

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

Ecole Nationale Polytechnique



Département Génie de l'environnement

Laboratoires des Biotechnologies Environnementales et Génie des Procédés –BIOGEP-

## **Thèse de Doctorat en Sciences**

**Spécialité : Génie de l'environnement**

### **Traitement des effluents chargés par procédés physicochimiques et biologiques**

**Mme Latifa AZZOUZ ep. AIT HOCINE**

**Sous la direction de**

**M. Nabil MAMERI**

**Professeur**

**Mme. Nouara BOUDJEMA**

**MCA**

Composition du Jury :

**Président**

**M. Hocine GRIB**

**Professeur**

**ENP**

**Examineurs**

**Pr. Nadia ABDI**

**Professeur**

**ENP**

**Pr. Djamel ABDESSAMED**

**Professeur**

**USTHB**

**Pr. Nasserline SABAOU**

**Professeur**

**ENS**

**Pr. Yamina BENMALEK**

**Professeur**

**USTHB**

**ENP 2019**



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*

Ecole Nationale Polytechnique



Département Génie de l'environnement

Laboratoires des Biotechnologies Environnementales et Génie des Procédés –BIOGEP–

## **Thèse de Doctorat en Sciences**

Spécialité : Génie de l'environnement

**Traitement des effluents chargés par procédés physicochimiques  
et biologiques**

**Mme Latifa AZZOUZ ep. AIT HOCINE**

**Sous la direction de**

**M. Nabil MAMERI**

**Professeur**

**Mme. Nouara BOUDJEMA**

**MCA**

Composition du Jury :

**Président**

**M. Hocine GRIB**

**Professeur**

**ENP**

**Examineurs**

**Pr. Nadia ABDI**

**Professeur**

**ENP**

**Pr. Djamel ABDESSAMED**

**Professeur**

**USTHB**

**Pr. Nasserline SABAOU**

**Professeur**

**ENS**

**Pr. Yamina BENMALEK**

**Professeur**

**USTHB**

**ENP 2019**

DEDICACE :

A BIOGEP  
A une Algérie meilleure.

## REMERCIEMENTS :

C'est avec beaucoup d'émotions que j'écris ces quelques lignes pour vous remercier tous.

Au Pr. Nabil MAMERI, merci d'avoir résisté pendant cette période difficile que nous avons connue, vous avez très bien su garder le cap du navire, merci d'être resté un vrai pilier pour nous tous et pour notre laboratoire de recherche, merci monsieur d'avoir toujours cru en ma réussite, où même moi je n'y croyais plus. Ce fut un honneur pour moi d'être votre étudiante durant toutes ces années.

Au Dr. Nouara BOUDJEMA, mon amie, je ne peux passer sous silence ton énorme contribution pour la réalisation de cette thèse, tu m'as rattrapée au moment où je n'y croyais plus, merci de ne pas avoir hésité à m'aider, à m'orienter, à m'encourager et surtout à croire en moi. Merci pour tout le temps que tu m'as consacré.

Au Pr. Hocine GRIB merci de me faire l'honneur de présider le jury, et merci d'avoir jalousement gardé le patrimoine de notre laboratoire et de vous être battu pour nous.

Au Pr. Nadia ABDI merci madame de nous véhiculer l'image même de la force, de la dignité et de la persévérance, c'est un énorme honneur pour moi que vous examiniez le fruit de mon long parcours.

Au examinateurs le Pr. Djamel ABDESSAMED, le Pr. Yamina BENMALEK de l'USTHB et le Pr. Nasseridine SABAOU de l'ENS, merci d'avoir accepté de faire partie du jury et merci de me faire l'honneur de consacrer de votre temps pour examiner mon travail.

Au Pr. Stéphane DESOBRY, de l'ENSAIA de Nancy, merci de m'avoir généreusement accueillie dans vos laboratoires, je tiens aussi à remercier toute votre équipe ; Blandine SIMARD, Cédric PARIS, Myriam MICHEL, Anne-Laure EL-FASSI et Frédéric BORGES, pour toute l'aide et les conseils qu'ils m'ont donné, j'ai beaucoup appris en un mois seulement. Merci pour l'identification de mes souches, sans vous ces travaux n'auraient pas pu aboutir.

A Mr. Wael ELHORR, Directeur régional du projet réhabilitation de la décharge d'Oued Smar, Merci pour votre aide durant toutes ces années.

Au Dr. Adel AOUCHE, mon collègue à l'ESSAIA, merci de m'avoir appris en un rien de temps tout ce que tu savais sur l'utilisation du logiciel d'identification des souches.

A mon camarade de toujours, Mr. Mohamed KHERAT, merci pour ton aide, tes conseils et ta zen attitude, merci pour tout ce que tu as fait pour moi afin de réussir la publication de notre article.

A Mme Hamida BOUAAM, la secrétaire du département de génie de l'environnement, merci d'être toujours présente, pour que tout soit fait à temps, merci de m'avoir réglé des soucis administratifs durant ma grossesse, tu es humaine et unique.

A mon époux et ami KARIM, merci de m'avoir écoutée, encouragée, cru en moi et soutenue durant toutes ces années, merci pour ta patience et ta présence. Merci d'exister dans ma vie.

A ma mère et à mon père, j'ai beaucoup de chance de vous avoir près de moi, merci de m'aimer sans limites, merci de croire en moi.

A mes frères, mention spéciale pour RABEE, merci pour tes encouragements.

A mes neveux AMIR, MYRIAM et TARA LOUIZ, merci d'exister tout simplement.

A mon bébé, ma vie et mon amour FARES AMAZIGH, merci de donner un réel sens à ma vie.

MERCI à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce projet. MERCI au bon Dieu qui a croisé mon chemin avec le vôtre.

ملخص:

أجريت الدراسة الحالية في جزأين، وأهدافهما مكملتان، الأولى تتكون من معالجة المرشّيح من ستويلي بواسطة المفاعل الحيوي الغشائي. وأظهرت نتائج التحاليل التي تم الحصول عليها أنه قابل للتحلل البيولوجي، وهذه الملاحظة سمح لنا لاختيار للمعالجة البيولوجية وهي المفاعل الحيوي في دفعة تهيج محرض تماما مع أو بدون اللقاح الحمأة المنشطة. سمح لنا برم بتحقيق كفاءة 95%.

أما الجزء الثاني فيتكون من الكشف عن اختلال الغدد الصماء ث Bisphenol A في المرشحات من التصريف المختلفة، وإثبات فعالية المعالجة البيولوجية المذكورة أعلاه في القضاء على هذا الجزيء. في الواقع، والعلاج البيولوجي يحقق معدل القضاء 100%.

الكلمات الدالة : برم، المعالجة الهوائية، كود، الرشح، ثنائي الفينول أ، اضطرابات الغدد الصماء.

#### **Abstract :**

The present study is done in two parts, the objectives of which are complementary. The first consists of the treatment of Staoueli CET leachate from (LS) by membrane bioreactor. The results of analyzes obtained revealed that it was highly biodegradable. This observation allowed to opt for a biological treatment namely the aerated bioreactors in batch mode. The first one, by adding inoculum of activated sludge. The second bioreactor without inoculum. The BRM allowed to achieve COD removal efficiency of about 95%.

The second part of this work consists in the detection of an endocrine disruptor, Bisphenol A, in the leachates of various landfills. The main purpose was to prove the effectiveness of the biological treatment mentioned above in the elimination of this molecule. Indeed, the biological treatment achieves a totally BPA elimination rate.

**Key words :** BRM, aerobic treatment, COD, leachate, Bisphenol A, endocrine disruptors.

#### **Résumé :**

La présente étude s'est faite sur deux volets, dont les objectifs sont complémentaires, le premier consiste en un traitement des lixiviats du CET de Staoueli (LS) par bioréacteur à membrane UF. Les résultats d'analyses obtenus ont révélé que celui-ci était fortement biodégradable, cette constatation nous a permis d'opter pour un traitement biologique à savoir le bioréacteur aéré en batch process parfaitement agité avec ou sans inoculum de boues activées. Le BRM nous a permis d'atteindre un rendement d'élimination de la pollution évalué en DCO de l'ordre de 95%. Le deuxième volet, consiste en la détection d'un perturbateur endocrinien, a priori, le Bisphénol A dans les lixiviats de différentes décharges, et de prouver l'efficacité du traitement biologique sus-cité dans l'élimination de cette molécule. En effet, le traitement biologique permet d'atteindre un taux d'élimination du BPA de l'ordre de 100%.

**Mots clés :** BRM, traitement aérobie, DCO, lixiviat, Bisphenol A, perturbateurs endocriniens.

## **TABLE DES MATIERES :**

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Introduction:.....	12
<b>Partie 1</b> .....	16
1 Recherche bibliographique : .....	17
1.1 Définition et origine du lixiviat de décharges.....	17
1.2 Phénomène de lixiviation et mécanisme de formation au cours du temps .....	18
1.2.1 Processus mécanique .....	18
1.2.2 Processus chimique .....	18
1.2.3 Processus biologique .....	18
1.3 Composition et évolution de la qualité du lixiviat au cours du temps.....	21
1.3.1 Les lixiviats jeunes : .....	21
1.3.2 Les lixiviats intermédiaires : .....	21
1.3.3 Les lixiviats âgés ou stabilisés :.....	21
1.4 Pollution et impacts du lixiviat sur l'environnement .....	22
1.5 Les modes de traitement des lixiviats de décharges.....	22
1.5.1 Filtration membranaire .....	24
1.5.2 Les techniques membranaires à gradient de pression.....	25
1.5.3 Modes de filtration.....	25
1.6 Le bioréacteur à membrane BRM .....	26
1.6.1 Contexte .....	26
1.6.2 Configuration du BRM .....	27
1.6.3 Limitation des BRM .....	28
1.7 Traitement biologique .....	30
1.7.1 Le bioréacteur en discontinu (batch process).....	31
1.7.2 Cinétique de croissance microbienne .....	32
1.8 Le lixiviat des décharges source de perturbateurs endocriniens.....	33
1.9 Le Bisphénol A : .....	34
1.9.1 Concentrations du BPA dans l'environnement : .....	36
1.9.2 Risques liés à la présence du BPA dans l'environnement .....	36
1.9.3 Législations .....	37
<b>Partie 2</b> .....	38
2 Matériel et méthodes : .....	39
2.1 Matériel : .....	39
2.1.1 Points de prélèvement des lixiviats.....	39
2.1.2 Prélèvement de la boue activée.....	39
2.1.3 Dispositifs expérimentaux .....	40
2.2 Méthodes d'analyses : .....	43
2.2.1 Mesure des paramètres globaux des effluents aqueux.....	43

2.2.2	Mesure des paramètres globaux liés à la pollution organique .....	43
2.2.3	Extraction et analyse du BPA dans les échantillons liquides :.....	44
2.2.4	Echantillonnage et isolement des bactéries :.....	45
2.2.5	Préparation des échantillons :.....	45
2.2.6	Isolement et purification des souches obtenues : .....	45
2.2.7	Conservation des souches : .....	45
2.3	Identification des microorganismes :.....	46
2.3.1	Caractérisation phénotypique des souches : .....	46
2.3.2	Caractérisation génotypique des souches :.....	46
2.3.3	Réaction de polymérisation en chaîne (PCR), purification du fragment amplifié et séquençage : .....	47
2.3.4	Phylogénie moléculaire du gène 16S rDNA :.....	48
<b>Partie 3</b>	.....	<b>49</b>
3	Résultats et discussion .....	50
3.1	Partie I : Analyses du lixiviat et traitement par BRM: .....	50
3.1.1	Caractérisations des différents prélèvements de lixiviats : .....	50
3.2	Traitement du lixiviat de Staoueli « LS » par bioréacteur à membrane :.....	50
3.2.1	Traitement par bioréacteur aéré en mode batch: .....	50
3.2.2	Traitement par ultrafiltration.....	55
3.2.3	Le lixiviat prétraité par Bio-Lix.....	57
3.2.4	Le lixiviat prétraité par Bio-boue.....	59
3.3	Rendements du couplage bioréacteur à membrane (BRM) .....	61
3.4	Partie II : Caractérisation du bisphénol A dans les différents prélèvements de lixiviats bruts : ...	65
3.5	Partie III : Biodégradation du BPA présent dans les lixiviats par un consortium de microorganismes :.....	69
3.5.1	Cinétiques de suivi des paramètres globaux :.....	69
3.5.2	Performance d'abattement du BPA dans les différents prélèvements de lixiviats :.....	72
3.5.3	Partie IV : Biodégradation du BPA dans une culture pure par des souches isolées à partir de différents lixiviats : .....	76
3.5.4	PartieV : Identification de la souche LOSD .....	82
	CONCLUSION GENERALE.....	91
4	Conclusion Générale : .....	92
5	Bibliographiques : .....	96
6	ANNEXE 1 : Description des sites de prélèvements.....	114
7	ANNEXE 2 : Composition des milieux de cultures pour l'étude de la biodégradation du BPA dans les cultures pures .....	116
8	ANNEXE 3 : Protocole de la coloration de Gram.....	117
9	ANNEXE 4 : Courbe d'étalonnage du Bisphénol A par HPLC-UV.....	118





## **LISTE DES TABLEAUX**

Tableau 1 : Comparaison de l'efficacité des différents modes de traitement de lixiviats (Renou et al. 2008) .....	24
Tableau 2: Comparaison des différentes techniques séparatives à membrane (Aimar et al. 2010) .....	25
Tableau 3: Caractéristiques physicochimiques du BPA à 25 °C (National Center For Biotechnology Information, 2018) .....	35
Tableau 4 : Calendrier de prélèvements des échantillons de lixiviats.....	39
Tableau 5 : Séquence des amorces utilisées en PCR.....	48
Tableau 6: Caractéristiques physico-chimiques des échantillons de lixiviats.....	50
Tableau 7 : Concentration du bisphénol A dans les trois échantillons de lixiviats .....	66
Tableau 8 : Exemples de références sur la concentration du BPA analysée dans le lixiviat de décharges dans différents pays :.....	67
Tableau 9 : Résultats de la dégradation du BPA par chaque souche après 24h de contact.....	78

# LISTE DES FIGURES

Figure 1-1 : Schéma représentant la décomposition anaérobie de la matière organique dans une cellule de site d'enfouissement ( <i>in</i> El Hassani, 2016).	20
Figure 1-2: Mode de filtration (Bonnely, 2005).	26
Figure 1-3: BRM à boucle externe (Gagnaire et al. 2008).	28
Figure 1-4 : BRM à membrane immergée (Gagnaire et al. 2008).	28
Figure 1-5 : Schéma de fonctionnement du bioréacteur discontinu (Scriban, 1999).	31
Figure 1-6: Courbe de croissance microbienne (Scriban, 1999).	32
Figure 3-1: Cinétique d'abattement de la DCO dans les bioréacteurs Bio-boue (B1) et Bio-Lix (B2) au cours du temps de traitement ( $T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ , $\text{pH} = 7,5$ ).	51
Figure 3-2: Cinétique de croissance des microorganismes des bioréacteurs Bio-Boue (B1) et Bio-Lix (B2) au cours du traitement. ( $T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ , $\text{pH} = 7,5$ ).	53
Figure 3-3: Evolution du pH au cours du traitement pour les bioréacteurs Bio-Boue (B1) et Bio-Lix (B2). ( $T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ , $\text{pH} = 7,5$ ).	54
Figure 3-4: Perméabilité à l'eau de la membrane M5 avant ultrafiltration. ( $T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ ).	56
Figure 3-5: Influence de la pression transmembranaire sur le flux du perméat pour le lixiviat prétraité par Bio-Lix. ( $T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ ).	57
Figure 3-6: Perméabilité à l'eau avant et après l'ultrafiltration pour le lixiviat prétraité par Bio-Lix. ( $T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ ).	58
Figure 3-7: Perméabilité à l'eau de la membrane avant deuxième ultrafiltration. ( $T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ ).	59
Figure 3-8: Influence de la pression transmembranaire sur l'ultrafiltration du lixiviat prétraité par Bio-Boue. ( $T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ ).	60
Figure 3-9: Perméabilité à l'eau avant et après ultrafiltration du lixiviat prétraité par Bio-boue. ( $T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ ).	61
Figure 3-10: Rendement de l'abattement de la DCO par traitement avec le bioréacteur à membrane. Pour BRM-B et BRM-L.	62
Figure 3-11: Rendement de l'élimination des métaux lourds par le traitement	63
Figure 3-12 : Chromatogrammes A, B, C et D représentant les pics d'éluion du BPA pour les trois échantillons de lixiviats LC, LH, LB et le standards à un TR = 3.355 min. par HPLC-UV	66
Figure 3-13: Cinétique de suivi du pH au cours du traitement par bioréacteur aérobie pour LC, LH et LB.	70
Figure 3-14 : Cinétique d'abattement de la DCO au cours du temps de traitement par bioréacteur aérobie pour LC, LH et LB.	70
Figure 3-15: Cinétique de la croissance bactérienne (DO 600nm) en fonction du temps de traitement par bioréacteur aérobie pour LC, LH et LB.	71

Figure 3-16 : Cinétique d'abattement du bisphénol A au cours du temps de traitement par Bioréacteur, pour les lixiviats LC, LH et LB. Dans des conditions non limitantes en aération. ....	73
Figure 3-17: Profils des trois lixiviats LC, LH et LB à la fin du traitement du BPA par bioréacteurs, représentés par les Chromatogrammes A`, B` et C` respectivement. RT= 3,335 min. HPLC-UV. ....	75
Figure 3-18: Histogramme représentant les taux d'élimination du BPA dans les trois lixiviats LC, LH et LB. Avant et après traitement.....	76
Figure 3-19 : Les concentrations du BPA dégradé par les différentes souches isolées à la fin des 24h de culture, dans le milieu BPA-BPYS. pH = 7.0, T°= 27°C.....	77
Figure 3-20 : Exemple de chromatogramme représentant l'absence du pic BPA, en comparaison avec la solution test BPA-PBYS à 10 ppm de BPA. TR = 3,376 min.....	79
Figure 3-21 : Histogrammes représentant la croissance bactérienne de chaque souche à la fin de la biodégradation du BPA dans le milieu BPA-BPYS. pH = 7.0, T°= 27°C. ....	79
Figure 3-22 : Histogramme empilé pour démontrer l'évolution dans le temps de la croissance de chaque isolat et leur efficacité de dégradation du BPA.....	80
Figure 3-23 : Concentrations résiduelles du BPA pour LOSD/LOFA/LOFC/LOFB/LOFE/LHSC. Limite de détection : 1,5 µg.L <sup>-1</sup> .....	81
Figure 3-24 : Micro-photo représentant la souche LOSD. (Photo prise par Toup View) .....	82
Figure 3-25 : Extraction de l' ADN génomique du lysat , avec le protocole PCR (PE-030-1 PCR 16S rD1-fD1 avec M: marqueur DNA 2-log , 1 : avec ADN génomique comme matrice , 2 : avec le lysat comme matrice selon ce protocole.....	83
Figure 3-26 : Amplification du gène 16S rDNA des souches examinées. (Canal1 : LOSD ; M : marqueur de taille.....	83
Figure 3-27 : Exemple d'un chromatogramme obtenu pour les séquences du gène 16S rDNA.....	84
Figure 3-28 : Interface pour la Soumission online après traitement des séquences obtenues des gènes 16S rDNA sur le site EZBioCloud <a href="https://www.ezbiocloud.net/identify">https://www.ezbiocloud.net/identify</a> .....	84
Figure 3-29 : Résultat obtenu sur le site de taxonomie spécialisé.....	85
Figure 3-30 : Arbre phylogénétique basée sur les gènes codant l'ARN 16S montrant la position de l'isolat LOSD en utilisant la méthode Neighbor-Joining (Saitou et Nei, 1987). Les distances sont calculées par la méthode Likelihood (Tamura et al. 1993) par le logiciel Mega7 (Kumar et al. 2016). ....	87

## **LISTE DES ABRÉVIATIONS :**

<b>AGV :</b>	Acides gras volatiles
<b>ADN :</b>	Acide désoxy-adénonucléique
<b>ARN :</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>Bio-Boue :</b>	Bioréacteur à lixiviat brut additionné de boues activées
<b>Bio-Lix :</b>	Bioréacteur à lixiviat brut
<b>BPA :</b>	Bisphénol A
<b>BRM :</b>	Bioréacteur à membrane
<b>BRM-B :</b>	Bioréacteur Bio-Boue couplé à la membrane UF
<b>BRM-L :</b>	Bioréacteur Bio-Lix couplé à la membrane UF
<b>CEPA :</b>	Canadian Environmental Protection Act
<b>C.E.T :</b>	Centre d'enfouissement technique
<b>CSDU :</b>	Centre de stockage des déchets ultimes
<b>DBO<sub>5</sub> :</b>	Demande biochimique en oxygène pendant 5 jours
<b>DCO :</b>	Demande chimique en oxygène
<b>EDTA :</b>	Ethylène diamine tétra-acétate
<b>GN :</b>	Gélose nutritive
<b>JORA :</b>	Journal officiel de la république Algérienne
<b>LB :</b>	Bioréacteur à lixiviat de Blida
<b>LC :</b>	Bioréacteur à lixiviat de Corso
<b>LH :</b>	Bioréacteur à lixiviat de Hamici
<b>LS :</b>	Bioréacteur à lixiviat de Staoueli
<b>MES :</b>	Matière en suspension
<b>MF :</b>	Microfiltration
<b>MVS :</b>	Matière volatile sèche
<b>NF :</b>	Nanofiltration
<b>OI :</b>	Osmose inverse
<b>PE :</b>	Perturbateurs endocriniens
<b>pH :</b>	Potentiel d'hydrogène
<b>SAA :</b>	Spectrométrie d'absorption atomique
<b>STEP :</b>	Station d'épuration des eaux usées urbaines
<b>UF :</b>	Ultrafiltration
<b>UV :</b>	Ultra-viole

# **INTRODUCTION**

## Introduction :

Un déchet, selon les économistes, est défini comme étant un matériau ou sous-produit de l'activité humaine dont le coût et les moyens de disposition sont plus faibles que son utilisation (McBean et al. 1995 ; Serpell et Alarcón, 1998). Le degré et la limite de cette définition ne sont pas statiques, ils évoluent en fonction des progrès technologiques. Ainsi, le papier, le plastique, le verre et les métaux auparavant considérés comme déchets sont, actuellement, partiellement réutilisés et recyclés. De même, pour les déchets organiques, le reste des aliments et de jardinage sont compostés pour produire un nouveau produit pour l'amendement des terres agricoles ou encore fermentées pour la production du méthane gazeux. Malheureusement, ces nouvelles pratiques ne sont pas totalement appliquées en Algérie, à cause du déficit en filières de recyclage de la matière première, qu'elle soit inerte ou labile. La gestion des déchets rencontre donc de très nombreuses difficultés, tant du point de vue technique, économique, que méthodologique et organisationnel. La mise en décharge présente l'avantage d'éliminer d'importants volumes à des coûts raisonnables et reste ainsi le moyen privilégié pour la gestion des déchets solides en Algérie. (Aina, 2006). Cependant, elle n'est pas pour autant la plus environnementale qui soit. En effet, l'un des risques majeurs associé à cette méthode est les eaux de lixiviation. Ces dernières sont des eaux générées suite à l'infiltration des eaux de précipitations à travers les cellules d'enfouissement ainsi que l'humidité générée par la décomposition des déchets. Ces eaux sont très chargées en contaminants et peuvent avoir des répercussions néfastes sur les eaux souterraines par infiltration ou encore sur les eaux de surfaces. Le traitement des lixiviats demande une connaissance et une caractérisation précises de ces effluents (lixiviats) afin de choisir et de concevoir le système de traitement le plus adéquat. (Liu et al. 2001 ; He et al. 2005 ; François et al. 2007)

D'autre part, avec l'évolution des techniques de détection et de quantification des polluants, de nouveaux composés chimiques sont apparus suscitant plus d'inquiétude en ce qui concerne leurs répercussions sur la qualité de la vie humaine et de son environnement. Cette nouvelle catégorie de polluants est dénommée « polluants émergents ». Ce sont en effet des composés chimiques naturels ou synthétiques n'ayant pas été détectés auparavant, susceptibles d'induire des effets sur l'environnement et la santé humaine.

Le bisphénol A (BPA) fait partie de cette catégorie de polluants émergents et a été choisi dans cette étude comme paramètre important de suivi de l'efficacité du traitement choisi.

En effet, le BPA a été détecté dans les lixiviats des sites d'enfouissement sanitaire ainsi que dans les stations de traitement des eaux usées urbaines. Au niveau des lixiviats, la concentration du BPA varie de moins de 0,01 µg/L à 25 000 µg/L (**Kalmykova et al. 2013 ; Schwarzbauer et al. 2002**). Le BPA peut donc subir une lixiviation durant la dégradation des déchets enfouis. Une étude menée par **Xu et al. (2011)** sur le PVC renfermant 12,1 µg/g de BPA démontre que ce dernier peut être lixivié à 34,7% en eau distillée. Pour les résines époxy utilisées comme revêtement intérieur de différents matériaux destinés principalement à l'industrie de conserve agroalimentaire, les tests montrent une lixiviation de l'ordre de 0,9 µg/m<sup>2</sup> et 3,5 µg/m<sup>2</sup> pour la résine époxy-acrylate pour une concentration initiale de BPA libre non polymérisé de 9 µg/g et 4,4 µg/g respectivement (**Sakamoto et al. 2007**).

Le BPA est classé comme perturbateur endocrinien en raison de sa capacité à mimer et/ou inhiber des hormones ce qui peut provoquer un dysfonctionnement du système endocrinien des espèces exposées (**Kalmykova et al. 2014 ; Nalbone et al. 2011; Mohapatra et al. 2010**). Ce composé synthétique a été l'objet d'une forte médiatisation internationale d'un point de vue sanitaire. Les connaissances environnementales actuelles le concernant s'avèrent très limitées en raison de l'absence actuelle de réglementation.

Puisque Le Bisphénol A est massivement utilisé dans la fabrication de plastiques polycarbonates et de résines époxydes (**Commission européenne, 2008**), et est présent dans au moins 160 applications différentes, dont de nombreux objets de la vie quotidienne et une large gamme de matériaux urbains. L'étude du bisphénol A dans les rejets liquides des centres d'enfouissements techniques est plus que plausible, du moment que ces matériaux se retrouveraient en tant que déchets ultimes mis en décharge.

Les traitements des eaux polluées (lixiviats et eaux usées) actuels sont basés sur l'élimination de la matière organique, des nutriments et des ions métalliques (**Renou et al. 2008**). Une partie des polluants d'intérêt émergent, dont le BPA, sont partiellement éliminés et constituent un risque pour l'environnement et pour la santé humaine (**Clara et al. 2005 ; Ruel et al. 2011**).

De plus, une décision d'amélioration ou d'adaptation d'un procédé de traitement déjà en place pour l'élimination d'un tel polluant, passent par l'acquisition d'informations pertinentes dont la présence, la concentration ainsi que l'évaluation des mécanismes d'élimination de ces derniers.

Les présents travaux de recherche ont été réalisés sur différents lixiviats prélevés au niveau de différents points de la capitale (Alger) et d'autres wilayas, plus précisément sur 5 centres



d'enfouissement techniques, dont quatre d'entre eux restent encore opérationnels. Nous citons les centres : Hamici, Corso, Khenchela et Blida. Le CET de Staoueli a été fermé pour toutes activités d'exploitation depuis 2014. Des prélèvements ont été effectués au niveau de la décharge d'Oued Smar, celle-ci n'ayant jamais été réglementée, reste classée en tant que décharge sauvage, aujourd'hui réhabilitée en jardin.

Nos travaux sont scindés en trois parties distinctes :

Une première partie expérimentale consiste en l'utilisation d'un bioréacteur à membrane afin de traiter un lixiviat jeune (CET de Staoueli). Le Bioréacteur est de type aéré parfaitement agité en mode batch process. Ce traitement sera couplé à un procédé membranaire d'ultrafiltration.

L'objectif principal de cette étude est de prouver l'efficacité des microorganismes autochtones du lixiviat dans le traitement biologique aérobie, sans ensemencement par des boues activées des stations d'épurations. Signalons que l'ajout des boues activées des STEP est une pratique toujours en vigueur dans les stations de traitement des lixiviats des décharges en Algérie, générant beaucoup de boues à la fin du traitement créant des déchets supplémentaires. La DCO (Demande Chimique en oxygène) a été le paramètre principal pour l'évaluation de l'efficacité d'abattement de la pollution organique globale.

La deuxième partie expérimentale consiste en la détection du Bisphénol A dans trois échantillons de lixiviats, où un traitement a été imposé pour son élimination. Le choix a été porté sur un simple traitement par bioréacteur aéré agité en mode batch. Vu que la première partie expérimentale a prouvé que les microorganismes autochtones présentaient le même rendement d'élimination de la DCO que les boues activées ; Nous avons déterminé l'efficacité des microorganismes naturellement présents dans les lixiviats pour l'abattement du BPA ;

La troisième partie expérimentale est la suite logique de la deuxième, où nous avons isolé des bactéries à partir de plusieurs échantillons de lixiviats. Une étude de la biodégradation a été entreprise pour chaque isolat en culture pure en présence d'une concentration connue de BPA. Il a été recherché à partir de là, la bactérie ayant donné le meilleur rendement d'élimination et ayant présenté une bonne croissance durant l'opération.

Les objectifs spécifiques sont donc déclinés comme suit :

- Quantification de la DCO et du BPA au niveau des lixiviats bruts.
- Quantification de la DCO et du BPA au niveau des lixiviats au cours du temps de traitement.

- Quantification du BPA résiduel, après le traitement par biodégradation, au niveau des solutions synthétiques dans lesquelles, les microorganismes isolés depuis les différents lixiviats ont été inoculés pour chaque essai.

# **Partie 1**

# **1 Recherche bibliographique :**

---

## **1.1 Définition et origine du lixiviat de décharges**

Le lixiviat est défini comme étant l'eau qui percole à travers les déchets en se chargeant bactériologiquement et chimiquement de substances minérales et organiques : c'est « le jus des poubelles ». La composition des déchets enfouis, leur degré de décomposition, leur taux d'humidité et l'âge de la décharge sont les principaux paramètres influençant la composition du lixiviat. La production massive de celui-ci engendre des risques de pollution des sols, des rivières et des nappes phréatiques. Il est donc nécessaire de le collecter et de le traiter avant son rejet dans le milieu naturel (**Collins, 2001**).

Les matières qui entrent dans la composition d'un centre de stockage sont : les déchets, les eaux météoriques et les matériaux constitutifs de l'installation. Ainsi, la quantité et la qualité des flux sortants seront directement influencées par la qualité et la quantité des flux entrants. (**Chu et al. 2008 ; Calabro et al. 2010 ; Zhang et al. 2013**).

L'eau est le vecteur principal de l'évolution des lixiviats de décharge. Les entrées d'eau dans un centre de stockage sont constituées des précipitations météoriques directes auxquelles s'ajoute l'eau apportée par les déchets eux-mêmes, et dans certains cas des eaux de ruissellement.

Sous l'effet des infiltrations de l'eau de pluie, voire de nappe souterraine, les déchets sont lixiviés. Les eaux entraînent dans leur migration une partie des sous-produits finaux ou intermédiaires. Seuls les composés liquides, solubles voire colloïdaux, sont entraînés avec les eaux et constituent les rejets liquides ou lixiviats (**Chassagnac T. 2005**).

Ces rejets liquides seront chargés bactériologiquement et surtout chimiquement, de substances tant minérales qu'organiques. Ils peuvent se mélanger aux eaux de surface comme aux eaux souterraines et donc constituer un élément polluant tant par leur aspect quantitatif que qualitatif (éléments éco toxicologiques) (**Kalka et al. 2010**). Il faut toutefois tenir compte de l'humidité des déchets et, parfois au niveau des eaux superficielles et souterraines en cas de crue ou de pluies soudaines et violentes.

La lixiviation est un phénomène de lessivage d'éléments solubles, ce qui entraîne une modification du matériau originel ainsi que du solvant qui cause l'altération de ce dernier.

Le lixiviat est le liquide résiduel provenant de la percolation des eaux à travers les déchets. Il est chargé de divers types de polluants : organiques, minéraux et métalliques ; ceci par extraction des composés solubles des déchets (**Matejka, 1995 ; Thonart et al. 1997**). Ces eaux

proviennent des précipitations, du ruissellement ou des déchets eux-mêmes. Les données quantitatives et qualitatives obtenues sur plusieurs sites montrent une très grande variabilité de la composition des lixiviats. D'une manière générale, la formation de lixiviats à partir des déchets met en jeu une grande diversité de phénomènes, résultant essentiellement du mode d'exploitation du centre de stockage (hauteur de déchets, nature et qualité des déchets, surface exploitée, compactage, âge des déchets etc.) et de l'infiltration des eaux (Aina, 2006).

## **1.2 Phénomène de lixiviation et mécanisme de formation au cours du temps**

Plusieurs processus se superposent lors de la formation des lixiviats de décharge, les principaux paramètres influençant la composition du lixiviat sont : l'influence du climat et de l'hydrogéologie du site, l'influence du compactage, l'influence de la couverture sur les lixiviats, la topographie du site, l'âge, la surface d'exploitation, le volume, la hauteur et la nature des déchets (Leclerc et al. 1982 ; Belkacemi, 1993 ; Berthe, 2006).

### **1.2.1 Processus mécanique**

On pourra parler des phénomènes hydrodynamiques, tels l'infiltration des eaux pluviales, la vitesse de percolation, la viscosité et la rugosité du milieu, l'adsorption, la neutralisation et le transfert de matière (Rodriguez et al. 2000 ; Lagier et al. 2001 ; François, 2004 ; Labanowski, 2004).

