, saumâtres et même les sols, grâce à leur capacité à résister aux conditions climatiques extrêmes (Cirés et al. 2017) bien qu'elles puissent prospérer dans des milieux extrêmes, les cyanobactéries ont des températures de croissance optimales situées autour de 30-35°C (Dejoye, 2013). La plupart d'entre elles ont une consistance gélatineuse en raison des mucilages qu'elles sécrètent. (Ainane, 2011).

Il existe environ 2000 espèces appartenant à ce groupe, qui peuvent être divisées en 150 genres. Parmi les espèces les plus connues, on trouve *Spirulina (Arthrospira) plantensis*, *Nostoc commune* et *Aphanizomenonflos-aquae* (Figure 2) (Filali, 2012).

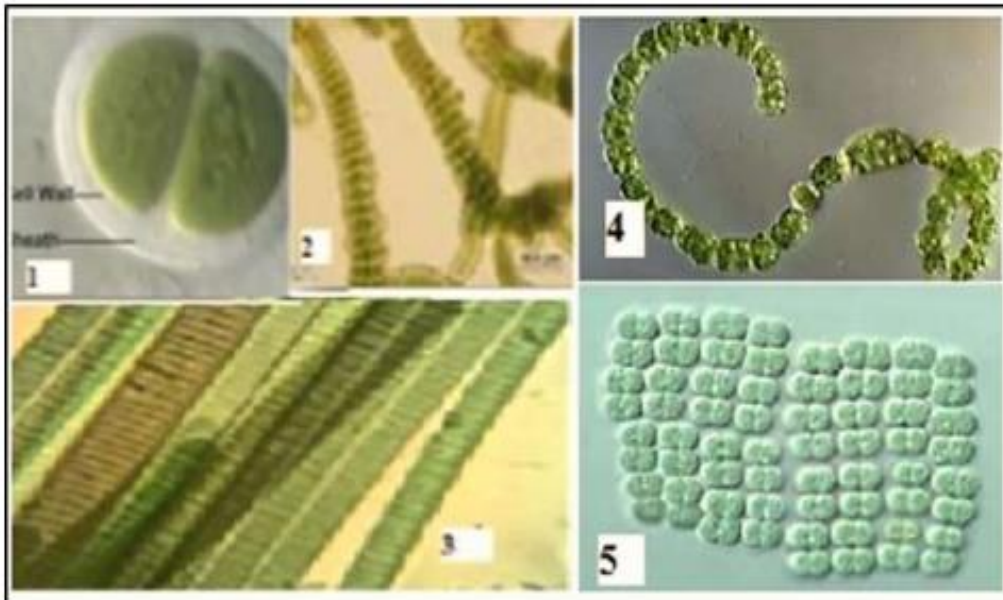


Figure 2 : Forme de quelques espèces de microalgues procaryotes de la famille des Cyanophytes. 1- *Chroococcus turgidus*, 2- *Stigonema mamillosum* 3- *Oscillatoria margaritifera*, 4- *Anabaena spiroides*, 5- *Merismopedia elegans* (Abadli, 2014).

I.1.3.2. Les Eucaryotes: Ce sont des organismes uni ou pluricellulaires qui présentent une structure complexe contenant un noyau entouré d'une membrane ainsi que plusieurs organites intracellulaires : chloroplastes, amyloplastes, oléoplastes (Figure 3) (KnucKey, 1998). La figure (4) montre les formes morphologiques des quelques espèces de microalgues eucaryotes.

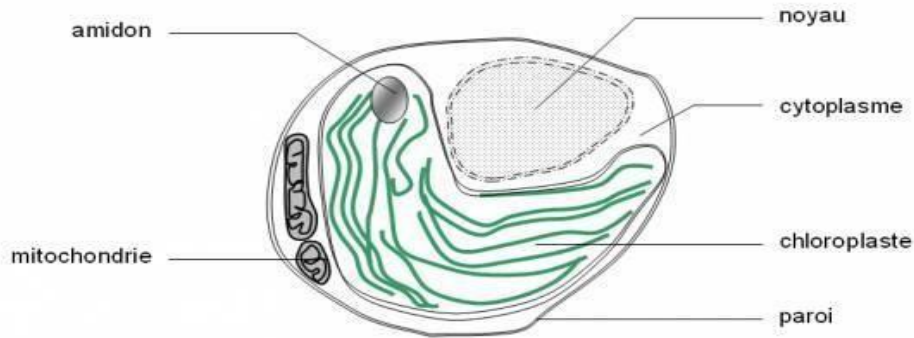


Figure 3: Schéma d'une structure de microalgue eucaryote unicellulaire (Chlorelle) (Dejoye, 2013).

- **Les Bacillariophycées :** Les bacillariophycées sont des organismes photosynthétiques représentées par les diatomées, souvent appelées « algues brunes », cette couleur est due à la présence de chlorophylles a et c, le bêta- carotène, la fucoxanthine, la diatoxanthine et la diadinoxanthine (Kuczynska et al, 2015). Elles sont unicellulaires et sont souvent réunies en chaîne. Leur paroi cellulaire (ou frustule) est composée de substances pectiques associées à la silice (Dabbadie, 1992). Les diatomées emmagasinent leurs réserves sous forme de chrysolaminarane, un polysaccharide, ainsi que des huiles. Elles sont d'ailleurs reconnues et exploitées pour leur contenu en acides gras (Cantin, 2010). Il existe 265 genres de diatomées et près de 10 000 espèces qui sont réparties à 50 % en eau douce et 50 % en eau de mer (Lucchetti, 2014).
- **Les Chlorophycées :** Les chlorophytes sont des microalgues vertes qui se retrouvent dans une grande variété d'habitats, et elles sont particulièrement abondantes dans les eaux douces. Ces microorganismes ont une structure filamentaire caractéristique. On estime qu'il existe actuellement environ 8 000 espèces de chlorophytes, dont 1 000 sont des chlorophytes marines (Alcaine, 2010). Parmi les espèces les plus connues, on peut citer *Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Dunaliella* et *Haematococcus* (Filali, 2012)
- **Les Chrysophycées :** Les chrysophycées sont des microalgues unicellulaires de couleur jaune à brune, de petite taille et de forme allongée, mesurant environ 2 à 3 microns. Elles se trouvent dans les océans ainsi que sur terre, principalement dans les zones de climat tempéré et chaud (Mollo et Nourry, 2013). La plupart de ces cellules se nourrissent par mixotrophie, c'est-à-dire qu'elles peuvent utiliser différentes sources de carbone pour leur croissance. La majorité des cellules n'ont pas de paroi cellulaire et sont entourées d'une membrane cytoplasmique, bien que certaines possèdent deux flagelles de taille similaire. Certaines espèces ont une surface cellulaire couverte de plaques ou d'écailles siliceuses ou calcaires. Bien que la plupart de ces

micro-organismes se trouvent dans des milieux d'eau douce, qu'ils soient libres ou fixés, il existe également quelques taxons marins (Feki, 2013).

- **Les Rhodophycées** : sont des algues caractérisées par leur pigmentation rouge et leur capacité à se développer dans les eaux salées et saumâtres. Cette classe regroupe près de 400 espèces, dont la majorité présente un métabolisme photoautotrophe (Filali, 2012).

Les réserves énergétiques des algues rouges sont constituées d'amidon floridéen ou de rhodamylon, qui est une forme d'amylopectine proche du glycogène. Cette réserve prend une teinte acajou en présence de la solution iodo-iodurée (Boulefa et Bouldjedri, 2020).

- **Les Euglénophycées** : Les euglènes sont de petites algues flagellées présentes principalement en eau douce. Elles appartiennent à la famille des euglénidés et comprennent environ 2000 espèces réparties en 13 catégories différentes. Les euglènes sont généralement des organismes unicellulaires, sans paroi cellulosique et possèdent un, deux ou trois flagelles qui résultent d'une invagination de leur membrane cellulosique. Elles possèdent également une vacuole contractile et un stigmate rouge composé de globules caroténoïdes.

Bien que certaines euglènes soient non pigmentées et phagotrophes, ce qui les classe parmi les protistes animaux (comme les protozoaires), la majorité d'entre elles sont photosynthétiques et parfois hétérotrophes (Boulefa et Bouldjedri, 2020).

- **Les Haptophycées** : Les Haptophytes sont des microorganismes eucaryotes unicellulaires photosynthétiques qui possèdent deux flagelles. Ce qui les distingue est la présence d'un appendice filiforme appelé "haptonème", qui joue un rôle dans leur déplacement et leur adhésion à un substrat (Sayegh et al, 2007 ; Adarme-Vega et al, 2012).

Les pigments principaux des Haptophytes comprennent les chlorophylles a et c, ainsi que des xanthophylles qui les accompagnent (Zapata et al, 2004).

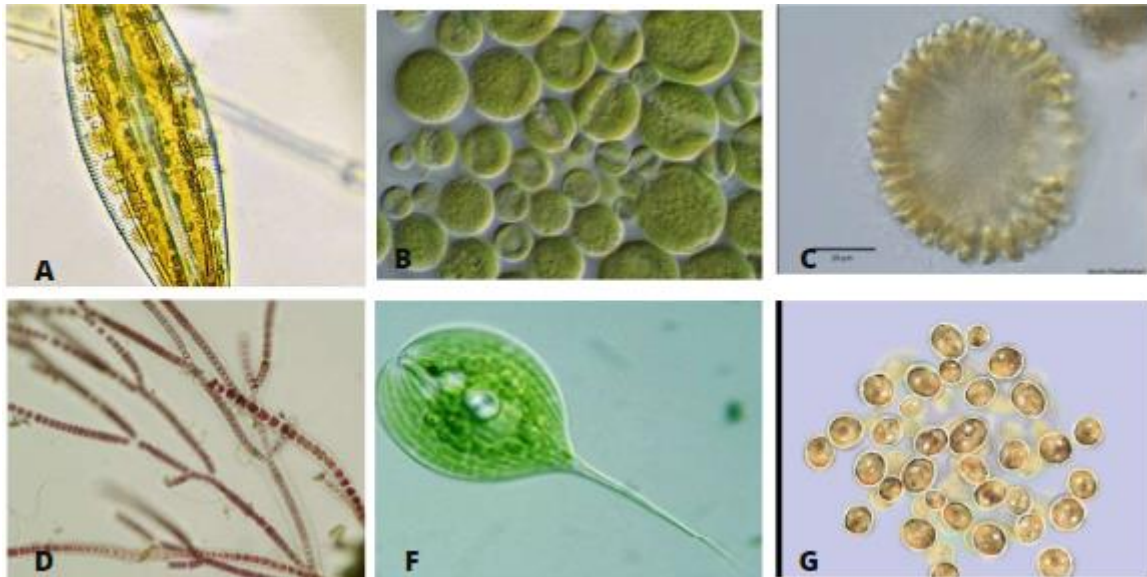


Figure 4: Formes microscopiques de quelques espèces de microalgues eucaryotes (A : Bacillariophycées, B : Chlorophycées, C : Chrysophycées, D : Rhodophycées, F : Euglénophycées, G : Haptophycées)(Berramdani 2019 ; Benali et Bourai 2020)

I.1.4. Modes de culture des microalgues :

Comme toutes les cellules vivantes, les microalgues ont besoin d'une source d'énergie et de matières premières pour maintenir une biosynthèse, une croissance et une division cellulaire stables (Sun et al, 2018). Selon les sources de carbone et d'énergie utilisées, les microalgues sont classées en photoautotrophes, hétérotrophes, mixotrophes et photohétérotrophes (Figure 5) (Daneshvar et al, 2021).

I.1.4.1. Culture photoautotrophe des microalgues :

La culture photoautotrophe est la méthode la plus ancienne et couramment utilisée pour cultiver des microalgues (Chew et al, 2018). Les microalgues photoautotrophes utilisent le carbone inorganique et la lumière, respectivement, comme sources de carbone et d'énergie pour la biosynthèse de la matière organique par le biais de la photosynthèse (Huang et al, 2010). La biofixation du CO₂ par les microalgues photoautotrophes est essentielle, car elles peuvent capturer le CO₂ et le transformer en molécules organiques, telles que les lipides, les protéines et les glucides, offrant ainsi des avantages potentiels pour la réduction des émissions de gaz à effet de serre et la production de produits biosourcés de valeur ajoutée (Subhash et al, 2017).

La culture photoautotrophe présente également l'avantage d'une contamination biologique réduite, car l'absence de carbone organique dans le milieu de culture empêche la croissance de bactéries hétérotrophes (Chew et al, 2018). Cependant, cette méthode de culture est limitée par

sa dépendance à la lumière, ce qui rend coûteuse la culture à grande échelle en extérieur avec une illumination artificielle. Il est donc crucial de trouver des emplacements appropriés pour optimiser le processus de culture des microalgues.

De plus, la productivité de biomasse des microalgues cultivées en mode photoautotrophe est généralement inférieure à celle des modes de culture hétérotrophe et mixotrophe. Cela constitue un inconvénient à prendre en compte lors du choix de la méthode de culture appropriée (Chew et al, 2018).

I.1.4.2. Culture hétérotrophe des microalgues :

Le mode de culture hétérotrophe permet aux microalgues de se développer en l'absence de lumière en utilisant du carbone organique comme source de carbone et d'énergie (Lam et Lee, 2012a). Les microalgues hétérotrophes présentent des avantages tels qu'une productivité de biomasse plus élevée par rapport au mode de culture photoautotrophe, car elles ne dépendent pas de la lumière et peuvent atteindre une densité cellulaire élevée sans photoinhibition (Chew et al, 2018). Cette indépendance à la lumière facilite la conception de bioréacteurs pour la culture des microalgues hétérotrophes dans des conditions sombres (Zhan et al, 2017). La culture hétérotrophe offre donc des coûts de production réduits par rapport à la culture photoautotrophe.

Cependant, il y a plusieurs inconvénients associés à la culture hétérotrophe. Seules quelques espèces de microalgues sont capables de se développer en hétérotrophie, et elles ne peuvent pas consommer de CO₂ ce qui limite leur utilisation dans la recherche sur l'atténuation du CO₂ (Hu et al., 2018). De plus, le risque élevé de contamination biologique par des micro-organismes concurrents tels que des bactéries, des levures et des champignons est un problème majeur dans la culture hétérotrophe, ce qui peut affecter négativement la production de biomasse et la qualité des produits (Hu et al., 2018). En présence de bactéries à croissance rapide, les microalgues hétérotrophes peuvent être entravées dans leur croissance en raison de la compétition pour les mêmes substrats de carbone organique à base de sucre (Hu et al, 2018).

I.1.4.3. Culture mixotrophe des microalgues :

Certains types de microalgues sont capables de se développer dans des conditions mixotrophes, utilisant à la fois du carbone inorganique et des composés organiques. Les microalgues mixotrophes possèdent des mécanismes cellulaires leur permettant de mener à la fois la photosynthèse et la respiration aérobie. Cela leur permet de maximiser l'utilisation des ressources disponibles en carbone et en énergie (Grobbelaar, 2013). En culture mixotrophe, les microalgues peuvent utiliser la lumière pour la photosynthèse et les substrats organiques pour la respiration. Ainsi, la culture mixotrophe réduit la dépendance à la lumière par rapport à la culture photoautotrophe (Perez-Garcia et Bashan, 2015). De plus, la culture mixotrophe permet

la production de certains composés, comme les pigments, qui ne sont pas synthétisés en culture hétérotrophe (Lee, 2003). Les microalgues mixotrophes contribuent également à la réduction du CO₂ grâce à la photosynthèse et à la réutilisation du CO₂ libéré par la respiration (Gaignard et al, 2019). La productivité de biomasse en culture mixotrophe peut être plus élevée que dans les modes de culture photoautotrophe et hétérotrophe (Li et al. (2014)). Cependant, la culture mixotrophe présente des inconvénients tels que des coûts plus élevés en raison de l'utilisation de substrats organiques, des risques accrus de contamination par des micro-organismes indésirables et la nécessité de maintenir une stérilisation adéquate. De plus, seules quelques espèces de microalgues sont adaptées à la culture mixotrophe, limitant ainsi les possibilités de recherche et de diversité (Hu et al. (2018)).

I.1.4.4. Culture photohétérotrophe de microalgues :

La photoautotrophie, également appelée photo-organotrophie, photométabolisme ou photo-assimilation, est un mode métabolique dans lequel les microalgues utilisent la lumière comme source d'énergie et le carbone organique comme source de carbone. Contrairement aux photoautotrophes et aux mixotrophes, les photohétérotrophes ne peuvent pas métaboliser directement le CO₂. Les photohétérotrophes génèrent de l'ATP et du NADPH pendant la phase lumineuse de la photosynthèse, et ces composés sont utilisés pendant la phase sombre pour assimiler le carbone organique en biomasse. Contrairement aux autres types de microalgues, les photohétérotrophes produisent peu ou pas de CO₂ car le cycle de Calvin n'est pas actif chez eux. La culture de microalgues photohétérotrophes est coûteuse car elle nécessite à la fois un apport de carbone organique et de l'éclairage, ainsi qu'une conception spéciale du bioréacteur (Daneshvar et al, 2021).

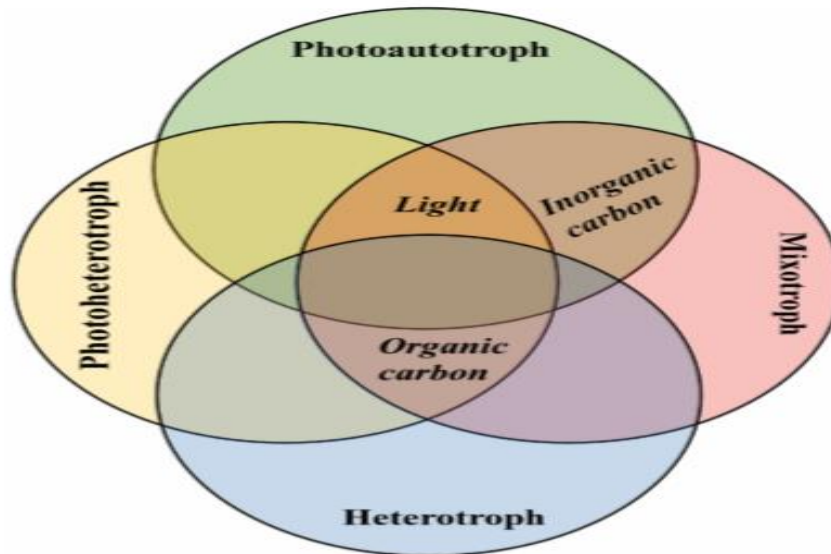


Figure 5: Besoins en lumière, en carbone inorganique et en carbone organique pour la culture photoautotrophique, hétérotrophique, mixotrophique et photohétérotrophique de microalgues (Daneshvar et al, 2021).

I.1.5. Milieux de culture et nutriments essentiels à la croissance des microalgues :

Les milieux de culture contiennent des nutriments essentiels pour la santé et la croissance des microalgues (Prochazkova et al, 2014 ; Grobbelaar, 2013). Les macronutriments, tels que le carbone, l'hydrogène, l'oxygène, l'azote et le phosphore, sont nécessaires en plus grande quantité, tandis que les micronutriments, comme le cobalt, le zinc, le manganèse et le baryum, sont nécessaires en concentrations plus faibles (Grobbelaar, 2013).

I.1.5.1. Les milieux de culture formulés :

Les milieux formulés sont des bouillons synthétiques contenant des concentrations recommandées de micro et macro-nutriments, largement utilisés pour la culture de différentes espèces de microalgues d'eau douce et marines. Ils peuvent être utilisés de manière non spécifique pour la culture de nombreuses espèces ou être conçus spécifiquement pour certains groupes d'algues. Les milieux formulés populaires incluent BBM, f/2 et BG11, qui ont des instructions spécifiques sur les concentrations des composants (Polat et al, 2020).

I.1.5.2. Les milieux de culture modifiés :

Les « milieux modifiés » est un autre terme couramment utilisé lorsque la composition du milieu est légèrement modifiée en augmentant ou en diminuant les concentrations initiales des composés dans le milieu de culture. Ce sont des milieux dont la composition est ajustée pour améliorer la production de biomasse, stimuler la production de métabolites spéciaux ou étudier les effets des carences en éléments nutritifs. Les eaux usées enrichies en éléments nutritifs sont

également utilisées comme milieux de culture peu coûteux, mais les concentrations d'éléments nutritifs dans ces eaux usées peuvent varier. Différents types d'eaux usées agricoles et industrielles ont été testés pour les cultures des microalgues selon la nécessité (Perez-Garcia et Bashan, 2015). L'utilisation des eaux usées comme milieu de culture présentent plusieurs avantages, tels que la production à faible coût de biomasse microalgale, la récupération des nutriments présents dans les eaux usées et le traitement sûr des eaux usées. Cependant, il est important de noter que la biomasse produite dans les eaux usées ne peut pas être utilisée à des fins de consommation humaine en raison du risque de contamination par des substances organiques, inorganiques et des microbes présents dans les eaux usées (Grobbelaar, 2013).

I.1.6. Facteurs influençant la croissance des microalgues

I.1.6.1. La lumière :

La lumière joue un rôle crucial dans la croissance photosynthétique des algues, et son impact sur la composition cellulaire des microalgues a été étudié (Hu, 2004). À faible intensité lumineuse, le taux de photosynthèse est directement proportionnel à l'intensité lumineuse. Cependant, à mesure que l'intensité lumineuse augmente, l'activité de la photosynthèse atteint un plateau (Figure 6) (Grima et al, 1996).

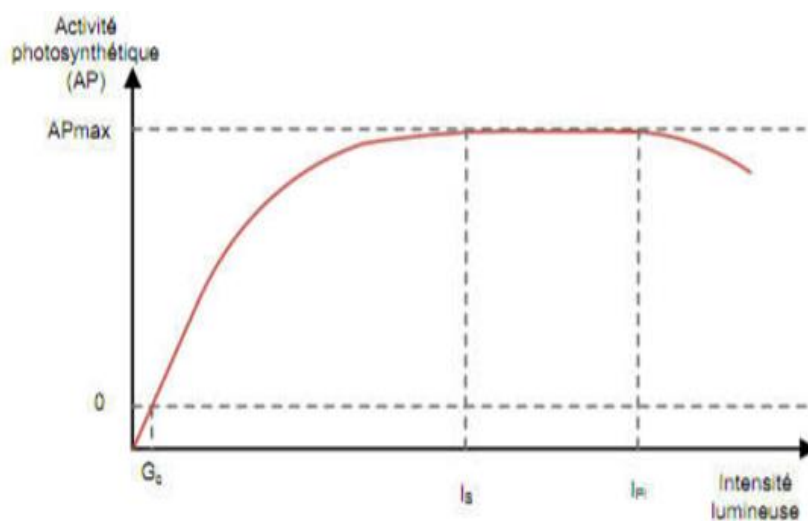


Figure 6: Influence de la lumière sur l'activité photosynthétique des microalgues (Masojidek et al, 2004).

G : Intensité de compensation (il n'y a pas d'activité de photosynthèse). *Is* : L'intensité lumineuse de saturation (l'intensité du taux de photosynthèse est maximale). *Ip* : L'intensité lumineuse d'inhibition (l'intensité où l'activité de la photosynthèse est inhibée par la lumière).

I.1.6.2. La température :

La température joue un rôle essentiel dans le développement et la croissance cellulaire des microalgues, mais leur réponse à la température varie d'une espèce à l'autre. Certaines microalgues sont adaptées au froid (cryophiles) et se développent à des températures d'environ 4 à 5 °C, comme le genre *Dunaliella* trouvé dans les lacs hyper salins de l'Antarctique (Xu et al, 1998). Les microalgues mésophiles se multiplient dans une plage de température allant de 15 à 35°C, et elles représentent la diversité la plus abondante en termes de genres et d'espèces (*Porphyridium*, *Tetraselmis*, *Chlorella*, etc.). Certaines microalgues, comme *Celastrellasp*, sont thermotolérantes et peuvent se développer à des températures supérieures à 35°C. Elles sont capables d'accumuler des pigments (astaxanthine, lutéine, canthaxanthine et bêta-carotène) et des triglycérides, et leur croissance optimale se situe autour de 45°C, avec une tolérance jusqu'à 50 °C (Hua et al, 2013).

Chaque température requiert une intensité lumineuse spécifique pour atteindre le taux de photosynthèse maximal (Hu, 2004). L'optimum de température augmente avec l'augmentation de l'intensité lumineuse. Une baisse de la température augmente la saturation des lipides, tandis qu'une augmentation de la température entraîne une augmentation des concentrations de pigments ainsi que des radicaux d'oxygène. Si les microalgues ne parviennent pas à se développer à la température optimale, elles ont besoin de plus de carbone et de nutriments pour atteindre le même taux de croissance (Hu, 2004).

Le tableau 1 montre la gamme de températures tolérées par certains groupes taxonomiques de microalgues.

Tableau 1: Gamme de température supportée par cinq groupes taxonomiques de microorganismes photosynthétique (Ras et al, 2013).

Groupe taxonomique	Températures tolérées (°C)
Bacillariophyceae	5-25
Dinophyceae	15-25
Prymnesiophyceae	16-25
Cyanophyceae	15-36
Chlorophyceae	20-36

I.1.6.3. Le pH :

Le pH est un facteur crucial à prendre en compte lors de la culture des microalgues, car il influence leur croissance de manière significative. Tout comme la température, chaque microalgue a une plage de pH optimale pour sa croissance. Par exemple, *Chlorellavulgaris* peut se développer dans des cultures avec un pH compris entre 5 et 9, mais sa croissance optimale est observée dans des conditions de pH situées entre 7 et 8. Les cyanobactéries, quant à elles, ont souvent une capacité supérieure à tolérer des gammes de pH plus élevées. Cela leur permet de prospérer dans des conditions de culture moins stériles, comme dans le cas de la spiruline cultivée à pH 10 (Richmond, 1986).

I.1.6.4. L'agitation :

L'agitation est un facteur crucial pour obtenir des rendements élevés en biomasse lors de la culture des microalgues, car elle favorise une productivité optimale et une concentration élevée. Les cultures de microalgues nécessitent un mélange constant, adapté à chaque espèce, pour plusieurs raisons importantes (Grobbelaar, 2000 ; Richmond, 2004 ; Groobelaar, 1994) :

- Prévenir la sédimentation des algues : L'agitation empêche les cellules d'algues de se déposer au fond du milieu de culture.
- Éviter la formation de gradients de nutriments ou de gaz : l'agitation homogénéise la distribution des nutriments et des gaz dans le milieu de culture, évitant ainsi des variations locales qui pourraient affecter la croissance des microalgues.
- Déplacer les cellules dans le gradient de lumière : assurer que toutes les cellules de la population sont exposées de la même façon à la lumière (Chisti, 2007).
- Améliorer les échanges de nutriments et les transferts de masse : l'agitation favorise la diffusion des nutriments et des composés nécessaires à la croissance des microalgues, ainsi que l'élimination des produits métaboliques indésirables (Perumal et al, 2012).

I.1.6.5. La salinité :

Les microalgues sont capables de s'adapter à des milieux extrêmement variés en termes de propriétés physico-chimiques (Asfour, 2010). Les variations de salinité induisent un stress pour les microalgues, qui se traduit par des changements dans la teneur en lipides, la concentration en caroténoïdes et l'activité photosynthétique, influençant ainsi leur croissance et leur survie (Khaldi et Zeggaoui, 2014).

Le changement de salinité du milieu induit un stress osmotique et ionique (sel) qui peut se traduire par la formation de précipités et une augmentation de la teneur lipidique des algues.

Ainsi, Borowitzka et Borowitzka ont noté lors du stress ionique chez certaines espèces de *Dunaliella* une augmentation de la concentration en caroténoïdes s'ensuit une inhibition de leur croissance (Borowitzka et Borowitzka, 1990 *In* Fillali, 2012). En outre, selon Lu et al. (1999) une augmentation de la salinité induit une inhibition de l'activité photosynthétique.

I.1.6.6. Les nutriments :

Pour assurer une croissance optimale, les microalgues nécessitent un milieu de culture abondant en éléments nutritifs. Ces éléments nutritifs sont classés en deux groupes : les macronutriments, tels que le carbone, l'azote et le phosphore, et les micronutriments, tels que le fer, le potassium, le magnésium et le calcium. Ces nutriments sont essentiels pour le métabolisme et la biosynthèse des microalgues, et leur disponibilité adéquate dans le milieu de culture est primordiale pour soutenir une croissance saine et optimale (Kelbouz, 2019).

I.1.6.7. Les macronutriments

- **Carbone** : les microalgues autotrophes requièrent du carbone inorganique pour réaliser la photosynthèse. Ce carbone peut être fourni sous forme de sels (comme le bicarbonate) ou par le biais d'une injection d'air enrichi en CO₂. En effet, l'air ambiant ne contient pas une quantité suffisante de CO₂ pour répondre aux besoins de culture intensive des microalgues. Afin que les microalgues puissent utiliser le CO₂ lors de la photosynthèse, celui-ci doit être dissous dans l'eau, où il peut adopter différentes formes en fonction du pH (Bernard, 2008):
 - Lorsque le pH est inférieur à 4,4, la forme dominante du carbone est le dioxyde de carbone.
 - À un pH de 6,4, les concentrations de dioxyde de carbone et d'ions bicarbonates sont équivalentes.
 - À un pH de 10,4, les concentrations d'ions carbonates et d'ions bicarbonates sont comparables.
 - Entre un pH de 8,3 et 9,5, ce sont les ions bicarbonates qui sont prédominants.
 - Au-delà d'un pH de 12,3, les ions carbonates deviennent prépondérants (Figure 7).

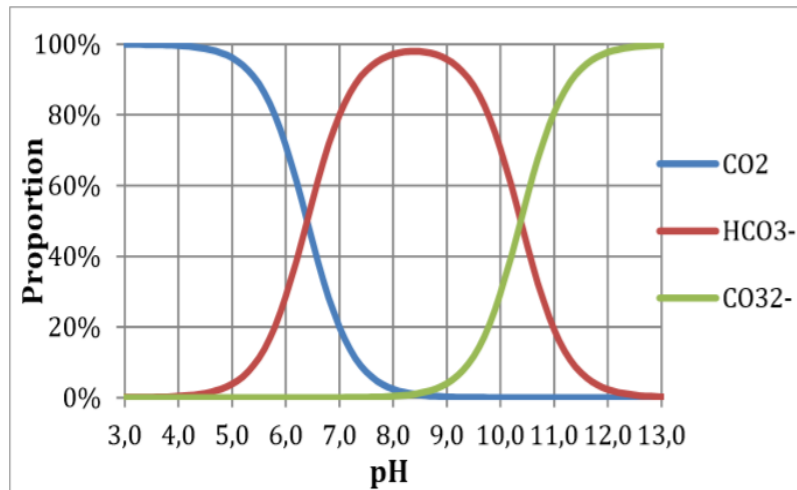


Figure 7: Formes du carbone dissous dans l'eau selon le pH du milieu

- **Azote** : l'azote est un nutriment essentiel pour la croissance des algues, représentant environ 7 % de leur matière sèche (Bhola et al, 2001). Les microalgues absorbent l'azote sous forme de nitrates (NO₃⁻), d'ammonium (NH₄⁺) ou de nitrites (NO₂⁻) (Alcaline, 2010). Certaines cyanobactéries peuvent fixer l'azote atmosphérique. L'azote est impliqué dans les voies métaboliques clés des microalgues en tant que constituant des acides nucléiques et des protéines. La concentration d'azote dans le milieu de culture affecte à la fois le taux de croissance et la composition biochimique des microalgues. Une limitation en azote peut conduire certaines microalgues à accumuler davantage de lipides et de glucides, tout en réduisant la synthèse des protéines et de la chlorophylle (Chen et al. 2011). En revanche, une augmentation de la concentration d'azote jusqu'à un certain seuil favorise une productivité cellulaire et protéique plus élevée, ainsi qu'une synthèse accrue de la chlorophylle.
- **Phosphore** : le phosphore est un élément indispensable à la croissance des microalgues (Chen et al, 2011). Il jouant un rôle essentiel dans de nombreux processus métaboliques nécessaires à leur développement et leur reproduction. Il représente environ 1% de la matière sèche des microalgues. Les microalgues peuvent utiliser à la fois des formes inorganiques (PO₄³⁻, H₂PO₄⁻, HPO₄²⁻) et des formes organiques de phosphore en les hydrolysant à l'aide d'enzymes de la famille des phosphatases (ALCAINE, 2010). Cependant, il est important de fournir une quantité excessive de phosphore dans le milieu de culture, car une partie de celui-ci peut former des précipités avec les ions métalliques, limitant ainsi sa disponibilité réelle. Une carence en phosphore peut entraîner une diminution de la biomasse et de la chlorophylle des microalgues 2

(Maziliak, 1998 ; Agren, 2004), ainsi qu'une réduction des polysaccharides et des protéines. Il est donc crucial de maintenir une concentration adéquate de phosphore pour favoriser une croissance optimale des microalgues (Yun et al, (1997).

