

Introduction générale

Le traitement des eaux usées occupe une place importante dans les soucis environnementaux de notre pays car les rejets d'eaux résiduaires ont fortement évolué en quantité et qualité depuis quelques décennies. Les pollutions présentes dans l'eau sont d'origines diverses: industrielle, domestique ou agricole.

Les activités humaines produisent de nombreux déchets qui sont traités systématiquement par des technologies en constante évolution. L'épuration des eaux résiduaires urbaines (ERU) est réalisée dans des stations d'épuration (STEP) où leurs différents polluants sont séparés ou dégradés par des procédés physiques, chimiques ou biologiques.

Inévitablement, la quasi-totalité des procédés d'épuration appliqués aux effluents résiduaires des secteurs industriel et urbain, qu'ils soient biologiques ou physico-chimiques, aboutissent à concentrer les polluants sous forme de suspension aqueuses ou de boues.

Ces boues constituent des déchets volumineux, puisqu'elles contiennent généralement 95 à 99 % d'eau, et sont génératrices de nuisances dans la mesure où, souvent, elles contiennent des matières organiques fermentescibles et/ou des matières toxiques. Pour cela, le traitement des boues est une phase difficile de la lutte contre la pollution. Par ailleurs, l'importance économique de ce problème est illustrée par l'importance du coût, tant en investissement qu'en exploitation qui peut représenter, notamment pour les stations d'épuration des grandes agglomérations, 40 à 60 % de l'ensemble du traitement des eaux.

Les procédés biologiques de la lutte contre la pollution des eaux, font l'objet de recherches très actives. Certaines bactéries sont capables de dégrader les rejets d'hydrocarbures, les eaux usées industrielles et les matières organiques réfractaires des eaux urbaines. Les procédés de traitement des eaux qui recueillent ces eaux usées sont composés de plusieurs phases, chacune traitant un type particulier de pollution (organique, chimique, minérale). De par ses excellentes performances, la phase de traitement biologique par boues activées représente la phase clé de la chaîne globale de traitement.

Une fois que cette eau usée est traitée, elle donne un résidu nommé les boues. Ces boues d'épuration résultent du fonctionnement efficace des systèmes de traitement physico-chimiques et biologiques qui permettent l'épuration des effluents urbains. Elles sont composées de biomasse cellulaire (20-40%), de matière organique réfractaire (40-60%) et de matières minérales (10-30%), peuvent contenir divers micropolluants minéraux et organiques parmi lesquels des organismes pathogènes. Cette composition est potentiellement nuisible pour l'environnement et pose un réel problème de gestion pour les exploitants.

Pour pouvoir résoudre convenablement et rationnellement un problème de boues, il est absolument indispensable de savoir des solutions technologiques permettant un traitement efficace et moins coûteux des déchets.

Les voies d'élimination actuelles de ces boues, reposent principalement sur l'épandage agricole (60%), la mise en centre d'enfouissement technique (25%) et l'incinération ou co-incinération (15%).

La valorisation de cette matière organique serait une solution judicieuse pour atténuer leurs effets nocifs. Par ailleurs, l'application d'un procédé de bioconversion, 'la digestion anaérobie', offre la possibilité de combiner le traitement de ces déchets et la production d'une énergie renouvelable qui est le biogaz. Ce gaz riche en méthane CH_4 possède un pouvoir énergétique élevé et peut être utilisé dans de nombreuses applications comme: le chauffage, la cuisson, la production d'électricité, l'éclairage et en tant que biocarburant et pouvant être injecté dans le réseau de gaz de ville.

A l'heure actuelle, l'épuration des eaux usées est principalement réalisée à l'aide d'un procédé à boues activées. Le traitement biologique par boues activées permet d'éliminer une grande partie de la matière organique (MO) des eaux résiduaires. L'amélioration du taux d'élimination de la MO et la diminution du volume des boues formées lors du traitement sont deux problèmes cruciaux d'une station d'épuration. La connaissance de la MO des eaux et des boues est essentielle pour leur compréhension.

Cependant, dans le cadre de la digestion anaérobie des boues d'épuration, l'étape limitante est l'hydrolyse enzymatique permettant de réduire les polymères en monomères simples facilement dégradables. Pour améliorer les performances de la digestion anaérobie, il

est nécessaire de réaliser un prétraitement physico-chimique de lyse cellulaire. Le but de ce traitement est de réaliser cette hydrolyse en amont de la digestion anaérobie.

En effet, la principale limitation de ce procédé appliqué aux boues de STEP est le rendement de dégradation de la DCO qui demeure faible. Ainsi, des travaux de recherche sont en cours pour développer des technologies permettant d'augmenter la biodégradabilité des boues lors de la digestion anaérobie. Ces procédés sont essentiellement basés sur la destruction des floes et des cellules microbiennes.

Il existe différents techniques physico-chimiques de lyse cellulaire. Ces techniques peuvent être basées sur des traitements mécaniques, chimiques, oxydatifs (ozone, H_2O_2) ou thermiques.

C'est dans ce contexte général que nous avons proposé d'étudier le prétraitement des boues activées par des méthodes d'oxydation avancée. Par conséquent, ce travail est présenté en deux grands chapitres:

- Le premier chapitre a pour objectif de poser la problématique du traitement et d'hydrolyse des boues activées. Pour ce faire, une étude comparative de différentes techniques de lyse cellulaire. Devant le grand nombre de techniques envisageables, 4 traitements différents ont été retenus : la méthode thermo-alcaline, l'oxydation par H_2O_2 , l'électrolyse et l'électro-Fenton. Pour chaque technique, une optimisation des conditions opératoires sera étudiée. La performance des prétraitements sera évaluée en terme de solubilisation de la matière organique. Aussi, Une étude de la digestion anaérobie en batch (Test de Potentiel Méthanogène) et en réacteur. L'étude de la biodégradabilité anaérobie des boues prétraitées par électro-Fenton sera comparée avec celle réalisée par les boues hydrolysées par la méthode thermo-alcaline dans un réacteur de type CSTR. Aussi, une autre étude de digestion anaérobie a été réalisée par des boues prétraitées par électro-Fenton dans un réacteur de type UASB. L'étude de la digestion anaérobie en réacteur permettra de confirmer les résultats en batch et d'estimer la faisabilité du traitement.
- Le second chapitre est consacré à étudier la dégradation de certaines substances cytotoxiques provenant des eaux usées des hôpitaux constituant une grande menace pour la santé et la sécurité humaine et aquatique. Les composés pharmaceutiques actifs (humaines et vétérinaires) sont des polluants émergents qui ont reçu beaucoup

d'attention dans la dernière décennie, non seulement en raison de la persistance et la toxicité potentielle de ces substances et de leurs métabolites actifs, mais aussi en raison de leur accumulation à la suite de l'introduction continue d'effluents dans des plans d'eau par les usines de traitement des eaux usées (STEP). La dégradation de ces effluents s'effectue par des procédés d'oxydation avancée. Pour chaque procédé, une optimisation des conditions opératoires sera étudiée pour permettre le maximum de dégradation de la matière organique contenue dans l'effluent et de diminuer sa toxicité.

Etude Bibliographique

Partie 1- Les boues activées : Caractérisation et mode de gestion

1. Le procédé d'épuration des eaux résiduaires urbaines et les boues produites

1.1. L'eau résiduaire urbaine (ERU)

Chaque jour, l'homme consomme de fortes quantités d'eau, tant pour son usage personnel que professionnel. Ces eaux, une fois utilisées, sont recueillies afin d'être épurées. Les eaux usées ainsi collectées ont donc deux origines : une origine domestique (Eaux Résiduaires Urbaines: ERU) et une origine industrielle (Eaux Résiduaires Industrielles: ERI). Dans le cas des zones peu ou moyennement industrialisées, ces eaux résiduaires sont mélangées et traitées ensemble dans une station d'épuration (STEP) qui a pour objectif de réduire la charge polluante qu'elles véhiculent afin de rendre au milieu aquatique une eau de qualité. Pour atteindre ces objectifs, le gouvernorat de Sfax implante 7 stations d'épurations des eaux usées : Sfax Sud, Mahres, Sfax Nord, Hencia, Agareb, Jbeniana, Kerkenah. En 2010, le volume annuel des eaux usées traitées dans ces stations est de l'ordre de 16632909 m³. Ce volume a augmenté vers 18743460 m³ en 2014. Ceci peut être expliqué par l'évolution du nombre d'habitants et de la population branchée au réseau d'assainissement.

Les ERU sont les rejets liquides produits par les activités humaines quotidiennes domestiques non industrielles. En général, elles sont constituées de plusieurs fractions identifiables et séparables les unes des autres par des méthodes physiques comme la filtration et la centrifugation ou par coagulation-floculation. Ces fractions et leurs séparabilités sont liées à la taille des particules qui constituent chaque fraction et à leur nature physico-chimique. Les ERU sont les mélanges de matière organique et minérale avec une distribution en taille très large.

Généralement, on caractérise les ERU à l'aide des paramètres globaux tels que la demande chimique en oxygène (DCO), la demande biologique en oxygène (DBO), le carbone organique total (COT), ou les matières volatiles en Suspension (MVS). En fait, les matières en suspension (MES) sont constituées par les fractions supra-colloïdales et décantables. On peut

aussi distinguer les fractions en raison de leur degré de dégradabilité selon le classement suivant (**Henze et al., 1987**):

- **Fraction soluble inerte**: Cette fraction est constituée des composés organiques et inorganiques non biodégradables avec une taille qui leur permet de rester en solution sans être modifiés.
- **Fraction facilement biodégradable**: Il s'agit des molécules de faibles tailles et poids moléculaires, les quelles traversent la paroi ou membrane cellulaire, et qui sont métabolisées rapidement par les microorganismes. Ces molécules comportent les composés compris dans la fraction dissoute-colloïdale dans les ERU (jusqu'à 0.01 μ m), comme les alcools, les acides aminés, les monosaccharides et les acides gras volatils à courte chaîne.
- **Fraction lentement biodégradable**: Celui-ci est composée des molécules complexes ou de taille importante, lesquelles ne peuvent entrer dans les cellules microbiennes qu'après hydrolyse extracellulaire préalable.
- **Fraction particulaire inerte**: cette fraction entre au procédé d'épuration et sort sans aucun changement, en contribuant fortement à la formation des boues, étant donné qu'elle peut être séparée par une simple décantation.

1.2. Les stations d'épuration et origine des boues

Une station d'épuration (STEP) est un ensemble d'installations et opérations unitaires où sont dirigées les eaux usées tour à tour pour éliminer les différents polluants qui accompagnent ces eaux usées d'une population. L'épuration des eaux résiduaires consiste à réduire la charge en matières organiques et minérales. Lors de cette étape, il se produit un transfert de pollution de la phase liquide vers une phase plus concentrée (boues) et une phase gazeuse (CO₂, N₂). **Klutse et Baleux (1995)** montrent que différents systèmes d'épuration des eaux résiduaires (lagunage, lits bactériens, boues activées, etc.) contribuent significativement à l'amélioration de la qualité des effluents, notamment à l'élimination des parasites. Dans notre étude, nous intéressons particulièrement à une STEP productrice des boues activées. Ce type de procédé est le traitement biologique le plus utilisé par les stations de taille moyenne à importante (plus de 2000 équivalents habitant). La figure 1 présente la filière traditionnelle de traitement de l'eau. Elle comporte trois parties principales :

- Les prétraitements physiques : cette étape vise à la séparation des matières grossières des eaux par dégrillage, puis à un dessablage et déshuilage-dégraissage dans un bassin où les sables décantent et les graisses sont séparées par flottation. L'ensemble des deux dernières opérations produit des déchets.
- Le traitement primaire : cette étape vise à parfaire les prétraitements. Elle permet surtout de récupérer les MES naturellement décantables. Cette décantation s'effectue dans un décanteur canal ou lamellaire et permet de retenir environ 50 à 70% des MES contenues dans les eaux usées. Le fond de ce décanteur est régulièrement raclé, ceci permet de récupérer les boues primaires. Cette étape est facultative et n'est pas présente sur les stations récentes, ni sur les plus petites installations.
- Traitement secondaire : cette étape consiste à éliminer et à transformer la pollution de l'eau. Généralement, elle est réalisée par des traitements biologiques et par injection d'air au fond du bassin. Ce procédé est basé sur l'activité d'une culture bactérienne floculée, maintenue en suspension dans ce bassin. Cette culture bactérienne se développe à partir des matières organiques biodégradables, apportées par les eaux usées et transformées en corps bactériens.

Au niveau des installations urbaines, le procédé utilisé est généralement une digestion aérobie appelée aussi procédé à boue activée, ce qui nécessite d'apporter de l'oxygène par aération (injection d'air au fond du bassin). Au cours du traitement biologique, il faut atteindre une concentration de boues telle qu'elle permette d'avoir une bonne épuration et une bonne séparation par décantation.

La biomasse produite dans le bassin d'aération, les particules de matière minérales inertes et les débris de particules organiques sont ensuite séparés de la phase liquide par décantation. Les boues obtenues sont appelées boues secondaires ou boues activées (**Bougrier et al., 2005**).

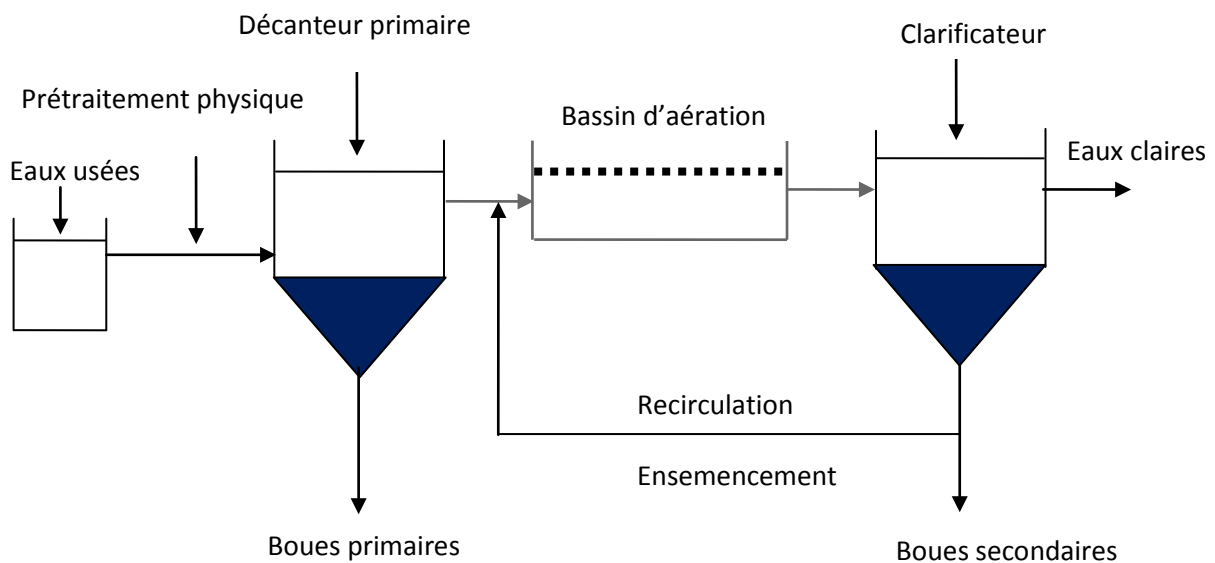


Figure 1: Représentation schématique du procédé de production des boues primaires et secondaires.

En résumé, le traitement biologique à boue activée consiste en un transfert de la pollution, initialement d'une phase liquide (eau) vers une phase plus concentrée (les boues). Evidemment, pendant le transfert et la dégradation de la pollution, une fraction est directement minéralisée (transformée en CO_2 , N_2 ...).

1.3. Les différents types de boues

Les boues de station d'épuration sont classées en quatre grands groupes :

1.3.1. Les boues primaires

Elles sont issues du traitement primaire et sont produites par simple décantation en tête de la station d'épuration. Ces boues sont fraîches, c'est-à-dire non stabilisées (forte teneur en matière organique) et fortement fermentescibles.

1.3.2. Les boues secondaires

Elles sont issues du traitement secondaire. Elles sont essentiellement composées par la biomasse présente en excès dans le système et par la matière réfractaire à l'épuration

biologique. Elles sont récupérées après le décanteur secondaire (clarificateur), au niveau de la purge. Ce sont des boues fraîches biologiques, essentiellement sous forme de floccs de bactéries. Leur pouvoir fermentescible dépend du temps de séjour dans le bassin d'aération (aussi appelé âge des boues).

1.3.3. Les boues mixtes

Le mélange des boues primaires et secondaires conduit à l'obtention des boues mixtes. Leur composition est dépendante de la quantité des boues primaires et secondaires produites.

1.3.4. Les boues physico-chimiques

Ces boues sont issues d'un traitement utilisant des flocculants minéraux (sel de fer ou d'aluminium). Le traitement physico-chimique est principalement utilisé sur les boues industrielles ou pour palier au sous dimensionnement de certaines stations d'épuration (station située en zones touristiques, par exemple).

Dans la suite de ce manuscrit, seules les boues secondaires seront considérées. En effet, les boues primaires, de par leur composition, sont très fermentescibles et ne nécessitent pas de traitement préalable en vue d'améliorer leur biodégradabilité. En revanche, les boues secondaires sont beaucoup plus difficiles à dégrader de façon biologique. Ainsi, les travaux présentés dans ce manuscrit seront axés sur l'amélioration de la biodégradabilité anaérobie des boues secondaires.

2. Les boues secondaires ou activées

2.1. Composition et caractéristiques

Les boues activées sont composées de matières minérales et organiques intimement liées. La proportion de chaque fraction ayant une forte influence sur les propriétés des boues. La fraction minérale est essentiellement composée de particules et de cations multivalents comme les silicates, les oxydes de fer ou le phosphate de calcium (**Salhi, 2003**). Tandis que la fraction organique est plutôt composée de gros polymères (cellulose, lignine), de macromolécules, de biomolécules (protéines, sucres) et d'une fraction lipidique (**Trably et Patureau, 2006**). D'après **Lehne et al. (2001)**, les boues activées sont composées à 70% de microorganismes (essentiellement des bactéries). Ces bactéries libres épuratrices sont organisées selon une structure hétérogène complexe appelée flocc. Cette structure présente différents niveaux d'organisation. **Jorand et al. (1995)** ont proposé un modèle pour décrire le

floc par trois niveaux structuraux. Des petites particules (bactéries) de 2,5 μm sont reliées entre elles grâce à des exo-polymères (Polymers 1) pour former des micro-flocs d'environ 13 μm . Ces particules de 13 μm sont aussi reliées entre elles, et avec des bactéries isolées, grâce à un deuxième polymère (Polymers 2) pour former des particules d'environ 125 μm (macro-flocs).

La figure 2 présente le modèle proposé par **Jorand et al. (1995)**. Ce modèle ne tient pas compte des bactéries filamenteuses.

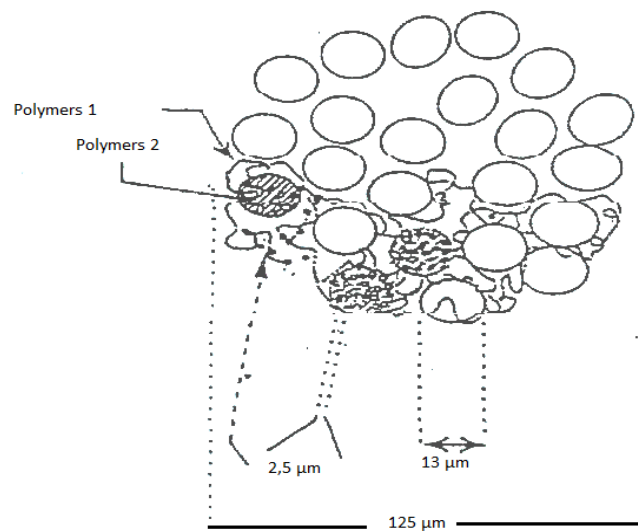


Figure 2: Les différents niveaux d'organisation structurale d'un floccule de boue activée.

En fait, ces exo-polymères sont un mélange complexe de polysaccharides aminés ou phosphatés, protéines et ADN et qui donnent une charge globale négative aux floccules et aux microorganismes (**Neyens et Baeyens, 2003**). La présence de ces exo-polymères (Polymers 1 et 2) garantira les interactions entre les sous-particules. La formation des floccules dépend des contacts entre les différentes sous-particules qui les constituent et qui fixeront l'aptitude de décantation (**Metcalf et Eddy, 1969**).

Dans les boues activées, la cohésion des floccules bactériens est assurée par des exopolymères, dont l'influence sur les processus de traitement des boues est importante. L'analyse des exopolymères a permis de décrire la structure des boues activées. Les protéines sont largement dominantes dans les structures extracellulaires de la boue étudiée, et peuvent provenir des eaux résiduaires ou du métabolisme bactérien (protéines de structure,

exoenzymes, produits de la lyse des cellules...). La comparaison de méthodes d'extraction des exopolymères suggère une forte implication des protéines dans les liaisons électrostatiques et hydrophobes qui assurent la cohésion des floes. La composition des sucres montre qu'ils proviennent des exopolymères bactériens, de produits de dégradation des eaux usées, et de produits de la lyse bactérienne. Les lipides bactériens sont peu impliqués dans la structure de la boue et ne s'accumulent pas dans les exopolymères.

Le tableau 1 montre la composition moyenne des boues issues d'un système de traitement par boues activées. L'analyse a été faite pour caractériser les boues fraîches récupérées aussitôt leur production par la station et les boues sèches qui ont subi une maturation, avant leur épandage. Les boues ont été caractérisées selon le protocole d'analyse proposé par **Lacee (1985)**.

Tableau 1 : Composition des boues fraîches et sèches (**Lacee, 1985**).

Eléments	Boue fraîche	Boue sèche	Norme
N%	4,610	3,820	2
P%	0,146	0,120	0,43
K%	0,090	0,066	0,16
C%	20,60	10,27	-
Matière organique	35,51	17,70	40
C/N	4,46	-	-
pH	12,2	7,8	-
Calcaire actif %	44,36	30,20	-
Calcaire total %	14,37	11,87	-
Na %	0,04	0,02	-
Ca %	5,13	2,19	-
Mg (ppm)	4728	960	-
Mn (ppm)	265	189	800
Fe (ppm)	25060	6020	-
Zn (ppm)	2240	386	3000

Cu (ppm)	510	393	1000
Cr (ppm)	70	63	1000
Pb (ppm)	43,4	40,6	800
Cd (ppm)	7	6,4	20
Hg (ppm)	1,36	1,03	10

La caractérisation des boues permet de confirmer leur richesse en azote (N), et leur faible teneur en phosphore (P) et en potassium (K). Les métaux lourds sont présents sans pour autant dépasser les normes préconisées dans le cas de la valorisation agricole des boues, leurs concentrations sont largement inférieures par rapport aux normes retenues (AFNOR, 1994).

2.2. Production des boues de STEP en Tunisie

Chaque année, près de 260 millions de m³ d'eaux usées sont produites en Tunisie dont seulement 225 millions de m³ sont traitées au niveau de 100 stations d'épuration (STEP) répartie sur l'ensemble du territoire. La quantité totale de boues produites est estimée à 175°000 T/an en 2007 pour atteindre près de 300°000 T/an à l'horizon 2020 dont 40% environ est produite sur le grand Tunis. 68% de ces boues sont déshydratées mécaniquement et 32% sont séchées naturellement. Après séchage, ces boues sont le plus souvent mises en décharge ou valorisées en agriculture par épandage ou compostage ou subissent une incinération. Aussi, elles peuvent être valorisées sous forme de biogaz par l'application du procédé de digestion anaérobie (Kalloum et al., 2007).

Pour la ville de Sfax et durant les 4 dernières années, le volume total des boues produites est en moyenne de l'ordre de 93 milles m³/an. La seule méthode pratiquée pour la gestion de cette grande quantité de boues épaissies est la déshydratation naturelle dans des lits de séchage. Après cette étape, les boues séchées sont confinées dans des décharges spéciales et in situ dans les stations d'épuration.

2.3. Composition des boues résiduaire

La composition exacte des boues varie en fonction de l'origine des eaux usées, de la période de l'année et du type de traitement et de conditionnement pratiqué dans la station

d'épuration (Singh et al., 2004). Les boues résiduaires représentent avant tout une matière première composée de différents éléments (Matière organique, éléments fertilisants (N et P ...), d'éléments traces métalliques, d'éléments traces organiques et d'agents pathogènes). Le tableau 1 donne les caractéristiques physico-chimiques de boues secondaires issues d'un procédé à boue activée.

Tableau 2 : Caractéristiques physico-chimiques des boues activées (Yuxing et al., 2010).

Paramètres	Composition moyenne
DCO totale (mg/g)	183,3-233,6
DCO soluble (mg/g)	5,7-10,2
DCO _s /DCO _t (%)	2,7-5,1
MS (mg/g)	304,9
MV (mg/g)	144,3
MS/MV (%)	70,4
Humidité (%)	79,5

2.3.1. Matière organique

La concentration en matière organique peut varier de 30 à 80%. Elle est constituée de matières particulaires, des lipides (6 à 19% de la matière organique), des polysaccharides, des protéines et des acides aminés (jusqu'à 33% de la matière organique), de la lignine, ainsi que des produits de métabolisation et des corps microbiens résultant des traitements biologiques.

2.3.2. Eléments fertilisants et amendements

Les boues peuvent couvrir, en partie ou en totalité, les besoins des cultures en azote, en phosphore, en magnésium, calcium et en soufre (Su et al., 2004). Les éléments en traces tels que le cuivre, le zinc, le chrome et le nickel présents dans les boues sont aussi indispensables au développement des végétaux et des animaux.

2.3.3. Contaminants chimiques inorganiques et organiques

La nature et la concentration des eaux usées en polluants organiques et inorganiques sont très dépendantes des activités raccordées au réseau. L'essentiel des contaminations chimiques vient des rejets industriels et dans une moindre mesure des rejets domestiques (utilisation de solvants, déchets de bricolage...). Du fait de la décantation lors du traitement, ces contaminants chimiques se retrouvent dans les boues à de très grandes concentrations par rapport aux eaux usées (**Ruiz et Soto, 2009**).

2.3.4. Les micro-organismes pathogènes

Les boues contiennent des milliards de microorganismes vivants qui jouent un rôle essentiel dans les processus d'épuration. La composition de cette biomasse étant caractéristique du fonctionnement d'une station d'épuration, elle varie considérablement d'une installation à l'autre (**Uggetti et al., 2010**).

Cependant, trois types d'organismes sont spécifiques d'une boue activée :

- ✓ les bactéries, sous forme dispersée, filamenteuse ou floculée,
- ✓ les protozoaires (Flagellés, Sarcodines et Ciliés),
- ✓ les métazoaires (Rotifères et Nématodes).

Entre toutes ces espèces se créent alors des relations complexes de compétition et de prédation, permettant à certaines de se développer au détriment d'autres qui resteront minoritaires ou tendront à disparaître. Les bactéries (*pseudomonas*, *arthrobacter*, *escherichia*, *flavobacterium*, etc.) sont le genre de micro-organismes le plus présent dans un système à boue activée. Elles peuvent être libres, sous forme de cellules non liées ou organisées en flocons de boue. L'aptitude à la formation de flocons est une propriété très importante en vue de garantir une bonne séparation entre la boue et l'eau claire obtenue. Néanmoins, les boues activées contiennent aussi tout type de microorganismes excrétés avec les matières fécales et sont généralement accompagnées de germes pathogènes présents initialement dans les eaux usées brutes. Ces indicateurs sont les coliformes (*Enterobacter*, *Citrobacter*, *Escherichia* et *Klebsiella*), les streptocoques fécaux (*S. faecium*, *S. faecalis*) et *Clostridium perfringens*. Parmi les pathogènes, nous pouvons citer les salmonelles, les entérovirus, les rotavirus, les nématodes et les protozoaires intestinaux...etc. Les densités de ces microorganismes dans les eaux usées, recommandés par l'OMS pour l'utilisation des ces eaux en irrigation, sont mentionnées dans le tableau 3.

Tableau 3: Paramètres microbiologiques relatifs aux eaux usées destinées à l'irrigation (OMS, 1989).

Paramètres	Densité
Coliformes fécaux	<1000 (UFC/100ml)
Streptocoques fécaux	1000 (UFC/100ml)
Salmonelles	0 (UFC/5l)
Vibrions cholériques	0 (UFC/100ml)
Helminthes	<1 (Œufs/l)
Protozoaires	- (Kystes/l)

2.4. Risques liés aux boues résiduaires

Les boues de STEP constituent des déchets volumineux puisqu'elles contiennent généralement entre 75% et 95% d'eau. Elles sont génératrices de nuisances dans la mesure où elles sont constituées par des matières organiques fermentescibles et peuvent renfermer des substances toxiques en cas de raccordement au réseau urbain d'effluents industriels. Ces boues peuvent contenir des micro-organismes pathogènes et des contaminants chimiques tels que les métaux lourds qui peuvent être à la fois dangereux sur les plantes et les animaux (Hall, 1992) et causer des problèmes de nitrification/dénitrification de l'épuration des eaux usées (Juliastuti et al., 2003). En plus, la présence des phosphates et d'azote peut conduire à une croissance incontrôlée des plantes aquatiques. Les boues de STEP ne génèrent pas de pollutions spécifiques, cependant, le transport des déchets et la pollution atmosphériques qu'elles entraînent représentent un des impacts de la gestion des déchets. En plus, les déchets mis en décharge, même non dangereux, participent à la saturation de ces installations et à des impacts sur l'environnement. En effet, le traitement des boues issues de l'épuration peut représenter jusqu'à 50% du coût total du traitement de l'eau. Pour les stabiliser et réduire leur volume, elles subissent un épaissement puis une déshydratation plus poussée (séchage, filtre presse...).

L'impact sanitaire et environnemental des boues déshydratées se situe plutôt au niveau de la filière d'élimination par épandage, mise en décharge et par incinération (European commission 2000 et 2001).

Les boues sont le plus souvent mises en décharge ou valorisées en agriculture par épandage ou compostage. Elles peuvent aussi avant l'épandage être digérées par des bactéries anaérobies pour produire du biogaz (qui sera lui-même valorisé en électricité, chaleur, etc.) et le digestât sera épandu sur les terres (éventuellement après compostage). L'épandage, s'il est mal contrôlé, peut générer une pollution des sols et des eaux. En effet, le compostage ne peut éliminer les métaux lourds (une partie du mercure peut s'évaporer) ni les polluants organiques ou organométalliques faiblement biodégradables (dioxines, biphényles polychlorés, certains pesticides, etc.) (**Paxéus et al., 1992; Engwall et al., 1999**). Ils persistent dans le compost si ce dernier est réalisé à partir de matières polluées. Le risque est a priori plus élevé là où des rejets médicaux et industriels sont rejetés sans contrôle dans les réseaux d'assainissement collectif. Par exemple en France, la seule collecte des amalgames dentaires a beaucoup fait diminuer le taux de mercure dans les boues urbaines.

L'incinération génère des fumées polluantes qui peuvent s'avérer dangereuses si l'incinération est mal contrôlée et les fumées non traitées (**Fernandez et al., 1992**). L'enfouissement peut polluer les sols et les eaux, et être source de dégagement de gaz à effet de serre, ainsi qu'être la source de nuisances olfactives et visuelles dans un site qui n'est pas adapté à la maîtrise de ces nuisances.

Vu les effets indésirables et même parfois toxiques des boues sur l'environnement aquatique et terrestre, des procédés d'épuration ont été adoptés afin d'éliminer ou de réduire la concentration des substances nocives et les bactéries pathogènes pour le milieu récepteur.

Partie 3 : Les procédés de traitement des effluents domestiques et industriels

1. Les procédés biologiques

1.1. Traitement des boues

Les boues se présentent au départ sous forme liquide et avec une forte charge en matière organique hautement fermentescible. Ces deux caractéristiques sont gênantes quelle que soit la destination des boues et imposent la mise en place d'une filière de traitement.

On distingue trois grands types de traitement :

- des traitements de **stabilisation** ou de conditionnement dont l'objectif est de réduire la fermentescibilité des boues pour atténuer ou supprimer les mauvaises odeurs.

- des traitements de **réduction de la teneur en eau** des boues, visant à diminuer la quantité de boues à stocker et à épandre, ou améliorer leurs caractéristiques physiques.
- des traitements d'**hygiénisation** qui visent à éradiquer la charge en micro-organismes pathogènes. Ils ne sont mis en œuvre que dans des contextes particuliers.

1.1.1. Stabilisation des boues

Les traitements de stabilisation utilisés sont de type biologique, chimique ou thermique. Ils s'appliquent aux boues mixtes fraîches, aux boues secondaires ou à l'ensemble des boues.

1.1.1.1. Stabilisation biologique

La biodégradation pourrait être définie comme étant la décomposition de la matière par le biais d'un agent biologique en particulier, les microorganismes. Ces derniers jouent un rôle très important dans le processus de dépollution et permettent la réduction de la toxicité des éléments polluants engendrés par l'activité naturelle ou humaine (**El-Abbassi et al., 2011**). La dégradation biologique à l'opposé des procédés physico-chimiques est considérée comme une méthode plus saine, efficace et moins coûteuse pour la réduction des polluants. La stabilisation biologique réduit la teneur des boues en matières fermentescibles. Elle se fait soit par voie aérobie (en présence d'oxygène) dans les bassins d'aération (**Barbusinski and Koscielniac, 1997**), soit par voie anaérobie (absence d'oxygène) dans des digesteurs avec production d'un biogaz riche en méthane. Dans le premier cas, on obtient des boues « aérobies » dans le second cas des boues « digérées » encore appelées « anaérobies ». La digestion anaérobie est considérée comme un procédé le plus important pour la stabilisation des boues (**Ponsa et al., 2008**).