### **1.2.2 Processus chimique**

L'évolution du pH, du pouvoir tampon, de la salinité et du potentiel d'oxydo-réduction des percolâts est le résultat des mécanismes chimiques de solubilisation, de complexation, et d'oxydo-réduction (Rodriguez et al. 2000 ; Lagier et al. 2001 ; François, 2004 ; Labanowski, 2004).

### **1.2.3 Processus biologique**

L'évolution de la partie organique des déchets mis en décharge est le résultat d'une évolution biologique. En général, la décomposition de la matière organique des déchets passe par trois phases de dégradation.

#### **1.2.3.1 La Thermophase :**

Les microorganismes aérobies présents dans les déchets amorcent la dégradation aérobie. La production d'eau métabolique après oxydation totale par voie aérobie atteint environ 330 litres

par tonne de matière sèche. Mais cette quantité d'eau est facilement éliminée par évaporation dans la mesure où la température d'équilibre est de 40 à 60 °C et peut atteindre 70 °C. Cette phase est souvent appelée fermentation aérobie, pendant laquelle l'eau, riche en CO<sub>2</sub>, dissout les sels solubles tels que NaCl, qui sont présents dans les ordures (**Aguilar-Juarez, 2000 ; Barlaz et al. 2002**).

### 1.2.3.2 L'hydrolyse :

Cette phase appelée aussi : phase transitoire ; se caractérise par la faible présence d'oxygène et on assiste au premier stade de décomposition anaérobie.

En effet les microorganismes anaérobies facultatifs décomposent la matière organique. On assiste aussi à une importante production de CO<sub>2</sub> et d'acides organiques (acides gras volatils). Donc, il y a abaissement du pH et augmentation de la demande chimique en oxygène (DCO) (**Chynoweth & Pullammanappallil, 1996 ; Williams, 1998 ; Mata-Alvarez, 2003**)

### 1.2.3.3 La fermentation anaérobie

A ce stade la température diminue et la teneur en gaz carbonique en augmentant, favorise l'apparition de bactéries anaérobies strictes. Cette phase présente l'avantage de produire du méthane (biogaz).

La teneur en CH<sub>4</sub> dans le gaz peut varier entre 40 et 60% en volume. La production du méthane peut durer plus d'une dizaine d'années. (**Farquhar & Rovers, 1973 ; Barlaz et al. 1990**). En fonction des transformations effectuées par les différentes populations bactériennes anaérobies on peut considérer quatre étapes :

#### 1.2.3.3.1 L'acidogénèse :

De très nombreuses espèces bactériennes anaérobies facultatives ou anaérobies strictes prennent part à cette phase qui en premier lieu transforme les produits de l'hydrolyse en des composés précurseurs de CH<sub>4</sub>, d'acétate, CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>. Et en second lieu, transforment l'acétate en alcools et acides gras volatils (AGV). Cette étape aboutit à un changement important des conditions d'acidité du milieu et l'abaissement du pH qui provoque la solubilisation de certains métaux (**Williams, 1998**).

#### 1.2.3.3.2 L'acétogénèse :

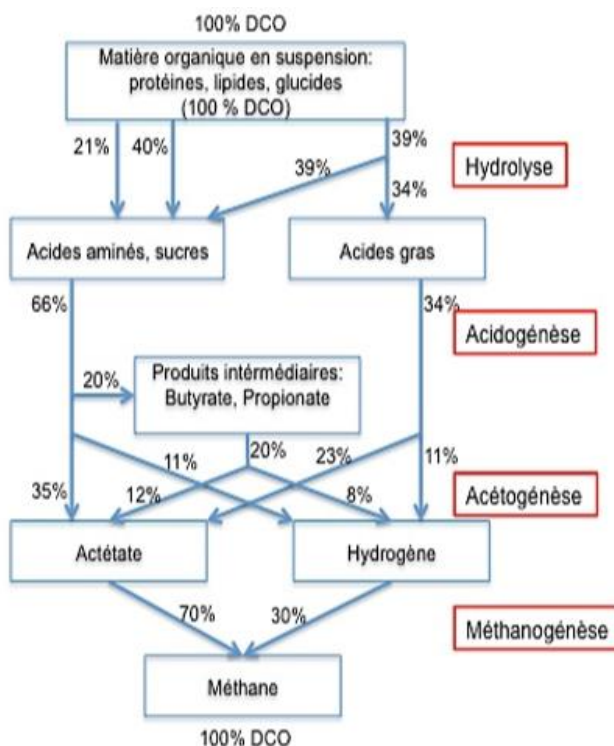
Dans cette phase se produit la transformation des sucres, des AGV et des alcools en acétate, formate et gaz (CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>), qui seuls sont assimilables dans la phase méthanogène. C'est pourquoi, la majorité des acides gras volatils se transforment en acide acétique (**Barlaz, 1996 ; Stegmann, 1997**).

### 1.2.3.3.3 La méthanogènese :

Il se produit deux réactions de méthanogènes simultanées. Les bactéries méthanogènes sont des bactéries anaérobies strictes. Bien que la composition du gaz obtenu soit très variable, les principales composantes sont le CH<sub>4</sub> et le CO<sub>2</sub>. La somme de leurs concentrations avoisine généralement 99%. La présence d'autres composés dans le gaz résulterait d'une composition anormale du déchet. On note au cours de cette phase : une augmentation du pH sous le contrôle de la capacité tampon des carbonates, une valeur minimale du potentiel redox, une complexation puis précipitation des déchets métalliques et enfin, une diminution de la charge organique avec l'augmentation de la production du biogaz (**Aragno, 1988**).

### 1.2.3.3.4 La maturation :

C'est la fin des phénomènes de biodégradation, avec stabilisation de la matière organique et chute de la production de biogaz. Il y a méthanisation très lente des produits biodégradables avec formation des molécules complexes de type acides humiques (**Delineau & Budka, 2000 ; Pichler & Kögel-Knaber, 2000 ; Kang et al. 2002 ; Labanowski, 2004 ; François, 2004**).



**Figure 1-1 :** Schéma représentant la décomposition anaérobie de la matière organique dans une cellule de site d'enfouissement (*in El Hassani, 2016*).

### **1.3 Composition et évolution de la qualité du lixiviat au cours du temps**

Le rapport DBO<sub>5</sub>/DCO, qui traduit la biodégradation « potentielle » des lixiviats, diminue très rapidement avec l'âge du centre de stockage des déchets. Des valeurs proches de 0,7 sont atteintes sur les sites jeunes alors que les lixiviats vieux affichent des rapports inférieurs à 0,05. Cette diminution de la biodégradabilité de l'effluent est due au relargage dans le milieu de grosses macromolécules organiques, du type substances humiques (**Kang et al. 2002 ; Wang et al. 2002**). Enfin, toutes ces études montrent, d'une part, que la majorité de l'azote est présente sous forme ammoniacale et, d'autre part, que les métaux lourds semblent très affectés par l'évolution temporelle du lixiviat. Suivant le stade d'évolution biologique des déchets, trois types de lixiviats ont été distingués (**Barres et al. 1990**).

#### **1.3.1 Les lixiviats jeunes :**

Les lixiviats jeunes se caractérisent par une charge organique élevée relativement biodégradable (seuil de biodégradabilité DBO<sub>5</sub>/DCO > 0,3) constituée principalement d'AGV. Ces lixiviats peuvent être chargés en métaux (jusqu'à 2 g.L<sup>-1</sup>) du fait de leur pH relativement bas (< 6,5). Ils correspondent aux premières phases non méthanogènes de l'évolution d'un CSDU (**Barres et al. 1990**). Une étude sur le lixiviat d'une décharge au Canada a permis d'obtenir un seuil de biodégradabilité de l'ordre de 0,7 (**El Hassani, 2016**).

#### **1.3.2 Les lixiviats intermédiaires :**

Les lixiviats intermédiaires sont obtenus au fur et à mesure que le CSDU vieillit et que les déchets se stabilisent, la charge organique diminue et les AGV se raréfient (seuil de biodégradabilité DBO<sub>5</sub>/DCO entre 0,1 et 0,3) (**Millot, 1986 ; Ramade, 1998**), au profit de composés de hauts poids moléculaires. L'émergence de ces composés tend à diminuer la biodégradabilité du lixiviat. De ce fait, le pH est voisin de la neutralité et la charge en métaux devient négligeable. Ces lixiviats correspondent globalement à la phase méthanogène stable (**Barres et al. 1990**).

#### **1.3.3 Les lixiviats âgés ou stabilisés :**

Les lixiviats âgés ou stabilisés sont caractérisés par une faible charge organique, composée essentiellement des substances humiques (acides fulviques et humiques) de hauts poids moléculaires. Sont également présents des composés de faibles poids moléculaires tout aussi réfractaires à la biodégradation (DBO<sub>5</sub>/DCO < 0,1) (**Millot, 1986 ; Ramade, 1998**). Beaucoup d'études ont démontré ce type de résultats, **Chemlal et al. (2014)** ont travaillé sur la décharge d'Oued Smar (Algérie) dont le ratio est de 0,045. Ainsi que **Abed et al. (2014)**, sur la décharge



de Kenitra (Maroc) dont le ratio est de 0,04. Le même résultat a été obtenu précédemment, lors d'une étude sur une décharge au Liban par **Aoun et al. (1998)**.

#### **1.4 Pollution et impacts du lixiviat sur l'environnement**

L'émission des polluants vers les eaux de surface (lacs, cours d'eau, zones humides) est conditionnée par les mêmes facteurs que pour les eaux souterraines. Le transfert vers ces eaux est dicté par les facteurs suivants :

- L'imperméabilité des sols qui favorise le ruissellement au détriment de l'infiltration ;
- La pente de la ligne d'eau jusqu'à la berge ;
- L'encombrement de la ligne d'eau (obstacle, rétention, végétation...) qui dicte le temps de transit ;
- la distance aux berges.

Durant ce transfert vers les eaux de surface, une atténuation naturelle de la charge polluante est souvent constatée. Elle peut être très efficace dans les zones humides où la présence conjuguée de la strate des macrophytes (joncs, roseaux, végétation hygrophile) et de sols vasards très riches en matière organique joue en faveur d'une dégradation rapide et d'un piégeage des micropolluants. De même, la capacité auto épuratrice des cours d'eau peut être significative, limitant ainsi le tronçon impacté (**Chassagnac, 2005**).

Les impacts types résultent surtout de la mise en solution des polluants solubles, de la surmultiplication d'une microflore spécifique et d'un déficit en oxygénation du milieu (consommation de l'oxygène dissous par les processus de biodégradation).

Ils sont les suivants :

- Perte de la qualité des eaux, perte de la potabilité des eaux ;
- Perte de la biodiversité (surdéveloppement d'espèces au détriment d'autres) ;
- Intoxication de la faune et de la flore par anaérobiose, voire de la chaîne alimentaire par bioaccumulation (micropolluants) (**Chassagnac, 2005**).

#### **1.5 Les modes de traitement des lixiviats de décharges**

La difficulté d'identification et quantification des polluants contenus dans les lixiviats, rend difficile le traitement de ces derniers (**Chu et al. 1994**). Plusieurs critères influencent la

formation des lixiviats et par conséquent la charge en polluants, **McBean et al. (1995)** énumèrent cinq principaux facteurs à savoir la composition des déchets, la quantité de l'eau infiltrée, le taux d'humidité dans les déchets, la hauteur des cellules dans lesquelles les déchets sont enfouis et la température à l'intérieur de ces cellules. Ces facteurs, qui diffèrent dans le temps et dans l'espace, font que le produit, le lixiviat, obtenu dans un site d'enfouissement varie d'un site à l'autre selon la combinaison des facteurs cités précédemment ainsi que leur intensité. Cela a une conséquence sur la décision du choix de mode de traitement des lixiviats.

Trois scénarios pour la gestion de traitement des lixiviats sont possibles. Le premier est un traitement total des lixiviats sur site. Le deuxième consiste en un traitement partiel. Le troisième scénario est le transfert des lixiviats vers l'extérieur. Pour les deux derniers scénarios, les lixiviats vont être acheminés vers un site spécialisé, soit une unité de traitement des eaux polluées (**McBean et al. 1995**). Le transport peut être assuré soit par un réseau d'assainissement soit par camion-citerne (**McBean et al. 1995**).

Le traitement des lixiviats peut être apparenté avec le traitement des eaux usées. Toutefois, vu les différents facteurs et la grande variabilité des éléments caractérisant les lixiviats, l'abattement de polluants devient plus complexe que celui des eaux usées urbaines (**Robinson et Grantham, 1988**). Les lixiviats ont des valeurs en DBO et DCO qui peuvent aller jusqu'à 200 fois celles des eaux usées urbaines (**Robinson et Grantham, 1988**). En plus, les quantités ainsi que les débits ne sont pas les mêmes et les fortes productions de lixiviats sont observées en hiver ou lors de la saison de fonte de neige.

D'une manière générale, les modes de traitement des lixiviats peuvent être soit conventionnels ou non conventionnels. Le traitement conventionnel comprend le transfert de ces derniers soit par recyclage ou par traitement combiné avec les eaux usées domestiques, le traitement biologique en aérobie et/ou anaérobie et le traitement physico-chimique soit par oxydation, aération, précipitation, adsorption, coagulation, floculation et sédimentation (**Renou et al. 2008**). Le traitement non conventionnel est essentiellement le traitement membranaire, dont la microfiltration, l'ultrafiltration, la nano filtration et l'osmose inverse (**Renou et al. 2008 ; Talalaj, 2015**). Le tableau 1, résume les performances des différents types de traitements, par rapport au type de lixiviat à traiter.

Pour le choix et la conception d'une unité de traitement des lixiviats des sites d'enfouissement sanitaire, il est impératif d'avoir une excellente connaissance du mode d'enfouissement, la conception du site d'enfouissement en lui-même, la quantité et la qualité des lixiviats, le degré de traitement exigé par la réglementation et le mode de disposition des résidus ainsi que les

effluents ultimes (**Qasim and Chiang, 1994**). Ce dernier va fixer les niveaux d'efficacité de traitement à mettre en place.

**Tableau 1 : Comparaison de l'efficacité des différents modes de traitement de lixiviats (Renou et al. 2008)**

Procédé		Type de lixiviat			Élimination (%)			MES	Turbidité	Résidus
		Jeune (1 an)	Intermédiaire (5 ans)	Vieux (15 ans)	DBO	DCO	TKN			
Transfert	Traitement combiné avec une station de traitement des eaux usées urbaines	Excellent	Acceptable	Faible	Dépend de l'efficacité de la station de traitement des eaux urbaines					
	Recyclage	Excellent	Acceptable	Faible	>90	60-80	-	-	-	-
	Lagunage	Excellent	Acceptable	Faible	80	40-95	>80	30-40	30-40	Boues
Traitement physico-chimique	Coagulation-Floculation	Faible	Acceptable	Acceptable	-	40-60	<30	>80	>80	Boues
	Précipitation chimique	Faible	Acceptable	Faible	-	<30	<30	30-40	>80	Boues
	Adsorption	Faible	Acceptable	Excellent	>80	70-90	-	-	50-70	-
	Oxydation	Faible	Acceptable	Acceptable	-	30-90	-	-	>80	Ozone résiduel
	Aération	Faible	Acceptable	Acceptable	-	<30	>80	-	30-40	Mélange Air-NH <sub>3</sub>
Traitement biologique	Aérobie	Excellent	Acceptable	Faible	>80	60-90	>80	60-80	-	Excès en biomasse
	Anaérobie	Excellent	Acceptable	Faible	>80	60-80	>80	60-80	-	Excès en biomasse
	Réacteur membranaire	Excellent	Acceptable	Acceptable	>80	>85	>80	>99	40-60	Excès en biomasse
Filtration membranaire	Ultrafiltration	Faible à acceptable			-	50	60-80	>99	>99	Concentrât
	Nanofiltration	Excellent	Excellent	Excellent	80	60-80	60-80	>99	>99	Concentrât
	Osiose inverse	Excellent	Excellent	Excellent	>90	>90	>90	>99	>99	Concentrât

## 1.5.1 Filtration membranaire

### 1.5.1.1 Principe

On appelle membrane tout matériau qui possède la propriété d'opposer une résistance sélective au transfert des différents constituants d'un fluide, donc permet la séparation de certains des éléments composant ce fluide (**Degrémont, 1989**). Sous l'effet d'une force motrice, elle permet le transfert ou la rétention de certains composants entre les deux milieux qu'elle sépare. La phase retenue constitue alors le retentât, ou concentrât, alors que la phase ayant traversé la membrane s'appelle le pérémat (ou filtrat).

Les différentes techniques membranaires peuvent être classées selon la nature de la force motrice mise en jeu : un gradient de pression  $\Delta P$  ; un gradient de concentration  $\Delta C$  ; un gradient de potentiel électrique  $\Delta E$  ; un gradient de pression partielle  $\Delta p$  ; un gradient de température  $\Delta T$ .

Nous nous intéresserons spécifiquement aux procédés à gradient de pression.

### 1.5.2 Les techniques membranaires à gradient de pression

Ces techniques, appelées également techniques Baro-membranaires, reposent sur une différence de pression totale de part et d'autre de la membrane. On distingue parmi ces procédés :

- La microfiltration (MF) ;
- L'ultrafiltration (UF) ;
- La nanofiltration (NF) ;
- L'osmose inverse (OI).

Les membranes peuvent être classées selon le diamètre moyen de leurs pores pour les membranes poreuses (MF, UF, NF) ou sur la taille des particules et molécules dont elles assurent la séparation. Le Tableau 2 présente une synthèse de ces techniques membranaires, les constituants qu'elles peuvent retenir suivant le diamètre des pores, les mécanismes de transfert ainsi que les procédés concurrents.

**Tableau 2: Comparaison des différentes techniques séparatives à membrane (Aimar et al. 2010)**

Procédé	Osmose inverse OI	Nanofiltration NF	Ultrafiltration UF	Microfiltration MF
Diamètre des pores (nm)	< 0,5 Membrane dense	1	1 à 100	10 <sup>2</sup> à 10 <sup>4</sup>
Espèces retenues	Sels	Petites molécules (M ≥ 300 g/mol)	Macromolécules, colloïdes	Particules, colloïdes
Mécanisme de transfert	Solubilisation diffusion	- Solubilisation -diffusion +capillaire	Capillaire	Capillaire
Rôle de la pression osmotique	Importante	Moyenne	Faible	Négligeable
Pression appliquée (bar)	30 à 80	10 à 40	2 à 10	Négligeable
Débit-volume spécifique (L. h <sup>-1</sup> .m <sup>-2</sup> )	10 à 60	50 à 100	50 à 500	150 à 1 500
Procédés concurrents	Évaporation Électrodialyse Échange d'ions	Échange d'ions Chromatographie	Précipitation chimique Chromatographie sur gel Dialyse	Centrifugation Filtration

### 1.5.3 Modes de filtration

Il existe deux méthodes de filtration (Figure 1.2) :

- Filtration frontale : l'accumulation de matière à la surface de la membrane gêne la filtration. Le procédé est de plus discontinu.

- Filtration tangentielle : la circulation du retentât tangentiellement à la membrane permet de limiter cette accumulation et ainsi de diminuer le colmatage. Le procédé peut de plus être continu (soutirage du retentât).

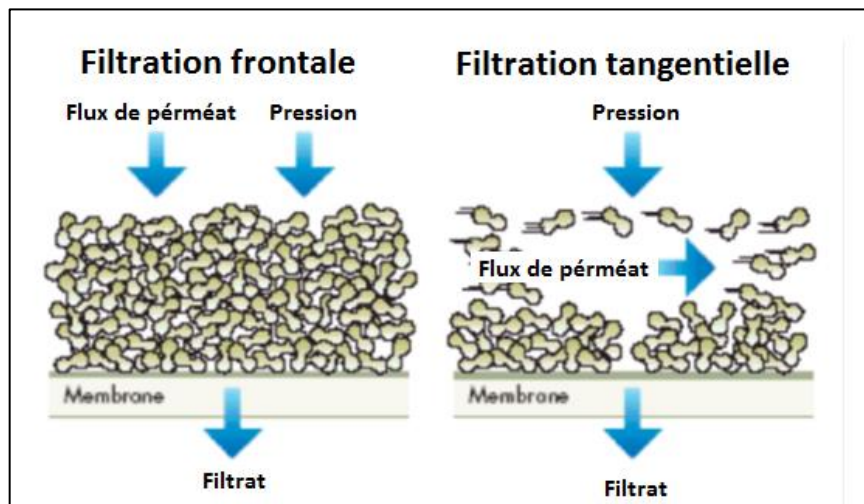


Figure 1-2: Mode de filtration (Bonnely, 2005)

## 1.6 Le bioréacteur à membrane BRM

### 1.6.1 Contexte

Dans le cas du procédé conventionnel par boues activées, l'étape de séparation biomasse/eau traitée repose sur une décantation gravitaire placée en aval du bioréacteur. Cette étape de séparation a deux rôles essentiels, minimiser la teneur en matières en suspension dans l'eau traitée, et permettre un recyclage des boues concentrées vers le bioréacteur pour y maintenir une concentration en biomasse adaptée à l'épuration attendue. (Guibelin, 1999 ; Grosclaude, 1999).

La fiabilité de cette étape est donc déterminante pour la qualité de l'eau traitée mais aussi pour la maîtrise des processus biologiques en empêchant tout « lessivage » du réacteur biologique (diminution progressive de la concentration en biomasse et donc de l'activité dans le réacteur due à une vitesse de croissance des espèces épuratives inférieure au flux spécifique d'extraction du bioréacteur). (Guibelin, 1999 ; Scriban, 1999).

Pour pallier la fragilité de l'étape de décantation, l'étape de séparation doit être composée d'une barrière infranchissable par les espèces épuratives, quel que soit leur état de floculation, voire par des fines particules non retenues habituellement par décantation.

Le choix de cette barrière s'est porté sur une opération de tamisage très fin obtenu par la mise en place de membranes poreuses dont la sélectivité est imposée par le seuil de coupure choisi. **(Le-Clech et al. 2006)**.

Cette association d'un système biologique et de l'étape de séparation sur membranes poreuses a donné naissance au procédé appelé « bioréacteur à membranes ». La sélectivité remarquable de la barrière filtrante a alors pour conséquences : **(Grasmick et al. 2007)**

- Une grande qualité de l'eau filtrée en termes de particules (absence totale de MES (matières en suspension) et de matières colloïdales) ;
- Une désinfection poussée dont l'intensité dépend du seuil de coupure et de la distribution des diamètres des pores des membranes ;
- Une rétention totale des espèces biologiques, même peu flocculées, qui peut favoriser le développement d'espèces et d'activités spécifiques au sein du réacteur ;
- Une retenue, par la membrane, des matières en suspension non décantables dont le temps de séjour dans le système devient égal au temps de rétention de la phase solide (âge des boues), facilitant ainsi leur assimilation ;
- Le maintien dans le réacteur d'une teneur contrôlée et élevée en biomasse qui permet une intensification des processus biologiques.

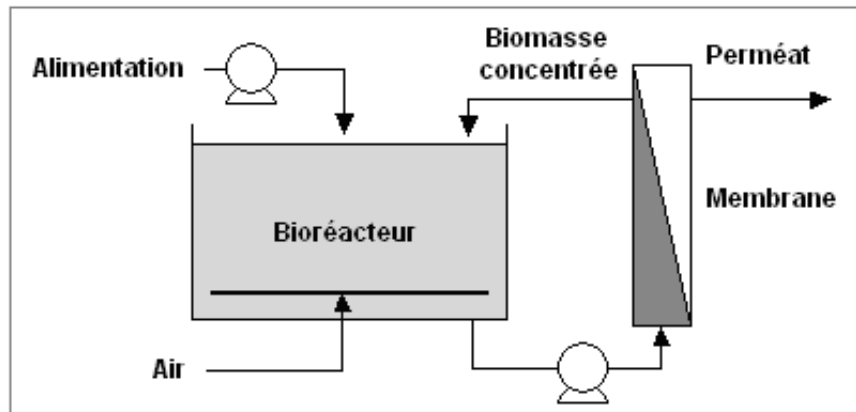
## **1.6.2 Configuration du BRM**

On distingue deux familles de configurations : les réacteurs à configuration externe et les réacteurs à membranes immergées.

### **1.6.2.1 BRM à boucle externe**

Il s'agit de la première configuration à avoir été mise en œuvre et la plus simple technologiquement. La suspension est pompée du bioréacteur vers le module membranaire placé à l'extérieur (Figure I.4). La biomasse est alors mise en circulation tangentielle à la membrane. La filtration, interne/externe est réalisée sous une pression allant jusqu'à 5 bars. Le concentrât est ensuite recirculé dans le bioréacteur. **(Le Clech et al. 2005 ; Le Clech et al. 2006 ; Grasmick et al. 2007 ; Lesjean et Huisjes, 2008)**.

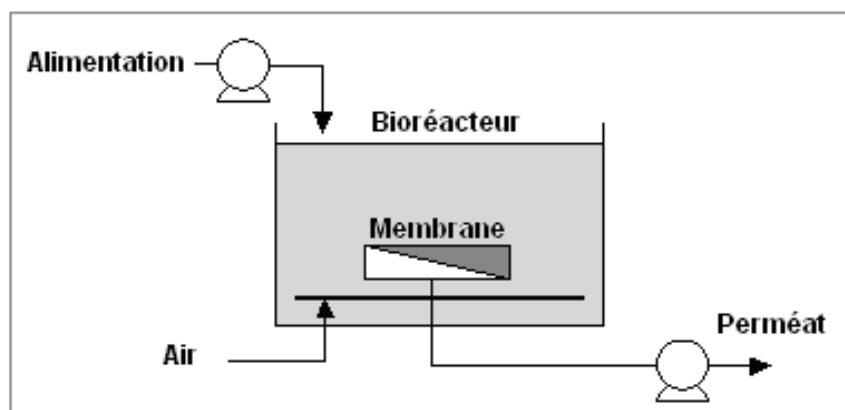
Les modules tubulaires ou les modules plans sont les plus adaptés à ces conditions opératoires.



**Figure 1-3: BRM à boucle externe (Gagnaire et al. 2008)**

### 1.6.2.2 BRM à membrane immergée

L'idée est d'immerger directement les membranes dans le bioréacteur. La pression transmembranaire est créée par une pompe de suction qui aspire le perméat au travers des membranes (Figure 4). (Yang et al. 2006 ; Lesjean et Huisjes, 2008)



**Figure 1-4 : BRM à membrane immergée (Gagnaire et al. 2008)**

Les modules utilisés sont généralement des fibres creuses (la filtration frontale a lieu de l'extérieur vers l'intérieur des fibres) ou des membranes planes. L'aération dans le bassin biologique permet de lutter contre le colmatage, en créant une agitation à proximité des membranes, tout en fournissant l'oxygène nécessaire au métabolisme de la biomasse. (Yamamoto et al. 1989 ; Grasmick et al. 2007).

### 1.6.3 Limitation des BRM

Les difficultés opérationnelles les plus souvent rapportées sont liées au colmatage des membranes ainsi qu'aux problèmes de transfert d'oxygène.

Concernant ce dernier point, selon les conditions opératoires, l'application de charges élevées et de fortes concentrations de boues induisent une réduction du transfert d'oxygène.

### 1.6.3.1 Colmatage

Le colmatage reste un verrou majeur pour le développement de la filtration sur membrane car il est à la fois inévitable parce qu'inhérent à la séparation et complexe parce que basé sur des mécanismes variés (obstruction des pores, précipitation, adsorption, formation de biofilm..). Il dépend toutefois du mode de filtration qu'il soit frontal ou tangentiel. Car lors d'une filtration frontale l'accumulation des particules a tendance à obstruer les pores assez rapidement, tandis que pour le mode tangentiel l'écoulement à la surface de la membrane limite la croissance des couches concentrées à la surface de la membrane (**Aimar et al. 2010**).

Les phénomènes de colmatage, liés aux solutés présents dans le fluide à traiter et à leur rétention. On distingue habituellement quatre phénomènes qui peuvent être à l'origine du colmatage des membranes :

- **L'Adsorption** : Elle se traduit normalement par le dépôt d'une monocouche de solutés sur les parties du matériau qui lui sont accessibles.

- Les molécules dont l'adsorption est la plus gênante pour la filtration sont les macromolécules ou les agrégats de molécules (matière organique), qui s'adsorbent en quantité, car elles sont relativement peu solubles, ont une diffusivité relativement élevée et une capacité à se déformer pour présenter plusieurs sites d'adsorption par molécule (**Aimar et al. 2010 ; Yassine, 2014**).

- **La capture de particule** : Un deuxième phénomène à l'origine du colmatage est bien entendu la capture de particules par le milieu poreux, entraînées par le liquide qui filtre à travers la membrane, les particules dont la taille est de l'ordre de grandeur de celle des pores ou supérieure ont tendance à se bloquer à la surface, à l'entrée ou dans les pores, entraînant une obstruction totale ou partielle de ces derniers, et donc une augmentation de la résistance finale de la membrane. Ce phénomène est, de plus, lié aux propriétés individuelles des particules présentes dans le fluide et à leurs interactions avec le matériau membranaire (**Aimar et al. 2010 ; Yassine, 2014**).

- **Le changement d'état des fluides** : Un troisième mécanisme qui conduira à l'apparition d'un dépôt de matière sur ou dans le filtre correspond à un changement d'état des solutions ou dispersions sur concentrées au voisinage de la membrane et qui peuvent former une phase gel ou solide, qui se dépose, obstruant, totalement ou partiellement, le milieu poreux. Ce phénomène est plus lié au comportement collectif de différentes catégories de particules et solutés présents en phase concentrée dans le fluide que le précédent (**Yassine, 2014**).



- **Les biofilms** : La matière accumulée selon les mécanismes évoqués ci-dessus est une condition favorable à l'ancrage de micro-organismes sur les membranes ou dans les modules, et on peut alors assister, si quelques précautions élémentaires ne sont pas prises, à la croissance d'un biofilm qui lui aussi augmente la résistance hydraulique, dégrade les membranes (acétate de cellulose, en particulier) ou contamine le pérémeat. En réalité, on retrouve des micro-organismes dans tous les milieux aqueux, à l'exception de certaines eaux très spécifiquement traitées (pharmacie, micro-électronique). Ces microorganismes, à la différence d'autres sources de colmatage, se multiplient rapidement, même à partir de colonies très affaiblies et en présence de peu de nutriments. On note par ailleurs que, en situation de faible concentration en nutriments, les bactéries ont tendance à développer une stratégie d'adhésion et de croissance sur des solides plutôt qu'en milieu liquide.

Le moyen le plus efficace d'empêcher la croissance de biofilms est l'injection en alimentation continue d'antibactériens, comme l'hypochlorite ou autres produits. (Aimar, 2006).

### **1.7 Traitement biologique**

L'épuration biologique a pour but d'éliminer la matière polluante biodégradable contenue dans l'eau domestique (décantée ou non) en la transformant en matières en suspension : micro-organismes et leurs déchets, plus facilement récupérables.

La dégradation peut se réaliser par voie aérobie (en présence d'oxygène) ou anaérobie (en l'absence d'oxygène). Dans ce dernier cas, où les réactions s'effectuent à l'abri de l'air, le carbone organique, après dégradation, se retrouve sous forme de CO<sub>2</sub>, méthane et biomasse. Ce type de traitement appelé « digestion anaérobie » n'est utilisé que pour des effluents très concentrés en pollution carbonée, de type industriel (brasserie, sucrerie, conserverie...).

La biomasse utilisée dans le traitement des eaux usées constitue un écosystème très simplifié, ne faisant appel qu'à des microorganismes.

Elle peut être, soit libre, c'est-à-dire intimement mêlée au milieu aqueux à épurer (boues activées), soit fixée ; elle est alors accrochée sur un support solide à la surface duquel percole l'eau à traiter (lit bactérien, biofiltre).

Elle est constituée d'êtres vivants de petite taille, inférieure au millimètre, microflore de bactéries et microfaune d'animaux, protozoaires et métazoaires proches des vers. Ces êtres s'y trouvent à de très fortes concentrations, de l'ordre de 10<sup>11</sup> à 10<sup>12</sup> par litre pour les bactéries et de 10<sup>6</sup> à 10<sup>8</sup> par litre pour la microfaune.

Les relations entre ces divers groupes sont apparemment simples : les bactéries sont des producteurs primaires qui fixent le substrat apporté par les eaux usées sous forme de matière organique ; la microfaune se nourrit de bactéries et parfois d'autres espèces de la microfaune.

La microfaune est représentée surtout par des protozoaires, organismes prédateurs de taille comprise entre 20 et 200  $\mu\text{m}$  qui jouent un rôle important pour la clarification de l'effluent. Ils sont, en effet, à l'origine de la formation en floc de la biomasse ; celle-ci apparaît alors comme une suspension de particules de quelques millimètres de diamètre, agglomérats constitués de bactéries, levures, protozoaires, matières organiques non assimilées et absorbées, matières minérales flocculées ; elle présente alors une aptitude à la décantation, ce qui offre une possibilité de séparation biomasse-liquide interstitiel par une technique simple (Gaid, 2008).