I.1.6.7.1. Les micronutriments :

En plus du carbone, de l'azote et du phosphore, les micronutriments tels que le fer (Fe), le cuivre (Cu), le calcium (Ca), le magnésium (Mg), le cobalt (Co), le potassium (K) et le manganèse (Mn) sont également indispensables à la croissance des microalgues. Ces micronutriments jouent un rôle essentiel dans des processus tels que la photosynthèse, la respiration et la synthèse enzymatique des microalgues (Timmermans et al, 1998 ; Perez et al, 2006 ; Markou et al, 2014).

I.2. Traitement des eaux usées par microalgues dans le concept de l'économie circulaire

I.2.1. Concept de l'économie circulaire

Le terme "économie circulaire" (EC) désigne le recyclage des produits industriels, leur utilisation en tant que matières premières pour recréer les mêmes produits ou fabriquer de nouveaux produits (Nagarajan et al, 2020). Contrairement à la bioéconomie qui met l'accent sur la production d'énergie renouvelable à partir de la biomasse et la valorisation de cette biomasse en bioproduits, l'économie circulaire s'intéresse à la récupération efficace des ressources et au recyclage des déchets (Liu et al, 2018 ; Xue et al, 2019). En bref, l'économie circulaire désigne les flux durables et circulaires de ressources et de produits visant à créer de la valeur et de la prospérité tout en réduisant la dépendance aux ressources et les impacts environnementaux associés (Calicioglu and Demirer, 2022 ; Zhang and Liu, 2022).

Au niveau mondial, la mise en œuvre du modèle d'économie circulaire dans le domaine du traitement et de l'utilisation des déchets est une stratégie prometteuse pour le traitement efficace du CO₂ anthropique et des eaux usées, intégré simultanément à la production de bioproduits et de bioénergie. Cependant, l'utilisation des déchets comme matières premières pour la production circulaire de bioproduits de valeur est toujours énergivore et donc non durable. L'utilisation d'énergies renouvelables externes contribuera à maintenir les opérations des systèmes de production circulaire, mais la pénalité énergétique limitera sérieusement la durabilité des systèmes de production. De plus, la génération de toxines et de sous-produits nocifs pendant les processus a un impact sur la circularité du cycle biochimique et le recyclage des matériaux et des produits (Murray et al, 2017). Par conséquent, la mise en œuvre du modèle d'économie circulaire encouragera l'établissement de nouvelles approches et stratégies pour promouvoir la gestion des déchets et des ressources basées sur les microalgues, afin de réduire

les émissions de CO₂ et de réutiliser les eaux usées de manière économique et respectueuse de l'environnement.

I.2.2. Traitement des eaux usées par microalgues

Les eaux usées sont dues au rejet de composés organiques et inorganiques dans l'environnement à la suite d'activités anthropogéniques telles que l'agriculture, les secteurs domestiques et industriels (Abdel-Raouf et al, 2012 ; Monfet and Unc, 2017). On estime qu'environ 75 % des composés organiques rejetés dans les eaux usées sont des graisses, des glucides, des protéines, des substances volatiles et des acides aminés, tandis que les composés inorganiques sont constitués de sodium, de potassium, de chlore, de soufre, d'eau et de métaux lourds, phosphate, sels d'ammonium, magnésium, bicarbonate et métaux lourds (Abdel-Raouf et al, 2012 ; Lim et al, 2010). Plusieurs études ont rapporté la culture de microalgues dans les eaux usées agricoles, industrielles et domestiques, où les microalgues sont utilisées pour traiter les effluents et produire des microalgues. Ces eaux usées riches en azote et en phosphore proviennent de diverses sources, telles que les déchets de l'aquaculture (Ahmad et al, 2021a, 2021b ; Udaiyappan et al, 2020, 2021), le fumier animal (Kataki et al, 2016 ; Saliu et Oladoja, 2021) et les déchets humains (Batstone et al, 2015 ; Theregowda et al, 2019 ; Viskari et al, 2018). Les microalgues ont démontré de bonnes performances dans la réduction ou l'élimination de la composés organiques (azote, phosphore), les métaux lourds et d'autres contaminants ou polluants (Igwegbe et al, 2022 ; Ma et al, 2014 ; Zerrouki et Henni, 2019). Une approche écologique consiste à récupérer les nutriments de ces effluents à l'aide de microalgues, avec l'avantage supplémentaire de produire des bioproduits, tels que le biodiesel (Jacob et al, 2021 ; Kesharvani et Dwivedi, 2021).

Les microalgues peuvent potentiellement être utilisées comme agent pour traiter les effluents de différents types d'eaux usées et ont une grande efficacité pour éliminer les polluants, tels que les composés azotés (70%-100%), les composés phosphatés (30%-99%), la demande chimique en oxygène (DCO) (45 %-97 %) et les métaux lourds (40 %-94%) (Kurniawan et al, 2022). Par exemple, pour l'élimination de l'azote total NT, les microalgues mixtes contribuent à l'élimination la plus élevée avec 99,7 % dans le lactosérum de fromage, avec 99,7 % dans les eaux usées de lactosérum de fromage, mais *Limnothrix* sp. Seule obtient également environ 97,1 % pour le traitement des eaux usées de l'agro-industrie. Pour le PT, l'élimination la plus importante est obtenue par *C.minutissima* dans les eaux usées de l'aquaculture. *Ochromonas* sp. (Utilisée dans les eaux usées de l'agro-industrie) et *Leptolyngbya* sp. (Utilisée dans les eaux usées de la volaille) montrent la plus forte l'élimination de la DCO la plus élevée (94 %). En

termes de production de biomasse chaque espèce de microalgue possède de bonnes caractéristiques pour éliminer certains polluants et produire une certaine quantité de biomasse. De réduire les émissions de CO₂ et de réutiliser les eaux usées de manière économique et respectueuse de l'environnement.

I.2.3. Séquestration du CO₂ en utilisant les microalgues :

La composition biochimique des microalgues comprend des protéines, des glucides, des pigments et des lipides (Chen et Vaidyanathan, 2013). Les microalgues sont considérées comme des "plantes" car leurs cellules subissent la photosynthèse pour la reproduction et la croissance. Lors de la photosynthèse, les cellules des microalgues transforment le CO₂ et l'eau en oxygène et en énergie chimique grâce à une série de réactions chimiques complexes. Les deux principales catégories de processus photosynthétiques sont les réactions sombres et les réactions lumineuses. Les pigments des antennes photosynthétiques captent l'énergie solaire, qui est ensuite utilisée pour diviser l'eau en électrons, protons et oxygène lors des réactions lumineuses. Les porteurs d'énergie (ATP et NADPH) qui soutiennent les demandes métaboliques de l'organisme sont ensuite créés à partir des électrons et des protons. Le cycle de Calvin utilise l'énergie du NADPH et de l'ATP pour convertir le CO₂ en glucides pendant les réactions sombres dans le stroma (Markou et al, 2012). Le CO₂ est utilisé pour carboxyler le ribulose-1,5-bisphosphate en 3-phosphoglycérate, qui est impliqué dans la fixation du carbone et la synthèse des glucides (Markou et al, 2012). Les microalgues sont très réactives à l'environnement qui les entoure, ce qui peut influencer leur composition biochimique.

La quantité et la qualité de la lumière sont essentielles pour la photosynthèse et les processus métaboliques dans les cellules de microalgues. Les variations de l'intensité lumineuse influencent la composition en pigments, lipides, glucides et protéines des cellules de microalgues (Khoeyi et al, 2012). Une faible intensité lumineuse (<100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) peut ralentir la croissance des microalgues, tandis qu'une intensité lumineuse plus élevée (supérieure à 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) peut favoriser la croissance des microalgues. La faible quantité de poids sec des cellules (0,305 g/L) enregistrée pour *Nannochloropsis*sp. Était probablement due à la faible intensité lumineuse (50 $\mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) (Hu & Gao, 2006). En revanche, la culture de *Nannochloropsis*sp. À une intensité lumineuse élevée (170 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) et aérée avec 2 % de CO₂ a donné une plus grande quantité de poids sec des cellules (3,5 g/L) (Pal et al, 2011). Chez les diatomées, *Chaetoceros* cf. *wighamii* cultivé avec un apport de CO₂ a montré une teneur en biomasse plus élevée par rapport à ceux sans CO₂ (Araujo & Garcia, 2005). Dans l'ensemble, les variations de biomasse, de lipides, de glucides, de protéines et de chlorophylles peuvent être

dues aux adaptations des cellules de microalgues avant la réalisation des expériences (Araujo & Garcia, 2005). L'apport de 2 à 5 % de CO₂ à la culture de microalgues est crucial pour optimiser la production de biomasse de microalgues (Pal et al, 2011 ; Sforza et al, 2015). De manière intéressante, la culture de *Tetraselmis* sp. À l'air ambiant avec un excès de nitrate et une intensité lumineuse de 100 à 120 μmol m⁻² s⁻¹ a donné environ 1,5 g/L de biomasse (Kim et al, 2016). Entre-temps, les couleurs des LED sont moins efficaces pour favoriser la croissance des microalgues. Dans une étude sur les consortia de microalgues, la lumière froide a produit le niveau de protéines le plus élevé (~55-57 %), la lumière ambrée a produit la plus grande quantité de glucides (~35-37 %) et la lumière rouge a produit la teneur en lipides la plus élevée (~20-23 %) (Gatamaneni Loganathan et al, 2020). En résumé, des conditions de croissance favorables sont essentielles pour accumuler une grande quantité de biomasse de microalgues et de composés de haute valeur.

I.2.4. Elimination des nutriments par microalgae

L'azote est un nutriment crucial pour les microalgues ; il se trouve dans les peptides et les protéines, y compris les enzymes, les chlorophylles et les acides nucléiques, et est donc essentiel à la croissance des algues et à la régulation de leur métabolisme. Les microalgues peuvent assimiler ce nutriment à partir des eaux usées sous la forme d'azote inorganique, tel que NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻, et d'azote organique, comme l'urée, les purines, les acides aminés et la pyrimidine. Les espèces d'azote inorganique sont activement transportées dans la cellule microalgale, et NH₄⁺ peut être directement incorporé dans le 2-oxoglutarate, conduisant à la production de glutamate et, par conséquent, à la synthèse d'acides aminés par le cycle de la glutamine synthétase/glutamate synthase. Cependant, NO₃⁻ et NO₂⁻ doivent être réduits en NH₄⁺ avant d'être assimilés : NO₃⁻ est d'abord converti en NO₂⁻ dans le cytosol sous l'action de la nitrate réductase, et NO₂⁻ est ensuite réduit en NH₄⁺ dans le chloroplaste, dans une réaction catalysée par la nitrite réductase. Par conséquent, NH₄⁺ est la forme d'azote préférée et la plus facilement absorbée par la plupart des microalgues, car elle n'implique pas de réactions d'oxydoréduction et a donc une demande d'énergie plus faible que les autres sources d'azote. En outre, certaines cyanobactéries, anciennement décrites comme des algues bleues, peuvent également fixer l'azote moléculaire, en le convertissant en NH₃ dans une réaction catalysée par un complexe enzymatique de nitrogénase, qui peut être transformé en NH₄⁺ pour l'assimilation. Outre la production de radicaux hydroxyles, l'absorption positive de H⁺ par le biais du transport conjoint de nutriments tels que l'azote et le phosphore à travers la membrane cellulaire des microalgues peut entraîner une augmentation du pH du milieu. En raison de cette augmentation du pH ou de

températures élevées, une élimination indirecte du NH_4^+ des eaux usées par les microalgues peut se produire par le biais de sa conversion en NH_3 gazeux et de sa volatilisation consécutive dans l'eau. Cependant, il faut noter que ce phénomène n'est pas souhaitable car le NH_3 est un précurseur du N_2O , un gaz à effet de serre.

Dans les eaux usées, le phosphore peut exister sous forme de composés organiques ou inorganiques. Cependant, la principale source de phosphore pour les microalgues est le phosphate inorganique, présent sous la forme de H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} ou PO_4^{3-} . Ces composés sont transférés à travers la membrane cellulaire par transport actif à l'aide de transporteurs de phosphore inorganique. Une fois à l'intérieur de la cellule, ils peuvent être utilisés directement pour synthétiser des acides nucléiques, des phospholipides et de l'adénosine triphosphate (ATP) par phosphorylation. En outre, en présence de lumière, les phosphates peuvent être convertis en polyphosphates acido-solubles dans une réaction catalysée par le polyphosphate kinase et utilisés pour la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et des protéines. Lorsque le phosphore est en excès, certaines microalgues peuvent également convertir les phosphates en polyphosphates insolubles dans les acides et les stocker sous forme de granules à l'intérieur de la vacuole. Ce processus peut se produire lorsque les microalgues sont dépourvues de phosphore puis réalimentées (absorption de famine) ou, lorsqu'elles sont exposées à un excès de phosphore (absorption de luxe), lorsqu'elles consomment plus que ce qui est nécessaire à leur croissance. Au contraire, dans des conditions de faible disponibilité de phosphore inorganique, certaines microalgues possèdent des phosphatases qui consomment le phosphore organique externe présent dans les composés, tels que les esters de phosphate, afin de soutenir les processus cellulaires essentiels (Amaro et al, 2023).

I.2.5. Enjeux liés au développement des systèmes de microalgues pour le traitement des eaux usées

La bioremédiation des eaux usées à base de microalgues a plusieurs objectifs : le traitement des eaux usées en vue d'un traitement environnemental sans risque et la récupération des nutriments sous forme de biomasse, rétablissant ainsi les principes de l'économie circulaire par le biais de la valorisation des déchets. Les développements technologiques permettent d'envisager l'intégration de la culture de microalgues dans les stations d'épuration des eaux usées. Des déductions optimistes ont suggéré que la culture de microalgues sur site avec des ressources provenant des eaux usées et aucun intrant extérieur, suivie de la production de bioélectricité par digestion anaérobie, peut améliorer de manière significative le bilan énergétique des stations d'épuration. Les principales préoccupations environnementales concernaient l'élimination de

l'ammoniac à un pH alcalin et les applications finales de la biomasse microalgale dérivée des eaux usées. Outre les aspects technologiques et environnementaux, la culture de microalgues à l'échelle commerciale est un véritable défi. Les systèmes ouverts souffrent d'une faible productivité, de l'exigence d'une situation géographique et de conditions météorologiques optimales, de problèmes de contamination et de l'élimination des composés gazeux à un pH alcalin. Les systèmes fermés nécessitent des coûts d'installation et d'exploitation élevés. En outre, un photobioréacteur conçu sur mesure ne peut pas être utilisé pour le traitement des eaux usées, car les conditions de traitement varient en fonction des caractéristiques des eaux usées, de la souche de microalgues utilisée et de la stratégie de traitement. À l'heure actuelle, les étangs d'algues à haut rendement sont considérés comme adaptés à un traitement durable, efficace et économique des eaux usées s'ils sont situés dans des zones géographiques appropriées et s'ils sont associés à la production de produits bénéfiques tels que le biogaz ou les biofertilisants (Nagarajan et al. 2022).

I.3. L'aquaculture assistée par microalgues :

I.3.1. Méthodes de traitement des usées aquacoles :

En raison des impacts néfastes des eaux usées de l'aquaculture sur l'environnement, les méthodes de traitement efficaces ont pour but d'éliminer les substances indésirables, de récupérer les nutriments et de préserver la qualité de l'eau. Dans l'industrie aquacole, différents types de traitements sont utilisés ; tels que, les systèmes de recirculation d'eau, les traitements biologiques et physico-chimiques. La (Figure 9) présente la classification des méthodes de traitement des eaux usées de l'aquaculture et les technologies existantes associées à chaque méthode (Ahmad et al, 2022).

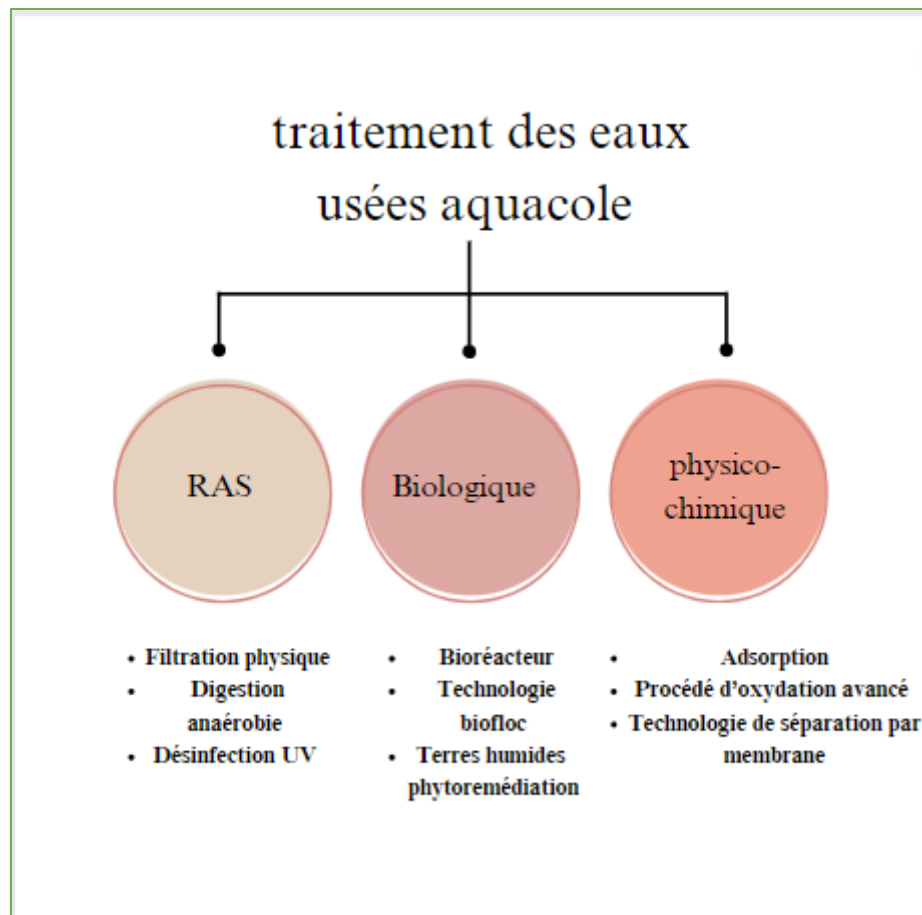


Figure 8: Classification des technologies de traitement des eaux aquacole (Ahmad et al, 2022).

I.3.1.1. Modèle d'aquaculture en recirculation :

Le RAS (Système d'Aquaculture à Recirculation) est un système fermé utilisé pour l'élevage des poissons, qui comprend plusieurs étapes telles que la filtration physique, la digestion anaérobie et la désinfection UV (Jusoh et al, 2020). Les avantages du RAS incluent une réduction de la consommation d'eau, une meilleure gestion des boues et une diminution de la pollution (Jusoh et al, 2020). La filtration physique élimine les déchets solides en utilisant des méthodes telles que la sédimentation, la filtration mécanique et la centrifugation (Badiola et al, 2018 ; Cripps et Bergheim, 2000 ; Franco-Nava et al, 2004). La digestion anaérobie réduit la production de boues organiques en utilisant des bactéries facultatives dans des conditions anaérobies pour dégrader la matière organique (Appels et al, 2008 ; Zhang et al, 2021). La désinfection par UV prévient la propagation de pathogènes en inactivant les bactéries pathogènes (Dahle et al, 2022).

I.3.1.2. Méthode biologique :

La méthode biologique, connue sous le nom de bioremédiation, utilise des microorganismes pour restaurer la qualité environnementale de manière économique (Aquilino et al, 2020 ; Tsukuda et al, 2015). Les techniques biologiques couramment utilisées dans l'aquaculture comprennent les bioréacteurs, la technologie du biofloc, les zones humides et la phytoremédiation (Aquilino et al, 2020 ; Tsukuda et al, 2015). Les bioréacteurs utilisent des microorganismes actifs pour traiter les eaux usées de l'aquaculture (Tsukuda et al, 2015 ; Li et al, 2020 ; Hesni et al, 2020). La technologie du biofloc améliore la qualité de l'eau en utilisant des particules de biofloc composées de bactéries, d'algues et de matière organique (El-Sayed, 2020 ; Crab et al, 2012). Les zones humides et la phytoremédiation sont des méthodes utilisées pour réduire la pollution de l'environnement (Sindilariu et al, 2007 ; Buhmann et Papenbrock, 2013 ; Ghaly et al, 2005).

I.3.1.3. Méthode physicochimique :

Le traitement physico-chimique des eaux usées aquacoles vise à éliminer les déchets en modifiant les propriétés par des traitements technologiques (A.L. Ahmad et al, 2022). Les méthodes couramment utilisées incluent l'adsorption, les procédés avancés d'oxydation et l'utilisation de membranes (A.L. Ahmad et al, 2022). L'adsorption purifie les eaux usées aquacoles en capturant les substances indésirables à l'aide d'un adsorbant (Cao et al, 2016 ; Zadinelo et al, 2015 ; Ferreira et al, 2017). Les processus d'oxydation avancée utilisent des radicaux hautement réactifs pour oxyder et dégrader les polluants présents dans les eaux usées (Liu et al, 2021). Les membranes agissent comme une barrière sélective qui filtre les substances indésirables (Teoh et al, 2021 ; Zhou et al. 2021).

I.3.2. Traitement des rejets aquacoles par microalgues

I.3.2.1. Principes de l'aquaculture assistée par microalgues

L'aquaculture assistée par les microalgues implique la transformation des matières organiques présentes dans les eaux usées, riches en nutriments, en biomasse ; grâce à la croissance de ces microalgues (Tom et al, 2021). Cette biomasse précieuse peut ensuite être utilisée en partie comme substitut à l'alimentation des animaux aquatiques, tout en renforçant leur immunité. De plus, la mise en place d'un système de microalgues favorise la capture du dioxyde de carbone et la libération d'oxygène, agissant comme une sorte de pompe biologique pour créer un environnement favorable aux poissons. Le schéma spécifique de l'aquaculture assistée par microalgues est présenté dans la (figure 10).

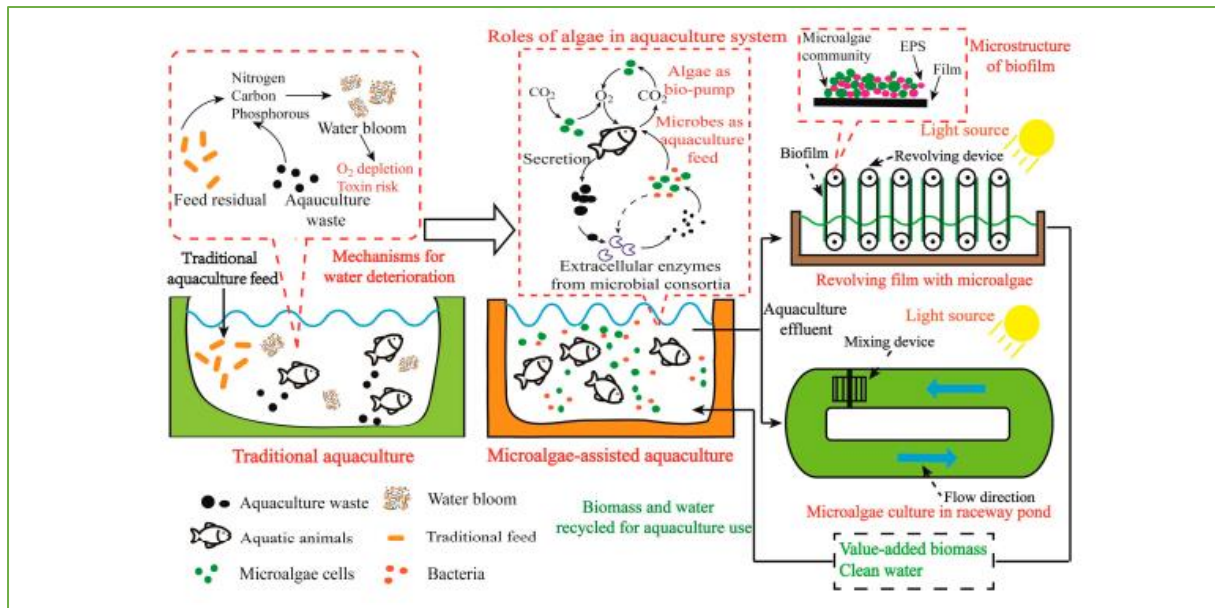


Figure 9: Comparaison entre l'aquaculture conventionnelle et l'aquaculture assistée par les microalgues (Tom et al, 2021).

- Dans un premier temps, l'introduction de microalgues dans le bassin d'élevage des poissons peut améliorer la capacité d'autoépuration du système aquacole en dégradant certains déchets produits par les animaux aquatiques. De plus, les microalgues agissent comme une bio-pompe en maintenant un niveau adéquat d'oxygène dissous dans l'eau.
- Deuxièmement, un système de culture de microalgues est mis en place pour assimiler les éléments nutritifs présents dans les effluents de l'aquaculture.
- Troisièmement, des techniques de récolte adaptées au système d'aquaculture sont utilisées pour obtenir de la biomasse de microalgues de manière économique et respectueuse de l'environnement.

Enfin, la biomasse de microalgues fraîchement récoltée est utilisée comme alimentation à valeur ajoutée pour l'aquaculture ; ce qui permet de réduire les coûts d'élevage des poissons, tandis que les effluents traités sont recyclés dans le système aquacole.

I.3.2.2. **Avantage :**

L'intégration des microalgues dans l'élevage du poisson présente des avantages techniques et économiques importants, notamment :

- La production d'oxygène par les microalgues réduit les risques de déplétion en oxygène et permet de réduire la consommation d'énergie des systèmes d'aération traditionnels.
- La présence des microalgues dans les bassins d'élevage limite la croissance de micro-organismes nuisibles ou toxiques ; ce qui crée un environnement propice aux animaux

aquatiques. Ainsi, la fréquence de renouvellement de l'eau des réservoirs ou des bassins peut être réduite au minimum, ce qui entraîne des économies importantes en eau.

- L'alimentation à base de microalgues renforce l'immunité des animaux aquatiques, réduisant ainsi le besoin d'utiliser des antibiotiques ou des médicaments dans l'aquaculture. Cela améliore la sécurité des produits aquacoles et augmente leur acceptation sur le marché
- Les effluents de l'aquaculture peuvent être traités à faible coût grâce à la biotechnologie avancée des microalgues. Cela permet d'éviter les frais de traitement des eaux usées facturés par les stations d'épuration, ce qui allège la charge financière du secteur de l'aquaculture.
- En utilisant une partie de la biomasse récoltée comme substitut aux aliments traditionnels de l'aquaculture, les coûts d'élevage du poisson peuvent être maîtrisés.

CHAPITRE II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

II.1. Isolement des souches de microalgues

II.1.1. Prélèvement d'échantillons

Afin d'augmenter la chance d'isoler des microalgues possédant une capacité épuratrice importante des rejets d'eaux usées, nous avons prélevé les échantillons à deux sites distingués. Le premier site est présenté par une station d'épuration (STEP de Chenoua, Tipaza), tandis que le deuxième site est présenté par un bassin de collecte d'eaux usées aquacole de la ferme marine du CNRDPA (Figure 13). Dans le premier site, deux échantillons d'eaux usées ont été prélevés à partir du bassin de l'aérateur biologique (Figure 11) et du décanteur secondaire (Figure 12). Le protocole commun de prélèvement des échantillons dans les deux sites consiste à collecter de l'eau usée à l'aide d'un seau puis à effectuer le prélèvement dans des flacons de 200 ml stériles (préalablement autoclavés à 121 °C pendant 20 min) sous l'eau. Les échantillons prélevés sont transportés à froid (dans une enceinte thermostatée à une température avoisinant 4 °C) et acheminés immédiatement à l'atelier de microbiologie du CNRDPA pour procéder à l'isolement des microalgues. Les échantillons ont été prélevés au mois d'avril avec le début de la poussée printanière.



Figure 10: Prélèvement d'eaux usées à partir du bassin d'aération de la STEP de Chenoua



Figure 11: Prélèvement d'eaux usées à partir du décanteur secondaire de la STEP de Chenoua

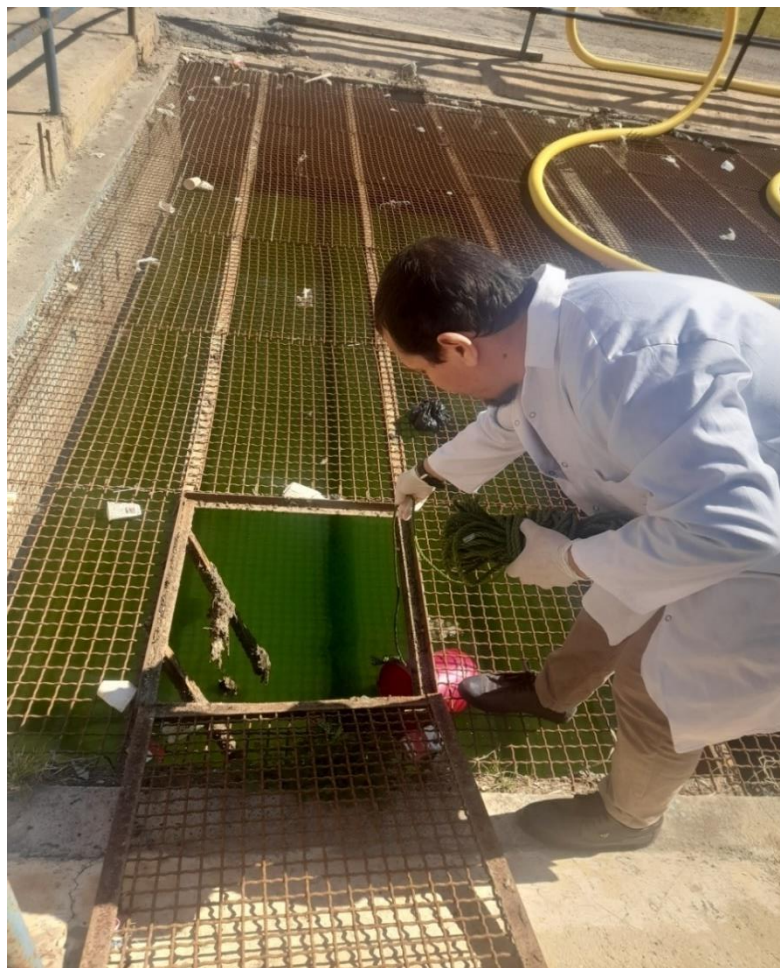


Figure 12 :Prélèvement d'eaux usées à partir du bassin de collecte des eaux usées aquacoles de la ferme marine du CNRDPA

II.1.2. Caractérisation des échantillons prélevés

Les échantillons prélevés ont fait l'objet de plusieurs mesures et analyse physico-chimique. Sur site, les paramètres : Température, oxygène dissous, salinité, conductivité et pH ont été mesurés directement dans les échantillons d'eaux usées à l'aide d'un multiparamètre Hanna (modèle HI 9829). D'autres paramètres comme les matières en suspension, la demande chimique en oxygène, l'azote total, le phosphore total, les nutriments (nitrites, nitrates, phosphates et silicates) ont été analysés selon les protocoles expérimentaux suivants :

II.1.2.1. Demande chimique en oxygène

La demande chimique en oxygène (DCO) est la quantité d'oxygène consommée par les matières existant dans l'eau et oxydables dans des conditions opératoires définies. En fait la mesure correspond à une estimation des matières oxydables présentes dans l'eau, quelle que soit leur origine organique ou minérale (fer ferreux, nitrites, ammonium, sulfures et chlorures).