1.1.1.2. La stabilisation chimique

La stabilisation chimique bloque simplement l'activité biologique, et donc l'évolution de la boue, par adjonction d'une quantité importante de chaux (10 à 50 % de la matière sèche, en général 30%) élevant le pH au-delà de 12. Le chaulage suppose généralement une déshydratation préalable des boues, sauf dans le cas du filtre-pressé où un lait de chaux est mélangé aux boues liquides. Les boues chaulées obtenues sont de structures pâteuses ou solides. Pour être précis, il est utile de souligner que souvent le chaulage et le compostage se pratiquent sur des boues déjà stabilisées biologiquement en station d'épuration. Ils constituent en quelque sorte un traitement complémentaire de stabilisation. Toutefois, pour des boues primaires ou physico-chimiques, ce sont les uniques modes de stabilisation.

1.1.2. Réduction de la teneur en eau des boues

A la sortie du traitement des eaux usées, la teneur en eau des boues est très élevée, de l'ordre de 99% de la matière brute. Pour réduire les volumes à manipuler, différents procédés sont mis en œuvre comprenant, par ordre croissant d'efficacité et de coût, l'épaississement, la déshydratation et le séchage.

1.1.3. Les traitements d'hygiénisation

L'hygiénisation est un traitement qui réduit à un niveau non détectable les agents pathogènes présents dans la boue. Une boue est considérée comme hygiénisée quand, à la suite d'un traitement, elle satisfait aux exigences. L'hygiénisation des boues ne s'impose que dans certains contextes d'utilisation agronomique.

2. La digestion anaérobie

Actuellement, le traitement anaérobie est utilisé dans les procédés de dépollution. D'une part pour réduire la charge polluante des effluents et des déchets solides et d'autre part pour produire du biogaz (Mc Namara et al., 2008).

En général, la bio-méthanisation peut être représentée comme un système à trois objectifs : épuration des effluents, transformation d'une nuisance en une valorisation sous forme de biogaz (énergie renouvelable) et production d'un digestât fertilisant (amendement agricole).

A l'heure actuelle, la quantité de boues de STEP produites est problématique tant sur le plan environnemental qu'économique. La réduction de la production de ces boues est devenue indispensable. Parmi les différentes techniques de stabilisation, la digestion anaérobie ou bio-méthanisation, est la plus intéressante.

2.1. Principe de la méthanisation

La méthanisation est l'ensemble des processus biochimiques qui conduisent à la dégradation des déchets organiques et des effluents organiques industriels en absence d'oxygène. Différentes flores bactériennes et métabolismes biologiques sont mis en jeu. Elle conduit à la formation de biogaz, mélange de méthane (CH_4 : 50 à 70%) et de gaz carbonique (CO_2 : 35 à 40%) (Saidi et al., 2007) qui peuvent être valorisé pour la production d'énergie.

Cette technique est appropriée pour le traitement des boues avant leur disposition finale et elle est utilisée dans le monde entier comme procédé le plus ancien et le plus important pour la stabilisation des boues (**Ponsa et al., 2008**). La méthanisation de la boue activée permet une réduction du volume final de celle-ci jusqu'à 50% et la production d'une énergie renouvelable utilisée pour alimenter la chaudière du digesteur qui maintient le procédé à une température optimale.

2.2. Les étapes biochimiques de la méthanisation

La méthanisation est assurée grâce à l'action concentrée des microorganismes appartenant à différentes populations microbiennes en interaction constituant un réseau trophique. Toutefois, on distingue quatre grandes phases successives : l'hydrolyse, l'acidogénèse, l'acétogénèse et la méthanogénèse (**Saidi et al., 2007**).

2.2.1. Hydrolyse

L'hydrolyse est un processus de dégradation des matières organiques insolubles de haut poids moléculaires comme les polysaccharides, les lipides et les protéines en substances organiques solubles (monomères) comme les monosaccharides, acides gras, acides aminés et bases azotées par des enzymes généralement extracellulaires (cellulases, hydrolases, amylases, etc.) (**Weiland, 2010**).

2.2.2. Acidogénèse

La deuxième phase de la digestion anaérobie, est un processus qui aboutit à la conversion des monomères en acides organiques et en alcools avec libération d'ammonium (NH_4^+); de dioxyde de carbone (CO_2) et d'hydrogène (H_2). L'acidification est généralement réalisée par une variété de micro-organismes anaérobies strictes. Ces bactéries sont de genre *Clostridium* (**Filidei et al., 2003**). Au cours de cette phase, il y a aussi libération des acides gras volatils tels que l'acétate, propionate, butyrate, valérate et isovalérate et des composés neutres comme l'éthanol (**Hamdi, 1991; Dermirel et Scherer, 2008**).

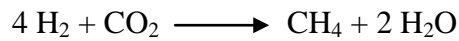
2.2.3. Acétogénèse

Cette étape, indispensable à la conversion complète d'un substrat complexe, transforme les acides issus de la phase d'acidogénèse en précurseurs directs du méthane (acétate et mélange gazeux H_2/CO_2) par l'action des bactéries acétogènes. Au cours de cette phase, il se produit les principaux substrats de la méthanogénèse : l'acide acétique (CH_3COOH), le CO_2 et le H_2 . Cette étape est réalisée par des bactéries productrices d'hydrogène.

2.2.4. Méthanogénèse

C'est l'étape spécifique de la fermentation méthanique. Sous l'action des bactéries méthanogènes anaérobies strictes, différents précurseurs seront transformés en méthane. Il existe deux groupes distincts de bactéries méthanogènes :

- les bactéries méthanogènes hydrogéntrophes qui utilisent l'hydrogène comme donneur d'électrons et le dioxyde de carbone comme accepteur pour produire du méthane



- les bactéries méthanogènes acétoclastes qui produisent du dioxyde de carbone et du méthane suite à une décarboxylation de l'acétate (Appels et al., 2008).

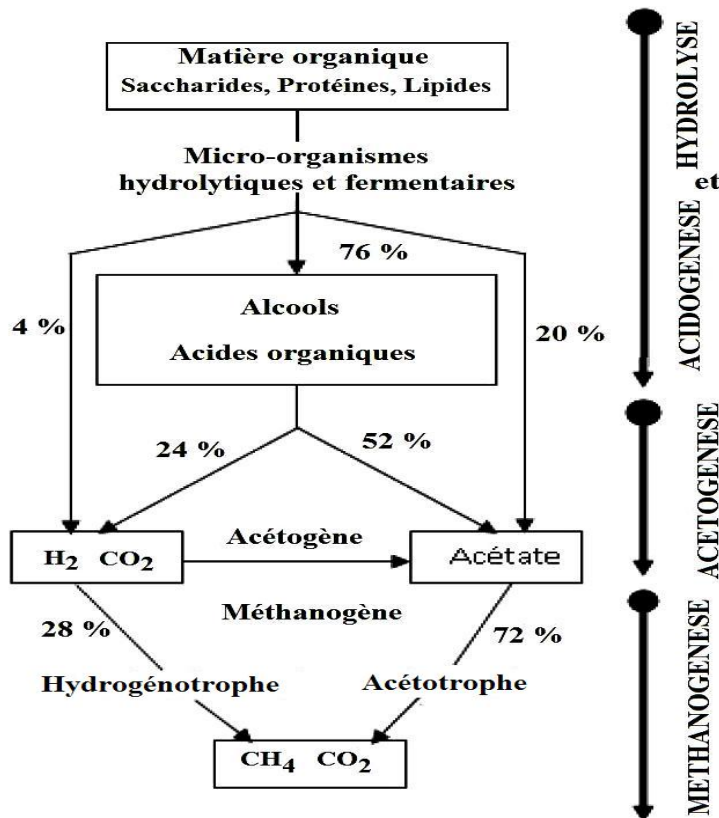
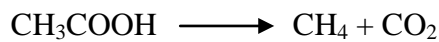


Figure 3: les étapes biochimiques de la fermentation méthanique (Saidi et al., 2007).

2.3. Les paramètres influençant le processus de la biométhanisation

Les microorganismes qui constituent le consortium hétérogène exigent des conditions particulières pour leur croissance et donc pour le bon déroulement de la digestion anaérobie. Les principaux facteurs qui affectent ce procédé sont de types physiques, chimiques et microbiologiques, la composition du milieu et les produits de métabolisme (**Hamdi, 1991**).

2.3.1. Température

L'activité du consortium bactérien méthanogène est étroitement liée à la température. En effet, il existe deux gammes de températures : une zone mésophile (entre 30 et 38°C) et une zone thermophile (entre 55 et 60°C) appropriée pour les bactéries thermophiles. Les changements brusques de température peuvent causer un arrêt temporaire de la digestion (**Hamdi, 1991**). La digestion thermophile est plus rapide que la digestion mésophile puisque les taux biochimiques de réaction augmentent avec l'augmentation de la température. De plus, ces systèmes traitent des charges organiques plus importantes grâce à la croissance plus rapide des microorganismes. Elle permet aussi une augmentation de la réduction des solides, une amélioration de la déshydratation et une augmentation de la destruction d'organismes pathogènes. Mais, l'utilisation des températures thermophiles demande plus d'énergie et elle donne un surnageant de qualité inférieure avec de grandes quantités de matières solides dissoute et un plus haut potentiel d'odeur. En plus, les bactéries thermophiles sont plus sensibles aux changements de l'extérieur que les mésophiles (**Appels et al., 2008**). C'est pour cela, la digestion mésophile est plus stable et économique et que la majorité des systèmes industriels travaillent en régime mésophile.

2.3.2. pH

Le pH optimum de la digestion anaérobie se situe autour de la neutralité et chaque groupe de microorganismes a un pH optimal différent : celui des bactéries acidifiantes se situe entre 5,5 et 6, les acétogènes préfèrent un pH proche de la neutralité tandis que les méthanogènes sont très sensibles aux variations de pH avec une activité maximale dans une gamme de pH comprise entre 6 et 8. L'accumulation d'acides gras volatils au cours de la digestion anaérobie, entraîne un abaissement rapide du pH à des valeurs inférieures à 5 ce qui entraîne une inhibition du processus.

2.3.3. Le potentiel d'oxydo-réduction

Ce paramètre représente l'état de réduction du système, il affecte des bactéries méthanogènes qui exigent en effet, outre l'absence d'oxygène, un potentiel d'oxydoréduction inférieur à - 330 mV pour initier leur croissance.

2.3.4. Taux de charge organique

On distingue deux types de charge :

- La charge volumique appliquée (CVA) qui correspond à la quantité quotidienne de matières organiques introduites par unité de volume du réacteur biologique. Les unités généralement utilisées sont des Kg MO/m³. j dans les domaines de l'agriculture et des collectivités, ou des Kg DCO/m³. j dans le domaine de l'agro-industrie.
- La charge massique appliquée (CMA) qui correspond à la quantité quotidienne de matières organiques introduites par quantité de biomasse présente dans le digesteur (kg DCO/kgMVS. j).

Un taux de charge trop élevé peut amener à l'inhibition de la digestion anaérobie due à une production très rapide d'acides gras volatiles.

2.3.5. Rapport C/N

La digestion anaérobie est plus efficace lorsque le processus de bio méthanisation n'est pas limité par des éléments nécessaires à la croissance et à l'activité des bactéries impliquées. La relation entre la quantité de carbone et l'azote présente dans les boues est représentée par le rapport C/N. Ce rapport exerce une grande influence sur la production de biogaz et sur sa composition en méthane. Un rapport optimum est entre 20 et 30 pour une meilleure croissance des bactéries anaérobies méthanogènes et non méthanogènes ainsi que pour un rendement maximal en méthane (**Gelegenis et al., 2007**).

2.3.6. Agitation

Le système d'agitation doit être suffisamment performant pour assurer le contact entre la biomasse et le substrat, pour maintenir une température homogène et pour libérer le biogaz formé.

2.4. Les inhibiteurs de la méthanisation

Certains composés sont inhibiteurs de la fermentation méthanique soit par leur simple présence, soit par leur concentration importante. Par exemple : la présence d'oxygène, les

acides gras volatils (AGV), les métaux lourds, l'ammoniaque, les composés chlorés, l'hydrogène, les acides gras à longue chaîne...

En effet, la présence d'AGV en grande quantité peut inhiber la digestion anaérobie. Le composé le plus toxique étant l'acide propionique. Ainsi, lorsque la concentration en AGV devient supérieure à 2-3 g/l, le pH diminue et par conséquent la phase de méthanogenèse est inhibée (**Siegert et al., 2005**). C'est pour cela, les performances du digesteur dépendent de l'équilibre entre la synthèse et la dégradation des AGV.

L'étape d'acétogenèse est inhibée par la présence d'hydrogène. Les réactions d'acétogenèse ne sont thermodynamiquement réalisables que pour des pressions partielles en hydrogène très faibles (10-20 Pascal) (**Bitton, 1999**). Ces réactions nécessitent donc la présence des microorganismes accepteurs d'hydrogène : les méthanogènes. Ceux-ci, en consommant l'hydrogène généré, permettant de garder une pression partielle en hydrogène très faible.

L'ammoniaque aussi (NH_3 libre) est toxique pour les méthanogènes à partir d'un certain seuil. Cette toxicité est dépendante du pH, de la température et de la concentration totale des ammoniaques (**Hansen et al., 1998**). En effet, la présence de NH_3 libre est favorisée par les pH élevés (pH alcalin). A la diminution du pH (à pH neutre), l'azote est peu toxique (**Chen et al., 2008**). Le processus devient stable mais le rendement en méthane diminue (**Sung et Liu, 2003; Hansen et al., 1998**).

2.5. Les bioréacteurs anaérobies

La méthanisation ou la digestion anaérobie est un traitement qui met en œuvre plusieurs techniques. Le choix du digesteur varie en fonction du type de déchets à traiter et de l'application visée. On peut également classer les digesteurs selon le mode d'alimentation : batch ou continu.

- Le mode discontinu (batch) : la cuve est chargée avant la mise en production puis déchargée après épuisement du potentiel méthanogène du substrat et le continu du digesteur n'est pas mélangé (**Bouallagui et al., 2005**). C'est une technique à coût faible nécessite un contrôle aisé.
- Le mode continu : il s'agit d'introduire la matière organique fraîche et d'extraire la matière digérée à intervalles de temps réguliers. Cette technique a l'avantage de permettre une production régulière et continue de biogaz avec un seul digesteur. On

distingue plusieurs familles de procédés. En effet, la majorité des digesteurs d'effluents et boues industrielles sont des réacteurs à alimentation continue que l'on classe par famille (**Moletta, 2002**).

2.5.1. Digesteurs CSTR (Continuous Stirred Tank Reactor)

Le réacteur continu parfaitement agité (Continuous Stirred Tank Reactor) était un des premiers types de réacteurs utilisés pour le traitement anaérobie des eaux usées. Il s'agit d'un concept simple consistant principalement en un réacteur parfaitement mélangé qui peut être équipé d'un outil de séparation des boues, mais généralement sans recirculation des boues (**Dagnew et al., 2012**). A l'intérieur du méthaniseur, les boues activées anaérobies sont gardées en suspension par agitation mécanique. Ce type de réacteurs est typiquement utilisé pour des eaux très concentrées et/ou des eaux riches en matière solide.

2.5.2. Réacteur UASB (Up-flow Anaerobic Sludge Blanket)

Les réacteurs UASB sont de plus en plus utilisés pour le traitement de diverses eaux usées industrielles à haute résistance contenant des matières organiques facilement dégradables.

Cette technologie est basée sur la formation de granules (**Subramanyam and Mishra, 2008**). L'effluent est réparti sur le bas du réacteur et traverse un lit de boues constitué en partie par des floccs de micro-organismes mais surtout par ces granules. En haut du réacteur, un système de piégeage du biogaz qui permet la réalisation d'un décanteur intégré, retenant les granules et les floccs qui seraient entraînés. La vitesse ascensionnelle du liquide est inférieure à 1 m/h souvent voisine de 0,7 m/h. Cette technologie a été installée dans de nombreux pays.

2.5.3. Lit de boues à filtre anaérobie

Le principe de ce filtre anaérobie est la tendance des micro-organismes anaérobies à se fixer aux matériaux inertes en suspension (sable, carbone en poudre, silicates), ce qui permet d'éviter la perte de microorganismes qui peuvent atteindre des temps de résidence élevés (**Latkar et al., 2003**). L'épuration est réalisée grâce à la forte concentration en bactéries. Le filtre anaérobie est réalisé avec un support fixe. Ce support est colonisé par les bio-films. Il est traversé par l'effluent à traiter en flux ascendant ou descendant. L'effluent est donc distribué soit sur le bas, soit sur le haut du réacteur. Pour que le réacteur travaille de manière la plus homogène possible, un recyclage de l'effluent peut être effectué.

2.5.4. Le lit fluidisé

Ce type de réacteur permet d'obtenir de très forte concentration en microorganismes (30 à 40 g/l) et peut donc accepter les charges volumiques les plus élevées.

Les principaux avantages du procédé sont l'absence de risque de colmatage, le faible encombrement des surfaces spécifiques importantes, et donc des charges organiques appliquées très importantes.

2.5.5. Bioréacteur anaérobie à membrane

Des études relativement approfondies sur l'application des bioréacteurs anaérobie à membrane pour le traitement des eaux usées municipales, ont évalué les effets des propriétés de la membrane (**Kang et al., 2002; Ho et al., 2005**), les propriétés des boues (**Lin et al., 2009; Lin et al., 2011**), et les conditions environnementales (**Martinez et al., 2011; Gimenez et al., 2011; Huang et al., 2011; Jeong et al., 2010**) sur le flux de perméat. C'est l'un des paramètres les plus importants qui déterminent la viabilité économique des bioréacteurs anaérobie à membrane. **Bérubé et al. (2006)** ont révélé que le système de membrane optimal pour un bioréacteur anaérobie à membrane traitant les eaux usées à faible résistance nécessite une membrane organique, hydrophile et chargée négativement avec une taille de pores d'environ 0,1 μm .

2.6. Performances des digesteurs anaérobies

Les performances des digesteurs anaérobies dépendent des caractéristiques de l'effluent à traiter et du type de digesteur utilisé.

D'une manière générale les rendements d'épuration peuvent varier de 60 à 98% sur la DCO soluble.

Malgré tout, la quantité résiduelle de pollution reste souvent trop importante pour un rejet direct dans le milieu naturel et nécessite donc une finition aérobie.

Le tableau 4 indique les charges et les temps de séjour que l'on peut attendre des différentes technologies.

Tableau 4: Charges volumiques appliquées et temps de séjour hydraulique pour différents types de réacteur de méthanisation (Moletta, 2002).

digesteur	Charge appliquée (kg de DCO/m ³ /j) de réacteur	Temps de séjour hydraulique (jour)
Contact anaérobie	1 à 5,5	5 à 10
Filtre anaérobie	5 à 15	1 à 5
Hybride	10 à 20	1 à 4
Lit fluidisé	20 à 40	0,2 à 1
UASB	5 à 20	0,5 à 2
à compartiments verticaux	9 à 15	2 à 3
A recirculation interne	20 à 40	0,2 à 1
Lagune anaérobie	0,1 à 1	10 à 60

3. Limitation de la digestion anaérobie des boues activées brutes

Les boues activées sont composées de floccs formés par des micro-organismes et des débris organiques et minéraux immobilisés au sein d'une matrice organique ou gel. Ce gel est constitué de polymères organiques de nature protéiques et polysaccharidiques (EPS). Ces structures flocculées peuvent limiter fortement le processus de digestion de la matière organique. Certaines études proposent que les traitements par hydrolyse (chimique, thermique et mécanique) des effluents facilitent la digestion biologique des boues.

La digestion anaérobie est un procédé qui a pour but la destruction des organismes pathogènes, la stabilisation des boues, la réduction du volume des boues et la production d'un biogaz riche en énergie. En effet, la digestion anaérobie des déchets solides est souvent limitée par des temps de rétention très long (20-30 jours) et une faible efficacité globale de

dégradation de la matière organique sèche (30-50%). Ces facteurs limitant sont généralement associés avec l'étape d'hydrolyse. Cette étape est définie comme étant l'étape limitante dans la digestion anaérobie des boues d'épuration (**Wang et al., 1991; Tiehm et al., 2001**). Au cours de l'hydrolyse, les parois cellulaires sont rompues et les substances polymériques extracellulaires sont dégradées suite à la libération de matériels organiques disponibles pour les microorganismes acidogènes.

Plusieurs méthodes de désintégration des boues ont été étudiées comme prétraitement avant la digestion anaérobie. Ces méthodes assurent la perturbation des parois cellulaires et accélèrent la solubilisation des boues et diminuent les grandes particules (**Tiehm et al., 2001; Tanaka et al., 1997**). Parmi les techniques de désintégration des boues les plus utilisées, on peut citer les méthodes thermiques, mécaniques, chimiques et biologiques.

4. Méthodes de désintégration des boues de STEP avant digestion anaérobie

4.1. Prétraitement thermique

Le traitement thermique des boues activées a été montré dès 1970 un moyen efficace de prétraitement avant la digestion anaérobie (**Sawayama et al., 1996**). Les boues sont soumises généralement à des températures dans la gamme 120-180°C. **Li et Noike (1992)** ont rapporté que la température optimale du prétraitement thermique pour améliorer la digestion anaérobie est à 170°C pendant 60 minutes. La chaleur appliquée pendant le traitement thermique perturbe les liaisons chimiques de la paroi cellulaire, ce qui améliore la solubilisation des composants cellulaires. Divers auteurs ont décrit l'utilisation de prétraitement thermique pour améliorer la digestion anaérobie et augmenter la production du méthane (**Kim et al., 2003**).

La digestion anaérobie thermophile a été montrée très efficace pour la réduction de la matière en suspension volatile et par conséquent la solubilisation de la matière organique dans le milieu aqueux ce qui favorise la production du biogaz (**Appels et al., 2008**).

4.2. Prétraitement chimique

Dans les méthodes de prétraitement chimique, un agent acide ou basique est ajouté pour solubiliser les boues. L'ajout d'acide ou de base permet d'éviter la nécessité de températures

élevées et il est donc effectué surtout à des températures ambiantes ou modérées. L'hydrolyse acide ou alcaline se révèle un moyen efficace même si la méthode est lourde pour la solubilisation des boues puisque les niveaux du pH sont extrêmes.

L'hydrolyse alcaline est utilisée pour la solubilisation de certains substrats ligno-cellulosiques (**Penaud et al., 1999**). **Lin et al. (1997)** ont montré que la réduction de la DCO et les matières volatiles solides, la production du gaz et la déshydratation ont été renforcées lorsque les boues activées sont prétraitées par NaOH. Le pH optimum du prétraitement basique est à 12.

L'hydrolyse acide par le HCl concentré à 37% facilite la digestion anaérobie en hydrolysant la paroi cellulaire et augmente la solubilisation de la matière organique contenue dans les cellules. Certaines études ont montré que le rendement en méthane des boues prétraitées par le HCl augmente de 14,3% pendant 13 jours de digestion par rapport aux boues non prétraitées par l'acide pendant 21 jours (**Devlin et al., 2011**). Le pH optimum du prétraitement acide est à 2.

4.3 Prétraitement mécanique

Le prétraitement mécanique a également été montré pour avoir le même effet sur les boues activées que d'autres méthodes de prétraitement mentionné ci-dessus.

L'utilisation d'un moulin colloïdal pour perturber les cellules microbiennes, a été signalée par **Harrison (1991)**. Le chauffage de la suspension par la dissipation d'énergie peut d'ailleurs améliorer la désintégration. Une des méthodes les plus fréquemment utilisées à grande échelle opératoire est l'homogénéisation à haute pression, en comprimant les boues à 60 MPa.

La désintégration par ultrasons est une méthode bien connue pour l'éclatement des cellules microbiennes et extraire le matériel intracellulaire (**Tiehm et al., 2001**).

Le principe de traitement par ultrason repose sur le processus de cavitation induite. Grâce à la compression ultérieure et dilatation du fluide sous l'effet des ondes ultrasoniques, des implosions sont produites, qui donnent lieu à des conditions locales extrêmes et par conséquent la lyse des cellules (**Appels et al., 2008**).

Kim et al. (2003) ont étudié l'effet ultrasonique sur les boues activées dans des conditions bien déterminées (42 kHz pendant 120 min) et ont trouvé que le pourcentage de solubilisation

atteints 18,4% et une augmentation de la production de biogaz (4413 L/m³) et de méthane (3007 L/m³) par rapport à la boue non prétraitée (3657 L/m³ et 2507 L/m³, respectivement).

4.4 Prétraitement biologique

Récemment, des tests ont été effectués sur l'effet de certaines souches bactériennes sur la solubilisation des boues dans des conditions aérobies et anaérobies. L'hydrolyse biologique avec ou sans ajout d'enzymes repose sur la lyse enzymatique de la paroi cellulaire par une réaction catalysée biochimiquement par une enzyme (**Appels et al., 2008**).

5. Les procédés d'oxydation avancée

Le principe des procédés d'oxydation avancée électrochimiques et photochimiques est la décontamination des eaux usées contenant des concentrations significatives des micropolluants organiques. Ces procédés sont utilisés pour éliminer les composés organiques récalcitrants dans les eaux usées industrielles et municipales. Ce sont des méthodes de prétraitements afin de réduire la concentration des composés organiques toxiques qui inhibent les processus biologiques de traitement des eaux usées. Ils ont comme objectifs: oxyder des composés minéraux toxiques, oxyder avant le traitement biologique les composés toxiques ou inhibiteurs pour les microorganismes, oxyder totalement la pollution organique en CO₂ dans le cas d'effluents à forte teneur en DCO et augmenter la biodégradabilité de la pollution organique par élévation du rapport DBO₅/DCO (**Stasinakis, 2008**).

Dans les procédés d'oxydations avancées, la dégradation des composés organiques résulte de l'attaque par les radicaux hydroxyles (OH[·]) sur ces composés. Il ya ensuite la formation de radicaux organiques (R[·]) qui vont participer à des réactions de propagation menant à la formation d'intermédiaires réactionnels avant la formation de CO₂ comme produit final (**Masahiro et al., 2007**). Au cours de ces traitements, les parois des cellules microbiennes et les biopolymères de grande taille sont fragmentées par les composés oxydants.

L'objectif de ces procédés est de favoriser le contact entre les entités moléculaires ou les radicaux générés et la matière organique à oxyder. Plusieurs études ont montré que ces procédés d'oxydation avancées semblent engendrer un taux de réduction de la production de boues élevé (**Huang et al., 1993**). Parmi les procédés d'oxydation avancée nous pouvons citer:

- Les procédés basés sur l'activation du peroxyde d'hydrogène ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$)
- Les procédés basés sur l'activation de l'ozone ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, O_3/UV)
- Les procédés photochimiques par rayonnement UV et visible

5.1. Oxydation par H_2O_2

L'ozone (O_3) et le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) seuls ou combinés sont les réactifs oxydants les plus utilisés. A l'obscurité ou sous un rayonnement UV ou Visible, ces composés engendrent in-situ, la formation des entités très réactives dotées d'un pouvoir oxydant élevé.

Dans des conditions alcalines, H_2O_2 perd son pouvoir oxydant en raison de sa décomposition en oxygène et en eau (**Niaounakis et Halvadakis, 2006**).

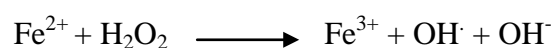
La possibilité d'utilisation du H_2O_2 pour oxyder la matière organique des boues à température ambiante est une bonne alternative au lieu d'utiliser d'autres traitements oxydants qui nécessitent des températures et des pressions très hautes (par exemple l'oxydation par voie humide) de l'ordre de 200 à 370°C et de 50 à 150 bars (**Tak-Hyun et al., 2009**).

De nombreux travaux ont été publiés concernant la décomposition catalytique du peroxyde d'hydrogène. Elles montrent qu'il ya beaucoup d'éléments pouvant catalyser cette décomposition (Cr, Mn, Fe, Co, Ni....)

L'oxydation par H_2O_2 a été généralement catalysée avec les cations Fe^{2+} et Fe^{3+} à température ambiante pour traiter des eaux résiduaires peu chargées en matières organiques. Toute fois, le couple $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ est le plus utilisé et porte le nom de réactif de Fenton.

5.2. Réaction de Fenton

La réaction de Fenton utilise le couple ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$) pour l'oxydation de la matière organique. Le réactif de Fenton est un mélange de fer ferreux (Fe^{2+}) comme catalyseur et le peroxyde d'hydrogène comme agent oxydant. Lorsque l'ion ferreux réagit avec H_2O_2 , il génère des radicaux hydroxyles oxydants forts ($\text{OH}\cdot$).



La combinaison de H_2O_2 et de Fe^{2+} constitue un moyen efficace pour l'oxydation d'une grande variété de substrats organiques (alcools, éthers, colorants, phénols, pesticides, aromatiques polycycliques **(Spadaro et al., 1994)**).

Le radical hydroxyle (OH^\cdot) est responsable de la destruction et de l'oxydation des différentes molécules organiques et toxiques **(Israilidies et al., 2007; Panizza et al., 2000; Chen et al., 2002)**.

Les principaux paramètres qui affectent le procédé Fenton sont:

- Le pH de la solution
- La quantité des ions ferreux
- La concentration de H_2O_2
- La concentration initiale du polluant
- La présence d'autres ions **(Gogate et pandit, 2004)**

L'ajustement du pH des eaux usées est généralement nécessaire avant le traitement par des procédés Fenton. Le pH optimal pour les processus de Fenton varie de 2 à 4.

À pH supérieur à 4, les ions Fe^{2+} sont instables et ils sont facilement transformés en ions Fe^{3+} , formant des complexes avec les radicaux hydroxyles **(Niaounakis et Halvadakis, 2006)**.



L'augmentation des ions ferreux et la concentration de H_2O_2 résulte d'une augmentation du taux de dégradation **(Lin et Lo, 1997)**.

A l'esprit de la toxicité de H_2O_2 à plusieurs micro-organismes, l'utilisation de quantités excessives de H_2O_2 pourrait détériorer l'efficacité de dégradation globale du processus de Fenton **(Gogate et Pandit, 2004)**.

L'oxydation des composés organiques par Fenton est inhibée par les ions phosphates, sulfate, fluorure, bromure et le chlorure. Cette inhibition par ces espèces peut être due à:

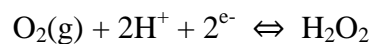
- La précipitation du fer
- La récupération de OH^\cdot
- La coordination avec l'ion Fe^{3+} dissous pour former un complexe moins réactif **(Pignatello et al., 2006)**.

L'étude réalisée par **He et Wei (2010)** a montré que l'oxydation par la réaction de Fenton peut perturber les parois cellulaires et fait sortir le contenu des cellules ce qui augmente ainsi la matière organique et l'azote soluble dans la solution.

Le coût du fer est bas et il peut être généré par la méthode électrolytique et dans ce cas la réaction est dite Electro-Fenton

5.2.1. La réaction d'électro-Fenton

L'électro-Fenton est une méthode où les réactions électrochimiques génèrent in situ les réactifs utilisés pour la réaction de Fenton. Les réactifs générés dépendent de la solution et de la nature des électrodes (**Pignatello et al., 2006**). Généralement, une électrode inerte est utilisée et participe à l'oxydation par l'intermédiaire des radicaux hydroxyles formés pendant l'électrolyse de l'eau. Cette réaction est basée sur la production continue du peroxyde d'hydrogène par la réduction de l'oxygène sur une cathode de mercure ou feutre de carbone (**Zhang et al., 2008**).



L'ion ferreux peut être produit par la dissolution oxydative d'anode en fer (**Arienzo et al., 2001**).

L'électro-Fenton est une méthode qui fait toujours face à plusieurs obstacles tels que la corrosion progressive des électrodes et le traitement des boues produites (**Pignatello et al., 2006**). Durant ce processus, les composés organiques non biodégradables et parfois toxiques présent dans les eaux usées sont détruits directement ou indirectement par oxydation anodique et la production des oxydants forts tels que les radicaux hydroxyles et les coagulants complexes qui favorisent la floculation de la matière (**Israilidies et al., 2007; Panizza et al., 2000; Chen et al., 2002**). En effet, cette oxydation perturbe les parois cellulaires et faire sortir leur contenu (**He et Wei, 2010**) ce qui facilite leur digestion anaérobie.

5.2.2. La photo-catalyse

Pour améliorer la performance de la réaction de Fenton, la solution à traiter est irradiée avec une lumière Ultraviolette de $\lambda_{\text{max}} = 360 \text{ nm}$. On parle alors du processus de Photo - catalyse.

C'est un phénomène naturel dans lequel une substance, appelée photo catalyseur, accélère la vitesse d'une réaction chimique sous l'action de la lumière (naturelle ou artificielle). En utilisant l'énergie lumineuse, l'eau, l'oxygène de l'air et les photo-catalyseurs provoquent la formation de molécules très réactives: les radicaux libres. Ces radicaux sont capables de décomposer certaines substances, organiques et inorganiques, présentes dans l'atmosphère et parfois nocives (**Israilidies et al., 2007; Panizza et al., 2000; Chen et al., 2002**) en composés totalement inoffensifs par oxydoréduction.

Masahiro et al. (2007) ont trouvé aussi que le procédé photo-fenton est fiable comme méthode de désintégration de l'excès de boues de STEP. En effet, l'utilisation de l'irradiation ultrasonique avec TiO_2 peut entraîner une augmentation des radicaux hydroxyles (**Berberidou et al., 2007**).

L'utilisation d'un co-traitement de lyse cellulaire couplé à la digestion anaérobie peut apporter quelques avantages:

- Les prétraitements permettent une solubilisation de la matière particulaire organique et une meilleure biodégradabilité. Ce qui entraîne une augmentation du volume de biogaz produit et une diminution de la production de boues (**Kim et al., 2003**).
- Certaines techniques permettent une hygiénisation, parfois partielle des boues. Certaines de ces techniques existent à l'échelle industrielle. Les plus développées semblent être les traitements thermiques et thermochimiques. Les procédés d'oxydation avancée semblent aussi intéressants. Ainsi par exemple, l'oxydation par l'ozone ou par H_2O_2 et la réaction de Fenton. Cependant, il n'existe pas des études sur un couplage d'électro-Fenton.

L'objectif de cette étude est de montrer l'intérêt d'un procédé d'oxydation avancée électrochimique, l'électro-Fenton, sur la désintégration des boues activées et l'amélioration de la production de biogaz. L'efficacité de cette méthode sera comparée par rapport à d'autres techniques: la méthode thermo-alkaline, l'oxydation par H_2O_2 et l'électrolyse.