### 1.7.1 Le bioréacteur en discontinu (batch process)

Le Batch process est utilisé dans le cas de faibles volumes. Après avoir rempli le bioréacteur vide et l'avoir stérilisé, ou bien après avoir stérilisé le bioréacteur vide et l'avoir rempli de milieu de culture stérilisé à part, on introduit l'inoculum et on laisse se dérouler la biodégradation. Durant tout le temps qu'elle dure, on n'introduit pas de milieu de culture, tout au plus un réactif de neutralisation, en quantité suffisamment faible, ou encore un produit antimousse. De la même façon, on ne soutire pas la culture tant qu'elle n'est pas terminée. Le volume de suspension dans la cuve infiniment mélangée est donc constant ou peut être considéré comme tel et homogène (Figure 1.5). La concentration en biomasse présente augmente selon la courbe de croissance microbienne. (Figure 1.6). Dans le même temps, le substrat (S) est consommé et le produit recherché apparaît, sa concentration (P) augmente. (Scriban, 1999).

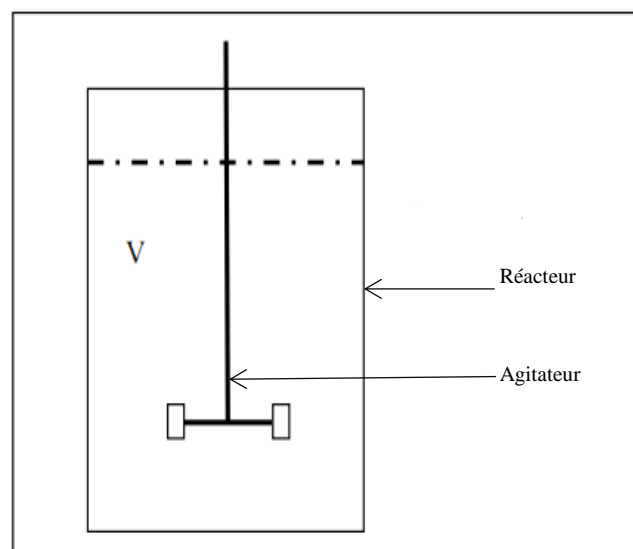


Figure 1-5 : Schéma de fonctionnement du bioréacteur discontinu (Scriban, 1999).

## 1.7.2 Cinétique de croissance microbienne

La croissance d'une biomasse de concentration  $X$  mise en présence à l'instant zéro d'un substrat dégradable de concentration  $S$  comporte un nombre de phases comme indiqué dans la Figure I.6.

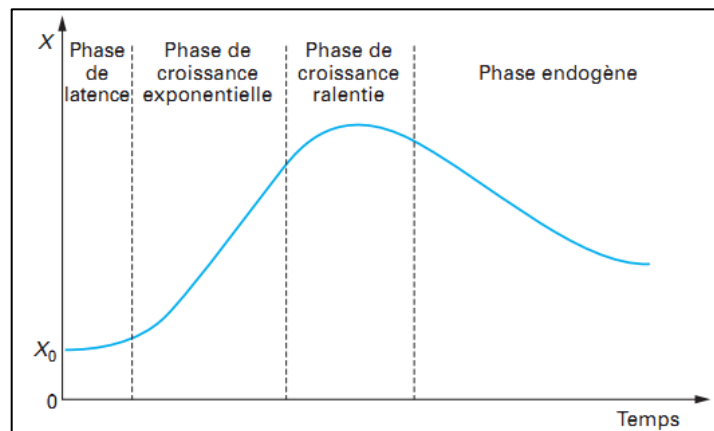


Figure 1-6: Courbe de croissance microbienne (Scriban, 1999).

### 1.7.2.1 Phase de latence

Cette phase correspond à l'adaptation des micro-organismes au milieu nutritif. La vitesse de croissance est nulle ou faiblement positive.

### 1.7.2.2 Phase de croissance exponentielle

Lorsque le taux de reproduction cellulaire atteint son maximum et reste constant en présence d'une concentration non limitante en substrat.

### 1.7.2.3 Phase croissance ralentie

Cette phase est dite phase de ralentissement et correspond à une perturbation du milieu de culture par la croissance exponentielle des micro-organismes. Le passage en phase de ralentissement correspond à une diminution de la concentration du substrat et de la vitesse de croissance.

### 1.7.2.4 Phase stationnaire

La phase de ralentissement se termine toujours par une inactivation totale de la culture dont le nombre d'individus n'augmente plus et on atteint ainsi la phase de stabilisation. Au cours de cette phase, il n'y a plus de substrat et le taux de croissance est nul.

### 1.7.2.5 Phase endogène

La stabilisation de la culture conduit rapidement au décès des micro-organismes et s'accompagne d'une lyse des cellules libérant des produits divers. Durant cette période, les

besoins en oxygène sont limités aux besoins respiratoires d'entretien des cellules ; c'est une phase de décroissance dite phase de respiration endogène.

## **1.8 Le lixiviât des décharges source de perturbateurs endocriniens**

Les nouveaux progrès en matière de chimie analytique notamment en spectrophotométrie de masse et chromatographie liquide et gazeuse (GC-MS, LC-MS et LC-MS/MS) ont permis d'améliorer le seuil de limite de détection et de quantification et de pouvoir analyser des polluants dans des matrices complexes comme les lixiviats et les eaux usées (**Agüera et al. 2013; Gros et al. 2008; Wu et al. 2010**). Ces techniques ont permis l'ouverture d'une nouvelle famille de polluants dits « polluants émergents » (**Kümmerer, 2011; Virkutyte et al. 2010**). Ce sont, en effet, des substances chimiques, dans la majorité des cas d'origine anthropique, parfois naturelle, qui n'ont pas été détectées jusqu'à il y a une ou deux décennies, dont les niveaux de concentration commencent à inquiéter la communauté scientifique suite à leurs probables répercussions sur la santé et l'environnement. En général, en plus de lacunes au niveau d'informations pertinentes sur leurs effets qu'ils peuvent induire sur l'environnement et la santé humaine, ces polluants sont généralement non règlementés et aucun seuil ou limite de leurs rejets n'est en place (**Covaci et al. 2012**). On trouve dans cette catégorie de polluants émergents des produits pharmaceutiques, des hormones stéroïdiennes, des produits de soins corporels, des surfactants, des composés perfluorés, des plastifiants, des pesticides, des retardateurs de flammes et des nanomatériaux (**Virkutyte et al. 2010**).

Plusieurs travaux portant sur les polluants émergents ont été publiés durant ces dernières années, principalement sur la présence de ces polluants dans les eaux usées et de surface (**Ramakrishnan et al. 2015**).

Les perturbateurs endocriniens font partie de ces polluants émergents. Cette famille regroupe des substances naturelles et synthétiques. En plus d'effets hormonaux, ces substances ont la capacité d'interférer avec le système endocrinien et peuvent avoir des effets oestrogéniques, anti-oestrogéniques, androgéniques et anti-androgéniques (**Kümmerer, 2011**). Parmi les substances ayant été détectées dans les différentes matrices d'eau avec un pouvoir de perturbation du système endocrinien, on nomme le BPA, les phtalates, les alkylphénols, certains pesticides, les dioxines et les PCB (**Kümmerer, 2011**).

Comme il a été mentionné précédemment, le BPA est un composé chimique ubiquitaire et a été mis en évidence dans différentes matrices environnementales (eau et sol). Les sites

d'enfouissements constituent une source d'introduction de ce dernier dans l'environnement à travers ses lixiviats, d'où l'intérêt d'étudier sa présence ainsi que son mode d'élimination dans une station de traitement fonctionnelle de ces lixiviats.

### **1.9 Le Bisphénol A :**

Le Bisphénol-A (BPA) est un composé phénolique utilisé dans de nombreuses applications industrielles, notamment comme monomère dans la production de plastiques polycarbonates (pour la fabrication des disques compacts, des bouteilles réutilisables, des contenants de produits alimentaires, des biberons, etc. Le polycarbonate, d'après la bibliographie, sert à fabriquer des disques compacts, des contenants mis en contact avec des aliments et des boissons (ex. : biberons, bouteilles d'eau réutilisables, pichets, bonbonnes d'eau, vaisselle et contenants d'entreposage), des conduites d'eau, des instruments médicaux, des vitrages et des pellicules. Les mélanges de polycarbonates ont des applications dans l'industrie de l'électricité et de l'électronique.

- Industrie de l'électricité : Exemples : dispositifs d'alarme, boîtiers de téléphone mobile, pièces d'ordinateurs, équipements ménagers électriques, accessoires de lampes et fiches d'alimentation électrique.
- et l'industrie automobile (ex. : réflecteurs pour phares avant et arrière, protège-phares, pare-chocs, grilles de radiateur et d'aération, vitrage de sécurité, éclairage intérieur, pare-brise de moto et casques protecteurs), comme précurseur ou matière de départ pour des monomères de certaines résines époxydes (pour la fabrication d'enduits de protections, d'adhésifs).

Le **tableau 3** ci-dessous regroupe les caractéristiques physicochimiques de cette molécule.

Le BPA est également utilisé dans l'industrie du PVC, dans la fabrication de papiers thermosensibles, etc. Les vitrages de protection, les matériaux de construction, les lentilles optiques et les teintures sont d'autres produits pouvant contenir du BPA. Les données sur l'utilisation industrielle du BPA aux États-Unis en 2003 indiquent qu'environ 72% de la substance a servi à la fabrication de polycarbonates, que 21% a été utilisée dans des résines époxydes et que 6% a été employée dans d'autres applications (**Environnement Canada et Santé Canada, 2008**). Selon **Environnement Canada et Santé Canada (2008)**. La production mondiale de BPA, en 2006, se chiffrait à quatre milliards de kilogramme. Comme certains alkylphénols (nonylphénol, etc.), le BPA est un œstrogène-mimétique capable de se lier aux récepteurs à œstrogènes. Son action serait plus faible que celles des hormones stéroïdiennes

(1000 fois inférieure à celle de l'estradiol), mais il est massivement présent dans notre environnement.

**Tableau 3: Caractéristiques physicochimiques du BPA à 25 °C (National Center For Biotechnology Information, 2018)**

Formule chimique	C <sub>15</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>
Poids moléculaire	228.28 [g/mol]
Point de fusion (MP)	150-157 °C
Point d'ébullition	360 °C à 101,3 kPa
Densité relative	1,1 – 1,2 kg/m <sup>3</sup> à 25 °C
Coefficient de partage octanol/eau (log Kow)	3,3 – 3,5
Solubilité	Dans l'eau W <sub>s</sub> = 300 mg/L à 25 °C Soluble dans l'acide acétique Soluble dans une solution alcaline alcool, acétone; peu soluble dans le tétrachlorométhane
Pression de vapeur	5,3.10 <sup>-9</sup> kPa à 25 °C
Constante de Henry	10 <sup>-11</sup> atm m <sup>-3</sup> /mol à 25 °C
pKa	9,6

Selon des études menées par **Vandenberg et al. (2007)**, l'homme absorberait environ 1µg de BPA /kg de poids corporel par jour. Alternativement, le comité scientifique de la Commission européenne des denrées alimentaires, a estimé que l'exposition au BPA journalière est de 0.48–1.6 µg/kg de poids corporel par jour. La source du BPA serait principalement alimentaire. (**Vandenberg et al. 2007**).

Actuellement, à l'instar de la plupart des polluants d'intérêt émergent, le BPA ne fait pas l'objet d'une législation. Toutefois, le Canada et certains pays de l'Union Européenne classent le BPA dans la famille des composés perturbateurs endocriniens (PE) prioritaires. En effet, malgré le désaccord sur les risques du BPA sur les êtres vivants, ce polluant est identifié comme «CEPA toxic ». Le terme «CEPA» (**Canadian Environmental Protection Act**) est un vocable légal sous la loi Canadienne de la protection de l'environnement. Des actions sont entreprises par les gouvernements en appliquant le principe de précaution. Les perturbateurs endocriniens, incluant le BPA, semblent donc devenir prioritaires pour les instances réglementaires de plusieurs pays développés.

On ne connaît pas de sources naturelles de bisphénol-A ; les sources possibles de rejet de cette substance dans l'environnement se limitent aux activités anthropiques.

Le bisphénol-A peut être rejeté dans l'environnement au cours de sa production, de sa transformation, de son utilisation et de son élimination de même qu'au cours de la production, de la transformation, de l'utilisation et de l'élimination des produits qui en contiennent. Les

données, obtenues à la suite de la publication de l'Avis concernant certaines substances du groupe 2 du Défi en application de l'article 71 de la **LCPE (1999)**, indiquent que le bisphénol-A n'a pas été fabriqué au Canada en 2006 en une quantité égale ou supérieure à 100 kg, mais qu'il a été importé au Canada pour utilisation dans des activités de transformation (**Environnement Canada, 2007a**).

### **1.9.1 Concentrations du BPA dans l'environnement :**

Les concentrations de BPA dans les eaux usées municipales sont de l'ordre du nanogramme par litre ( $\text{ng.L}^{-1}$ ) au microgramme par litre ( $\text{mg.L}^{-1}$ ). Entre 1999 et 2000, (**Lee et al. 2005**) ont mesuré des concentrations de BPA entre 0.01 et 17.3  $\text{pg.L}^{-1}$  dans les eaux usées municipales et des concentrations de 0.07 à 10.6  $\text{mg.kg}^{-1}$  de matières sèches dans les boues non traitées de quatre stations d'épuration des eaux usées de Toronto. Ces résultats confirment que dans les installations d'épuration, le BPA se répartit entre les phases solides et liquides (**Environnement Canada et Santé Canada, 2008**).

Un rapport d'U.S.EPA indique que les concentrations de BPA dans les eaux de surface sont de 0.012 à 0.14  $\text{pg.L}^{-1}$ . Dans les eaux souterraines les concentrations sont comprises entre 0.0041 à 1.9  $\text{t g.L}^{-1}$ . Dans les eaux de rejet des industries de boissons, les concentrations varient entre 0.005 et 0.1  $\text{pg.L}^{-1}$ .

### **1.9.2 Risques liés à la présence du BPA dans l'environnement**

Bien que les effets sur la santé humaine, due à l'exposition à de faibles doses, soient sujets à la controverse, comme la possibilité de transfert du BPA dans le placenta humain à une concentration de (10ng/ml) (**Balakrishnan et al. 2010**), les effets observés sur la faune sauvage sont notamment des malformations des organes génitaux, des anomalies du comportement sexuel, ainsi qu'une baisse de fertilité (*in* **Yassine, 2014**). Ces effets ont été confirmés expérimentalement par de nombreuses études. Par exemple chez les souris et les rats exposés au BPA, en période prénatale et néo-natale, on a constaté ces anomalies (**Vom Saal et al. 1998; Howdeshell et al. 1999; Richter et al. 2007; Wetheril et al. 2007 ; Pant and Deshpande, 2012**) :

- Des malformations du pénis et de l'urètre,
- Une augmentation de la taille de la prostate,
- Une diminution de la production du sperme,
- Une puberté précoce chez la femelle,
- Une hyperactivité avec agressivité,
- Des anomalies des noyaux gris centraux et une diminution de la dopamine.

Plusieurs études ont défini une concentration minimale où le BPA serait toxique pour la faune et la flore aquatique ; **Ike et al. (2002)** ont testé l'écotoxicité du BPA sur *Daphnia magna*, le test a révélé une toxicité modérée à une concentration de 10 mg.L<sup>-1</sup>. Par contre **Alexander et al. (1988)** avaient déjà constaté qu'à une concentration beaucoup plus faible du BPA, allant de 1 à 10 µg.mL<sup>-1</sup>, celui-ci serait fortement toxique pour les espèces marines.

### **1.9.3 Législations**

Depuis quelques années, le BPA est devenu un problème de santé publique majeur. Le Canada a été le premier pays au monde à prendre des mesures sur le BPA dans le cadre de son Plan de gestion des produits chimiques (PGPC). Ce plan de gestion a été lancé en 2006 pour évaluer la toxicité des produits chimiques utilisés à grande échelle depuis plusieurs années ainsi que pour améliorer les connaissances sur ces composés (**Yassine, 2014**). Les paragraphes 64 (a) et (c) de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999)* N° CAS 80-05-7 sur la poursuite de la déclaration des rejets de bisphénol A et la surveillance environnementale du bisphénol A dans les eaux usées, les lixiviats de décharge, la faune, les poissons et les plans d'eau récepteurs, sont toujours en cours. (**LCPE, 1999**).

Selon la directive européenne 6715481CEE, le BPA est toxique pour la reproduction (phrase de risque R62 : Risque possible d'altération de la fertilité) ainsi que dangereux pour l'environnement (phrase de risque R52 : nocif pour les organismes aquatiques) (**Eur-Lex, 2001**). De même, l'Union Européenne (UE) a interdit la fabrication des biberons contenant du BPA depuis le 1<sup>er</sup> mars 2011 en adoptant la directive UE n°812011 et a banni leur importation et leur vente à partir du 1<sup>er</sup> juin 2011 (**EFSA, 2013**). Depuis janvier 2015, l'Europe a banni le BPA dans tous les produits de conditionnements alimentaires ainsi que définitivement dans les biberons et les anneaux de dentition. Le texte de loi visant cette interdiction a été adopté par le Sénat français le 13 décembre 2012 (**Sénat Presse, 2013**). En Algérie, aucune loi ne défend la sécurité du consommateur, ni celle de l'environnement contre la présence de ce produit hautement toxique ; cependant, les normes de rejets imposées par le journal officiel pour les composés phénoliques d'une raffinerie de pétrole est fixé à 0,25 g/t, et ceux d'une industrie de cokéfaction est de 0,3 mg.L<sup>-1</sup>. (**JORA, 2009**).



## **Partie 2**

## ***2 Matériel et méthodes :***

### **2.1 Matériel :**

#### **2.1.1 Points de prélèvement des lixiviats**

Les échantillons de lixiviats ont été prélevés sur quatre centres d'enfouissement des déchets ménagers et assimilés en Algérie ; Staoueli (Alger), Corso (Boumerdes), Blida, Hamici (Alger).

Les lixiviats ont été prélevés à partir de l'alimentation en lixiviat du bassin de lagunage.

Le lixiviat est récupéré dans un récipient en plastique étanche d'une capacité de 30L. Le plan et le calendrier d'échantillonnage du lixiviat sont rassemblés dans le Tableau 4 ci-dessous.

**Tableau 4 : Calendrier de prélèvements des échantillons de lixiviats**

Nom de l'échantillon	Le site de prélèvement	Date du prélèvement
<b>LS</b>	Staoueli	09/04/2012
<b>LC</b>	Corso	18/03/2017
<b>LH</b>	Hamici	19/03/2017
<b>LB</b>	Blida	19/03/2017

#### **2.1.2 Prélèvement de la boue activée**

Afin de traiter le lixiviat par bioréacteur en batch process en conditions non limitantes d'oxygénation, on a prélevé 20 L de boues activées de la station d'épuration de la SEAAL de Beni Messous. Une fois arrivée au laboratoire, cette boue est soumise à un protocole expérimental afin d'être utilisée ultérieurement.

Les boues activées sont une matrice complexe dans laquelle différents interférents sont présents. Pour s'affranchir de ces derniers lors des dosages, un protocole expérimental a été mis en place. Dans un premier temps, les boues sont lavées à l'eau. Après avoir laissé décanter, le surnageant est retiré, puis le culot (les boues) est, à nouveau, lavé à l'eau et bien mélangé. Le mélange est ensuite centrifugé pendant 15 min et l'eau surnageante jetée. On réitère cette opération 5 fois. Les boues activées étant aérobies, elles sont donc mise sous barbotage à température ambiante pour préserver leur qualité (**Yahiat, 2010**).

### **2.1.3 Dispositifs expérimentaux**

#### **2.1.3.1 Le réacteur biologique (traitement biologique)**

##### **2.1.3.1.1 Conditions de culture**

Le lixiviat L est incubé à température ambiante et agité à l'aide d'un agitateur mécanique durant toute la période expérimentale. Le procédé est de type discontinu et parfaitement agité. Une aération est maintenue continuellement grâce à compresseur. Un diffuseur est ajouté afin d'avoir de fines bulles d'air pour un meilleur transfert d'oxygène. Un test témoin a été mis en place, où nous nous sommes affranchis de toutes conditions opératoires suscitées, dans le but d'étudier le comportement des microorganismes.

Afin d'accélérer le processus de biodégradation, nous avons réalisé une pré-culture sur l'effluent pendant 72 heures à température ambiante, en milieu agité et aéré. (**Chemlal et al. 2014**).

##### **2.1.3.1.2 La pré-culture :**

Pour cette partie du traitement, le lixiviat LS servira à la mise en œuvre du couplage Bioréacteur/UF. Pour accélérer le process, des pré-cultures ont été réalisées avec un ensemencement pendant 72 h avec un rapport de volume 1/1 : Boue activée + LS.

Ainsi nous disposerons donc des essais suivants :

Des essais réalisés à partir de l'effluent non-ensemencé, ce qui correspond au témoin ;

Un essai à partir de l'effluent LS auquel ont été ajoutés des microorganismes de boue activée préalablement amplifiés.

Le volume de chaque Bioréacteur est de 8 litres.

Nous avons mentionné :

- Bio-Boue : bioréacteur N°1 contenant le lixiviat LS représentant 90% du volume du réacteur et 10% du volume de Boue de la pré-culture ;
- Bio-Lix : bioréacteur N°2 contenant du lixiviat LS à 100%.
- LC : bioréacteur N°3 contenant du lixiviat LC à 100%.
- LH : bioréacteur N°4 contenant du lixiviat LH à 100%.
- LB : bioréacteur N°5 contenant du lixiviat LB à 100%.

### **2.1.3.1.3 Les nutriments**

Les produits utilisés dans l'alimentation nécessaire pour la croissance des microorganismes sont : L'urée comme source d'azote et le  $K_2HPO_4$  comme source de phosphore.

Les nutriments sont dissous dans de l'eau déminéralisée destinés à assurer l'humidité. La source de carbone est fournie par l'effluent.

### **2.1.3.1.4 Protocole expérimental :**

Dans cette étude, plusieurs heures sont nécessaires pour mener à terme le traitement. Au départ du traitement, les prélèvements se font à des intervalles de temps réguliers (chaque 30 min au bout de quelques heures de traitement les prélèvements seront espacés de 1h puis 2h, 4h allant jusqu'à des prélèvements chaque 24h). En fin d'expérience, les échantillons seront extraits hors du réservoir contenant le volume de lixiviat à traiter (7 L) afin de le soumettre aux différentes analyses.

D'abord, ils subissent une mesure de pH. Ensuite, une mesure de la DCO à 600 nm.

Cette cinétique permet de déterminer le rendement et la durée du traitement.

Ces études ont été réalisées pour les bioréacteurs : Bio-Boue, Bio-Lix, LC, LB et LH.

Le pH est vérifié continuellement, ainsi que la densité optique des prélèvements à 600 nm afin d'établir une cinétique de la croissance microbienne.

## **2.1.3.2 Traitement par Ultrafiltration :**

### **2.1.3.2.1 Dispositif d'ultrafiltration**

L'installation d'ultrafiltration comporte les éléments suivants :

- Une cellule tubulaire d'ultrafiltration ;
- Un système d'alimentation fonctionnant à partir d'une pompe centrifuge ;
- Deux prises de pressions P1 et P2 permettant de mesurer les pressions d'entrée et de sortie du module d'ultrafiltration ;
- Une boucle d'évacuation de la solution du circuit ;
- Un circuit de recirculation ;
- La membrane : Le module est équipé d'une membrane d'ultrafiltration M5 à seuil de coupure de 10kDa.

La membrane est composée d'une couche poreuse ultrafine en oxyde de zirconium  $ZrO_2$  qui est elle-même supportée par un support de carbone poreux. Cette membrane présente une grande résistance aux radiations, à la chaleur et aux contraintes chimiques comprises entre 0-80°C, pH

1-14 et 0-8 bars. Le module utilisé est de géométrie mono tubulaire de surface active égale à  $0,012\text{m}^2$  avec des diamètres interne et externe respectivement de 6 et 10 mm, et d'une longueur de 50 cm.

#### ***2.1.3.2.2 Protocole expérimental***

Le but est de calculer la perméabilité ainsi que de tracer les courbes de polarisation. Pour cela, nous avons opéré en boucle fermée.

Afin d'obtenir la perméabilité de la membrane avant et après ultrafiltration et d'optimiser le traitement par ultrafiltration on suit les directives suivantes :

1. Remplir le bac d'alimentation (solvant/effluent) ;
2. Fixer une pression  $\Delta P$  à l'aide de la vanne ;
3. Pour chaque  $\Delta P$  noter le temps  $t$  nécessaire pour avoir un volume  $V$  du pérémeat.
4. En traçant  $J_v$  (flux de pérémeat) en fonction de  $\Delta P$  (différence de pression) on obtient une courbe qui est une droite affinée, la perméabilité représente la pente de cette dernière.

## **2.2 Méthodes d'analyses :**

### **2.2.1 Mesure des paramètres globaux des effluents aqueux**

#### **2.2.1.1 pH et conductivité :**

Le pH des échantillons a été mesuré sous agitation magnétique à l'aide d'un pH mètre de marque HANNA, modèle pH 211, calibré avec deux solutions tampon de pH 4 et 7.

La conductivité a été mesurée à l'aide d'un conductimètre de marque HANNA, modèle EC 214. Une mesure intégrée de la température permet une compensation automatique de la valeur de la conductivité en fonction de la température de la solution (température de référence : 25°C).

#### **2.2.1.2 Dosage de la matière en suspension (MES) à 105 °C, méthode par centrifugation (norme NFT 90 – 105 02 1997) :**

La matière en suspension se reporte à toute matière solide en suspension dans l'eau usée. Elle peut affecter d'une façon défavorable, les procédés de traitement biologiques et physicochimiques. (Rejsk, 2002).

Un volume  $V_E$  (12 ml) d'un échantillon de lixiviat est centrifugé. Le culot est récupéré puis déposé dans une capsule préalablement pesée : (M1). La capsule et son contenu sont séchés à 105°C puis de nouveau pesés : (M2). La teneur en MES est calculée à partir de la formule

$$\text{suivante : MES (mg.L}^{-1}\text{)} = (M1 - M2)1000/V_E \quad (1)$$

### **2.2.2 Mesure des paramètres globaux liés à la pollution organique**

#### **2.2.2.1 Détermination la demande chimique en oxygène (DCO) : (MA. 315-DCO 1.0) :**

La demande chimique en oxygène (DCO) est employée couramment pour mesurer le niveau de contamination organique d'une eau usée. Le niveau de contamination est déterminé en mesurant la quantité d'oxygène requise pour oxyder la matière organique dans l'échantillon du lixiviat en CO<sub>2</sub>. Ce test est utilisé aussi pour suivre le changement de la concentration de la matière organique dans le lixiviat traité et pour évaluer le rendement et les performances de traitement.

La procédure de la détermination de la demande chimique en oxygène consiste en une oxydation sous reflux durant 2 h à la température d'ébullition (150°C) d'un volume de 2.5 ml de lixiviat avec une quantité connue de dichromate du potassium en milieu sulfurique et en présence de sulfate d'argent (catalyseur). Les mesures d'absorption de chaque échantillon sont effectuées par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 600 nm. (CEAEQ, 2006).

### **2.2.2.2 Détermination de la demande biochimique en oxygène (DBO<sub>5</sub>) : (MA. 315 – DBO 1.1)**

La DBO est l'un des paramètres les plus largement employés pour caractériser les polluants organiques présents dans l'eau. Concrètement, la DBO<sub>5</sub> est basée sur la quantification de l'oxygène consommée (en mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>) par un échantillon incubé avec des microorganismes ou non, à 20°C pour une période de 5 jours.

La mesure de la DBO<sub>5</sub> a été réalisée par procédé respirométrique à volume constant, au moyen d'un BSB-MeBgerat, Modèle 602, qui permet une détermination de la DBO<sub>5</sub> de 0 à 4000 mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>. Le principe de l'expérience est le suivant : dans une bouteille fermée, pendant la dégradation oxydative de la matière organique, les micro-organismes consomment l'oxygène dissous qui est remplacé en permanence par de l'oxygène en provenance du volume d'air situé au-dessus de l'échantillon. Et puisque l'expérience est menée à volume constant, Le gaz carbonique produit est piégé par NaOH ou KOH au fur et à mesure de sa formation ; la dépression mesurée correspond donc à la consommation d'oxygène due à l'activité bactérienne.

### **2.2.2.3 Analyse des métaux par spectrométrie d'absorption atomique :**

Les métaux de lixiviat (Fe, Pb, Zn) ont été déterminés par spectrométrie d'absorption atomique après une digestion préliminaire avec HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> selon la méthode décrite dans Standard Methods (3030 G. Nitric Acid-Sulfuric Acid Digestion). Le principe consiste en une digestion de l'échantillon par les acides HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à haute température (200°C) jusqu'à décoloration du minéralisât. Après refroidissement, celui-ci est filtré deux fois. **(Rodier, 2009).**

La concentration des métaux dans les échantillons a été déterminée par spectrophotométrie d'absorption atomique. La mesure a été réalisée par l'analyseur SOLAAR UNICAM M series.

### **2.2.3 Extraction et analyse du BPA dans les échantillons liquides :**

Un volume de 5mL de l'échantillon à analyser sera placé dans un tube conique, dans lequel on rajoute 0,1 mL d'une solution tampon d'acétate de sodium/ acide acétique (pH=4). Une mixture de 0,75 mL d'acétone et de 100 µL de chloroforme a été injectée dans le tube. Le mélange est centrifugé à 5000 rpm durant 6 min. le culot est récupéré auquel 200 µL de HPLC-grade méthanol ont été rajoutés **(Bahramifar et al. 2014)**. Un volume 10 µL est injecté dans l'appareil HPLC de type SHIMADZU SIL-20A, équipé d'un détecteur UV à barrettes de diodes UV-visible (190 nm à 800 nm). L'analyte a été séparé par une élution isocratique sur colonnes de phase apolaire greffées C18 : modèle utilisé ; RP18 de L= 150mm, Ø= 4,6 mm, granulométrie = 5µm. Marque GRACE Alltima C18. Injection de volume de 10µL maximum.

La phase mobile utilisée est un mélange d'eau : acetonitrile en conditions isocratiques (40:60, v/v). Sous un débit de 0,2 mL min<sup>-1</sup>.

#### **2.2.4 Echantillonnage et isolement des bactéries :**

Pour réaliser l'étude de la biodégradation du Bisphénol A par un isolat bactérien, un total de 6 échantillons de lixiviats de décharges ont été collectés de différents CET/Décharges : CET de Hamici, ancienne décharge d'oued smar, ancienne décharge de ouled fayet (wilaya d'Alger), CET de Blida (wilaya de Blida), CET de Corso (Wilaya de Boumerdes) et CET de Khenchela (wilaya de Khenchela).

La collecte s'est faite dans des conditions d'asepsie et d'hygiène recommandées en microbiologie (Rodier, 2009). L'analyse microbiologique s'est faite juste après l'arrivée au laboratoire pour les échantillons d'Alger, Blida et Boumerdes. Le lixiviat du CET de Khenchela a été conservé à 4°C après collecte et analysé au bout de 24h environ.

#### **2.2.5 Préparation des échantillons :**

Après homogénéisation de chaque flacon, une série de dilutions décimales a été réalisée de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-6</sup> à l'aide d'une solution stérile d'eau physiologique. A partir de chaque dilution, un volume de 0,1 ml a étéensemencé en surface sur de la gélose nutritive (GN) coulé sur boîtes pétri. Celles-ci sont incubées entre 25 et 30°C de 24 à 48h.

#### **2.2.6 Isolement et purification des souches obtenues :**

Les microorganismes ayant fait l'objet de cette étude, ont été obtenus à partir de colonies bien isolées, repiquées dans un nouveau milieu par la méthode des stries sur milieu solide et portées à incubation pendant 24h à 30°C. Ces colonies pures sont retenues pour la suite de l'étude.

#### **2.2.7 Conservation des souches :**

La conservation des souches à courte durée a été effectuée à 4°C, en pique centrale dans des cryotubes gélés. Pour des périodes de conservation plus prolongées, les souches sont gardées à -20°C dans des cryotubes contenant un mélange de gélose nutritive additionnée de glycérol (v/v : 80/20).



## **2.3 Identification des microorganismes :**

L'identification des bactéries se fait suivant une clé dichotomique qui va des caractères les plus vastes aux plus pointus pour aboutir à une espèce bactérienne donnée. L'objectif est de connaître la bactérie ayant donné le résultat le plus satisfaisant.

### **2.3.1 Caractérisation phénotypique des souches :**

#### **2.3.1.1 Aspect macroscopique (colonies)**

Après incubation, le premier critère d'identification sur lequel on se base est celui de l'aspect macroscopique des colonies vu à l'œil nu, que ça soit taille, forme du relief (bombée, semi bombée, plate), couleur, aspect (collant, filamenteux...), odeur, transparence (opaque, translucide), allure des contours (régulier, dentelés), pigmentation, et aspect de la surface (lisse ou rugueuse).

#### **2.3.1.2 Aspect microscopique (gram)**

Une suspension enrichie par des colonies de microorganismes est préparée, puis étalée (un frottis) sur une lame porte objet en verre ; s'ensuit un séchage à l'air ensuite à la chaleur du bec bunsen. Sur le frottis fixé on applique la coloration de gram (voir annexe), ce frottis une fois séché, est lu au microscope optique, objectif x100 à l'aide de l'huile à immersion.

#### **2.3.1.3 Le test catalase :**

La recherche de la catalase présente un intérêt taxonomique en ce qui concerne les bactéries à Gram positif. La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles.

### **2.3.2 Caractérisation génotypique des souches :**

*Cette partie expérimentale a été réalisée aux laboratoires LiBio de l'ENSAIA de Nancy, France.*

-Extraction et purification de l'ADN génomique

Cette étape est réalisée pendant la phase exponentielle de la croissance avec un kit de purification d'ADN génomique Wizard (Promega) à partir de 5 ml de culture d'après le protocole fourni avec le kit.