Ce paramètre est analysé selon les recommandations de Rodier (2008), section analyse des eaux résiduaires.

- **Principe**

Sous certaines conditions, des substances dans l'eau sont oxydées à ébullition (150 °C) par un surplus de dichromate de potassium, en milieu acide et avec du sulfate d'argent comme catalyseur d'oxydation et du sulfate de mercure (II) pour complexer les ions chlorure. L'excès de dichromate de potassium est quantifié via le sulfate de fer et d'ammonium.

- **Manipulation**

Dans un tube de réaction introduire 10,0 ml d'échantillon. Si la DCO de l'échantillon est supérieure à 800 mg/IO₂ une dilution appropriée devra être réalisée. Ajouter 5,00 ml de la solution de dichromate de potassium (0,040 mol/L). Ajouter, lentement et avec précaution, 15 ml de la solution d'acide sulfurique contenant le sulfate d'argent, en agitant soigneusement le tube. Mettre 1 à 2 gouttes d'acide sulfurique sur le col rodé du tube pour le lubrifier et relier le réfrigérant au tube de réaction. S'assurer que le réfrigérant tourne facilement dans le rodage du tube (sinon ajouter une goutte d'acide supplémentaire). Placer le tube dans le bloc chauffant et porter à ébullition (150 °C+5 °C) pendant 2 heures. Arrêter le chauffage. Retirer les tubes avec leurs réfrigérants, les laisser refroidir, puis rincer avec précaution le réfrigérant en recueillant

les eaux de lavage dans le tube de réaction. Oter le réfrigérant. Transvaser le contenu du tube dans un erlenmeyer de 250 ml, rincer et diluer avec environ 75 ml d'eau. Ajouter 2 à 3 gouttes de ferroïne et titrer avec la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium.

Pour l'essai à blanc, nous procédons de la même manière en remplaçant l'échantillon par 10,0 ml d'eau distillée. La consommation de dichromate de potassium lors de cet essai doit être très faible et ne pas excéder 0,5 ml. Des valeurs plus élevées peuvent trouver leur origine dans une propreté insuffisante de la verrerie ou dans des erreurs de concentrations des réactifs.

- **Expression des résultats**

La demande chimique en oxygène (DCO) exprimée en milligrammes d'oxygène par litre est égale à :

$$\frac{8000(V_2 - V_1)T}{V}$$

V_0 = Volume de sulfate de fer et d'ammonium (II) nécessaire au dosage (ml)

V_1 = Volume de sulfate de fer et d'ammonium (II) nécessaire à l'essai à blanc (mL).

T = Titre de la solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium (en mol/L).

V = Volume de la prise d'essai (en ml).

Si nécessaire, tenir compte pour ce calcul de la dilution pratiquée sur l'échantillon.

II.1.2.2. Matières en suspension

La détermination des matières en suspension dans l'eau s'effectue par filtration ou par centrifugation. La méthode par centrifugation est surtout réservée aux eaux contenant trop de matières colloïdales pour être filtrées dans de bonnes conditions, en particulier si le temps de filtration est supérieur à une heure. Pour notre cas, nous avons utilisé la méthode par centrifugation pour la mesure de MES de l'échantillon issu de l'aérateur biologique (très chargé par les boues activées). Les autres échantillons ont été analysés par filtration sur membrane.

Méthode par filtration sur fibre de verre :

Principe

L'eau est filtrée et le poids de matières retenues par le filtre est déterminé par pesée différentielle.

- **Manipulation**

Laver le disque de filtration à l'eau distillée (filtre GF/C d'une porosité de 1,2 µm), le sécher (105 °C) jusqu'à masse constante, puis le peser à 0,1 mg près après passage au dessiccateur. Le mettre en place sur la rampe de filtration. Mettre en service le dispositif d'aspiration ou de pression. Verser l'échantillon (V) sur le filtre. Rincer la fiole ayant contenu l'eau à analyser avec 10 ml d'eau distillée. Faire passer sur le filtre cette eau de lavage. Laisser essorer le filtre, sécher à 105 °C. Laisser refroidir au dessiccateur et peser à 0,1 mg près, jusqu'à masse constante (environ une heure).

- **Expression des résultats**

La teneur de l'eau en matières en suspension (mg/l) est donnée par l'expression :

$$\frac{M_1 - M_0}{V} \times 1000$$

M_0 = masse du disque filtrant avant utilisation (mg). M_1 = masse du disque filtrant après utilisation (mg). V = volume d'eau utilisé (ml).

Méthode par centrifugation

- **Principe**

L'eau est centrifugée à environ 5000 tr/min pendant 20 minutes. Le culot est recueilli, séché à 50 °C à masse constante et pesé.

- **Manipulation**

Centrifuger un volume d'eau de façon à recueillir au moins 30 mg de matières dans un tube de 15 ml préalablement taré. Séparer le liquide surnageant par siphonage sans perturbation du dépôt et jusqu'à une hauteur de 10 mm de liquide au-dessus du dépôt. Sécher à l'étuve à 50 °C jusqu'à masse constante.

- **Expression des résultats**

La teneur de MES (en mg/l) est déterminée de la même formule que pour la méthode par filtration sur fibre de verre.

II.1.2.3. Dosage des sels nutritifs

- **Principe des dosages des sels nutritifs dans d'eau**

La méthode utilisée pour le dosage des sels nutritifs (ammonium, nitrites, nitrates, orthophosphates et silicates) est basée sur une réaction de coloration. En effet, ces sels réagissent dans certaines conditions (température, pH, présence de catalyseurs,...) avec des réactifs spécifiques pour donner une coloration absorbant la lumière à une certaine longueur d'onde (λ).

L'absorption de l'énergie lumineuse dépend de l'intensité de la coloration, de même, ce dernier est d'autant plus importante que la solution est concentrée en sel dosé.

La quantité de lumière absorbée par la solution, appelée absorbance (A) ou densité optique (D.O), obéit à la loi de BEER-LAMBERT qui est exprimée par la relation suivante :

$$A = D.O = \log (I_0/I) = \epsilon.L.C$$

I_0 et I : sont respectivement intensité lumineuse incidente et émergente du milieu absorbant.

ϵ : le coefficient d'extinction molaire variant en fonction de la température et la longueur d'onde.

L : la longueur du milieu traversé exprimé en cm.

C : concentration de la solution absorbante exprimée en mol/l.

A : absorbance de la solution.

D.O : densité optique de la solution.

- **Analyse automatique des sels nutritifs dans d'eau**

L'analyse automatique consiste à réaliser automatiquement les différentes manipulations nécessaires à un dosage manuel : prélèvements, analyse et lecture (Rodier et al, 1996).

Dans notre étude, le dosage des sels nutritifs s'est fait par colorimétrie à flux continu sur chaîne automatisée « Auto-Analyzer SAN PLUS » selon les protocoles définis par le fabricant (Skalar, 1998) (voir annexes 1).

Le fonctionnement de l'appareil repose sur un principe dynamique simple, celui de l'analyse liquide en flux continu :

Une veine liquide progresse, par l'intermédiaire d'une pompe péristaltique, en continu, ce qui autorise une polyvalence et une grande souplesse. Les réactions chimiques s'effectuent dans cette veine en progression. L'analyse des échantillons est réalisée par séquence, ce qui permet une grande cadence de travail.

II.1.2.3.1. Dosage de l'ammonium

- **Principe**

Le dosage de l'ammonium (NH_4) est réalisé suivant la méthode de Koroleff, 1969 (Aminot et Chaussepied, 1983).

En milieu alcalin ($8 < \text{pH} < 11,5$), l'ammonium dissous réagit sur l'hypochlorite pour former une monochloramine.

Ce composé, en présence de phénol et d'un excès d'hypochlorite (milieu oxydant) donne lieu à la formation d'un bleu d'indophénol. La réaction est catalysée par le nitroprussiate de sodium. Le maximum d'absorption se fait à une longueur d'onde de 630 nm.

II.1.2.3.2. Dosage Des nitrites et des nitrates

- **Principe**

Les nitrites (NO_2) forment un diazoïque par action avec la sulfanilamide en milieu acide pH 2. Ce composé formera ensuite en présence de N-naphtylethylenediamine un composé azoïque de couleur rose absorbant la lumière à 540 nm (Benschneider et Robinson, 1952 et Skalar, 1998).

La méthode de dosage de nitrate est basée sur la réduction des nitrates (NO_3) en nitrites (NO_2) par passage de l'échantillon sur une colonne de cadmium traité au cuivre (Wood et al, 1967). Les nitrites seront ensuite dosés par colorimétrie selon la méthode précédemment décrite. Il suffira alors d'en déduire la concentration des nitrites déterminés directement (sans passage de

l'échantillon sur la colonne réductrice) pour trouver les concentration des nitrates (Rodier et al, 1996).

- **Manipulation**

Les granulés de cadmium sont mélangés à \pm 30 ml de solution d'acide chlorhydrique (4N). Agiter pendant environ 1 minute. Laver sans acide avec de l'eau distillée. Ajouter environ 50 ml de solution de sulfate cuivrique et remuer pendant environ 5 minutes. Laver la saleté entre les granulés avec de l'eau distillée. Sécher les granules de cadmium avec le papier filtre. Ajouter, à l'aide d'un entonnoir, les granules à une colonne sèche, en vibrant de temps en temps pour tasser la colonne des deux côtés. Placer un petit morceau de tube en polyéthylène (cat. 5144), aiguisé à l'entrée, dans la colonne pour éviter que les granules ne sortent de la colonne. Remplir jusqu'à 5 mm du haut. Remplir la colonne à l'aide d'une seringue contenant une solution tampon (réactif A). Empêcher l'air de pénétrer dans la colonne. Placer la colonne dans le système.

Chaque échantillon de 50 ml est traité par 1 ml d'une solution HCl.

Note : Éviter que de l'air ne pénètre dans la colonne.

Les granulés de cadmium activés peuvent être stockés au sec, dans une boîte bien fermée.

II.1.2.3.3. Dosage des orthophosphate

En présence d'antimoine tartrate de potassium à une température de 40° C (bain- marie), les ions orthophosphates (PO) réagissent avec le molybdate d'ammonium pour former un complexe antimoine phosphomolybdique qui sera réduit par l'acide ascorbique (Murphy et Riley, 1962). Cette forme réduite de coloration bleue a un maximum d'absorption à 880 nm.

II.1.2.3.4. Dosage du silicate

- **Principe**

Le silicium dissous (représenté dans l'eau par 95% sous forme d'acide orthosilicique Si (OH)₄ (Aminot et Chaussepied, 1983) réagit avec le molybdate d'ammonium en milieu acide pour former un complexe silicomolybdique qui sera réduit par l'acide ascorbique en un composé coloré en bleu absorbant à 810 nm (Mullin et Riley, 1955). On ajoute l'acide oxalique pour éviter les interférences des phosphates.

II.1.2.3.5. Dosage d'azote totale/phosphore totale

- **Principe**

En milieu acide dilué, le fer réduit transforme l'azote nitrique et nitreux de l'échantillon en azote ammoniacal. L'ensemble est minéralisé en milieu sulfurique concentré et l'azote organique est ainsi transformé en sulfate d'ammonium. Le liquide sulfurique est dilué, puis soumis à une distillation en milieu fortement alcalin, ce qui permet, en titrant l'ammoniac libéré, de connaître la teneur en azote total (laine G., 1980).

La méthode de dosage du phosphore total repose sur l'oxydation de la matière organique et la conversion de l'une des catégories de phosphate en orthophosphate soluble, par l'action d'un acide et d'un agent oxydant. En milieu acide, le molybdate d'ammonium et le tartrate d'antimoine et de potassium réagissent avec l'orthophosphate pour former l'acide phosphomolybdique. Ce dernier est ensuite réduit par l'acide ascorbique pour former un complexe bleu intense, de type colloïdal. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration d'orthophosphates et est mesurée par spectrophotométrie à 880 nm (https://ville.montreal.qc.ca/pls/portal/docs/PAGE/ENVIRO_FR/MEDIA/DOCUMENTS/9V_DM_M-CR-5.4-051_PHOSPHORE.PDF).

- ✓ **Etalonnage**

Cette opération nécessite la préparation d'une solution mère puis une solution fille pour chaque élément à analyser (voir annexe 1). Les droites d'étalonnage sont établies automatiquement par le logiciel en utilisant les concentrations connues des solutions étalons et leurs hauteurs de pic correspondantes (voir annexes 2).

II.1.3. Protocole d'isolement des microalgues

II.1.3.1. Milieux de culture

Nous avons utilisé un milieu commun pour l'isolement et la culture des espèces de microalgues de l'eau douce largement rapporté dans la littérature, qui est appelé BG11. Ce milieu a été préparé pour isoler et cultiver les microalgues issues des échantillons de la STEP Chenoua. Le même milieu additionné de NaCl à 1% (m/v) a été utilisé pour l'isolement des microalgues enrichies à partir du bassin de la ferme marine du CNRDPA. La préparation des deux milieux BG11 et BG11-NaCl a été menée selon le protocole décrit par <https://utex.org/products/bg-11-medium>.

- **Composition du milieu BG11**

Tableau 2: Composition du milieu BG11 et de la Concentration de la solution mère

	Composants	Quantité, ml/l	Concentration de la solution mère, g/ 200 ml de H ₂ O	Concentration finale, mM
1	NaNO ₃	10	30	17,6
2	K ₂ HPO ₄	10	0,8	0,23
3	MgSO ₄ •7H ₂ O	10	1,5	0,3
4	CaCl ₂ •2H ₂ O	10	0,72	0,24
5	Acid citrique •H ₂ O	10	0,12	0,031
6	Citrate d'ammonium ferrique	10	0,12	0,021
7	Na ₂ EDTA•2H ₂ O	10	0,02	0,0027
8	Na ₂ CO ₃	10	0,4	0,19
9	BG-11 Solution pour métaux traces	1		
10	Thiosulfate de sodium penta hydraté (milieu agar uniquement, stérile)	1	49,8	1

Tableau3: Solution Trace métallique du milieu BG11

Composants	Quantité, g/l	Concentration finale, mM
1 – H ₃ BO ₃	2,86	46
2 – MnCl ₂ •4H ₂ O	1,81	9
3 – ZnSO ₄ •7H ₂ O	0,22	0,77
4 – Na ₂ MoO ₄ •2H ₂ O	0,39	1,6
5 – CuSO ₄ •5H ₂ O	0,079	0,3
6 – Co (NO ₃) ₂ •6H ₂ O	49,4 mg/L	0,17

- **Préparation des milieux :**

Milieux liquides :

1. A environ 900 ml de d'H₂O, ajouter les 9 premiers composants dans l'ordre indiqué tout en agitant continuellement (tableau 2)
2. Porter le volume total à 1 L avec de l'eau distillée.
3. Couvrir et stériliser le milieu par autoclavage (120°C, 20 min).
4. Laisser refroidir puis conserver à la température du réfrigérateur.

Milieus solides :

1. Dans environ 400 ml de d'H₂O, ajouter les 9 premiers composants dans l'ordre indiqué tout en agitant continuellement (tableau 3).
2. Porter le volume total à 500 ml avec de l'eau distillée.
3. Dans un récipient séparé, ajouter 15 g d'agar à 500 ml d'eau distillée.
4. Couvrir et stériliser les deux solutions dans l'autoclave (120°C, 20 min).
5. Dans un bain-marie, laisser les deux solutions refroidies à 45-50°C.
6. Ajouter le thiosulfate de sodium stérile (par autoclavage, composant 10) à la solution d'agar et bien mélanger (tableau II.1)
7. Combiner les deux solutions d'agar et de liquide, bien mélanger. Noter que l'agar peut se solidifier rapidement.
8. Laisser refroidir et conserver dans des boîtes des pétri à la température du réfrigérateur.

II.1.3.2. Méthodes d'isolement des microalgues

Deux méthodes d'isolement des microalgues ont été essayées afin de réussir l'opération et d'obtenir un nombre important d'isolats. La première méthode est basée sur un ensemencement direct des échantillons d'eaux, après une étape de dilution, sur milieux BG11 solides. La deuxième méthode repose sur un préenrichissement préalable dans un milieu BG11 liquide suivi par étalement sur BG11 solides.

• Méthode par étalement direct sur BG11 solide

Dans cette technique, des dilutions successives à partir de chaque échantillon d'eau ont été préparées en ajoutant 1 ml de cultures aux tubes à essai contenant 9 ml de BG11 ou BG11-NaCl liquides stériles sous bec bunsen, soit la dilution 10^{-1} . Bien mélangé le tube à essai de la première dilution avant de prendre 1 ml de ce tube et l'ajouter à 9 ml BG11, soit la dilution 10^{-2} . Répéter la procédure jusqu'à arriver à la dilution la faible souhaitée. Pour les échantillons de la STEP de Chenoua, une visualisation microscopique d'une goutte d'échantillons (agrandissement G40) n'a pas révélé la présence de microalgues ce qui nous a mené à limiter la dilution à 10^{-2} . Cependant, l'échantillon du bassin de la ferme marine a montré une abondance

de microalgues traduite par un bloom vert et une observation d'un nombre important d'isolats sous microscope. Pour cela nous avons étendu les dilutions jusqu'à 10^{-4} . Ensuite et à partir de chaque tube et des échantillons mères d'eaux nous avonsensemencé en surface (étalement par râteau) 0,1 ml sur les milieux solides BG11 et BG11-NaCl (Figure14). Les boîtes de pétri ont été incubées à une température de 25 °C et une luminosité continue d'environ 2000 Lux pendant 15 jours.

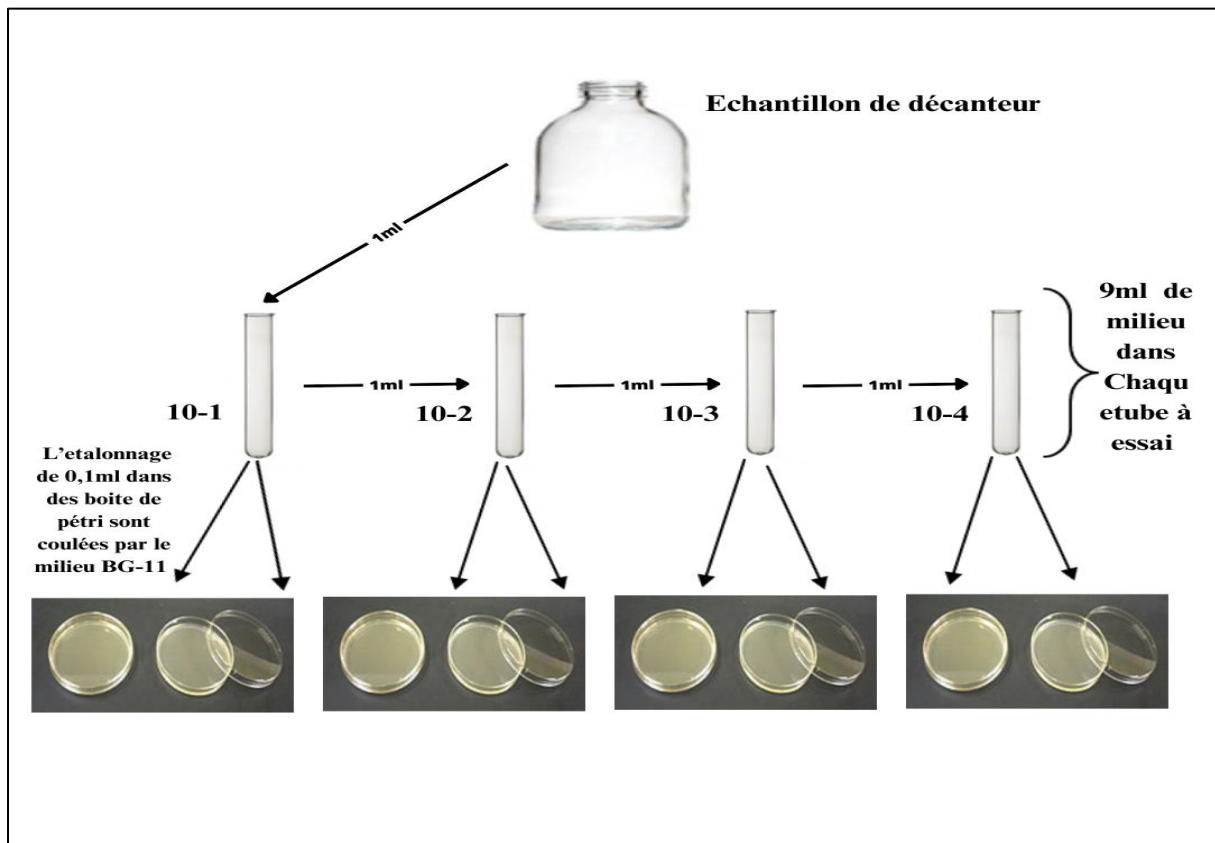


Figure 13: Schéma de l'isolement des microalgues sur milieu solide.

- **Méthode par pré-enrichissement**

Le protocole de pré-enrichissement des effluents prélevés à partir la station d'épuration et le bassin d'eau saumâtre de la ferme du CNRDPA est réalisé selon les étapes suivantes :

Pour les échantillons provenant du bassin biologique et du décanteur secondaire de STEP de Chenoua, nous avons prélevé 50 ml et les ajouter à 150 ml de milieu BG11 stérile dans des erlenmeyers de 500 ml.

Pour l'échantillon provenant du bassin de la ferme du CNRDPA, nous avons ajouté seulement 10 ml de l'échantillon à 190 ml de milieu BG11-NaCl stérile dans un erlenmeyer de 500 ml de contenance.

Les erlenmeyers contenant les échantillons pré-enrichis ont été incubés à une température de 25 °C et une vitesse d'agitation de 150 tr/min avec un éclairage continu (environ 1000 Lux) pendant 15 jours.

Après cette étape, nous avons effectué l'ensemencement en surface des microalgues pré-enrichies sur des milieux BG11 solides. Les boîtes contenant ces milieux ont été incubées pendant 15 jours dans le réfrigérateur-incubateur. Les colonies isolées et bien développées ont été sélectionnées pour l'étape de purification.

II.1.4. Purification des isolats de microalgues

Pour effectuer la purification des microalgues, nous avons utilisé les colonies obtenues à partir des boîtes de la première méthode d'isolement. La sélection des colonies à purifier s'est faite à l'aide d'un microscope optique avec un grossissement de $\times 100$.

Le microscope optique nous a permis d'observer les colonies de microalgues de manière détaillée, en mettant l'accent sur leur morphologie, leur taille et d'autres caractéristiques distinctives. En ajustant la mise au point et l'éclairage.

Une fois les colonies sélectionnées, nous avons effectué des repiquages successifs sur le milieu BG11 solide par la méthode des stries pour obtenir des souches pures. Le repiquage consiste à transférer un fragment de colonie, à l'aide d'une anse de platine, à une nouvelle boîte de pétri contenant le BG11. Ce processus a été répété plusieurs fois jusqu'à l'arrivée à des souches pures.

II.2. Traitement des eaux aquacoles par les microalgues purifiées

II.2.1. Nature de l'effluent à traiter

Dans le cadre de notre étude, nous avons sélectionné une eau d'un bassin d'élevage de tilapia situé à l'École Supérieure Nationale des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral (ENSSMAL). Avant de procéder au traitement de cette eau par les microalgues, nous avons le filtré sur disque filtrant standard (porosité 5-10 μm) puis l'autoclavé avant d'effectuer une analyse physicochimique pour le caractériser.

Cette caractérisation consiste en mesure des paramètres in-situ à savoir : la température (°C), le potentiel hydrogène (pH), la conductivité électrique ($\mu\text{s}/\text{cm}$), la salinité (PSU) et l'oxygène dissous (mg/l), ainsi qu'une analyse chimique des nitrates, nitrite, ammonium, phosphate total, azote total et demande chimique on oxygène.

II.2.2. Préculture et sélection des souches performantes

A partir des isolats purifiés avec la 1^{ère} méthode, nous avons sélectionné 10 boîtes contenant des isolats purifiés ; dont 5 isolats provenant du décanteur secondaire, 2 isolats de l'aérateur biologique de la STEP de Chenoua et 3 isolats du bassin de la ferme du CNRDPA. À l'aide d'une anse de platine, nous avons prélevé un fragment de colonie de chaque isolat et le transféré dans des erlenmeyers contenant 50 ml de milieu BG11 stérile.

Les erlenmeyers ont été couverts par du papier aluminium et placés dans l'incubateur agitateur à une température de 25 °C et à une vitesse de 150 tours/min avec une luminosité de 1000 LUX pendant 15 jours.

Pour suivre la croissance des isolats, nous avons effectué des mesures régulières de la densité optique à une longueur d'onde de 750 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Nous avons sélectionné les isolats présentant une croissance maximale.

II.2.3. Identification des isolats performants

Après 15 jours d'incubation, nous avons identifié les isolats à forte croissance. Ces isolats seront utilisés pour le traitement des eaux aquacoles. Ils ont été identifiés par microscope inversé selon le protocole suivant :

Pour l'observation des microalgues, la préparation de l'échantillon implique de fixer les organismes avec du Lugol. Ensuite, il est nécessaire d'homogénéiser l'échantillon en effectuant 30 retournements doux du flacon ou en utilisant un agitateur mélangeur rotatif. Une fois l'échantillon homogénéisé, il faut remplir la chambre d'observation en veillant à ne pas piéger de bulles d'air. Pour assurer une sédimentation adéquate, il est recommandé de placer la chambre sur un plan horizontal à l'abri de la lumière directe, en évitant les vibrations. De plus, il est important de noter que le temps de sédimentation dépend du volume de la cuve : il faut compter environ 8 heures pour une cuve de 10 ml. (Figure 15) (Neaud Masson, 2015).

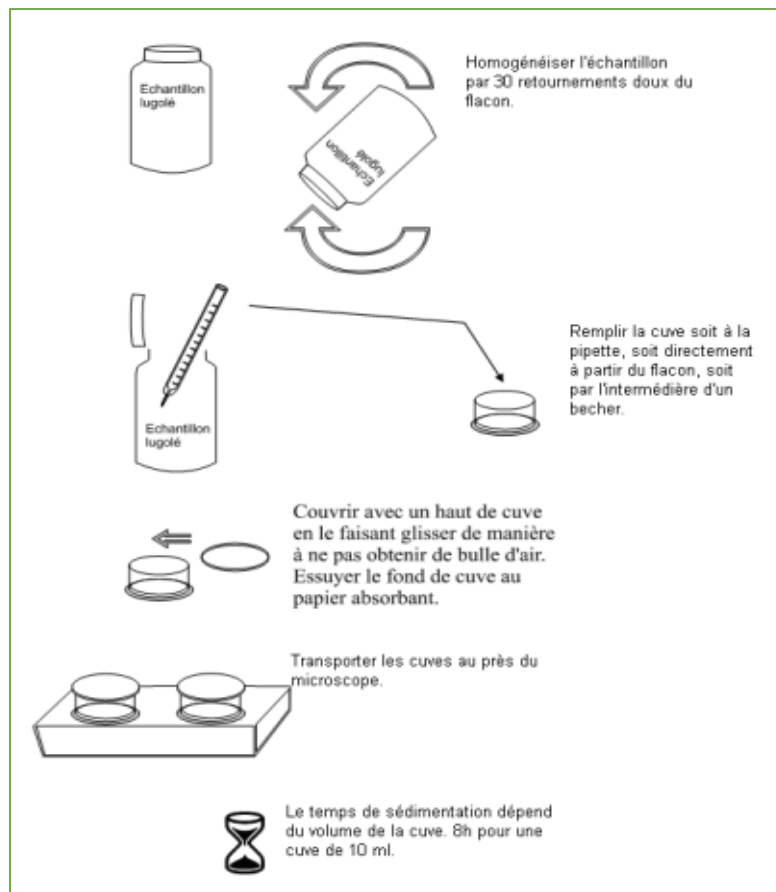


Figure 14: Etapes de préparation pour l'analyse par microscope inversé en chambre de sédimentation

L'identification des cellules repose sur l'observation visuelle des caractères morphologiques et des attributs remarquables, en utilisant des documents de référence et des clés d'identification.

II.2.4. Traitement d'effluent

Avant d'introduire l'effluent du bassin de Tilapia dans notre système de traitement, nous avons pris des mesures préliminaires pour assurer sa qualité. L'eau du bassin de tilapia a été d'abord filtrée à travers un filtre de 10 μm afin d'éliminer les particules en suspension et les matières solides. Par la suite, pour prévenir toute contamination bactérienne, l'eau filtrée a été soumise à un processus d'autoclavage à une température de 120 °C pendant 20 minutes.

Une fois l'eau du bassin de tilapia filtrée et autoclavée, nous l'avons ajoutée à l'inoculum des isolats sélectionnés en respectant un rapport de 10/1 (v/v). Ensuite, les erlenmeyers contenant les cultures ont été placés à l'incubateur agitateur dans les mêmes conditions citées auparavant pour une période d'un mois.

II.2.5. Suivi de l'efficacité de traitement

Durant la période de traitement, un suivi régulier a été effectué pour évaluer la croissance et l'efficacité du traitement par les microalgues sélectionnées. Ces analyses ont permis de déterminer les caractéristiques de croissance (densité optique maximale, matière sèche, temps de croissance spécifique et temps de dédoublement cellulaire) et l'abattement de la charge polluante (DCO et nutriments).

Pour l'évaluation de croissance, deux méthodes ont été utilisées. Dans la première méthode, un volume de 2 à 3 ml de culture des microalgues est prélevé (dans des conditions d'asepsie) dont sa densité optique à 600 nm est lue dans un spectrophotomètre. Pour la deuxième méthode qui consiste en mesure de la matière sèche des microalgues, un volume de 15 ml est centrifugé (5000 tr/min pendant 10 min) dans des tubes tarés, le surnageant est jeté et nous récupérons le culot de la biomasse qui est séché à masse constante. La teneur des matières sèches est déterminée de la même façon que celle définie dans la section.

- **Détermination du temps de croissance spécifique (μ)**

A partir des courbes de croissance des microalgues (DO en fonction du temps) deux paramètres importants sont déterminés :

Le temps de croissance spécifique (μ), déterminé selon la formule suivante :

$$\mu = \frac{\ln X_t - \ln X_0}{t}$$

- **Détermination du temps de dédoublement des cellules**

$$dt = \frac{\ln 2}{\mu}$$

Avec : μ : taux de croissance spécifique (1/j)

dt : temps de dédoublement (j)

X_0 : Densité optique initiale de la culture

X_t : Densité optique de la culture au temps de prélèvement t

T : le temps (jours) (Godoy et Vázquez, 2006).