I. Cas des boues activées

1. Echantillonnage

Les boues utilisées lors de ce travail sont des boues secondaires épaissies qui proviennent de la station d'épuration des eaux usées urbaines de Saltnia localisée au Nord de la ville de Sfax. Les échantillons sont collectés dans des bidons et stockés dans une chambre froide (4°C) afin qu'ils gardent leurs caractéristiques biologiques et physico-chimiques initiales et minimiser les transformations microbiennes possibles. Les analyses physico-chimiques et microbiologiques ont été réalisées rapidement dès l'arrivée des échantillons au laboratoire.

2. Prétraitements des boues

2.1. Hydrolyse thermo-alkaline

L'hydrolyse thermo-alkaline des boues a été effectuée en 2 phases : La 1^{ère} phase consiste à l'ajustement du pH par l'ajout d'une solution de NaOH (5N) et la 2^{ème} phase à une incubation à une température déterminée. L'effet du pH (8, 10, 12 et 14), du temps d'incubation (2, 6, 8 et 24h) et de la température (T° ambiante, 50° et 105°C) sur la solubilisation de la matière organique a été étudié.

2.2. Oxydation par H₂O₂

L'oxydation chimique des boues par H₂O₂ a été effectuée par l'ajout d'une solution de H₂O₂ (30%). Différents paramètres interviennent lors de cette oxydation notamment le pH, le temps de traitement, la concentration en H₂O₂ et la température d'incubation. Pour chaque paramètre, une série d'expérience a été effectuée afin de déterminer les conditions optimales pour une solubilisation maximale en matière organique.

2.3. Electrolyse

Le prétraitement par électrolyse a été réalisé à l'aide d'un générateur de courant continu de type ASF 400/40.10, deux électrodes en fer et un agitateur. La figure 4 présente le dispositif expérimental utilisé pour le traitement électrochimique des boues.

La surface du contact de l'anode avec l'électrolyte est de 16 cm². Les expériences d'électrolyse ont été effectuées à température ambiante. Le réacteur d'électrolyse est de capacité 500 ml, dans lequel 300 ml de l'échantillon peut être traité.

Au cours de cette étude, les effets des paramètres susceptibles d'intervenir dans le processus d'électrolyse ont été déterminés :

- Le pH initial de la boue (3-7)
- Le temps de traitement (30, 60, 90, 120 min)
- La densité du courant (0,63 ; 1,25 ; 2,5 et 3,75 A/dm²)

2.4. Réaction d'Electro-Fenton

Les expériences d'électro-Fenton ont été réalisées par le même réacteur utilisé pour les expériences d'électrolyse. La différence entre les deux méthodes, c'est que dans le cas d'électro-Fenton on ajoute de H₂O₂ au milieu réactionnel. Les expériences d'électro-Fenton ont été réalisées aussi à température ambiante. Ainsi, nous avons étudié l'effet de la concentration en H₂O₂ (0,9 ; 1,8 ; 3,6 et 5,4 g/l), du pH initial de la boue, de la densité du courant (0,63 ; 1,25 ; 2,5 et 3,75 A/dm²) et du temps de traitement (30, 60, 90, 120 min) sur la solubilisation de la DCO.

3. Analyses microbiologiques

3.1. Germes totaux

Il s'agit de microorganismes qui se développent sur milieu ordinaire, la majorité de la microflore banale pourra s'y développer. Pour dénombrer cette microflore, le milieu utilisé est le milieu PCA, les boîtes sontensemencées et incubées à 30 °C pendant 48 h (**Guiraud, 1998**). Les résultats sont exprimés en UFC/ ml.

3.2. Coliformes totaux

Les coliformes sont des germes à priori inoffensifs présents dans la nature et dans l'intestin de l'homme et de l'animal, mais leur présence dans l'eau indique une pollution

fécale qui est souvent associé à la présence de germes pathogènes moins faciles à détecter et qui posent de sérieux problèmes de santé tels que *Vibrio cholerae* responsable du choléra, *salmonella typhi* responsable de la fièvre typhoïde.

Ces germes sont dénombrés sur milieu solide au désoxycholate lactose (DCL); selon la méthode (V08-015 (1991)/ISO 4832). Ce milieu contient un taux de désoxycholate assez faible (0,5%) et du citrate inhibiteurs des germes Gram⁺. L'ensemencement est réalisé dans la masse de la gélose. Après solidification, une deuxième couche est étalée par-dessus ce qui permet l'inhibition de nombreux germes Gram⁻, aérobies strictes.

Nous étalons 3 boîtes pour chaque dilution. Après incubation pendant 24 heures à 37°C, les germes recherchés apparaissent en colonies rouges sous forme de tête d'épingle. Le nombre de germes est exprimé en UFC/100 ml (seules les boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 30 et 300 sont prises en considération).

$$N \text{ (UFC/100 ml)} = n \cdot 100/d$$

Avec N : nombre de colonies/100 ml

n : moyenne des nombres de colonies d'une même dilution avec $n = (n_1 + n_2 + n_3)/3$

d : dilution de l'échantillon

3.3. Salmonelles

La mise en évidence des salmonelles a été réalisée en suivant la technique décrite par **Yanko et al. (1995)** sans l'étape de l'immuno-agglutination. Elle comprend :

✓ *Une phase d'enrichissement*

Cette étape est nécessaire vu le nombre faible de ces germes. Elle se fait sur le bouillon de sélénite de sodium. La culture est incubée à $37 \pm 0,5$ °C pendant 24 heures.

✓ *Une phase d'isolement*

Le milieu d'enrichissement permet la croissance de plusieurs souches. Donc, un isolement de souches recherchées est indispensable. Ceci est réalisé sur les deux géloses sélectives (SS, Salmonella-Shigella) et (DCL, Désoxycholate citrate lactose) et on incube 24 heures à $37 \pm 0,5$ °C.

Les salmonelles ne fermentent pas le lactose et produisent de l'hydrogène sulfuré H₂S (colonies incolores avec ou sans centre noir).

✓ *Une phase d'identification présumptive*

Les colonies produisant de l'hydrogène sulfuré H₂S sont repiqués sur milieu Kligler contenant du rouge de phénol et du sulfate ferreux. La pente rouge confirme la propriété lactose négatif des salmonelles.

3.4. Pseudomonas

La gélose cétrimide est un milieu sélectif pour l'isolement et l'identification présomptive des *Pseudomonas aeruginosa*.

L'ensemencement a été réalisé en profondeur (1 ml dans chaque boîte avant l'écoulement du milieu). Pour chaque dilution nous étalons 3 boîtes.

Après solidification du milieu, les boîtes sont incubées pendant 24 h à 37°C. Les germes recherchés apparaissent en colonies blanches.

Le nombre de germes est exprimé en UFC/100 ml (seules les boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 30 et 300 sont prises en considération).

$$N \text{ (UFC/100 ml)} = n \cdot 100/d$$

Avec N : nombre de colonies/100 ml

n : moyenne des nombres de colonies d'une même dilution avec $n = (n_1 + n_2 + n_3)/3$

d : dilution de l'échantillon

4. Analyses parasitologiques

4.1. Détection et dénombrement des œufs d'helminthes par la technique diphasique de flottaison

Les œufs d'helminthes sont extraits des boues par les techniques de sédimentation et de flottaison selon le protocole de l'EPA (1992) :

- 1- Tamponner 1 l de l'échantillon en ajoutant 34 g de KH₂PO₄ et 0,1 ml de tween 80, ajuster le pH à 7,2 par une solution de NaOH ou HCL. Mixer le mélange pendant 1 minute.
- 2- Laisser sédimenter pendant 12 heures.
- 3- Eliminer le surnageant par aspiration.
- 4- Centrifuger le sédiment à 1000 rpm/min pendant 4 minutes.

- 5- Eliminer le surnageant et ré-suspendre le culot dans 150 ml d'une solution de ZnSO₄ (de densité $d = 1,3$ soit 573 g/l) en homogénéisant à l'aide d'une spatule.
- 6- Laisser reposer 10 min et centrifuger à 1000 rpm/min pendant 4 minutes.
- 7- Récupérer le surnageant dans environ 200 ml d'eau désionisée.
- 8- Laisser sédimenter pendant 12 heures.
- 9- Eliminer le surnageant par aspiration.
- 10- Centrifuger le culot à 1200 rpm/min pendant 4 minutes.
- 11- Pour débarrasser le culot des débris protéiques, le suspendre dans 15 ml d'une solution d'acide/alcool à volume égale (H₂SO₄ 0,1 N/C₂H₅OH à 35%).
- 12- Ajouter 10 ml d'éther éthylique.
- 13- Agiter et laisser aérer par intermittence le tube 3 à 4 fois.
- 14- Centrifuger à 1500 rpm/min pendant 4 minutes.
- 15- Eliminer le surnageant par aspiration.
- 16- Ré-suspendre le culot dans 10 ml d'acide sulfurique 0,1 N.
- 17- Compter les œufs sous microscope et sur une cellule de Mac- Master ou Sedgwick-Rafter.

En déduire le nombre d'œufs d'helminthes par litre d'échantillon : N (œufs /l) = $n \cdot V/v$

Avec N : nombre d'œufs d'helminthes par litre d'échantillon.

n : nombre d'œufs par prise d'essai.

v : volume d'une prise d'essai.

V : volume du culot obtenu.

4.2. Numération des kystes de protozoaires

On utilise la même technique de détection et d'énumération que celle utilisée pour les œufs d'helminthes à la différence de l'ajout du lugol (étape 17) pour faciliter la reconnaissance des kystes qui seront colorés en marron clair. De la même manière nous déterminons le nombre de kystes par litre : N (kystes/l) = $n \cdot V/v$

5. Traitement anaérobie des boues

5.1. Test de potentiel méthanogène (BMP)

Un test BMP (Biological methane Potential) constitue une mesure indirecte de la biodégradabilité de la matière organique. Le principe consiste à suivre la production cumulée de méthane dans des conditions d'incubation dites optimales.

Dans des bouteilles en verre de 100 ml, on ajoute le substrat et l'inoculum après avoir calculé le volume de chacun afin de mettre un rapport $MV_{\text{inoculum}}/MV_{\text{substrat}}$ égale à 1. Ensuite, les volumes finaux sont ajustés avec l'eau osmosée. Le pH du milieu est corrigé vers une valeur proche de 7,2. Puis, on balaye avec l'azote les bouteilles et on les ferme hermétiquement. Ces batchs sont finalement incubés à 37°C et 56°C. Le volume de biogaz dégagé est mesuré quotidiennement avec une seringue. L'essai de fermentation se poursuit jusqu'à l'arrêt de la production de biogaz. Trois essais sont réalisés pour chaque échantillon. Les résultats sont donnés en volume moyen de biogaz par unité de matière organique (ml/g MV ou ml/g DCO).

Figure 6 : Dispositif expérimental du Potentiel Méthanogène des boues brutes et prétraitées

5.2. Réacteurs anaérobies

5.2.1. Réacteur CSTR

Le réacteur utilisé pour la fermentation semi-continue est un réacteur de type CSTR fonctionnant en cellule libre ayant un volume utile de 1,5 litre, pouvant être considéré comme réacteur parfaitement agité.

C'est un digesteur en verre à double membrane thermostaté afin de conserver la température du milieu réactionnel. Le bioréacteur contient un consortium microbien anaérobie. Il est utilisé dans la digestion anaérobie des boues en condition mésophile (37°C) et thermophile (56°C).

L'homogénéisation du milieu réactionnel est réalisée avec un agitateur intégré dans le réacteur. L'alimentation et le soutirage sont effectués une fois par jour, à l'aide d'une seringue. Le volume de biogaz produit est mesuré par déplacement de liquide.

Il faut noter que le pH du substrat d'alimentation est corrigé vers des valeurs au alentour de 7

5.2.2. Réacteur UASB

Un autre type de réacteur à été utilisé pour la digestion anaérobie des boues activées est le réacteur de type UASB ayant un volume utile de 7 litre.

C'est un digesteur en plastique à double membrane thermostaté afin de conserver la température du milieu réactionnel proche de 37°C. Le bioréacteur contient un consortium microbien anaérobie.

L'alimentation et le soutirage sont effectués une fois par jour, à l'aide d'une pompe. Le volume de biogaz produit est mesuré par déplacement de liquide.

Le pH du substrat d'alimentation est corrigé vers des valeurs au alentour de 7.

Figure 8: Dispositif expérimental d'un réacteur anaérobie UASB traitant les boues en condition mésophile.

6. Approche moléculaire pour l'étude de la biodiversité bactérienne des boues brutes et prétraitées

6.1. Analyse PCR-DGGE (Denaturing Gel Gradient Electrophoresis)

L'ADN de la communauté totale provenant de deux échantillons de boues (BT et AT : Before et After Treatment) collectés avant et après le traitement anaérobie a été extrait à l'aide du kit EZ-10 Spin Column Soil DNA Mini-Preps Kit (BIO BASIC INC) conformément aux instructions du fabricant. Les régions hypervariables V3-V5 des séquences d'ARNr 16S ont été amplifiées en utilisant des amorces spécifiques aux bactéries (341 FGC/907rR). Le programme de cycle thermique était le suivant: Dénaturation initiale à 95°C pendant 3 min, Dénaturation à 94°C pendant 30 s, recuit à 55°C pendant 45 s et extension à 72°C pendant 45 s. Une extension finale à 72°C pendant 10 min a été ensuite effectuée. Des réactions de PCR ont été réalisées dans un mélange réactionnel de 50 µl contenant un tampon 1X Invitrogen Taq DNA Polymerase, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de chaque dNTP, 0,2 mM de chaque amorce et 1 U Taq DNA Polymerase (Invitrogen). Les produits de PCR ont été visualisés sur un gel d'agarose à 1% coloré avec du bromure d'éthidium (EtBr). Les analyses DGGE ont été effectuées à l'aide d'un système multiple DCode (BioRad) avec les conditions suivantes. Les

produits de PCR ont été tous séparés dans des gels d'acrylamide à 6% avec un gradient de dénaturation de 35% à 65% (100% de dénaturant était de 7 M d'urée et 40% de formamide désionisé). Les gels fonctionnent dans un tampon TAE 1X (tris 40 mM ; pH 8,5 ; acide acétique 20 mM ; EDTA 1 mM) à 60°C et à une tension constante de 50 V pendant 16 h. Les gels ont été incubés dans une solution de bromure d'éthidium pendant 25 min et rincés avec de l'eau distillée pendant 5 min, puis visualisés sous la lumière UV et photographiés avec un système d'imagerie Gel doc XR (BioRad).

6.2. Analyse des séquences

Les bandes DGGE prédominantes de chaque échantillon ont été excisées du gel, éluées dans la nuit dans 35 ml d'eau MilliQ et réamplifiées par PCR à l'aide d'amorces dépourvues de la pince GC (341F et 518R). Les produits de PCR ont été séquencés en utilisant le kit de séquençage du cycle Big Dye® Terminator et un analyseur génétique ABI PRISM 3100 (Applied Biosystems). Les séquences de gènes de l'ARNr 16S ont d'abord été comparées aux bases de données GenBank et RDP en utilisant les ressources d'analyse de séquence en ligne "BLAST" (Altschul et al., 1997) et "Seqmatch" (Projet de base de données Ribosomal II, version 10) (Cole et al., 2009). Les séquences ont été vérifiées pour une structure chimère possible en utilisant la vérification de la chimère sur la base de données DECIPHER (<http://decipher.cce.wisc.edu/FindChimeras.html>) (Wright et al., 2012). Des alignements multiples ont été générés avec le programme MUSCLE (Edgar, 2004) et les dendrogrammes ont été construits avec le programme MEGA version 7 (Tamura et al., 2016) sur la base des distances évolutives qui ont été calculées par la méthode Neighbor-Joining (Saitou et Nei., 1987) avec le modèle Jukes-Cantor. L'évaluation statistique des topologies d'arbres a été réalisée par analyse bootstrap avec 1000 remaniements (Felsenstein., 1985).

II. Méthodes analytiques

1. Détermination du pH

La mesure du pH est réalisée par un pH-mètre de type Istek-NeoMet. Après rinçage à l'eau distillée, l'électrode est plongée dans l'échantillon à analyser, la valeur du pH est affichée directement sur l'écran du pH-mètre (AFNOR, 1994).

2. Détermination de la conductivité électrique (CE)

La conductivité électrique d'une eau est la conductance d'une colonne d'eau comprise entre deux électrodes métalliques de 1 cm³ de surface et séparées l'une de l'autre de 1 cm. Elle est l'inverse de la résistivité électrique. La conductivité a été mesurée à l'aide d'un conductimètre de type CONSORT. L'unité de la CE est le siemens par mètre (S/m).

3. La matière sèche

La matière sèche (MS) représente l'ensemble des substances organiques et inorganiques en solution ou en suspension, contenues dans l'échantillon. Cette matière est déterminée à 105°C par l'évaporation d'un échantillon de masse m_1 , dans un creuset en porcelaine de masse initial m_0 , jusqu'à obtention d'une masse constante m_2 (généralement après 24 h).

$$MS \text{ (g/l)} = 100 (m_2 - m_0) / (m_1 - m_0)$$

4. La matière volatile

La matière volatile (MV) est déterminée en faisant la différence entre la matière sèche et les résidus (cendre) issus de la calcination de l'échantillon. En effet, après la détermination de la matière sèche, la même capsule de la masse m_2 est portée dans un four de température 600°C (de type Furance 6000) pendant deux heures, cette dernière acquiert une nouvelle masse m_3 . Le pourcentage de la matière volatile par rapport au poids humide est déterminé comme suit:

$$MV \text{ (g/l)} = 100 (m_2 - m_3) / (m_1 - m_0)$$

5. La matière en suspension

Les matières en suspensions présentes dans les effluents, sont déterminées par centrifugation selon le protocole expérimental présenté par la norme Tunisienne **NF T90-105 (1978)**: un volume V représentant l'échantillon de l'effluent est centrifugé à 4000 tours/min pendant 20 min, le culot ainsi obtenu est recueilli dans une capsule de masse m_0 préalablement séchée à 105 °C. Ensuite, le pot de centrifugation est rincé avec de l'eau distillée (environ 10 ml) puis déposé dans la même capsule. Finalement, la capsule est mise à 105°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante désignée par m_1 .

$$MES \text{ (g/l)} = 1000 (m_1 - m_0) / V$$

6. Matière volatile en suspension

Après détermination des matières en suspension, la capsule et son contenu sont portés à 600°C. Après calcination, la capsule est refroidie dans un dessiccateur puis pesée, m_2 étant sa nouvelle masse (**AFNOR, 1978**). Le pourcentage de MVS par rapport au poids sec est:

$$MVS \text{ (g/l)} = 1000 (m_1 - m_2) / V$$

7. Détermination de l'azote total Kjeldahl (NTK)

La teneur de l'azote a été déterminée selon la méthode de Kjeldahl. Dans une première étape, la matière organique est minéralisée avec l'acide sulfurique chaud et en présence d'un catalyseur de minéralisation (mélange de Sélénium, Merck). La distillation du contenu du matras, après addition de 40 ml de soude, a été effectuée dans l'appareil Buchi modèle 320.

L'ammoniaque est alors dosée par une solution d'acide sulfurique (0,1 N). Les résultats sont exprimés en milligrammes d'azote par litre selon la formule suivante :

$$NTK \text{ (mg/l)} = (V_1 - V_2) * C * F * 1000 * 14 / V$$

Avec :

V_1 : Volume en ml d'acide sulfurique.

V_2 : Volume en ml d'acide sulfurique utilisé pour l'essai blanc.

V : Volume en ml de prise d'essai.

C : Normalité de l'acide sulfurique (N/20).

F : Facteur de correction de la solution d'acide sulfurique.

8. Demande chimique en oxygène (DCO)

La demande chimique en oxygène est déterminée selon la méthode de **Knechtel (1978)**, elle correspond à la consommation d'oxygène nécessaire à l'oxydation complète de la matière organique.

L'oxydation se fait dans un réacteur (HACH) à une température de 150°C et en présence d'un excès de bichromate de potassium en milieu acide. 2,5 ml d'échantillon dilué sont mélangés avec 1,5 ml de la solution de bichromate de potassium et 3,5 ml de H₂SO₄ (18M) contenant 10 g/l d'AgSO₄. Après deux heures d'incubation, la densité optique est mesurée à 600 nm. La DCO est déterminée grâce à une courbe étalon propre à chaque préparation de bichromate. La courbe d'étalonnage est réalisée avec l'hydrogénéphthalate de potassium (C₈H₅KO₄), dans les mêmes conditions d'analyse, à différentes concentrations (0 g/L à 0,8 g/L).

9. Demande biologique en oxygène (DBO₅)

La demande biologique en oxygène est la quantité d'oxygène consommée par l'eau à traiter lors de l'oxydation biologique des matières organiques et minérales qu'elle contient. C'est donc la quantité d'oxygène nécessaire aux microorganismes pour l'assimilation des matières organiques contenues dans l'échantillon pendant 5 jours à 20°C et à l'obscurité. Durant cette période, la consommation en oxygène provient de deux réactions. D'une part, il se produit une oxydation lente par voie chimique des composés organiques ou minéraux réducteurs, en présence d'oxygène dissous. D'autre part, les micro-organismes présents dans

le milieu, consomment de l'oxygène pour métaboliser les matières organiques assimilables. La valeur de la DBO₅ (exprimé en g O₂/l) permet d'évaluer la charge polluante dans l'eau usée et sa biodégradabilité (**Rodier et al., 1996**). La DBO₅ est mesurée dans une enceinte tempérée et ventilée à 20 °C. Au cours de nos analyses, nous avons utilisé un appareil : BSB-control Models 620T, fonctionnant selon le principe barométrique qui repose sur une mesure de pression.

Le principe de la méthode respirométrique se résume comme suit: Le CO₂ issu de l'oxydation totale de la matière organique est adsorbé par des pastilles de NaOH ce qui crée une dépression dans le flacon. Un manomètre détecte cette dépression et la conversion en DBO est alors possible sachant le volume de l'échantillon, la dilution et un facteur fournis par le constructeur, qui dépend du volume total utilisé dans le flacon.

10. Détermination du carbone organique total (TOC)

Le dosage du carbone organique total est réalisé à l'aide d'un analyseur DOHRMANN (DC 190) sur le principe d'oxydation à haute température (combustion). Le dioxyde de carbone formé est détecté par un analyseur à infrarouge à double faisceau.

L'échantillon doit être préalablement dilué pour obtenir une valeur comprise dans la gamme d'étalonnage. Un volume de 50 µl d'échantillon est injecté avec une seringue. Une première injection permet de connaître le carbone total de la solution (CT). Une deuxième injection, lors de laquelle l'échantillon est décarbonaté par acidification (acide ortho-phosphorique à 10%) et barbotage à l'oxygène en vue de libérer et déterminer le carbone inorganique (CI) sous forme de dioxyde de carbone.

Le calcul du carbone organique total (COT) est alors donné par:

$$\boxed{COT(mg / l) = CT - CI}$$

avec:

CT: carbone total (mg/l)

CI: carbone inorganique (mg/l)

11. Analyse par Infrarouge à Transformé de Fourier (FTIR)

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed InfraRed spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau.

Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité réfléchié ou transmise.

L'échantillon de la boue est analysé à son état initial. Le spectre IRTF a été réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre FTIR 380 à transformée de fourrier modèle Nicolet dans un domaine de nombre d'onde allant de 400 à 4000 cm^{-1} .

12. Dosage des métaux lourds

Le dosage des métaux lourds est précédé d'une destruction totale de la matière organique présente dans l'échantillon à analyser. Cette destruction est effectuée par une attaque acide à haute température utilisant successivement, l'acide perchlorique et l'acide nitrique jusqu'à décoloration totale.

Le dosage des ions Fe, Mg, Zn est effectué par spectrométrie d'absorption atomique sur un appareil Hitachi Z 6100.

13. Dosage des acides gras volatils (AGV)

La mesure de la concentration des AGV est effectuée sur les boues brutes et traitées. Avant dosage, les échantillons sont centrifugés pendant 15 min à 8000 t/min, puis filtrés en utilisant des filtres à seringues de porosité 0,45 μm . Les filtrats obtenus sont acidifiés (pH= 3) avant d'être analysés et quantifiés par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC).

❖ Appareillage :

- Chromatographe Shimadzu 10 AVP
- Colonne Hi-Plex H, 300 x 7,7 mm, taille des particules 8 μm

- Ordinateur (Hewlett Packard) équipé d'un logiciel Chemstation.
- ❖ Conditions opératoires
 - Débit de la pompe binaire : 0,6 ml/min
 - Température du four : 50 °C
 - Longueur d'onde : 220 nm
 - Volume injecté : 20 µl
 - Gradient : Isochratique

La phase mobile est formée d'eau ultra pure + 0,01% acide sulfurique. L'étalonnage est réalisé à l'aide des standards permettant de définir pour chaque produit à doser, le temps de rétention ainsi que la corrélation entre la surface d'intégration et la concentration.

14. Analyse de l'effluent brut et traité par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Les composés chimiques sont analysés et quantifiés par Chromatographie Liquide à Haute Performance (CLHP).

- ❖ Appareillage
 - Chromatographie Shimadzu 10 AVP
 - Colonne C18 SYMMETRY (Waters Chromatography), 4,6 x 250 mm, taille des particules 5 µm
 - Ordinateur (Hewlett Packard) équipé d'un logiciel Chemstation.
- ❖ Conditions opératoires
 - Débit de la pompe binaire : 0,8 mL/min
 - Température du four : 40 °C
 - Longueur d'onde : 280 nm
 - Volume injecté : 20 µL

La phase mobile est formée de deux solvants : de l'eau acidifiée avec 0,1% d'acide phosphorique (solvant A) et de l'acétonitrile/eau (70/30) (solvant B). L'étalonnage est réalisé à l'aide de standards permettant de définir pour chaque produit à doser, le temps de rétention ainsi que la corrélation entre la surface d'intégration et la concentration.

15. Dosage des protéines par la méthode de Bradford

Le dosage des protéines est réalisé par la méthode de Bradford (**Bradford, 1968**). Un volume de l'échantillon dilué 800 µl contenant 0 à 10 µg de protéines par ml est mélangé avec 200 µl de réactif Biorad. Après 10 min à température ambiante et à l'obscurité, la densité optique est déterminée à 595 nm. On détermine la concentration en protéines dans chaque échantillon par l'utilisation d'une courbe d'étalonnage préparée avec une solution concentrée de BSA (Bovine Sérum Albumine).

16. Dosage des polysaccharides

Les polysaccharides sont dosés suivant la méthode colorimétrique de Dubois et al. (1956). L'échantillon est mis en présence de phénol (5%) puis d'acide sulfurique concentré (95%). L'ajout de l'acide provoque une élévation de température, les saccharides sont hydrolysés, lors du chauffage, par l'acide sulfurique (H₂SO₄) puis les monosaccharides sont déshydratés par l'acide phénique pour donner finalement une coloration orange. La teneur en polysaccharides est ensuite déterminée à l'aide d'une gamme étalon préparée à l'aide d'une solution de glucose. La mesure de l'absorbance est réalisée à 485 nm contre un blanc réactif.

17. Temps de succion capillaire

Le temps de succion capillaire (CST) a été mesuré avec un analyseur CST (Triton Electronics Ltd., Royaume-Uni). Tous les échantillons de boues ont été détectés directement après 1 heure de repos. Le format de papier CST est de 7×9 cm² et le diamètre relatif aux pores est de 1 cm. Cinq millilitres des échantillons de boues a été placé dans un tube métallique a enregistré l'heure de sonnerie comme CST (en seconde).

18. Fractionnement de la matière organique

La caractérisation de la matière organique est le point de départ pour décrire les mécanismes de traitement des déchets organiques basée sur des extractions chimiques et la spectroscopie de fluorescence. Par conséquent, Une nouvelle méthodologie de fractionnement a été proposée pour unifier la caractérisation d'une large gamme de produits organiques les déchets. Cette nouvelle méthode a été construite en fusionnant les deux protocoles mentionnés

précédemment pour stimuler la bioaccessibilité combinée à la spectroscopie de fluorescence 3D pour mettre en évidence la complexité de l'extraction des fractions organiques. Deux échantillons, ont été caractérisés (Boue brute et Boue prétraitée pendant 2h) selon leur bioaccessibilité et leur complexité. Grâce à une analyse de composante principale, les déchets organiques ont été classés en fonction de leur nature, de leur complexité et de leur accessibilité :

*Fraction soluble et extractible de la matière organique (SPOM). Obtenu par lavage 4 fois 0,5 g de l'échantillon avec 30 mL de solution d'eau ultra pure contenant 10 mM de CaCl_2 pendant 15 min, à 30 ° C et 300 tr/min.

*Matière organique facilement extractible (REOM). Obtenu en secouant le culot restant de l'extraction précédente 4 fois avec 30 ml d'une solution basique (NaCl [10 mM] et NaOH [10 mM]) pendant 15 min, à 30°C et 300 tr/min.

*Matière organique lentement extractible (SEOM). Obtenu par 4 extractions basiques séquentielles fortes (30 mL de NaOH 0,1 M) du culot restant (préalablement purgé par N_2 pour éviter l'oxydation) pendant 4 h, à 30 ° C et 300 tr/min.

*Matière organique faiblement extractible (PEOM). Obtenu par 2 extractions séquentielles d'acide (25 mL H_2SO_4 , 72% w:w) de culot restant pendant 3 h, à 30°C et 300 tr/min.

*Fraction de la matière organique non extraite (NEOM) est calculée en soustrayant la masse totale de la matière organique extraite de la masse initiale de l'échantillon.

***Analyse par spectroscopie de fluorescence**

La fluorescence est l'émission de lumière causée par l'excitation d'une molécule. Cela se produit généralement en raison de l'absorption d'un photon, suivi d'une émission spontanée. Les spectres de fluorescence des extraits liquides ont été enregistrés sur un Perkin Elmer LS55. L'excitation des longueurs d'onde variait de 200 à 600 nm, avec des incréments de 10 nm. La largeur de la fente d'émission et d'excitation dans le monochromateur a été fixée à 10

nm. La vitesse dans le monochromateur à balayage était d'environ 1200 nm/s et les valeurs de fluorescence étaient enregistrées tous les 0,5 nm entre 200 et 600 nm.

Résultats et Discussion

Introduction

Les boues proviennent de l'épuration des eaux usées acheminées par les réseaux d'assainissement (égouts) dans les stations d'épuration. Elles sont principalement constituées de particules solides non retenues par les prétraitements en amont de la station d'épuration, de matières organiques non dégradées, de matières en suspension minérales et de micro-organismes. Elles se présentent sous forme d'une «soupe épaisse» qui subit ensuite des traitements visant en particulier à réduire leur teneur en eau. Les boues contiennent notamment de l'azote, du carbone, du phosphore et des métaux lourds. Ces éléments peuvent nuire à l'environnement, particulièrement à l'eau et le sol, lorsqu'ils sont rejetés en grande quantité.

La digestion anaérobie des boues activées se présente comme une alternative biologique pour valoriser ces résidus en biogaz qui constitue une source d'énergie renouvelable. Cette approche de traitement et de valorisation énergétique est de plus en plus utilisée dans les installations agricoles et industrielles (**Fountoalakis et al., 2008**). Cependant, dans le cadre de la digestion anaérobie des boues d'épuration, l'étape limitante est l'hydrolyse enzymatique permettant de réduire les polymères en monomères simples facilement dégradables. L'amélioration des performances de la digestion anaérobie des boues et plus particulièrement l'étape d'hydrolyse permettrait de réduire la production des boues, d'augmenter la production de biogaz et donc de limiter les coûts de traitement.

L'idée pour améliorer les performances de la digestion anaérobie est donc de réaliser un couplage avec un procédé physico-chimique de lyse cellulaire. Ainsi, dans cette partie, on s'intéresse principalement à l'étude de prétraitement des boues de STEP par des méthodes d'oxydation avancée. Par conséquent, cette étude est composée de deux chapitres :

Chapitre 1 : L'objectif de ce chapitre est de montrer l'intérêt d'un procédé d'oxydation avancée électrochimique, l'Electro-Fenton, sur la désintégration et l'hydrolyse des boues et de comparer l'efficacité de ce procédé par rapport à d'autres méthodes classiques. En fait, quatre traitements différents ont été étudiés : l'hydrolyse thermo-alcaline, l'oxydation par H₂O₂, l'électrolyse et l'électro-Fenton. Pour chaque technique, la solubilisation de la matière organique a été étudiée afin de déterminer les conditions optimales de traitement.

Une série de tests a permis de comparer ces traitements et de choisir la meilleure technique de lyse cellulaire.

- Chapitre 2 : Ce chapitre est consacré à l'étude de l'effet de prétraitement des boues par électro-Fenton sur leur digestion anaérobie. En premier lieu, on a étudié leur Potentiel méthanogène en condition mésophile et thermophile et en second lieu deux types de digesteurs ont été utilisés : Continuous Stirred Tank Reactor (CSTR) et Up-flow Anaerobic Sludge Blanket (UASB). Les résultats obtenus par prétraitement électro-Fenton ont été comparés avec ceux de prétraitement thermo-alcalin.

CHAPITRE 1 : Etude de la désintégration des boues par différentes méthodes physico-chimiques et électrochimiques.

1. Caractérisation physico-chimique des boues de STEP brutes

Les boues utilisées lors de ce travail sont des boues secondaires fraîches (boues biologiques) à fort âge qui proviennent de la station d'épuration des eaux usées urbaines de Saltania (Sfax-Nord), station dont la capacité de traitement est de 17900 m³/j.

Le tableau 6 résume les caractéristiques physico-chimiques de 4 échantillons de boues collectés de la station.

Tableau 6: Caractéristiques physico-chimiques des échantillons de boues activées collectés.