Les cellules bactériennes issues d'une culture de 12h en milieu solide de gélose nutritive (1,5 ml) recueillies par centrifugation (10min, 13000 rpm) sont reprises dans un volume de 200µl d'un tampon de lyse (2% Triton X100, 1% SDS, 10 mM de NaCl, 10mM Tris-HCl à pH= 8) pour être mélangées par la suite à 0,3 g de microbilles de 0,5 mm (Sigma G8772) et 200µl d'une solution de phénol/chloroforme/alcool isoamylique (25/24/1). Cet ensemble est agité par un vortex à une vitesse maximale pendant 2 min puis centrifugé à 13000 rpm pendant 5min à 4°C. Au surnageant recueilli à l'issue de cette étape, 20µl d'acétate de sodium et 600 µl d'éthanol absolu sont ajoutés. La formation d'un filament d'ADN est obtenu par retournement délicat des tubes un à un. L'ADN total ainsi obtenu est conservé à -20°C dans du tampon Tris-EDTA jusqu'à utilisation.

### **2.3.3 Réaction de polymérisation en chaîne (PCR), purification du fragment amplifié et séquençage :**

Le principe de cette technique consiste à amplifier une séquence définie d'ADN du génome en le multipliant en grand nombre de fois grâce à une polymérase. L'amplification du gène ciblé (16S rDNA) était réalisée dans un volume total de 50µl (50 ng d'ADN génomique, 5µl de tampon 10X, 0,5µl TaqDNA Pol (Qbiogène), 2,5µl de chaque amorce à 10µM et 2µl de dNTP). L'amplification est réalisée par cycle comprenant les étapes suivantes :

- Dissociation de l'ADN double brin par élévation de la température du milieu réactionnel à 95°C ;
- Hybridation des amorces spécifiques (tableau 5) des bornes du fragment d'ADN génomique à amplifier (ADNr-16S) par abaissement de la température (;
- À la fin des N cycles de PCR, une étape d'élongation est ajoutée à la fin du programme pour laisser davantage le temps aux Taq polymérases d'achever la polymérisation totale des molécules d'ADN en cours de synthèse, après élévation de la température à 72°C. **(Weisburg et al. 1991)**
- la taille du produit d'amplification obtenu par PCR est vérifiée par électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8%. Le produit est ensuite purifié en utilisant un kit de purification commercialisé par Qiagen (QIAquick Purification Kit). Après élimination de l'agarose, le fragment d'ADN est directement séquençé, environ 10 à 40ng du produit d'amplification obtenu est soumis au séquençage. À terme du programme de la PCR, l'amplicon obtenu ou l'ADN synthétisé est conservé à 4°C jusqu'à utilisation.

-

**Tableau 5 : Séquence des amorces utilisées en PCR**

Amorces	Séquence
rD1	AAGGAGGTGATCCAGCC
fD1	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG

T\* : température d'hybridation ou d'appariement des oligonucléotides amorce.

#### **2.3.4 Phylogénie moléculaire du gène 16S rDNA :**

Une analyse phylogénétique a été réalisée à partir des séquences obtenues. A cet effet, nous avons utilisé pour la souche recherchée la séquence obtenue lors de cette étude ainsi que d'autres obtenues à partir des bases de données (EZBioCloud) pour des souches cataloguées, et utilisées comme séquences guides. L'arbre phylogénétique a été établi en utilisant la méthode Neighbor-Joining (Saitou et Nei, 1987). Le logiciel MEGA 7 (Tamura et al. 2011) a été utilisé pour réaliser les alignements des séquences et dresser les arbres phylogénétiques correspondants.

# **Partie 3**

### 3 Résultats et discussion

#### 3.1 Partie I : Analyses du lixiviat et traitement par BRM:

##### 3.1.1 Caractérisations des différents prélèvements de lixiviats :

Les principales caractéristiques du lixiviat sont rapportées dans le tableau 6. Différentes valeurs sont comparées avec celles des normes de rejets en milieu naturel et celles admises aux STEP, Stations d’Epuración en Algérie.

**Tableau 6: Caractéristiques physico-chimiques des échantillons de lixiviats.**

Paramètres	unité	LS	LC	LH	LB	Normes de rejets dans le milieu naturel (JORA, 2006)	Normes STEP (JORA, 2009)
<b>pH</b>	-	7,1	8,1	8,4	8	6,5- 8,5	5,5- 8,5
<b>Conductivité</b>	mS	8,7				-	-
<b>MES</b>	mg L <sup>-1</sup>	7370				40	600
<b>MVS</b>	mg L <sup>-1</sup>	2770				-	-
<b>DCO</b>	mg.O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	10500	8000	17500	12333	130	1000
<b>DBO<sub>5</sub></b>	mg.O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	5500				40	500
<b>DBO<sub>5</sub>/DCO</b>	-	0,52				-	-
<b>BPA</b>	ppm	-	3,552	0,842	5,286	-	-

#### 3.2 Traitement du lixiviat de Staoueli « LS » par bioréacteur à membrane :

Le lixiviat ayant fait l’objet de cette étude a été traité par couplage d’un bioréacteur parfaitement agité en mode batch et dans des conditions non limitantes en oxygénation et d’un procédé de filtration à gradient de pression (UF). Cette expérience a été réalisée en boucle externe.

##### 3.2.1 Traitement par bioréacteur aéré en mode batch:

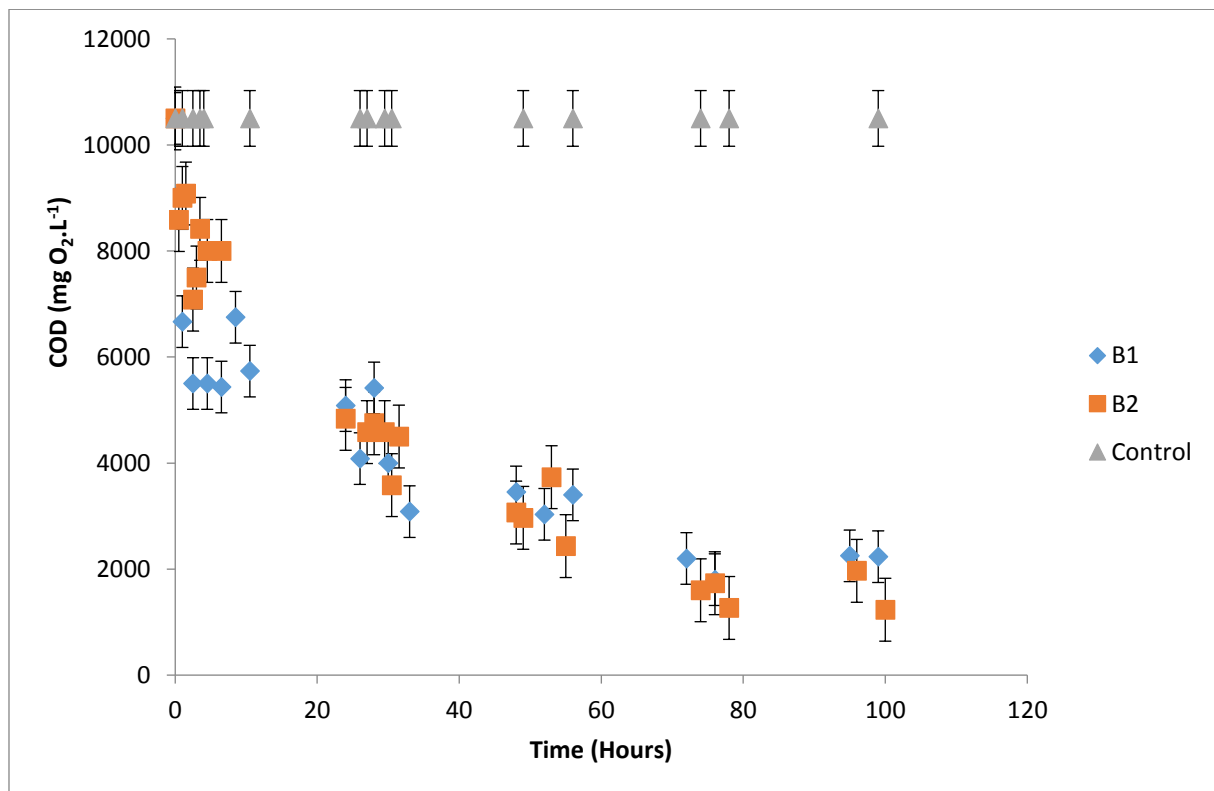
Deux bioréacteurs ont été réalisés dans les mêmes conditions opératoires d’agitation, d’oxygénation et d’addition de nutriments.

Le premier bioréacteur, Bio-Boue, estensemencé par des boues activées (comme décrit précédemment dans la partie expérimentale). Dans le même ordre d'idée, pour éliminer un éventuel traitement du lixiviat par les microorganismes qui y sont déjà présents, un deuxième bioréacteur, Bio-Lix, a été réalisé, sans addition de boues activées. Et où le principe était de vérifier l'efficacité des microorganismes autochtones.

Pour cela, nous avons effectué un suivi de l'abattement de la DCO, l'évolution du pH au cours du temps de traitement, ainsi que l'évolution de la croissance microbienne.

### 3.2.1.1 Cinétique de l'abattement de la DCO ;

La cinétique d'abattement de la DCO dans les deux bioréacteurs est représentée dans la figure 3.1.



**Figure 3-1: Cinétique d'abattement de la DCO dans les bioréacteurs Bio-boue (B1) et Bio-Lix (B2) au cours du temps de traitement ( $T^{\circ}= 25^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH} = 7,5$ )**

Pour les deux essais réalisés, nous obtenons un même profil de l'allure pour les deux courbes. Nous remarquons une diminution considérable de la pollution estimée en termes de DCO. En effet, pour les deux bioréacteurs la concentration initiale est de  $10500 \text{ mgO}_2.\text{L}^{-1}$ , la concentration finale est de  $1833$  et  $1300 \text{ mgO}_2.\text{L}^{-1}$  pour Bio-Boue et Bio-Lix, respectivement.

Au-delà de 72h de traitement (3 jours) le traitement n'est plus efficace. En effet le palier a été atteint au bout de cette période de traitement.

Les rendements obtenus sont de 82,5 et 87,6 % pour bioréacteurs Bio-Boue et Bio-Lix, respectivement. On a obtenu un rendement nul pour le témoin qui consistait en un prélèvement du même lixiviat dans un récipient où toutes les conditions citées au préalable (aération, agitation) ont été supprimées, dans le but de simuler le lixiviat *in situ*, et éliminer l'hypothèse d'une éventuelle autoépuration dans une durée de traitement de 72h. En effet, l'aération et l'agitation, favorisent le développement des microorganismes endogènes du lixiviat brut et améliorent leur activité de biodégradation. (**Warith, 2002 ; Benson et al. 2007**).

L'opération a été effectuée deux fois pour les deux bioréacteurs afin de prouver leur répétabilité.

La DCO initiale =  $10500 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$  et La DBO<sub>5</sub> initiale =  $5500 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ . Le ratio DBO/DCO détermine le taux de biodégradabilité du lixiviat. Dans notre étude, ce ratio est de 0,52. Cela signifie que même si le lixiviat est fortement chargé, il reste fortement biodégradable. Ce qui explique la rapidité de la cinétique d'abattement de la DCO. (**Rodier, 1996 ; De Morais and Zamora, 2005**).

En effet, d'autres auteurs ont trouvé des taux d'abattement de la DCO dans les lixiviats similaires à notre étude, à un ratio DBO/DCO supérieur à 0,4. **Zaloum et Abbott (1997)** ont traité des lixiviats de décharges par bioréacteur en batch, dont le ratio DBO/DCO variait entre 0,4 et 0,5. Le taux d'élimination de la DCO était de 82,1% à 94,6%.

**Robinson and Maris (1983)** ont traité un lixiviat de déchets ménagers, par traitement biologique aéré en process continu, dont le ratio DBO/DCO= 0,6. Le taux d'élimination de la DCO a atteint 91% au bout de 10 jours de traitement. Cette expérience étant réalisée à une température de 10°C, ceci expliquerait la faible vitesse de dégradation de la matière organique.

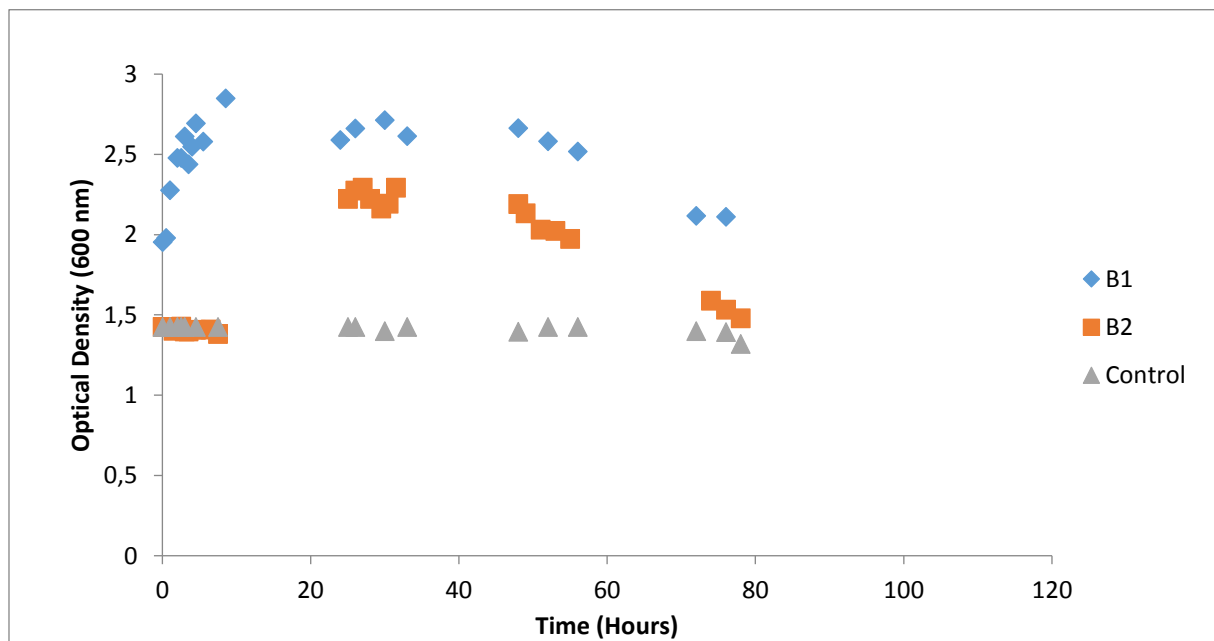
A contrario, d'autres auteurs ayant travaillé sur de faibles ratios de DBO/DCO, ont obtenu un faible taux d'abattement de la DCO. Dans ce cadre, **Baumgarten and Seyfried (1996)** ont traité un lixiviat faiblement biodégradable, dont le ratio DBO/DCO était de 0,33. Le taux d'abattement maximal de la DCO a atteint 59% seulement. Dans des travaux précédents sur le traitement du lixiviat de la décharge d'Oued Smar (**Chemlal et al. 2014**) le ratio DBO/DCO était proche de 0,04. Ce qui a induit un taux très faible d'élimination de la DCO, qui s'explique par la présence de molécules hautement réfractaires à la biodégradation et de molécules organiques faiblement biodégradables (**Poblete et al. 2011**). Le lixiviat ayant ces propriétés est

dit, lixiviat stabilisé, où le taux DBO/DCO est inférieur à 0,1. (De Morais and Zamora, 2005). Cette complexité est due à la prédominance des acides humiques et acides fulviques, dont le poids moléculaire est supérieur à 10kD ; ce qui est le cas de la décharge d'Oued Smar en activité depuis plus de 40 ans.

Selon Chemlal et al. (2014), le lixiviat d'Oued smar a été prétraité, en amont, par photo catalyse avancée pour le rendre facilement assimilable par les boues activées du bioréacteur installé en aval. Le taux d'abattement de la DCO a finalement atteint un taux de 60% à 77%. Ce résultat est presque similaire aux résultats obtenus lors des études réalisées par Xie et al. (2010) ; Cassano et al. (2011) et Del Moro et al. (2013).

### 3.2.1.2 Suivi de la croissance microbienne ;

L'évaluation de la cinétique de croissance a été réalisée par dosage à la spectrométrie UV-Visible.



**Figure 3-2: Cinétique de croissance des microorganismes des bioréacteurs Bio-Boue (B1) et Bio-Lix (B2) au cours du traitement. ( $T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH} = 7,5$ )**

Le bioréacteur Bio-boue présente selon la Figure 3.2 une courbe de croissance démunie d'une phase de latence ; ceci s'explique par une mise en contact au préalable des boues activées avec le lixiviat brut, afin d'accélérer le métabolisme microbien. Au cours de la phase stationnaire de 20H jusqu'à 60H de traitement, l'abattement de la DCO a été important. La phase de déclin qui



suit, correspond à la mort cellulaire due à une diminution de la concentration en substrat. En effet, en cette étape le palier est atteint en termes de DCO.

Contrairement au Bio-Boue le bioréacteur Bio-Lix présente une courbe de croissance qui débute par une phase de latence de 10H, celle-ci s'explique par un temps d'adaptation des microorganismes présents dans le lixiviat aux nouvelles conditions du milieu (aération, agitation). D'une manière similaire au Bio-Boue l'abattement de la DCO a été plus conséquent lors de la phase stationnaire de croissance qui varie de 20 à 60H de traitement.

La courbe de croissance du Bio-Boue présente une densité plus importante que celle du Bio-Lix expliquée par une population microbienne beaucoup plus dense dans les boues activées additionnée aux microorganismes autochtones du lixiviat lui-même. Tandis que le Bio-Lix ne contient que ces derniers.

Les fortes concentrations en métaux lourds, les sels inorganiques et les substances organochlorées pourraient inhiber l'activité microbienne. (Calabro et al. 2010).

### 3.2.1.3 Suivi du pH au cours du traitement par bioréacteur :

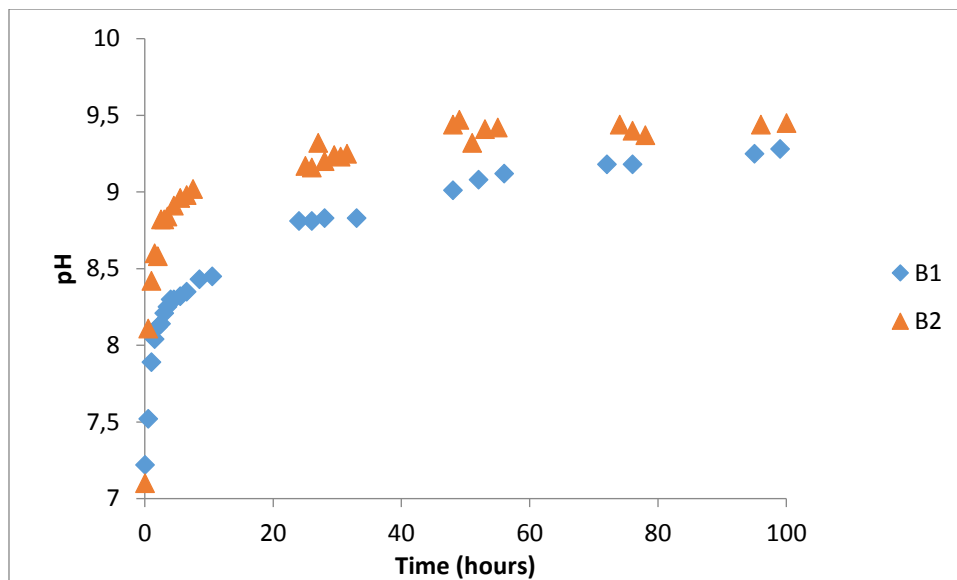


Figure 3-3: Evolution du pH au cours du traitement pour les bioréacteurs Bio-Boue (B1) et Bio-Lix (B2). ( $T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH} = 7,5$ )

Le pH du lixiviat *in situ* est de 7,1, au cours du traitement par bioréaction celui-ci augmente pour atteindre une valeur de 9,3 et 9,4 pour Bio-Boue et Bio-Lix respectivement au bout de 5 jours de traitement. La fourchette du pH comprise entre 5 et 9 favorise le développement des microorganismes neutrophiles au cours d'un traitement biologique en aérobiose (**Gerard, 2002**).

L'intérêt du traitement par bioréacteur est d'accélérer le processus de la dégradation de la matière organique, qui se fait naturellement *in situ* mais au bout de plusieurs années. Le stade final atteint correspond à la phase méthanogène et de stabilisation où le pH a tendance à augmenter sous le contrôle de la capacité tampon des carbonates. (**Billard, 2001 ; Wang et al. 2010**).

D'après la Figure 3.3, On remarque que l'évolution du pH dans le Bio-Lix est plus importante que celle observée dans le Bio-Boue, en effet, le pH a tendance à augmenter pendant la dégradation de la matière organique. En partant du principe que la consommation en substrat organique induit une production de métabolites secondaires (sous-produits) exemple : les carbonates, ces derniers ont tendance à alcaliniser le milieu. Cette différence est probablement due au développement des microorganismes endogènes du lixiviat, qui sont plus denses dans le Bio-Lix comparativement au Bio-Boue, et qui sont plus acclimatés aux différents substrats déjà présents dans le lixiviat. Ceci accélère la dégradation de la matière organique. (**He et al., 2005**).

### **3.2.2 Traitement par ultrafiltration**

L'objectif de notre étude est d'atteindre les normes de rejets en milieu naturel (**JORA, 2006**). Pour cela nous avons couplé, en aval, un procédé d'ultrafiltration au traitement par bioréacteur.

Le dispositif conçu est à l'échelle laboratoire, en utilisant la membrane M5 (Carbosep M5), dont le seuil de coupure est de 10 kDa.

Dans un premier temps nous calculerons la perméabilité au solvant de la membrane propre (avant ultrafiltration) celle-ci jouera le rôle de référence lors de notre étude. Nous procéderons, par la suite, à l'optimisation de la pression transmembranaire sur le flux de perméat (courbes de polarisation).

### 3.2.2.1 Calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane

Le calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane se résume au calcul de la variation du flux de perméat en fonction de la pression transmembranaire appliquée. Le résultat est repris sur la figure ci-dessous. Le calcul de cette perméabilité se fait à température ambiante.

Le flux de perméat  $Jv$  étant calculé à l'aide de la formule :

$$Jv = \frac{V}{A.t} \quad (\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}) \quad (2)$$

A est la surface de la membrane active 0,012 m<sup>2</sup>.

t et V sont respectivement le temps et le volume d'empotage.

La perméabilité  $Lp$  est donnée par la relation qui suit :

$$Lp = \frac{Jv}{\Delta P} \quad (\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}) \quad (3)$$

La pression transmembranaire  $\Delta P$  par la relation suivante :

$$\Delta P = \frac{P_1 + P_2}{2} \quad (\text{bar}) \quad (4)$$

$P_1, P_2$  : sont respectivement les pressions d'entrée et de sortie du module d'ultrafiltration.

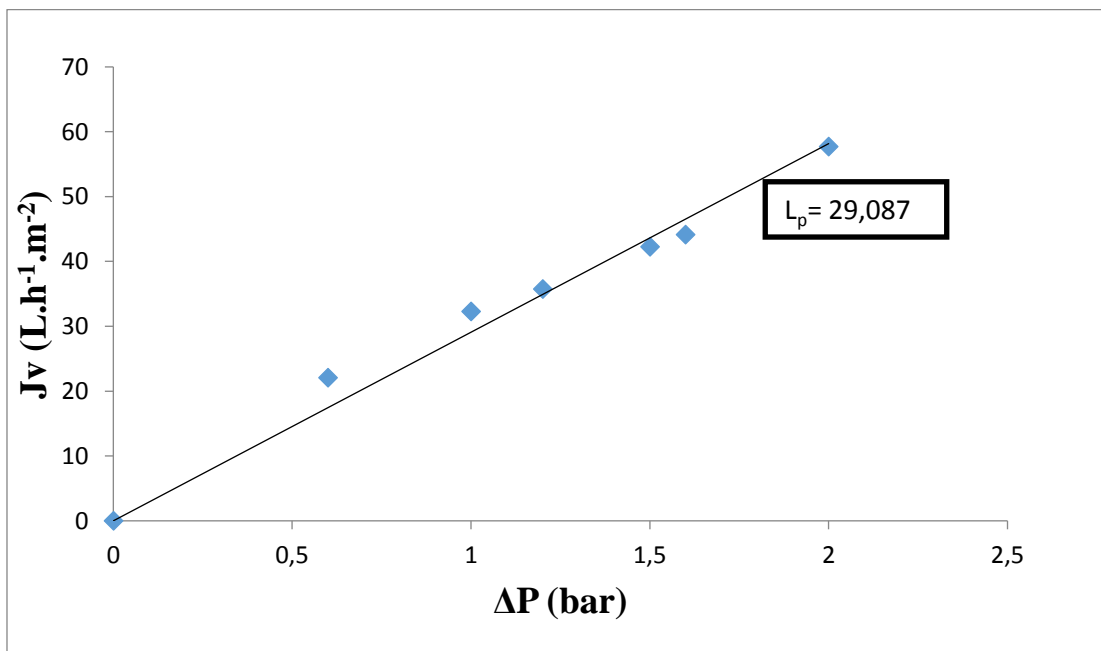


Figure 3-4: Perméabilité à l'eau de la membrane M5 avant ultrafiltration. ( $T^\circ = 25^\circ\text{C}$ ).

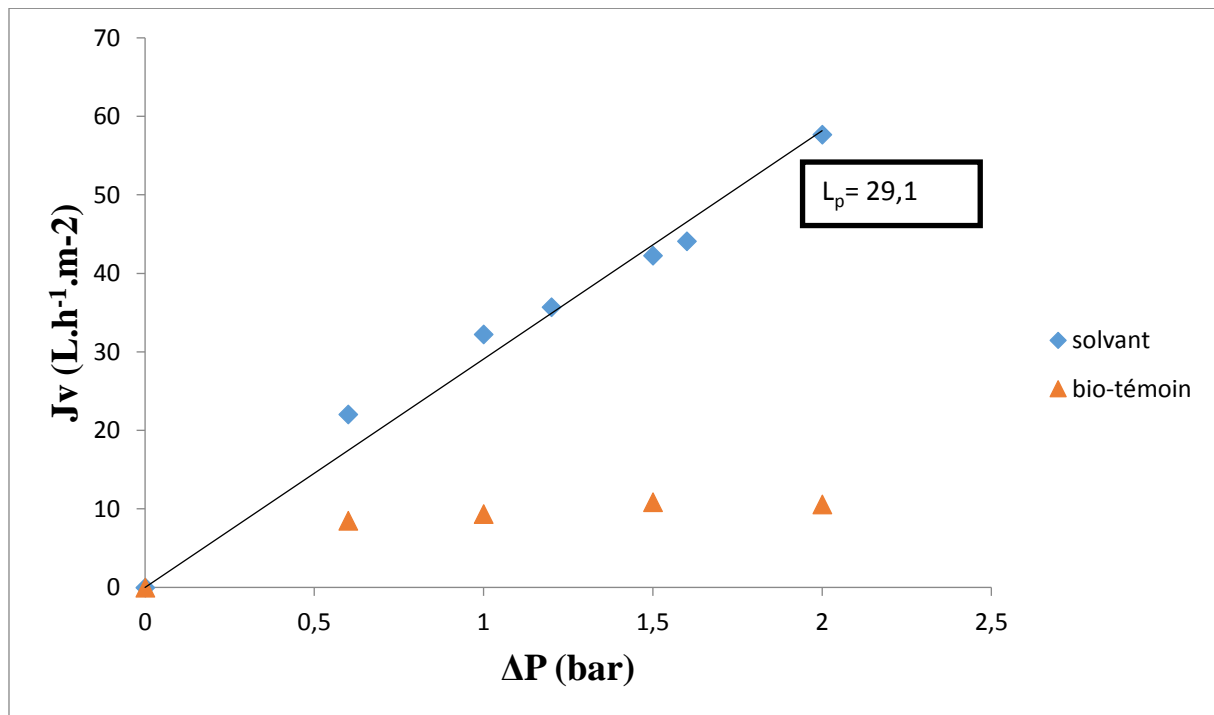
En traçant  $J_v$  en fonction de  $\Delta P$ , nous obtenons une droite qui passe par l'origine. Le calcul de la pente de la Figure 3.4 permet d'obtenir une perméabilité  $L_p = 29,1 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$ .

### 3.2.2.2 Influence de la pression sur le flux du perméat

La réalisation de cette manipulation se fait à concentration constante. Cette concentration est maintenue en dirigeant les sorties de perméat et du concentrât vers le bac d'alimentation. La température doit demeurer constante. Nous avons fait varier la pression et nous avons réalisé des empotages qui nous ont permis de tracer la courbe  $J_v = f(\Delta P)$ .

### 3.2.3 Le lixiviat prétraité par Bio-Lix

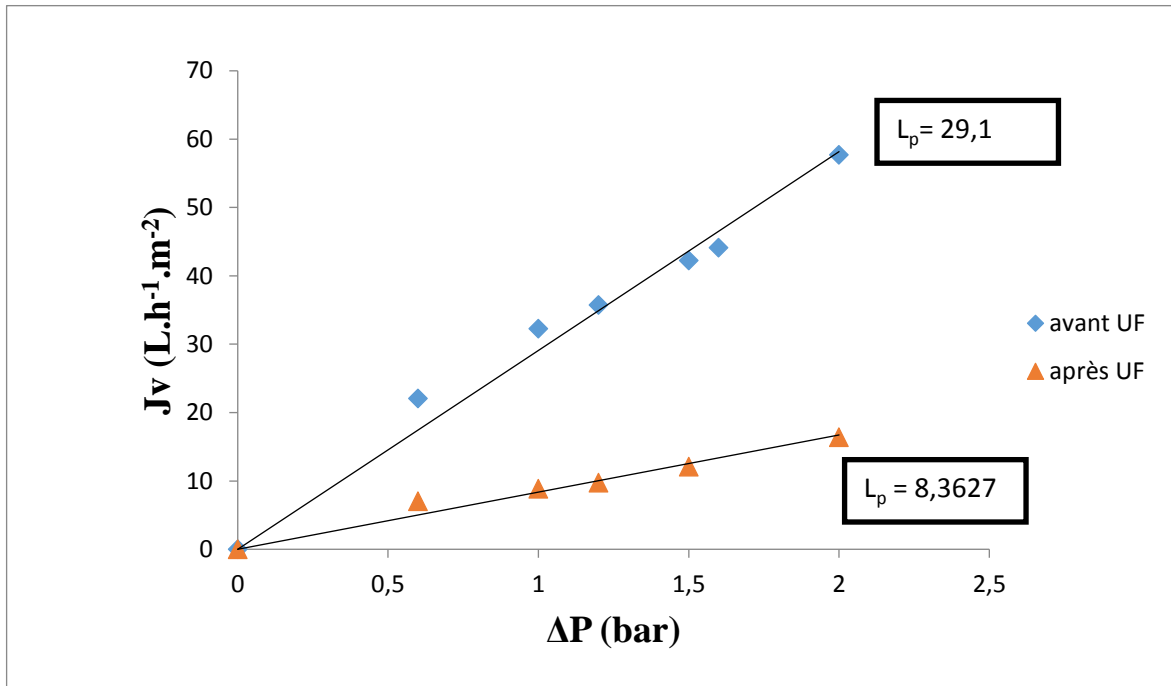
Les résultats de l'expérience sont repris dans la figure ci-dessous :



**Figure 3-5: Influence de la pression transmembranaire sur le flux du perméat pour le lixiviat prétraité par Bio-Lix. ( $T^\circ = 25^\circ\text{C}$ ).**

Nous constatons que, pour une pression inférieure à 1,5 bar le flux de perméat est dépendant de la pression transmembranaire. Au-delà de cette valeur, le flux de perméat devient constant et indépendant de la pression. Ce qui nous amène à conclure que selon la Figure 3.5 la pression de 1,5 bar est la pression optimale pour le traitement par ultrafiltration de notre effluent.

Après vidange de l'installation et évacuation de l'échantillon à traiter qu'elle contenait, on procède au calcul de la perméabilité à l'eau de la membrane après ultrafiltration. Les résultats sont repris dans la Figure 3.6.



**Figure 3-6: Perméabilité à l'eau avant et après l'ultrafiltration pour le lixiviat prétraité par Bio-Lix. (T° = 25°C).**

Les résultats montrent qu'il y a réellement un abattement important de la perméabilité qui s'explique par la réduction du rayon de pores et donc colmatage de la membrane. Ceci serait la conséquence du phénomène d'adsorption sur la surface de la membrane.

La variation de la perméabilité, renseigne sur l'évolution du rayon de pores moyen de la membrane d'ultrafiltration. En effet, la loi de POISEUILLE peut s'écrire :

$$Lp = \frac{N_p \cdot \pi \cdot r_p^4}{8 \cdot \mu \cdot e} \quad (\text{L.h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{bar}^{-1}) \quad (5)$$

$L_p$  : Perméabilité.

$N_p$  : Nombre de pores.

$r_p$  : Rayon de pores moyen.

$\mu$  : Viscosité dynamique.

$e$  : Epaisseur de la couche active.

D'après la relation (4) on aura :

$$\frac{L_{p0}}{L_{p1}} = \frac{r_{p0}^4}{r_{p1}^4} \quad (6)$$

Où  $r_0$  représente le rayon des pores moyen avant ultrafiltration.