Pour la mesure de la DCO, nous avons récupéré, soigneusement, 10 ml de surnageant (obtenu après centrifugation) et l'analysé selon le protocole décrit plus haut. La même méthode de récupération de l'échantillon pour l'analyse de la DCO est appliquée pour le NT et le PT. Concernant l'analyse des sels nutritifs, nous avons filtré un volume total de 20 ml de surnageant sur une fibre de verre (garde GF/C) avant de le passer dans l'autoanalyseur.

L'abattement de la charge polluante est évalué par les rendements d'élimination (pour chaque paramètre), calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{P_0 - P_t}{P_0}$$

Avec P_0 : la concentration initiale du paramètre P (p. ex DCO) et P_t est la concentration du paramètre P au temps de prélèvement t.

CHAPITRE III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

III.1. Isolement des d’espèces de microalgues à partir des eaux usées

III.1.1. Caractérisation des échantillons

Les performances de traitement des eaux usées sont évaluées régulièrement dans les laboratoires de la STEP de Chenoua afin de s’assurer de la conformité des eaux usées rejetées aux normes de rejets. Le tableau 4 présente les résultats de suivi de quelques paramètres de pollution (analysés aux laboratoires de la STEP) de l’eau brute (eaux usées urbaines réceptionnées de la région) et de l’eau épurée (après passage de décanteur secondaire puis de désinfection) pendant la période de prélèvement de nos échantillons.

Tableau4:Caractérisation physico-chimique des eaux usées de la STEP de Chenoua avant et après traitement

Paramètre	Eau brute	Eau Epurée	Efficacité de traitement (%)	Normes derejets ³
pH ¹	7,70±0,09	7,99±0,05	-	6,5 – 8,5*
T (°C) ¹	16,46±2,57	11,98±3,28	-	30*
Cond (µS/cm) ¹	1950,6±193,73	1722,2±96,45	-	
MES (mg/l) ¹	343,6 ±210,95	10,70±4,94	96,89	30*
DCO (mg/l) ¹	596,8±102,16	35,48±11,29	94,05	120*
DBO ₅ (mg/l) ²	282,5±36,06	3,95±0,21	98,60	40*
NT (mg/l) ²	70,4±17,68	13,08±13,89	81,42	20*
N-NH ₄ (mg/l) ²		10,59±14,58		
N-NO ₃ (mg/l) ²	0,99±0,22	0,89±0,32	10,19	
N-NO ₂ (mg/l) ²	0,17±0,08	0,09±0,05	47,13	
PT (mg/l) ²	5,04±1,02	7,27±1,68	-44,25	10*
PO ₄ (mg/l) ²	4,24±0,18	5,65±0,46	-33,29	2**

¹ : Moyenne de cinq (05) mesures ou analyses durant le mois de Mars 2023.

² : Moyenne de deux (02) mesures ou analyses durant le mois de Mars 2023.

³ : Valeurs limites des paramètres de rejets d’effluents liquides industriels extraites* du décret exécutif n° 06-141 (JORA, 2006) et ** du décret exécutif n° 93-161 (JORA, 1993).

D’après le Tableau 4, les valeurs du pH des eaux entrantes et sortantes de la STEP de Chenoua varient de 7,70 et augmente jusqu’à 7,99 après le traitement, mais restent dans les normes de la réglementation algérienne. Quant aux températures des eaux entrantes et sortantes de la STEP Chenoua, elles se situaient entre 12°C et 16°C.Ces valeur sont été assez inférieures à la température limite, indiquée dans la réglementation algérienne (30°C). La conductivité de l'eau

a varié en fonction de la quantité d'ions dissous, ce qui peut être influencé par la géologie locale, les sources d'eau et les activités humaines. Dans certains cas, une conductivité élevée peut indiquer la présence de polluants, mais cela dépend de la source d'eau et de la région. L'eau usée rejetée de la STEP de Chenoua ne présente donc aucun déséquilibre sur les milieux récepteurs. Les teneurs des matières en suspension (MES) diminuent considérablement après traitement et sont donc conformes à la norme algérienne en vigueur. Quant à la Demande Biochimique en Oxygène (DBO_5), la STEP de Chenoua est dotée d'une haute efficacité dans le traitement de la charge organique biodégradable des eaux usées (rendement = 98,6%), ce qui rend l'eau épurée conforme à la réglementation algérienne. Les valeurs de la Demande Chimique en Oxygène (DCO) des eaux brutes et épurées de la STEP Chenoua ont diminué de 596,8 mg/L à 35,48 mg/L ; un rendement d'élimination élevé de la pollution organique assure une eau usée de bonne qualité. Ainsi, les eaux brutes entrantes dans la station d'épuration ont une valeur moyenne d'Azote Total (NT) élevée qui diminue après le traitement. Pour le Phosphore Total, l'eau épurée de STEP sort avec une teneur supérieure à celle de l'eau brute mais qui reste au-dessous de la valeur limite définie dans la réglementation nationale.

Selon les résultats du Tableau 4, les valeurs des sels nutritifs mesurés à l'entrée ont été faibles mais restent conformes à la norme algérienne ; exception observée pour l'ammonium dans l'eau épurée qui dépasse la limite recommandée. Enfin pour les orthophosphates, leur concentration à l'entrée est un peu élevée et qui augmente davantage à la sortie avec une valeur dépassant la limite définie par la réglementation.

Globalement, la STEP de Chenoua est caractérisée par une haute efficacité de traitement en ce qui concerne les paramètres MES, DBO_5 , DCO et NT, mais qui échoue quand il s'agit de traitement tertiaire de la pollution azotée et phosphatée.

Les échantillons prélevés de la STEP de Chenoua (Tableau 5) et du bassin de la ferme du CNRDPA (Tableau 6) pour isoler des microalgues adaptées ont été analysés afin de connaître les caractéristiques de chacun d'eux.

Tableau 5: Caractérisation physico-chimiques d'échantillons d'eaux usées prélevées de la STEP de Chenoua.

Paramètre	Bassin biologique	Décanteur secondaire
T (°C)	23,34	23,93
Sal (PSU)	0,85	0,87
OD (mg/l)	0,03	0
Cond (µS/cm)	1691	1723
pH	7,64	7,53
MES (mg/l)	3688,33±292,80	81,63
DCO (mg/l)		124,80
NO ₂ (µmol/l)	1,26	2,66
NO ₃ (µmol/l)	1,71	3,35
NH ₄ (µmol/l)	20,94	1,62
PO ₄ (µmol/l)	1,12	1,08
SiO ₂ (µmol/l)	1,87	5,00
NT (µmol/l)	21,25	7,06
PT (µmol/l)	2,00	3,12

Tableau6:Caractérisation physico-chimiques d'échantillons d'eaux usées prélevées du bassin de la ferme marine du CNRDPA

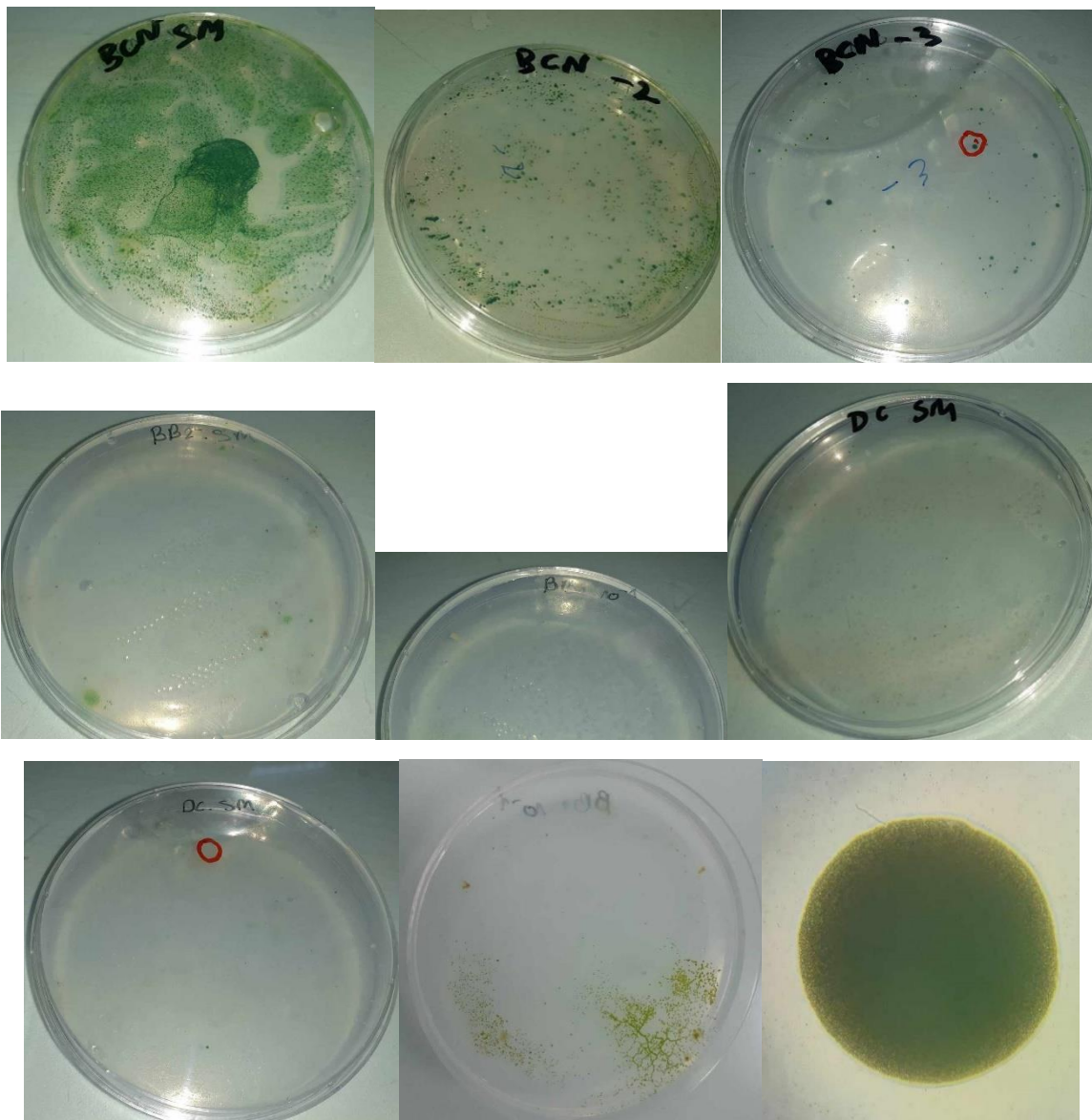
Paramètre	Moyenne
T (°C)	27,21
Sal (PSU)	30,30
OD (mg/l)	7,09
Cond (µS/cm)	4674
pH	8,34
MES (mg/l)	683,96
DCO (mg/l)	-
NO ₂ (µmol/l)	1,04
NO ₃ (µmol/l)	1,76
NH ₄ (µmol/l)	2,89
PO ₄ (µmol/l)	1,21
SiO ₂ (µmol/l)	66,73
NT (µmol/l)	5,51
PT (µmol/l)	2,45

D'après les résultats des Tableaux 5 et 6, la température du bassin de CNRDPA (27,2°C) est élevée par rapport au décanteur (23,9°C) et du bassin biologique (23,2°C). Les températures élevées accélèrent généralement la croissance des microalgues ; par contre, les basses températures entraînent une inhibition de la croissance des microalgues (Munoz et Guieysse, 2006). La salinité est l'une des principaux facteurs de contrôle du taux de croissance des

microalgues. Des études ont montré que les microalgues ont leur propre salinité de croissance optimale, lorsque la salinité est supérieure ou inférieure à celle-ci, le taux de croissance des microalgues diminuera considérablement (Besson *et al*, 2013). Le degré de salinité permet de classer l'eau selon les catégories suivantes : eau douce à saumâtre (0,5 à 5 PSU), eau saumâtre à salée (18 à 30 PSU) et eau salée (> 30 PSU) (Hecker *et al*, 1996). Les échantillons de la STEP de Chenoua sont donc classés comme eau douce, tandis que l'échantillon de ferme marine du CNRDPA est classé comme dans la catégorie des eaux saumâtre à salée. Les teneurs d'oxygène dissous du décanteur et du bassin biologique de la STEP sont très basses par rapport aux indications réglementaires (> 7mg/L) (Mehimeh *et al*, 2005). Elle peut s'expliquer par la diminution de l'intensité de la photosynthèse, qui est causée par la diminution de la biomasse végétale pendant cette période froide (mois de mars) et des facteurs climatiques défavorables (Gaujous, 1995). Les échantillons de la STEP et celui de la ferme du CNRDPA présentent un pH favorable à la vie aquatique en général (6,5 - 8,5) et considérés comme un environnement favorable au développement des microalgues (Sigg *et al.*, 2006). La concentration de MES est très élevée dans le bassin biologique suivie par le bassin de CNRDPA puis le décanteur, à cause du système d'épuration (à boues activées) dans le bassin biologique (qui re-circule une partie des boues décantées dans l'aérateur biologique). Pour le bassin du CNRDPA, les eaux rejetées sont considérées comme eaux usées brutes (sans traitement), elles sont donc logiquement chargées en MES. La concentration élevée en MES des échantillons est en partie, responsable du taux d'oxygène dissous rencontré. Néanmoins, pour des fins d'isolement de microorganismes, les échantillons d'eaux chargées en MES peuvent constituer un support adéquat permettant d'attacher les microalgues par mécanismes d'adsorption. Zhang *et al.*, (2013) a réussi à isoler des microalgues à partir d'un biofilm de boues activées attaché aux murs de l'aérateur biologique d'une STEP. Par rapport aux éléments azotés et phosphorés, nous remarquons que l'échantillon du bassin biologique de la STEP de Chenoua est relativement pauvre de tous les éléments à l'exception de NH_4 et NT. L'échantillon du décanteur est aussi caractérisé par de faibles concentrations de tous les composés azotés et phosphorés, tandis que l'échantillon de la ferme du CNRDPA est très riche en SiO_2 et relativement pauvre en autres éléments. Des concentrations équilibrées en N et P augmentent la chance de réussir l'isolement des microalgues, alors que des eaux riches en silicates pourront constituer un environnement favorable au développement des diatomées.

III.1.2. Isolement de microalgues épuratrices d'eaux usées

Les échantillons prélevés des trois bassins, ensemencés sur milieu BG11 solide ont permis d'obtenir un nombre très important de colonies de microalgues. En termes de diversité, ce sont respectivement l'échantillon du décanteur secondaire suivi par celui du bassin biologique de la STEP de Chenoua qui a présenté une diversité taxonomique de microalgues isolées. Les espèces isolées appartiennent aux groupes suivants : cyanobactéries, algues vertes et diatomées. Pour l'échantillon du bassin de la ferme marine du CNRDPA, nous signalons la prédominance du groupe des algues vertes (Chlorophyta). Quelques photomicrographies représentatives des microalgues isolées sont présentées dans la Figure 16.



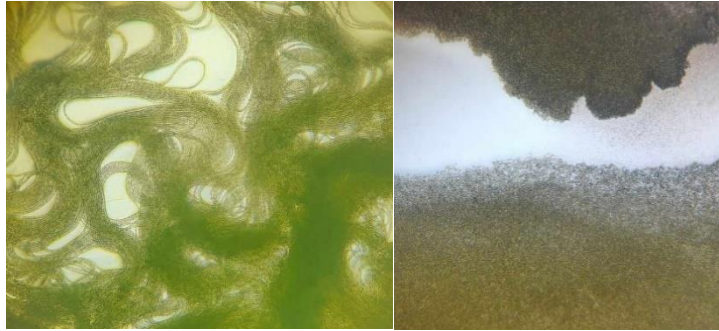


Figure 15: Aspects macroscopique et microscopique de quelques isolats obtenus à partir des trois sites d'échantillonnage. (Les trois dernières photos ont été prises avec un grossissement de 100 fois sous microscope photonique.)

Après isolement, dix souches ont été soumises à un criblage pour sélectionner les meilleures souches épuratrices d'eaux usées.

III.2. Traitement d'une eau usée aquacole par les isolats de microalgues obtenus

III.2.1. Caractérisation de l'effluent

Afin de montrer la capacité épuratrice des microalgues isolées, nous avons choisi de travailler sur une eau issue de l'élevage de Tilapia du Nil. Avant de procéder aux expériences, cette eau a été préfiltré puis autoclavée afin d'éliminer toute forme de vie capable d'interférer sur le résultat de traitement de l'eau usée par les souches de microalgues. La caractérisation physicochimique de cette eau usée est présentée dans le Tableau 7.

Tableau7: Caractérisation de l'eau d'élevage du Tilapia avant (AV) et après (AP) autoclavage

Paramètres	AV	AP
T (°C)	22,43	35,18
Sal (PSU)	0,35	0,29
OD (mg/l)	5,14	1,75
Cond (µS/cm)	712	605
pH	7,7	9,03
DCO (mg/l)	67,2	38,4
NO ₂ (µmol/l)		3,29
NO ₃ (µmol/l)		4,09
NH ₄ (µmol/l)		24,56
PO ₄ (µmol/l)		1,22
SiO ₂ (µmol/l)		17,91
NT (µmol/l)		29,75
PT (µmol/l)		2,93

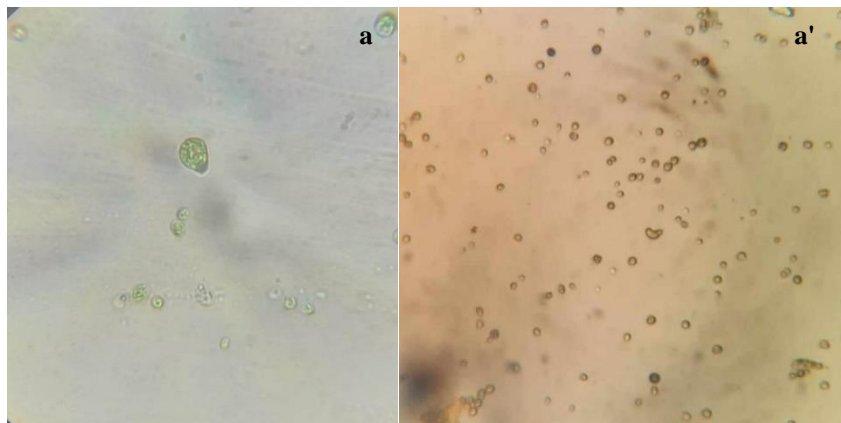
Les résultats ont montré que l'eau usée à traiter est classé comme une eau douce (de faible salinité et conductivité) avec un pH basique, un faible taux d'oxygène (nécessité d'une aération ou agitation des échantillons à traiter). Cette eau est aussi caractérisée par une faible DCO (qui représente la charge polluante organique), un contenu assez riche en azote total (qui inclue toutes les formes organique et inorganique) et faible en phosphore totale (minéral et organique), des concentrations élevées en ammonium et silicates et de concentrations relativement des autres éléments nutritifs minéraux. De ce fait, l'eau à traiter peut constituer un milieu favorable pour la croissance des souches de microalgues à cause de sa richesse en éléments azotés et phosphorés.

De l'autre côté, nous remarquons que la préfiltration et l'autoclavage de l'eau change un peu sa composition physicochimique notamment la matière organique et la salinité (conductivité). Cependant pour l'oxygène dissous, c'est la température qui a causé la diminution du taux d'oxygène dissous de l'eau ; le retour aux températures ambiantes va permettre à l'eau de retourner à son état initial (du fait que la solubilité de l'oxygène est inversement proportionnelle à la température (Zenati et al, 2023).

III.2.2. Croissance des isolats de microalgues

III.2.2.1. Identification des isolats sélectionnés

La figure 17 présente une photomicrographie des cinq isolats de microalgues sélectionnés dans le traitement de l'eau usée aquacole.



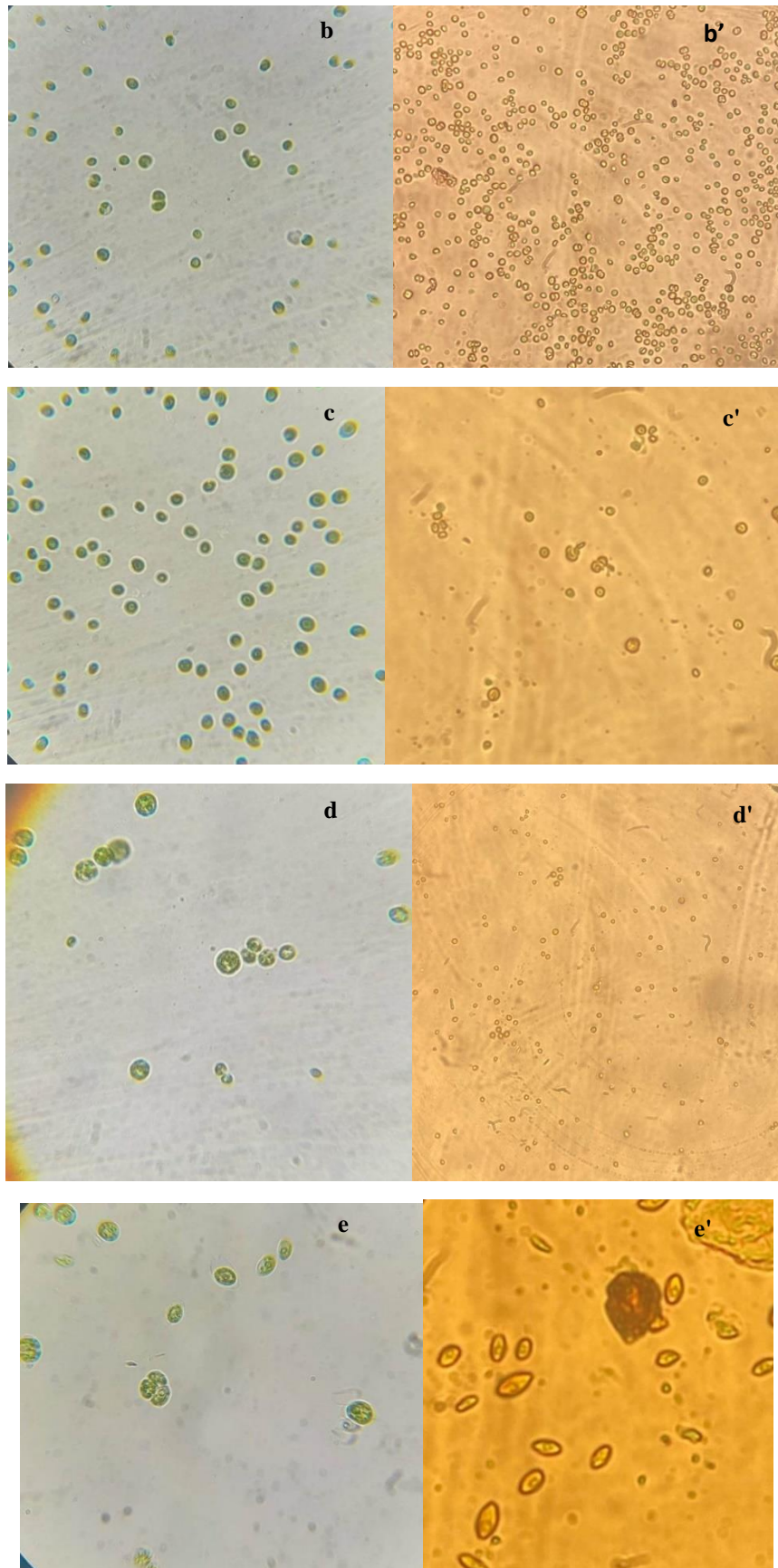


Figure 16: Visualisation microscopique des isolats de microalgues. a) Isolat 1 G \times 100, a') Isolat 1 G \times 40 ; b) Isolat 2 G \times 100, b') Isolat 1 G \times 40 ; c) Isolat 4 G \times 100, c') Isolat 4 G \times 40 ; d) Isolat 5 G \times 100, d') Isolat 5 G \times 20 ; e) Isolat 10 G \times 100, e') Isolat 1 G \times 100.

L'analyse microscopique des échantillons a permis une identification préliminaire des isolats probablement appartenant au genre *Chlorella*. En raison de la grande diversité des microalgues et du fait que la plupart des espèces d'un certain genre (par exemple, *Chlorella*) présentent une morphologie et des caractéristiques analogues dans les formes cellulaires, l'identification précise des espèces nécessite le recours aux moyens de la biologie moléculaire (séquençage du gène codant de l'ARNr 18S). Morando-Grijalva *et al*, (2020) ont isolé des microalgues à partir d'eau douce qui a été prélevé dans l'écloserie de tortues. Les souches identifiées par la biologie moléculaire, appartenaient à *Chlamydomonas rapa* (98,5% de similitude), *Chlamydomonas bacca* (97,5% de similitude) et *Chlamydomonas sphagnophila* (84% de similitude). Izadpanah *et al*, (2018) ont isolé des couches de *Chlorella sorokiniana* IG-W-96 (100% de similitude), *Chlorella vulgaris* IG-R-96 (100% de similitude), et *Chlorella* sp. IG-B-96 (100% de similitude) à partir d'une eau usée. Reda *et al*, (2014) ont isolé des souches de microalgues codées YSL03, YSL04, et YSL07, à partir d'un lac d'eau douce, dont leur identification phylogénétique a été respectivement confirmée comme *Chlamydomonas pitschmannii* (une similitude de séquence de 99%), *Chlorella vulgaris* (97% de similitude) et *Chlamydomonas mexicana* (97% de similitude).

III.2.2.2. Cinétique de croissance des isolats de microalgues dans l'effluent du Tilapia

La figure 18 présente la cinétique de croissance des isolats de microalgues dans l'effluent issu du bassin d'élevage du Tilapia.

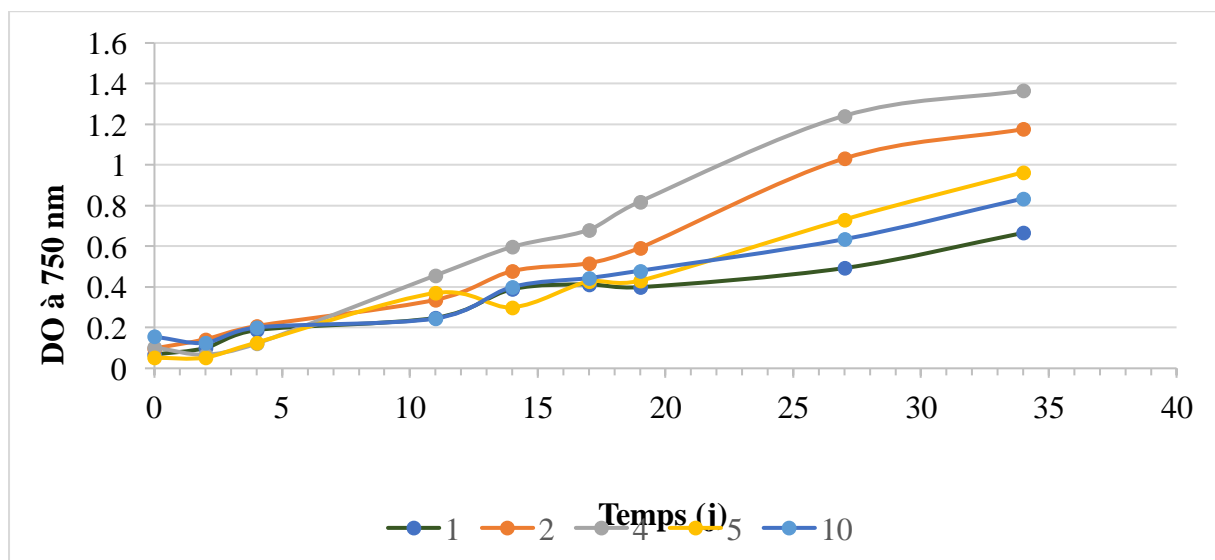


Figure 17: Croissance des isolats de microalgues dans l'effluent issu du bassin d'élevage du Tilapia

Les courbes de croissance des cinq isolats de microalgues dans l'eau d'élevage de Tilapia révèlent un développement favorable de tous les isolats dans cet effluent. Une phase de latence de 11 jours a été constatée pour tous les isolats, à l'exception de l'isolat 4 qui a présenté une phase de latence plus courte de 4 jours. Après cette phase, une croissance exponentielle a été enclenchée pour tous les isolats, continuant jusqu'à la fin de l'expérience, à l'exception des isolats 2 et 4. Ces derniers ont montré un ralentissement de croissance, suggérant que la croissance maximale a été atteinte et que la phase stationnaire commence.

L'isolat 4 s'est distingué par une vitesse de croissance supérieure et une DO maximale de 1,365 au 34^{ème} jour, tandis que l'isolat 1 a montré une DO maximale la plus basse à 0,666. Ces résultats mettent en évidence la supériorité en termes de croissance des isolats 4 et 2 par rapport aux autres. En effet, la croissance des isolats de microalgues dans l'effluent du Tilapia utilisés, dépasse celle rapportée par Abdelaziz *et al.* (2014), qui ont étudié des microalgues capables de croître dans des eaux épurées urbaines (une DO maximale variant entre 0,2 et 1,1).

Toutefois, Santos-Ballardo *et al.* (2015), ont rapporté une DO maximale similaire à la nôtre ($1,9481 \pm 0,0019$) pour une souche de microalgues *Nannochloropsis gaditana* cultivée dans un milieu synthétique de Guillard et Ryther (1962). Les résultats de croissance de nos isolats sont donc comparables à ceux rapportés dans la littérature dans des conditions opératoires similaires.

Les cinétiques de croissance des isolats de microalgues ont permis de déduire certains paramètres concernant les performances de croissance. Les résultats de ces paramètres sont portés dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Performance de croissance des isolats de microalgues développés sur l'effluent du Tilapia.

Isolats	MS _{max} (g/l)	DO _{max}	Temps de max _{croissance}	μ (1/j)	dt (j)
1	0,3071	0,666	34	0,097±0,118	7,18
2	0,6524	1,176	34	0,093±0,066	7,44
4	0,3643	1,365	34	0,071±0,147	8,82
5	0,4000	0,964	34	0,095±0,155	7,33
10	0,4238	0,835	34	0,058±0,103	11,89

Les performances de croissance révèlent quelques différences entre les isolats de microalgues pour certains paramètres de croissance. La biomasse algale maximale atteinte (exprimée en matière sèche) varie de 0,31 g/l pour l'isolat 1 à une valeur maximale de 0,65 g/l pour l'isolat 2, ce qui indique des niveaux différents de biomasse produite par unité de volume. Les valeurs de

biomasse obtenues dans notre étude, sont faibles par rapport aux résultats des études antérieures. En effet, le travail de Chen *et al.* (2020) a montré qu'une souche de *Chlorellasorokiniana* cultivée dans des eaux usées porcines a atteint une biomasse élevée (allant jusqu'à 5,45 g/l). De plus, les travaux de Bhatnagar *et al.* (2011) et de Wang *et al.* (2018) ont révélé que plusieurs souches de microalgues ont affiché une productivité algale supérieure à 3 g/l dans les eaux usées de volaille.

De même, la densité optique maximum (DO_{max}) varie de 0,666 à 1,365, ce qui indique (comme nous l'avons déjà évoqué plus haut) un comportement différent de chaque isolat.

Le temps de croissance maximal est constant pour tous les isolats (34 jours) montrant ainsi la tolérance des microalgues à poursuivre leur développement dans cette eau usée.