Paramètres	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Echantillon 4	Moyenne
pH	7	7,01	7,3	6,9	7,05
DCOt (g/l)	23,55	23,08	24,5	26,2	24,33
DCOs (g/l)	2,83	1,00	1,2	1,1	1,53
DBO ₅ (g/l)	3,00	3,50	4,3	3,9	3,68
MS (g/l)	28,27	20,08	31,2	27	26,64
MV (g/l)	22,13	10,78	19,4	18,5	17,7

MES (g/l)	20,63	14,39	24,22	23,34	20,65
MVS (g/l)	18,05	11,82	17,1	17,5	16,12
NTK (g/l)	2,43	1,05	1,22	2,1	1,7
Phosphore (mg/l)	30,80	27,50	26,72	28,4	28,36
C/N	9,69	8,45	7,34	7,38	8,22

Ce tableau montre que la composition des boues est très variable. Ces boues présentent un pH neutre. Leurs teneurs moyennes en matières organiques exprimées en termes de DCO et/ou en MS varient respectivement de 23,55 à 26,2 g/l et de 28,27 à 31,2 g/l. Ces deux paramètres montrent bien que les boues sont des effluents trop chargés en matières organiques. La DCOs est faible par rapport à la DCOt, ce qui montre l'aspect particulière de la matière organique des boues (MES= 20,65 g/l) ce qui rend leur hydrolyse relativement difficile. Ce tableau montre bien que les boues sont riches en azote (1,7 g/l) ce qui donne un rapport C/N non équilibré qui doit être compris entre 20 et 30 (Metcalf et Eddy, 2006).

2. Désintégration des boues activées

Les prétraitements de désintégration ont été proposés pour solubiliser la MO des boues et de réduire la taille des particules, ce qui par la suite permet d'améliorer la digestion anaérobie. Les méthodes classiques d'hydrolyse ou de désintégration de boues à digérer se basent essentiellement sur l'hydrolyse thermique, chimique, ultrasonique ou mécanique (Lizama et al., 2017). Dans ce travail, des procédés électrochimiques ont été testés dans l'objectif d'hydrolyser les boues.

Les procédés d'oxydation avancée ont montré leur potentiel dans le traitement des polluants organiques toxiques et/ou bio récalcitrants. Ces procédés sont basés sur la production in situ des radicaux hydroxyles (OH^\cdot), espèce très fortement oxydante et extrêmement réactive (Gu et al., 2017).

2.1. Traitement des boues par la méthode thermo-alkaline

L'hydrolyse thermo-alkaline est l'une des méthodes de désintégration des boues de STEP les plus courantes. Il s'agit de l'intégration de la température et un agent chimique (produit alcalin). D'après la bibliographie, le NaOH assure une meilleure solubilisation de la DCO par rapport aux autres agents alcalins (KOH, MgOH₂ et CaOH₂) (Kim et al., 2003). C'est pour cela, dans cette partie, on a travaillé avec du NaOH comme agent alcalin pour les expériences d'hydrolyse thermo-alkaline.

Différents paramètres interviennent sur l'hydrolyse thermo-alkaline notamment le temps de traitement, le pH du milieu réactionnel et la température d'incubation.

2.1.1. Effet de la variation du pH

Différents essais d'hydrolyse ont été effectués en variant le pH de la boue de STEP (8, 10, 12 et 14) par l'ajout du NaOH. Le temps de la réaction a été fixé à 2 h à température ambiante. Les valeurs de la DCO totale et soluble ont été mesurées afin de déterminer le pourcentage de solubilisation.

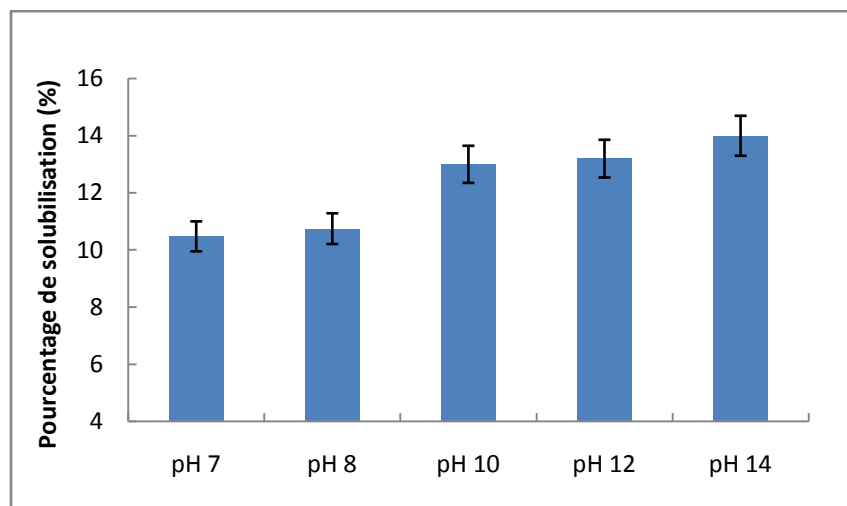


Figure 8: Effet du pH sur la solubilisation de la DCO au cours de l'hydrolyse alcaline des boues activées pendant 2 heures d'agitation à température ambiante.

La figure (8) présente les pourcentages de solubilisation de la matière organique des boues sous l'action du NaOH à différents pH. L'histogramme montre que le pourcentage de

solubilisation augmente avec l'augmentation du pH. Le pourcentage de solubilisation a augmenté de 10,75 à 14% pour les essais de pH 8 et pH 14, respectivement. A l'état brut (pH= 7), la boue présente une DCO soluble de 1,92 g/l qui représente 10,48% de la DCO totale. On note que l'augmentation du pourcentage de solubilisation n'est pas significative en ajustant le pH vers des valeurs supérieures à 10. D'après ces résultats, on a proposé de travailler avec un pH 10 pour la suite des essais d'hydrolyse. Ce pH correspond à une concentration en NaOH ajouté de 3,75 g/l.

2.1.2. Effet du temps d'agitation

Dans ce paragraphe, on a essayé de déterminer l'influence du temps d'agitation pendant 24 h sur la solubilisation des boues à pH 10. Les résultats sont représentés sur la figure (9).

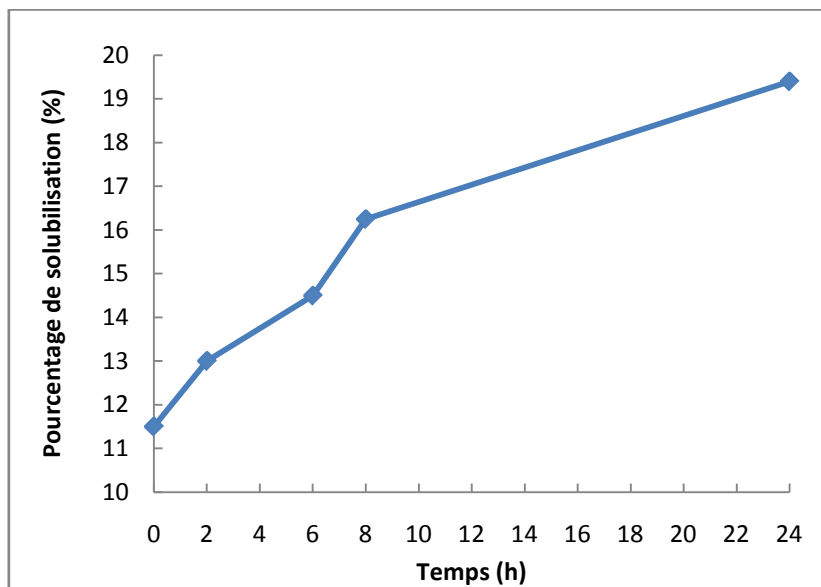


Figure 9: Effet du temps d'agitation sur la solubilisation de la matière organique au cours de l'hydrolyse alcaline à pH 10 et à température ambiante.

Cette figure montre que le pourcentage de solubilisation augmente avec l'augmentation du temps d'agitation. Ce pourcentage est de l'ordre de 19,4% après 24 h

d'agitation. On note une augmentation importante par rapport à celui obtenu après 2 h d'agitation (13%). Donc, plus le temps de la réaction est long, plus la solubilisation de la boue est importante. Le pourcentage maximal de solubilisation qu'on a obtenu est de l'ordre de 19,4% après 24 h d'agitation. Pour améliorer ce pourcentage, on a proposé d'intégrer au traitement alcalin l'énergie thermique.

2.1.3. Effet de la température

L'hydrolyse des boues par un agent alcalin est généralement effectuée par un couplage avec la température pour assurer une meilleure solubilisation de la matière organique (Kim et al., 2003; Valo et al., 2004). Pour cela, on a fixé les conditions opératoires optimales obtenues précédemment (pH 10 et agitation pendant 24 h) mais avec une incubation pendant 2h à différentes températures (T° ambiante, 50°C et 105°C).

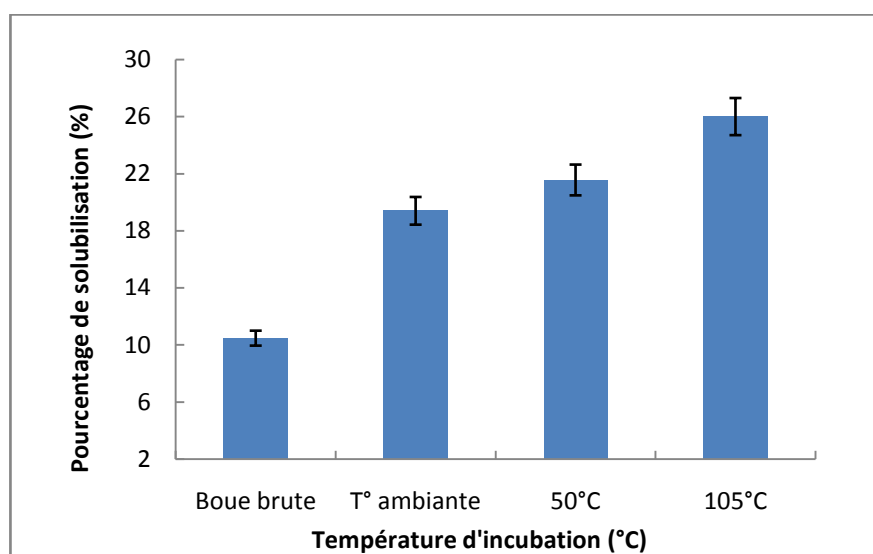


Figure 10: Effet de la température sur la solubilisation de la matière organique des boues activées au cours de l'hydrolyse alcaline à pH 10 pendant 2 h.

D'après cette figure, la température a un effet important sur la solubilisation. On remarque que plus la température d'incubation est élevée plus le pourcentage de solubilisation augmente. A température ambiante le pourcentage de solubilisation est de l'ordre de 19,4%.

Ce dernier augmente vers 21,56 et 26% en traitant les boues à une température de 50°C et 105°C, respectivement. Donc, la température optimale d'incubation pour cette étude est de 105°C. Ce pourcentage de solubilisation reste faible par rapport à celui trouvé par **Kim et al. (2003)** qui est de l'ordre 45% pour une même concentration de NaOH (3,74 g/l) mais ils ont traité la boue dans une autoclave (121°C, 1,5 atm) pendant 30 min.

D'après les résultats des essais d'hydrolyse thermo-alcaline effectués, le pourcentage maximal de solubilisation enregistré est 26%. Ce dernier est obtenu en traitant les boues à pH 10 avec une température de 105°C pendant 2h.

2.2. Traitement des boues par H₂O₂

Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) présente une réactivité qui le classe dans la catégorie des oxydants faibles que ce soit en solution aqueuse ou en milieu anhydre. A température ordinaire, le peroxyde est métastable et se décompose facilement avec formation d'eau et libération d'oxygène (**Gogate et Pandit, 2004**).

Durant cette étude, on a essayé d'optimiser les conditions opératoires permettant d'avoir une solubilisation maximale de la matière organique des boues de STEP en présence de H₂O₂. Différents paramètres interviennent sur la réaction d'oxydation notamment le temps de la réaction, la concentration en H₂O₂, le pH du milieu réactionnel et la température d'incubation.

2.2.1. Effet du temps d'agitation et de la concentration en H₂O₂

Dans ce paragraphe, on a essayé de déterminer l'influence du temps d'agitation et la concentration en H₂O₂ sur la solubilisation des boues à pH normal. Dans ce cas, on a fixé le volume de la boue à traiter (300 ml) et on a varié les concentrations en H₂O₂ (0; 0,9; 1,8; 3,6 et 5,4 g/l). Les résultats sont représentés sur la figure 11.

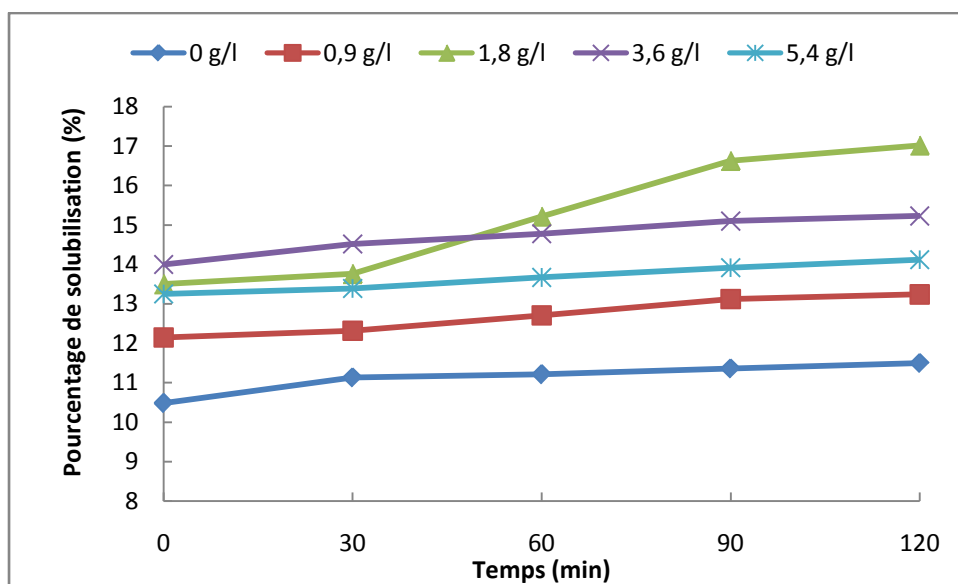


Figure 11: Effet de la concentration en H₂O₂ et du temps d'agitation sur le pourcentage de solubilisation de la matière organique au cours du traitement des boues par H₂O₂.

La première remarque qu'on peut noter c'est qu'une solubilisation instantanée de la matière organique a été décelée juste après ajout de H₂O₂. Celle-ci a été en fonction de la quantité de H₂O₂ appliquée. En appliquant une agitation douce pendant 2 h, cette solubilisation a augmenté légèrement pour toutes les doses ajoutées sauf pour la dose de 1,8 g/l où on a vu une augmentation progressive de la solubilisation au cours du temps de traitement. Une solubilisation maximale de 16% a été observée à la fin de cette expérience. On note que l'augmentation de la quantité de H₂O₂ vers une valeur supérieure à 1,8 g/l ne favorise pas l'hydrolyse de la boue. En fait, d'après **Gogate et Pandit (2004)**, l'utilisation des quantités excessives de H₂O₂ pourrait détériorer l'efficacité de dégradation globale du processus.

2.2.2. Effet de la variation du pH

Différents essais d'hydrolyse ont été effectués en variant le pH de la boue de STEP et la concentration en H₂O₂ (0; 0,9; 1,8; 3,6 et 5,4 g/l). On laisse les échantillons sous agitation pendant 2 h puis on mesure la DCO totale et soluble pour déterminer le pourcentage de solubilisation.

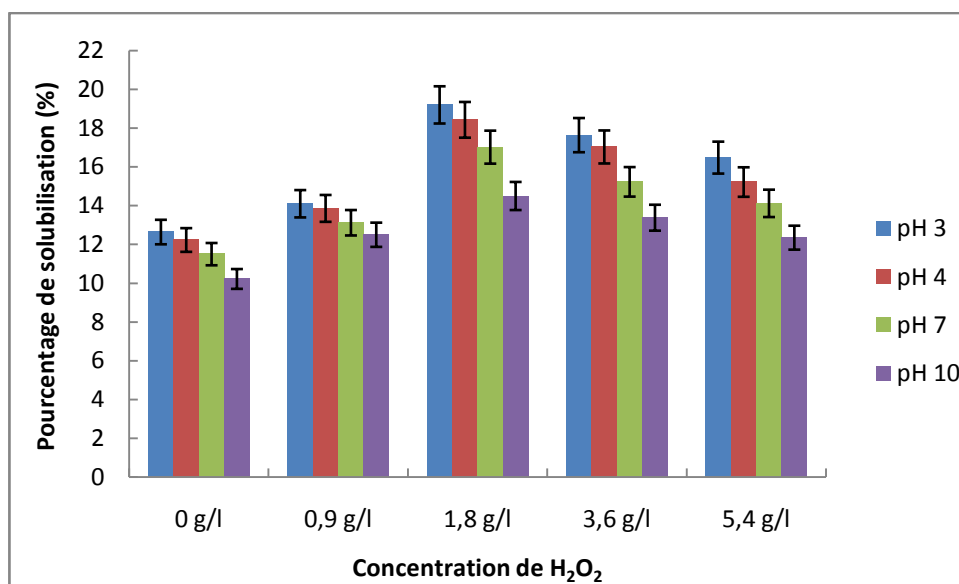


Figure 12: Effet du pH sur le pourcentage de solubilisation de la DCO au cours de l'hydrolyse des boues par ajout de H₂O₂.

La figure 12 présente les pourcentages de solubilisation de la matière organique des boues sous l'action de différentes doses en H₂O₂ et à différents pH. L'histogramme montre qu'à différents pH, la dose 1,8 g/l H₂O₂ présente les valeurs maximales de solubilisation. Ainsi pour cette dose, on remarque que le meilleur pourcentage de solubilisation de la matière organique (19,2 %) a été obtenu à pH 3. L'augmentation de la solubilisation est d'autant plus importante que le pH est acide. Ces résultats nous ont montré que le pH de la réaction d'hydrolyse a un effet significatif sur la solubilisation de la DCO.

Pour les boues brutes, le pourcentage de solubilisation est de l'ordre de 10,48%. Le traitement par H₂O₂ avec une dose de 1,8 g/l et à pH 3 améliore la solubilisation de la matière organique de 8,72 %.

2.2.3. Effet de la température d'incubation

Comme tous les peroxydes, le peroxyde d'hydrogène présente la possibilité de participer à des réactions radicalaires. S'il est activé, il entraîne la production d'entités oxydantes par rupture de la liaison peroxydique.

L'activation du peroxyde d'hydrogène peut être réalisée par l'utilisation d'une température relativement élevée ou à l'aide des catalyseurs minéraux. Pour cette partie du travail, l'activité du peroxyde d'hydrogène a été réalisée par la température. En effet, pour des raisons de faisabilité industrielle, nous avons considéré des températures inférieures à 120°C (Wang et al., 1997).

D'après ce qui se précède, le pourcentage de solubilisation augmente après 2 h d'agitation, et à une concentration en H₂O₂ de 1,8 g/l. Sous ces mêmes conditions, l'effet de la température (T° ambiante, 50°C et 105°C) a été étudié. L'effet du traitement thermo-oxydant est ainsi testé à une valeur de pH initial de 3 et 7.

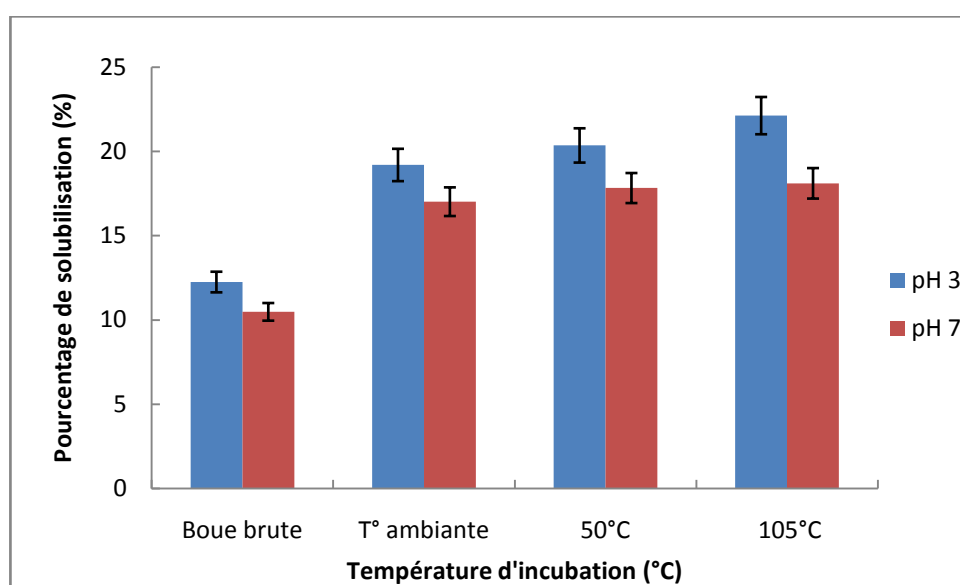


Figure 13: Effet de la température sur l'hydrolyse des boues par H₂O₂ (1,8 g/l) pendant 2 h et à pH 3 et 7.

La figure 13 présente le pourcentage de solubilisation de la DCO en fonction de la température d'incubation et le pH. L'augmentation du taux de solubilisation est d'autant plus importante que la température d'incubation soit élevée pour le traitement thermo-oxydant à pH 3. Pour cette condition, le taux de solubilisation atteint 20,36 et 22,13%, respectivement à une température de 50 et 105°C. Cependant, pour le traitement thermo-oxydant réalisé à pH 7, l'effet de la température n'est pas significatif. Ainsi, un pourcentage de solubilisation maximum de 18,11% a été obtenu. Cette valeur est presque proche de celle obtenue à

température ambiante. Celui-ci peut atteindre 22% lorsqu'on cumule l'effet du traitement thermique et celui de H_2O_2 à une concentration de 1,8 g/l. Cette valeur est considérée faible par rapport à celle trouvée par **Li et Noike (1992)**. Ces auteurs ont trouvé un pourcentage de solubilisation de l'ordre de 34% pendant 30 min à 120°C.

La mesure du pH après 2 h de traitement pour chaque expérience a été déterminée. La Figure 14 donne le pH final du milieu réactionnel sous 2 conditions de pH initial (pH 3 et 7).

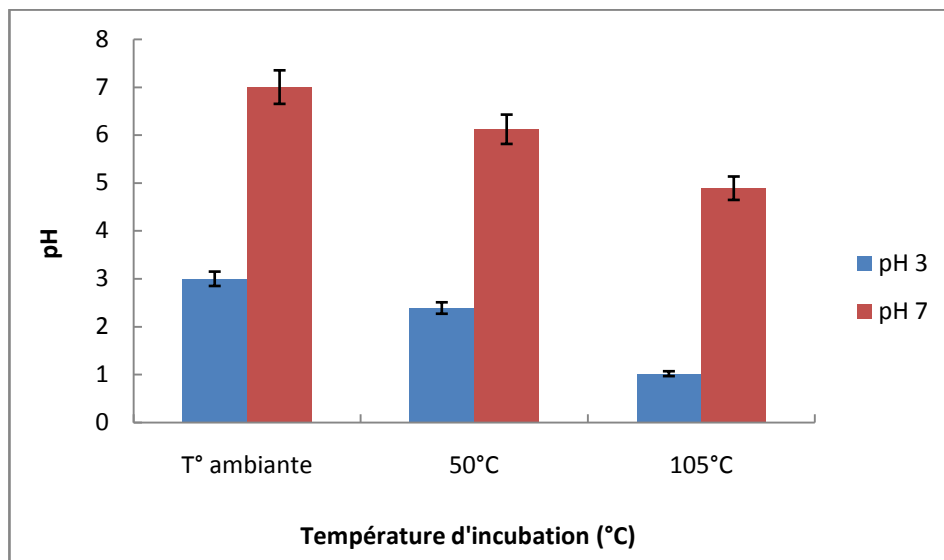


Figure 14: pH des boues après 2 h de traitement thermo-oxydatif par H_2O_2 à pH 3 et 7.

On note que plus la température est élevée plus le pH diminue. Ceci peut être expliqué par la lyse des cellules et à la libération des acides organiques qui sont responsables de l'acidification du milieu. Une corrélation linéaire entre la diminution du pH et le degré de solubilisation est ainsi constatée.

Nos premiers résultats concernant l'effet de H_2O_2 sur les boues nous amène à constater que l'ajout de peroxyde d'hydrogène à une température de 105°C et à pH 3, permet d'accroître sensiblement le taux de solubilisation de la matière organique d'une boue par rapport à un traitement oxydatif seul.

2.3. Traitement des boues par Electrolyse

Le traitement par électrolyse effectué dans ce travail, est basé sur le principe des anodes en fer solubles. Il s'agit d'imposer un courant entre 2 électrodes immergées dans un électrolyte contenu dans un réacteur pour générer, in situ, des ions (Fe^{2+} , Fe^{3+}) susceptibles de produire un coagulant en solution. Le champ électrique crée un mouvement d'ions et de particules chargées. Cette action permet de rassembler les matières en suspension sous forme de floes qu'on élimine ensuite. L'effet de ce champs électrique sur la désintégration des boues sera alors étudié dans cette partie. Pour se faire, on a varié les densités du courant (0,63; 1,25; 2,5 et 3,75 A/dm^2), le temps de la réaction et le pH du milieu réactionnel.

2.3.1. Effet de la variation du pH

Pour étudier l'influence du pH initial de la réaction d'électrolyse sur la solubilisation des boues, on a fixé la densité du courant à 0,63 A/dm^2 mais avec variation du temps de la réaction. Pour cela, deux séries d'expériences d'électrolyse ont été réalisées, la première à pH normal pH 7 et la deuxième à pH 3. Les résultats sont représentés sur la figure 15.

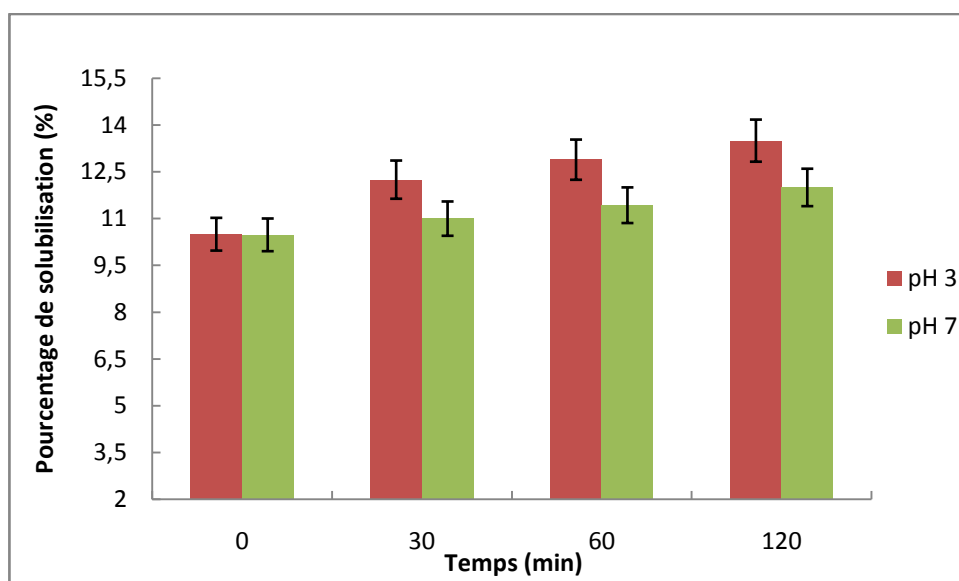


Figure 15: Effet du pH et du temps de traitement sur la solubilisation de la boue au cours de l'électrolyse à une densité du courant de 0,63 A/dm^2 .

Cette figure présente les pourcentages de solubilisation de la matière organique des boues par la réaction d'électrolyse. On note que ce pourcentage dans les boues brutes est

faible (10,48%). Alors, en appliquant ce procédé, le pourcentage augmente au cours du temps de traitement et atteint 13,5 et 12% après 2 heures de réaction à pH 3 et à pH 7, respectivement. D'après ces valeurs, l'ajustement du pH des boues vers une valeur proche de 3 est efficace pour la solubilisation des boues par la réaction d'électrolyse ($d= 0,63 \text{ A/dm}^2$). Pour la suite de ce traitement, nous allons travailler à pH 3 pendant 2 h de traitement.

2.3.2. Effet de la densité du courant sur la solubilisation de la matière organique des boues

L'étude de l'effet de la densité du courant sur la désintégration des boues de STEP a été réalisée en fixant le pH à 3. Le pH, la température et le pourcentage de solubilisation ont été suivis. Ainsi, nous avons testé les densités du courant suivantes : 0,63; 1,25; 2,5 et 3,75 A/dm^2 .

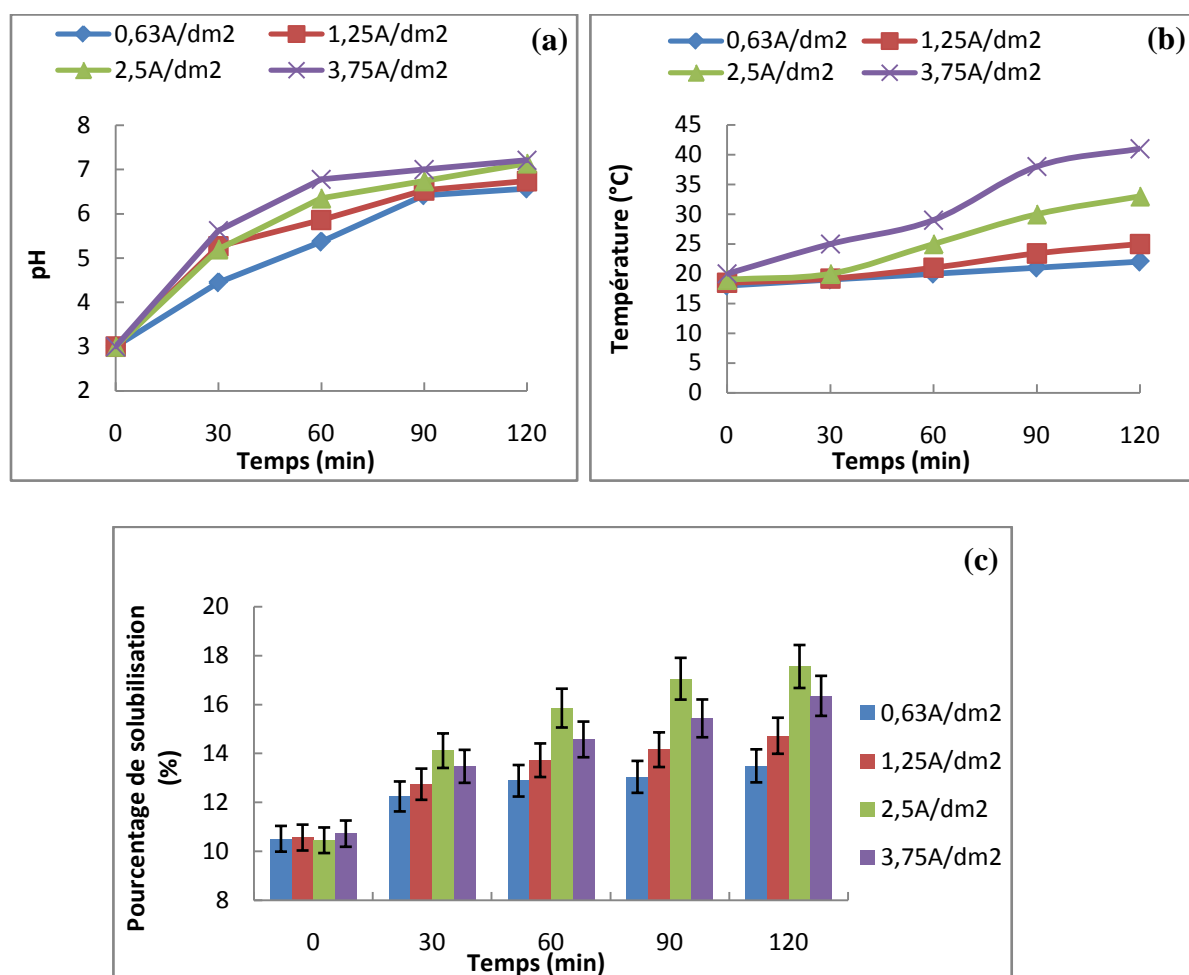


Figure 16: Effet de la densité du courant sur le pH (a), la température (b) et le pourcentage de solubilisation de la DCO au cours du traitement par électrolyse à pH 3.

La figure 16 (a) montre que pour tous les essais, le pH augmente rapidement au cours de la réaction et atteint après 2 heures des valeurs proches de la neutralité : 6,57; 6,74; 7,14; 7,21 pour des densités du courant respectivement égales à 0,63; 1,25; 2,5 et 3,75 A/dm². On note ici, que l'augmentation du pH est en fonction de la densité du courant appliquée. On observe aussi une augmentation de la température au cours du temps de traitement. Les valeurs les plus élevées de la température ont été observées dans le cas du traitement à 3,75 A/dm². Cette température a passé de 20 à 41°C. Donc, on peut conclure que l'augmentation de la température au sein du réacteur d'électrolyse est aussi en fonction de la densité du courant. La figure 16 (c) montre que pour toutes les essais, la solubilisation de la DCO augmente avec le temps de traitement. Ainsi, la densité du courant 2,5 A/dm² permet d'obtenir une meilleure solubilisation de la boue qui est de l'ordre de 17,56 %. Cette valeur est proche à celle obtenue dans le cas du traitement par H₂O₂ après 2 h de traitement (19,2%). Pour augmenter la solubilisation de la matière organique, on a proposé de combiner l'oxydation par H₂O₂ avec l'électrolyse par des plaques en fer. Cette méthode est connue par la réaction d'électro-Fenton.

2.4. Traitement des boues par Electro-Fenton

De nombreux travaux ont été publiés concernant la décomposition catalytique du peroxyde d'hydrogène. Ces travaux montrent qu'il ya beaucoup d'éléments pouvant catalyser cette décomposition. Toutefois, le couple H₂O₂/Fe²⁺ est le plus utilisé. Ainsi, le fer peut être généré dans le milieu réactionnel par la méthode électrolytique (Gu et al., 2017). Dans ce cas on parle de la réaction d'électro-Fenton. L'effet de cette réaction sur la solubilisation de la matière organique des boues de STEP a été étudié dans ce travail. Ainsi, différents paramètres interviennent sur la réaction d'électro-Fenton, notamment le pH, la densité du courant, la concentration en H₂O₂ et le temps de traitement.