Le calcul  $r_0$  se fait selon l'équation de SARBOUISKI :

$$r_0 = 0,5379 \cdot M^{0,3915} (A^\circ) \quad (6)$$

M : Seuil de coupure de la membrane. (10kDa)

De l'équation (5) et (6) nous pouvons obtenir le nouveau rayon des pores après UF, donc  $r_0 = 19,8 A^\circ$  et  $r_1 = 16 A^\circ$ , d'où une réduction du rayon des pores dû à un phénomène d'adsorption au niveau de la surface de la membrane et à l'intérieur même des pores.

### 3.2.4 Le lixiviat prétraité par Bio-boue

Avant de procéder à l'ultrafiltration du lixiviat prétraité par Bio-Boue, nous avons nettoyé notre membrane avec une solution d'hydroxyde de sodium NaOH à une concentration de 1% à une température ambiante pendant 20 min, suivie d'un rinçage à l'eau distillé durant 10 min, s'ensuit un autre lavage à l'acide nitrique 2% durant 20 min, nous finissons par un dernier rinçage à l'eau distillée.

Après le procédé de lavage précédent, il était nécessaire de déterminer la perméabilité à l'eau, afin d'établir le taux de restauration de la membrane après lavage chimique. On suivra les mêmes étapes citées auparavant, le résultat est repris dans la Figure 3.7 qui suit.

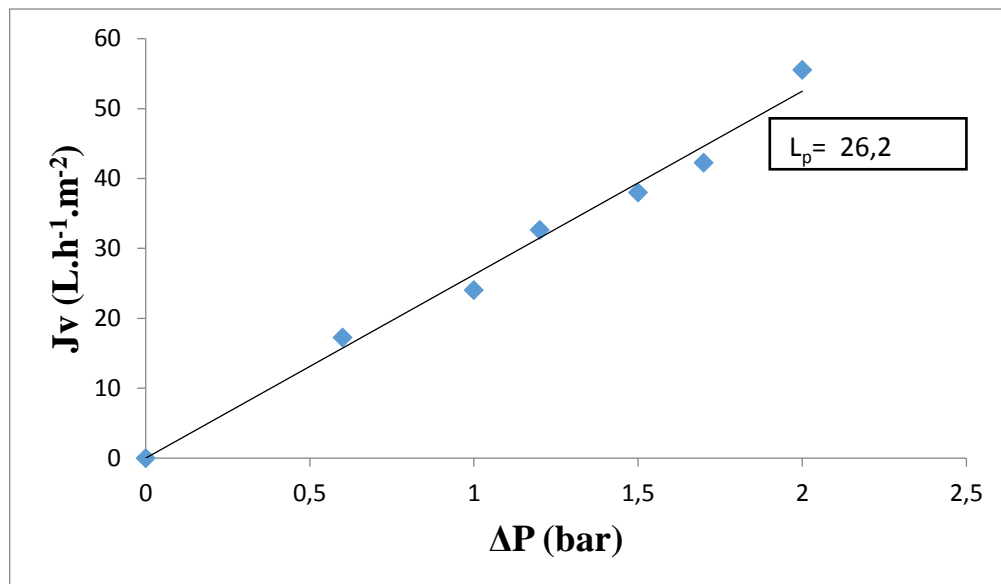
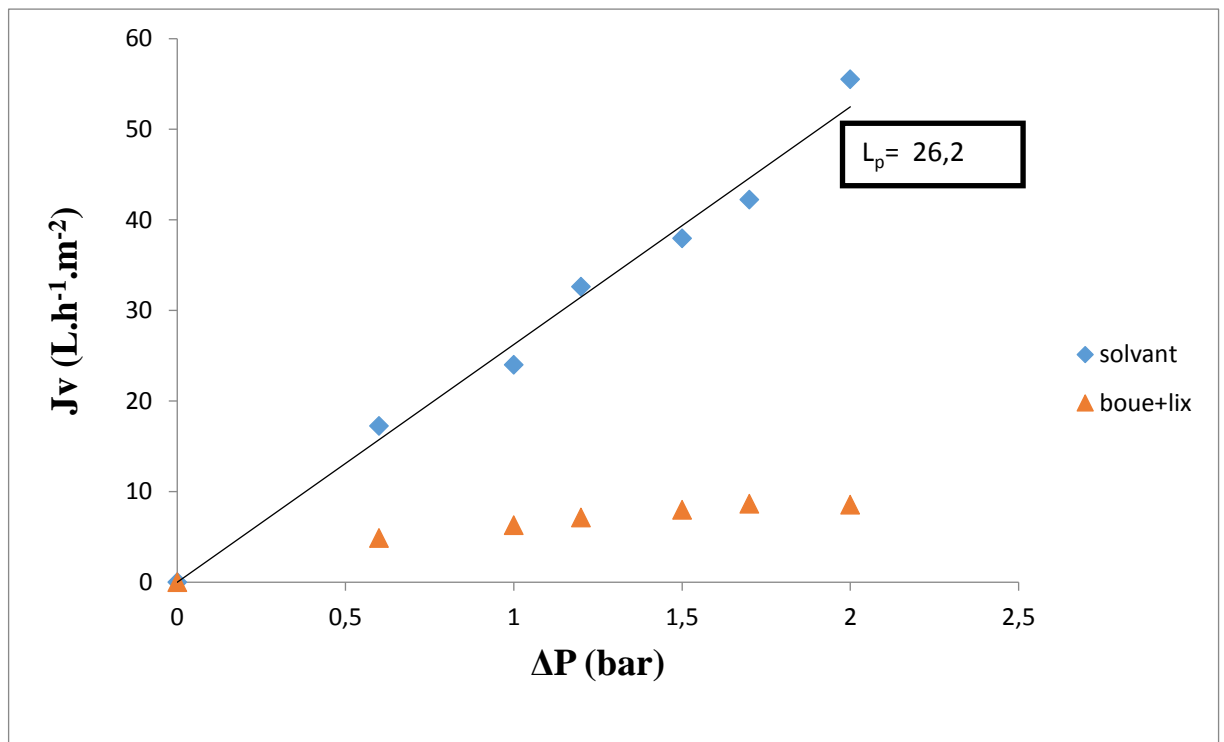


Figure 3-7: Perméabilité à l'eau de la membrane avant deuxième ultrafiltration. ( $T^\circ = 25^\circ C$ ).

La perméabilité qui représente la pente de la droite est de  $26,2 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$ , ce qui nous amène à conclure que le lavage chimique nous a amené une restauration de 90% de la membrane. D'un diamètre moyen de rayon de pore de  $19,3 \text{ \AA}$ .

Les résultats obtenus pour l'ultrafiltration du lixiviat prétraité par Bioréaction sont présentés sur la Figure 3.8.



**Figure 3-8: Influence de la pression transmembranaire sur l'ultrafiltration du lixiviat prétraité par Bio-Boue. ( $T^\circ = 25^\circ\text{C}$ ).**

La variation du flux  $J_v$  dépend de la variation de la pression, jusqu'à une valeur de  $\Delta P$  égale à 1,7 bar. Au-delà de cette valeur la proportionnalité n'est plus respectée, ceci nous amène à dire que le  $\Delta P = 1,7 \text{ bar}$  est la différence de pression optimale pour le traitement par ultrafiltration de cet effluent.

Après rinçage à l'eau distillée, nous déterminons la nouvelle perméabilité de la membrane après ultrafiltration. Les résultats sont repris dans la figure 3.9.

Les résultats montrent également qu'il y a réellement un abattement important de la perméabilité qui s'explique par la réduction du rayon de pores et donc colmatage de la membrane. Ceci serait la conséquence du phénomène d'adsorption à la surface de la membrane.

Après UF le rayon des pores est de  $13,8 \text{ \AA}$ , ceci confirme qu'il y'a réellement colmatage de la membrane.

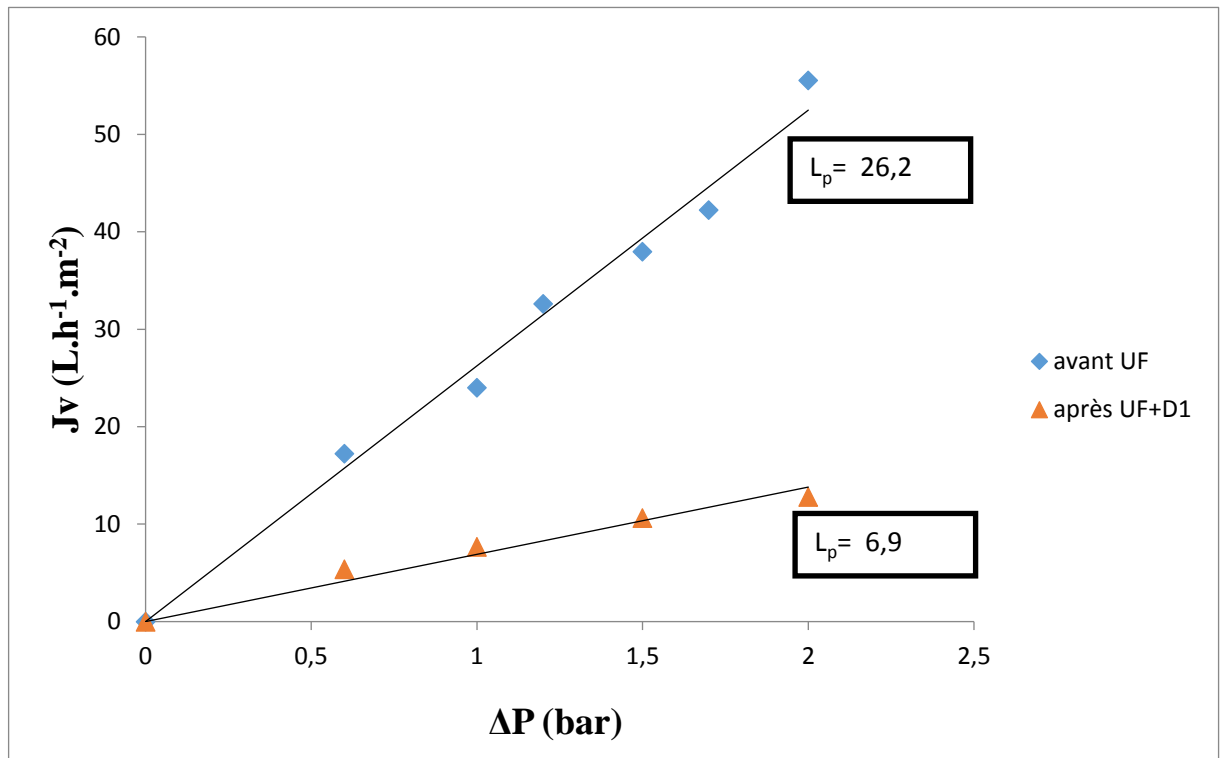


Figure 3-9: Perméabilité à l'eau avant et après ultrafiltration du lixiviat prétraité par Bio-boue. ( $T^\circ = 25^\circ\text{C}$ ).

### 3.3 Rendements du couplage bioréacteur à membrane (BRM)

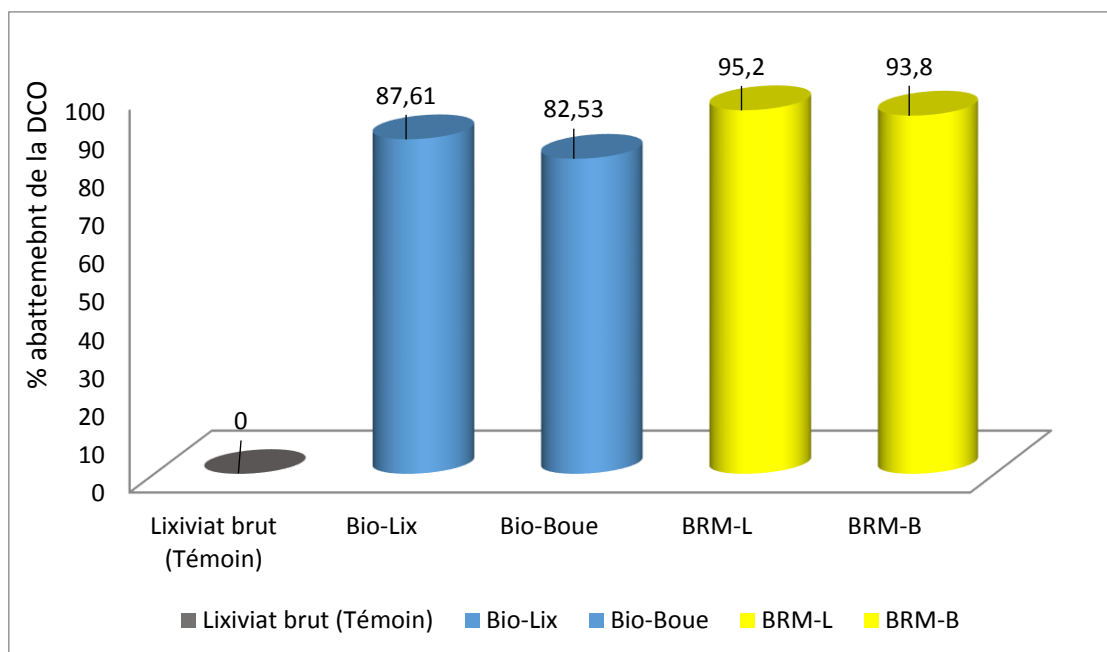
De ce couplage, nous avons voulu atteindre un meilleur rendement d'abattement de la DCO. En effet, les concentrations finales obtenues lors de la cinétique de biodégradation de la matière organique étaient de  $1833$  et  $1300 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$  pour les deux bioréacteurs Bio-Boue et Bio-Lix, respectivement. Selon le journal officiel de la république Algérienne (**JORA, 2006 ; JORA, 2009**), ces concentrations restent supérieures aux normes de rejets en milieu naturel, fixée à  $130 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ , ainsi qu'aux normes de rejets dans une station d'épuration en milieu urbain (STEP), fixée à  $1000 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ .

Après ultrafiltration, nous obtenons les rendements d'élimination de la DCO suivants ;  $64,5$  et  $61,5\%$  soit à des concentrations finales de  $525$  et  $735 \text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$  pour les lixiviats prétraités par Bio-Boue et Bio-Lix respectivement. Ceci est probablement dû à la rétention de macromolécules et de colloïdes par la membrane d'ultrafiltration, ces dernières entrent en jeu pour la détermination de la teneur en matière en suspension de l'effluent ainsi que celle de la



DCO. Notons aussi que lors de cette étude, L'élimination des matières en suspensions est totale, (de 100%) pour les deux bioréacteurs.

Afin de simplifier l'interprétation des résultats qui suivent, nous nommons le Bio-Boue couplé à l'UF par BRM-B et le Bio-Lix couplé à l'UF par BRM-L.



**Figure 3-10: Rendement de l'abattement de la DCO par traitement avec le bioréacteur à membrane. Pour BRM-B et BRM-L.**

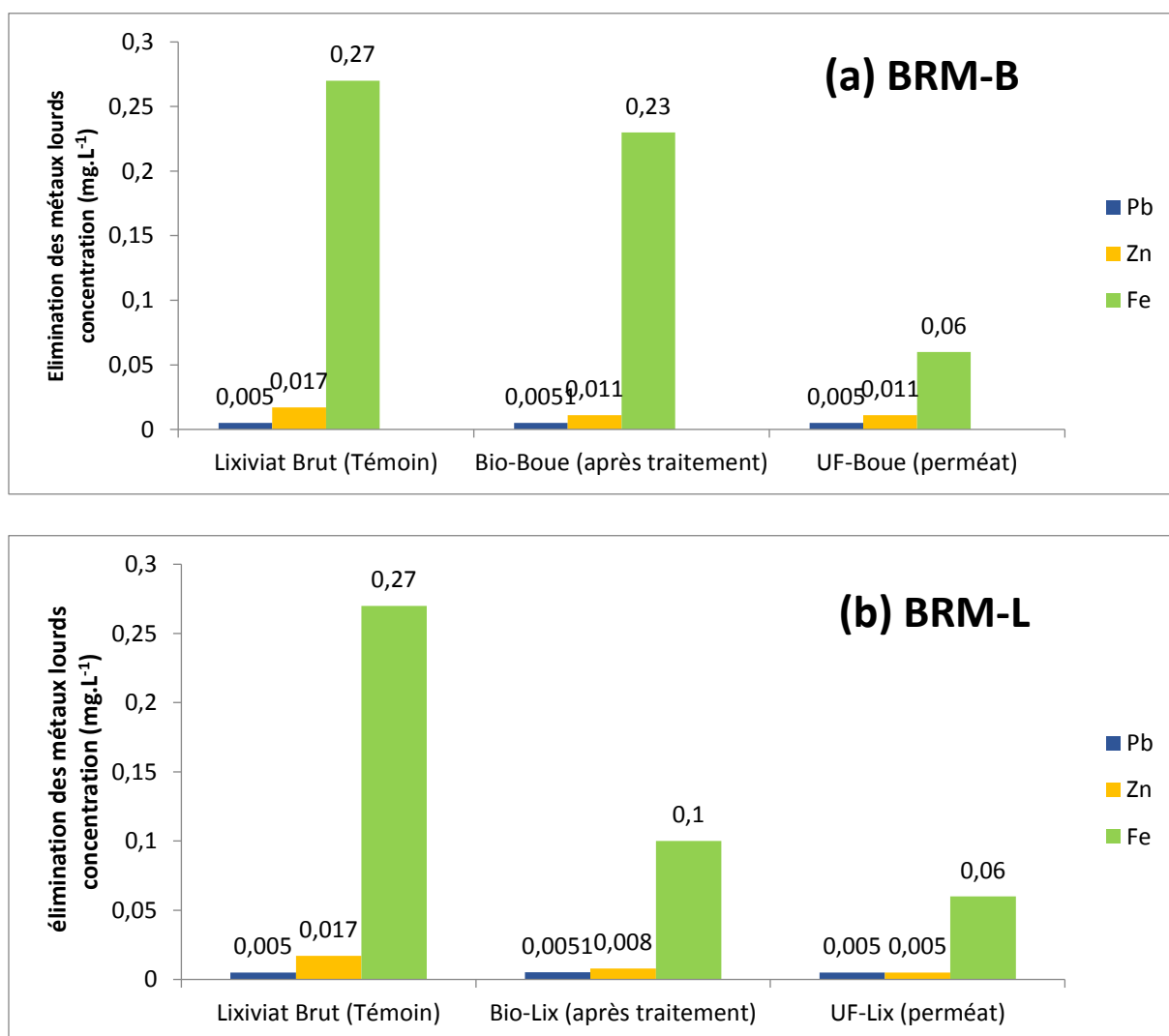
Les rendements du couplage des deux procédés bioréacteur en mode batch et l'ultrafiltration obtenus sont résumés dans la Figure 3.10. Nous notons des rendements de 83 et 87% pour le Bio-boue et Bio-témoin respectivement. Comme décrit précédemment une grosse partie biodégradable de la DCO est éliminée lors du procédé biologique, le reste étant retenu par la membrane lors du traitement par ultrafiltration, d'où les rendements finaux sont de 93 et de 95% pour BRM-B et BRM-L, respectivement.

Après traitement par couplage, Nous concluons que la DCO du lixiviat du CET de Staoueli entre dans les standards de rejets d'une station d'épuration en milieu urbain, selon les normes Algériennes. (JORA, 2009). En effet, les valeurs finales de la DCO sont de 525 et 735  $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$  pour BRM-B et BRM-L, respectivement. Ces dernières restent inférieures à 1000  $\text{mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ .

Nos résultats sont en concordance avec ceux obtenus par des études antérieures sur le traitement des eaux usées urbaines par bioréacteurs à membranes. Cicek et al. (1998), Pellegrin et al. (2002), Battistoni et al. (2006), Barrios-Martinez et al. (2006) ainsi que Yassine. (2014)

ont réussi à atteindre un taux d'abattement de la DCO de plus de 94%. Bien que les BRM soient des procédés limités par certains facteurs, suite au colmatage des membranes et à la polarisation des concentrations qui tendent à diminuer les performances des membranes. Ils restent, néanmoins, efficaces pour la rétention d'une majeure partie de particules organiques et inorganiques, cette efficacité est traduite par la mesure de la DCO.

Nous avons voulu vérifier l'efficacité des traitements sur l'élimination des métaux lourds. Les résultats sont représentés dans les Figures 3.11.



**Figure 3-11: Rendement de l'élimination des métaux lourds par le traitement BRM-B et BRM-L.**

D'après la figure 3.11, nous notons que la teneur en plomb ne varie pas pratiquement tout au long du traitement par couplage.

Par contre, La figure 3.11 démontre une diminution considérable de la concentration des métaux cationiques : le fer et le zinc, par le Bio-Lix, avec un taux de 62 et 52% respectivement. Des taux de 14% et 35% sont obtenus pour le bioréacteur Bio-Boue pour le fer et le zinc respectivement. Nous avons constaté que le rendement est meilleur avec le bioréacteur Bio-Lix en comparaison avec le bioréacteur Bio-Boue. Ce phénomène peut être expliqué par l'assimilation des métaux lourds par les microorganismes comme oligoéléments pour leur métabolisme. Effectivement, le fer et le zinc sont les plus retrouvés dans l'environnement, et sont nécessaires pour la survie de tous les organismes. (**Porcheron et al. 2013 ; Blindauer, 2015**). De plus, il est connu que ces deux métaux jouent le rôle de cofacteurs dans les réactions enzymatiques. (**Andreini et al. 2008**).

*In fine*, l'élimination du fer et du zinc est respectivement de 35 % et 78 % pour le BRM-B, et de 71 % et 74 % pour le BRM-L. Nous avons donc une meilleure élimination du zinc dans le cas du BRM-L.

Les concentrations finales en zinc obtenues sont respectivement de 0,01 et 0,05 mg.L<sup>-1</sup> pour BRM-B et BRM-L. La concentration finale en fer est de 0,06 mg.L<sup>-1</sup> pour les deux bioréacteurs à membranes, BRM-B et BRM-L. Cette concentration reste nettement inférieure aux standards de rejets en milieu naturel, fixée à 3 mg.L<sup>-1</sup> pour le fer et le zinc. Alors que les standards de rejets dans une STEP sont plus stricts, la concentration maximale en fer tolérée est de 1 mg.L<sup>-1</sup> et celle du zinc est fixée à 2 mg.L<sup>-1</sup>.

### **3.4 Partie II : Caractérisation du bisphénol A dans les différents prélèvements de lixiviats bruts :**

Les chromatogrammes de la figure 3.12 ci-dessous démontrent la présence de Bisphénol A dans les trois échantillons de lixiviats. En effet, la courbe d'étalonnage (D) réalisée à des concentrations connues et croissantes de BPA standards, (Voir annexe), démontre un pic à un temps de rétention (TR) de 3.355 min présent dans les trois chromatogrammes (A), (B) et (C) des échantillons LC, LH et LB, respectivement.

De l'analyse des extraits obtenus par la technique de **Bahramifar et al. (2014)** par HPLC-UV, nous concluons que la concentration en bisphénol A dans les trois échantillons de lixiviats bruts prélevés est élevée. L'intégration des aires de chaque pic nous donne les valeurs suivantes : 3552, 842 et 5286  $\mu\text{g.L}^{-1}$  pour LC, LH et LB, respectivement.

Ces concentrations sont relativement élevées comparativement à des études réalisées sur d'autres lixiviats de décharges localisées dans les pays développés, qui pour la plupart producteurs et/ou consommateurs de BPA comme matière première.

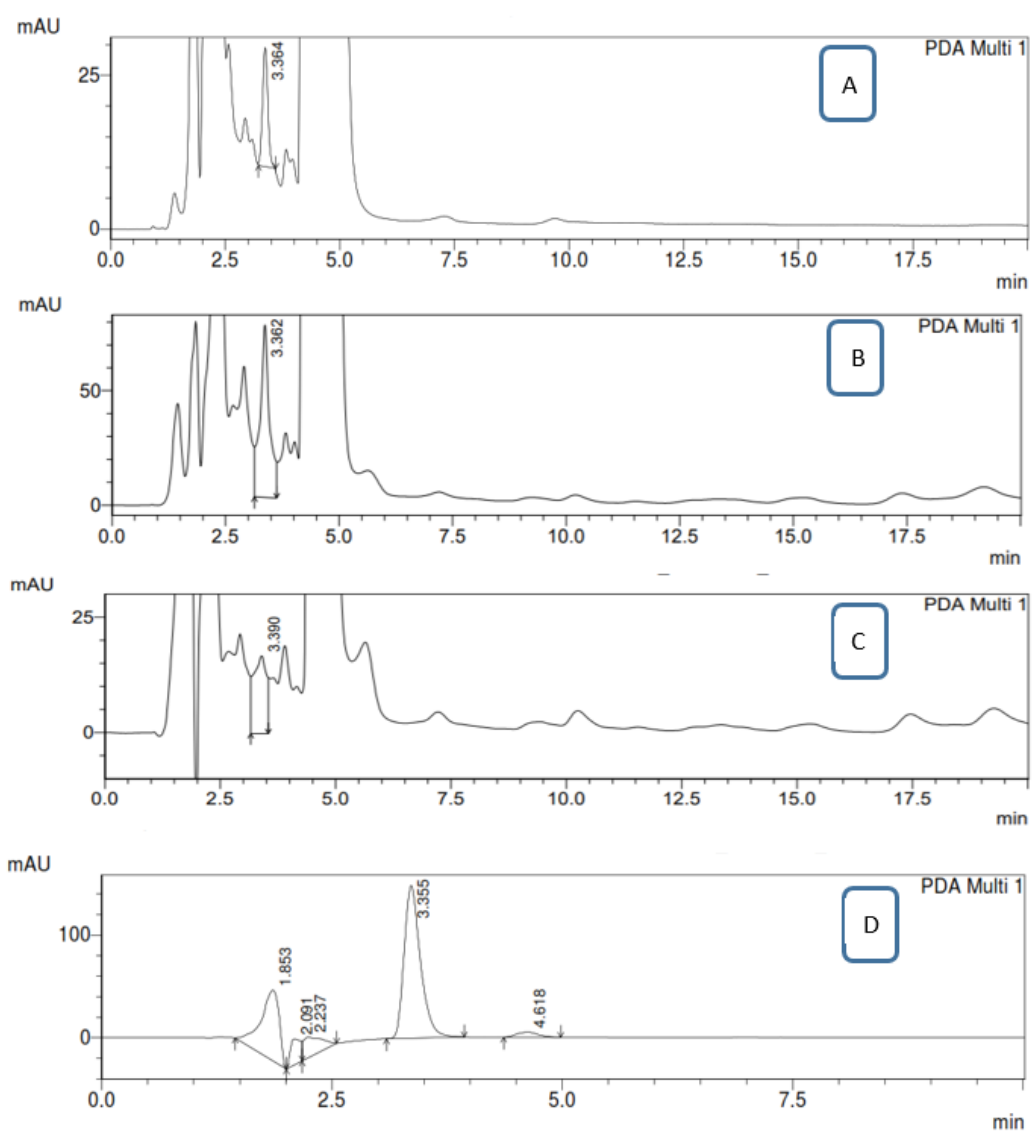
En effet, le tableau 7 récapitulatif ci-dessous, démontre des concentrations variant de 101,1 à 25000  $\mu\text{g.L}^{-1}$ , (**Elhassani, 2016 ; ADEME, 2015 ; Bahramifar et al. 2014 ; Schwarzbauer et al. 2002 ; Yamamoto et al. 2001**) où nous déduisons que Les valeurs obtenues de concentration du BPA dans le lixiviat algérien, sont effectivement élevées.

Bien que la production de BPA, de résine époxyde ou de polycarbonates, ne soit pas une référence en Algérie, la consommation et l'utilisation du plastique et de ses dérivés reste importante .En effet, une étude réalisée en 2014 sur l'appréciation des constituants des déchets ménagers et assimilés en Algérie, où 13% correspondent aux matières plastiques, 10% aux papiers, 2% aux métaux et 4% en déchets divers non classifiés (**Kehila, 2014**). En sachant qu'aujourd'hui le BPA se trouve dans la plupart de ces fractions, Ceci expliquerait la concentration inquiétante de BPA dans les lixiviats.

**Tableau 7 : Concentration du bisphénol A dans les trois échantillons de lixiviats**

Echantillon de lixiviat	Concentration de BPA ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )
LC (A)	3552
LH (B)	842
LB (C)	5286

(Limite de détection, LOD =  $1,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ )



**Figure 3-12 : Chromatogrammes A, B, C et D représentant les pics d'éluion du BPA pour les trois échantillons de lixiviats LC, LH, LB et le standards à un TR = 3.355 min. par HPLC-UV .**

**Tableau 8** : Exemples de références sur la concentration du BPA analysée dans le lixiviat de décharges dans différents pays :

<u>Pays</u>	<u>Concentrations</u> <u>BPA (<math>\mu\text{g.L}^{-1}</math>)</u>	<u>Références</u>
<b>Canada</b>	5823	<b>(Elhassani, 2016)</b>
<b>Chine</b>	2923	<b>(Li et al. 2006)</b>
<b>Allemagne</b>	25000	<b>(Schwarzbauer et al. 2002)</b>
<b>Allemagne</b>	3610	<b>(Coors et al. 2003)</b>
<b>Japon</b>	8400	<b>(Urase et Miyashita, 2003)</b>
<b>Japon</b>	17200	<b>(Yamamoto et al. 2001)</b>
<b>Suède</b>	107	<b>(Larsson et al. 1999)</b>
<b>Iran</b>	125,8	<b>(Bahramifar et al. 2014)</b>
<b>Iran</b>	101,1	<b>(Bahramifar et al. 2014)</b>
<b>Thaïlande</b>	510	<b>(Chen et Zhang, 2014)</b>
<b>USA</b>	2280	<b>(Joseph et al. 2011)</b>
<b>France</b>	7700	<b>(ADEME, 2015)</b>

De multiples recherches se sont consacrées à la présence du BPA dans les tissus de l'organisme, les aliments et l'environnement, de sa détection jusqu'aux moyens de son élimination. Plusieurs de ces études restaient impuissantes devant les techniques de détection classiques. Toutefois, avec l'avènement des nouvelles méthodes chromatographiques de pointe les recherches ont beaucoup avancé ces dernières années (**Inoue et al. 2000**). La détermination du BPA est devenue très sensible, les concentrations obtenues sont de l'ordre du microgramme, du nanogramme et du picogramme grâce à l'HPLC, à la CPG, et à l'LC-MS/MS (**Yoon et al. 2003** ; **Zalko et al. 2003** ; **Welshons et al. 2006** ; **Wetherhill et al. 2017**).

A partir de là, Il a été prouvé que cette molécule est présente dans différentes matrices ; les tissus animaux et humains : le plasma sanguin, les urines, le lait maternel et le liquide amniotique etc. (**Fukata et al. 2006** ; **Vandenberg et al. 2007**). Sa présence dans les aliments en conserves, les contenants alimentaires, jouets pour enfants, et bien sûr dans les déchets ultimes (**Brotons et al. 1994** ; **Kang et al. 2003**).

Les molécules, tel que le BPA, se retrouvent concentrées dans le percolât résultant de la lixiviation des déchets, principalement du plastique, **Sajiki et al. (2004)** ont prouvé que le phénomène de lixiviation entraînait les molécules de BPA et que ce processus s'accélérait à un

pH basique et en présence d'acides aminés. Beaucoup de travaux de recherches ont étudié la problématique du BPA dans les jus de décharges. Le tableau 8 reprend les différentes études réalisées dans plusieurs pays de différents continents (**Yamamoto et al. 2001 ; Coors et al. 2003 ; Kawagoshi et al. 2003 ; Li et al. 2006**).

L'HPLC-UV nous a permis de détecter et de quantifier le BPA dans nos trois échantillons de lixiviats de différents sites. Il semblerait donc que les études préliminaires sur cette matrice, prouvent encore une fois que cette molécule est largement distribuée dans l'environnement (**Dorn et al., 1987 ; Ike et al., 1995**).

L'élimination du BPA de l'eau potable par filtration UF a été étudiée par **Bing-Zhi et al. (2008)**. Les résultats ont montré que l'ultrafiltration peut éliminer efficacement le BPA avec une membrane UF (2000-10,000 Da) plus de 92 % de la concentration initiale de BPA (100-600  $\text{pg.L}^{-1}$ ) a été éliminée. L'efficacité des procédés membranaires peut varier en fonction du type de membrane, des caractéristiques de la membrane, des conditions de filtration, du colmatage membranaire, etc. (**Schâfer et al. 2011**). Les mécanismes qui régissent la rétention des polluants sont l'adsorption, l'exclusion (taille) et la répulsion (charge). Les conditions opératoires, telles que le débit de filtration, la température et la concentration initiale du polluant affectent l'efficacité de la filtration. OI, NF et UF sont sensibles aux quantités de matières présentes dans les eaux et aux concentrations des sels dissous (**Homem et Santos, 2011**).

Par ailleurs, la filtration membranaire produit du concentrât dans lequel la pollution est plus concentrée. Aussi, les technologies membranaires ne dégradent pas les polluants. Les polluants sont transférés dans le concentrât, lequel nécessite un traitement supplémentaire ou une disposition particulière. La filtration membranaire reste un procédé onéreux.