Le taux de croissance spécifique (μ) présente des valeurs proches pour les isolats 1, 5 et 2. Une valeur minimale pour l'isolat 10 et une valeur intermédiaire pour l'isolat 4. Ces variations indiquent des vitesses de croissance différentes entre les isolats ; Le taux croissance spécifique de nos isolats de microalgues dans l'effluent du Tilapia variant entre $0,058 \pm 0,103 \text{ j}^{-1}$ et $0,097 \pm 0,118 \text{ j}^{-1}$. Ces valeurs sont inférieures à celles rapportées par Ferro *et al.* (2018), où les microalgues ont montré un taux de croissance spécifique d'environ $0,98 \text{ j}^{-1}$ dans une eau usée municipale. En outre, Zhou *et al.* (2011), ont rapporté des taux de croissance plus élevés aux nôtres (de $0,455$ à $0,472 \text{ j}^{-1}$) pour des microalgues cultivées dans un effluent secondaire d'une station d'épuration. Cette différence peut être attribuée à plusieurs facteurs, tels que les caractéristiques spécifiques de l'effluent aquacole, les conditions de culture et les souches de microalgues utilisées.

En concordance, le temps de doublement (**dt**) déterminé, suggère respectivement, que les isolats 1, 5 et 2 se reproduisent plus rapidement que les autres, avec des temps de doublement plus courts. Le dt de nos isolats de microalgues affichant des durées plus longues à celles observées dans l'étude menée par Santos-Ballardo *et al.* (2015). Dans cette dernière, le temps de doublement de quatre espèces de microalgues (*Chaetoceroscalibras*, *Isochrysisaffinisgalbana*, *Nannochloropsisgaditana*, *Phaeodactylumtricornutum*), cultivées dans le milieu de Guillard et Ryther (1962), varie entre $2,1 \pm 0,09$ jours et $4,76 \pm 0,59$ jours.

En analysant les taux de croissance spécifique et les temps de doublement, nous pouvons conclure que les microalgues étudiées dans le traitement des eaux usées aquacoles présentent une croissance relativement ralentie. Cette faiblesse de nos isolats pourrait être surmontée si

nous optimisons les conditions de culture pour chaque souche (température, période et intensité de luminosité, type de l'expérience : erlenmeyers ou en bioréacteurs).

III.2.3. Elimination de la pollution organique et des nutriments par les isolats sélectionnés

Les figures 19 à 26 illustrent l'évolution temporelle de certains paramètres de suivi de l'effluent du Tilapia, traduisant les effets des différents traitements par microalgues sur l'élimination de la pollution organique et des nutriments.

III.2.3.1. Elimination de la pollution organique

La figure 19 présente l'évolution temporelle de la demande chimique en oxygène (DCO) de l'effluent du Tilapia traité par les isolats de microalgues sélectionnés. Cette courbe reflète les changements de concentration de la DCO au fil du temps, offrant ainsi des informations précieuses sur l'efficacité des traitements par les microalgues dans l'élimination de la pollution organique.

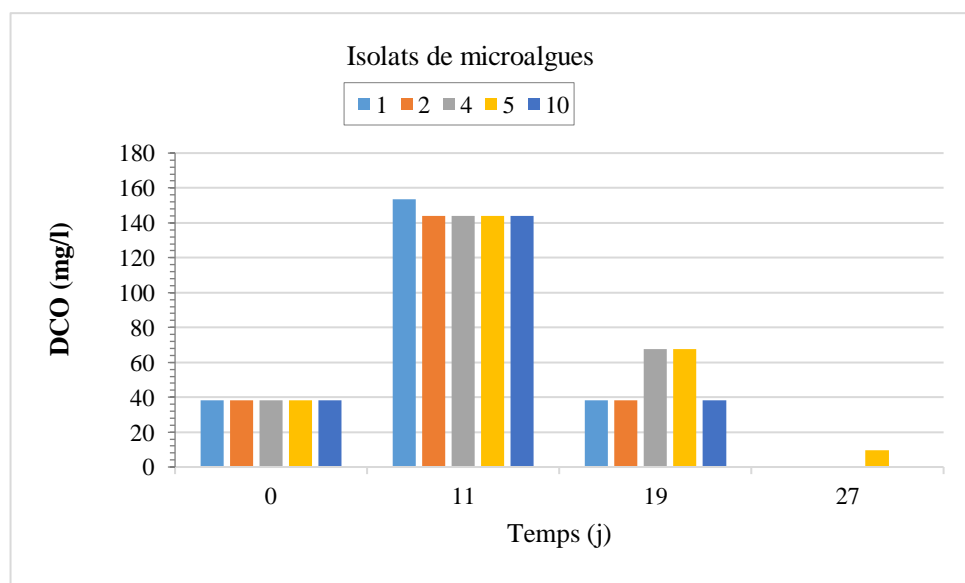


Figure 18: Evolution temporelle de la DCO de l'effluent du Tilapia traité par les isolats de microalgues.

La courbe de l'évolution de la DCO montre qu'au début de l'expérience (t_0), la concentration en DCO était de 38,4 mg/l pour tous les isolats. Après 11 jours de traitement, une augmentation de la DCO a été observée, atteignant 153,6 mg/l pour l'isolat 1 et 144 mg/l pour les autres isolats. Une diminution de la DCO à des niveaux identiques de la DCO initiale pour les isolats 1, 2 et 10 et des niveaux un peu supérieurs pour les isolats 4 et 5 a été notée. Cependant, au dernier prélèvement (après 27 jours de traitement) une élimination totale de la DCO a été

achevée. Ces résultats affirment l'efficacité des microalgues isolés dans l'élimination de la pollution organique de l'effluent du Tilapia.

L'augmentation initiale de la DCO pourrait être attribuée à la libération de composés organiques par les microalgues pendant leur croissance. Cependant, au fur et à mesure que les microalgues se développent et s'adaptent à l'effluent, elles sont capables d'utiliser ces composés organiques comme source de nutriments, entraînant ainsi une élimination complète de la DCO. Cette capacité d'élimination de la DCO par les microalgues est similaire à ce qui a été mentionné dans l'étude de Chen *et al.* (2020), où la souche *Chlorella sorokiniana*, développée sur une eau usées des porcs a atteint un taux d'élimination de la DCO de 90,1%.

En outre, nos résultats sont comparables à ceux de Lv *et al.* (2018), qui ont trouvé un taux d'élimination de 92,17% par *Chlorella vulgaris*, cultivée dans des eaux usées du bétail. Aussi, Cui *et al.* (2020), qui ont documenté un taux d'élimination de 95,8% par la souche *Chlorella sorokiniana*, développée dans des eaux usées de l'industrie avicole.

Le résultat de ces travaux indique une haute efficacité des microalgues dans la réduction de la pollution organique et confirment le potentiel de ces microorganismes comme étant une solution écologiquement durable pour le traitement de la pollution organique générée par les effluents aquacoles.

Enfin, il est important de noter que l'augmentation de la DCO au début de l'expérience et sa diminution ultérieure pourrait être expliquée par un mode de développement mixotrophique des isolats de microalgues qu'utilisent à la fois la photosynthèse et l'absorption de nutriments organiques. Cette approche mixotrophique a également été discutée par Lopez-Sanchez *et al.* (2022), qui ont souligné l'importance de ce mode de culture dans l'élimination de la DCO des eaux usées d'élevage.

III.2.3.2. Elimination des nutriments

III.2.3.2.1. Elimination de l'azote total

La figure 20 montre les résultats de l'évolution de l'azote total de l'effluent du Tilapia suite aux différents traitements par les microalgues.

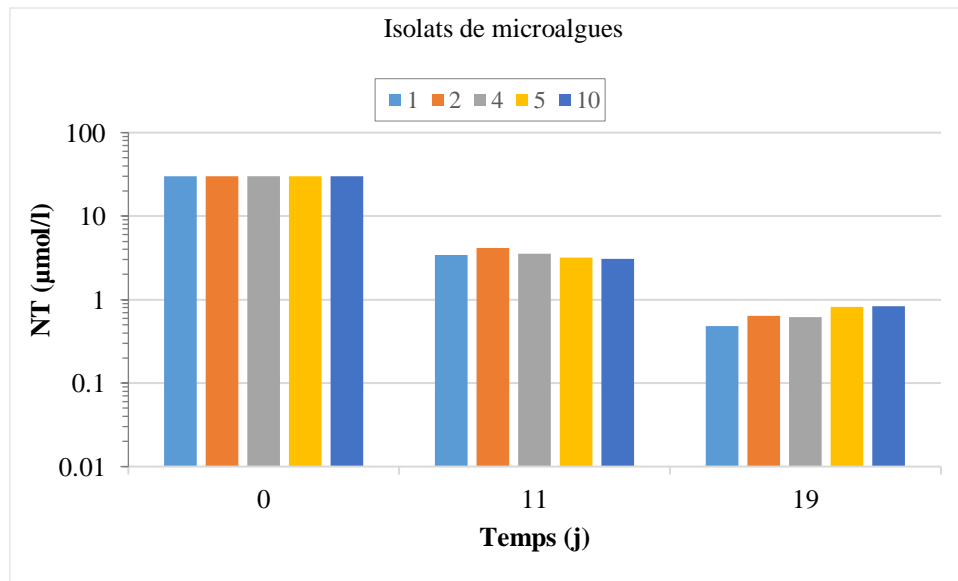


Figure 19: Evolution temporelle de l'azote total de l'effluent du Tilapia traité par les isolats de microalgues.

Les résultats de l'élimination de l'azote total dans l'eau de tilapia par les cinq isolats de microalgues montrent une diminution notable pour tous les isolats après juste 11 jours de traitement. L'effluent passe d'une charge initiale de 29,75 $\mu\text{mol/l}$ pour tous les isolats à une concentration minimale de 3,07 $\mu\text{mol/l}$ pour l'isolat 10 et une concentration maximale de 4,18 $\mu\text{mol/l}$ pour l'isolat 2. Le prélèvement ultérieur (effectué au 19^{ème} jour) a révélé une diminution continue de la concentration d'azote, atteignant une valeur minimale de 0,48 $\mu\text{mol/l}$ pour l'isolat 1 et une valeur maximale de 0,83 $\mu\text{mol/l}$ pour l'isolat 10. Ces résultats indiquent l'efficacité des isolats de microalgues dans l'élimination de l'azote total de l'effluent du Tilapia. Cette capacité d'élimination peut être attribuée aux mécanismes de fixation et d'assimilation de l'azote par les microalgues, qui jouent un rôle essentiel dans le processus de traitement des eaux usées.

Il est à noter que ces conclusions rejoignent celles des études antérieures. Le travail de Ferro *et al.* (2018), a révélé des réductions notables (de 92 à 97%) des concentrations de NT des eaux usées municipales locales après 13 jours de traitement par les microalgues. Ainsi, Lv *et al.* (2018) ont montré que la souche *C. vulgaris* élimine 94,28% de l'azote total des eaux usées du bétail.

III.2.3.2.2. Elimination du phosphore total

La figure 21 montre les résultats de l'évolution du phosphore total de l'effluent du Tilapia suite aux différents traitements par les microalgues.

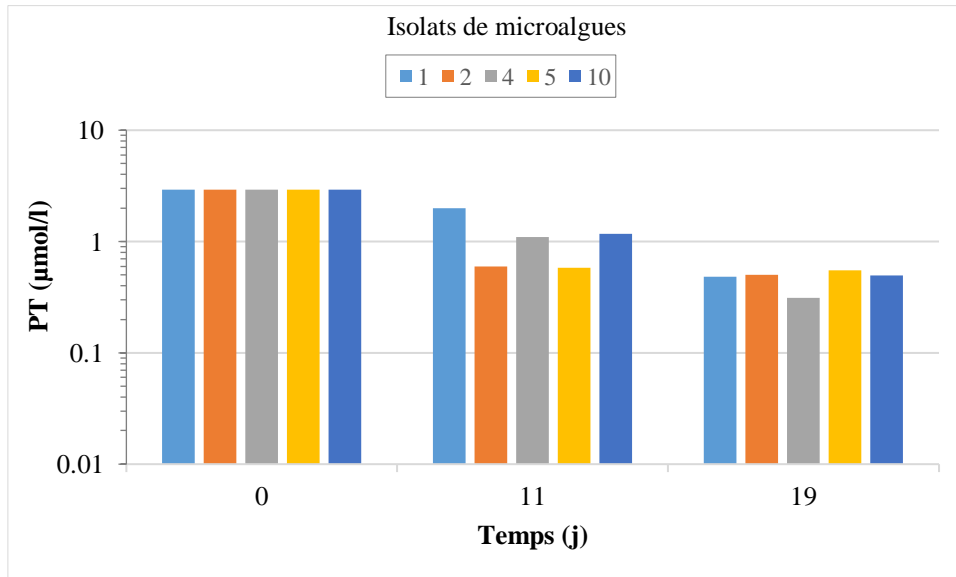


Figure 20: Evolution temporelle du phosphore total de l'effluent du Tilapia traité par les isolats de microalgues.

La figure 6 montre une concentration de phosphore total initiale de 2,93 µmol/l pour tous les isolats. Après 11 jours de traitement, une diminution significative de la concentration de phosphore total pour l'isolat 5 (PT = 0,58 µmol/l) et l'isolat 2 (PT = 0,59 µmol/l). Les isolats 10 et 1 ont permis de diminuer le PT à une valeur de 1,17 µmol/l et 1,99 µmol/l, respectivement. Les analyses ultérieures effectuées au 19^{ème} jour ont donné un abattement maximal des concentrations du PT, plus accentué pour l'isolat 1 (PT = 0,48 µmol/l) suivi par l'isolat 10 (PT = 0,49 µmol/l). Une réduction maximale du PT a été achevée dans le traitement avec l'isolat 4 (PT = 0,31 µmol/l). Ces résultats mettent en évidence la capacité des isolats de microalgues à éliminer le phosphore total de l'eau usée du Tilapia. Cette capacité d'élimination peut être attribuée aux processus de fixation et d'assimilation du phosphore par les microalgues, qui sont essentiels dans le traitement des eaux polluées.

Les résultats d'élimination du phosphore total sont en concordance à ceux rapportés par Ferro *et al.* (2018), qui ont signalé des concentrations initiales du phosphore total allant de 1,5 à 4,5 mg/l dans les eaux usées municipales locales et qui ont été réduites à presque 100% après seulement 13 jours de traitement par les microalgues. Lv *et al.* (2018), ont aussi abouti à un

taux d'élimination élevé du PT (94,41%) avec la souche *C. vulgaris*, qui croit dans les eaux usées du bétail.

III.2.3.2.3. Elimination des nitrites

La Figure 22 montre les résultats de l'évolution du phosphore total de l'effluent du Tilapia suite aux différents traitements par les microalgues.

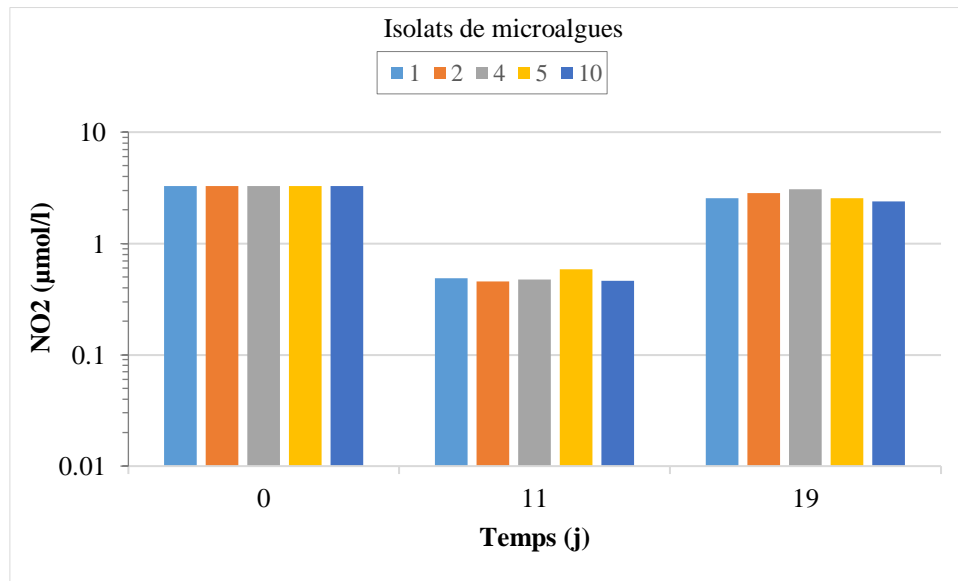


Figure 21: Evolution temporelle des nitrites de l'effluent du Tilapia selon les différents traitements par microalgues

Les résultats de l'élimination des nitrites, ont montré qu'au départ (t_0), l'effluent du Tilapia a une concentration en nitrites de $3,29 \mu\text{mol/l}$. Après 11 jours de traitement (t_1), une diminution significative de la concentration de nitrites a été observée, atteignant $0,45 \mu\text{mol/l}$ pour l'isolat 2 ; qui présente la plus forte élimination. L'échantillon de l'isolat 5 a montré la plus faible élimination des nitrites ($\text{NO}_2 = 0,58 \mu\text{mol/l}$). Cela se traduit par des rendements d'élimination des nitrites de 86,19% et 82,38% respectivement pour l'isolat 2 et l'isolat 5. Cependant, à t_2 (après 19 jours de traitement), une augmentation de la concentration de nitrites a été observée pour tous les isolats, ce qui est difficile à expliquer. La concentration la plus élevée de nitrites a été mesurée pour l'isolat 5 (une valeur de nitrites de $20,35 \mu\text{mol/l}$). Cette augmentation de la concentration peut être attribuée à la dégradation d'une partie de la biomasse, ce qui génère des sels et peut influencer les niveaux de nitrites mesurés. Les constatations concernant la réduction des nitrites suite aux traitements de l'effluent du Tilapia par nos isolats sont en concordance avec celles rapportées par Li *et al.* (2019). Les auteurs ont observé une diminution significative

des concentrations de N-NO₂ (98,0 ± 0,4%) grâce à l'utilisation d'un assemblage de diverses espèces marines pour traiter un effluent d'aquaculture.

III.2.3.2.4. Elimination des nitrates

La figure 23 montre les résultats de l'évolution des nitrates de l'effluent du Tilapia suite aux différents traitements par les microalgues.

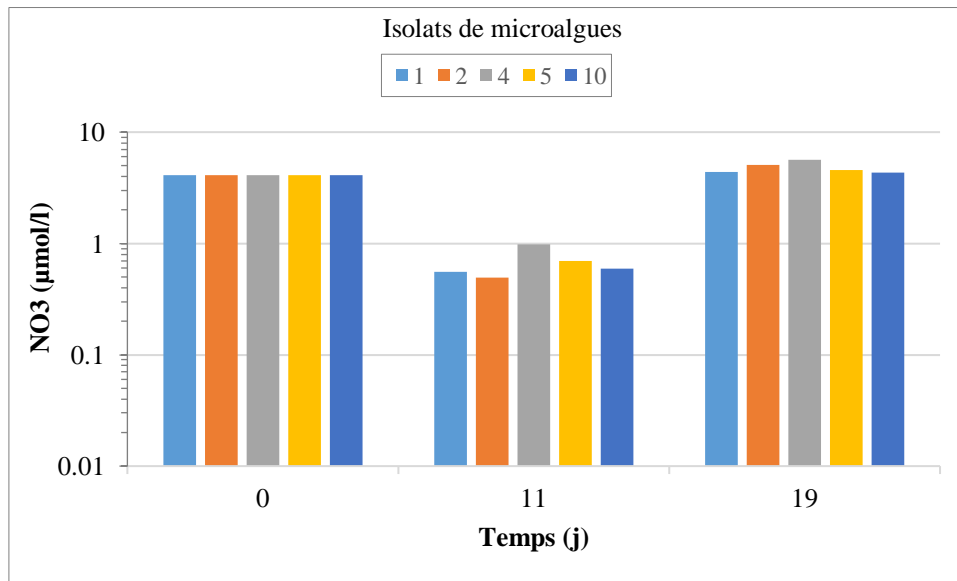


Figure 22: Evolution temporelle des nitrates de l'effluent du Tilapia selon les différents traitements par microalgues

Les résultats de l'élimination des nitrates par les cinq isolats de microalgues sont similaires avec les observations antérieures de l'évolution des nitrites. Au départ (t_0), l'effluent a une concentration de nitrates de 4,09 µmol/l. Après 11 jours de traitement (t_0), une diminution significative de la concentration de nitrates a été observée, atteignant 0,98 µmol/l pour l'échantillon présentant la plus faible élimination (isolat 4) et 0,49 µmol/l pour l'isolat 2 manifesté par l'élimination la plus élevée des nitrites. Cela correspond à un rendement d'élimination de 75,86 et 87,96% des nitrates respectivement pour l'isolat 4 et l'isolat 2. Cependant, au dernier prélèvement (après 19 jours de traitement), une augmentation de la concentration de nitrates, similaire à celle observée pour les nitrites, a été enregistrée pour tous les isolats. La concentration la plus élevée de nitrates a été mesurée pour l'isolat 4 (une valeur de 5,62 µmol/l). Comme pour les nitrites, cette augmentation peut être attribuée à la dégradation de la biomasse qui donne des sels d'azote, ce qui peut influencer les niveaux de nitrates mesurés. Nos résultats s'alignent avec les conclusions de Ahmed *et al.* (2022), qui ont cultivé des

microalgues dans de l'eau de lac polluée par les eaux usées, et ont également observé une élimination importante des nitrates (un rendement d'élimination de 93%).

III.2.3.2.5. Elimination de l'ammonium

La figure 24 montre les résultats de l'évolution de l'ammonium de l'effluent du Tilapia suite aux différents traitements par les microalgues.

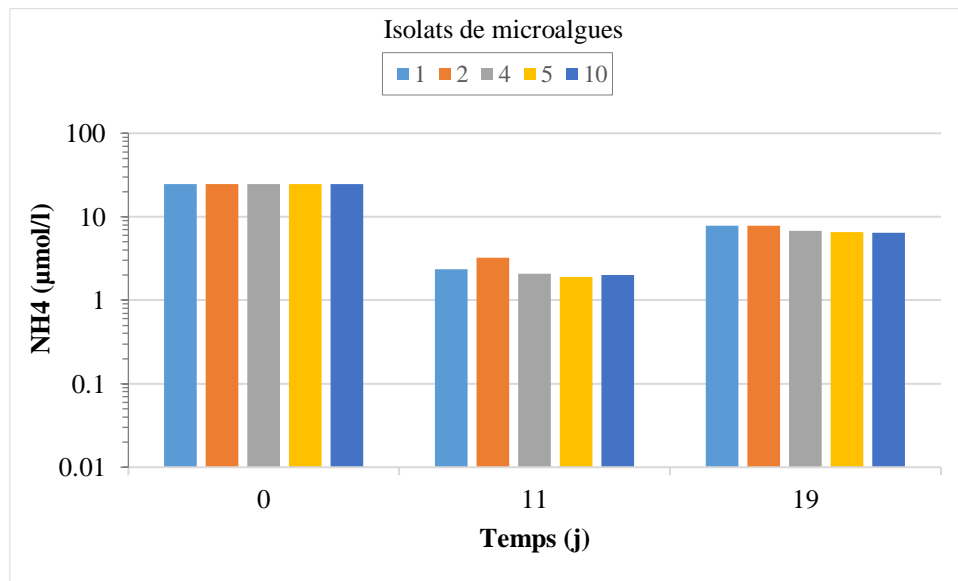


Figure 23: Evolution temporelle de l'ammonium de l'effluent du Tilapia selon les différents traitements par microalgues

En ce qui concerne l'ammonium, sa concentration initiale de 24,56 µmol/l. Après 11 jours de traitement (t_1), une réduction importante de la concentration d'ammonium a été observée pour tous les isolats. La valeur la plus faible a été mesurée pour l'échantillon de l'isolat 5 ($NH_4 = 1,88 \mu\text{mol/l}$), tandis que la concentration la plus élevée a été obtenue par l'isolat 2 ($NH_4 = 3,23 \mu\text{mol/l}$). Cela correspond à une élimination de 92,31 et 86,84% respectivement pour l'isolat 5 et l'isolat 2. Cependant, après 19 jours de traitement, une augmentation de la concentration d'ammonium a été constatée pour tous les isolats, similaire à celle observée pour le cas des nitrates et des nitrites. La concentration la plus élevée d'ammonium a été mesurée pour l'isolat 5 (une valeur de 7,81 µmol/l). Cette augmentation peut être attribuée à la dégradation de labiomasse et à la production de sels d'azote, ce qui peut influencer les niveaux d'ammonium mesurés. Les résultats obtenus par nos isolats se concordent à ceux rapportés par Li *et al.* (2019), qui ont noté une grande efficacité dans la réduction de l'ammonium par un assemblage de diverses espèces marines pour traiter un effluent d'aquaculture. Leur étude a révélé une

élimination de $96,1 \pm 0,6\%$ pour le $N-NH_4$. Ces résultats renforcent l'idée que les microalgues peuvent jouer un rôle important dans l'élimination de l'ammonium des eaux usées, en fournissant une solution écologiquement durable pour le traitement de cette forme d'azote indésirable.

III.2.3.2.6. Élimination des orthophosphates

La Figure 25 montre les résultats de l'évolution des nitrates de l'effluent du Tilapia suite aux différents traitements par les microalgues.

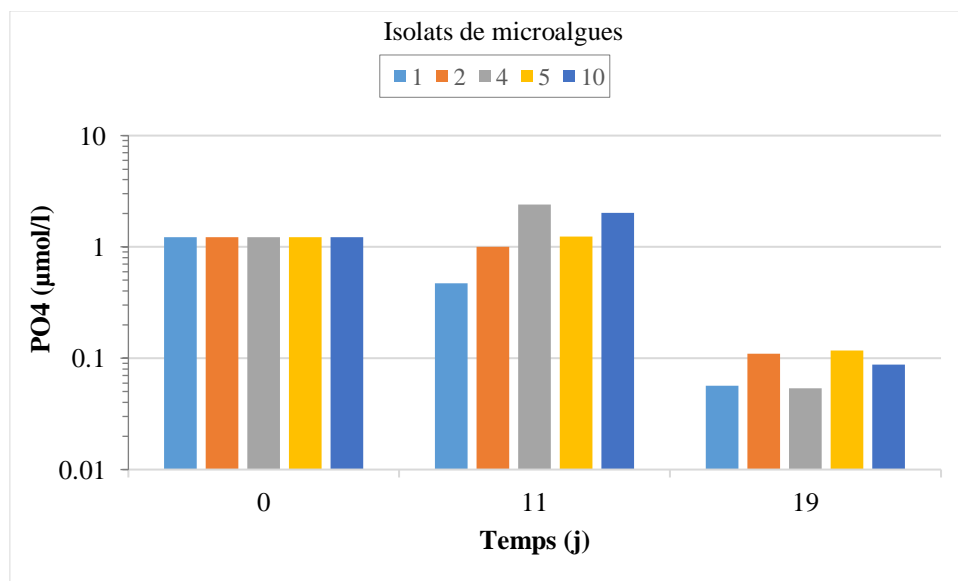


Figure 24: Evolution temporelle des orthophosphates de l'effluent du Tilapia selon les différents traitements par microalgues

La figure 25 montre une évolution différente des orthophosphates par rapport aux minéraux azotés. Ils passent d'une concentration initiale de $1,21 \mu\text{mol/l}$ à des concentrations variables après 11 jours de traitement. L'isolat 1 et 2 ont induit une légère diminution de la concentration d'orthophosphates ($0,47 \mu\text{mol}$ et $1,0 \mu\text{mol}$, respectivement) tandis que les trois autres isolats ont montré une légère augmentation, ce qui est difficile à expliquer. Cependant, une diminution de la concentration d'orthophosphates a été constatée au 19^{ème} jour de traitement pour tous les isolats. L'isolat 4 a montré la plus forte réduction des orthophosphates (une valeur de $0,05 \mu\text{mol/l}$). En termes de pourcentage, cela correspond à une élimination de $95,59\%$. Ces résultats soulignent l'efficacité des isolats de microalgues dans l'élimination des orthophosphates, en particulier l'isolat 4 qui a montré de meilleures performances. Cependant, les variations observées au 11^{ème} jour nécessitent une analyse plus approfondie pour comprendre les

mécanismes et optimiser le processus d'élimination des orthophosphates. En comparaison aux travaux de littérature, les résultats de notre étude sont en concordance avec les observations de Ahmed *et al.* (2022), qui ont rapporté une élimination de 99% des orthophosphates. Ces constatations renforcent l'importance des microalgues comme agent de traitement prometteur pour l'élimination des orthophosphates dans les eaux usées. De manière similaire, les résultats de notre étude se rapprochent à ceux de Li *et al.* (2019), qui ont rapporté un taux d'élimination des orthophosphates de $96,1 \pm 0,6\%$ par assemblage de diverses espèces marines pour traiter un effluent d'aquaculture.

III.2.3.2.7. Elimination des silicates

La figure 26 montre les résultats de l'évolution des silicates de l'effluent du Tilapia suite aux différents traitements par les microalgues.

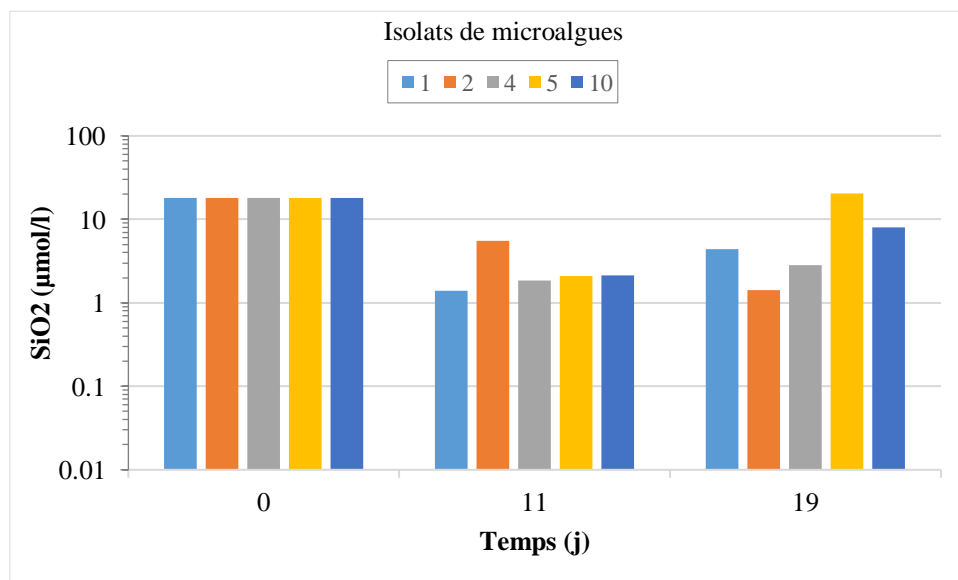


Figure 25: Evolution temporelle des silicates de l'effluent du Tilapia selon les différents traitements par microalgues

L'élimination des silicates par les cinq isolats de microalgues a montré une évolution un peu similaire aux éléments azotés. La concentration initiale de l'effluent en silicates était de 17,91 µmol/l. Au bout de 11 jours de traitement, une diminution de la concentration de silicates a été observée pour tous les isolats, avec un rendement d'élimination maximal pour l'isolat 1 (un pourcentage de 92,16% et une concentration de 1,40 µmol/l). Cependant, une augmentation de la concentration des silicates a été constatée pour tous les isolats durant le 19^{ème} jour, à l'exception de l'isolat 2 qui contrairement a diminué davantage les concentrations des silicates (un pourcentage de 92,10% et une concentration de 1,42 µmol/l). L'isolat 5 a présenté une

concentration la plus élevée de silicates au dernier prélèvement, atteignant une valeur de 20,35 $\mu\text{mol/l}$. Ces résultats indiquent que les isolats de microalgues peuvent contribuer à l'élimination des silicates, bien que des variations temporelles puissent se produire.

III.3. Efficacité de traitement de l'effluent du Tilapia par les isolats de microalgues sélectionnés

Les rendements d'abattement des paramètres de pollution caractérisant l'efficacité de traitement de l'effluent du Tilapia par les microalgues sélectionnées sont récapitulés dans le Tableau 9.