2.4.1. Effet de la variation du pH

Pour étudier l'influence du pH initial du milieu réactionnel sur la solubilisation des boues à prétraiter, on a fixé la densité du courant à 0,63 A/dm² et la concentration en H₂O₂ à 1,8 g/l. Pour cela, deux séries d'expériences d'électro-Fenton ont été réalisées, la première à

pH initial de la boue (pH 7) et la deuxième à pH 3. Les résultats sont représentés sur la figure 17.

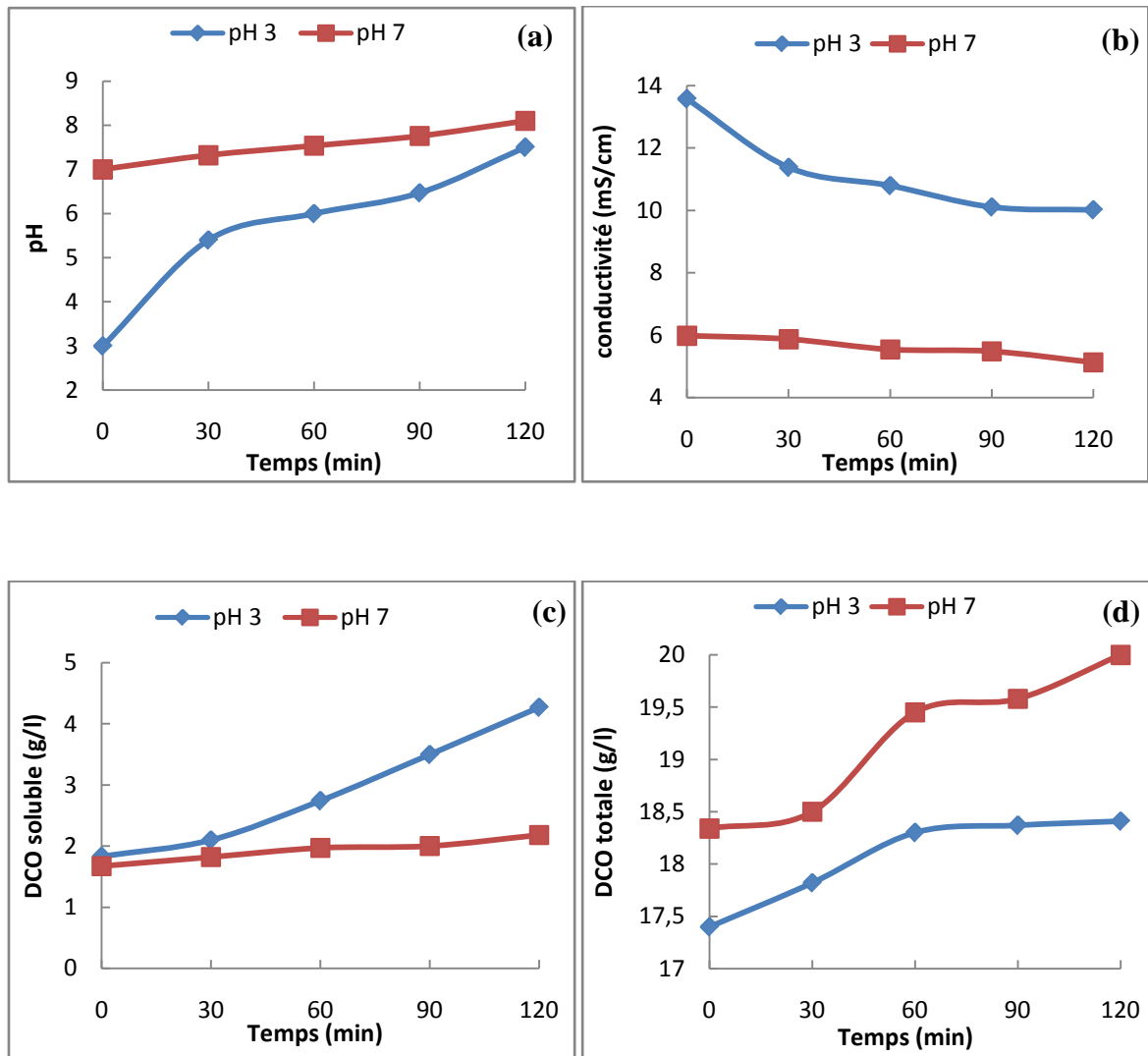


Figure 17: Effet du pH initial du milieu réactionnel sur le pH (a), la conductivité (b), la DCO soluble (c) et la DCO totale (d) de la boue au cours du prétraitement par électro-Fenton à une densité du courant de $0,63 \text{ A/dm}^2$ et en présence de $1,8 \text{ g/l}$ de H_2O_2 .

La figure 17 (a) montre que pour les deux essais, le pH de la boue a augmenté au cours du temps. Pour l'essai de pH 3, le pH a augmenté rapidement pour atteindre une valeur de 7,5 après 2 h de traitement, alors que pour l'autre essai de pH 7, le pH atteint une valeur de 8,1 à la fin de la réaction. Cette augmentation du pH est nécessairement due aux radicaux hydroxyles générés par les réactions électrochimiques et à la baisse de la production de H^+

(Israilides et al., 1997). Aussi, on a déterminé la conductivité et on a remarqué que ce paramètre est presque constant dans le cas du pH 7 alors qu'il diminue dans le cas de traitement à pH 3. Durant ce dernier cas, la conductivité a passé de 13,58 à 10 mS/cm à la fin de la réaction.

Pour évaluer l'effet de la réaction d'électro-Fenton sur la solubilisation de la matière organique de boue, nous avons déterminé la DCO totale et soluble des échantillons avant et après traitement. Les résultats de la DCO totale et soluble sont présentés dans les figures 17 c et d. La DCO totale initiale est de l'ordre 18 g/l et est majoritairement composée de matière particulaire étant donné que la DCO soluble est de l'ordre de 1,7 g/l. Ceci montre bien qu'il s'agit d'une boue épaisse. D'après la figure 17 (c), pour les deux essais, la DCO soluble augmente au cours du temps. Aussi, la solubilisation de la DCO est plus rapide et importante dans le cas du pH 3 que celle à pH 7. Après 2 heures de traitement, la DCO soluble atteint 4,27 g/l dans le cas de pH 3 soit le double de celle atteinte par l'expérience à pH 7 (2,18 g/l). Donc d'après ces résultats, l'électro-Fenton a un effet sur la solubilisation de la matière organique.

Pour confirmer la solubilisation de la boue par électro-Fenton, nous avons calculé le pourcentage de solubilisation de la boue tout en se référant à la DCO totale finale de chaque essai.

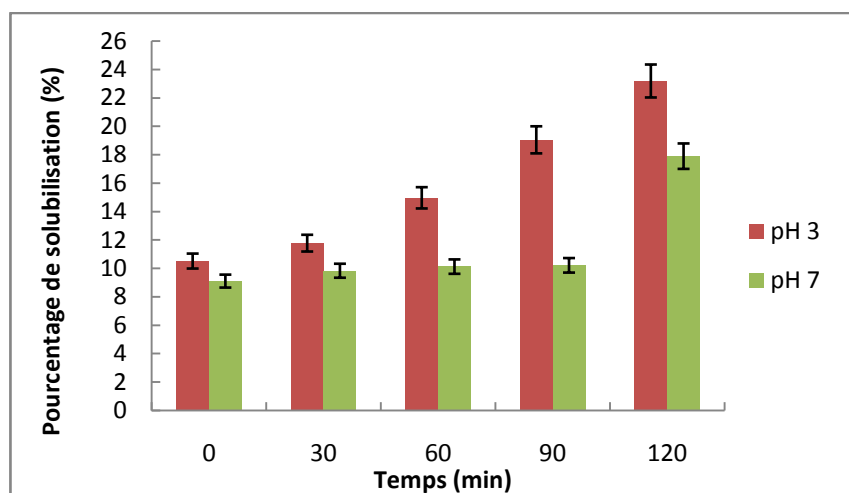


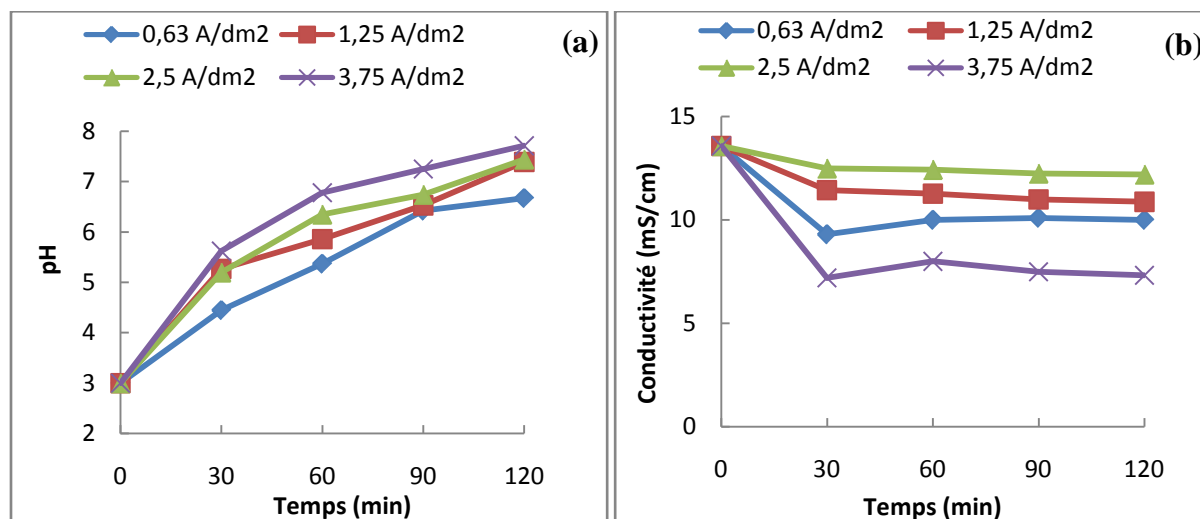
Figure 18: Influence du pH sur le pourcentage de solubilisation de la boue au cours d'un traitement par électro-Fenton.

La figure 18 présente les pourcentages de solubilisation de la matière organique des boues par la réaction d'électro-Fenton. On note que ce pourcentage est faible (10,48%). Alors, en appliquant ce procédé, le pourcentage augmente au cours du temps de traitement et atteint 23,19 et 17,9% après 2 heures de réaction à pH 3 et à pH 7, respectivement. D'après ces valeurs, l'ajustement du pH des boues vers une valeur proche de 3 est efficace pour la solubilisation des boues par la réaction d'électro-Fenton ($d = 0,63 \text{ A/dm}^2$; $\text{H}_2\text{O}_2 = 1,8 \text{ g/l}$). Ces résultats ont confirmé les travaux de **Lucas et al. (2009)** qui ont montré que le pH optimum pour la réaction d'électro-Fenton est entre 3 et 4.

Pour la suite des expériences, nous allons travailler avec un pH 3 afin d'étudier l'effet de la densité du courant et de la concentration en H_2O_2 sur la solubilisation des boues de STEP.

2.4.2. Effet de la densité du courant

La densité du courant est un paramètre important dans le processus de traitement d'EF, qui influence principalement à la formation des ions Fe^{2+} . D'après la loi de Faraday, la quantité de Fe^{2+} dissous est essentiellement en fonction de l'intensité du courant électrique appliquée aux électrodes et du temps de l'électrolyse. De ce fait, l'étude de l'influence de la dose de Fe^{2+} ou de l'intensité du courant sur la solubilisation de la DCO au cours du traitement des boues par EF revient à la même chose. Pour examiner l'effet de ce paramètre, des expériences à différentes densités du courant ont été réalisées (0,63 ; 1,25 ; 2,5 ; 3,75 A/dm^2) tout en fixant le pH à 3 et la concentration en H_2O_2 à 1,8 g/l. Le pH, la conductivité et la DCO soluble et totale ont été suivies.



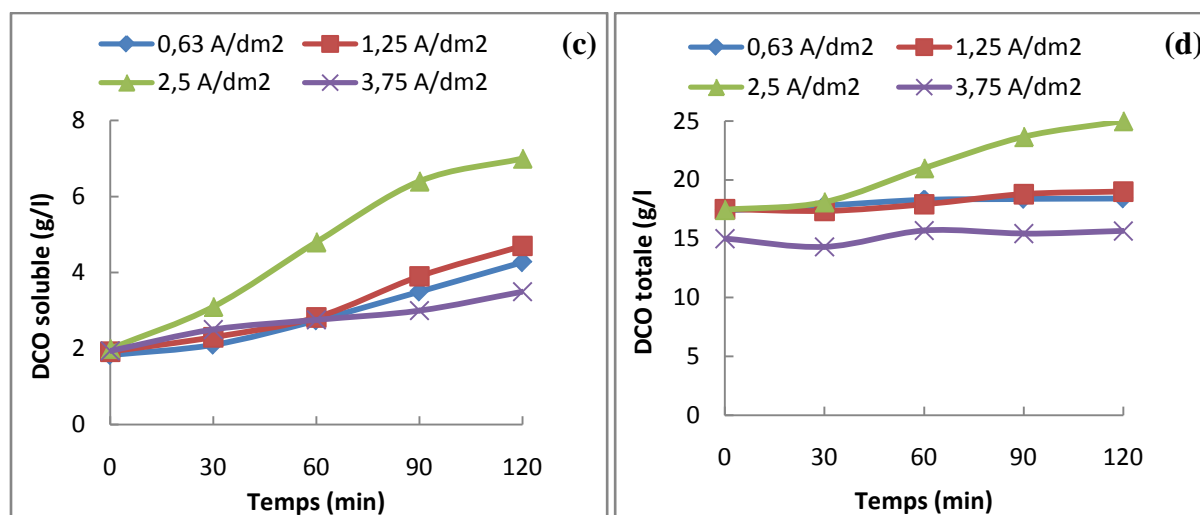


Figure 19 : Effet de la variation de la densité du courant sur le pH (a), la conductivité (b), et la DCO soluble (c) et totale (d) au cours de la réaction d'électro-Fenton à pH 3 et avec une concentration en H₂O₂ de 1,8 g/l.

La figure 19 (a) montre que pour tous les essais, le pH augmente rapidement au cours de la réaction et atteint après 2 heures des valeurs proches de la neutralité 6,67; 7,39; 7,44; 7,71 pour des densités de courant respectivement égales à 0,63; 1,25; 2,5 et 3,75 A/dm². Ces valeurs sont favorables pour un post-traitement biologique des boues prétraitées à savoir la digestion anaérobie. Donc, l'augmentation du pH est en fonction de la densité du courant appliquée. Par contre, la conductivité diminue progressivement au cours du temps de traitement. Cette diminution est en fonction de la densité du courant. Le maximum de diminution de la conductivité a été observé dans le cas du traitement à 3,75 A/dm². Elle passe de 13,58 à 7,1 mS/cm après 30 min de traitement. Ces résultats prouvent que la densité du courant a un effet sur la conductivité des boues. Cette diminution est probablement due à la précipitation des sels minéraux par les hydroxydes de fer (Roques, 1990).

Pour la température, les résultats ont été comparable à ceux trouvés dans le cas de traitement par électrolyse. Aussi, nous avons déterminé l'évolution de la DCO soluble. Celle-ci est influencée par la densité du courant appliquée. En effet, elle atteint après 2 heures de prétraitement 4,27; 4,7; 7; 3,5 g/l pour des densités de courant égales à 0,63; 1,25; 2,5 et 3,75 A/dm², respectivement. On remarque que la densité 2,5 A/dm² permet d'avoir une meilleure solubilisation de la matière organique. Les valeurs de la DCO totale présentées dans la figure

19 (d) montrent aussi une légère augmentation qui peut être expliquée par l'évaporation au sein du réacteur d'électrolyse.

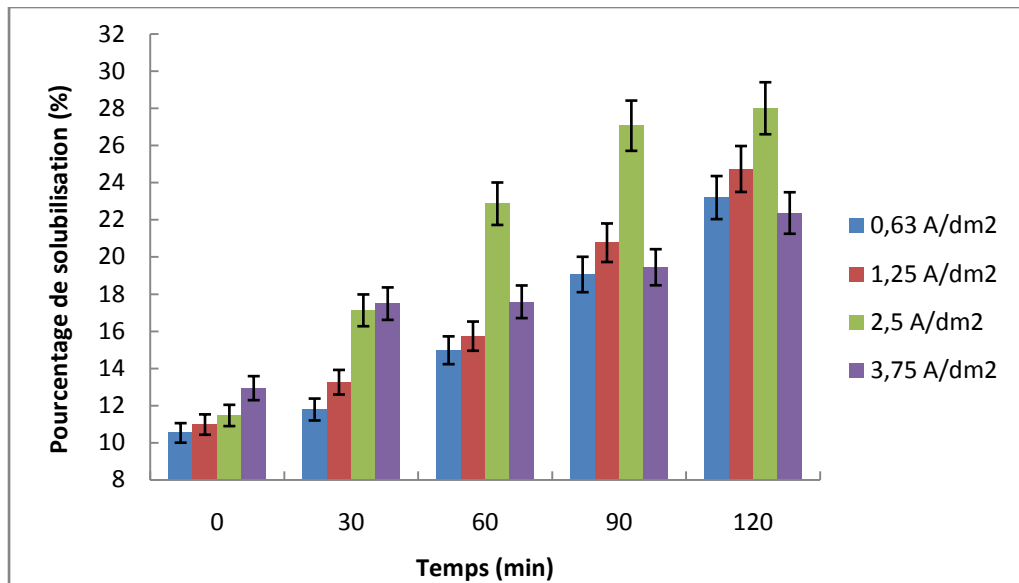


Figure 20: Effet de la densité de courant sur la solubilisation des boues au cours du traitement par électro-Fenton.

La figure 20 montre que les meilleurs taux de solubilisation obtenus pour chaque densité de courant sont après 2 heures de traitement. Ainsi, la densité de courant 2,5 A/dm² permet d'obtenir une meilleure solubilisation de la boue qui est de l'ordre de 28% contre 10,48% dans les boues brutes.

2.4.3. Effet de la concentration en H₂O₂

Pour étudier l'effet de la concentration en H₂O₂ sur la réaction d'électro-Fenton, on a fixé le pH à 3 et la densité de courant à 2,5 A/dm². Les résultats de suivi de l'évolution de la DCO soluble et totale en fonction de la concentration en H₂O₂ sont représentés sur la figure 21.

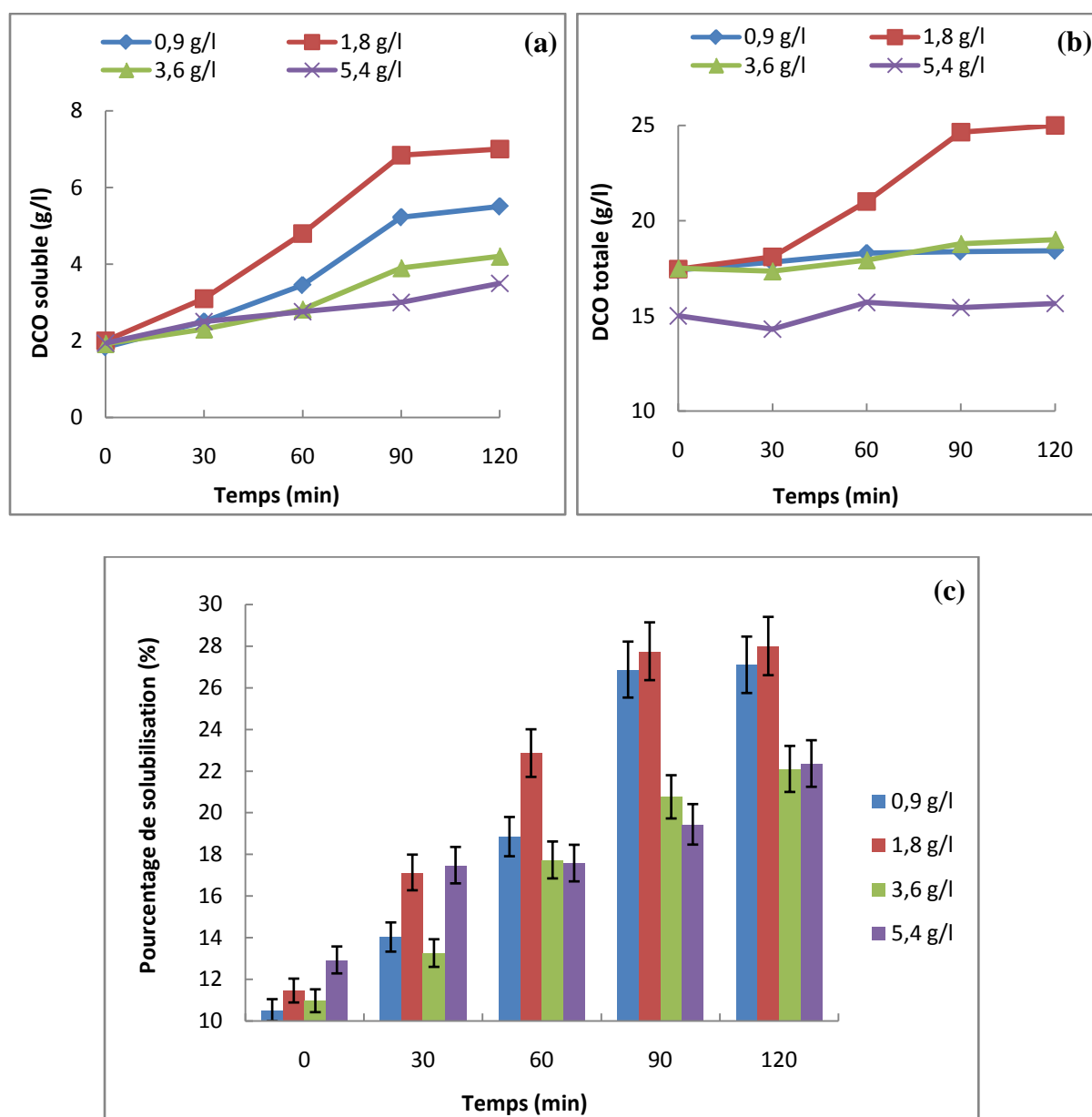


Figure 21: Influence de la concentration en H_2O_2 sur la DCO soluble (a), la DCO totale (b) et le pourcentage de solubilisation des boues de STEP au cours de la réaction d'électro-Fenton à pH 3 et à une densité du courant de $2,5 \text{ A/dm}^2$.

La figure 21 (a) présente l'évolution de la DCO soluble. La DCO soluble initiale des boues brutes est de l'ordre $1,94 \text{ g/l}$. Après 2 h de traitement, celle-ci atteint $5,5$; 7 ; $4,2$ et $3,5 \text{ g/l}$ en présence de $0,9$; $1,8$; $3,6$ et $5,4 \text{ g/l}$ H_2O_2 , respectivement. D'après ces résultats, l'expérience avec une concentration en H_2O_2 de $1,8 \text{ g/l}$ présente la DCO soluble la plus élevée. La DCO totale n'a pas montré une grande variation pendant la 1^{ère} heure de la réaction

ce qui montre bien que l'effet de ce procédé est essentiellement visé à la solubilisation et pas à l'oxydation complète de la matière organique.

La figure 21 (c) montre que l'essai avec 1,8 g/l de H₂O₂ donne le meilleur résultat de solubilisation de la boue (28%) en comparaison avec les autres essais. Donc, d'après l'ensemble de ces résultats, une densité de courant de 2,5 A/dm², une dose de 1,8 g/l de H₂O₂, un pH initial de 3 et un temps de traitement de 2 heures sont les meilleures conditions pour une solubilisation maximale des boues par la méthode d'électro-Fenton.

2.4.4. Effet du pourcentage de la matière sèche initiale

La teneur en matière sèche des boues a une influence capitale sur le coût du traitement des boues. Une teneur en matière sèche élevée permet la baisse du volume et de la quantité des boues à traiter, engendrant un gain d'énergie électrique et du produit oxydant.

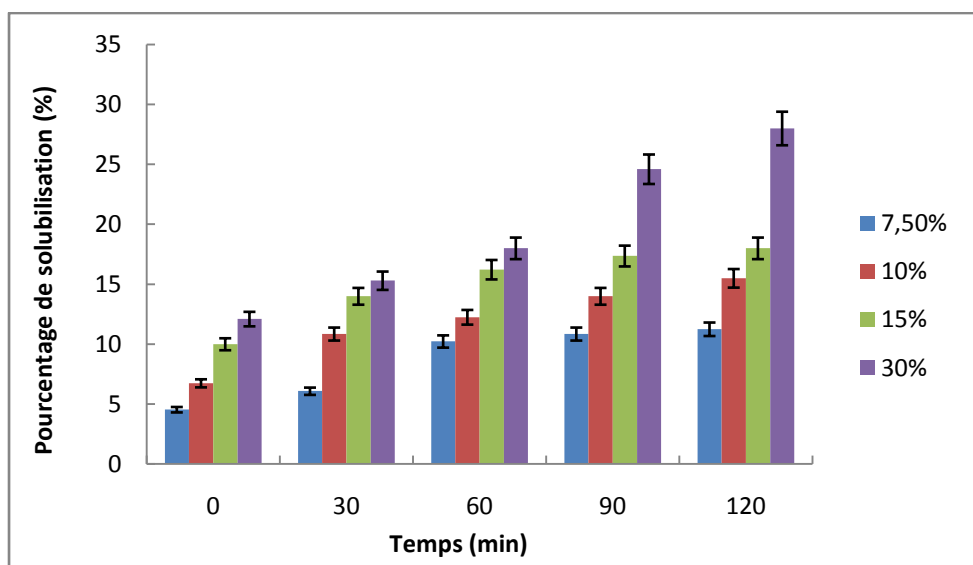


Figure 22: Effet de la concentration initiale en matière sèche sur la solubilisation des boues au cours d'un traitement par électro-Fenton.

Pour étudier l'effet de la concentration initiale en matière sèche (% MS) sur la désintégration des boues au cours de l'électro-Fenton, on a effectué une série de dilution exprimée en pourcentage de matière sèche (7,5; 10; 15 et 30%) tout en gardant les mêmes paramètres précédentes (pH 3; 1,8 g/l H₂O₂; 2,5 A/dm²). On note que les boues de STEP utilisées dans ce travail sont initialement de concentration 30% de matière sèche.

La figure 22 montre que pour toutes les dilutions, les pourcentages de solubilisation augmentent en fonction du temps de traitement. Le pourcentage de solubilisation le plus important (28%) a été obtenu pour l'essai contenant une concentration en matière sèche de 30%. Ici, on remarque que plus l'échantillon est concentré en matière sèche plus la solubilisation est importante.

On peut conclure que le meilleur pourcentage de solubilisation est de l'ordre de 28% obtenu après 2 heures de traitement par électro-Fenton des boues de STEP ayant une concentration en matière sèche de l'ordre 30%.

D'après ce qui précède, les conditions optimales pour le traitement des boues par Electro-Fenton sont : pH 3, une concentration en H_2O_2 égale à 1,8 g/l, une densité de courant de 2,5 A/dm² et un temps de traitement de 2 heures.

2.4.5. Influence de la température

- *Effet du préchauffage sur la solubilisation de la DCO par EF*

La température est un facteur important sur la désintégration des boues activées. Pour cela, on a réalisé un préchauffage des boues pendant 30 min en appliquant différentes températures (T° ambiante, 50, 80, 105°C) avant le traitement EF. On note que le pH initial des boues, qui était de l'ordre de 6,95 augmente légèrement après traitement thermique (Figure 23).

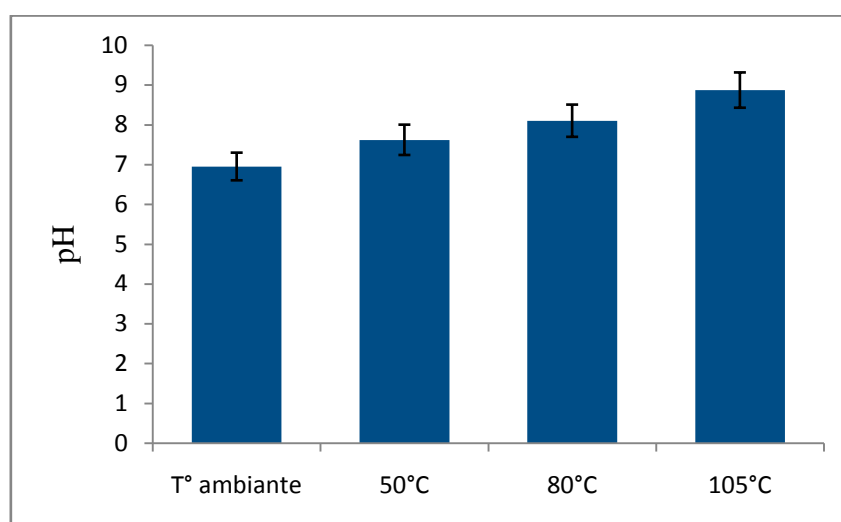


Figure 23 : Effet du préchauffage sur la variation du pH des boues activées brutes.

L'augmentation du pH est d'autant plus importante que la température du prétraitement thermique est élevée. L'auteur **Murillo. (2004)** explique que cette augmentation de pH pourrait en partie être due à une volatilisation de composé acide ou de CO₂ dissous. Alors que **Morgan et al. (1990)** ont expliqué cette augmentation par la désorption des protéines qui présentent des groupes carboxyles.

Ainsi, pour les expériences d'EF on a fixé les paramètres suivants : pH à 3, la densité du courant à 2,5 A/dm², temps de la réaction à 2 heures et la distance entre les électrodes à 3 cm. Les résultats de la solubilisation de la DCO sont représentés sur la figure 24.

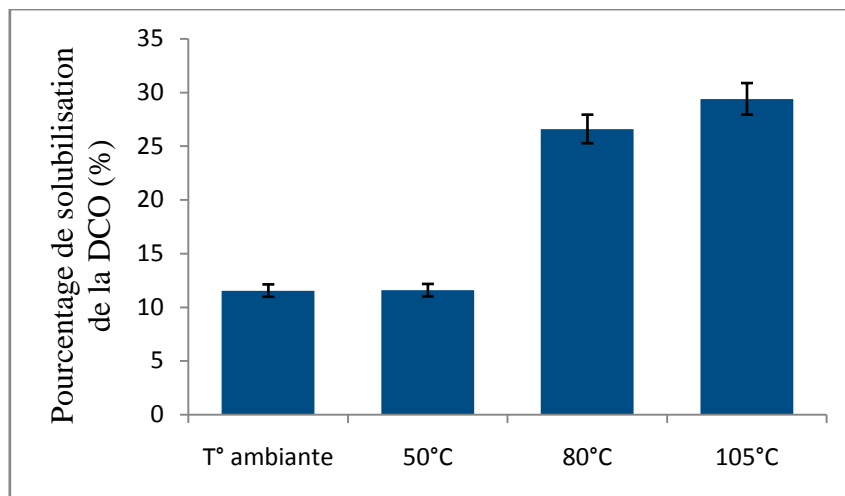


Figure 24 : Effet du préchauffage sur la solubilisation de la matière organique des boues activées traitées par EF (DC= 2,5 A/dm², pH= 3, MS= 13,6 g/l et d= 3cm).

D'après cette figure le préchauffage a un effet important sur la solubilisation de la MO. On remarque que plus la température d'incubation est élevée plus le pourcentage de solubilisation est important.

A température ambiante le pourcentage de solubilisation est de l'ordre de 11,55%. Le même résultat a été obtenu à 50°C. Ce paramètre augmente vers 26,6 et 29,4% en traitant les boues à une température de 80°C et 105°C, respectivement. D'après ces résultats, la température optimale de préchauffage est de 105°C. Ce pourcentage de solubilisation reste faible par rapport à celui trouvé par **Hammadi et al. (2008)** qui était de l'ordre de 59,68% en effectuant une agitation pendant une heure.

- *Effet de la température au cours de la réaction EF*

L'effet de la température au cours de la réaction d'EF a été étudié en utilisant un réacteur à double paroi. Trois conditions ont été étudiées : température ambiante (25°C), 30°C et 50°C tout en fixant les paramètres suivants (DC= 2,5 A/dm², pH= 3, MS= 13,62 g/l et d= 3 cm). Les résultats sont représentés sur la figure 25.

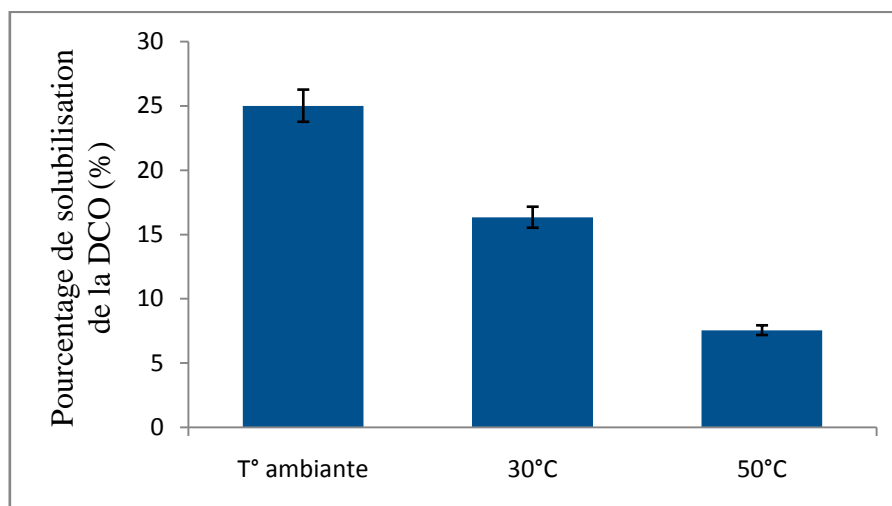


Figure 25 : Effet de la température au cours de la réaction d'EF sur la solubilisation de la matière organique des boues activées (DC= 2 A/dm², pH= 3, MS= 13,62 g/l et d= 3 cm).