Par opposition aux systèmes membranaires, plusieurs études ont rapporté des performances très intéressantes d'élimination des composés phénoliques dans les systèmes à boue activée. **Lim et al., (2013)** ont investigué l'élimination du phénol, de l'o-crésol, du m-crésol et du 4-chlorophénol dans un système de boues activées acclimaté au phénol. Une élimination quasi totale a été observée pour le phénol, o-crésol, m-crésol et 4-chlorophénol initialement présents à des concentrations entre 50 et 600  $\text{mg.L}^{-1}$ . Sur la base des résultats de DCO, **Matsui et al. (1988)** ont rapporté une efficacité d'élimination de 72% de BPA dans des eaux usées industrielles. **Furun et al. (1990)** ont également rapporté un bon taux d'abattement du BPA dans une BA inoculée par des microorganismes issus d'une station d'épuration des eaux usées d'une usine pétrochimique. La dégradation du BPA a atteint 99.7% après deux semaines

d'incubation. La dégradation du pentachlorophénol (PCP) dans des boues granulaires micro-aérobique a également été rapportée par **Xiuwen et Shanhong (2011)**. Selon les auteurs, après 20 jours de fonctionnement, sous aération continue, les taux d'abattement de PCP (initialement à 15 mg.L<sup>-1</sup>) et de DCO ont atteint plus de 85% et 80 %, respectivement. **Kim et al. (2001)** ont observé une dégradation du BPA et du nonylphénol (NP) dans des boues activées nitrifiées. Après 10 jours d'acclimatation, les concentrations de BPA et NP sont passées de 10 mg.L<sup>-1</sup> à inférieure à 3 mg.L<sup>-1</sup> pour le BPA, et inférieure à 2 mg.L<sup>-1</sup> pour le NP, au bout de 12h (**Kim et al. 2007**).

### **3.5 Partie III : Biodégradation du BPA présent dans les lixiviats par un consortium de microorganismes :**

#### **3.5.1 Cinétiques de suivi des paramètres globaux :**

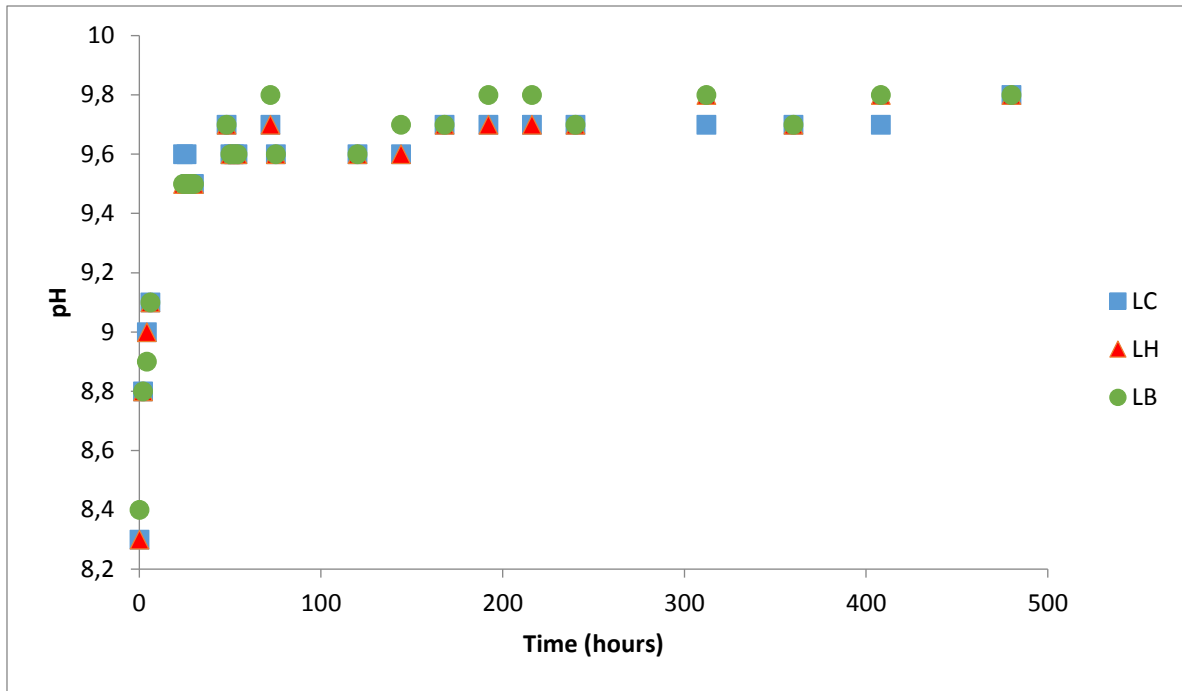
Au cours de cette étude, trois lixiviats ont été prélevés dans trois CET différents ; Corso, Hamici et Blida ; auxquels un traitement par bioréaction a été effectué pour les trois prélèvements, dans des conditions non limitantes en aération et sans ajout de nutriments. Cette opération s'est déroulée à une température variant entre 28°C et 30°C.

Le processus aérobie a été choisi au détriment de l'anaérobie, afin de reproduire les conditions de traitement dans les installations de traitements de lixiviats *in situ* au niveau du CET de Hamici (le seul site muni d'un bioréacteur à membrane actuellement). Des études ont aussi prouvé que la biodégradation du BPA en aérobiose donnait un meilleur résultat qu'en condition anaérobie ; 90% d'abattement de BPA en 7 jours par traitement de boues activées en présence d'un système d'aération, par rapport à un abattement de 10% seulement de BPA en 10 jours de traitement par des boues en absence d'aération. (**Dorn et al. 1987 ; Kang et al. 2002 ; Kang et al. 2006 ; Li et al. 2012**)

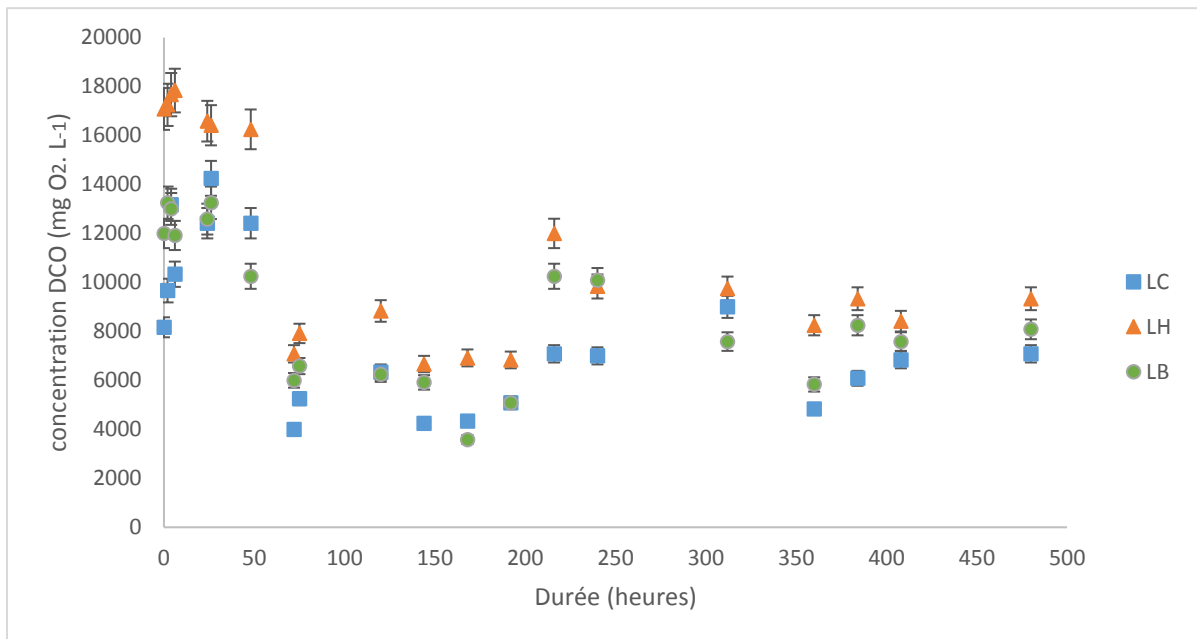
Cette biodégradation tire profit des microorganismes préexistants dans chacun des lixiviats. Elle permet d'étudier la variation des différents paramètres de pollution suivants à savoir le pH, la DCO, la DO à 600 nm et le BPA.

Les figures 3.13, 3.14 et 3.15 ci-dessous représentent les résultats obtenus lors du suivi de la cinétique de traitement par les trois bioréacteurs LC, LH et LB.

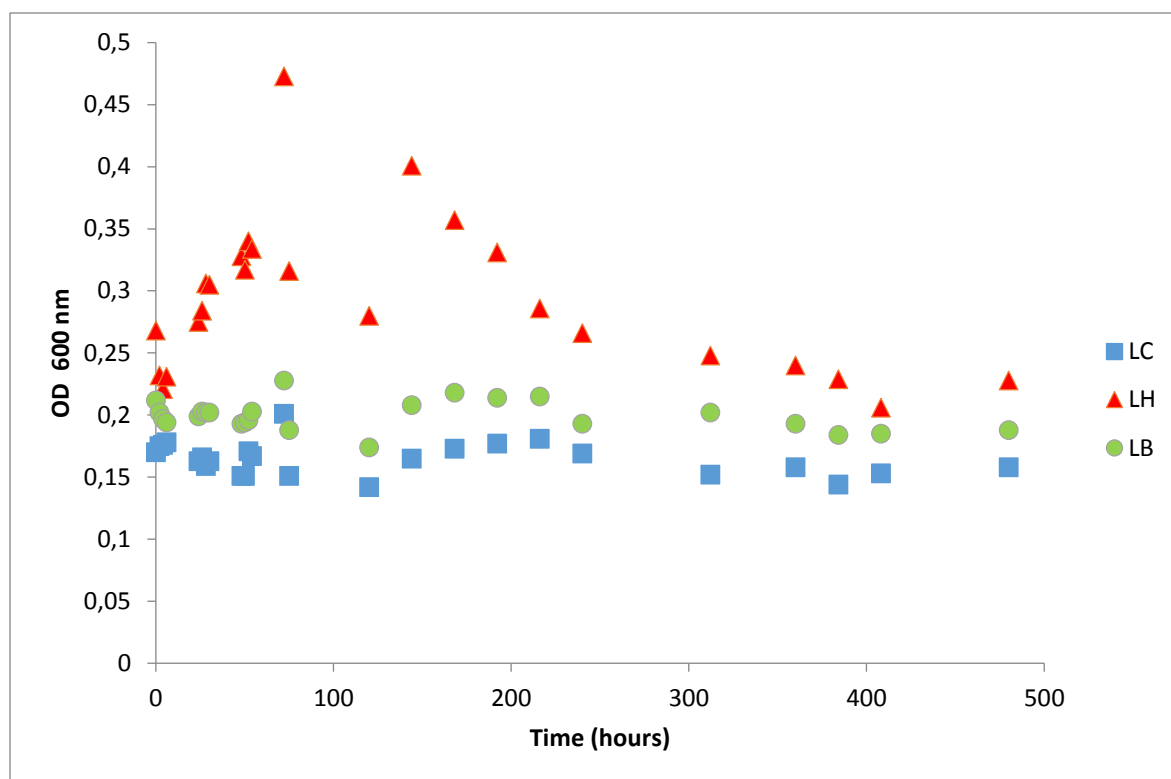




**Figure 3-13: Cinétique de suivi du pH au cours du traitement par bioréacteur aérobique pour LC, LH et LB.**



**Figure 3-14 : Cinétique d'abattement de la DCO au cours du temps de traitement par bioréacteur aérobique pour LC, LH et LB.**



**Figure 3-15: Cinétique de la croissance bactérienne (DO 600nm) en fonction du temps de traitement par bioréacteur aérobique pour LC, LH et LB.**

Au cours de la première partie du traitement de 0 à 144h (6 jours environ), nous avons observé une augmentation du pH pour les trois bioréacteurs, il a déjà été observé lors de la première partie de cette étude que l'aération augmenterait la valeur du pH (**Chemlal et al. 2014 ; Azzouz et al. 2018**). La figure montre une augmentation du pH de 8,3 à 9,7 environ pour les trois bioréacteurs LC, LH et LB. Puis, il se stabilise pour atteindre une valeur de 9,9 (figure 3.13). Il a déjà été expliqué précédemment que le pH a tendance à augmenter sous le control de la capacité tampon des carbonates. (**Billard, 2001**) et que la fourchette du pH comprise entre 5 et 9 favorise le développement des microorganismes neutrophiles au cours d'un traitement biologique en aérobiose (**Gerard, 2002**).

Lors de cette phase (144h de traitement, 6 jours environ), un abattement de la DCO est observé pour les trois bioréacteurs. Le bioréacteur LC présente une concentration initiale en DCO de  $8166 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$  qui chute à une concentration de  $4250 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$  en fin de traitement, soit une baisse de 48%. Pour le bioréacteur LH, la DCO initiale de  $17083$  passe à  $6666 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ . Quant au bioréacteur LB la DCO initiale de  $12000$  diminue à  $5916 \text{ mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$ . Les réductions de DCO dans les réacteurs LH et LB sont de 60% et de 50%, respectivement. Suite à l'allure de la courbe, au-delà de 144h (6jours) de traitement, nous estimons que le palier est atteint (figure 3.14). Cet abattement est expliqué par une DCO initiale majoritairement liée à la présence de composés

biodégradables, par déduction la DCO résiduelle observée serait probablement de type inerte, issue de la lyse bactérienne dans le bioréacteur. Les faibles taux d'abattement, 48%, 60% et 50% sont principalement liés au caractère récalcitrant de ces lixiviats qui sont faiblement biodégradables (Millot, 1986 ; Ramade, 1998). L'âge du lixiviat est, en effet, un paramètre très important pour déterminer l'état d'avancement de la dégradation *in situ*. En effet, l'année d'exploitation de ces trois CET est 2006 pour le CET de Blida, 2013 pour le CET de Hamici et 2014 pour le CET de Corso.

Les résultats enregistrés dans cette étude démontrent que les concentrations élevées en BPA 3552, 842 et 5286  $\mu\text{g.L}^{-1}$  pour les trois bioréacteurs LC, LH et LB respectivement n'ont pas affecté la capacité des microorganismes du BRM (bioréacteur à membrane) à dégrader la matière organique présente dans les lixiviats.

Des études relativement similaires rapportées dans les travaux de Seyhi, (2012) et de Yassine, (2014) où il a été noté que des concentrations de BPA allant de 0,400 et 20  $\text{pg.L}^{-1}$ , n'affectaient en aucun cas le potentiel des microorganismes à dégrader la matière organique.

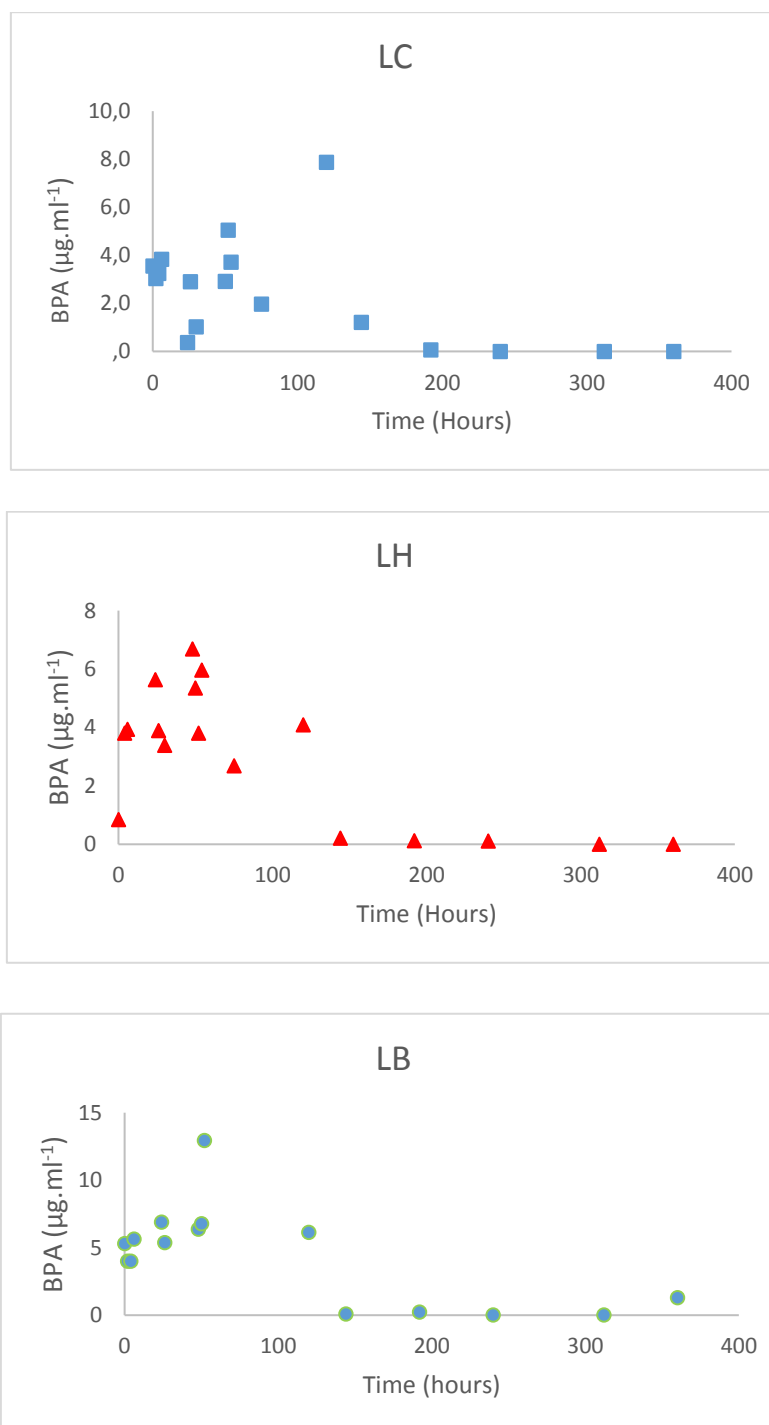
Le suivi de la densité optique à 600nm permet d'estimer la croissance microbienne, au cours du traitement par bioréacteur (Figure 3.15). Un état stationnaire de la croissance bactérienne a été observé pour LC et LB. Lors de la phase de traitement qui s'étend de 0 à 144 h, Ceci est probablement dû à l'adaptation des microorganismes aux nouvelles conditions d'aération et d'agitation, tandis que la courbe de croissance des microorganismes du bioréacteur LH démontre une phase exponentielle très importante. Au-delà de 144 h jusqu'à la fin de l'expérience (500 h, 23 jours environs) une diminution importante de la DO est observée pour le bioréacteur LH jusqu'à l'atteinte d'un seuil stationnaire, dont l'allure de la courbe s'aligne avec celles de LC et LB.

La forte concentration en BPA n'a pas affecté la croissance microbienne des deux bioréacteurs LC et LB. Par contre, la phase de déclin dans le LH semble liée à la dégradation de la matière organique qui joue un rôle de substrat. (Azzouz et al. 2018).

### **3.5.2 Performance d'abattement du BPA dans les différents prélèvements de lixiviats :**

Les performances des trois bioréacteurs en termes d'abattement de la concentration du BPA ont été suivies simultanément à celle de la DCO. Keskinan et al. (2016) ont travaillé sur des solutions synthétiques de BPA, et ont prouvé que les consortiums microbiens de type boues activées, dégradent efficacement le BPA à des concentrations inférieures à 53  $\text{mg.L}^{-1}$ , au-delà de cette concentration, le BPA aurait un effet inhibiteur sur les microorganismes. Yamanaka

et al. (2007) ont étudié la biodégradation du BPA par des Bacilles, ils ont conclu qu'à une concentration de BPA supérieure à  $50 \text{ mg.L}^{-1}$  inhibent la croissance des microorganismes ainsi que leur habilité à la dégradation du BPA. Notre étude présente en effet des concentrations inférieures à  $53 \text{ mg.L}^{-1}$ , ce qui nous encourage à s'orienter vers le traitement par bioréaction.



**Figure 3-16 : Cinétique d'abattement du bisphénol A au cours du temps de traitement par Bioréacteur, pour les lixiviats LC, LH et LB. Dans des conditions non limitantes en aération.**

Au cours de la phase de traitement s'étalant de 0 à 144 h, nous n'avons noté aucune diminution de la concentration du BPA initiale et ce pour les trois bioréacteurs (figure 3.16). Il a été expliqué précédemment que durant cette phase, nous avons observé un abattement considérable de la matière organique pour les trois bioréacteurs. Un rendement de 48, 60 et 50% a été obtenu pour LC, LH et LB, respectivement. Au-delà de cette phase, (144h, 6 jours), nous avons assisté à une forte diminution de la concentration de BPA. En effet, les concentrations de BPA ont été majoritairement inférieures à la limite de détection ( $1,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). Et ce, à partir de 10 jours de traitement soit (240 h). Ce qui donne un taux de biodégradation de 99% pour les trois bioréacteurs LC, LH et LB. Il aura fallu une dégradation de la matière organique disponible par les microorganismes dans un premier temps, avant que la dégradation et/ou l'adsorption du BPA par ce consortium soit réalisée. **Zhao et al. (2013)** ont étudié l'élimination du BPA dans un système de boue activée classique. Selon ces auteurs, une DCO initiale élevée diminue la cinétique de dégradation du BPA. Aussi, la présence de composés facilement biodégradables tels que le glucose et/ou l'acétate diminue le taux de biodégradation du BPA. Le taux d'abattement maximal rapporté par **Zhao et al. (2013)** a été 100% (dont 98% de biodégradation). Selon **Seyhi et al. (2013)**, la biodégradation du BPA dans un BRM est de l'ordre de 85%. A partir de là, nous pouvons déduire que le BPA est une molécule utilisée comme un second substrat par les microorganismes après consommation totale de la matière organique disponible dans le milieu ; et que les bactéries hétérotrophes sont efficaces pour son élimination. (**Ike et al. 2000 ; Sasaki et al. 2005 ; Kim et al. 2007 ; Eio et al. 2014**).

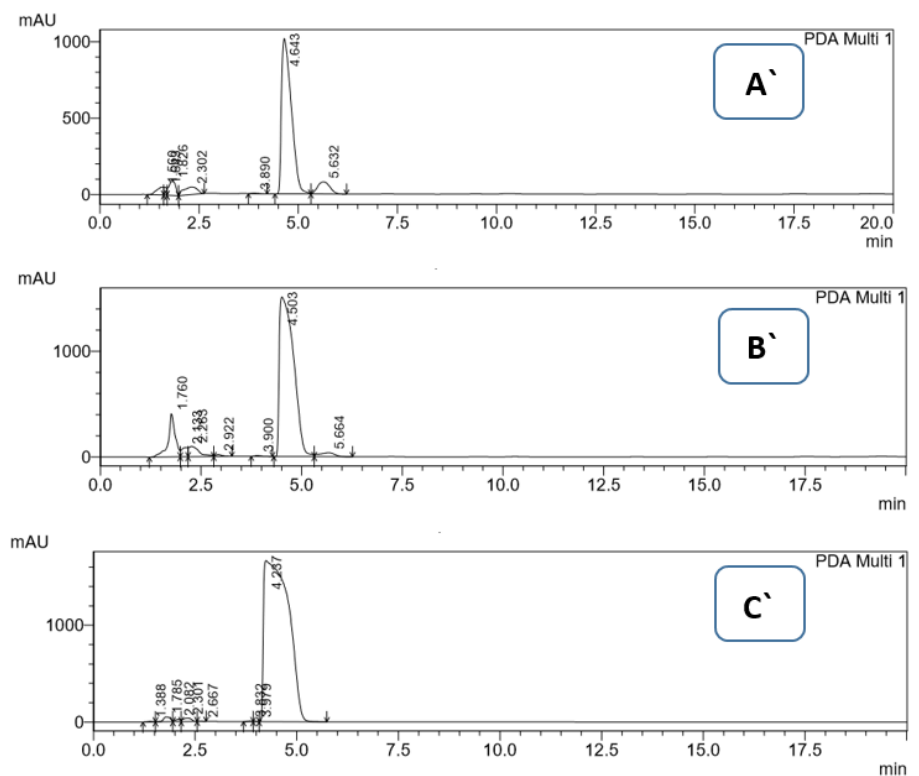
Les conditions opératoires dans lesquelles s'est déroulé le traitement (aération et température) ont eu un rôle important dans la biodégradation du BPA. En effet, Il a été démontré que la température est un paramètre qui affecte l'efficacité des systèmes biologiques. **Keskinkan et al. (2016)** ont prouvé que dans un bioréacteur, la température variant entre 20 et 30°C jouerait un rôle primordial dans l'élimination totale du BPA (en dessous de la limite de détection) même à des concentrations élevées de l'ordre du  $\text{mg.L}^{-1}$ . **Tanghe et al. (1998)** ont rapporté que la diminution de la température de 28°C à 15°C puis à 10°C, a entraîné une baisse de l'efficacité d'abattement des NonylPhenoles (NP). En effet, le taux d'abattement des NP est passé du quasi total, à 86%, puis 13%, respectivement.

Concernant les conditions aérobies, **Kang et al. (2002)**, ont réalisé une étude comparative entre la bioréaction en aérobie et en anaérobie pour le traitement de trois eaux de rivières auxquelles une concentration de  $1 \text{ mg.L}^{-1}$  de BPA a été ajoutée. Un abattement rapide et important (plus

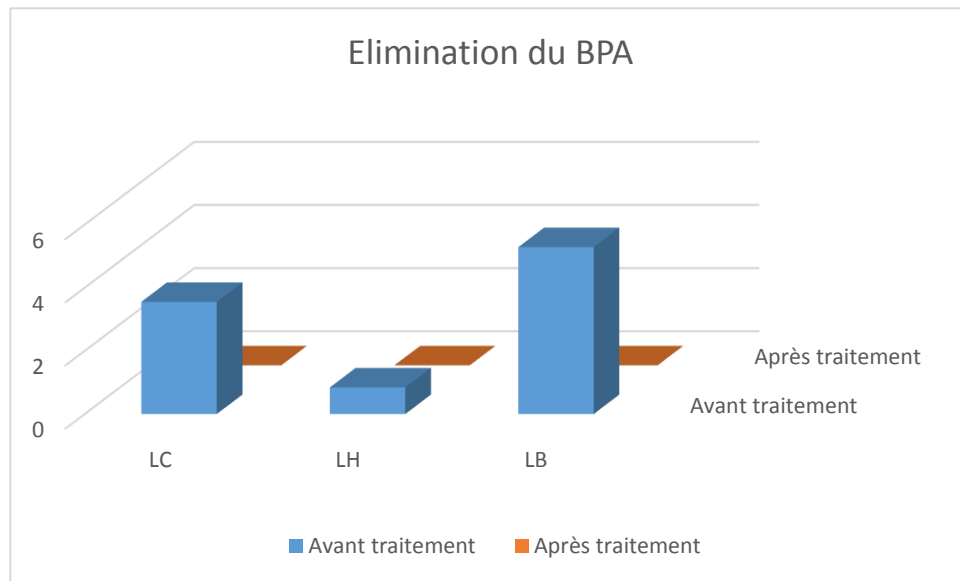
de 90% d'abattement en 7 jours) a été observé pour le bioréacteur en conditions aérobies. Par contre le bioréacteur ayant fonctionné en conditions anaérobies, le taux d'abattement du BPA est évalué à 10% seulement en 10 jours de traitement.

**Stasinakis et al. (2010)** ont étudié la biodégradation du BPA par un consortium de boues activées dans un bioréacteur aéré, et ont obtenu un rendement d'abattement de 90% de BPA en 13 jours, pour une concentration initiale de  $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

A la fin du traitement les prélèvements ont été analysés par HPLC-UV afin de connaître la concentration finale du BPA. Les chromatogrammes de la figure ci-dessus, démontrent l'absence du pic de détection du BPA pour les trois essais, LC (A'), LH (B') et LB (C') à la fin du traitement par bioréacteur. En effet, le temps de rétention de la molécule dans le chromatogramme de la figure 3.17 est de  $\text{TR} = 3,335 \text{ min}$ . Nous concluons donc que les concentrations finales sont en dessous de la limite de détection du BPA dans cette technique par HPLC-UV. Figure 3.18.



**Figure 3-17: Profils des trois lixiviats LC, LH et LB à la fin du traitement du BPA par bioréacteurs, représentés par les Chromatogrammes A', B' et C' respectivement.  $\text{RT} = 3,335 \text{ min}$ . HPLC-UV.**



**Figure 3-18: Histogramme représentant les taux d'élimination du BPA dans les trois lixiviats LC, LH et LB. Avant et après traitement.**

### **3.5.3 Partie IV : Biodégradation du BPA dans une culture pure par des souches isolées à partir de différents lixiviats :**

A partir de 6 échantillons de lixiviats de décharges collectés de différents CET/Décharges : CET de Hamici, ancienne décharge d'Oued Smar, ancienne décharge de Ouled fayet (wilaya d'Alger), CET de Blida (wilaya de Blida), CET de Corso (Wilaya de Boumerdes) et CET de Khenchela (wilaya de Khenchela). Nous avons isolé et conservé 19 souches dans le but d'évaluer leur capacité à biodégrader le BPA.

La collecte s'est faite dans des conditions d'asepsie et d'hygiène recommandées en microbiologie (**Rodier, 2009**)

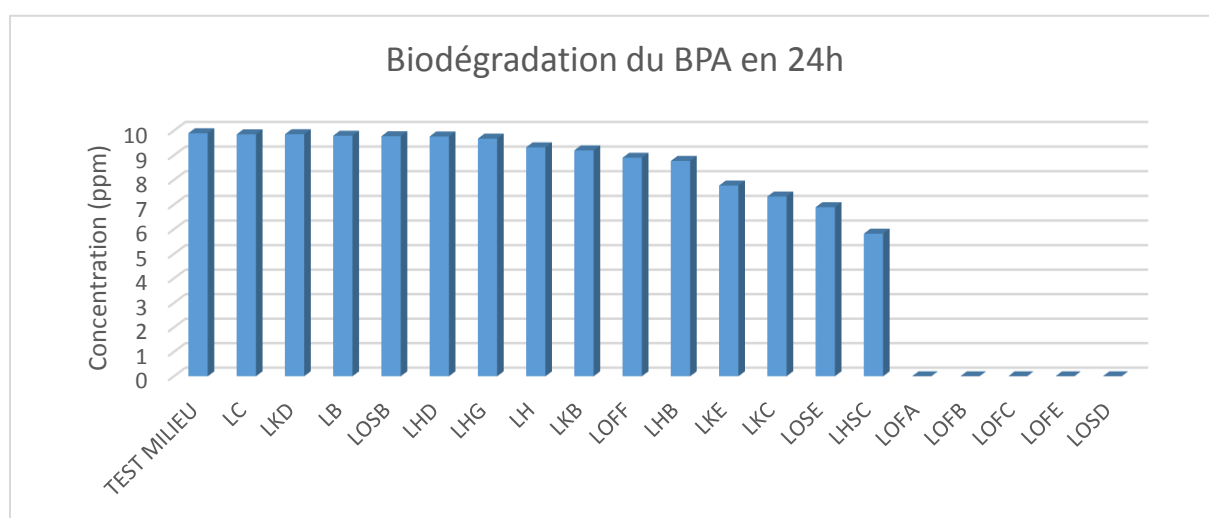
Le traitement s'est déroulé sur une période de 24h où chaque souche a été mise en culture dans un milieu contenant une concentration de 10 ppm de BPA (soit  $10 \mu\text{g. ml}^{-1}$ ). Le choix de cette concentration a été fait par rapport aux études ayant défini une concentration minimale du BPA de 10 ppm toxique pour la faune et la flore aquatique (**Alexander et al. 1988 ; Ike et al. 2002 ; Yamanaka et al. 2007**).

Une pré-culture a été réalisée ; pour cela, Chaque isolat bactérien a été inoculé dans 5 mL de milieu BPA-PBYS dans des tubes à essai et cultivé à 27°C pendant 20h. (Yamanaka et al. 2007), et ce dans le but d'adapter les microorganismes à la présence du BPA dans le milieu.

Les colonies sont ensuite récupérées par centrifugation, et remises en culture dans 100 ml de milieu BPA-BPYS, dans des fioles de 500 mL à 27°C, pendant 24h, sous une faible agitation.

Le surnageant est récupéré après centrifugation et dosé par HPLC-UV.

La figure 3.19 et le tableau 9, représentent le résultat de la biodégradation du BPA par chaque isolat, au bout de 24h de culture.



**Figure 3-19 : Les concentrations du BPA dégradé par les différentes souches isolées à la fin des 24h de culture, dans le milieu BPA-BPYS. pH = 7.0, T°= 27°C.**

La figure montre qu'au bout de 24h de culture, aucune diminution de la dégradation de la concentration initiale du BPA n'a été enregistrée par les souches suivantes : LC, LKD, LB, LOSB, LHD, LHG, LH, et LKB. En effet, les concentrations restent proches de 10 ppm du TEST MILIEU BPA-PBYS le rendement est quasi nul. Cependant, une légère biodégradation est notée par les souches : LOFF, LHB, LKE, LKC, LOSE et LHSC. Dont les rendements varient entre 10 et 40%. Ces microorganismes peuvent être définis comme potentiellement aptes à biodégrader le BPA. Cette opération nécessite un temps de contact de plus de 24h pour pouvoir arriver à un rendement meilleur. Plusieurs travaux sur la biodégradation du BPA ont démontré un temps de contact relativement long ; 15 jours pour Kang et al. (2002) qui ont isolé deux souches *Pseudomonas sp.* et *Pseudomonas putida* à partir des eaux de rivières. Ces deux souches sont douées d'une forte activité de dégradation de BPA (100 % après contact de 15 jours). En 2004, Kang et al. (2004) ont isolé à partir des eaux de rivières, la souche



*Streptomyces sp.* Et ont testé sa capacité à biodégrader le BPA. Un rendement de plus de 90% a été obtenu pour une concentration de 1ppm, pour un temps de contact de 10 jours. **Lobos et al. (1992)** ont réussi à atteindre un rendement de 100% d'élimination de 10 g/L de BPA pendant 4 jours à 30 °C à pH compris entre 6,5 à 7 en utilisant *Sphingomonas sp.* Souche MV1.