Tableau 9: Rendement d’abattement des paramètres de pollution caractérisant l’effluent du Tilapia par les microalgues sélectionnés

Isolats de microalgues	DCO		NO ₂		NO ₃		NH ₄		PO ₄		SiO ₂		NT		PT	
	R _{max} (%)	Temps de traitement (j)	R _{max} (%)	Temps de traitement (j)	R _{max} (%)	Temps de traitement (j)	R _{max} (%)	Temps de traitement (j)	R _{max} (%)	Temps de traitement (j)	R _{max} (%)	Temps de traitement (j)	R _{max} (%)	Temps de traitement (j)	R _{max} (%)	Temps de traitement (j)
1	100	27	85,31	11	86,35	11	90,42	11	95,34	19	92,16	11	98,39	19	83,63	19
2	100	27	86,19	11	87,96	11	86,84	11	91,04	19	92,10	19	97,84	19	82,87	19
4	100	27	85,52	11	75,86	11	91,58	11	95,59	19	89,70	11	97,94	19	89,39	19
5	75	27	82,22	11	82,95	11	92,31	11	90,35	19	88,35	11	97,24	19	81,17	19
10	100	27	85,98	11	85,58	11	91,79	11	92,84	19	88,13	11	97,19	19	83,17	19

Les résultats indiquent une efficacité élevée dans l'élimination des paramètres de pollution par tous les isolats.

En ce qui concerne la demande chimique en oxygène (DCO), tous les isolats de microalgues ont atteint le rendement maximal (100%) après 27 jours de traitement. Cela affirme l'efficacité des microalgues isolées à réduire la pollution organique présente dans l'effluent du Tilapia.

Pour les nitrites, les rendements d'élimination varient entre 82,22 et 86,19% après seulement 11 jours de traitement. En ce qui concerne les nitrates, les rendements d'élimination varient entre 75,86 et 87,96%. Des rendements d'élimination un peu plus élevés ont été notés pour l'ammonium (entre 86,84 et 92,31%) après 11 jours de traitement. Des rendements d'élimination maximums des orthophosphates parmi les nutriments ont été obtenus (entre 90,35 et 95,59%) après 19 jours de traitement. Quant aux silicates, les rendements d'élimination varient entre 88,13 et 92,16% après 11 jours de traitement. Les rendements d'élimination de l'azote totale (qui inclue les formes organiques et minérales) sont un peu supérieurs par rapport à ceux du phosphore total et oscillent entre 97,24 et 98,39% pour le NT et entre 81,17 et 89,39% pour le PT.

Il est important de noter que les rendements d'élimination peuvent varier en fonction des isolats de microalgues utilisés et des conditions de traitement. Cependant, dans l'ensemble, les résultats suggèrent que les microalgues sélectionnées dans cette étude ont une forte capacité à réduire les différentes formes de pollution (organique et minérale) caractérisant l'effluent du Tilapia.

CONCLUSION

Conclusion

Cette étude a eu comme objective d'isoler, identifier et cribler des microalgues pouvant avoir une efficacité épuratoire dans le traitement des eaux usées aquacoles. Pour cela, des échantillons d'eaux usées prélevés à deux endroits de différente salinité (eaux douces et eaux saumâtres) ont servi d'inoculant pour isoler les souches des microalgues.

Dans un premier temps, une caractérisation physicochimique des échantillons prélevés a été effectuée. Bien que les performances de traitement des eaux usées urbaines de la STEP de Chenoua soient approuvées pour les indicateurs de pollution majeurs (DCO, DBO, MES), la pollution phosphorée et –avec un degré moins– la pollution azotée échappe au procédé de traitement ce qui résulte en des teneurs relativement élevés de ces éléments. Par ailleurs, l'analyse des deux échantillons a montré que celui du bassin biologique est caractérisé par une forte charge particulaire et des concentrations élevées d'azote total et ammoniacal par rapport aux autres éléments azotés et phosphorés. Néanmoins, l'échantillon du décanteur secondaire a été moins chargé de particules en suspension et a contenu des teneurs modérées d'azote total et de silicate, et des concentrations relativement faibles des autres éléments nutritifs. L'analyse physicochimique de l'échantillon de la ferme marine du CNRDPA, classé comme étant une eau saumâtre à salée, a une forte charge de matières en suspension, une concentration élevée de silicate et des concentrations moyennes à faibles respectivement pour NT et PT, et pour les autres éléments nutritifs. La composition variable des trois échantillons en composés azotés et phosphorés, en MES et en termes de salinité pourrait permettre donc d'isoler des microalgues de divers groupes taxonomiques.

La stratégie d'isolement a permis d'obtenir des dizaines d'isolats de microalgues appartenant aux groupes des cyanobactéries, des algues vertes et des diatomées. Parmi cette collection, cinq isolats de microalgues, vraisemblablement affiliées au genre *Chlorella*, ont été purifiés avec succès et sélectionnées pour le traitement d'une eau d'élevage du *Tilapia*. Cet effluent, qui a subi un autoclavage pour éliminer tous les microorganismes endogènes, est caractérisé par une faible salinité (permettant de la classer comme une eau douce), une faible DCO (38,4 mg/l), des concentrations élevées de NT, NH₄ et SiO₂ (29,75, 24,56 et 17,91 µmol/l respectivement) et des faibles concentrations des autres éléments nutritifs (PO₄, PT, NO₂ et NO₃).

Les isolats de microalgues sélectionnés ont montré une croissance bonne à modérée sur cette eau d'élevage (DO_{max} à 750 nm de 1,37 pour l'isolat 4 et une DO_{min} de 0,67 pour l'isolat 1 après 34 jours de traitement). Les cinq isolats ont exhibé des faibles vitesses de croissance et longues

durées de dédoublement cellulaire (0,058 à 0,097 j⁻¹ et 7,18 à 11,89 jours respectivement) en comparaison avec les valeurs rapportées dans la littérature.

Quant aux performances de traitement, les cinq isolats ont montré une capacité épuratoire élevée vis-à-vis les indicateurs de pollution suivis. Une élimination complète de la pollution organique (exprimée par la DCO) a été achevée pour toutes les souches (à l'exception de la souche 5) après un temps de suivi de 27 jours. Pour la pollution azotée et phosphorée, les rendements d'élimination ont oscillé entre 75 à 98 % et diffèrent très peu parmi les isolats épurateurs. Les rendements d'élimination moyens sont 97,72 % pour NT (après 19 jours), 93,03 % pour PO₄ (après 19 jours), 90,59 pour NH₄ (après 11 jours), 85,54 % pour SiO₂ (après 11 jours), 85,04% pour NO₂ (après 11 jours), 84,05 % pour PT (après 19 jours) et 83,74% pour NO₃ (après 11 jours).

Enfin et comme perspectives, le potentiel prometteur des isolats de microalgues sélectionnés à épurer les eaux usées aquacole nous encourage à poursuivre le travail en étudiant plus en détail les aspects suivants :

- Identifier phylogénétiquement les souches afin d'optimiser les conditions de cultures de chaque espèce (température, luminosité, mode culture, etc.)
- Tester d'autres types d'eaux usées (aquacoles ou autres) avec différents niveaux de pollution afin d'évaluer la capacité épuratoire de chaque microalgue.
- Améliorer les performances de croissance et d'élimination des polluants en cultivant les souches de microalgues dans des photobioréacteurs.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abadli, M., Harkati, G. (2014).** Contribution à l'inventaire des quelques microalgues vertes d'intérêt nutritionnel dans quelques zones humides de la wilaya d'El Oued (Lac Ayata, Chott Merrouane, Sife Lemnade, STEP Kouinine). Mémoire de fin d'étude. Biologie et valorisation des plantes.p.12
- Abdelaziz, A. E., Leite, G. B., Belhaj, et al. (2014).** Screening microalgae native to Quebec for wastewater treatment and biodiesel production. *Bioresource Technology*.vol. 157, P 140–148. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.114>
- Abdel-Raouf, N., Al-Homaidan, A.et al. (2012).** Microalgae and wastewater treatment. Saudi Journal of Biological Sciences.vol.19, P257–2. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2012.04.005>.
- Ågren, G. I. (2004).** The C: N: P stoichiometry of autotrophs - theory and observations. *Ecology Letters*. Vol. 7(3), 185–191. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00567>.
- Ahmad, A., Abdullah, S. R. S.et al.2021).** Aquaculture industry: Supply and demand, best practices, effluent and its current issues and treatment technology. *Journal of Environmental Management*, <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112271>
- Ahmad, A., Kurniawan, S. B., et al. (2021).** Exploring the extraction methods for plant-based coagulants and their future approaches. *Science of the Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151668>.
- Ainane, T. (2011).** Valorisation de la biomasse algale du Maroc : Potentialités pharmacologiques et Applications environnementales, cas des algues brunes *Cystoseira tamariscifolia* et *Bifurcaria bifurcata*. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00637002>
- Alcaine,A. (2010).** Biodiesel from microalgae. Projet de fin d'études. Royal School of Technology Kungliga Tekniska Högskolan. Stockholm. Suède.
- Aminot, A., Chaussepied, M. (1987).** Manuel des analyses chimiques en milieu marin. Centre national pour l'exploitation des Océans (CNEXO), Brest. France, p.395.
- Angulo, F. J., Nargund, V. N., et al. (2004).** Evidence of an Association Between Use of Anti-microbial Agents in Food Animals and Anti-microbial Resistance Among Bacteria Isolated from Humans and the Human Health Consequences of Such Resistance. *Journal of Veterinary Medicine Series B-infectious Diseases and Veterinary Public Health*.vol 51(8–9), P.374–379. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.2004.00789.x>
- Appels, L., Baeyens, J., Degève, J.,et al. (2008).** Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge. *Progress in Energy and Combustion Science*.vol.34(6),P.755–781. <https://doi.org/10.1016/j.pecs.2008.06.002>
- Aquilino, F., Paradiso, A.,et al. (2020).** Chaetomorpha linum in the bioremediation of aquaculture wastewater: Optimization of nutrient removal efficiency at the laboratory scale. *Aquaculture*.vol.523. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735133>
- Badiola, M., Basurko, O. C., et al. (2018).** Energy use in Recirculating Aquaculture Systems (RAS):A review .vol.81, P.57–70. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2018.03.003>

- Batstone, D. J., Hülsen, T. et al. (2015).** Platforms for energy and nutrient recovery from domestic wastewater: a review. *Chemosphere*.vol .140. P.2–11. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.021>.
- Berramdani, R. (2019).** Contribution à la production des microalgues isolées à partir du barrage Manbaa Elghizlene-Biskra
- Besson, A., Guiraud, P. (2013).** High-pH-induced flocculation-flotation of the hypersaline microalga *Dunaliella salina*.
- Bhatnagar, A., Chinnasamy, S., et al. (2011).** Renewable biomass production by mixotrophic algae in the presence of various carbon sources and wastewaters. *Applied Energy*.vol.88(10). P. 3425–3431. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.12.064>
- Bhola, V., Ramesh, D.et. al. (2011).** Effects of parameters affecting biomass yield and thermal behaviour of *Chlorella vulgaris*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*.vol.111(3). P. 377–382. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2010.11.006>
- Boileau, M. (2015).** Évaluation Du Potentiel D'utilisation D'une Eau Usée Industrielle Comme Substrat de Culture Pour Des Microalgues D'eau Douce Dans Une Optique de Production de Biocarburants de 3e Génération.
- Boulefa W., Bouldjedri M. E. (2020).** Dynamique et structure du phytoplancton des milieux lenticques et lotiques. Thèse. Université de Jijel.
- Brown, M. R. (1997).** Nutritional properties of microalgae for mariculture.
- Buhmann, A. K., Papenbrock, J. (2013).** Biofiltering of aquaculture effluents by halophytic plants: Basic principles, current uses and future perspectives. *Environmental and Experimental Botany*.vol.92, P.122–133. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2012.07.005>
- Cabello, F. C. (2006).** Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology*, 8(7), P.1137–1144. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01054.x>
- Cadoret, J., & Bernard, O. (2008).** La production de biocarburant lipidique avec des microalgues : promesses et défis. *Journal De La Société De Biologie*.vol.202(3), P .201–211. <https://doi.org/10.1051/jbio:2008022>
- Camargo, J. A., Alonso, Á et al. (2005).** Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. *Chemosphere*.vol.58(9), P1255–1267. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.10.044>
- Cao, J., Wang, C., et al. (2016).** Removal of heavy metal Cu (II) in simulated aquaculture wastewater by modified palygorskite. *Environmental Pollution*.vol. 219, P. 924–931. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.014>
- Carlsson, A.S., van Beilen, J.B., et al. (2007).** Micro- and macro-algae: utility for industrial applications. In: Bowles D, editor. Outputs from the EPOBIO project. UK: CPL Press. p. 82

Castro Araujo, S., Garcia, V. M. T. (2005). Growth and biochemical composition of the diatom *Chaetoceros* cf. *Wighamii* brightwell under different temperature, salinity, and carbon dioxide levels. I. Protein, carbohydrate, and lipids. *Aquaculture*.vol. 246, P.405-412.

Cavalla, M. (2000). Les algues, les microalgues Microbiologie De Boeck Universite. p. 18.

Céline, D. 2013.Eco-extraction et analyse de lipides de micro-algues pour la production d'algo-carburant. Thèse

Chen, C., Yeh, K.et al. (2011). Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. *Bioresource Technology*.vol.102(1), P. 71–81. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.159>

Chen, Y., & Vaidyanathan, S. (2013). Simultaneous assay of pigments, carbohydrates, proteins, and lipids in microalgae.

Chen, Z., Shao, S.et al. (2020). Nutrients removal from piggery wastewater coupled to lipid production by a newly isolated self-flocculating microalga *Desmodesmus* sp. *Bioresource Technology*.vol.302, P.122806. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122806>

Chew, K. W., Chia, S. R,et al . (2018). Effects of water culture medium, cultivation systems and growth modes for microalgae cultivation: A review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*.vol.91, P. 332–344. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2018.05.039>

Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*.vol.25, p. 294-306.

Cirés, S., Casero, M.et al. (2017). Toxicity at the Edge of Life: A Review on Cyanobacterial Toxins from Extreme Environments. *Marine Drugs*.vol.15(7), P. 233. <https://doi.org/10.3390/md15070233>

Coutteau, P., Geurden, I,et al. (1997). Review on the dietary effects of phospholipids in fish and crustacean larviculture. *Aquaculture*.vol.155(1–4), P.149–164. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(97\)00125-7](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(97)00125-7)

Crab, R., Defoirdt, T.,et al. (2012). Biofloc technology in aquaculture: Beneficial effects and future challenges. *Aquaculture*,P. 356–357, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.04.046>

Cripps, S.J., Bergheim, A. (2000). Solids management and removal for intensive land-based aquaculture production systems. *Aquaculture Engineering*.vol. 22, p. 33-56.

Cui, H., Ma, H.,et al . (2020). Mitigating excessive ammonia nitrogen in chicken farm flushing wastewater by mixing strategy for nutrient removal and lipid accumulation in the green alga *Chlorella sorokiniana*. *Bioresource Technology*.vol. 303, P 122940. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122940>

Dabbadie, L. (1992). Cultures intensives de microalgues sur lisier de porc : performances, contraintes, utilisation des biomasses.

Dahle, S. V. W., Attramadal, K. J.,et al . (2022). Microbial community dynamics in a commercial RAS for production of Atlantic salmon fry (*Salmo salar*). *Aquaculture*.vol.546, P.737382. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737382>

- Daneshvar, E., Ok, Y. et al. (2021).** Insights into upstream processing of microalgae: A review. *Bioresource Technology*.vol.329, P. 124870. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124870>
- El-Sayed, A.-F.M. (2020).** Tilapia Culture, second edition. Academic Press.Cambridge.
- Esteves, F. (2023).** Microalgae systems - environmental agents for wastewater treatment and further potential biomass valorisation.
- Falkowski, P. G., Raven, J. A. (2007).** Aquatic photosynthesis: Second Edition. Princeton University Press.
- FAO .2022.** La Situation mondiale des pêches et de l'aquaculture 2022
- Feki, S. (2013).** Analyse de la variabilité spatio-temporelle des populations phytoplanctoniques observées dans le réseau national de surveillance du phytoplancton dans le golfe de Gabés. Thèse.
- Ferreira, C. I., Calisto, V, et al (2017).** Removal of tricaine methanesulfonate from aquaculture wastewater by adsorption onto pyrolysed paper mill sludge. *Chemosphere*.vol.168, p.139–146. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.045>
- Ferro, L., Gentili, F. et al. (2018).** Isolation and characterization of microalgal strains for biomass production and wastewater reclamation in Northern Sweden. *Algal Research-Biomass Biofuels and Bioproducts*.vol.32, P. 44–53. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.03.006>
- Filali, R. (2012).** Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique de CO₂. <http://www.theses.fr/2012SUPL0007.pdf>
- Franco-Nava, M., Blancheton, J, et al. (2004).** Effect of fish size and hydraulic regime on particulate organic matter dynamics in a recirculating aquaculture system: elemental carbon and nitrogen approach. *Aquaculture*.vol.239(1–4), P. 179–198. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.040>
- Gaignard, C., Gargouch, N., et al . (2019).** New horizons in culture and valorization of red microalgae. *Biotechnology Advances*.vol.37(1), P.193–222. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.11.014>
- Gatamaneni, B., Loganathan, V, et al. (2020).** Utilizing the microalgal biomass of *Chlorella variabilis* and *Scenedesmus obliquus* produced from the treatment of synthetic dairy wastewater as a biofertilizer.
- Gaujous, D. (1995).** La pollution des milieux aquatiques : aide-mémoire.
- Ghaly, A. E., Kamal, M. L, et al. (2005).** Phytoremediation of aquaculture wastewater for water recycling and production of fish feed. *Environment International*.vol.31(1), P. 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2004.05.011>

- Godoy-Hernández, G., Vázquez-Flota, F. (2006).** Growth measurements: estimation of cell division and cell expansion. *PubMed*.vol.318, P.51–58. <https://doi.org/10.1385/1-59259-959-1:051>
- Grima, E. M. (1996).** A study on simultaneous photolimitation and photoinhibition in dense microalgal cultures taking into account incident and averaged irradiances. *Journal of Biotechnology*.vol.45(1), P.59–69. [https://doi.org/10.1016/0168-1656\(95\)00144-1](https://doi.org/10.1016/0168-1656(95)00144-1)
- Grobbelaar, J. U. (1994).** Turbulence in mass algal cultures and the role of light/dark fluctuations. *Journal of Applied Phycology*.vol.6(3), P. 331–335. <https://doi.org/10.1007/bf0218194>
- Grobbelaar, J. U. (2013).** Inorganic algal nutrition. In John Wiley & Sons, Ltd eBooks ,P. 123–133). <https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch8>
- Hamedi, C . (2019).** Caractérisation génétique, physiologique, biochimique et biodiversité des diatomées.
- Han, P., Lu, Q, et al . (2019).** A Review on the Use of Microalgae for Sustainable Aquaculture. *Applied Sciences*.vol.9(11), P. 2377
- Hecker, K. H., Roux, K. H. (1996).** High and low annealing temperatures increase both specificity and yield in touchdown and stepdown PCR.
- Hesni, M. A., Hedayati, A, et al. (2020).** Using *Chlorella vulgaris* and iron oxide nanoparticles in a designed bioreactor for aquaculture effluents purification. *Aquacultural Engineering*, <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102069>
- Hu, H., Gao, K. (2006).** Response of Growth and Fatty Acid Compositions of *Nannochloropsis* sp. to Environmental Factors Under Elevated CO₂ Concentration.
- Hu, J., Nagarajan, D, et al. (2018).** Heterotrophic cultivation of microalgae for pigment production: A review. *Biotechnology Advances*.vol.36(1), P.54–67. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.09.009>
- Hu, Q. (2004).** Environmental effects on cell composition. In: Richmond, A. *Handbook of Microalgal Culture - Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Publishing Ltd.vol.566
- Hu, Q. (2013).** Environmental effects on cell composition. In John Wiley & Sons, Ltd eBooks ,P.114–122. <https://doi.org/10.1002/9781118567166.ch7>
- Huang, G., Chen, F, et al. (2010).** Biodiesel production by microalgal biotechnology. *Applied Energy*.vol. 87(1), P. 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2009.06.016>
- Igwegbe, C. A., Obiora-Okafo, I. A, et al . (2022).** Treatment technologies for bakers' yeast production wastewater. *Environmental Science and Pollution Research*.vol.29, P.11004–11026. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17992-4>.
- Izadpanah, M., Gheshlaghi, R, et al. (2018).** Effect of light spectrum on isolation of microalgae from urban wastewater and growth characteristics of subsequent cultivation of the isolated species.

- Jacob, A., Ashok, B, et al . (2021).** Critical review on third generation micro algae biodiesel production and its feasibility as future bioenergy for IC engine applications. *Energy Conversion and Management*.vol.228. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2020.113655>.
- Jia, J., Luo, W, et al. (2014).** Bioaccumulation of microcystins (MCs) in four fish species from Lake Taihu, China: Assessment of risks to humans. *Science of the Total Environment*.vol.487, P.224–232. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.037>
- Jusoh, A., Nasir, N. M. (2020).** Green technology in treating aquaculture wastewater. *Nucleation and Atmospheric Aerosols*. <https://doi.org/10.1063/1.5140892>
- Kafi, S. (2017).** Etude de la diversité et la structure du peuplement de phytoplanctons au niveau du barrage de Tilesdit. Thèse, Université de Bouira.
- Kataki, S., West, H, et al. (2016).** Phosphorus recovery as struvite from farm, municipal and industrial waste: feedstock suitability, methods and pretreatments. *Waste Management*.vol.49, P.437–454. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2016.01.003>.
- Kesharvani, S., Dwivedi, G. (2021).** Algae as a feedstock for biodiesel production in Indian perspective. *Materials Today Proceedings*.vol.47, P.5873–5880. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.04.295>.
- Khettab,Z ., Toumi,F. 2019.** Contribution à la production de microalgues riche en lipides isolées de la région d'Oued Righ. Mémoire de fin d'étude Biochimie Appliqué, Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED, P.59.
- Khoeyi, Z. A., Seyfabadi, J., et al. (2012).** Effect of light intensity and photoperiod on biomass and fatty acid composition of the microalgae, *Chlorella vulgaris*.
- Kim, Y., Vijayan, D, et al. (2016).** Cell-wall disruption and lipid/astaxanthin extraction from microalgae: *Chlorella* and *Haematococcus*.
- Knuckey, R. (1998).** Isolation of Australian Microalgae and Preparation of Microalgal Concentrates for use as Aquaculture Feeds. <http://ecite.utas.edu.au/16697/>
- Kuczyńska, P., Jemiola-Rzemińska, M et al., (2015).** Photosynthetic pigments in diatoms. *Marine Drugs*.vol.13(9), P.5847–5881. <https://doi.org/10.3390/md13095847>
- Kurniawan, B., Ahmad, A., et al. (2022).** Potential of microalgae cultivation using nutrient-rich wastewater and harvesting performance by bioagulants/bioflocculants: Mechanism, multi-conversion of biomass into valuable products, and future challenges.
- Laine, G. (1980).** Utilisation d'un bloc minéralisateur pour la détermination de l'azote total dans les végétaux riches en nitrates (Méthode au fer réduit).
- Lam, M. K., Lee, K. T. (2012).** Microalgae biofuels: A critical review of issues, problems and the way forward. *Biotechnology Advances*.vol.30(3), P.673–690. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.11.008>
- Legrand, J. (2002).** Simulation of microalgae growth in limiting light conditions: flow effect

- Li, C., Lan, L, et al. (2020).** Interaction between 17 β -estradiol degradation and nitrification in mariculture wastewater by *Nitrosomonas europaea* and MBBR. *Science of the Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135846>
- Li, T., Zheng, Y.et al ., (2014).** Mixotrophic cultivation of a *Chlorella sorokiniana* strain for enhanced biomass and lipid production. *Biomass & Bioenergy*, 66, 204–213. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.04.01>
- Lim, S. L., Chu, W. L, et al. (2010).** Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater. *Bioresource Technology*.vol.101, P.7314–7322. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.04.092>.
- Liu, L., Xu, Q, et al. (2021).** Fenton-oxidation of rifampicin via a green synthesized rGO@nFe/Pd nanocomposite. *Journal of Hazardous Materials*.vol.402, P.123544. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123544>
- Liu, S., Chen, H, et al. (2017).** Three classes of steroids in typical freshwater aquaculture farms: Comparison to marine aquaculture farms. *Science of the Total Environment*, 609, 942–950. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.207>
- Liu, Z.-W., Zeng, X.-A, et al. (2018).** The efficiency and comparison of novel techniques for cell wall disruption in astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis*. *International Journal of Food Science & Technology*.vol.53, P.2212–2219. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13810>.
- López-Sánchez, A., Silva-Gálvez, A. L, et al. (2022).** Microalgae-based livestock wastewater treatment (MbWT) as a circular bioeconomy approach: Enhancement of biomass productivity, pollutant removal and high-value compound production. *Journal of Environmental Management*.vol.308. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.114612>
- Lucchetti, A. (2014).** *Modélisation et conception d'un système de culture de microalgues*. <http://www.theses.fr/2014ENMP0048.pdf>
- Lv, J., Wang, X, et al. (2019).** Biomass production and nutrients removal from non-sterile municipal wastewater and cattle farm wastewater inoculated with *Chlorococcum* sp. GD. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*.vol.94(8),P.2580–2588. <https://doi.org/10.1002/jctb.6054>
- Ma, X., Zhou, W, et al. (2014).** Effect of wastewater-borne bacteria on algal growth and nutrients removal in wastewater-based algae cultivation system. *Bioresource Technology*.vol.167, P.8–13. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.087>.
- Markou G, Vandamma D, Maylaert K (2004).** Microalgal and cyanobacterial cultivation: the supply of nutrients.
- Markou, G., Angelidaki, I,et al . (2012).** Microalgal carbohydrates: an overview of the factors influencing carbohydrates production, and of main bioconversion technologies for production of biofuels.

- Masojidek, J., Koblizek, M, et al. (2004).** Photosynthesis in microalgae. In A. Richmond (Ed.), *Handbook of Microalgal Culture - Biotechnology and Applied Phycology*, p. 566. Blackwell Publishing Ltd.
- Maziliak P. (1998).** *Physiologie végétale. Croissance et développement.* Editions Hermann, Tome 2. Paris, p .575.
- Mehimeh, T., Bouldjedri, M. E. (2005).** Evaluation spatio-temporelle de la qualité physico-chimique des eaux du lac d'El Kennar.
- Min, J., Lin, D, et al. (2021).** Mercury, microcystins and Omega-3 polyunsaturated fatty acids in farmed fish in eutrophic reservoir: Risk and benefit assessment. *Environmental Pollution*.vol.270. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116047>
- Mollo P., Noury A. (2013).** *Le manuel du plancton.* Éditions Charles Léopold Mayer, Essai.vol.195, France, p. 198.
- Monfet, E., Unc, A. (2017).** Defining wastewaters used for cultivation of algae. *Algal Research*.vol.24, P.520–526. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.12.008>.
- Morando-Grijalva, C. A., Vázquez-Larios, A. L, et al. (2020).** Isolation of a freshwater microalgae and its application for the treatment of wastewater and obtaining fatty acids from tilapia cultivation.
- Mullin, J. B., Riley, J. P. (1955).** The colorimetric determination of silicate with special reference to sea and natural waters.
- Muñoz, R., Guieysse, B. (2006).** Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: a review.
- Murphy, J., Riley, J. P. (1962).** A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters.
- Murray, A. M., Fotidis, I. A et al, (2017).** Wirelessly powered submerged-light illuminated photobioreactors for efficient microalgae cultivation.
- Nagarajan, D., Lee, D.-J, (2020).** Resource recovery from wastewaters using microalgae-based approaches: a circular bioeconomy perspective. *Bioresource Technology*, 302, 122817. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122817>.
- Neaud-Masson, N. (2020).** Observation et dénombrement du phytoplancton marin par microscopie optique photonique - Spécifications techniques et méthodologiques appliquées au REPHY. Document de méthode
- Nie, X., Mubashar, M, et al. (2020).** Current progress, challenges and perspectives in microalgae-based nutrient removal for aquaculture waste: A comprehensive review. *Journal of Cleaner Production*, 277, 124209. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124209>
- Nitsos, C., Filali, R, et al. (2020).** Current and novel approaches to downstream processing of microalgae: A review. *Biotechnology Advances*.vol.45. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107650>

- Perez, P., Vaz-Blanco, E., Beiras, R. (2006).** Effet of copper on the photochemical efficiency, growth and chlorophyll a biomass of natural phytoplankton assemblage. *Environmental Toxicology and Chemistry*.
- Perez-Garcia, O., Bashan, Y. (2015).** Microalgal heterotrophic and mixotrophic culturing for bio-refining: from metabolic routes to techno-economics. In Springer eBooks, P61–131. https://doi.org/10.1007/978-3-319-20200-6_3
- Polat, E., Yüksel, E., et al. (2020).** Mutual effect of sodium and magnesium on the cultivation of microalgae *Auxenochlorella protothecoides*. *Biomass & Bioenergy*.vol.132. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.105441>
- Ras, M., Steyer, J., et al. (2013).** Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*.vol.12(2), P.153–164. <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9310-6>
- Reno, U., Regalado, L. et al. (2020).** Circular Economy and Agro-Industrial Wastewater: Potential of microalgae in bioremediation processes. In *Applied environmental science and engineering for a sustainable future*, P. 111–129. https://doi.org/10.1007/978-3-030-39137-9_5
- Richmond, A. (2004).** Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. In Blackwell Science eBooks (Issue 1). <http://ci.nii.ac.jp/ncid/BA64945502>
- Rodier, C. (2008).** Externalisation du contrôle des flux migratoires : comment et avec qui l'Europe repousse ses frontières.
- Rodier, J., Geoffray, C., et al. (1996).** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer : chimie, physico-chimie, bactériologie, biologie.
- Sadi, M. 2012.** Les micro algues : un défi prometteur pour des biocarburants propres. *Revue Des Energies Renouvelables SIENR'12 Ghardaïa*, p. 195-202.
- Salag, B (2021).** Culture de microalgue verte sur les effluents liquides laitiers pour la production de biodiésel.
- Saliu, T. D., Oladoja, N. A. (2021).** Nutrient recovery from wastewater and reuse in agriculture: a review. *Environmental Chemistry Letters*.vol.19, P. 2299–2316. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01159-7>.
- Santos-Ballardo, D. U., Rossi, S., et al. (2015).** A simple spectrophotometric method for biomass measurement of important microalgae species in aquaculture. *Aquaculture*.vol,448, p .87–92. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.05.044>
- Sayegh, F.A.Q., Radi, M., Montagne, D.J.S. (2007).** Do strain microalgae alter their relative quality as a food for the rotifer *brachionis plicatilis*. *Aquaculture*, 273.
- Sforza, E., Barbera, E., et al. (2015).** Improving the photoconversion efficiency: An integrated photovoltaic-photobioreactor system for microalgal cultivation.
- Sindilariu, P., Schulz, C., et al. (2007).** Treatment of flow-through trout aquaculture effluents in a constructed wetland. *Aquaculture*.vol.270(1–4), P.92–104. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.03.006>

- Subhash, G. V., Rajvanshi, M., et al. (2017).** Carbon streaming in microalgae: extraction and analysis methods for high value compounds. *Bioresource Technology*.vol.244, P.1304–1316. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.024>
- Sumi, Y. (2009).** Microalgae Pioneering the Future -Application and Utilization. Life Science Research Unit, quarterly review No.34.
- Summerfelt, R. C., Penne, C. R. (2005).** Solids removal in a recirculating aquaculture system where the majority of flow bypasses the microscreen filter. *Aquacultural Engineering*.vol. 33(3), P.214–224. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2005.02.003>
- Sun, H., Zhao, W., et al. (2018).** High-value biomass from microalgae production platforms: strategies and progress based on carbon metabolism and energy conversion. *Biotechnology for Biofuels*.vol.11(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-018-1225-6>
- Tendencia, E. A., De La Peña, L. D. (2001).** Antibiotic resistance of bacteria from shrimp ponds. *Aquaculture*.vol.195(3–4), P.193–204. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(00\)00570-6](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(00)00570-6)
- Teoh, G. H., Ooi, B. S., et al. (2021).** Impacts of PVDF polymorphism and surface printing micro-roughness on superhydrophobic membrane to desalinate high saline water. *Journal of Environmental Chemical Engineering*.vol.9(4). <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105418>
- Theregowda, R. B., Gonzalez-Mejía, A. M. (2019).** Nutrient recovery from municipal wastewater for sustainable food production systems: an alternative to traditional fertilizers. *Environmental Engineering Science*.vol.36, P. 833–842. <https://doi.org/10.1089/ees.2019.0053>.
- Tom, A. P., Jayakumar, J. S., et al. (2021).** Aquaculture wastewater treatment technologies and their sustainability: A review. *Energy Nexus*.vol.4. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2021.100022>
- Tsukuda, S., Christianson, L. E., et al. (2015).** Heterotrophic denitrification of aquaculture effluent using fluidized sand biofilters. *Aquacultural Engineering*.vol.64, P.49–59. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2014.10.010>
- Udaiyappan, A.F.M., Hasan, H.A.,et al. (2020).** Microalgae-bacteria interaction in palm oil mill effluent treatment. *Journal of Water Process Engineering*.vol.35. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101203>.
- Udaiyappan, A.F.M., Hasan, H.A., et al. (2021).** Cultivation and application of *Scenedesmus* sp. strain UKM9 in palm oil mill effluent treatment for enhanced nutrient removal. *Journal of Cleaner Production*, 294. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126295>.
- Viskari, E.L., Grobler, G., et al. (2018).** Nitrogen recovery with source separation of human urine—preliminary results of its fertiliser potential and use in agriculture. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00032>.