La figure (25) montre que la température au cours de la réaction d'EF a un effet négatif sur le phénomène de solubilisation de la MO. En effet, en appliquant une température de 30°C et 50°C, des pourcentages de solubilisation de 16,3 et 8,8% ont été obtenus. L'analyse de la DCO totale a montré que la température au cours de la réaction a favorisé encore la minéralisation de la MO et par conséquent une diminution du pourcentage de solubilisation.

3. Comparaison entre les différentes méthodes de désintégration

Afin de comparer les différentes techniques d'hydrolyse étudiées dans ce travail, on a effectué d'autres séries d'hydrolyse sur une même boue. La figure (26) présente les pourcentages de solubilisation de la matière organique obtenus après prétraitement des boues brutes par les méthodes de désintégration optimisées précédemment : l'oxydation et thermooxydation par H₂O₂, la thermo-alcaline, l'électrolyse et l'électro-Fenton.

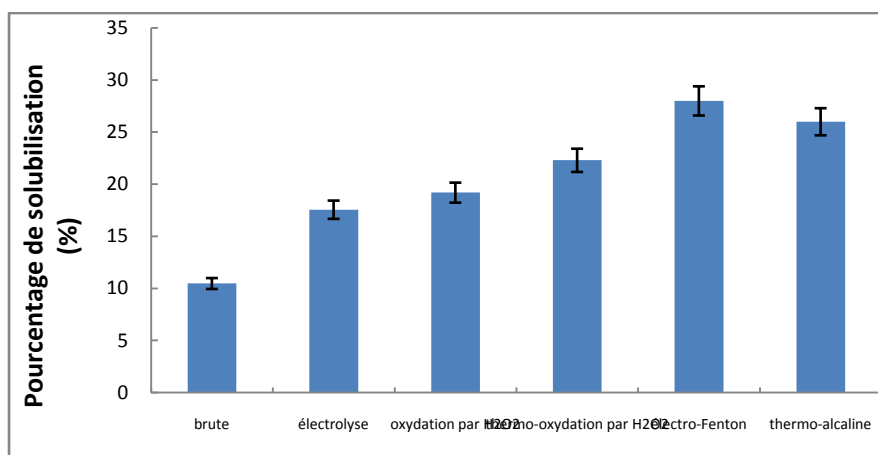


Figure 26: Pourcentages de solubilisation des boues de STEP suite à un prétraitement par différentes méthodes.

Comme le présente la figure (26), les pourcentages de solubilisation de la matière organique est variable selon la technique utilisée. En effet, le pourcentage de solubilisation de la matière organique dans les boues brutes est de 10,48%. Ce pourcentage atteint: 17,56; 19,2; 22,13; 26 et 28%, respectivement après traitement par électrolyse, oxydation par H₂O₂, thermooxydation par H₂O₂, hydrolyse thermo-alcaline et par la méthode électro-Fenton. Le tableau 7 représente les différents conditions opératoires utilisées et les pourcentages de solubilisation obtenus lors des différentes méthodes de désintégration appliquées à la boue brute.

Tableau 7 : Comparaison des différentes techniques d'hydrolyse effectuées sur la boue brute et leurs conditions opératoires.

Méthode de désintégration	Conditions opératoires	pH de la boue prétraitée	% Solubilisation
Boue brute	-	7	10,48
Electrolyse	pH 3 (Hcl) D= 2,5 A/dm ² 2h	7,14	17,56
Oxydation par H ₂ O ₂	pH 3 (Hcl) 1,8 g/l H ₂ O ₂ 2h	2,46	19,2

Thermo-oxydation par H₂O₂	pH 3 (Hcl) 1,8 g/l H ₂ O ₂ T° 105°C 2h	1,02	22
Thermo-alkaline	pH 10 (3,74 g/l NaOH) T° 105°C 24 h agitation 2h	9,7	26
Electro-Fenton	pH 3 (Hcl) 1,8 g/l H ₂ O ₂ D= 2,5 A/dm ² 2h	7,63	28

D'après ces résultats, les prétraitements électro-Fenton et thermo-alkalin sont les meilleurs méthodes en terme de solubilisation de la matière organique. Pour cela, on a proposé de faire d'autres analyses sur la composition chimique et microbiologique des boues prétraitées par ces 2 méthodes.

3.1. Analyse des protéines et des polysaccharides

Les protéines sont les composés majoritaires des boues qui présentent environ 50% de la matière organique (**Li et Noike, 1992**). En effet, la majorité des protéines sont protégées de l'hydrolyse enzymatique par les parois cellulaires (composés intra-cellulaire), mais il existe aussi une fraction non négligeables de protéines dans les exopolymères. En effet, les traitements électro-Fenton et thermo-alkalin peuvent avoir un effet sur la dégradation des EPS et les parois bactériennes. Pour cela, on a déterminé la concentration des protéines présente dans les boues brutes et les boues prétraitées par ces deux traitements.

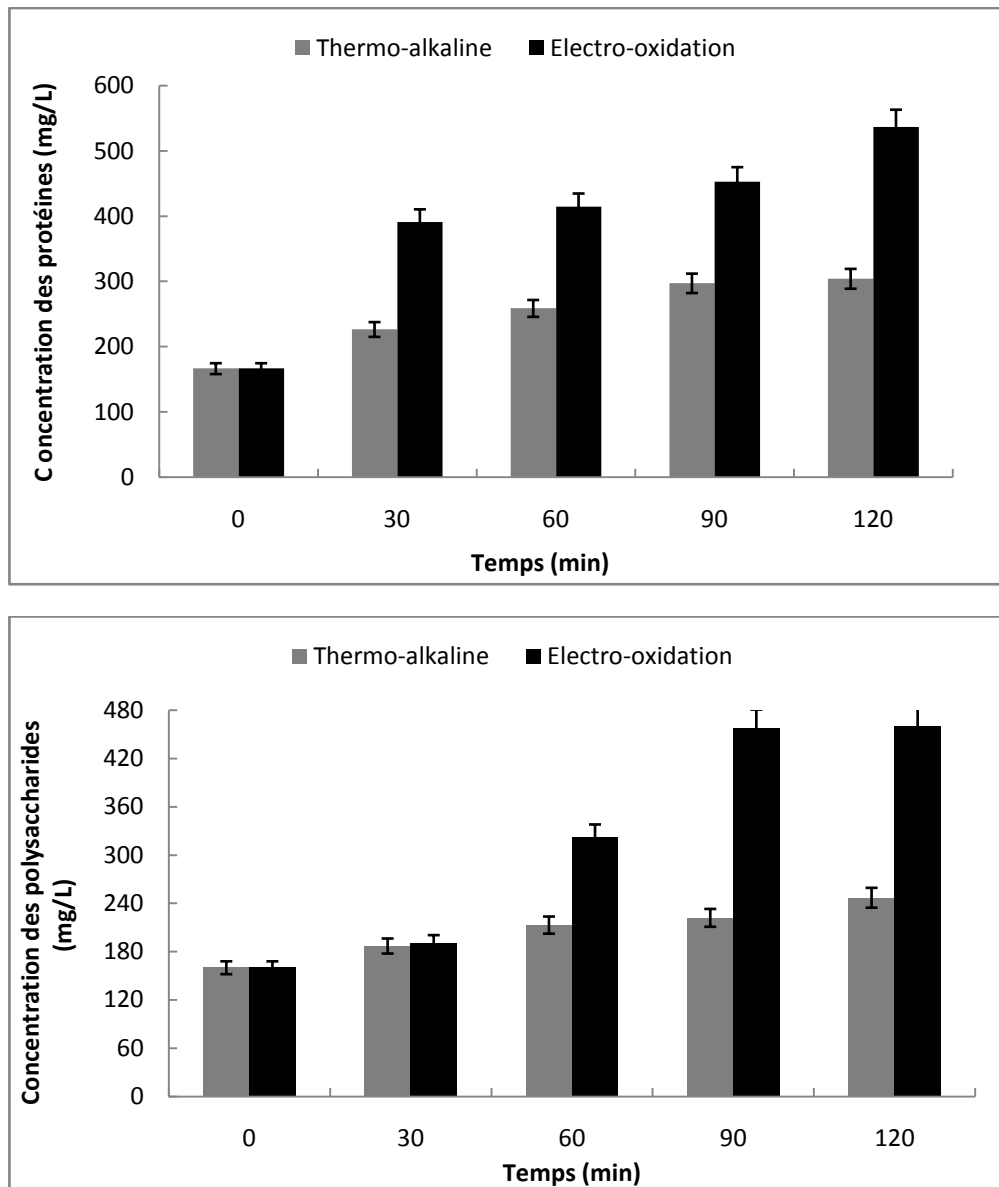


Figure 27: Evolution de la concentration des protéines et des polysaccharides en fonction du temps de traitement par EF et TA.

Les substances polymères extracellulaires (EPS) sont des polymères de haut poids moléculaire qui jouent un rôle important dans la stabilité des flocons, la taille du flocon, la biofloculation et la solidité des boues. Les EPS sont considérés comme des influences désavantageuses sur la décantation des boues (Li et al., 2013). Ils sont composés de protéines (PN) et de polysaccharides (PS), et la solubilisation de PN et de PS reflète le degré de désintégration des boues (Chen et al., 2017). Les effets des deux prétraitements thermo-alkaline et électro-Fenton sur la solubilisation PN et PS sont présentés sur la Figure 27.

Les résultats montrent que la concentration de protéines dans la fraction soluble a augmenté avec l'augmentation du temps de traitement par les deux méthodes. En fait, la

concentration des protéines dans les boues brutes est faible (166,62 mg/L) par rapport aux prétraités. Les concentrations ont augmenté pour atteindre des valeurs de 304,31 et 536,62 mg/L après 2 heures de traitement thermo-alkalin et électro-Fenton, respectivement. Pour les polysaccharides, leur concentration augmente de 160 à 247 mg/L après 2 h de traitement par hydrolyse thermo-alkaline. Par contre dans le cas de l'électro-Fenton, une concentration de 460 mg/L a été obtenue. Par conséquent, on peut noter que l'augmentation de la DCO soluble est due à la solubilisation des protéines et des EPS. Cette augmentation de la concentration de ces substances dans les boues prétraitées pourrait être due à la lyse cellulaire et/ou à la solubilisation des EPS. La solubilisation des protéines et des polysaccharides les rend plus accessibles aux microorganismes dans un post-traitement biologique. En effet, **Yuan et al. (2011)** ont montré qu'après désintégration des boues par électrolyse (anode en Ti/RuO₂), les EPS et les substances cellulaires sont libérées dans la phase aqueuse et qui entraînent l'augmentation de la concentration de protéines et de polysaccharides. Ces auteurs ont obtenu une concentration maximale de protéines de l'ordre 240 mg/l après 45 min de traitement par électrolyse avec une concentration initiale dans les boues non traitées de 33,93 mg/l.

On note que les concentrations de PN soluble et de PS pendant le prétraitement EF sont meilleures que celles obtenues par la méthode thermo-alkaline. Cela montre que l'EF a une affinité sur la solubilisation des PN et PS. Cela peut être dû aux radicaux libres générés qui sont plus puissants pour solubiliser les EPS (**Torres et al., 2007; Wang et al., 2008**).

3.2. Analyses microbiologiques et parasitologiques

Les analyses menés sur les fractions organiques solubles et particulières des boues au cours de l'hydrolyse par TA et EF nous ont permis de mettre en évidence une évolution de la répartition de la matière organique. Ainsi, le pourcentage de solubilisation de la DCO a montré une augmentation en fonction du temps de prétraitement utilisé. Or, la matière organique solubilisée suite à un traitement peut être de nature intracellulaire ou extracellulaire. La seule détermination de la concentration en DCO, ou en protéines, de la fraction soluble, est insuffisante pour mettre en évidence une lyse des microorganismes.

Ainsi, peu d'études ont été réalisées sur les effets de la désintégration sur la flore microbienne des boues. Pour cette raison, nous avons focalisé sur l'analyse microbiologique des boues désintégrées afin de comprendre le phénomène de l'hydrolyse et de qualifier hygiéniquement les boues prétraitées.

Le tableau ci dessous comporte les caractéristiques microbiologiques et parasitologiques des boues activées utilisées pour l'étude de l'effet de l'hydrolyse thermo-alcaline et l'électro-Fenton sur ces caractéristiques.

Tableau 8 : Caractéristiques microbiologiques et parasitologiques des boues de STEP

Paramètres	Boue brute
Coliformes totaux (UFC/100 ml)	37.10 ⁵
Pseudomonas (UFC/100 ml)	14.10 ³
Présence de Salmonelles	++++
Œufs d'helminthes (œufs/L)	331250
Kystes des protozoaires (kystes/L)	596250

Comme analyse microbiologique, nous avons effectué la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et des *Pseudomonas*. Pour les salmonelles, on a vérifié leur présence dans les boues brutes et prétraitées.

Les coliformes totaux synonymes de contamination fécale, sont communément utilisés pour contrôler la qualité relative d'une eau car cette flore entérique normale est souvent accompagnée d'organismes pathogènes. Pour les *Pseudomonas*, nous avons choisi à déterminer la densité de *Pseudomonas aeruginosa*. Ce paramètre est en effet utilisé comme critère dans le Règlement sur la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels. Dans les boues brutes analysées, les coliformes totaux et les *Pseudomonas* sont présentes avec des densités relativement importantes (Tableau 8). Ces densités sont dues essentiellement à la concentration de ces germes dans les boues sédimentées suite à une décantation des eaux usées traitées par boue activée.

Les résultats de l'analyse parasitologique réalisée sur les boues brutes sont mentionnés dans le tableau 8. Ainsi, des densités très élevées ont été notées, 331250 œufs/l pour les œufs d'helminthes et 596250 kystes/l pour les kystes de protozoaires.

Du point de vue risque pour la santé, ces boues issues des stations d'épuration des eaux usées chargées de matière organique et de pathogènes ne peuvent pas être utilisées pour la fertilisation des sols après déshydratation. Pour cela un traitement physico-chimique et/ou biologique est nécessaire pour stabiliser et hygiéniser les boues de STEP a fin d'augmenter leur valeur agronomique.

3.2.1. Effet de la désintégration sur la qualité microbiologique

Les analyses microbiologiques des boues activées brutes ont montré la présence de coliformes et de *Pseudomonas* avec des densités très élevées de l'ordre 37.10^5 UFC/100 ml et 14.10^3 UFC/100 ml, respectivement. La figure 28 donne les analyses microbiologiques des boues avant et après désintégration. Une diminution importante de ces indicateurs de contamination après prétraitement des boues a été notée. La densité des coliformes totaux a passé de 37.10^5 à 17.10^2 et 21.10^3 UFC/100 ml respectivement après hydrolyse TA et EF.

D'après ces résultats, on peut noter que les deux méthodes ont permis l'élimination de coliformes de 3,54 U log et 2,43 U log, respectivement. Alors pour les *Pseudomonas*, une réduction de l'ordre 1 U log a été observée pour les deux prétraitements. Ces résultats confirment bien la lyse cellulaire des microorganismes par traitement TA et EF.

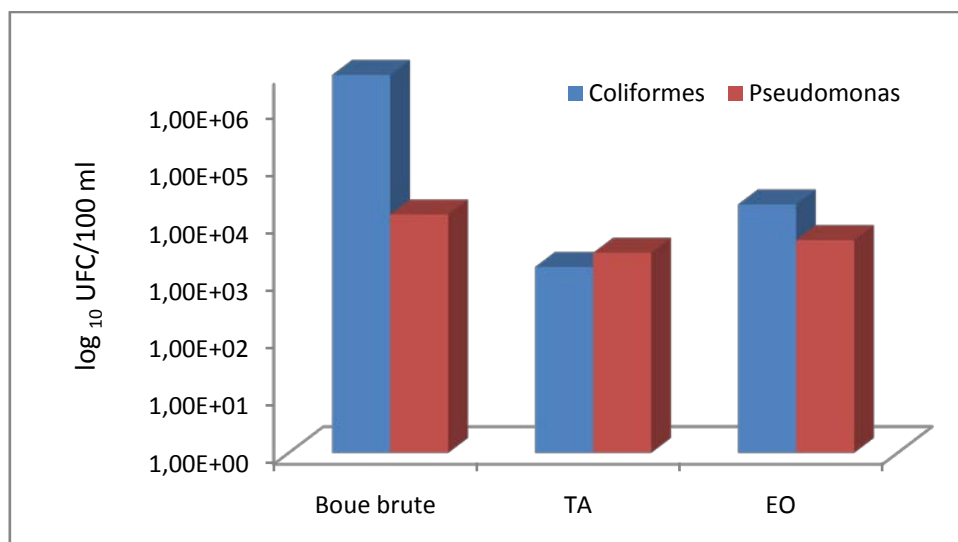


Figure 28 : Coliformes totaux et *Pseudomonas* dénombrés avant et après désintégration des boues par la méthode TA et EF.

3.2.2. Effet de la désintégration sur la qualité parasitologique

L'analyse parasitologique réalisée sur les échantillons de boues prétraitées consiste à la recherche et au dénombrement des œufs d'helminthes et des kystes de protozoaires.

3.2.2.1. Œufs d'helminthes

La densité des œufs d'helminthes dans la boue brute est de l'ordre de 331250 œufs/l. Après prétraitement par TA et EF, cette valeur a diminué jusqu'à 259200 et 102600 œufs/l, respectivement (Fig. 29).

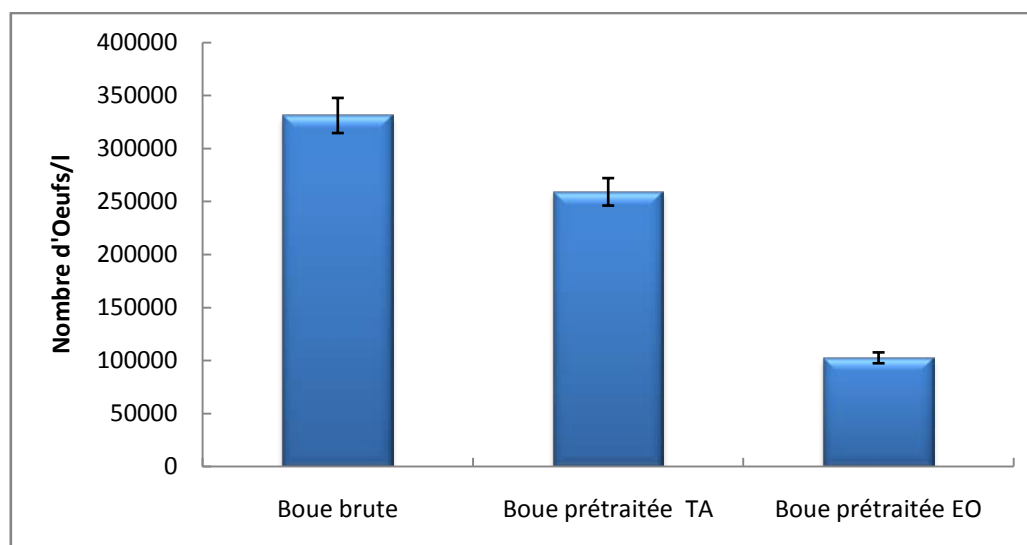


Figure 29 : Œufs d'helminthes dénombrés avant et après prétraitement des boues par TA et EF.

3.2.2.2. Kystes de protozoaires

Les kystes de protozoaires sont présents dans la boue brute avec une densité importante de 596250 kystes/l. L'hydrolyse TA a permis la diminution de cette densité vers une valeur de l'ordre 259200 kystes/l (Fig. 30). La même observation a été observée dans le cas du traitement EF mais avec une réduction plus importante (162900 kystes/l).

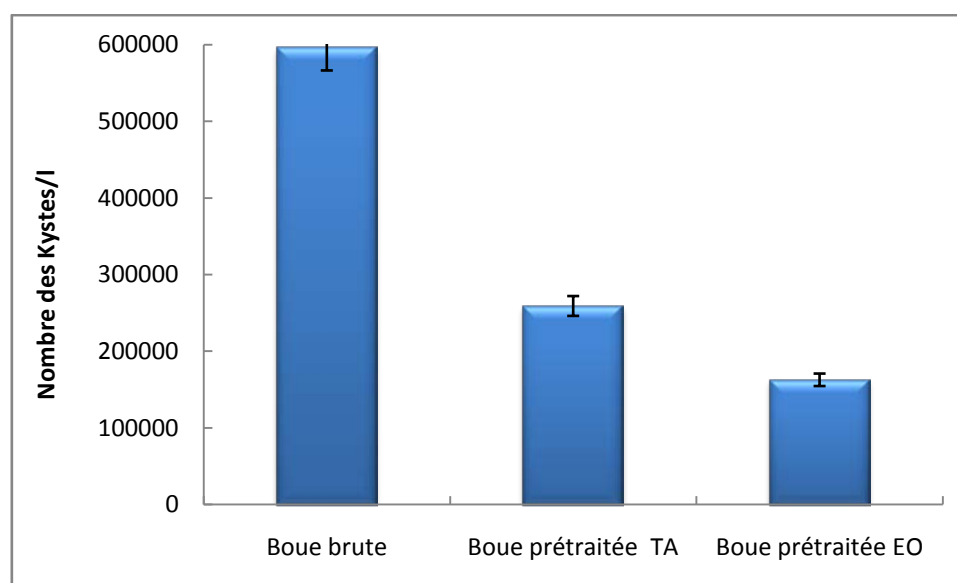


Figure 30 : kystes de protozoaires dénombrés avant et après traitement des boues par la méthode thermo-alcaline et électro-Fenton.

En conclusion pour cette partie, les analyses microbiologiques indiquent que, bien que le traitement TA ou EF induisent une lyse des cellules, celle-ci reste limitée. Par contre, étant donné que la solubilisation de la matière organique suite au traitement est réelle, donc également l'augmentation de la concentration en substrat facilement biodégradable, la vitesse de production du biogaz devrait être augmentée. Les résultats de ces essais seront présentés dans le deuxième chapitre.

4. Action de la réaction d'électro-Fenton sur la composition des boues

Après avoir optimisé les paramètres du traitement EF, nous avons effectué différentes analyses au cours du temps de la réaction : mesure du pH, la conductivité, DCOs, DCOt, concentration en AGV. Les résultats de ces analyses sont présentés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Caractéristiques physico-chimiques de la boue avant et après prétraitement par EF.

	Boue Brute	Boue Prétraitée
pH	2,5	7,5
Conductivité (mS/cm)	5,7	6,4
DCOs	1,7	3,4
DCOt	20,5	10,8
AGV (mg/l)	268,26	924,88

Le tableau 9 montre que le pH de la boue a augmenté au cours de la réaction pour atteindre une valeur de 7,47 après deux heures de traitement. Cette augmentation du pH est nécessairement due aux radicaux hydroxyles générés par les réactions électrochimiques et à la baisse de la production de H⁺ (Israilides et al., 1997). La conductivité a subi aussi une légère augmentation et atteint une valeur de 6,39 mS/cm à 120 min. Cette augmentation est

probablement due à la libération des sels minéraux due à la lyse cellulaire. On note qu'en présence d'hydroxydes de fer, les sels minéraux peuvent se précipiter.

Ainsi, on note que, la DCO soluble de la boue brute est de l'ordre 1,76 g/l. Alors, en appliquant les conditions optimales de la réaction EF une augmentation progressive a été notée pour atteindre une valeur de 3,4 g/l. Cependant, une diminution de la DCO totale a été notée à partir d'une heure de traitement. Ceci peut être expliqué par la minéralisation de la MO due à l'action des radicaux hydroxyles sur les molécules simples en solution ce qui va mettre la DCO soluble faible par rapport à la MO réellement solubilisée par EF. Cette constatation va nous conduire à faire des tests de biodégradation anaérobie en fonction du temps de la réaction afin de déterminer le temps optimal pour le prétraitement.

Le dosage des AGV au cours de la réaction EF, a montré une augmentation en fonction du temps de traitement. Ceci montre que la désintégration des boues de STEP par EF fait libérer les AGV (Acide acétique, acide isobutyrique, acide propionique) qui viennent probablement de la solubilisation du contenu cellulaire pendant le traitement. La présence de ces AGV dans les boues prétraitées va évidemment faire favoriser leur digestion anaérobie.

La caractérisation des molécules présentes dans les boues au cours de traitement par électro-Fenton a été suivie par la méthode de Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR). Cette méthode est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques et l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau.

On rappelle que la spectrophotométrie infrarouge dans le domaine de l'infrarouge moyen ($400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$) est la plus utilisée car la plupart des fréquences caractéristiques des groupements fonctionnels y sont situées (**Smidt et Meisol, 2007**).

L'ensemble des bandes d'absorption relatives à la boue brute et à la boue prétraitée par électro-Fenton pendant 1 h est examiné et les spectres correspondant sont présentés dans la figure 28.

L'examen des spectres fait apparaître deux principales bandes d'absorption mentionnées dans le tableau 10.

Tableau 10: Les principales bandes des spectres IRTF de la boue activée.

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Type de vibration
1634	C=O acide carboxylique C=C alcène OH eau adsorbée
3275	O-H hydroxyles et eau NH ₂ amine

Les bandes d'absorption observées confirment bien la présence des liaisons caractérisant la biomasse. Les deux spectres montrent une large bande à 3100 – 3500 cm⁻¹ correspondant aux vibrations d'élongation de NH et OH incluant les liaisons d'hydrogène. L'augmentation en intensité et le déplacement vers une fréquence moins élevée de cette bande dans le spectre de l'échantillon traité à 1 h reflète une augmentation des liaisons d'hydrogènes ce qui justifie la production des protéines ayant les fonctions amine (NH₂).

La deuxième principale bande a été identifiée dans la zone entre 1500 et 1700 avec un pic à 1634 cm⁻¹ et 1631 cm⁻¹, respectivement pour la boue brute et prétraitée. Il n'est pas possible d'attribuer cette bande à une fonction bien déterminée en raison de la superposition des vibrations aromatiques C=C, des vibrations de groupement fonctionnel tel que C=O (carboxyles et amides), C=C (alcène) et OH de l'eau (**Smidt et Meisol, 2007**).

La différence entre les deux spectres c'est que les deux principales bandes ont augmenté leur intensité après prétraitement d'électro-Fenton. Ceci pourrait être expliqué par l'augmentation de la concentration des sucres réducteurs (fonctions carboxyles C=O) et des protéines (fonctions amines NH₂) qui sont libérées dans le surnageant après lyse des cellules.

L'apparition des nouveaux pics a été aussi notée dans le spectre de la boue prétraitée. Ainsi, on observe une bande d'absorption au niveau de la zone 1100 – 950 cm⁻¹. D'après **Naumann et al. (2010)**, la bande entre 1185 – 900 cm⁻¹ est référée aux polysaccharides. Dans notre cas, ces polysaccharides peuvent provenir de la dissociation des exopolymères (EPS) lors de la désintégration des boues activées.

Cependant, le pic apparent à 1030 cm⁻¹ dans le spectre de la boue prétraitée est référé à la vibration de la fonction Si-O-Si (**Smidt et Meisol, 2007**). Ceci pourrait être expliqué par la libération des composés organiques siliciés (siloxanes, silanols) qui sont présents en quantité non négligeable dans les boues de STEP. Les siloxanes sont généralement adsorbées sur les

EPS des floccs en raison de leur faible solubilité dans l'eau. Ces composés sont détectés dans le biogaz lors d'une digestion anaérobie des boues de STEP. Ceci est dû à leur libération lors de la dégradation de la matière organique et à l'augmentation de la température dans le digesteur anaérobie (Dewil et al., 2007). En effet, on peut expliquer leur présence dans les boues prétraitées par leur dissociation de la boue lors de la désagrégation des EPS par la réaction d'électro-Fenton.

La région entre 2800 – 1900 cm^{-1} concerne les élongations des triples liaisons $\text{C} \equiv \text{C}$ et $\text{C} \equiv \text{N}$ (Acétylène, Cyanogène) et des doubles liaisons cumulées $\text{X}=\text{Y}=\text{Z}$ (Smidt et Meisol, 2007). En comparaison avec le spectre de la boue brute, cette région a montré des vibrations à 2015, 2176 et 2359 cm^{-1} dans le cas de la boue prétraitée. Ceci pourrait être expliqué par une transformation de certaines molécules vers des molécules à triples liaisons ou à doubles liaisons cumulées sous l'effet de la réaction d'électro-Fenton.

Pour s'accroître de plus sur l'effet de ce traitement sur la boue brute, on a déterminé aussi le temps de succion capillaire, la DBO_5 et le fractionnement de la matière organique des boues brutes et prétraitées par électro-Fenton.

2.4.6.1. Temps de succion capillaire (CST)

La technologie de CST est une méthode rapide et fiable permettant de déterminer la filtrabilité des boues activées. La pression de succion générée par un papier filtre est utilisée pour aspirer l'eau des boues. La vitesse à laquelle l'eau pénètre à travers, varie selon l'état des boues et la filtrabilité du gâteau de filtration formé sur ce papier. La mesure de filtrabilité des boues activées est obtenue par calcul du temps nécessaire au front d'eau pour passer entre deux électrodes placées à distance de l'entonnoir (Jiang et al., 2014). Le test CST ne dépend pas du volume de boue testée, la force générée par la succion capillaire étant beaucoup plus importante que la charge hydrostatique de l'entonnoir. Chaque test de filtrabilité des boues est réalisé en quelques minutes seulement.

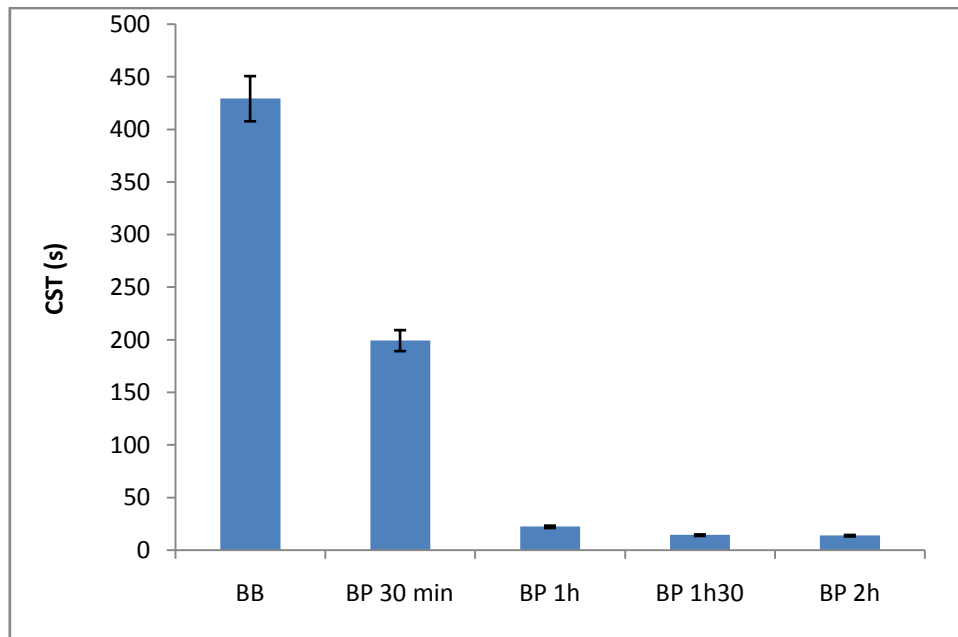


Figure 32 : Effet de la réaction d'électro-Fenton sur le temps de succion capillaire des boues brutes et prétraitées au cours du temps de traitement.

La figure 32 montre que le temps écoulé au cours de la filtration diminue avec l'augmentation du temps de prétraitement des boues. Le CST des boues traitées par électro-Fenton a diminué au cours du temps de traitement. Plus le temps de traitement augmente plus le temps écoulé par le papier filtre du CST diminue. Il a diminué de 429,27 jusqu'à 14 sec dans le cas de la boue brute et prétraitée pendant 2h, respectivement. Cette diminution est très importante. Le CST est de 30 fois plus long que dans le cas de prétraitement de boue pendant 2h. Cela signifie que la solubilisation de la MO augmente avec le temps de traitement tout en diminuant la taille des particules.

Théoriquement, Les hautes valeurs de CST indiquent une déshydratation faible alors que les valeurs faibles de CST indiquent des propriétés de déshydratation supérieures (**Jiang et al., 2014**). Donc la réaction d'électro-Fenton a considérablement réduit le temps requis pour l'assèchement des boues par oxydation de Fenton.

2.4.6.2. Test de biodégradabilité aérobie

La demande biochimique en oxygène correspond à la quantité de dioxygène nécessaire aux micro-organismes aérobies de l'eau pour oxyder les matières organiques dissoutes ou en

suspension dans l'eau. Il s'agit donc d'une consommation potentielle de dioxygène par voie biologique.

Afin de vérifier l'efficacité du prétraitement EF sur la biodégradabilité aérobie des boues, une étude de la demande biologique en oxygène (DBO_{5-21}) des boues brutes et prétraitées au cours du temps de traitement a été réalisée.

La figure 33 montre une augmentation de la quantité de la DBO_5 avec l'augmentation des jours de ce test (j0 jusqu'à j21) et avec le temps de prétraitement. La quantité de DBO_5 augmente de 0 jusqu'à 70 mg/l à j 21 dans le cas de la boue prétraitée pendant 2h. C'est la meilleure valeur obtenue par rapport aux autres temps de traitement. En effet, la valeur de la DBO_5 dans le cas de la boue brute est faible, elle est de l'ordre de 40 mg/l. Donc plus le temps de prétraitement augmente, plus on note une consommation importante d'oxygène ce qui montre une bonne dégradabilité après 2h de prétraitement.

Ce test prouve l'efficacité du prétraitement sur la biodégradabilité des boues où la matière organique est rendue plus accessible aux microorganismes pour la consommation d'oxygène.

2.4.6.3. Fractionnement et fluorescence de la matière organique

Récemment, **Jimenez et al. (2014)** ont proposé une nouvelle méthodologie pour caractériser à la fois la bioaccessibilité et la biodégradabilité anaérobie de la boue municipale, principalement composée de protéines. Ce nouveau protocole était basé sur des extractions chimiques successives de substances exopolymères (EPS), simulant la diminution de l'accessibilité de la matière organique. Cela a été couplé à la spectroscopie à fluorescence 3D, utilisée pour révéler la complexité de la matière organique.