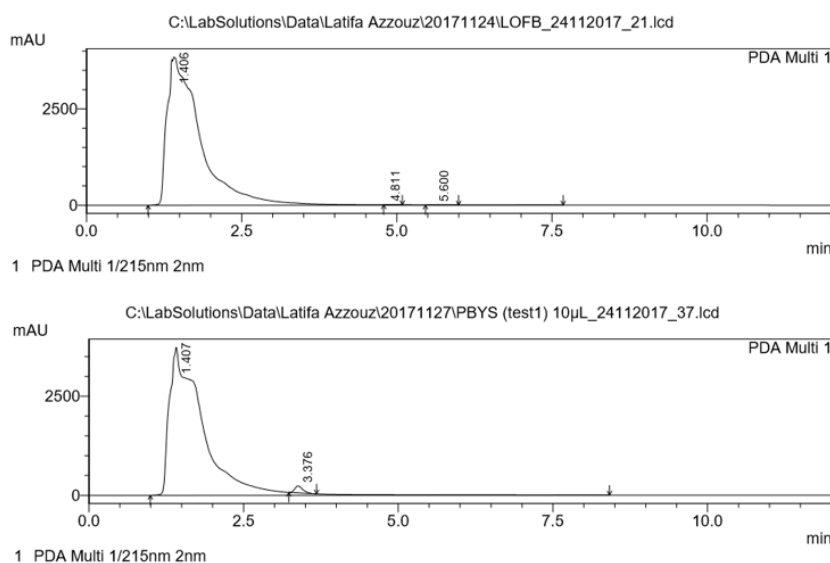
Les bactéries LOFA, LOFB, LOFC, LOFE et LOSD, démontrent un rendement de dégradation du BPA de 100%. La concentration du BPA résiduel surnageante est en dessous du seuil de détection de la technique utilisée ( $1,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ ). Des études similaires ont assisté à une biodégradation du BPA au bout de quelques heures de contact avec les microorganismes **Yamanaka et al. (2007)**, ont réussi à biodégrader le BPA à 100% par la souche *Bacillus pumilus* au bout de 22 h de contact. De part cette étude, nous concluons qu'il existe une multitude de bactéries, à différents niveaux d'affinité vis-à-vis de la dégradation du BPA. Certaines bactéries peuvent présenter une capacité et une rapidité à dégrader le BPA au détriment d'autres bactéries dont le potentiel est plus lent, voire très faible.

Ce potentiel bactérien à biodégrader le BPA est en corrélation avec leur croissance. La figure 3.21 représente la croissance des 19 souches au cours des 24H de traitement par dosage spectrophotométrique à 600nm ; où la DO initiale est une moyenne de 0,015.

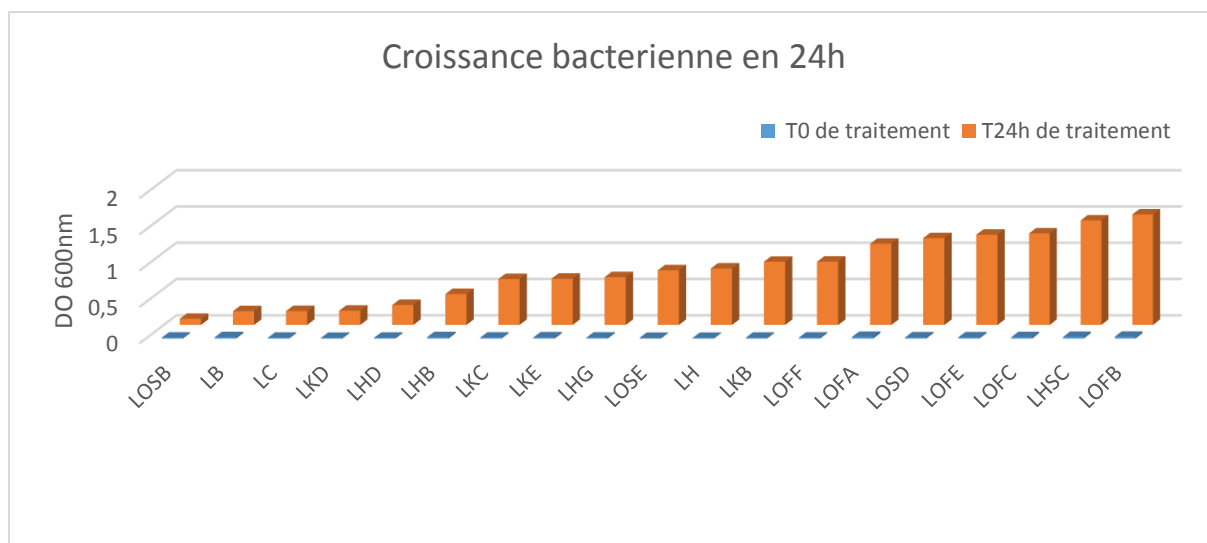
**Tableau 9 : Résultats de la dégradation du BPA par chaque souche après 24h de contact.**

SOUCHES	BPA (ppm)	SOUCHES	BPA (ppm)
TEST MILIEU	9,894	LOFA	<LD
LC	9,851	LOFB	<LD
LKD	9,855	LOFC	<LD
LB	9,794	LOFE	<LD
LOSB	9,774	LOSD	<LD
LHD	9,763		
LHG	9,678		
LH	9,321		
LKB	9,2		
LOFF	8,902		
LHB	8,772		
LKE	7,772		
LKC	7,328		
LOSE	6,893		
LHSC	5,821		

Limite de détection (LD) :  $1,5 \mu\text{g.L}^{-1}$



**Figure 3-20 : Exemple de chromatogramme représentant l’absence du pic BPA, en comparaison avec la solution test BPA-PBYS à 10 ppm de BPA. TR = 3,376 min.**

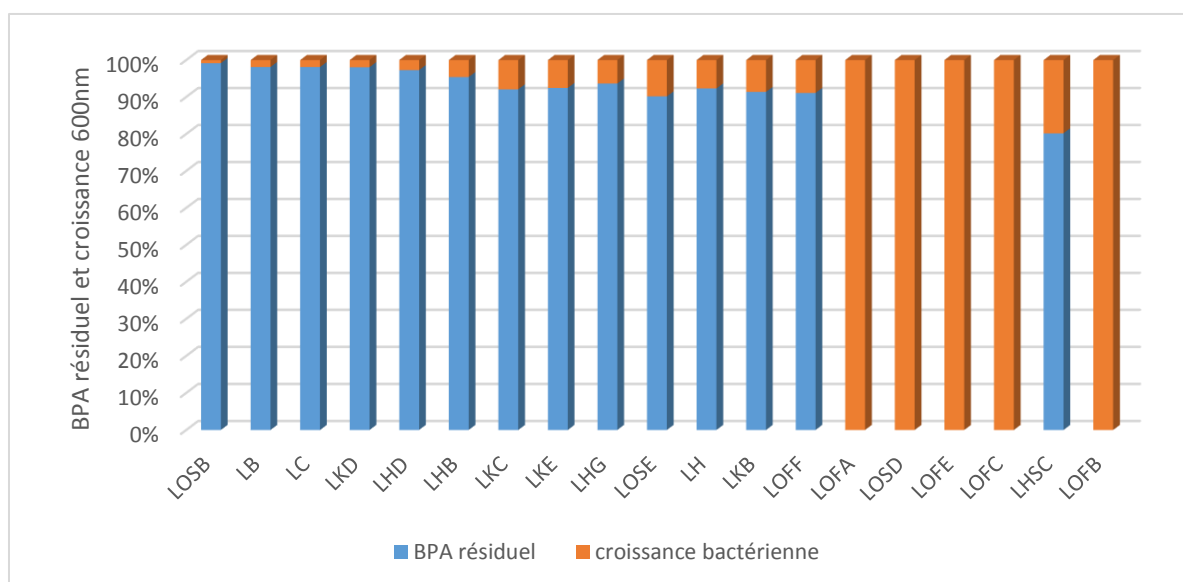


**Figure 3-21 : Histogrammes représentant la croissance bactérienne de chaque souche à la fin de la biodégradation du BPA dans le milieu BPA-BPYS. pH = 7.0, T°= 27°C.**

La figure 3-21 permet de déduire que les souches : LOSB, LB, LC, LKD, LHD et LHB, ne représentent aucune croissance significative au cours des 24 h de traitement. En effet, la DO initiale est d’une valeur moyenne de 0,015. La densité optique à 600nm, au bout de 24H de contact, reste inférieure à 0,5. Le BPA peut être considéré comme élément frein pour la croissance. A priori, la concentration de 10 ppm de BPA met la biomasse dans un état de stress, vu le caractère toxique de cette molécule. Un temps d’adaptation serait donc nécessaire.

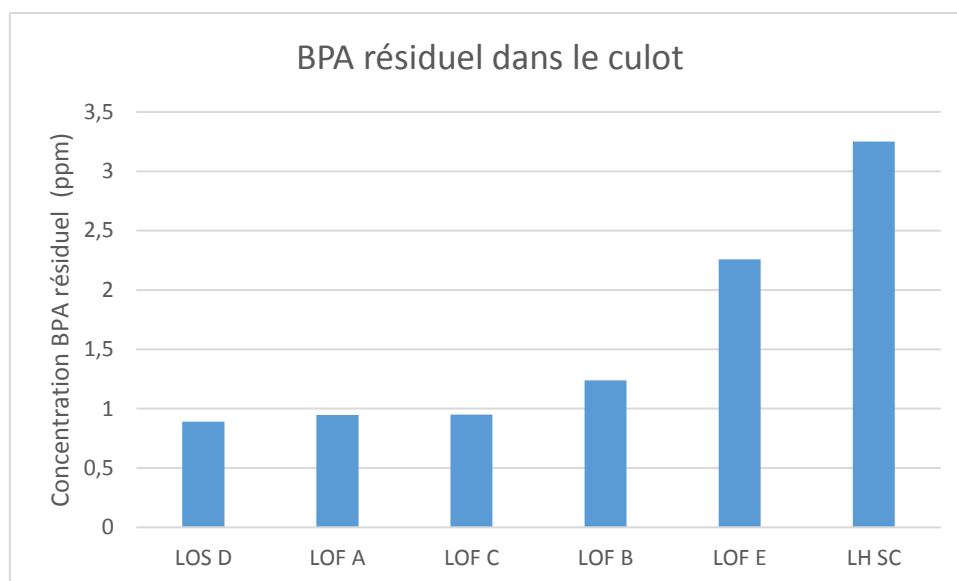
Concernant les souches : LKC, LKE, LHG, LOSE, LH, LKB et LOFF, dont la DO est de :  $0,5 < DO < 1$ . Ces bactéries arrivent à faire une croissance modérée dans le milieu. Par contre une croissance significative est observée pour les isolats : LOFA, LOSD, LOFE, LOFC, LHSC et LOFB. D'une DO  $> 1$ . Le BPA présent dans le milieu ne présente pas d'entraves à la croissance des bactéries.

En jumelant les deux données ; concentration résiduelle du BPA surnageant et la densité optique à 600 nm, (figure 3.22), nous arrivons à ressortir les isolats suivants : LOFA, LOFB, LOFC, LOFE et LOSD. Ceux-ci présentent un excellent rendement de biodégradation du BPA et une très bonne croissance durant les 24H de mise en culture. Le BPA a été parfaitement utilisé comme substrat pour le métabolisme microbien. La souche LHSC, présente un profil différent de toutes les bactéries utilisées pour cette étude, la croissance et le taux de biodégradation sont moyens.



**Figure 3-22 : Histogramme empilé pour démontrer l'évolution dans le temps de la croissance de chaque isolat et leur efficacité de dégradation du BPA.**

Afin de comprendre si le BPA a été effectivement métabolisé ou simplement adsorbé sur la surface des microorganismes. Une extraction du BPA a été réalisée au niveau de chaque culot des souches suivantes : LOFA, LOFB, LOFC, LOFE, LOSD et LHSC. Les concentrations résiduelles du BPA dans le culot ont été dosées par HPLC-UV ; les valeurs sont reportées sur la figure 3-23.



**Figure 3-23 : Concentrations résiduelles du BPA pour LOSD/LOFA/LOFC/LOFB/LOFE/LHSC. Limite de détection : 1,5  $\mu\text{g.L}^{-1}$**

D'après les résultats obtenus, nous concluons que 24h est un temps de contact relativement court pour l'élimination totale du BPA du milieu de culture. **Peng et al. (2015)** ont réussi à dégrader 10 ppm de BPA au bout de 28h par une culture pure de *Pseudomonas knackmussii*.

Les souches LOSD, LOFA, LOFC, LOFB et LOFE, sont des bactéries qui métabolisent le BPA. En effet, la concentration surnageante du BPA dans le milieu de culture dans lequel a été incubé chaque isolat, était en dessous du seuil de détection ( $< 1,5 \mu\text{g.L}^{-1}$ ), donc non déterminée ; et la concentration du BPA résiduelle trouvée dans chaque culot est très faible, variant entre 0,89 et 2 ppm. (Figure 3-23). Cependant, la souche LHSC présente une concentration accumulée de 3 ppm au niveau du culot, et du côté du surnageant la concentration du BPA dosée est de 6 ppm. Sachant que le milieu BPA-PBYS contient 10 ppm de BPA, nous concluons que la souche isolée LHSC ne présente aucune efficacité dans le métabolisme du BPA, mais pourrait être considérée en tant qu'un microorganisme hyper-accumulateur de molécules toxiques. Ces dernières s'adsorbent à la surface de la bactérie purifiant ainsi le milieu. D'après les travaux de **Zhou et al, (1997)**, l'adsorption du BPA serait régie par des interactions entre le BPA et le culot bactérien (interactions de type Van Der Waals ou électrostatiques).

Nous nous intéresserons dans cette étude à l'identification d'une seule souche ayant donné un résultat satisfaisant en termes d'élimination du BPA et présentant une bonne croissance au cours de la biodégradation. L'isolat LOSD, sera retenu pour la suite des recherches.

### 3.5.4 Partie V : Identification de la souche LOSD

#### 3.5.4.1 Identification phénotypique de la souche LOSD :

##### 3.5.4.1.1 Isolement et purification

L'isolat LOSD a été collecté depuis un lixiviat de forage au niveau de l'ancienne décharge d'Oued Smar.

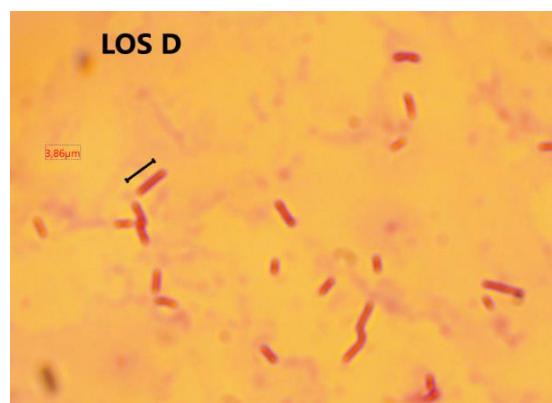
La collecte s'est faite dans des conditions d'asepsie et d'hygiène recommandées en microbiologie (**Rodier, 2009**). L'analyse microbiologique s'est faite juste après l'arrivée au laboratoire

Cette souche s'est révélée positive à la coloration de Gram et au test catalase.

##### 3.5.4.1.2 Identification phénotypique de LOSD

L'étude macroscopique réalisée sur milieu solide GN gélose nutritive, nous a permis d'observer des colonies arrondies à bords légèrement irréguliers, planes, à surface brillante et lisse, opaques, de couleur crème et de consistance crémeuse. L'examen microscopique nous a permis d'observer une forme de tige ou bacillaire qui se colore positivement à la coloration de Gram. (**Yamanaka et al. 2007 ; Liu et al. 2016 ; Ruginescu et al. 2018**)

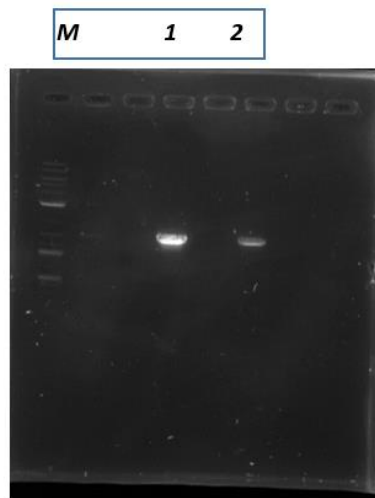
À la lumière de ces caractéristiques, le phénotype qui caractérise ces souches semble très similaire à celui décrit pour le genre bacillus.



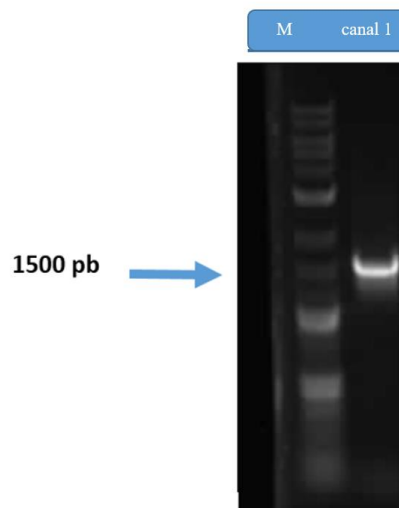
**Figure 3-24 : Micro-photo représentant la souche LOSD. (Photo prise par Toup View)**

##### 3.5.4.1.3 Identification génotypique des souches

Après extraction de l'ADN total et amplification du gène codant le gène 16S rDNA, nous avons comparé les séquences de l'ensemble des souches isolées. Un exemple de résultat d'extraction d'ADN total est présenté dans la figure 3-25. Nous pouvons clairement constater le profil d'ADN total débarrassé des ARN après traitement à la RNase (canaux 1 & 2). De la même manière, la taille de l'amplicon a été vérifiée sur gel d'agarose (Figure 3-26), et elle correspond exactement à la taille attendue (1500pb) justifiant ainsi la pertinence de cette démarche expérimentale.



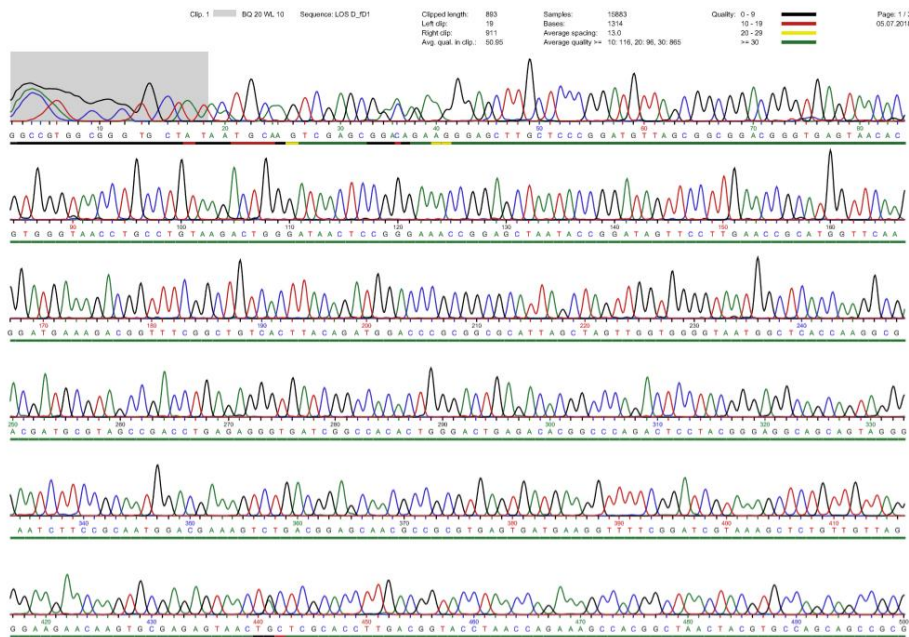
**Figure 3-25 : Extraction de l'ADN génomique du lysat , avec le protocole PCR (PE-030-1 PCR 16S rD1-fD1 avec M: marqueur DNA 2-log , 1 : avec ADN génomique comme matrice , 2 : avec le lysat comme matrice selon ce protocole.**



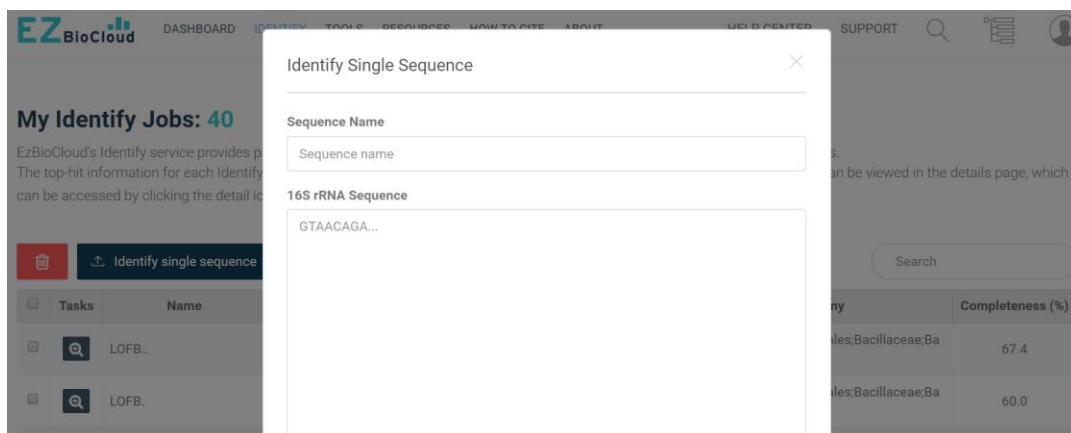
**Figure 3-26 : Amplification du gène 16S rDNA des souches examinées. (Canal1 : LOSD ; M : marqueur de taille.**

La figure 3-27 ci-dessous représente le résultat communiqué par le laboratoire prestataire, sous forme de chromatogramme.

La séquence obtenue est soumise sur le site **EzBioCloud 16S database**, afin de la comparer aux séquences de la base de données et rechercher les microorganismes présentant un 16S rDNA ressemblant.

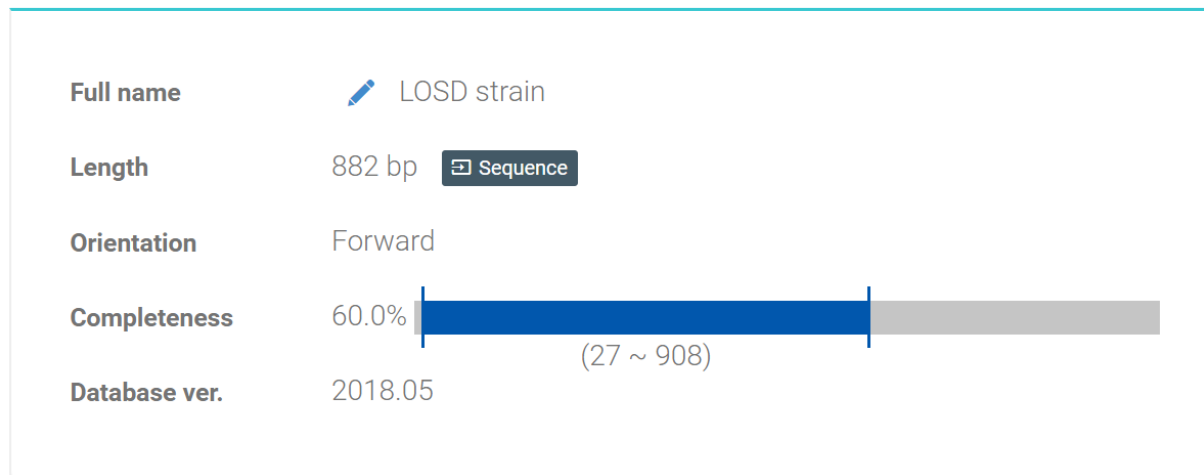


**Figure 3-27 : Exemple d'un chromatogramme obtenu pour les séquences du gène 16S rDNA**



**Figure 3-28 : Interface pour la Soumission online après traitement des séquences obtenues des gènes 16S rDNA sur le site EzBioCloud**  
<https://www.ezbiocloud.net/identify>

## Sequence details



**EZ BioCloud** DASHBOARD IDENTIFY TOOLS RESOURCES HOW TO CITE ABOUT HELP CENTER SUPPORT

Tasks	Hit taxon name	Hit strain name	Accession	Similarity	Diff/Total nt	Hit taxonomy	Completeness (%)
	<a href="#">Bacillus zhangzhouensis</a>	DW5-4(T)	JOTP01000061	99.89	1/882	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales;Bacillaceae;Bacillus	100.0
	<a href="#">Bacillus safensis</a>	FO-36b(T)	ASJD01000027	99.89	1/882	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales;Bacillaceae;Bacillus	100.0
	<a href="#">Bacillus australimaris</a>	NH7L1(T)	JX680098	99.77	2/882	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales;Bacillaceae;Bacillus	100.0
	<a href="#">Bacillus pumilus</a>	ATCC 7061(T)	ABRX01000007	99.77	2/882	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales;Bacillaceae;Bacillus	100.0
	<a href="#">LJIY_s</a>	FJAT-21963	LJIY01000004	99.43	5/882	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales;Bacillaceae;Bacillus	N/A
	<a href="#">Bacillus altitudinis</a>	41KF2b(T)	ASJC01000029	99.43	5/882	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales;Bacillaceae;Bacillus	100.0
	<a href="#">Bacillus xiamenensis</a>	HYC-10(T)	AMSH01000114	99.32	6/882	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Bacillales;Bacillaceae;Bacillus	100.0

**Figure 3-29 : Résultat obtenu sur le site de taxonomie spécialisé**

**<https://www.ezbiocloud.net/identify/result?id=997873> des séquences soumises.**

### 3.5.4.2 Phylogénie moléculaire du gène 16S rDNA de la souche LOSD

Un des domaines de la pratique de la microbiologie est de mettre ou attribuer un nom scientifique à un isolat microbien. Pour répondre à cette question, de nombreuses méthodes historiques ont été employées. Elles reposent essentiellement sur la comparaison morphologique exacte et la description phénotypique des isolats à identifier (**Funke et al. 1997 ; Krieg et Holt, 1984 ; Clarridge, 2004 ; in Hassaine, 2013**).



Bien que les méthodes classiques d'identification restent toujours d'actualité sans qu'elles soient très exactes plusieurs schémas et logiciels aient été conçus depuis l'avènement de la biologie moléculaire pour aider cette identification bactérienne. L'amplification enzymatique de l'ADN (PCR) permet, en effet, l'accès à la séquence des gènes bactériens sans étape de culture (*in Arbia, 2017*).

Dans les années 80, une nouvelle méthode d'identification de bactérie standard a été mise au point, elle est fondée sur les relations phylogénétiques entre bactéries en comparant une partie stable de leur code génétique le « 16S rRNA gene » (**Woese, 1987 ; Renvoisé, 2012**).

L'ARN ribosomal (ARNr) 16S est le constituant ARN de la petite sous-unité ribosomale du 30S des procaryotes. Le gène codant pour cet ARNr est le « 16S rRNA gene » (**Clarridge, 2004**), présent dans l'ensemble des espèces bactériennes en un nombre variable de copies (**Woese, 1987 ; Petti, 2007**). Il est composé d'environ 1500 nucléotides et est constitué de sept régions conservées et de neuf régions hypervariables (**Chakravorty et al. 2007**). L'ensemble permet donc théoriquement d'utiliser ce gène pour identifier et détecter toute espèce bactérienne.

Des amorces universelles sont usuellement utilisées, choisies pour les régions conservées au début de séquence du gène (jusqu'à 540pb) et la fin de séquence du gène (vers 1550 pb). C'est exactement les séquences des régions variables qui sont employées préférentiellement en taxonomie pour comparaison (**Chen et al. 1998 ; Relman, 1999 ; Hassaine, 2013**).

Pour comparer la séquence du gène obtenu, nous avons utilisé la banque de données EZBioCloud. Les pourcentages de similarités pour l'isolat LOSD est de 99,89% avec *Bacillus zhangzhouensis*. D'après **Kim et al. (2014)**, lorsqu'il existe moins de 98,65 % d'homologie (ressemblance) entre les séquences d'ADNr 16S de deux souches, ces souches appartiennent à des espèces différentes; en revanche si le pourcentage d'homologie est égal ou supérieur à 98,65 %, seul l'hybridation ADN-ADN pourra nous renseigner sur l'appartenance des deux souches à la même espèce ou à deux espèces différentes.

Les tests microscopiques et macroscopiques conventionnels se sont révélés exacts concerne le genre *Bacillus* et sont considérés comme étant l'étape préliminaire pour identifier une bactérie.

Les arbres phylogénétiques représentent les relations phylogénétiques entre les séquences nouvellement obtenues et des séquences de référence dans les banques de données (*in Arbia, 2017*).

La relation phylogénétique entre les séquences d'ARN 16S de la souche LOSD et celles des autres genres de *Bacillus* est représentée par la figure 3.30. Cet arbre confirme que la séquence nouvellement obtenue de la souche isolée comparée à celles de la banque de données EZBioCloud, appartient à l'espèce *Bacillus zhangzhouensis*.

Au bout d'une étude phylogénétique, on finit par établir un arbre phylogénétique qui consiste à représenter les distances existantes entre les espèces étudiées (Saitou et Nei, 1987 ; Tamura and Nei 1993). Autrement dit, un arbre phylogénétique nous renseigne sur le lien de parenté qui sépare les individus mais en répondant qu'à la question de qui est plus proche de qui, contrairement à un arbre généalogique où on peut savoir qui descend de qui.

La figure 3.30 ci-dessous représente un arbre phylogénétique montrant la relation qui existe entre un l'isolat bactérien LOSD et plusieurs espèces bactériennes appartenant au genre *Bacillus*.



**Figure 3-30 : Arbre phylogénétique basée sur les gènes codant l'ARN 16S montrant la position de l'isolat LOSD en utilisant la méthode Neighbor-Joining (Saitou et Nei, 1987). Les distances sont calculées par la méthode Likelihood (Tamura et al. 1993) par le logiciel Mega7 (Kumar et al. 2016).**

Ces dernières années, beaucoup de travaux se sont consacrés à la dégradation et/ou l'adsorption du BPA par différents moyens et techniques sophistiqués. Irmak et al. (2005) ont réussi à dégrader le BPA par ozonation et radiations UV. Seulement cette méthode s'est avérée onéreuse, où la dégradation de 1 mole de BPA nécessitait 21,1 moles d'O<sub>3</sub>. Joseph et al. (2011) ont travaillé sur le système d'adsorption du BPA sur nanotubes, et ont réussi à atteindre un rendement de 69% seulement. Cleveland et al. (2014) ont utilisé l'oxydation Fenton en phase

hétérogène, le  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  a été utilisé comme catalyseur adsorbé sur nanotubes en multicouches de carbone, a démontré une efficacité quant à la dégradation du bisphénol A dissout (BPA). Cette technique s'est avérée efficace mais à des conditions opératoires très rigoureuses ;  $\text{pH} = 3$ ,  $T^\circ = 20^\circ\text{-}50^\circ\text{C}$ , et présence de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . **Chen et al. (2006)** ont travaillé sur la photoxydation avancée par UV, en présence de  $\text{H}_2\text{O}_2$  qui s'est avéré primordiale pour un bon rendement de dégradation du BPA, cependant il a fallu utiliser une intensité de radiations UV 50 à 100 fois plus élevée que ce qui est traditionnellement utilisé lors des systèmes de désinfection classiques.

Ces méthodes ont prouvé leur efficacité, mais restent limitées, car demeurent encore coûteuses, laborieuses et n'ont pas encore démontré leur efficacité à grande échelle.

Par contre, depuis 1992, Il a été prouvé que la biodiversité microbienne joue un rôle crucial dans la dégradation du BPA. Plusieurs études se sont lancées dans l'isolation de souches microbiennes à différents potentiels de dégradation du BPA (**Badiefar et al. 2015**). Très peu d'entre elles arrivent à assimiler/dégrader des concentrations élevées en BPA ; *Pseudomonas* sp. souches KU1, KU2 et *Bacillus* sp. souche KU3 (**Kamaraj et al. 2014**) dégradent des concentration du BPA de 780, 810, 740 ppm au bout de 7 à 12 jours, respectivement. La souche AO1 de *Sphingomonas Bisphenolicum* aérobie stricte et gram négative isolée à partir du sol d'un champ de culture de légumes, s'est avérée très efficace dans l'élimination du BPA à une concentration de 110 ppm au bout de 6 h seulement (**Oshiman et al. 2007**). En outre, quelques souches telle que, *Bacillus pumilus* (**Yamanaka et al. 2007**) *Sphingomonas* sp. souche BP-7 (**Sasaki et al. 2005 ; Sakai et al. 2007**) sont capables de dégrader seulement des concentrations de 10 à 98 ppm de BPA, au bout de 24h et 4 jours, respectivement. *Achromobacter xylosoxidans*. Souche B16, isolée à partir de lixiviat de compostage, dégrade seulement 80% de BPA à une concentration initiale de 5 ppm, au bout de 7 jours. (**Zhang et al. 2007**). *Streptomyces* sp. Souche isolée à partir d'eaux de rivière, dégrade seulement 1ppm de BPA en 4 jours de contact. (**Kang et al. 2004**).