- Wang, X., Li, L., et al. (2018).** Microalgae cultivation and culture medium recycling by a two-stage cultivation system. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*.vol.12(6). <https://doi.org/10.1007/s11783-018-1078-z>
- Wood, R. D., Chaney, C. H., et al. (1967).** Effect of adding nitrate or nitrite to drinking water on the utilization of carotene by growing swine.
- Xue, Y., Li, Y., et al. (2019).** Optimization of thermal preflocculation treatment for effective air flotation harvesting of microalgae. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1002/jctb.5941>.
- Yun Y. S, Park J. (1997).** Development of gas recycling photobioreactor system for microalgal carbon dioxide fixation. *Korean Journal of Chemical Engineering*.vol.14(4), P. 297-300.
- Zadinelo, V., Alves, H.J., et al. (2015).** Influence of the chemical composition of smectites on the removal of ammonium ions from aquaculture effluents. *Journal of Materials Science*.vol.50, P. 1865-1875.
- Zapata, M. Jeffery, SW. et al (2004).** Photosynthetic pigments in 37 species (65 strains) of Haptophyta: implications for oceanography and chemotaxonomy. *Marine Ecology Progress Series*.
- Zenati, B., Inal, A., et al. (2023).** Pollutant load discharge from a Southwestern Mediterranean River (Mazafran River, Algeria) and its impact on the coastal environment.
- Zerrouki, D., Henni, A. (2019).** Outdoor microalgae cultivation for wastewater treatment. *Applied Microalgae Wastewater Treatment*, P.81–99.
- Zhan, J., Rong, J., et al. (2017).** Mixotrophic cultivation, a preferable microalgae cultivation mode for biomass/bioenergy production, and bioremediation, advances and prospect. *International Journal of Hydrogen Energy*.vol.42(12), P.8505–8517. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.12.021>
- Zhang, P., Liang, J., et al. (2021).** The efficiency of integrated wastewater treatment plant for pollutant removal from industrial-scale lincomycin production. *Journal of Water Process Engineering*.vol. 42, <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102133>
- Zhang, T. Y., Wu, Y. H., et al. (2013).** Isolation and heterotrophic cultivation of mixotrophic microalgae strains for domestic wastewater treatment and lipid production under dark condition.
- Zhang, X., Liu, Y. (2022).** Circular economy is game-changing municipal wastewater treatment technology towards energy and carbon neutrality.
- Zhou, W., Li, Y., et al. (2011).** Local bioprospecting for high-lipid producing microalgal strains to be grown on concentrated municipal wastewater for biofuel production. *Bioresource Technology*.vol.102(13), P.6909–6919. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.04.038>
- Zou, S., Xu, W., et al. (2011).** Occurrence and distribution of antibiotics in coastal water of the Bohai Bay, China: Impacts of river discharge and aquaculture activities. *Environmental Pollution*.vol.159(10), P. 2913–2920. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.04.037>

[Empty space for references]

[Empty space for bibliographic references]

ANNEXES n°1

Dosage de l'ammonium

I- Réactifs

a. Solution tampon

Produits chimiques exigés :

Tartrate de potassium et de sodium	
$C_4H_4O_6K Na.4H_2O$	33g.
Citrate de sodium $C_6H_5O_7Na_3.2H_2O$	24g
Acide sulfurique H_2SO (IN)..xml.
Eau distillée H_2O	1000 ml.
Brij 35 (30%).....	0,5 ml.

Préparation

Dissoudre le tartrate de potassium et de sodium dans \pm 800 ml d'eau distillée. Ajouter le citrate de sodium et dissoudre. Ajuster le pH à 5 avec la solution d'acide sulfurique. Ajuster à 1 litre avec l'eau distillée puis ajouter le Brij 35 et mélanger.

Note :

La solution est stable pendant 1 semaine. Conserver à 4° C quand la solution n'est pas utilisée.

b. Solution de phénol

Produits chimiques exigés :

Phénol CH_2OH ...	83g.
Hydroxyde de sodium $NaOH$	40g.
Eau distillée H_2O .	1000 ml

Préparation

Dissoudre le phénol dans 50 ml d'eau distillée. Ajouter l'hydroxyde de sodium.

Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

Note : La solution est stable pendant une semaine.

c. Solution d'hypochlorite de sodium**Produits chimiques exigés :**

Solution d'hypochlorite de sodium NaClO (13% de chlore actif)...200 ml.

Eau distillée H₂O..800 ml.

Préparation

Diluer la solution d'hypochlorite de sodium dans 700 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

d. Solution de nitroprussiate de sodium**Produits chimiques exigés :**

Nitroprussiate de sodium Na₂ [Fe(CN)₅NO].2H₂O....0,5 g.

Eau distillée H₂O.1000 ml.

Préparation

Dissoudre le nitroprussiate de sodium dans ± 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

Note:

Conserver dans une bouteille à couleur sombre.

La solution est stable pendant 1 semaine.

Conserver à 4° C quand la solution n'est pas utilisée.

e. Liquide de rinçage :

Eau fraîchement distillée H₂O.

II- Préparation des solutions étalons**a. Solution mère de 100 ppm N (*)****Produits chimiques exigés :**

Chlorure d'ammonium NH₄CL.....0,3819g.

Eau distillée H₂O.....1000 ml.

Préparation

Dissoudre le chlorure d'ammonium dans ± 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

Note : La solution est stable pendant 1 mois. Conserver à 4° C quand la solution

N'est pas utilisée.

b. Solution fille de 10 ppm N

Diluer 10 ml de la solution mère à 100 ppm N dans 100 ml d'eau distillée.

Note : Préparer la solution fille à 10 ppm Si chaque semaine et les standards chaque jour.

(*) : Les concentrations des solutions étalons sont transformées en µmol/l de NH₄⁺.

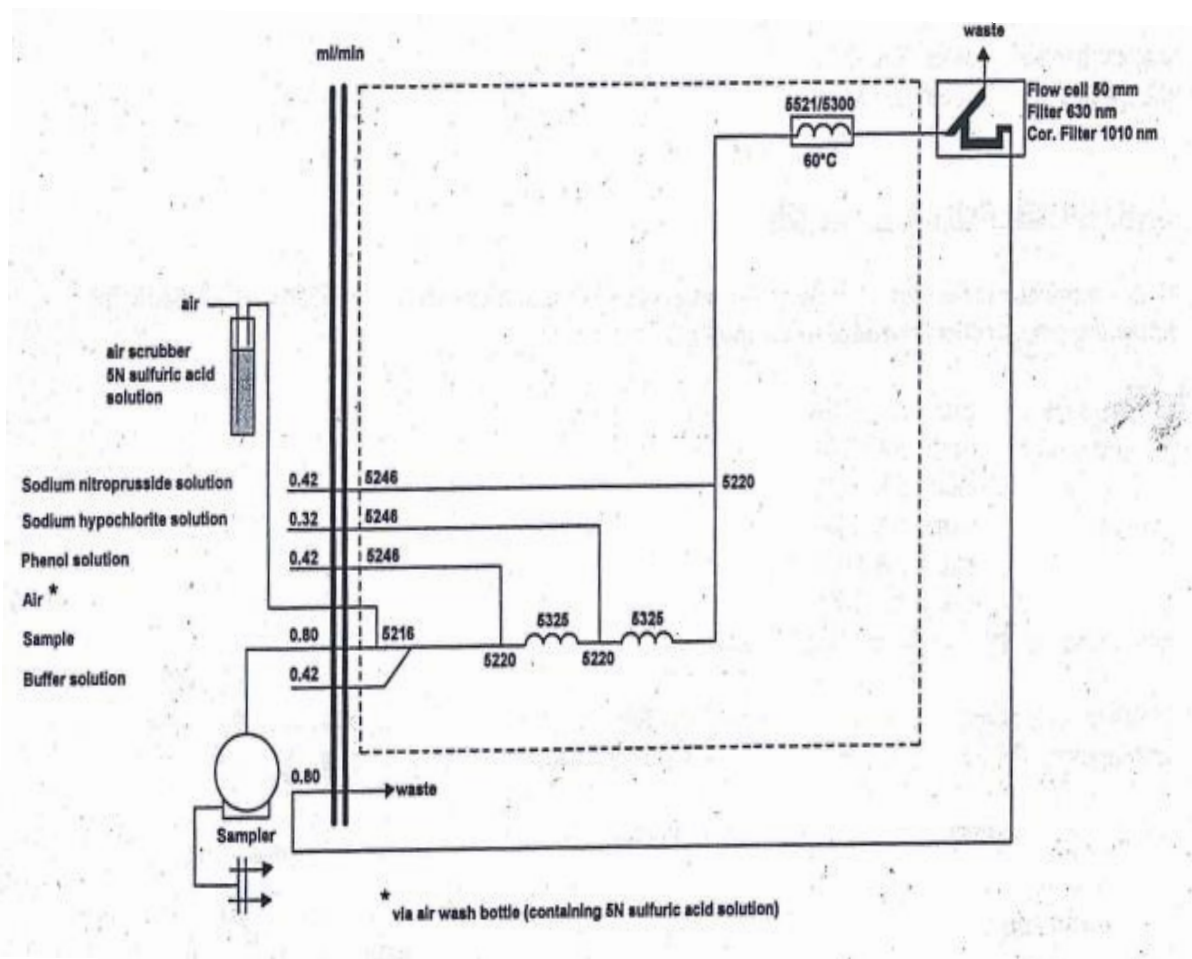


Figure 1 : Circuit analytique pour le dosage de l'ammonium (Skalar, 1998)

Dosage des nitrites + nitrates

I. Réactifs

a. Solution tampon

Produits chimiques exigés :

Chlorure d'ammonium NH_4Cl	50 g
Solution d'ammonium NH_4OH (25%).....	± 1 ml
Hydroxyde de sodium NaOH	5g
Eau distillée H_2O	1000ml
Bridj 35 (30%),.....	3 ml

Préparation

Dissoudre le chlorure d'ammonium dans 800 ml d'eau distillée. Ajuster le pH à 8,2 avec la solution d'ammonium. Ajouter l'hydroxyde de sodium et dissoudre. Ajuster à

1 litre avec de l'eau distillée, ajouter le Bridj 35 et mélanger.

Note : La solution est stable pendant 1 semaine. Conserver à 4° C quand la solution n'est pas utilisée.

b. Réactif colorant**Produits chimiques exigés :**

Acide o-phosphorique H_3PO_4 (85%).....	150ml
Sulfanilamide $C_6H_8N_2O_2S$	10g
α -Naphtyléthylène diamine dihydrochloride $C_{12}H_{16}Cl_2N_2$0,5g
Eau distillée H_2O	850ml

Préparation

Diluer l'acide o-phosphorique dans 750 ml d'eau distillée. Ajouter le sulfanilamide et le α -Naphtyléthylène diamine dihydrochloride et dissoudre. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

Note : La solution est stable pendant 2 semaines. Conserver dans une bouteille à couleur sombre.

c. Liquide de rinçage :

Eau fraîchement distillée H_2O (régénérée chaque semaine).

II. Préparation des solutions étalons**a. Solution mère de 100 ppm N (*)****Produits chimiques exigés :**

Nitrate de sodium $NaNO_3$	0,6068 g.
Eau distillée H_2O	1000 ml.

Préparation

Dissoudre le nitrate de sodium dans ± 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

Note : La solution est stable pendant 4 semaines. Conserver à 4° C quand la solution n'est pas utilisée.

b. Solution fille de 10 ppm N

Diluer 10 ml de la solution mère à 100 ppm N dans 100 ml d'eau distillée.

Note : Préparer la solution fille à 10 ppm chaque semaine et les standards chaque jour.

(*) : Les concentrations des solutions étalons sont transformées en $\mu\text{mol/l}$ de N-NO_3^- ou de N-NO_2^- puis en $\mu\text{moles/l}$ de NO_3^- ou de NO_2^- .

III- Préparation de la colonne réductrice

a. Solution d'acide chlorhydrique (4N)

Produits chimiques exigés :

Acide chlorhydrique HCl (32%).....400 ml

Eau distillée H_2O600 ml

Préparation : Diluer l'acide chlorhydrique dans 600 ml d'eau distillée.

b. Cadmium

Produits chimiques exigés :

Granules de cadmium taille 0,3-1,0 mm (tamisé)..... ..2,5 g.

Procédure de remplissage :

- 1- Les granules de cadmium sont mélangées avec ± 30 ml de la solution d'acide chlorhydrique (4N).
- 2- Agiter pendant 1 minute.
- 3- Ajouter environ 50 ml de solution de sulfate de cuivre et agiter pendant 5 minutes.

- 4- Laver la saleté entre les granules avec l'eau distillée.
- 5- Sécher les granules de cadmium.
- 6- Ajouter, à l'aide d'un entonnoir, les granules dans une colonne sèche, en secouant de temps en temps pour empaqueter la colonne des deux côtés.
- 7- Remplir jusqu'à 5 mm du sommet.
- 8- Placer un petit morceau de tube en polyéthylène, dans la colonne pour éviter que les préparé précédemment), granules ne sortent de la colonne.
- 9- Remplir la colonne, à l'aide d'une seringue contenant la solution tampon (réactif 1-1 préparé précédemment).
- 10- Placer la colonne dans le système.

Note : Eviter que l'air rentre dans la colonne.

Les granules de cadmium activés peuvent être stockés sec, dans une bouteille bien fermée.

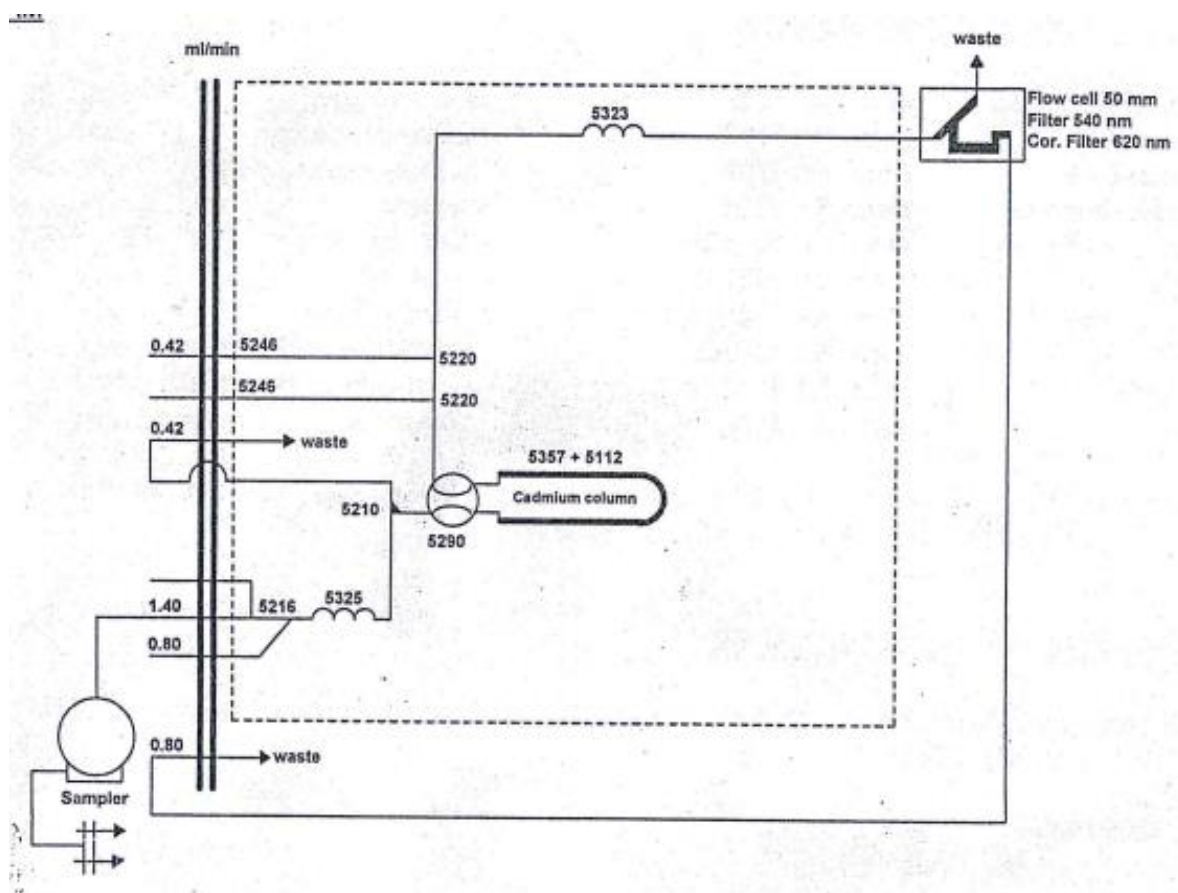


Figure 2 : Circuit analytique pour le dosage de nitrite et nitrate (Skalar, 1998)

Dosage des phosphates

I. Réactifs

a. Solution de molybdate d'ammonium

Produits chimiques exigés :

Tartrate de potassium et d'antimoine	
K (SBO) $C_4H_4O_6 \cdot 5H_2O$	230 mg.
Acide sulfurique H_2SO_4 (97%).....	69, 4 ml
FFD6... ..	2 ml.
Molybdate d'ammonium $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$	6g
Eau distillée H_2O	1000 ml.

Préparation

Dissoudre le tartrate de potassium et d'antimoine dans \pm 800 ml d'eau distillée. Ajouter soigneusement l'acide sulfurique en mélangeant constamment. Ajouter le molybdate d'ammonium et dissoudre. Ajuster à 1 litre avec l'eau distillée puis ajouter le FFD6 et mélanger.

Note :

Ne pas employer de cuillères en métal pour le molybdate d'ammonium. La sensibilité peut être augmentée de 50 % en employant 35 ml d'acide sulfurique concentré au lieu de 69,4 ml. Avec 35 ml l'interférence des silicates est 10% pour 300 ppb Si et 10% pour 10 ppb P. Le pH final doit être inférieur à 1. La solution est stable pendant 5 jours. Conserver à 4° C quand la solution n'est pas utilisée.

b. Solution d'acide ascorbique

Produits chimiques exigés :

Acide ascorbique $C_6H_8O_6$	11 g.
Acétone $C_3H_6O_8$	60 ml
Eau distillée H_2O	1000 ml.
FFD6... ..	2 ml.

Préparation

Dissoudre l'acide ascorbique dans \pm 800 ml d'eau distillée. Ajouter l'acétone. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée puis ajouter le FFD6 et mélanger.

Note: La solution est stable pendant 5 jours. Conserver à 4° C quand la solution n'est pas utilisée.

c. Liquide de rinçage

Eau fraîchement distillée H₂O (régénérée chaque semaine).

II. Préparation des solutions étalons**a. Solution mère de 100 ppm P (*)****Produits chimiques exigés :**

Dihydrogène o-phosphate de potassium KH₂PO₄.....0,4394 g

Eau distillée H₂O..... .. 1000 ml

Préparation

Dissoudre le dihydrogène o-phosphate de potassium dans \pm 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

Note : La solution est stable pendant 4 semaines. Conserver à 4° C quand la solution

N'est pas utilisée.

b. Solution fille de 10 ppm P

Diluer 10 ml de la solution mère à 100 ppm P dans 100 ml d'eau distillée.

Note : Préparer la solution fille à 10 ppm P chaque semaine et les standards chaque jour.

(*) : Les concentrations des solutions étalons sont transformées en umoles/l de PO₄.

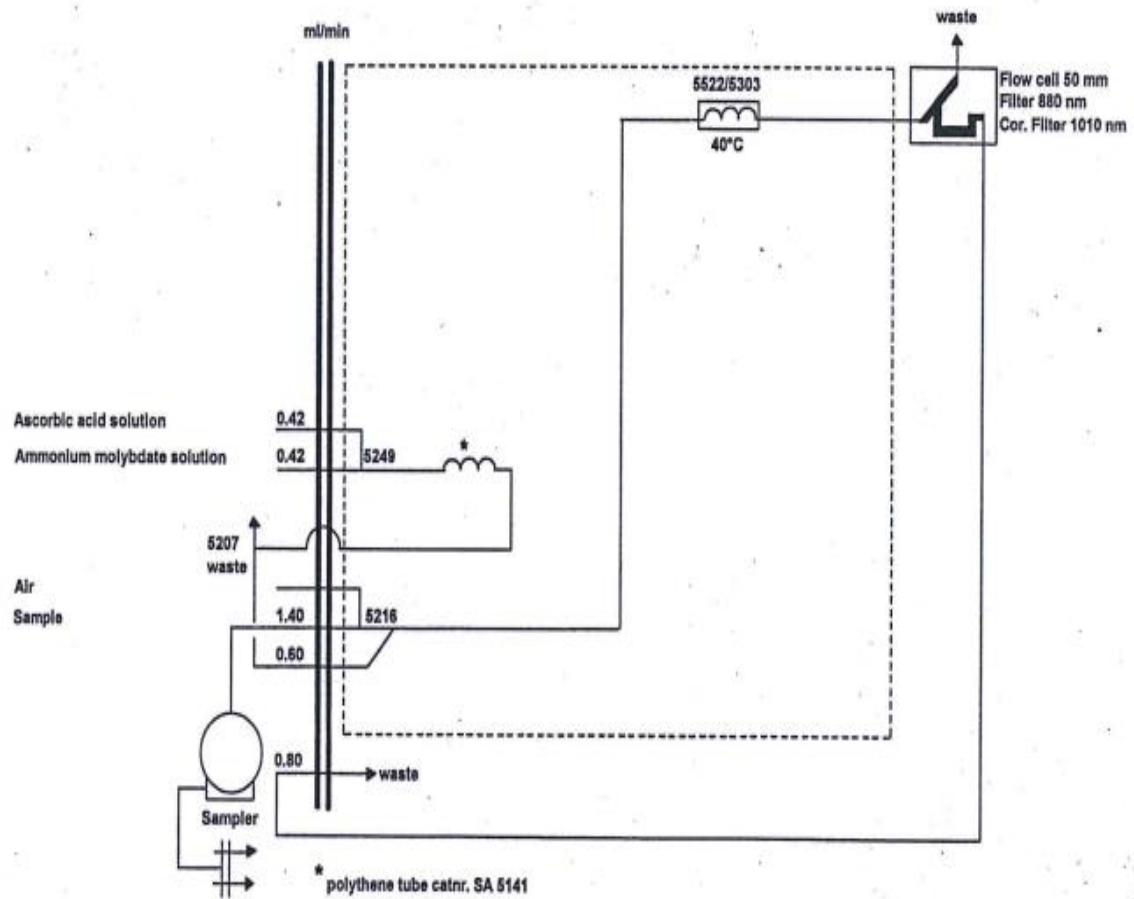


Figure 3 : Circuit analytique pour le dosage des orthophosphates (Skalar, 1998)

Dosage des silicates

I- Réactifs

a. Solution d'acide sulfurique

Produits chimiques exigés :

Acide sulfurique H_2SO_4 (97%).....	10 ml.
Eau distillée H_2O	1000 ml.
FFD6... ..	2 ml.

Préparation

Diluer l'acide sulfurique dans \pm 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec l'eaudistillée puis ajouter le FFD6 et mélanger.

Note : La solution est stable pendant 1 semaine. Conserver à 4°C quand la solution N'est pas utilisée.

b. Solution de molybdate d'ammonium

Produits chimiques exigés :

Molybdate d'ammonium $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$	20g.
Eau distillée H_2O	1000 ml.
FFD6.....	2 ml.

Préparation

Dissoudre le molybdate d'ammonium dans \pm 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec l'eau distillée puis ajouter le FFD6 et mélanger.

Note : Conserver dans une bouteille de polyéthylène. La solution est stable pendant 1jour. Ne pas utiliser de cuillères en métal pour le molybdate d'ammonium.

c. Solution d'acide oxalique

Produits chimiques exigés :

Acide oxalique $C_2H_2O_4.2H_2O$	44g
---	-----

Eau distillée H₂O... ..1000 ml.

Préparation

Dissoudre l'acide oxalique dans 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec l'eau distillée et mélanger.

Note : Conserver dans une bouteille de polyéthylène. La solution est stable pendant 1 Mois. Conserver à 4° C quand la solution n'est pas utilisée.

d. Liquide de rinçage

Eau fraîchement distillée H₂O.

Note : Changer l'eau quotidiennement. Conserver dans une bouteille en polyéthylène.

II- Préparation des solutions étalons

a. Solution mère de 100 ppm Si (*)

Produits chimiques exigés :

Métasilicate de sodium Na₂SiO₃.9H₂O.1,0119 g

Eau distillée H₂O.....1000 ml.

Préparation

Dissoudre le métasilicate de sodium dans 800 ml d'eau distillée. Ajuster à 1 litre avec de l'eau distillée et mélanger.

Note : La solution est stable pendant 1 mois. Conserver dans une bouteille en Polyéthylène.

b. Solution fille de 10 ppm Si

Diluer 10 ml de la solution mère à 100 ppm Si dans 100 ml d'eau distillée.

Note : Préparer la solution fille à 10 ppm Si chaque semaine et les standards chaque

Jour. Conserver dans une bouteille en polyéthylène.

(*) : Les concentrations des solutions étalons sont transformées en $\mu\text{moles/l}$ de SiO_4

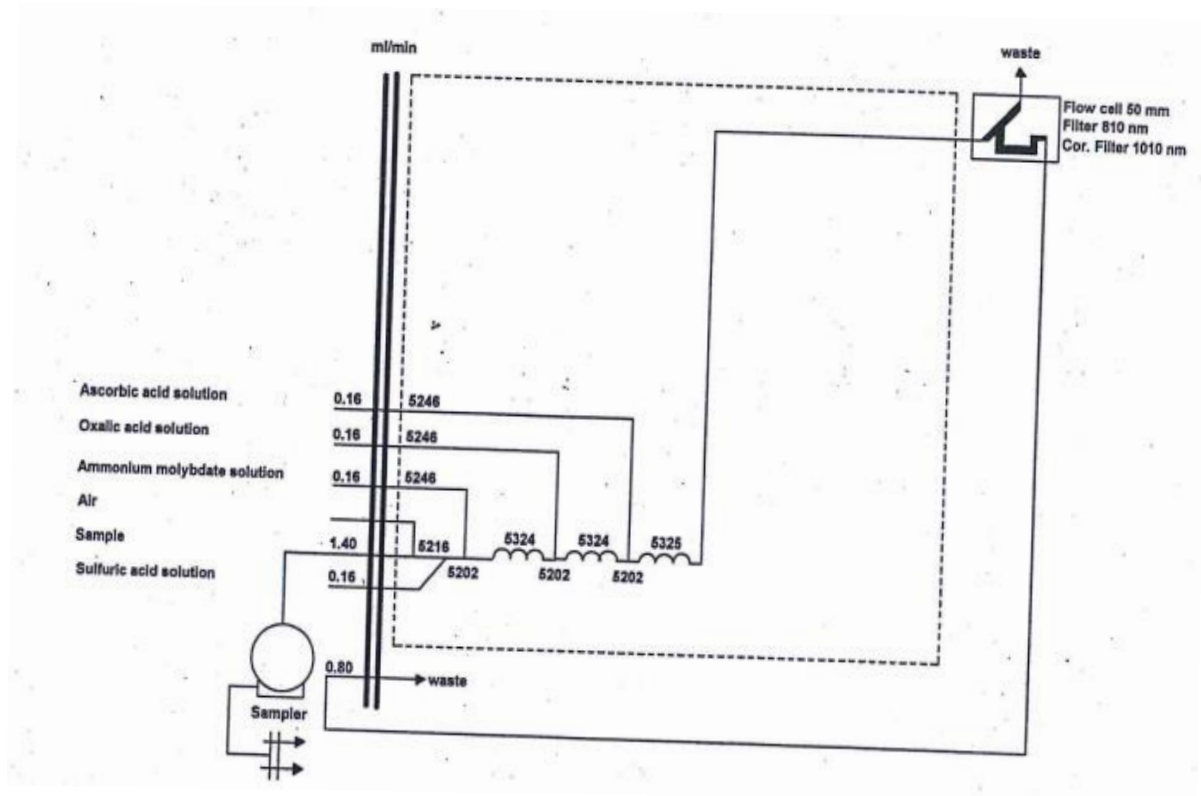


Figure 4 : Circuit analytique pour le dosage de silicate (Skalar, 1998)

Dosage d'azote totale/phosphore totale

Prétraitement

Filtrer l'échantillon sur une membrane de 0,45 µm pour éliminer tous les microorganismes.

Digestion au persulfate

Prendre 10 ml de la solution de digestion puis ajouter 5 ml d'échantillon dans un tube fermé de 50 ml et autoclaver à 120°C pendant 60 min. Peser chaque tube avant l'autoclavage. Une fois la température diminue, peser encore chaque tube.

Solution de digestion

Dans un ballon jaugé, ajouter l'hydroxyde de sodium, le persulfate de potassium et l'acide borique, en suit ajouter l'eau distillée pour remplie $\approx 90\%$ du ballon. Brassier avec un agitateur magnétique et de la chaleur (se dissous en 5 à 10 minutes). Finalement compléter le ballon avec l'eau distillé et homogénéisée en brassant. Préparer la solution de digestion à la dernière minute (soit quand les échantillons sont déjà tous dans les tubes et qu'on est prêt pour le traitement à l'autoclave). Dans une cuvette de spectrophotomètre, pipeter 160 µl de filtrat. Ajouter 1,52 ml ED (eau distillés). Ajouter 320 µl de la solution B, composée de la solution A (contenant du molybdate d'ammonium, de l'ED, du tartrate d'antimoine de potassium et de l'acide sulfurique) ainsi que 0,528 g d'acide ascorbique. Placer un petit bout de parafilm sur la cuvette puis brassier par inversion. Après 10 minutes (lesquels la couleur se développera), mesurer l'absorbance à 882 nm. Couleur se développe en fonction du pH de la solution à tester. Le dosage se fait par la même méthode de dosage des orthophosphates.