Une caractérisation de la matière organique des échantillons des boues brutes et prétraitées par la méthode de fractionnement a été réalisée. Cette méthode est basée sur l'extraction chimique séquentielle et la spectroscopie à fluorescence 3D afin de déterminer l'effet du prétraitement sur la répartition de différentes fractions de la matière organique.

Les valeurs de fluorescence ont été enregistrés tous les 0,5 nm entre 200 et 600 nm. En se Basant sur **Chen et al. (2003)** et **He et al. (2013)**, les spectres étaient décomposés sur sept zones (zones I à VII). Chaque zone de fluorescence correspond à un type de famille.

D'après la figure (34), les zones de fluorescence I, II et III, représentent les composés protéiniques, étaient les principaux pics dans les boues brutes et prétraitées alors qu'ils disparaues dans la fraction PEOM (matière organique mal extractible) de la boue prétraitée. La zone de fluorescence II qui est généralement associée à la protéine Tryptophane présente un pourcentage de fluorescence important dans les différentes fractions de la boue brute et prétraitée mais dans la fraction PEOM, la boue brute avait une zone de fluorescence II plus élevée que les boues prétraitées donc les composés protéiniques de la zone de fluorescence II semblerait un indicateur de biodégradabilité (**Reynolds et Ahmad, 1997**).

Des observations similaires ont été faites pour les zones IV, V et VI analogues aux acides fulviques, protéines glycolé et la lignocellulose, respectivement présentent un pourcentage de fluorescence faible dans les différentes fractions de la boue brute et prétraitée.

La zone de fluorescence VII analogue à l'acide humique (**Chen et al., 2003**) a un haut pourcentage de fluorescence (80%) dans la fraction PEOM de la boue prétraitée mais presque négligeable dans les autres fractions. Ce composé connu à être récalcitrant et lentement biodégradable (**Chandra et al., 2008**). Cette zone a montré que cette fraction était complexe.

De plus, la zone de fluorescence III était apparente dans la boue brute avec un pourcentage de fluorescence 10% dans toutes les fractions et dans la boue prétraitée avec un pourcentage de 20% alors qu'elle a conduit à disparaître dans la fraction PEOM de la boue prétraitée.

L'observation qu'on peut tiré c'est que les spectres de fluorescence des boues brutes et prétraitées ont évolué de la même manière que leurs complexités où des molécules complexes augmentent dans chaque fraction.

Une autre observation générale était que les spectres obtenus après le fractionnement des deux échantillons de boues a montré que la complexité a augmenté lorsque l'accessibilité a diminué comme dans l'étude de **Wang et al. (2010)**.

La figure (34 b) représente l'indice de complexité (IC) de chaque fraction avant et après prétraitement. L'IC dans la fraction DOM (fraction dissoute) a diminué dans le cas de la

boue prétraitée où il a passé de 0,74 à 0,24, respectivement dans la boue brute et prétraitée. Donc, la complexité a été diminuée par le prétraitement. Par contre, dans les autres fractions, l'IC augmente. Cela peut être dû à l'enrichissement de ces fractions (SPOM, REOM et SEOM) en composés complexes.

Dans le cas de la boue brute, l'IC diminue de 0,74 jusqu'à 0,32 et 0,23, respectivement dans les fractions SPOM et REOM puis il augmente de nouveau dans la fraction SEOM (0,37). Alors que dans le cas de la boue prétraitée, l'IC augmente dans chaque fraction pour atteindre une valeur de 1,04 dans la fraction SEOM.

CHAPITRE 2 : Etude de la digestion anaérobie des boues de STEP

I. Optimisation de la fermentation discontinue des boues brutes

Le potentiel méthanogène est un paramètre caractérisant le pouvoir énergétique d'un déchet organique lors d'une valorisation par voie anaérobie qui produit le CH₄ (gaz énergétique). Ce potentiel dépend de la concentration en protéines, en lipides et en carbohydrates présents dans le substrat (Neves et al., 2008; Shanmugam et Horan, 2009). Ces tests de biodégradabilité anaérobie permettent de comparer les productions de gaz de différents substrats sur un même inoculum. Pour ce test, il est nécessaire que l'inoculum ait une forte activité, une forte adaptabilité et une activité endogène faible. Dans ce présent travail, deux inoculums ont été testés. Le premier (Inoculum 1) est une boue anaérobie apportée d'un digesteur de la station Chotrana et le 2^{ème} (Inoculum 2) est une boue issue d'un bioréacteur semi-continu au laboratoire traitant des effluents industriels.

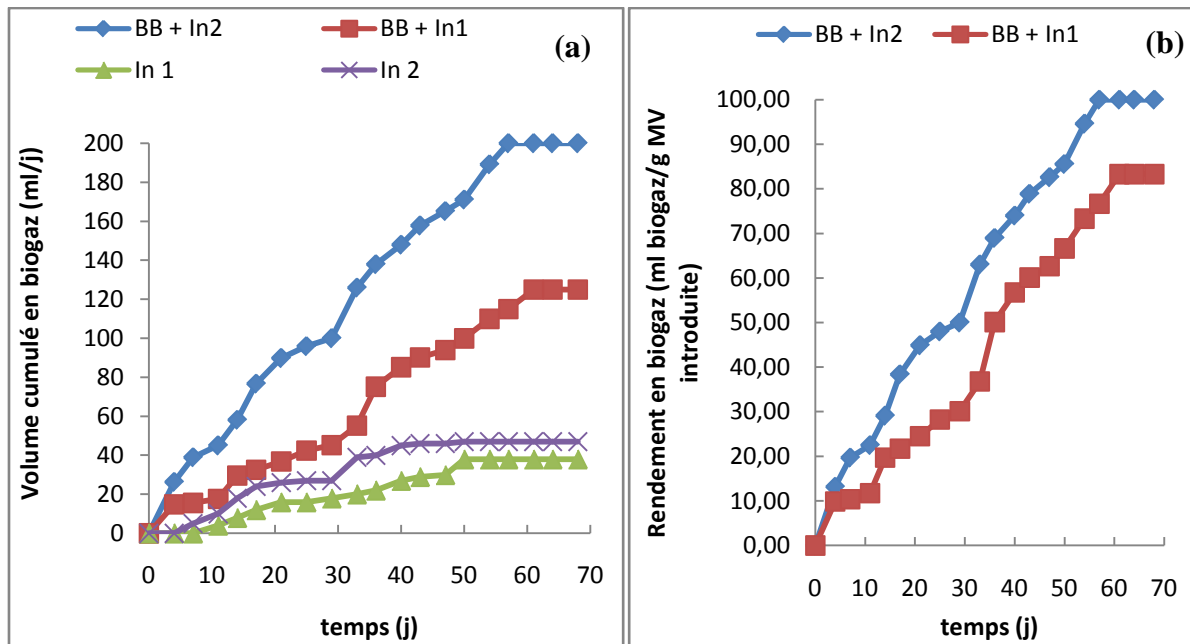


Figure 35: Cinétique de la production cumulée en biogaz (a) et le rendement en biogaz (b) lors de la fermentation en batch des boues brutes (BB) avec Inoculum 1 (In 1) et Inoculum 2 (In 2).

Durant le test de biodégradabilité, la production de biogaz endogène pour les deux témoins (In 1 et In 2) a restée faible en comparaison avec les essais positifs (BB + In). Nous avons remarqué aussi que cette production est plus importante dans le cas de l'In 2 que dans le cas de l'inoculum 1. Vers le 60^{ème} j, la production de biogaz s'arrête et donne un volume cumulé de biogaz de 125 ml et de 200 ml respectivement pour les In 1 et 2.

Le suivi de ces derniers essais pendant 68 j a permis de noter que la production du biogaz augmente progressivement avec le temps de fermentation. La figure 35 (a) montre une différence de production en biogaz entre inoculum 1 et inoculum 2.

Le calcul des rendements en biogaz (Figure 35 b) révèle bien que le rendement moyen de la méthanisation des boues brutes avec (In 1) atteint 83 ml de biogaz/g MV_{introduite} (47,08 ml biogaz/g DCO_{introduite}) alors que celui de l'In 2 est de l'ordre de 100 ml de biogaz/g de MV_{introduite} (53,14 ml biogaz/g DCO_{introduite}). Ces résultats montrent que l'inoculum anaérobie adapté à la dégradation des effluents industriels (In 2) est plus actif que l'In 1 collecté d'une station d'épuration des eaux usées.

Tableau10: Caractéristiques physico-chimiques des boues brutes avant et après fermentation anaérobie en présence de l'In 1 et l'In 2.

Paramètres	Batch en présence de l'In 1		Batch en présence de l'In 2	
	t_0	t_f	t_0	t_f
<i>pH</i>	$7,24 \pm 0,2$	$7,86 \pm 0,4$	$7,22 \pm 0,1$	$7,75 \pm 0,2$
<i>DCOt (g/l)</i>	$32,1 \pm 1,2$	$24 \pm 0,9$	$38,68 \pm 1,1$	$20 \pm 1,3$
<i>MS (g/l)</i>	$36,8 \pm 1,9$	$26 \pm 2,3$	$47,17 \pm 2,2$	$37 \pm 2,9$
<i>MV (g/l)</i>	$30 \pm 1,8$	$25 \pm 1,9$	$40 \pm 0,7$	$32 \pm 1,6$

La caractérisation physico-chimique des mélanges (boues brutes en présence de In 1 et In 2) avant et après fermentation montre bien une activité microbienne importante notée par l'augmentation du pH et la dégradation de la MO. La détermination de la DCO et de la MV de l'échantillon fermenté a montré des abattements respectivement de 25 et 16,66% dans le cas de l'inoculum 1 et de 48,29 et 20% dans le cas de l'inoculum 2. Ces résultats confirment bien la bioconversion de la matière organique en biogaz.

II. Optimisation de la fermentation discontinue des boues prétraitées par Electro-Fenton

II.1. Fermentation en présence de 2 inoculum différents

Des fermentations anaérobies en batch ont été réalisées avec des boues prétraitées par électro-Fenton à différents temps de traitement (0, 30, 60, 90 et 120 min) et en présence de 2 inoculum (In 1 et In 2). La comparaison des résultats obtenus en présence de 2 inoculum, montre une bonne fermentation en présence de In 2 en termes du taux de production et de rendement en biogaz.

Le suivi de ces batch a montré que la production en biogaz varie en fonction du temps de prétraitement. En effet, une production maximale a été enregistrée avec les temps 1 h et 2 h pour les deux inoculum.

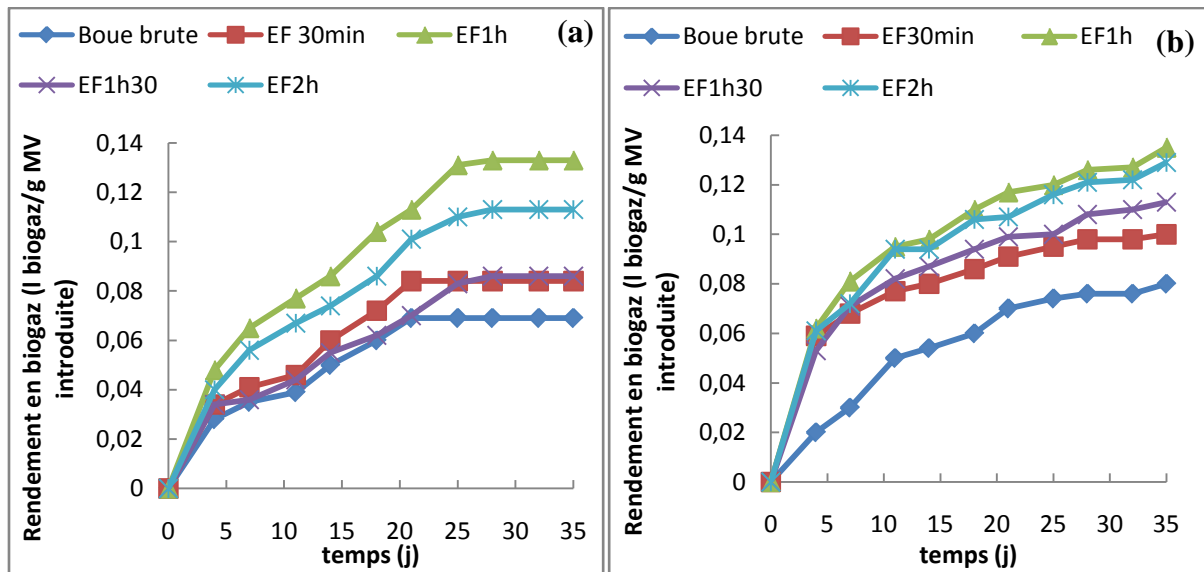


Figure 36: Evolution du rendement en biogaz au cours de la fermentation en batch des boues de STEP prétraitées par électro-Fenton à différents temps en présence de deux inoculum: inoculum 1 (a) et inoculum 2 (b).

La figure 36 donne la cinétique des rendements en biogaz obtenus lors de la fermentation en batch des boues prétraitées par électro-Fenton à différents temps de traitement. Ainsi, nous observons que les rendements en biogaz des échantillons prétraités ont été améliorés par rapport aux boues brutes et cela en présence de 2 inoculum testés. Cette amélioration est en fonction du temps de prétraitement. On note une amélioration importante du rendement en biogaz après une heure de prétraitement dans les deux cas par rapport à la boue brute (témoin). En effet, les rendements passent de 0,08 à 0,135 l biogaz/g MV (0,049 à 0,068 l biogaz/g DCO introduite) dans le cas de l'inoculum 2 et de 0,069 à 0,133 l biogaz/g MV (0,03 à 0,06 l biogaz/g DCO introduite) dans le cas de l'inoculum 1. Ce résultat montre que le prétraitement par électro-Fenton a un effet positif sur le processus de méthanisation en favorisant la production du biogaz. Ainsi, nous remarquons que le rendement maximal est obtenu au 25^{ème} j au lieu de 60^{ème} j de fermentation dans le cas des boues brutes. Ceci montre bien que le prétraitement des boues brutes par électro-Fenton permet l'accélération de la vitesse de la digestion anaérobie.

D'après ces résultats, le prétraitement par électro-Fenton pendant 1 heure est efficace pour augmenter le potentiel méthanogène des boues de 59,26% par rapport aux boues brutes. En fait, la destruction des membranes cellulaires obtenue par électro-Fenton augmente le taux de bioaccessibilité de la matière organique et par conséquent une hausse de la production de biogaz.

II.2. Potentiel méthanogène des boues prétraitées par EF avec différents rapports

Dans cette partie, nous avons étudié l'effet du rapport I/S (MV inoculum/ MV boue brute) sur le potentiel méthanogène des boues. Les résultats de cette étude sur la biodégradabilité et le rendement en biogaz des boues de STEP sont présentés dans la figure 37. Pour ce faire, trois rapports ont été testés : $R=0,5$; $R=1$; $R=1,5$.

D'après les résultats illustrés sur la figure 37, on observe un temps de latence de 6 jours pour les témoins et les batchs contenant de boues brutes. Par contre les batchs contenant des boues prétraitées ont montré une production de biogaz à partir de 3^{ème} jour de fermentation. Ceci montre bien que la phase d'hydrolyse est lente vu la nature particulière des boues brutes. Sous l'action du prétraitement, la MO particulière devient soluble et par conséquent une accélération de la phase d'hydrolyse a été provoquée lors de la digestion anaérobie.

Ainsi, on observe que les rendements en biogaz de boues prétraités ont été améliorés par rapport aux boues brutes. En effet, les rendements passent de 0,024 à 0,093 l biogaz/g MV avec $R(0,5)$; de 0,012 à 0,074 l biogaz/g MV avec $R(1)$ et de 0,024 à 0,046 l biogaz/g MV avec $R(1,5)$. D'après ces résultats, les meilleurs rendements ont été obtenus avec R égale à 0,5 et 1 avec respectivement une augmentation du rendement en biogaz de 4 et 6 fois par rapport au boue brute.

En conclusion, ces résultats montrent que le prétraitement par EF a un effet positif sur le processus de la digestion anaérobie. Ainsi, cette méthode permet d'augmenter la biodégradabilité et la vitesse de la méthanisation et par conséquent le rendement en biogaz.

II.3. Boues prétraitées par différentes méthodes de désintégration

Des essais de digestion anaérobie en batch ont été effectués pour révéler la faisabilité d'utiliser un prétraitement EF pour améliorer la biodégradabilité anaérobie de la boue par rapport aux prétraitements thermo-chimique (thermo-alkalin), l'électrolyse et l'oxydation par H_2O_2 . Le processus de la digestion anaérobie et la production de biogaz ont duré environ 35 jours jusqu'à ce que la production de biogaz reste constante. Un batch appelé témoin négatif a également été surveillé comme un sérum contenant uniquement l'inoculum (sans addition de substrat).

La Figure 38 donne la production quotidienne cumulative de biogaz lors de la fermentation anaérobie discontinue des boues brutes et prétraitées. A partir de ces résultats, on constate que la production cumulative de biogaz des boues prétraitées a été améliorée par rapport à la boue brute. Comme le montre la Fig. 38, la production de biogaz est importante dès les premiers jours de fermentation de sorte qu'on peut dire qu'il n'y avait aucun effet de toxicité sur les taux de production de biogaz des échantillons de boues prétraités au début des essais de BMP. En outre, il est clair que le prétraitement par EF a augmenté le taux de production de biogaz des boues par rapport à tous les autres prétraitements. Cela s'explique par l'augmentation de la biodégradabilité des boues. En fait, la DCO soluble libérée lors de l'EF devient plus accessible pour le consortium anaérobie qui par conséquent va être rapidement transformé en biogaz. Un rendement maximal en biogaz a été obtenu avec le prétraitement par EF avec une amélioration allant jusqu'à 78% par rapport aux boues non prétraitées. En effet, des rendements en biogaz de 41,21 et 146,77 ml de biogaz/g MV introduite ont été enregistrés respectivement pour les boues brutes et prétraitées par EF. L'évolution du rendement dans le cas de l'oxydation par H_2O_2 et l'électrolyse ont montré la même allure avec une amélioration de 30% par rapport au BB. Par contre, une faible amélioration a été notée dans le cas du prétraitement thermo-alcalin.

La comparaison des cinétiques de production de biogaz, montre que le prétraitement EF a accéléré le processus de digestion; 83,5% du volume de biogaz a été produit après 12 jours contre 73% dans le cas des boues brutes. Il est clair que le prétraitement EF a accéléré les 2 premières phases l'hydrolyse et l'acidogénèse de la fermentation anaérobie. Ainsi, on peut conclure que l'EF est une méthode efficace pour améliorer la biodégradabilité anaérobie et le rendement en biogaz.

Tableau 11 : pH, Abattement de la DCO, Abattement de la MV et le Rendement en biogaz après la digestion anaérobie des boues brutes et prétraitées.

Paramètres	Témoin négatif	Boue brute	Oxydation par H ₂ O ₂	Electrolyse	Thermo-alcalin	Electro-Fenton
pH	7,2	7,4	7,7	7,5	7,8	7,7
Abattement DCO (%)	12,4	17,3	17,9	21,5	21,6	30,2
Abattement MV (%)	12,1	16,3	17,7	21,5	20,4	28,3
Rendement en biogaz (ml biogaz/g MV int)	41,2	68,2	82,9	82,6	76,2	146,8

Le tableau 11 montre la variation de la DCO et l'élimination de la MV après la digestion anaérobie des boues brutes et prétraitées. Le batch contenant de la boue brute révèle une élimination de la DCO de l'ordre 17,33%. De même, l'élimination de la matière organique a augmenté de 17,92 ; 21,51 ; 21,62 et 30,24% après l'oxydation par H₂O₂, l'électrolyse, l'hydrolyse thermo-alcaline et l'EF, respectivement. Ainsi, chaque prétraitement a donné un avantage dans l'amélioration de l'élimination de la DCO par rapport à la boue brute. L'élimination de la DCO la plus élevée a été obtenue dans le cas de la boue prétraitée par EF ce qui explique la production maximale de biogaz pendant cette fermentation. La même conclusion a été notée en comparant l'élimination des MV. L'amélioration de l'élimination des MV est due aux effets des prétraitements, qui contribuent à décomposer les cellules microbiennes pour une dégradation ultérieure plus rapide. Il facilite éventuellement la réaction de décomposition qui conduit à la biodégradation des composés lors de la digestion anaérobie. Ainsi, le prétraitement EF a augmenté la production de biogaz et amélioré également la biodégradation des boues. Cette constatation a également été observée en prétraitant les boues par un procédé classique de Fenton (Sahinkaya et al., 2015). En appliquant cette méthode de désintégration, on a obtenu une réduction totale de la DCO d'environ 38,4% et une amélioration de la production de biogaz d'environ 30,2% à la fin de la période de 60 jours de digestion des essais de BMP. Par conséquent, l'EF est une nouvelle méthode efficace pour la désintégration et l'amélioration de la stabilisation anaérobie des

boues. Enfin, on peut noter que la méthode d'EF est une technique écologique car elle peut produire une solubilisation maximale de la MO sans addition de réactifs chimiques toxiques et sans production de déchets dangereux. L'application de cette procédure est peu coûteuse en raison de son faible coût énergétique opérationnel.

L'effet de prétraitement par électro-Fenton sur la digestion anaérobie des boues a été aussi étudié à l'échelle d'un réacteur semi-continu. Cette étude a été comparée avec une autre étude de digestion anaérobie effectuée sur des boues prétraitées par la méthode thermo-alcaline qui a donné un taux de solubilisation de la matière organique proche à celui obtenu par électro-Fenton.

II.4. Détermination du potentiel méthanogène en condition mésophile et thermophile

Durant cette partie du travail, on a étudié l'effet de deux prétraitements sur la production et le rendement en biogaz des boues. Les batchs de BMP ont été alimentés par des boues brutes et prétraitées, puis incubés en condition mésophile (37°C) et thermophile (56°C). Des analyses microbiologiques et parasitologiques ont été réalisés durant cette partie du travail. Il s'agit de dénombrer les coliformes totaux, les *Pseudomonas*, les œufs d'helminthes et les kystes de protozoaires présents dans les boues brutes et les boues désintégrées après digestion anaérobie en condition mésophile et thermophile.

II.4.1. En condition mésophile

Des expériences de BMP (potentiel biochimique en méthane) ont été réalisées pour déterminer la production maximale de biogaz lors d'une fermentation anaérobie en batch. Dans cette partie, les batchs ont été alimentés par des boues brutes et prétraitées incubés en condition mésophile (37°C).

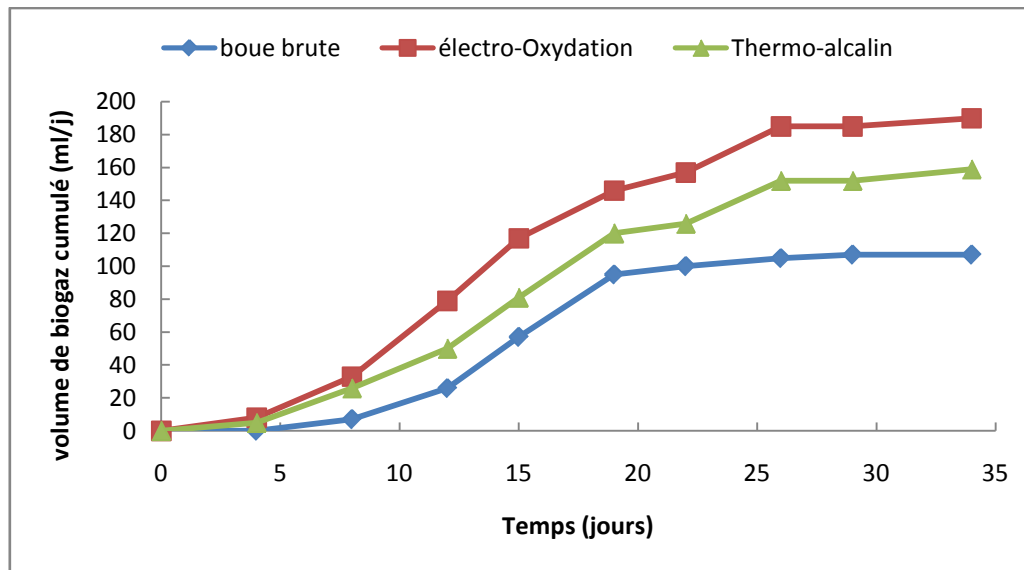


Figure 39 : Cinétique de la production cumulée en biogaz lors de la fermentation en batch des boues brutes et prétraitées en condition mésophile.

La figure 39 donne la cinétique de la production en biogaz au cours de la fermentation anaérobie des boues brutes et prétraitées par TA et EF en condition mésophile. La première remarque qu'on a noté c'est la courte durée de la phase de latence dans les batches contenant des boues prétraitées. Elle est de 4 j au lieu de 8 j dans le cas des boues brutes. Cela montre que l'étape de désintégration par TA ou EF accélère la phase d'hydrolyse au cours de la digestion anaérobie. En effet après la phase de latence, une production de biogaz a été notée et qui augmente progressivement avec le temps de fermentation. Ainsi, nous observons que les rendements en biogaz des échantillons prétraités ont été améliorés par rapport aux boues brutes. Les rendements passent de 0,63 à 1,1 et 1,46 l biogaz/g MV respectivement pour les boues prétraitées par TA et EF. Ce résultat montre bien que l'étape de désintégration par TA ou EF a un effet positif sur le processus de méthanisation en favorisant la production du biogaz. Nous avons remarqué aussi que le rendement maximal est obtenu dans le cas des boues prétraitées par EF. Une augmentation de 231% a été notée par rapport aux boues brutes. De point de vu rendement en biogaz, le prétraitement EF s'avère intéressant pour la désintégration des boues.

La figure 40 présente les résultats de l'analyse microbiologique des boues brutes et prétraitées après digestion anaérobie en condition mésophile. Les résultats montrent que la densité de coliformes dans les boues brutes a diminué après digestion anaérobie. Elle passe de 37.10^5 UFC/100 ml à 27.10^4 UFC/100 ml soit une réduction de 1,27 U log. Cependant, seulement 0,9 U log a été éliminée pour les *Pseudomonas*. Pour les boues prétraitées, la

qualité microbiologique et parasitologique de leur digestat a été améliorée par rapport à celle du digestat de boues brutes. Ainsi, la densité des coliformes a été de l'ordre 19.10^3 et 10.10^2 UFC/100 ml dans les digestats de boues prétraitées par TA et EF, respectivement. Ces valeurs sont proches à celles trouvées avant la digestion anaérobie des boues prétraitées. Ceci peut être expliqué par la résistance des bactéries résiduelles (après prétraitement) aux conditions de la fermentation. Pour les *Pseudomonas*, ces germes ont été dénombrés seulement dans les boues prétraitées par EF ($30. 10^2$ UFC/100 ml).

Concernant l'analyse parasitologique, nous avons constaté une amélioration de la qualité des digestats issues de boues prétraitées par rapport à la boue brute digérée. De plus, on note que les densités des œufs d'helminthes et des kystes protozoaires dans le digestat de boues prétraitées par EF sont inférieures à celles du digestat de boues prétraitées par TA. En faite, les résultats sont proches à ceux obtenus avant la digestion anaérobie.

II.4.2. En condition thermophile

Dans cette partie, on a réalisé des batchs anaérobie alimentés par des boues brutes et prétraitées incubés en condition thermophile (56°C).

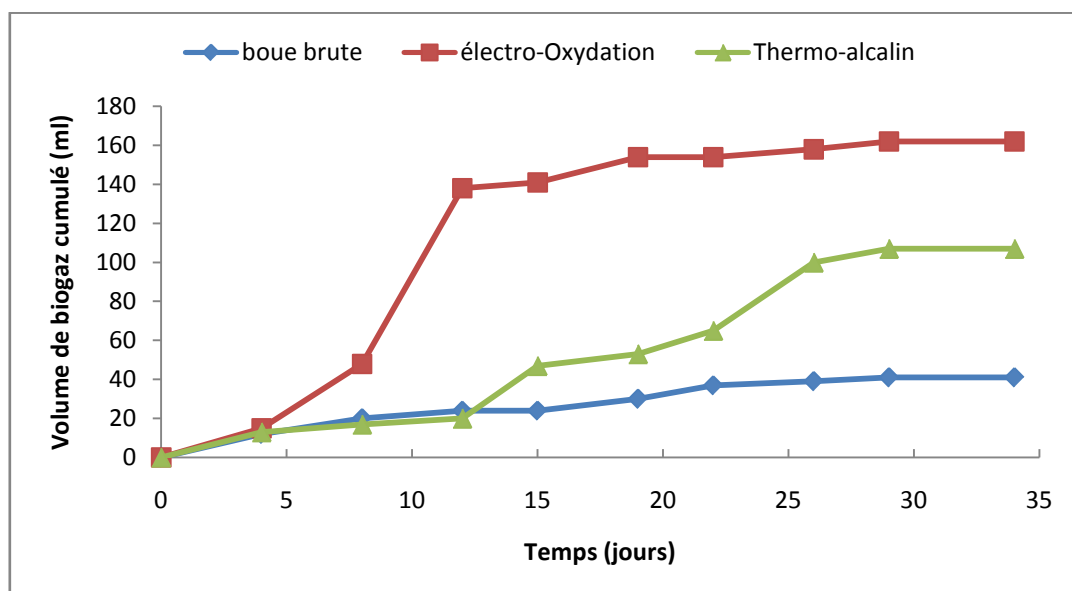


Figure 42 : Cinétique de la production cumulée en biogaz lors de la fermentation en batch des boues brutes et prétraitées en condition thermophile.

La figure 42 donne la cinétique de la production en biogaz au cours de la fermentation anaérobie des boues en condition thermophile. D'après cette figure, l'allure des cinétiques est différente à celle observée en condition mésophile. Ainsi, on note une production en biogaz lente dans le cas des boues brutes avec un rendement (241,17 ml biogaz/g MV) inférieur à celui produit en condition mésophile. La même remarque a été notée pour les boues prétraitées par TA. Cependant dans le cas des boues prétraitées par EF, une production rapide et importante a été observée. En effet, le volume cumulé en biogaz obtenu dans ce cas est de l'ordre de 162 ml/j. Alors, pour les boues hydrolysées par TA, le volume du biogaz obtenu est de 107 ml/j. Ces faibles rendements en biogaz en condition thermophile sont bien expliqués par les résultats présentés dans le tableau 12. En comparaison avec les résultats de la digestion anaérobie mésophile, l'abattement de la matière organique exprimée en DCO ou en MV a diminué en condition thermophile. Ceci peut être expliqué par la diminution de l'activité de l'inoculum qui a été non acclimaté à la condition thermophile. En condition mésophile, les boues prétraitées par EF ont montré un abattement élevé en DCO (55,7%) par rapport aux boues brutes et prétraitées par TA ce qui explique bien le rendement élevé en biogaz.

Tableau 12 : pH et abattement de la DCO et MV des échantillons de boues brutes et prétraitées après leur fermentation en batch en condition mésophile et thermophile.

Paramètres	Fermentation mésophile		Fermentation thermophile	
	TA	EF	TA	EF
pH	7,56 ± 0,6	7,52 ± 0,4	7,50 ± 0,9	7,45 ± 0,7
Abattement DCO (%)	30,99 ± 1,3	55,69 ± 2,1	29,93 ± 0,9	32,48 ± 1,6
Abattement MV (%)	38,25 ± 1,1	53,10 ± 2,7	33,68 ± 1,3	45,73 ± 2,2

La figure 43 donne la densité des coliformes et des *Pseudomonas* dans les digestats issus de la fermentation anaérobie thermophile de boues brutes et prétraitées. Les résultats de la digestion des boues brutes ont montré des densités inférieures à celles obtenues dans le cas de la digestion anaérobie en condition mésophile. Ainsi, une diminution de 2,4 U log a été obtenue pour les coliformes contre 1,27 U log en condition mésophile. Une réduction a été aussi notée pour les *Pseudomonas*. Ceci montre bien l'efficacité de la thermophilie pour l'hygiénisation des boues activées. Ceci a été constaté dans le cas du digestat des boues prétraitées par EF. Des densités de l'ordre de 13.10^2 UFC/100 ml et 20.10^2 UFC/100 ml

respectivement pour les coliformes et les *Pseudomonas* ont été enregistrées, soit une amélioration de 1,13 U log et 0.33 U log par rapport à la condition mésophile, respectivement. Dans le cas du digestat issu de la boue prétraitée par TA, les coliformes et les *Pseudomonas* n'ont pas été détectés. Ceci doit être confirmé par d'autres méthodes pour la détection de ces germes.

Pour l'analyse parasitologique, les résultats ont montré une amélioration de la qualité des digestats par rapport à celle obtenu en condition mésophile. L'analyse du digestat de la boue brute a donné des densités de l'ordre 205600 œuf/l pour les œufs d'helminthes et 375200 kyste/l pour les kystes de protozoaires. La meilleure diminution de ces parasites a été notée dans le cas des boues prétraitées par EF en comparaison avec celle des boues brutes et des boues prétraitées par TA.

L'étude de la digestion anaérobie des boues de STEP brutes et prétraitées montre que le prétraitement par EF donne les meilleurs rendements en biogaz. En revanche, malgré la lyse cellulaire engendrée par le traitement TA, la biodégradabilité anaérobie des boues n'est pas très améliorée par rapport au traitement EF, que ce soit en condition mésophile ou thermophile. Par contre, une augmentation de la vitesse de production du biogaz suite au traitement TA est observée. Selon **Paul et al. (2006)**, cette gamme de traitement thermique permet seulement d'augmenter la vitesse de dégradation de la matière organique biodégradable suite à une désorption de molécules organiques liée à la destruction des floes. Un inconvénient majeur de l'utilisation du traitement thermique, souvent cité par les auteurs, est lié à la formation de composés potentiellement inhibiteurs de la digestion anaérobie (**Bougrier et al., 2006**).

III. Etude de la digestion anaérobie des boues de STEP à l'échelle d'un réacteur

La digestion anaérobie est un processus très utilisé pour le traitement des boues de STEP. Cependant, l'étape limitante de ce procédé est l'hydrolyse vu le caractère particulière de la matière organique présentée dans les boues. Des études antérieures ont montré la nécessité de prétraiter les boues avant leur digestion pour améliorer leur méthanisation (**Feki et al., 2015**).

III.1. Digestion anaérobie des boues dans un réacteur en agitation mécanique

Dans cette partie, nous avons proposé en premier lieu d'utiliser des boues prétraitées par la méthode thermo-alkaline puis par des boues prétraitées par la méthode électro-Fenton dont les conditions opératoires qui ont été optimisées dans la première partie de ce travail dans les conditions mésophiles et en deuxième lieu utiliser des boues brutes puis prétraitées par EF dans les conditions thermophiles.

III.1.1. En condition mésophile

Une étude comparative de fermentation anaérobie entre les deux prétraitements effectués sur la boue brute a été réalisée dans les conditions mésophiles.

Tableau 13: Les caractéristiques physico-chimiques des boues prétraitées par la méthode thermo-alkaline et par électro-Fenton.

Paramètres (g/l)	Thermo-alkaline	Electro-Fenton
MS	30,17 ± 5,9	28,48 ± 6,31
MV	27,23 ± 1,38	24,15 ± 4,75
MES	24,15 ± 0,17	21,32 ± 0,08
MVS	21,5 ± 0,05	19 ± 0,74
DCOt	29,68 ± 1,27	24,5 ± 4,76
NTK	1,98 ± 0,38	2,61 ± 0,86
pH	9,7 ± 0,5	7,57 ± 0,12

Ce tableau montre que les deux types des boues ont presque les mêmes paramètres physico-chimiques. Cependant, la seule différence entre les deux caractéristiques est notée au niveau du pH. Ainsi, le pH des boues prétraitées par électro-Fenton est dans la marge de neutralité ce qui nous permet de l'utiliser directement pour l'alimentation du digesteur. Alors, dans le cas des boues hydrolysées thermo-chimiquement, le pH est alcalin de l'ordre 9,7 ce qui nécessite un ajustement vers un pH neutre avant l'introduire dans le digesteur.

Durant cette étude réalisée dans un réacteur semi-continu, plusieurs paramètres ont été suivis: la charge volumique introduite, le volume de biogaz, le rendement en biogaz, la DCO et le pH à l'entrée et à la sortie.

III.1.1.1. Digestion des boues de STEP hydrolysées par la méthode thermo-alkaline

A l'heure actuelle, d'un point de vue industriel, le traitement thermo-chimique semble le plus faisable en terme de couplage avec la digestion anaérobie (Dhar et al., 2012).

L'hydrolyse des boues de STEP par la méthode thermo-alkaline qu'on a proposé durant ce travail a permis d'augmenter la solubilisation de la matière organique de 26%. L'étude de la biodégradabilité de ces boues prétraitées sera présentée dans cette partie.

La figure 45 (a) donne l'évolution de la charge volumique appliquée au réacteur semi-continu. Ainsi, nous avons commencé par une charge de 0,6 g DCO/l. j jusqu'à le 18^{ème} jour de fermentation. Durant cette 1^{ère} phase, l'alimentation était par des boues brutes non traitées. Après cette période, nous avons changé le substrat par des boues prétraitées par la méthode thermo-alkaline avec une augmentation progressive de la charge organique jusqu'à atteindre 2,5 g DCO/l. j.

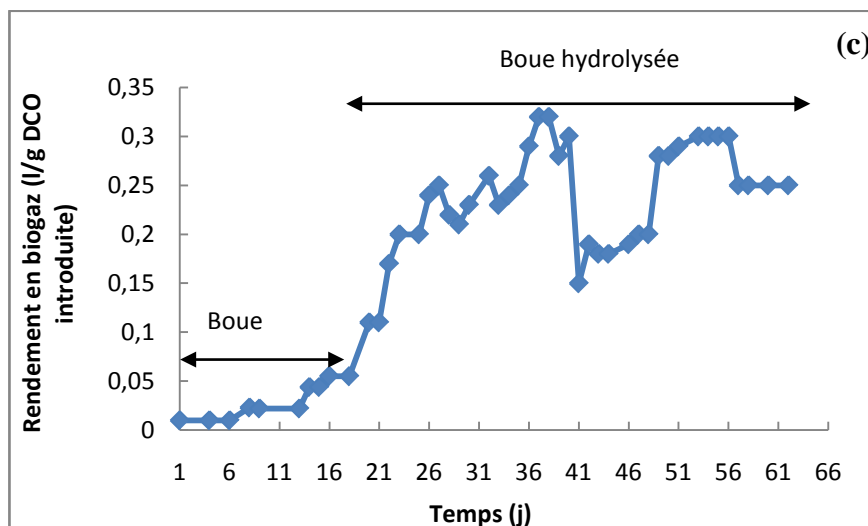


Figure 45: Evolution temporelle de la charge volumique appliquée (a), du volume de biogaz (b), du rendement en biogaz (c) au cours de la digestion anaérobie des boues brutes et hydrolysées par la méthode thermo-alkaline dans le réacteur semi-continu.

L'évolution de la production en biogaz est présentée sur la figure 45 (b). D'après cette figure, le volume de biogaz produit est faible (50 ml/j) durant l'application de la première charge organique. Pendant cette période, les rendements en biogaz ne dépassent pas 0,05 l biogaz/g DCO (0,02 l biogaz/g MV). Les rendements obtenus restent inférieurs à ceux trouvés dans la bibliographie qui sont de l'ordre de 0,25 l biogaz/g MV (Nges et al., 2010) et à ceux déterminés par le test du potentiel méthanogène présentés dans la partie précédente. Ceci montre que la digestion anaérobie des boues de STEP brute n'est pas rentable puisque la première étape de la méthanisation, l'hydrolyse, est bloquée. Cela est dû à la difficulté de la lyse des cellules bactériennes. Cependant, en changeant le substrat d'alimentation par des boues hydrolysées avec une charge volumique de 1,2 g DCO/l. j, nous avons noté une augmentation progressive de la production en biogaz.

Une production journalière de biogaz de 420 ml/j a été enregistrée à la fin de cette charge organique. Ce qui a permis d'avoir un rendement en biogaz qui atteint 0,3 l biogaz/g DCO introduite. L'amélioration de la production de biogaz par les boues hydrolysées est nette par rapport à celle enregistrée dans le cas des boues brutes. La figure 45 (b) montre aussi une hausse de la production en biogaz qui est en corrélation avec la charge volumique introduite. Un rendement proche de 0,3 l/g DCO introduite a été atteint durant l'application de la charge volumique 1,2 et 1,8 g DCO/l. j. Vers le 56^{ème} jour, le volume de biogaz se stabilise vers une valeur moyenne 670 ml/j même après augmentation de la charge organique.

L'ensemble de ces résultats montre bien que le rendement en biogaz des boues hydrolysées est amélioré par rapport aux boues brutes. Ainsi, le rendement en biogaz passe de 0,05 l/g DCO introduite à 0,3 l/g DCO introduite en prétraitant les boues par la méthode thermo-alcaline. Ces résultats sont en accord avec Tanaka et al. (1997) qui ont montré une augmentation de la production de biogaz de 20% par rapport à la boue brute.

La figure 46 donne l'évolution journalière de la DCO soluble de l'effluent sortant du réacteur et de la DCO totale de l'influent entrant au réacteur. Ces résultats montrent que les valeurs de la DCO soluble et totale sont en corrélation avec la charge volumique introduite et la nature du substrat. Ainsi, l'effluent a une DCO soluble moyenne de 0,2 et 0,43 g/l respectivement lors de la digestion des boues brutes et des boues hydrolysées.

Parallèlement au suivi de la DCO de l'influent et de l'effluent, nous avons déterminé quotidiennement le pH et cela afin d'estimer l'état de fonctionnement du procédé.

La figure 47 montre les variations du pH de l'influent et de l'effluent au cours de la digestion anaérobie. Le pH de l'influent ajusté avant chaque alimentation est entre 6,98 et 7,4. A la sortie du réacteur, le pH varie entre 7,19 et 7,88. Nous notons que les valeurs du pH dans le réacteur se trouvent dans la zone optimale de l'activité de l'inoculum anaérobie. L'examen de ces courbes montre une stabilité du pH au cours de la fermentation des boues brutes et hydrolysées.

III.2.1.1. Digestion anaérobie des boues de STEP prétraitées par électro-Fenton

Dans cette partie, on va étudier la digestion anaérobie des boues prétraitées par la réaction d'électro-Fenton dont les conditions opératoires ont été optimisées au cours de la première partie de ce travail. L'objectif de cette partie du travail est d'évaluer l'effet du prétraitement électrochimique sur l'augmentation du rendement en biogaz lors de la digestion anaérobie mésophile des boues de STEP.

Au cours de cette étude, on a suivi quotidiennement la charge volumique appliquée, la DCO de l'influent et l'effluent, le pH ainsi que le volume de biogaz produit.

III.2.1.1.2. Suivi de la charge volumique introduite

Au début de cette fermentation, nous avons appliqué des faibles charges organiques de l'ordre de 0,6 g DCO/l. j. Vers le 20^{ème} jour de la fermentation, on a augmenté la charge volumique vers une valeur de 1,25 g DCO/l. j. Ensuite, les charges ont été augmentées progressivement avec le temps de fermentation pour atteindre 4 g DCO/l. j vers le 63^{ème} jour (Figure 48). Pendant la première période de la fermentation, nous avons choisi un TRH= 30 j afin d'augmenter la concentration d'inoculum dans le réacteur puisque le système anaérobie fonctionne sans recyclage de la biomasse. Durant cette étude nous avons adopté le temps de prétraitement des boues à 1 heure tout en se basant sur les résultats des tests de potentiel méthanogène.

La figure 48 montre que le réacteur a été alimenté au début de la fermentation par un influent ayant une DCO totale moyenne égale à 29,5 g/l. Ensuite, cette concentration a augmenté progressivement en fonction de la charge volumique appliquée et du TRH. En effet, pour chaque charge volumique appliquée, nous avons opéré une concentration fixe en DCO (g/l)

pour l'influent. La figure 49 présente aussi l'évolution de la DCO soluble de l'effluent qui sort du réacteur après 24 h de fermentation. Ainsi, on note que les valeurs de la DCO de l'effluent semblent constantes. Elles varient entre 0,3 et 1 g/l.

Les résultats de l'abattement de la DCO sont présentés sur la figure 50. Il est connu que l'abattement de la DCO au sein du réacteur est fonction de sa concentration initiale (DCO de l'influent), du TRH et de l'activité biologique du consortium. Les résultats affichés sur la figure 49 montrent que durant les 18 premiers jours de la fermentation, l'abattement de la DCO est de l'ordre de 20% puis il augmente progressivement avec le temps de la fermentation. Pendant la période entre le 63^{ème} et 78^{ème} j, nous avons noté une stabilité de ce rendement de biodégradation qui est de l'ordre de 82,53%. Ce rendement est considéré important pour une charge volumique de 4 g DCO/l. j. Cette importance pourrait être expliquée par l'augmentation de la biodégradabilité des boues qui ont subi un prétraitement par électro-Fenton.

III.2.1.1.3. Suivi de la production du biogaz

Le biogaz est le produit final de la fermentation anaérobie. Durant cette étude, nous avons enregistré la production journalière du biogaz. L'ensemble de ces enregistrements est présenté sur la figure 51. D'après cette figure, le volume de biogaz est faible durant les premiers jours de la fermentation puis il augmente progressivement avec le temps de la fermentation. On note aussi que ce volume est en fonction de la charge organique introduite au réacteur. Vers la fin de notre étude, nous avons noté une chute brutale de la production du biogaz. Celle-ci a été due à un problème technique au niveau du système.

On remarque que le volume de biogaz augmente progressivement avec le temps de la fermentation pour atteindre une valeur maximale de l'ordre de 1460 ml/j vers le 70^{ème} jour. Cette production du biogaz est presque le double que celle obtenue lors de la digestion anaérobie des boues hydrolysées par la méthode thermo-alcaline. Ceci montre que le prétraitement par électro-Fenton a amélioré la production de biogaz.

Pour le calcul du rendement, on a choisi d'exprimer ce paramètre en (l biogaz/g DCO introduite). Les rendements présentent une allure croissante au cours du temps de la

fermentation. On note que les chutes du rendement sont dues à l'augmentation brutale de la charge volumique. En comparaison avec l'étude de la digestion des boues prétraitées par la méthode thermo-alkaline, les rendements obtenus sont considérés importants. En effet, pendant l'application des charges volumiques entre 2 et 4 g DCO/l. j, le rendement en biogaz a dépassé 0,3 l/g DCO introduit. Un rendement maximal de 0,6 l/g DCO introduit a été enregistré lors de l'application d'une charge de 2,5 g DCO/l. j.

Le suivi du pH est considéré comme une réponse de la variation de la température, de la forte charge organique ou de la présence des composés toxiques. Pour cela, la mesure du pH de l'influent et de l'effluent a été déterminée.

La figure 53 donne les pH de l'influent et de l'effluent au cours de la digestion anaérobie. Donc cette courbe montre une stabilité du pH (7,1-7,64) à l'entrée et à la sortie du réacteur au cours de la fermentation des boues prétraitées. Ceci montre bien le bon fonctionnement du réacteur anaérobie traitant ces boues.

En effet, le rendement en biogaz des boues brutes est de l'ordre de 0,05 l biogaz/g DCO (0,02 l biogaz/g MV). Ce rendement est très faible par rapport à celui trouvé dans la bibliographie 0,25 l biogaz/g MV. Ce rendement a été amélioré en appliquant un prétraitement par hydrolyse thermo-alkaline. Elle atteint une valeur optimale de 0,3 l biogaz/g DCO. Ceci montre bien que la digestion anaérobie des boues brutes est bloquée à cause de la première étape de la méthanisation, l'hydrolyse.

L'étude de la digestion anaérobie des boues prétraitées par électro-Fenton a montré que le rendement optimal en biogaz est de l'ordre de 0,6 l biogaz/g DCO. Ce rendement est le double que celui obtenu lors de la digestion anaérobie des boues hydrolysées par la méthode thermo-alkaline. En effet, le tableau 6 qui présente les paramètres physico-chimiques des boues prétraitées par la méthode thermo-alkaline et électro-Fenton, montre que ces paramètres sont très proches et la différence entre eux est faible. Mais l'étude de leur digestion anaérobie a montré que le prétraitement par électro-Fenton est plus efficace que l'hydrolyse thermo-alkaline des boues brutes.

En conclusion pour cette partie, l'ensemble des résultats obtenus sont en faveur de l'efficacité de prétraitement par électro-Fenton pour l'amélioration de la production de biogaz.

Les performances de ce procédé ont été comparées avec la méthode thermo-alcaline. La comparaison a montré que le procédé électro-Fenton permet d'atteindre un taux de solubilisation de 28%. Cette solubilisation permet d'augmenter la biodégradabilité anaérobie des boues et par conséquent les rendements en biogaz lors d'une fermentation en continu. Le procédé électro-Fenton semble être favorisé avec non utilisation de réactif chimique et une faible consommation d'énergie électrique. En effet, le pH des boues après traitement par électro-Fenton est favorable pour un post-traitement biologique donc on n'a pas besoin d'ajuster des produits pour corriger le pH.

III.2. Digestion anaérobie des boues dans un réacteur de type UASB

Dans ce réacteur ayant un volume utile de 7 L, on a commencé par l'étude de la digestion anaérobie des boues brutes puis des boues prétraitées par EF. Au cours de cette étude, on a suivi quotidiennement la charge volumique appliquée, le volume de biogaz produit, rendement en biogaz ainsi que le pH.

III.2.1. Suivi de la charge volumique introduite

Au début de la fermentation de la boue brute, nous avons appliqué des faibles charges organiques de l'ordre de 0,17 g MV/l. j. Vers le 22^{ème} jour de la fermentation, on a augmenté la charge volumique vers une valeur de 0,23 g MV/l. j. Ensuite, les charges ont été augmentées progressivement avec le temps de fermentation pour atteindre 0,54 g MV/l. j vers le 130^{ème} jour (Figure 54). Alors que pour la boue prétraitée, la première charge appliquée est de 0,45 g MV/l.j puis on a augmenté les charges progressivement jusqu'à atteindre 2 g MV/l.j vers le 250^{ème} jour. Pendant la première période de la fermentation, nous avons choisi un TRH= 20 j.

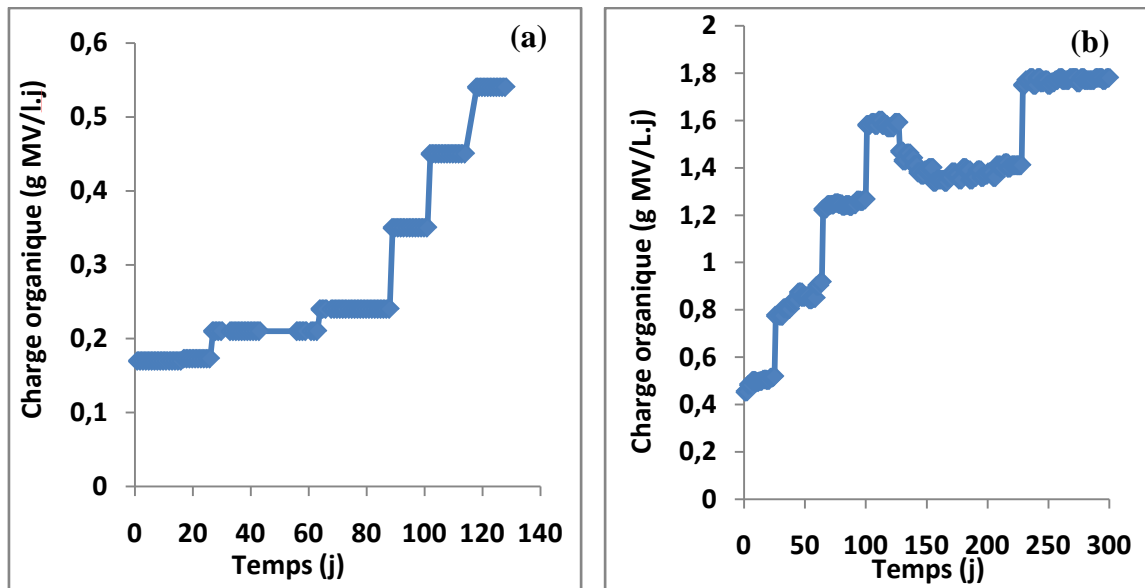


Figure 54: Evolution temporelle de la charge volumique appliquée durant l'étude de la digestion anaérobie des boues brutes (a) et prétraitées par électro-Fenton (b).

III.2.2. Suivi de la production du biogaz

Durant cette étude, nous avons enregistré la production journalière du biogaz. L'ensemble de ces enregistrements est présenté sur la figure 55. D'après cette figure, le volume de biogaz des deux types de boues est faible durant les premiers jours de la fermentation puis il augmente progressivement avec le temps de la fermentation. On note aussi que ce volume est en fonction de la charge organique introduite au réacteur.

On remarque que le volume de biogaz augmente progressivement avec le temps de la fermentation pour atteindre une valeur maximale de l'ordre de 1560 ml/j vers le 130^{ème} jour et 12 l/j vers le 300^{ème} j respectivement pour les boues brutes et prétraitées. Cette production de biogaz est très importante que celle obtenue lors de la digestion anaérobie des boues brutes. En effet, la production de biogaz des boues prétraitées est continue et accélérée au cours du temps de fermentation malgré la diminution de la charge organique appliquée durant la période 120-230^{ème} j de fermentation alors que dans le cas des boues brutes on voit une stabilisation dans la production de biogaz presque de 40j vers une valeur de 520 ml/j en appliquant une charge de 0,21 g MV/l.j. A partir du 70^{ème} j, la production de biogaz reprend pour se stabiliser vers le 130^{ème} j avec une valeur de 1560 ml/j à une charge de 0,54 g MV/l.j.

Ceci montre que le prétraitement par électro-Fenton améliore et favorise la production de biogaz.

Les courbes des rendements des boues brutes et prétraitées présentent presque la même allure que celles du volume de biogaz produit. Un rendement faible durant les 20 premiers jours de l'ordre de 0,03 et 0,18 l/g MVi, respectivement dans le cas de la boue brute et prétraitée. Puis ces rendements augmentent progressivement avec l'augmentation de la charge organique introduite. De temps à un autre, on observe des chutes du rendement qui peuvent être dues à l'augmentation brutale de la charge volumique. En comparaison avec l'étude de la digestion des boues brutes, les rendements obtenus sont considérés importants. En effet, le rendement maximal obtenu lors de la digestion anaérobie de la boue brute est de 0,5 l/g MV. Alors que dans le cas de la boue prétraitée par électro-Fenton est de l'ordre de 0,81 l/g MV introduite (1,2 l/g DCOi). Ce rendement a été enregistré lors de l'application d'une charge de 1,8 g MV/l.j (3 g DCO/l.j). Ce rendement est presque le double que celui obtenu au cours de la DA des boues prétraitées avec le réacteur CSTR (0,6 l/g DCOi avec une charge de 2,5 g DCO/l.j). En effet, d'après **Chong et al. (2012)** le réacteur anaérobie UASB est le plus robuste pour le traitement des boues.

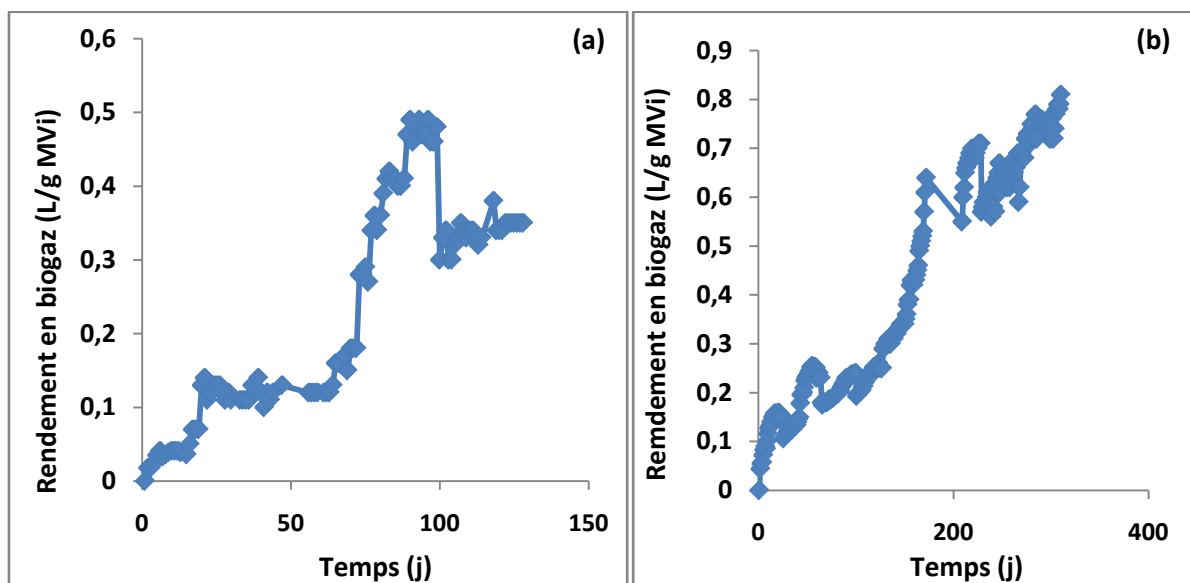


Figure 56: Evolution temporelle du rendement en biogaz exprimé en (l/g MV introduite) durant la digestion anaérobie des boues brutes (a) et prétraitées (b).

Le pH est un paramètre nécessaire dans la digestion anaérobie, considéré comme une réponse pour estimer la qualité du fonctionnement du réacteur à savoir la présence et/ou

absence des composés toxiques. Pour cela, la mesure du pH de l'influent et de l'effluent a été déterminée.

La figure 57 donne les pH de l'influent et de l'effluent au cours de la digestion anaérobie. Cette courbe montre une stabilité du pH (7,1-7,75) à l'entrée et à la sortie du réacteur au cours de la fermentation des boues prétraitées. Ceci montre bien le bon fonctionnement du réacteur anaérobie traitant ces boues. En effet, le système proposé pour le traitement des boues au sein du réacteur UASB a le potentiel d'améliorer l'efficacité du traitement. Il peut également réduire le décharge des polluants dans l'environnement et de réduire la toxicité des boues dans l'environnement aquatique (**Nair and Ahammad, 2015**).

L'ensemble de ces résultats sont en faveur de l'efficacité de prétraitement des boues par électro-Fenton pour l'amélioration de la production de biogaz. Ainsi, cette méthode permet d'augmenter la biodégradabilité et la vitesse de la méthanisation et par conséquent le rendement en biogaz. Pour cela, on a l'idée d'étudier la biodiversité microbienne des boues à l'entrée et à la sortie de ce réacteur par l'étude moléculaire.

IV. Etude moléculaire de la flore bactérienne présente lors de la digestion anaérobie des boues brutes et prétraitées par électro-Fenton

La méthode PCR-DGGE a été utilisée pour étudier la structure des communautés bactériennes dans le bioréacteur.

La structure de la communauté bactérienne dans le traitement avant et après le traitement des boues a été surveillée à l'aide de techniques de réaction en chaîne par polymérase (PCR) et d'électrophorèse en gel à gradient dénaturant (DGGE).

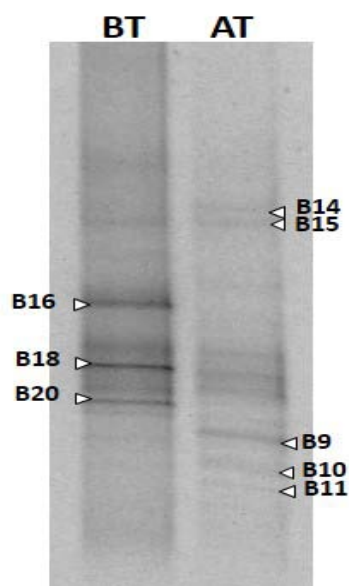


Figure 58 : Profils d'électrophorèse sur gel à gradient dénaturant (DGGE) des fragments de gènes ARNr 16S des bactéries amplifiées par PCR obtenues à partir des échantillons BT (Before Treatment) et AT (After Treatment) analysés.

Les profils DGGE ne montrent que deux bandes communes avant et après le traitement (bandes B15 et B18). Les bandes B16 et B20 ont été observées avant traitement, tandis que les bandes B9, B10, B11 et B14 ont été détectées après traitement. En fait, 8 bandes indiquées sur la figure 58 ont été excisées du gel DGGE et séquencées. Les identités des séquences nucléotidiques de huit bandes dominantes se situent dans une gamme de 84 à 100% de microorganismes spécifiques par rapport à la base de données de la banque de gènes (tableau 14).

Tableau 14: Les résultats de Blast sur les séquences d'ARNr 16S bactériennes des bandes DGGE sélectionnées à partir de deux échantillons de boues

Bandes	Longueur (pb)	Affiliation phylogénétique (Phylum ou Classe/Famille)	numéro d'accession	Pourcentage de similarité
B9	127	<i>Firmicutes</i> <i>Thermodesulfobiacae</i>	<i>Coprothermobacter proteolyticus</i> DSM 5265 / (NR_074653)	99
B10	142	<i>Nitrospirae</i> <i>Nitrospiraceae</i>	<i>Thermodesulfovibrio yellowstonii</i> DSM 11347/ (NR_074345)	92
B11	135	<i>Actinobacteria</i>	<i>Demequina lutea</i> SV45/	85

		<i>Demequinaceae</i>	(NR_044222)	
B14	127	<i>Firmicutes</i> <i>Lachnospiraceae</i>	<i>Oribacterium</i> <i>asaccharolyticum</i> ACB7/ (NR_125571)	97
B15	140	<i>Firmicutes</i> <i>Lachnospiraceae</i>	<i>Clostridium lavalense</i> CCRI- 9842/ (NR_044289)	100
B16	161	<i>Firmicutes</i> <i>Lachnospiraceae</i>	<i>Clostridium symbiosum</i> ATCC 14940/ (NR_118730)	99
B18	146	<i>Alphaproteobacte</i> <i>ria</i> <i>Rhodobiaceae</i>	<i>Parvibaculum lavamentivorans</i> DS-1 / (NR_074262)	84
B20	125	<i>Chloroflexi</i> <i>Caldilineaceae</i>	<i>Caldilinea tarbellica</i> D1-25- 10-4/ (NR_117797)	93

Un dendrogramme a été construit pour montrer la relation de toutes les séquences d'ADNr 16S partielles représentant les bandes DGGE excisées (Figure 58). Toutes les séquences appartiennent à Firmicutes, Proteobacteria (Alpha-proteobacteria class), Nitrospira et Phyloflexi phyla (figure 59).

L'arbre est basé sur la méthode de voisinage-jointure. Les valeurs de Bootstrap > 50% sont indiquées aux noeuds. La barre d'échelle représente une divergence de séquence estimée de 5%. La séquence de *Sulfolobus tokadaïi* a été utilisée comme hors-groupe.

Deux séquences (bande B15 et B16) appartiennent aux membres de la famille des Lachnospiraceae et ont été affectés à des espèces de *Clostridium* qui ont tendance à être dominantes dans les décharges et les digesteurs anaérobies (**Van Dyke et McCarthy, 2002, Burrell et al., 2004**). Par conséquent, dans les étapes initiales de la digestion de la biomasse, les membres de *Clostridium* produisent une grande variété d'enzymes extracellulaires pour dégrader de grandes molécules biologiques (telles que la cellulose, les xylanes, les protéines et les lipides en composants fermentables) (**Bryan et al., 2011**) et participer à l'Acétogénèse pour créer des précurseurs pour la production de méthane dans la phase de méthanogénèse (**Jaenicke et al., 2011**). Toutes les bactéries hydrolytiques dans les digesteurs anaérobies peuvent utiliser les produits d'hydrolyse comme substrats de croissance, principalement par fermentation, pour produire des acides gras volatils (VFA). Certaines espèces appartiennent à la famille Les Lachnospiraceae sont impliquées dans l'hydrolyse, acidogénèse et l'acétogénèse (**Cotta et Forster, 2006; Si et al., 2016**).

La bande B14 présente une forte similitude (97%) avec *Oribacterium parvum*, *Oribacterium asaccharolyticum* et *Oribacterium sinus*, souches strictement anaérobies, isolées

de la cavité bucale humaine et du pus sinusal (**Sizova et al., 2014, Carlier et al., 2004**). La bande B20 est affiliée au genre *Caldilinea* de la famille *Caldilineaceae* parmi le phylum de *chloroflexi*. La séquence (bande B20) présente 93% de similarité avec les espèces de *caldilinea tarbellica* et *Caldilinea aerophila*, les bactéries filamenteuses, thermophiles et anaérobies isolées d'un aquifère chaud profond dans le bassin d'Aquitaine (**Gregoire et al., 2011**) et un soufre-gazon au printemps chaud Japon (**Sekiguchi et al., 2003**), respectivement.

Certaines études ont démontré que certaines espèces appartiennent à la famille des *caldilinéacées* qui sont impliquées dans des étapes d'acidogenèse dans les réacteurs de fermentation (**Si et al., 2016**). La bande B9 était étroitement liée au genre *Copro-thermo-bacter* qui est actuellement classé dans le phylum *Firmicutes*. Néanmoins, plusieurs auteurs ont montré que le groupe *Copro-thermo-bacter* est le plus étroitement lié à la phyla *Dictyoglomi* et à *Thermotoga* (**Gagliano et al., 2015**). La séquence de la bande B9 a une forte similitude de 99% avec *Copro-thermo-bacter proteolyticus*, anciennement *Thermobacteroides proteolyticus*, qui a été isolée pour la première fois à partir d'un digesteur thermophile pour fermenter les déchets de tannerie et le fumier bovin (**Ollivier et al., 1985, Rainey et Stackebrandt, 1993**). On a constaté que cette souche avait une forte activité protéase pour dégrader les protéines et les peptides. Une autre espèce, *Coprothermobacter platensis*, a été isolée à partir d'un réacteur mésophilique méthanogène traitant des eaux usées riches en protéines (**Etchebehere et al., 1998**). Les *coprothermobacter* sont détectés dans la digestion anaérobie thermophile et mésophile et ils préfèrent la fermentation des protéines et des acides aminés par opposition à la fermentation des glucides (**Etchebehere et al., 1998**). *Coprothermobacter* produit également du H₂ et une croissance améliorée de ceux-ci est détectée en présence de H₂ en utilisant des méthanogènes (**Sasaki et al., 2011**). La bande B10 a été liée au genre *Thermo-desulfo-vibrio* qui a décrit comme un groupe de bactéries thermophiles obligatoirement anaérobies, qui réduisent le sulfate et d'autres composés soufrés (**Sekiguchi et al., 2008**). La séquence de la bande B10 a une similarité de 92% avec *Thermo-desulfo vibrio yellow stonii*, *Thermo-desulfo vibrio hydro-geniphilus* et *Thermo-desulfo vibrio islandicus* isolés à partir d'un événement thermique dans le lac Yellowstone ou le printemps chaud (**Henry et al., 1994; Sonne-Hansen et Ahring, 1999; Haouari et al., 2008**). Les bandes B11 étaient liées à la similarité de *Demequina lutea* 85%, des bactéries actinomycètes non filamenteuses, isolées à partir d'un sol de pergélisol (**Finster et al., 2009**). La bande B18 présente seulement 84% de similitude avec *Parvibaculum lavamentivorans*, une bactérie

hétérotrophique capable d'oxygéner l'alkyl benzène sulfonate linéaire tensioactif commercial (LAS) (Schleheck et al., 2007).

La majorité des séquences bactériennes d'ADNr 16S identifiées ont été affectées par les Firmicutes, Proteobacteria (Alpha-proteobacteria class), Nitrospira et Chloroflexi phyla. Ces microorganismes ont été signalés comme des bactéries anaérobies impliquées dans les étapes d'hydrolyse, d'acidogène et d'acétogénèse du digesteur anaérobie. En outre, des bactéries sulfato-réductrices ont également été détectées. Ces résultats illustrent une communauté de bactéries anaérobies diversifiées présentes avant et après le traitement des boues.