ANNEXES n°2

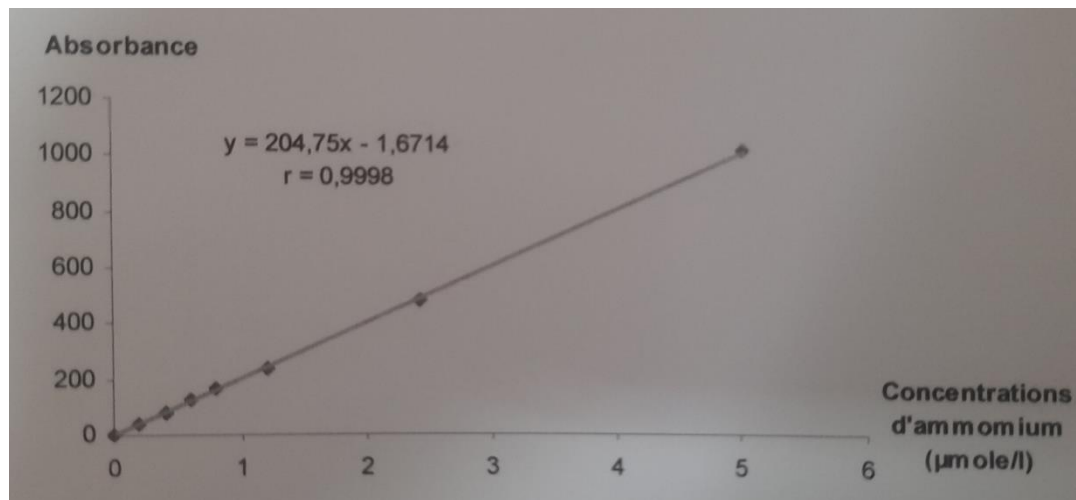


Figure 5 : Courbe d'étalonnage de l'ammonium

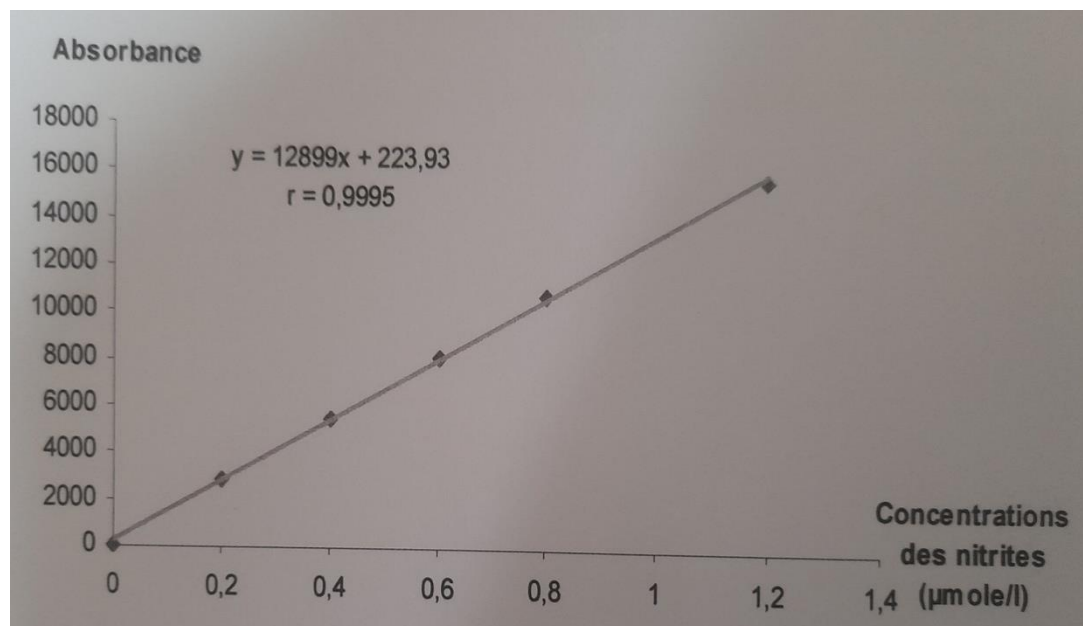


Figure 6 : Courbe d'étalonnage des nitrites

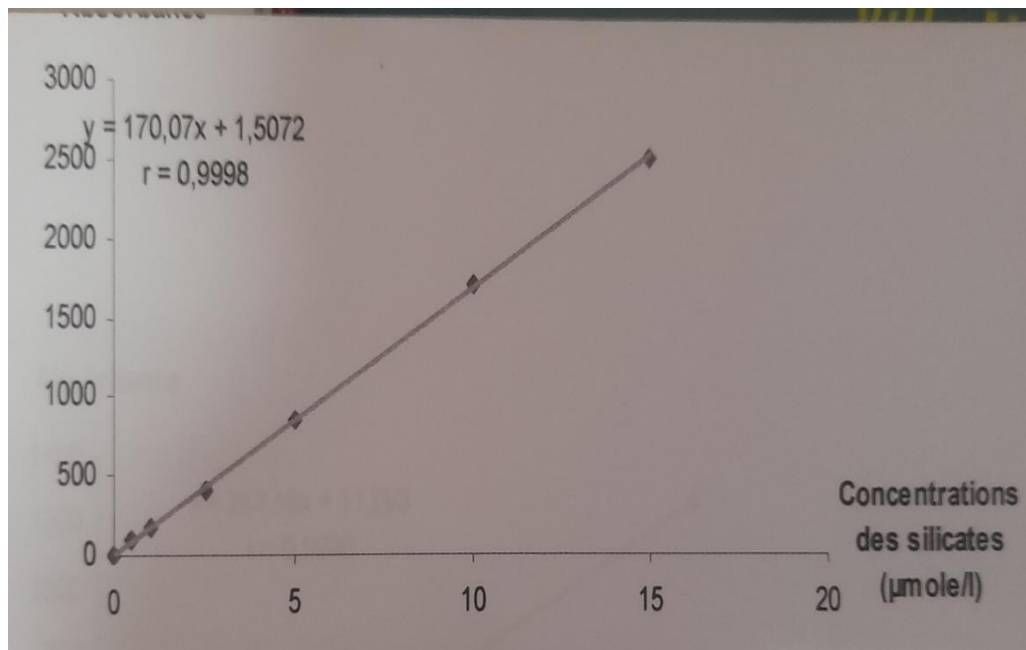


Figure 7 : Courbe d'étalonnage des silicates

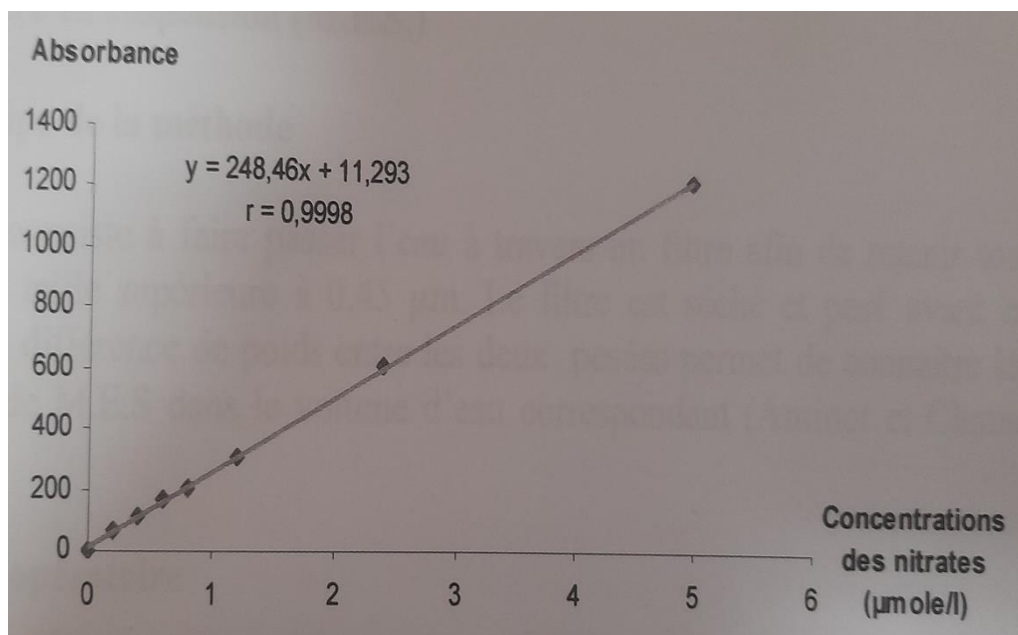


Figure 8 : Courbe d'étalonnage des nitrates

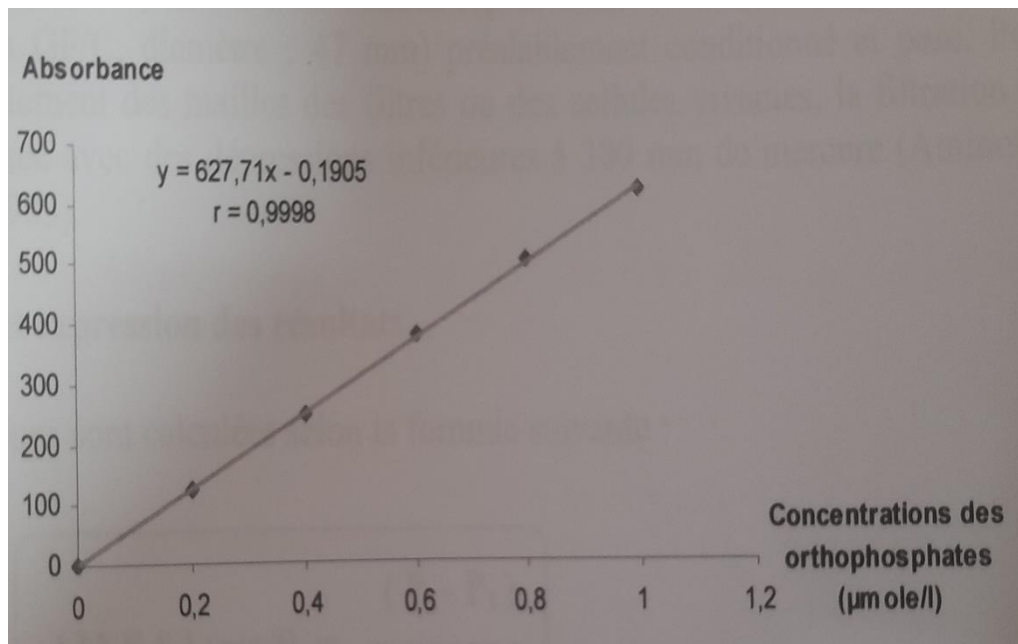


Figure 9 : Courbe d'étalonnage des orthophosphates

ANNEXES n°3

BUSINESS MODEL CANVAS

Introduction

Centré sur la culture de Chlorelles et la récupération de la biomasse produite sous forme d'une poudre de haute qualité, destinée à la consommation animale, nous adoptons le Business Model Canvas (BMC) en tant qu'outil fondamental pour la conception de notre modèle d'entreprise. Le BMC représente une méthode visuelle précieuse, permettant d'analyser et de décrire de manière concise les éléments clés d'un modèle d'entreprise.

Notre objectif majeur consiste à convertir la biomasse issue de la culture de Chlorelles en une poudre de qualité supérieure, prête à être commercialisée, et à la proposer à des clients œuvrant dans différents secteurs ; tels que, l'alimentation animale, et l'aquaculture. Notre démarche vise à optimiser la valeur économique de cette biomasse en fournissant un produit final qui répond aux attentes spécifiques des clients.

Le BMC permet de structurer les divers composants du modèle de notre d'entreprise de manière cohérente. Il nous aide à élaborer une proposition de valeur unique, à identifier les segments de clientèle que nous ciblons, à sélectionner les canaux de distribution les plus appropriés, à établir des partenariats stratégiques et à analyser les sources de revenus ainsi que les coûts.

Dans ce qui suit, nous allons décrire les différents éléments du BMC, appliqués à notre projet spécifique. L'accent sera mis sur la culture de Chlorelles en tant que source de biomasse, le processus de sa récupération pour la transformer en poudre de bonne qualité, et enfin, la commercialisation du produit auprès de clients ciblés, qui exercent dans les domaines de la consommation animale.

BUSINESS MODEL CANVAS

<p>PARTENAIRES CLES</p> <ul style="list-style-type: none"> • Financement : -ANADE. -ASF. • Société de livraison : -Golden triple export. -Transmex SPA. • Laboratoire de contrôle de qualité : • Société d'emballage : -SARL SP Emballage -Algérie Emballage • Fournisseur de matière première : -Fournisseurs de Souche et milieu de culture 	<p>ACTIVITE CLES</p> <ul style="list-style-type: none"> - Culture et entretien des Chlorelles dans les photobioréacteurs. -Récupération et traitement de la biomasse pour obtenir une poudre de haute qualité. -Commercialisation. 	<p>PROPOSITION DE VALEUR</p> <p>Compléments Alimentaires Naturels : Aliments à base de Chlorelles riches en nutriments pour la santé des poissons et des animaux.</p>	<p>RELATION CLIENTS</p> <ul style="list-style-type: none"> -Support Client en Ligne : Répondre aux questions et fournir un suivi. -Engagement sur les Réseaux Sociaux : Éducation des clients sur les avantages des Chlorelles. 	<p>SEGMENTS DE MARCHÉ</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aquaculteurs : Producteurs de poissons d'élevage à la recherche d'aliments nutritifs et durables.
	<p>RESSOURCE CLES</p> <ul style="list-style-type: none"> - Matières premières (souches de microalgues / milieux de culture) -Photobioréacteurs tubulaires et infrastructures de culture. -Site web et plateformes de commerce électronique. 		<p>DISTRIBUTION</p> <ul style="list-style-type: none"> -Site Web de Commerce Électronique : Vente directe aux clients Partenariats avec des magasins d'aliments naturels. - Collaborations avec Distributeurs Alimentaires : Ventes en gros pour l'industrie aquacole. 	<p>Propriétaires d'Animaux Domestiques</p> <ul style="list-style-type: none"> :Personnes soucieuses de la nutrition de leurs animaux de compagnie.
<p>STRUCTURE DE COUTS</p> <p>_ Locale : 600.000 DA/Mois_ Équipement de culture : 4.550.000 DA_ Équipements de laboratoire : (920.000DA) _ contrôle de qualité du produit : (200.000 DA)</p> <p>_ Équipement de conditionnements (Presse a comprimé/Emballage et étiquetage) : (470.000 DA) _ Distribution :(2.000.000 DA) _ Salariés :(50.000 DA) Totale : (9.000.000 DA)</p>			<p>SOURCES DE REVENU</p> <ul style="list-style-type: none"> • Vente directe aux consommateurs via le site web. • Ventes en gros aux partenaires de distribution. • Modèle d'abonnement mensuel pour la livraison régulière de compléments alimentaires. • Revenus de services de conseil et de formation 	

Les objectifs du projet :

- ✓ Valoriser les Microalgues Nutritives : Mettre en avant le potentiel nutritionnel des Chlorelles en les transformant en une poudre de qualité pouvant servir comme complément alimentaire, hautement bénéfique pour les animaux.
- ✓ Fournir une Source de Nutrition Optimale : Offrir une solution nutritionnelle complète, riche en protéines, vitamines, minéraux et antioxydants, pour répondre aux besoins de diverses industries telles que l'aquaculture, et des animaux domestiques.
- ✓ Assurer la Qualité et la Sécurité Alimentaire : Mettre en place des normes strictes de contrôle qualité et de sécurité alimentaire tout au long du processus de production pour garantir la pureté et l'intégrité de la poudre de Chlorelles.
- ✓ Innovations dans l'Industrie de la Nutrition : Introduire une nouvelle approche dans l'industrie de la nutrition en mettant en avant les avantages des microalgues en tant que source de nutriments essentiels.
- ✓ Créer des Opportunités d'Emploi et Stimuler l'Économie Locale : Générer des emplois dans la production, la recherche et la distribution de la poudre de Chlorelles, contribuant ainsi au développement économique de la région.
- ✓ Établir une Entreprise Prospère : Créer une entreprise durable et rentable qui peut soutenir la croissance continue et la distribution de la poudre de Chlorelles pour répondre aux besoins du marché.

Composition Générale de la Poudre de Chlorelles :

Typiquement, les Chlorelles se composent de :

- ✓ Protéines : Les Chlorelles sont reconnues pour leur teneur élevée en protéines, souvent supérieure à celle d'autres sources végétales. Les pourcentages de protéines peuvent varier, mais elles peuvent représenter jusqu'à 50-60% de la biomasse.
- ✓ Vitamines : Les Chlorelles sont riches en vitamines, notamment la vitamine B12, la vitamine K, la vitamine A (sous forme de bêta-carotène), la vitamine C, et plus encore.
- ✓ Minéraux : Les Chlorelles contiennent une gamme de minéraux essentiels tels que le fer, le zinc, le magnésium et le calcium.
- ✓ Acides Gras Oméga-3 : Les Chlorelles peuvent contenir des acides gras oméga-3 bénéfiques pour la santé cardiovasculaire et cérébrale.
- ✓ Antioxydants : Les Chlorelles contiennent divers antioxydants naturels, comme la chlorophylle et les caroténoïdes.
- ✓ Fibres : Bien que les Chlorelles ne soient pas particulièrement riches en fibres, elles peuvent en contenir en quantités modérées.

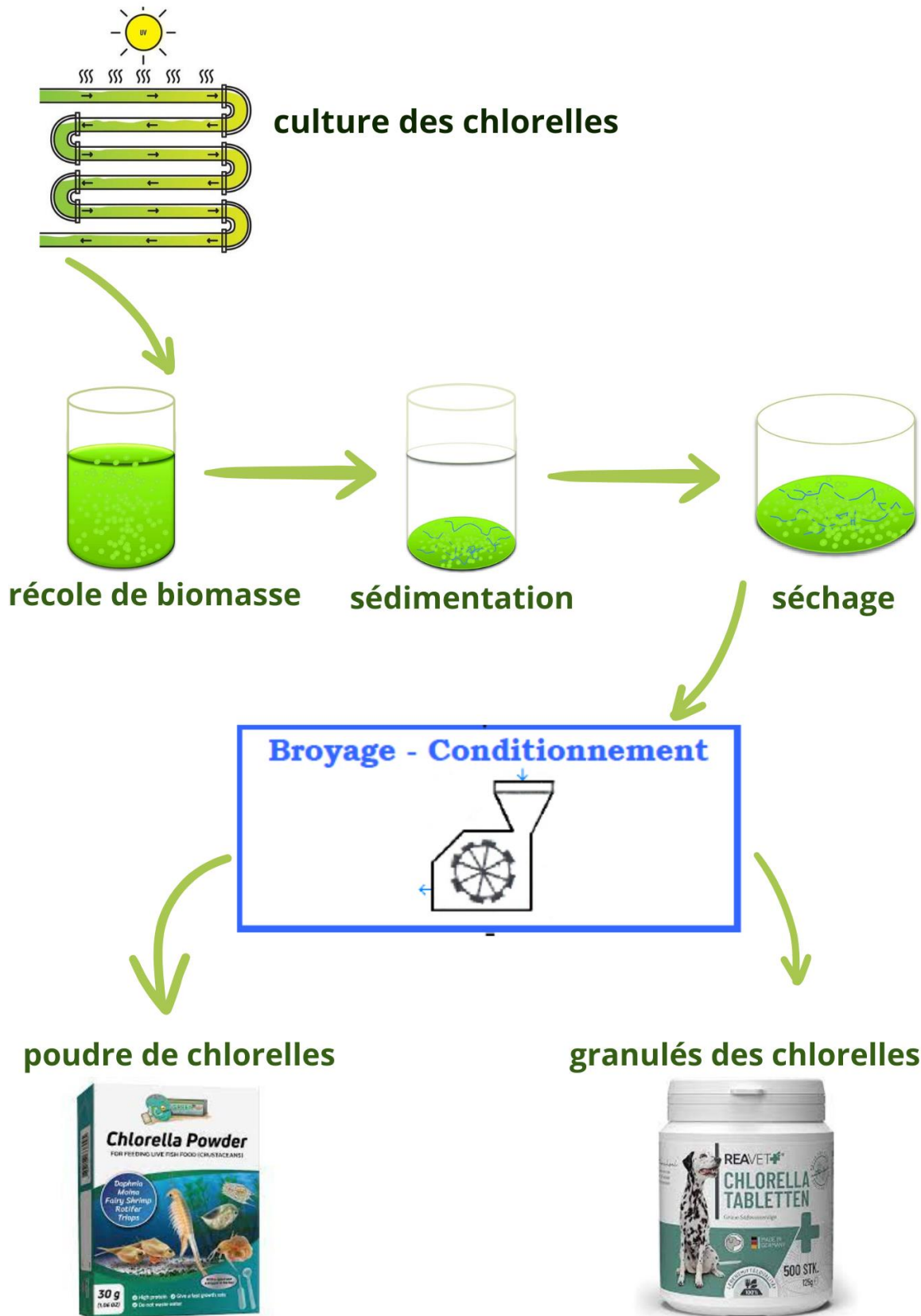
La poudre de Chlorelles que nous proposons est le fruit de notre approche méticuleuse de culture, de récolte et de transformation des microalgues. Le processus de transformation doit préserver les composants de la chlorelle, précédemment décrits, dans leur forme la plus pure et biodisponible. Les protéines soutiennent la croissance et la réparation cellulaire, les vitamines et les minéraux renforcent l'immunité et la vitalité, tandis que les acides gras oméga-3 et les antioxydants contribuent à la santé cardiovasculaire et à la protection cellulaire. Cette combinaison de nutriments fait de la poudre de Chlorelles un choix judicieux pour ceux qui cherchent une nutrition optimale pour les animaux.

Procédé de fabrication :

1. **Culture et Croissance des Chlorelles** : Le processus débute par la culture des microalgues Chlorelles dans des environnements contrôlés tels que des photobioréacteurs tubulaires, l'un des types de systèmes fermés utilisés pour la culture de microalgues à grande échelle. Les conditions optimales de lumière, de température et de nutriments sont maintenues pour favoriser la croissance et la multiplication des Chlorelles.
2. **Méthode de Récolte** :
 - ✓ Arrêt de la Croissance : Lorsque les microalgues ont atteint une densité appropriée dans les tubes du photobioréacteur, ce qui peut être estimé en fonction de la couleur vert foncé et de l'opacité de la culture, vous pouvez commencer le processus de récolte.
 - ✓ Sédimentation : Après avoir arrêté la croissance, les microalgues peuvent être laissées à se sédimenter naturellement dans la cuve de réaction. Au fil du temps, les microalgues se déposeront au fond de la cuve.
 - ✓ Récolte : Une fois que les microalgues se sont sédimentées, vous pouvez utiliser un tube aspirateur ou un dispositif similaire pour prélever délicatement la biomasse de la partie inférieure de la cuve.
3. **Concentration** : La biomasse de Chlorelles récoltée peut contenir une grande quantité d'eau. La concentration consiste à éliminer une partie de cette eau pour obtenir une biomasse plus concentrée.
4. **Lavage et Purification** : Les Chlorelles concentrées subissent un processus de lavage pour éliminer les impuretés et les contaminants. Cette étape garantit que la biomasse est propre et de haute qualité.
5. **Séchage** : La biomasse de Chlorelles lavée est ensuite séchée pour réduire la teneur en eau à un niveau approprié pour le traitement ultérieur. Le séchage peut être réalisé à une température contrôlée et pas assez élevée pour préserver la qualité nutritionnelle.
6. **Broyage** : La biomasse de Chlorelles séchée est broyée pour obtenir une poudre fine et homogène. Cette poudre est ensuite prête à être transformée en complément alimentaire.

7. **Formulation** : La poudre de Chlorelles peut être formulée en mélangeant avec d'autres ingrédients pour améliorer la saveur, la texture ou la valeur nutritionnelle. Des vitamines, des minéraux ou d'autres extraits naturels peuvent être ajoutés à cette étape.
8. **Conditionnement** : La poudre de complément alimentaire à base de Chlorelles est conditionnée dans des emballages appropriés, tels que des sachets, des pots ou des capsules, pour préserver sa qualité
9. **Tests de Contrôle Qualité** : Des échantillons de la poudre sont envoyés au laboratoire microbiologique pour des tests de contrôle qualité approfondis. Les tests évaluent la pureté, la teneur en nutriments et l'absence de contaminants. Cette étape garantit que le produit final répond aux normes de qualité requises.

10. **Distribution** : Une fois que les tests de contrôle qualité sont satisfaisants, les compléments alimentaires à base de poudre de Chlorelles sont prêts à être distribués aux consommateurs, y compris aux aquaculteurs pour l'alimentation des poissons, aux êtres humains et aux animaux domestiques, à travers les canaux de distribution choisis.



1. **Activités clé** : Notre entreprise se concentre sur trois activités clés :

- ✓ **Culture et Entretien des Chlorelles** : Nous cultivons et entretenons les Chlorelles avec précision dans des photobioréacteurs avancés pour maximiser leur potentiel nutritionnel.
 - ✓ **Récupération et Traitement de la Biomasse** : Nous transformons la biomasse de Chlorelles en une poudre de haute qualité en utilisant des méthodes de récupération et de traitement approuvées.
 - ✓ **Commercialisation** : Nous mettons en valeur notre produit auprès des aquaculteurs, et des propriétaires d'animaux domestiques grâce à des emballages attractifs, des canaux de distribution efficaces et des partenariats stratégiques.
1. **Proposition de valeur** : Nous proposons des compléments alimentaires naturels à base de Chlorelles, riches en nutriments essentiels. Nos produits de haute qualité répondent aux besoins nutritionnels animaux aquatiques et domestiques, offrant une source authentique et bénéfique de bien-être.
2. **Relation clients** : Nous offrons un support en ligne pour répondre aux questions et fournir un suivi régulier
- ✓ -Site Web : Il est important de communiquer de manière claire et transparente avec les clients. Cela inclut la fourniture d'informations précises sur les produits, les politiques, les délais de livraison, etc. Les clients doivent savoir à quoi s'attendre et être informés de tout changement ou problème éventuel.
 - ✓ -Page sur les réseaux sociaux : Établir une présence en ligne active sur les réseaux sociaux et les plateformes communautaires, ceci peut favoriser l'engagement des clients. Il est possible de créer des espaces où les clients peuvent interagir entre eux et avec la marque, partager leurs expériences et poser des questions.
 - ✓ Assurer un produit de haute qualité : Nous assurons que nos produits de base sont de haute qualité pour répondre aux attentes des clients et favoriser leur satisfaction. Cela contribue à fidéliser la clientèle et à générer des revenus récurrents.
 - ✓ Assurer la disponibilité : Mettre en place des systèmes de gestion des stocks pour suivre et contrôler les niveaux de stock de manière régulière. Cela permet d'anticiper les besoins en réapprovisionnement et de s'assurer que les produits sont toujours disponibles lorsque les clients en ont besoin.
3. **Distribution** :
- ✓ Vente Directe via un Site Web de Commerce Électronique : Nous offrons aux clients la possibilité d'acheter nos produits directement via notre site web de commerce électronique convivial. Grâce à cette plateforme, les clients peuvent explorer nos produits, passer des commandes en ligne et recevoir leurs compléments alimentaires à

base de Chlorelles confortablement chez eux. Nous veillons à une expérience d'achat en ligne fluide et sécurisée, simplifiant ainsi l'accès à nos produits.

- ✓ **Partenariats avec des Magasins d'Aliments Naturels :** Nous établissons des partenariats stratégiques avec des magasins d'aliments naturels. Cette approche permet à nos produits d'être disponibles physiquement pour les clients qui préfèrent une expérience d'achat en personne. Nos partenaires partagent notre engagement envers la qualité et la santé, offrant une vitrine aux compléments alimentaires à base de Chlorelles dans des lieux de confiance.
- ✓ **Collaboration avec des Distributeurs Spécialisés dans les Produits d'Alimentation Animale :** Pour les compléments alimentaires destinés aux animaux, nous collaborons avec des distributeurs spécialisés dans les produits d'alimentation animale. Cette approche garantit que nos produits atteignent les éleveurs, les propriétaires d'animaux domestiques et les professionnels de l'aquaculture. Ces partenaires comprennent les besoins spécifiques des animaux et s'assurent que nos produits contribuent à leur bien-être.

4. Segment de marché :

5. **Aquaculteurs :** Les aquaculteurs représentent un segment clé de notre marché. Ce sont des producteurs de poissons d'élevage qui cherchent des solutions nutritionnelles de qualité pour leurs élevages. Notre proposition de valeur est conçue pour répondre à leurs besoins spécifiques en offrant des compléments alimentaires à base de Chlorelles riches en protéines, vitamines et minéraux. Ces produits soutiennent la croissance saine et la résistance aux maladies de leurs poissons d'élevage, tout en contribuant à la durabilité de l'aquaculture.
6. **Propriétaires d'Animaux Domestiques :** Les propriétaires d'animaux domestiques constituent un autre segment important de notre marché. Ils sont soucieux de la santé et de la nutrition de leurs animaux de compagnie, qu'il s'agisse de chiens, de chats ou d'autres animaux. Nos compléments alimentaires à base de Chlorelles offrent une source naturelle de nutriments essentiels pour leurs animaux, améliorant ainsi la santé et le bien-être de leurs compagnons à quatre pattes. C'est une option nutritionnelle authentique pour ceux qui considèrent leurs animaux comme des membres de la famille

7. Partenaire clé :

– Financement :

-ANADE (Alger) ; 021678218 ; celluleecoute@anade.dz

-ASF (Alger) ; 021636400 ; contact@asf.dz

– Société de livraison :

-Golden triple export (Dar el Beidha Alger); 0553799458.

- **Laboratoire de tests de qualité :**
- **Société d'emballage :**
 - SARL SP Emballage (Alger) 0770669472.
 - Algérie Emballage (Zéralda) 0770345020.

8. Sources de revenus :

Vente en ligne directe aux consommateurs, ventes en gros aux partenaires de distribution, abonnements mensuels pour livraisons régulières et revenus issus de services de conseil et de formation.

9. Estimation technoeconomique :

Catégorie de coûts	Montant estimé (DA)
<ul style="list-style-type: none"> • Local 	600.000 DA/ Mois
<ul style="list-style-type: none"> • Équipements de culture : <ul style="list-style-type: none"> – Matière primaire (souches de chlorelles purifiées). – Photobioréacteur tubulaire – Milieux BG11 de marque Gibbon • Équipements de laboratoire : <ul style="list-style-type: none"> – Étuve – Spectrophotomètre – Multi paramètres – Broyeur – Verrerie de laboratoire 	150.000 DA 4.000.000 DA 400.000DA 300.000 10.000 à 20.000 100.000 à 200.000 200.000 200.000
<ul style="list-style-type: none"> • Contrôle de qualité du produit 	(200.000 DA)
<ul style="list-style-type: none"> • Équipement de conditionnements <ul style="list-style-type: none"> – Granulateur – Emballage et étiquetage 	170.000 DA 300.000 DA
<ul style="list-style-type: none"> • Personnel et expertise : <ul style="list-style-type: none"> – Équipe de recherche et développement – Équipe de production et de fabrication – Équipe de vente et de marketing – Rôles administratifs et de support – Salariés 	Varié Varié Varié Varié 50.000
<ul style="list-style-type: none"> • Distribution : 	2.000.000
<ul style="list-style-type: none"> • Autres charges 	100.000
<ul style="list-style-type: none"> • Total 	9.000.000 DA