Ces microorganismes ont été isolées depuis différentes matrices, eaux usées, eaux de rivières, sols, aliments fermentés etc. Ces microorganismes sont ,désormais, connues pour avoir un pouvoir biodégradant le BPA et son utilisation comme substrat pour sa croissance (**Lobos et al. 1992 ; Ike et al. 2000 ; Kang et al. 2002 ; Kang et al. 2004 ; Sasaki et al. 2005 ; Yamanaka et al. 2007**). Les bactéries Gram négatif ont aussi prouvé leur efficacité à éliminer le BPA (**Ronen et al. 2000**) ; En effet, Il a été prouvé aussi que certaines bactéries nitrifiantes tel que *Nitrosomonas europaea* sont capables de dégrader le BPA (**Roh et al. 2009**) ainsi que

*Pseudomonas knackmussii*, *Methylomonas clara* (Peng et al. 2015) et *Pseudomonas aeruginosa* (Mita et al. 2015).

Beaucoup de travaux ont démontré l'efficacité du genre *Bacillus* à dégrader le BPA. Yamanaka et al. (2007) ont isolé l'espèce *B. pumilus* souches BP-2CK, BP-21DK et BP-22DK, ces isolats ont dégradé avec succès le BPA à des concentrations de 25 et 50 ppm. Ces concentrations sont considérées comme très élevées. En effet, la concentration de BPA de 10 ppm est la concentration minimale ayant un effet toxique sur la faune aquatique. (Alexander et al. 1988 ; Ike et al. 2002)

(Saiyood et al. 2010) ont travaillé sur la phytoremédiation du lixiviat des décharges par la plante *Dracaena sanderiana* et ont étudié la capacité de *Bacillus cereus* souche BPW4 à dégrader le BPA. Cette bactérie a été découverte associée aux racines de la plante, et a dégradé l'équivalent de 8 ppm de BPA au bout de 20 jours.

Li et al. (2012) ont comparé l'activité de *Bacillus sp.* souche GZB à dégrader le BPA sous des conditions anaérobies et aérobies. Une présence optimisée en oxygène dans le milieu, a donné un meilleur résultat de dégradation du BPA de 100% à une concentration initiale de 5 ppm de BPA.

A notre connaissance, nos résultats sont les premiers travaux à avoir démontré, une activité de biodégradation du BPA par *Bacillus zhangzhouensis*. Souche LOSD, prélevée à partir du lixiviat de forage dans l'ancienne décharge d'Oued smar. Cette bactérie est arrivée à dégrader 10 ppm de BPA en 24h, néanmoins, une quantité résiduelle du BPA (0,89 ppm) est restée dans le culot, ceci démontre qu'il est nécessaire de prolonger un peu plus le temps de contact au-delà de 24h. Cette habilité à dégrader le BPA peut être due au caractère vieilli de ce lixiviat, où les microorganismes se seraient adaptés au contact constant avec des molécules toxiques telles que le BPA.

Nos résultats correspondent aux descriptions macroscopiques et microscopiques de *Bacillus zhangzhouensis* rapportées par Liu et al. (2018). *Bacillus zhangzhouensis* de Zhangzhou, une ville de Fujian en Chine. Où la bactérie a été isolée et identifiée pour la première fois. Les cellules sont Gram positives, positives au test catalase, aérobies strictes, sous forme de bacilles Elle forme des colonies crémeuses opaques de 2-3 mm de diamètre. A notre connaissance, très peu de travaux ont été réalisés sur *Bacillus zhangzhouensis*. Alnaimat et al. (2017) ont isolés plusieurs souches dont *B. zhangzhouensis*. Souche DVCr1, et ont démontré, à une DO 600nm, que sa croissance est optimale à une température de 30°C et à un pH = 6. Dans notre étude, la

mise en culture des microorganismes en contact du BPA s'est réalisée dans des conditions opératoires légèrement différentes ;  $T= 27^{\circ}\text{C}$  et  $\text{pH}= 7$ . Ceci pourrait expliquer l'histogramme obtenu dans la figure 3.21, où la croissance, mesurée à la DO 600nm, de LOFB était plus importante que celle de LOSD. **Alnaimat et al. (2017)** ont aussi prouvé que *B. zhangzhouensis*. Souche DVCr1 est résistante à de forte concentrations de métaux lourds, notamment le fer à une concentration de 300 ppm.

# CONCLUSION GENERALE

---

## 4 Conclusion Générale :

---

En Algérie, l'enfouissement demeure le seul moyen pour éliminer les déchets solides. Les déchets ménagers et assimilés ainsi que les déchets inertes, se retrouvent tassés dans des cuves imperméabilisées par des géomembranes, sur lesquels plusieurs couches de sol sont compactées. Très peu de recyclage et de valorisation de déchets sont réalisés, du moment que le tri à la source est inexistant, ceci expliquerait l'hétérogénéité des déchets sur tout le territoire algérien.

La technique de l'enfouissement est très pointée du doigt, car occupe un foncier de plusieurs hectares et dont la durée d'exploitation ne devrait pas dépasser les 10 ans pour chaque casier. De plus, ces centres d'enfouissement génèrent des biogaz et des lixiviats.

La problématique du lixiviat est encore plus inquiétante que les déchets solides. A partir de là, plusieurs technologies de traitement des eaux usées ont été appliquées pour traiter le lixiviat des décharges. Les traitements physicochimiques ; comme la coagulation-floculation, l'adsorption, et la filtration, ont été largement appliqués. Cependant, ces procédés ne permettent pas une dégradation et une destruction des polluants, comme certains polluants émergents, et nécessitent aussi beaucoup d'entretiens et de suivis et présentent certaines limites par rapport aux procédés biologiques.

En plus, un couplage avec l'ultrafiltration a été entrepris pour abattre au maximum la charge polluante. Dans notre cas, le bioréacteur à membrane a été choisi pour arriver à abattre la pollution en dessous des normes de rejets imposées par loi. Les résultats obtenues pour le traitement du lixiviat du CET de Staoueli par Bioréacteur à membrane, en terme de DCO, est de 95%. Un résultat très encourageant, mais n'a pas pu atteindre les normes de rejets en milieu naturel. La concentration DCO finale obtenue est de  $525 \text{ mgO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$ , orientant ainsi notre rejet vers une station d'épuration pour un traitement supplémentaire.

Au cours de notre étude, nous avons procédé en premier lieu à une caractérisation physico-chimique du lixiviat, recueilli du C.E.T de Staoueli, lequel après évaluation des différents paramètres : pH, DCO, DBO<sub>5</sub>, nous a renseigné sur le taux d'avancement de la biodégradation du lixiviat. Celui-ci, se situe entre les phases d'hydrolyse et d'acidogénèse classant le lixiviat parmi les : fortement biodégradables. La suite de cette expérimentation s'est portée sur la capacité de notre lixiviat à être traité par bioréacteur à membrane. Notre objectif était de coupler

un bioréacteur parfaitement agité en mode batch dans des conditions non limitantes d'aération, à un traitement membranaire par ultrafiltration,

Nous avons comparé le taux d'abattement de la DCO, l'évolution du pH ainsi que celle de la croissance microbienne pour deux types d'inoculum. Le premier traité par boue activée et le second consistait à mettre du lixiviat brut dans les mêmes conditions opératoires que le premier afin de reconditionner les microorganismes déjà présents. Les deux bioréacteurs ont présenté un résultat similaire et ont permis d'abattre la plus grande charge polluante à hauteur de 65% environ. Mais cela n'a pas été suffisant pour respecter les normes de rejets en milieu naturel, ni les normes de rejets dans une station d'épuration. D'où la nécessité du couplage par membrane d'ultrafiltration en boucle externe. Les résultats obtenus pour ce couplage présentent des taux d'abattement de la DCO de 95% et 93% pour BRM-L et BRM-B, respectivement. Concernant l'élimination des métaux lourds, il se trouve que le BRM-L a été plus efficace que le BRM-B.

Ce que nous retenons de cette partie expérimentale est comme suite :

- il n'est nullement nécessaire de rajouter un inoculum de boues activées pour le traitement des lixiviats par bioréacteur, un phénomène d'autoépuration se déclenche après amélioration des conditions opératoires. Ainsi, à une échelle plus importante, nous réduisons les coûts de transport, et nous réduisons aussi la génération de boue à la fin du procédé.
- Et que dans la majorité des cas, coupler des procédés s'avère plus efficace pour éliminer un maximum de charge polluante.

Au vu des résultats obtenus, l'efficacité des microorganismes autochtones du lixiviat a été prouvée pour le traitement de la matière organique.

Dans un deuxième temps, nous avons remis en épreuve l'efficacité des microorganismes autochtones pour la dégradation du bisphénol A. le BPA est un perturbateur endocrinien classé molécule CMR (cancérogène, mutagène et reprotoxique). En effet, il a été détecté et dosé par HPLC-UV dans les trois prélèvements de lixiviats des CET suivants : Hamici, Corso et Blida, pour des concentrations de 842, 3552 et 5286  $\mu\text{g.L}^{-1}$  respectivement.

Afin de mener à bien cette étude, nous avons donc testé des consortiums de microorganismes de chaque lixiviat prélevé (Hamici, Corso et Blida) par un traitement bioréacteur en mode batch, dans les mêmes conditions opératoires que la précédente expérience ; à savoir, la température, l'aération et l'agitation, mais cette fois ci, sans ajout de



nutriments. Au bout de 10 jours de traitement, la concentration du BPA était inférieure au seuil de détection par l'HPLC-UV, et ce, pour les trois bioréacteurs LC, LH et LB. Nous prouvons ainsi, l'efficacité des microorganismes autochtones à dégrader une molécule fortement toxique pour l'environnement.

La suite de nos travaux avait pour intérêt de cibler la ou les bactéries ayant ce pouvoir BPA-dégradant ; La dernière partie expérimentale consistait à isoler des bactéries à partir de plusieurs lixiviats de plusieurs décharges, Hamici, Corso, Blida, Oued Smar, Khenchela et Ouled Fayet ; et les inoculer dans un milieu additionné de BPA à 10 ppm et mis en incubation pendant 24h. Les bactéries ont démontré un pouvoir BPA-dégradant mais à des vitesses différentes. Pour certains inoculi, nous avons atteint des concentrations en BPA inférieures au seuil de détection par HPLC-UV. Afin de vérifier si le BPA a été effectivement dégradé et non pas adsorbé à la surface des microorganismes, une extraction du BPA a été réalisée au niveau de chaque amas de colonies (partie culot). Les résultats ont été satisfaisant, les concentrations en BPA étaient très faibles, néanmoins, cela nécessite une prolongation du traitement pour l'élimination totale du BPA.

Parmi les microorganismes BPA-dégradants, une bactérie avait attiré notre attention. Des caractérisations phénotypiques et génotypiques ont été entreprises afin d'identifier la souche LOS-D. Les résultats de l'étude macroscopique et microscopique ont démontré une appartenance au genre *Bacillus*. Ceci a été appuyé par séquençage du gène 16S ADNr, où LOS-D aurait un pourcentage de similitude de 99,89% avec *Bacillus zhangzhouensis*. A notre connaissance, aucune étude sur la dégradation du BPA par cette espèce n'a été entreprise. A la lumière de nos résultats, nous pouvons rajouter à la liste des espèces BPA-dégradantes, *Bacillus zhangzhouensis* souche LOS-D.

Les lixiviats des décharges sont finalement une source de nuisance pour l'environnement, la faune et la flore, et leur instabilité dans le temps rend difficile le choix de leur traitement ; ainsi un lixiviat jeune et fortement biodégradable, tandis qu'un lixiviat vieux est très récalcitrant. La solution est de traiter les lixiviat rapidement à leur sortie des buses réservées à cet effet. Nous pouvons penser à Intégrer des aérateurs à fines bulles *in situ*, c'est-à-dire à l'intérieur même des bassins de stockage des lixiviats afin de revivifier et reconditionner les microorganismes déjà présents, sans apport de boues activées et sans ajout de nutriments. En partant du principe que le lixiviat est caractérisé par une composition très diverse et très

hétérogène, il n'est plus primordial de faire un amendement pour améliorer l'activité des microorganismes.

Les perspectives de cette étude est de procéder à l'identification de toutes les souches étudiées dans ces travaux de recherche. Et varier les concentrations du BPA pour chaque isolat, afin d'établir une concentration minimale inhibitrice. Cette démarche pourrait enrichir la banque de données sur les microorganismes BPA-dégradants.

Aussi, refaire les mêmes essais sur d'autres lixiviats de régions différentes de par le climat, où le comportement des consommateurs est différent, pour voir si une répétabilité des résultats serait possible.

Tester l'efficacité de la souche LOS-D à dégrader d'autres polluants émergents, de type, hormones stéroïdiennes, et trouver ainsi une solution à la protection de la faune aquatique du phénomène de féminisation, et la flore de l'hyperaccumulation des molécules toxiques.

## 5 Bibliographiques :

- Abed Houria, Khaoulaf Redouane, Esamil Abeer, Chahboun Nabila, Khadmaoui Abderrezak, Lakhrissi Bouchra et Ouhssine Mohammed. 2014. Analytical Evaluation of the water quality of the landfill leachate of Kénitra, Morocco. Scholar research library.
- ADEME, 2015. Rapport final: TOXLIX Projet de recherche coordonné par: IRSTEA Appel à projet de recherche : Métrologie des ISDND N° de contrat : 1006C0112.
- AFNOR, 1983. Collection of French Standards : Water, Assay Methods (Original french title: Recueil de normes françaises: Eau, Méthode d'essai), second ed., Paris, France.
- Agüera, A., Martínez Bueno, M. J. ET Fernández-Alba, A. R. 2013. New trends in the analytical determination of emerging contaminants and their transformation products in environmental waters. *Environmental Science and Pollution Research International*, vol. 20, n°6, p. 3496-3515.
- Aguilar-Juarez O., 2000. Analyse et modélisation des réactions biologiques aérobies au cours de la phase d'exploitation d'un casier d'un centre d'enfouissement technique. Thèse de doctorat. INSA de Toulouse.
- Aimar P., 2006. Filtration membranaire (OI, NF, UF) – Mise en oeuvre et performances. *Technique de l'ingénieur. W 4110*.
- Aimar P., Bacchin P., Maurel A., 2010. Filtration membranaire (OI, NF, UF, MFT) – Aspects théoriques : perméabilité et sélectivité. *Technique de l'ingénieur J 2790*.
- Aina MP., 2006. Expertises des centres d'enfouissement de déchets urbains dans les PED: contribution à l'élaboration d'un guide méthodologique et à sa validation expérimentale sur sites. Thèse de Doctorat, Université de Limoges.
- Aoun J. Hayek N., 1998. Impact d'une décharge des déchets ménagers sur l'environnement. Extrait de : *Annales de recherche scientifique*. — n° 1 (1998), pp. 335-343. Liban.
- Alexander, H.C., Dill, D.C., Smith, L.W., Guiney, P.D., Dorn, P.B., Dorn, P.B., 1988. Bisphenol A: acute aquatic toxicity. *Environ. Toxicol. Chem.* 7, 19–26.
- Alnaimat, Sulaiman, Saqer A B U Shattal, Osama Althunibat, E I D Alsbou, and Reda Amasha. 2017. "Iron ( II ) and Other Heavy-Metal Tolerance in Bacteria Isolated from Rock

- Varnish in the Arid Region of Al-Jafer Basin , Jordan” 18 (3): 1250–57.  
<https://doi.org/10.13057/biodiv/d180350>.
- Andreini, C., Bertini, I., Cavallaro, G., Holliday, G.L., Thornton, J.M., 2008. Metal ions in biological catalysis: from enzyme databases to general principles. *J. Biolog. Inorgan.Chem.*13(8),1205–1218.<https://doi.org/10.1007/s00775-008-0404-5>.
- Arbia Leila, 2017. Etude de l’effet antibactérien des extraits végétaux sur les bactéries parodontales. Thèse de doctorat, département de génie de l’environnement, Ecole nationale polytechnique d’Alger. Algérie.
- Aragno M., 1988. The landfill ecosystem: a microbiologist’s look inside a —black box.
- Azzouz, Latifa, Nouara Boudjema, Fares Aouichat, Mohamed Kherat, and Nabil Mameri. 2018. “Membrane Bioreactor Performance in Treating Algiers ’ Landfill Leachate from Using Indigenous Bacteria and Inoculating with Activated Sludge.” *Waste Management*.  
<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.02.003>.
- Badiefar, Leila, Bagher Yakhchali, Susana Rodriguez-Couto, Antonio Veloso, José Ma García-Arenzana, Yoshinobu Matsumura, and Mahvash Khodabandeh. 2015. “Biodegradation of Bisphenol A by the Newly-Isolated Enterobacter Gergoviae Strain BYK-7 Enhanced Using Genetic Manipulation.” *RSC Advances* 5 (37): 29563–72.  
<https://doi.org/10.1039/c5ra01818h>.
- Bahramifar Nader, Reyhaneh Rahnama, and Sam Saberimoghaddam. 2014. Trace determination of bisphenol-a in landfill leachate samples by dispersive liquid-liquid microextraction followed by high performance liquid chromatography. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 2014, 28(3), 329-338 ISSN 1011-3924
- Balakrishnan, Biju, Kimiora Henare, Eric B. Thorstensen, Anna P. Ponnampalam, and Murray D. Mitchell. 2010. “Transfer of Bisphenol A across the Human Placenta.” *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 202 (4): 393.e1-393.e7.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.01.025>.
- Barlaz M.A., 1996. Microbiology of solid waste landfill. In: Edited by A.C. Palmisano and Boca Raton. CRC Press. 31-70.
- Barres MM., Barlaz MA., Hamr K., Shaefer DM., 1990. Méthane production des lixiviats de décharge. TSM / AG. HTM, N°6.

- Banios-Martinez A., E. Barbot, B. Marrot, P. Moulin, N. Roche. 2006. Degradation of synthetic phenol-containing wastewaters by BRM. *Journal of Membrane Science* 28(1), 288-296.
- Battistoni P., F. Fatone, D. Bolzonella, P. Pavan. 2006. Full scale application of coupled alternate cycles-membrane bioreactor (AC-BRM) process for wastewater reclamation and reuse. *Journal of Water Practice and Technology* 1(4), doi:10.21661/wpt.2006.0077
- Baumgarten, G., Seyfried, C.F., 1996. Experiences and new developments in biological pretreatment and physical post treatment of landfill leachate. *Wat. Sci. Tech.* 34, 445–453.
- Belkacemi. M ,1993. Contribution à l'étude des interactions dans le système déchets sol-eau : cas de la décharge d'Oued Smar, thèse de magister. E.N.P.
- Benson, C.H., Barlaz, M.A., Lane, D.T., Rawe, J.M., 2007. Practice review of five bioreactor/recirculation landfills. *Waste Manage.* 27, 13–29. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.04.005>.
- Berthe C., 2006. Etude de la matière organique contenue dans les lixiviats issus de différentes filières de traitement des déchets ménagers assimilés. Thèse de Doctorat. Université de Limoges Bioréacteur.
- Billard H., 2001. Centres de stockage des déchets-exploitation. *Technique de l'ingénieur*. g 2102.
- Blindauer, C.A., 2015. Advances in the molecular understanding of biological zinc transport. *Chem. Commun.* 51 (22), 4544–4563. <https://doi.org/10.1039/C4CC10174J>.
- Bonnely Mathieu. 2005. Étude pilote d'affinage par nanofiltration pour la production d'eau potable. Master's thesis, Université Laval.
- Brotons JA, Olea-Serrano MF, Villalobos M, Olea N. Xenoestrogens released from lacquer coating in food cans. *Environ Health Perspect* 1994;103:608–12.
- Calabrò, P.S., Scaffoni, S., Orsi, S., Gentili, E., Meoni, C., 2010. The landfill reinjection of concentrated leachate: findings from a monitoring study at an Italian site. *J. Hazard. Mater.* 181, 962–968. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.05.107>.
- Cassano, D., Zapata, A., Brunetti, G., Del Moro, G., Di Iaconi, C., Oller, I., Malato, S., Mascolo, G., 2011. Comparison of several combined/integrated biological-AOPs setups for the treatment of municipal landfill leachate: minimization of operating costs and effluent

- toxicity. *Chem. Eng. J.* 172, 250–257. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.05.098>.
- C E A E Q: Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 2006.
- Chakravorty, S., Helb, D., Burday, M., Connell, N. & Alland, D. (2007). A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *J. Microbiol. Methods.* 69, 330-339.
- Chassagnac T., 2005. *Rehabilitation des décharges de remédiation. Technique de l'ingénieur.g* 2683.
- Chemlal, R., L. Azzouz, R. Kernani, N. Abdi, H. Lounici, H. Grib, N. Mameri, and N. Drouiche. 2014. "Combination of Advanced Oxidation and Biological Processes for the Landfill Leachate Treatment." *Ecological Engineering* 73: 281–89. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.09.043>.
- Chen, Pei Jen, Karl G. Linden, David E. Hinton, Shosaku Kashiwada, Erik J. Rosenfeldt, and Seth W. Kullman. 2006. "Biological Assessment of Bisphenol A Degradation in Water Following Direct Photolysis and UV Advanced Oxidation." *Chemosphere* 65 (7): 1094–1102. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.04.048>.
- Chen, Y. et Zhang, D. (2014) Adsorption kinetics, isotherm and thermodynamics studies of flavones from *Vaccinium Bracteatum* Thunb leaves on NKA-2 resin. *Chemical Engineering Journal*, vol. 254, n°0, p. 579-585
- Chen, Y. S. & Steele, J. L. (1998). Genetic characterization and physiological role of endopeptidase O from *Lactobacillus helveticus* CNRZ32. *Appl Environ Microbiol* 64, 3411-3415.
- Chu, Y., Zhang, Q., Xu, D., 2008. Advanced treatment of landfill leachate from a sequencingbatch reactor(SBR) byelectrochemical oxidationprocess.*J. Environ. Eng. Sci.* 7, 627–633. <https://doi.org/10.1139/S08-035>.
- CicekN., H. Winnen, M.T. Suidan, B.E. Wrenn, V. Urbain, J. Manem. 1998. Effectiveness of the membrane bioreactor in the degradation of high molecular weight compounds. *Journal of Water Research* 32(5), 1 5 53- 1 5 63. doi: 1 0. I 0 I 6/50043- I 3 54(97)003 50-3.
- Clara, M., Strenn, B., Gans, O., Martinez, E., Kreuzinger, N. et Kroiss, H. 2005. Removal of selected pharmaceuticals, fragrances and endocrine disrupting compounds in a membrane bioreactor and conventional wastewater treatment plants. *Water research*, vol. 39, n°19, p.

4797-807.

- Clarridge, J. E., III .2004. Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clin Microbiol Rev* 17, 840-862.
- Cleveland, Vincent, Jon Paul Bingham, and Eunsung Kan. 2014. "Heterogeneous Fenton Degradation of Bisphenol A by Carbon Nanotube-Supported Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>." *Separation and Purification Technology* 133: 388–95. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.06.061>.
- Collins H.J. 2001. Compaction of municipal solid waste after mechanical and biological treatment. In: T.H. Christensen, R. Cossu & R. Stegmann (Eds). *Proceedings Sardinia 2001, Eighth International Landfill Symposium, 2001, Cagliari, Italy, III*, 455-464.
- Commission Européene (2008a) Updated European Risk Assessment Report 4,4'Isopropylidene Diphenol (Bisphenol A). Luxembourg : 221 p.
- Commission Européene Directive 2008/105/CE du Parlement européen et du Conseil du 16 décembre 2008 établissant des normes de qualité environnementale dans le domaine de l'eau, modifiant et abrogeant les directives du Conseil 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE, 86/. , Pub. L. No. 2006/0129/COD (2008).
- Coors A, Jones PD, Giesy JP, Ratte HT. Removal of estrogenic activity from municipal waste landfill leachate assessed with a bioassay based on reporter gene expression. *Environ Sci Technol* 2003;37:3430–4.
- Covaci, A., Geens, T., Roosens, L., Ali, N., Van Den Eede, N., Ionas, A., Malarvannan, G., et al. 2012. Human Exposure and Health Risks to Emerging Organic Contaminants. In D. Barceló (dir.), *Emerging Organic Contaminants and Human Health SE - 126, The Handbook of Environmental Chemistry (Vol. 20, p. 243-305)*. Springer Berlin Heidelberg.
- Delineaut T. ; Budka A., 2000. Rapport final SITA: état de l'art, le concept du Derdour 1984.
- Del Moro, G., Mancini, A., Mascolo, G., Di Iaconi, C., 2013. Comparison of UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> based AOP as an end treatment or integrated with biological degradation for treating landfill leachates. *Chem. Eng. J.* 218, 133–137. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.12.086>.
- De Morais, J.L., Zamora, P.P., 2005. Use of advanced oxidation processes to improve the biodegradability of mature landfill leachates. *J. Hazard. Mater.* 123, 181– 186. <https://doi.org/10.1007/s40710-014-0016-8>.

- Dorn, Philip B., Chi Su Chou, and Joseph J. Gentempo. 1987. Degradation of Bisphenol A in Natural Waters. *Chemosphere* 16(7): 1501–7. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(87\)90090-7](https://doi.org/10.1016/0045-6535(87)90090-7).
- EFSA 2013. Disponible en ligne à : <http://www.efsa.europa.eu/fr/topics/topic/bisphenol>
- Eio, Er Jin, Minako Kawai, Kenji Tsuchiya, Shuichi Yamamoto, and Tatsuki Toda. 2014. “Biodegradation of Bisphenol A by Bacterial Consortia.” *International Biodeterioration and Biodegradation* 96: 166–73. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.09.011>.
- El Hassani Abdessamed, 2016. Perturbateurs endocriniens dans une station de traitement biologique de lixiviat d’un site d’enfouissement sanitaire : cas du bisphenol A. Maitrise en environnement. Université de Sherbrook. Canada.
- Environnement Canada et Santé Canada.2008. Évaluation préalable finale pour le défi concernant le phénol, 4,4' -(I-méthyléthylidène) bis (BPA). batch2-80-05-7-fr - copie, 125 p.
- Environnement Canada, 2010. Rapport de 2010 sur l'utilisation de l'eau par les municipalités Utilisation de l'eau par les municipalités : Statistiques de 2006, no Enl 1-212006F- PDF au catalogue, [www.ec.gc.ca/publications/default.asp?lang:Fr&xml:596A7EDF47ID-444CBCEC-2CB9E730FFF9](http://www.ec.gc.ca/publications/default.asp?lang:Fr&xml:596A7EDF47ID-444CBCEC-2CB9E730FFF9)
- Eur-Lex,2001. Disponible en ligne à :<http://eur-lex.europa.eu/lexUriServ/LexUriServ.do?uri:CELEX:32001L005>
- Felsenstein, Joseph. n.d. “Phylogenies and the Comparative Method.” *The American Naturalist*. The University of Chicago Press/The American Society of Naturalists. Accessed September 30, 2018. <https://doi.org/10.2307/2461605>.
- François Veronique, 2004. Détermination d’indicateurs d’accélération et de stabilisation de déchets ménagers enfouis. Etude de l’impact de la recirculation de lixiviats sur des colonnes de déchets. Thèse de doctorat. Université de Limoges.
- Francois, V., Feuillade, G., Matejka, G., Lagier, T., Skhiri, N., 2007. Leachate recirculation effects on waste degradation: study on column. *Waste Manage.* 27, 1259–1272. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.07.028>.
- Fukata H, MiyagawaH, Yamazaki N, Mori C. Comparison ofELISA- and LC–MS-based methodologies for the exposure assessment of bisphenol A. *Toxicol Mech Methods*



- 2006;16:427–30.
- Funke, G., Lawson, P. A. & Collins, M. D. (1997). *Corynebacterium mucifaciens* sp. nov., an unusual species from human clinical material. *Int J Syst Bacteriol* 47, 952-957.
- Gagnaire J., P. Moulin, B. Marrot. 2008. Bioréacteurs à membranes : un intérêt grandissant. Université Paul cézanne Aix Marseille, Département de Procédés Propres et Environnement (DPPE UMr6181), Europôle de l'Arbois.
- Gaid A, 2008. Traitements des eaux résiduaires. *Echnique de l'ingénieur*. C 5220.
- Gerard MH., 2002. Nitrification and denitrification in the activated sludge process. ISBN 0-471-06508-0. John Wiley and Sons, Inc.
- Grasmick A., Cabassud C., Sperandio M., Wisniewski C., 2007. Bioréacteurs à membranes et traitement des eaux usées. *Technique de l'ingénieur W 4140*.
- Gros, M., Petrovic, M. et Barcelo, D. 2008. Analysis of Emerging Contaminants of Municipal and Industrial Origin. In D. Barceló et M. Petrovic (dir.), *Emerging Contaminants from Industrial and Municipal Waste SE - 102, The Handbook of Environmental Chemistry* (Vol. 5S/1, p. 37-104). Springer Berlin Heidelberg.
- Grosclaude G., Un point sur...L'eau - Tome II - Usages et Polluants, INRA, Paris 1999, p187.
- Guibelin É., Lutte contre la pollution des eaux - Traitement des boues d'épuration, 1999, p11
- Hocqet C. et Golla G., Bilan 2008 de l'assainissement en France, 2010, p3, 13, [en ligne] disponible sur < [http://www.eaufrance.fr/spip.php?rubrique188&id\\_article=854](http://www.eaufrance.fr/spip.php?rubrique188&id_article=854)>, consulté le 25/04/2012.
- Hassaine Omar, 2013. Caractéristiques d'intérêts technologiques de souches de bactéries lactiques isolées de lait camelin du sud algérien. Thèse de doctorat, université d'oran. Algérie.
- He, R., Shen, D., Wang, J., He, Y., Zhu, Y., 2005. Biological degradation of MSW in a methanogenicreactorusingtreated leachaterecirculation. *Process Biochem.*40, 3660–3666. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.02.022>.
- Howdeshell K.L., A.K. Hotchkiss., K.A., J.G. ThayerVandenbergh, F.S. Vom Saal. 1999. Exposure to bisphenol A advances puberty. *Journal of Nature* 401,763164.
- Ike, M., Jin, C.S., Fujita, M., 2000. Biodegradation of bisphenol A in the aquatic environment.

- Water Sci. Technol. 42 (7–8), 31–38.
- Ike, Michihiko, Min Yu Chen, Chang Suk Jin, and Masanori Fujita. 2002. “Acute Toxicity, Mutagenicity, and Estrogenicity of Biodegradation Products of Bisphenol-A.” *Environmental Toxicology* 17 (5): 457–61. <https://doi.org/10.1002/tox.10079>.
- Inoue K, Kato K, Yoshimura Y, Makino T, Nakazawa H. Determination of bisphenol A in human serum by high-performance liquid chromatography with multi-electrode electrochemical detection. *J Chromatogr B* 2000;749:17–23.
- Irmak, Sibel, Oktay Erbatur, and Aydin Akgerman. 2005. “Degradation of 17 $\beta$ -Estradiol and Bisphenol A in Aqueous Medium by Using Ozone and Ozone/UV Techniques.” *Journal of Hazardous Materials* 126 (1–3): 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.05.045>.
- Journal Officiel de la République Algérienne, 2006. Les valeurs limites des rejets d’effluents liquides industriels. *Décret executive n°06-141*.
- Journal Officiel de la République Algérienne, 2009. Les modalités d’octroi de l’autorisation de déversement des eaux usées autres que domestiques dans un réseau public d’assainissement dans une station d’épuration. *Décret executive n°09-209*.
- Joseph, Lesley, Qammer Zaib, Ifthecker A Khan, Nicole D Berge, Yong-gyun Park, Navid B Saleh, and Yeomin Yoon. 2011. “Removal of Bisphenol A and 17 $\alpha$ -Ethinyl Estradiol from Landfill Leachate Using Single-Walled Carbon Nanotubes.” *Water Research* 45 (13): 4056–68. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.05.015>.
- Kalka J., Oslislok A., Surmacz-Gorska J., Krajewska K., Marciochaand D., Rszka A., 2010. A laboratory study on toxicity removal from landfill leachate in combined treatment with municipal wastewater. *Environmental engineering III*. 185-189.
- Kalmykova, Y., Moona, N., Strömvall, A.-M. et Björklund, K. 2014. Sorption and degradation of petroleum hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons, alkylphenols, bisphenol A and phthalates in landfill leachate using sand, activated carbon and peat filters. *Water research*, vol. 56, p. 246-57.
- Kamaraj, M., Rajeshwari Sivaraj, and R. Venckatesh. 2014. “Biodegradation of Bisphenol A by the Tolerant Bacterial Species Isolated from Coastal Regions of Chennai, Tamil Nadu, India.” *International Biodeterioration and Biodegradation*. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.02.014>.

- Kang, K.H., Shin, H.S., Park, H., 2002. Characterization of humic substances present in landfill leachates with different landfill ages and its implications. *Water Res.* 36, 4023–4032. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00114-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00114-8).
- Kang, J. H., and F. Kondo. 2002. “Bisphenol A Degradation by Bacteria Isolated from River Water.” *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 43 (3): 265–69. <https://doi.org/10.1007/s00244-002-1209-0>.
- Kang, J.H. 2006. “Distribution and Biodegradation of Bisphenol A in Water Hyacinth.” *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 77 (4): 500–507. <https://doi.org/10.1007/s00128-006-1092-x>.
- Kang, J. H., N. Ri, and F. Kondo. 2004. “Streptomyces Sp. Strain Isolated from River Water Has High Bisphenol A Degradability.” *Letters in Applied Microbiology* 39 (2): 178–80. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01562.x>.
- Kang J-H, Kito K, Kondo F. Factors influencing the migration of bisphenol A from cans. *J Food Prot* 2003;66:1444–7.
- Kawagoshi Y, Fujita Y, Kishi I, Fukunaga I. Estrogenic chemicals and estrogenic activity in leachate from municipal waste landfill determined by yeast two-hybrid assay. *J Environ Monit* 2003;5:269–74.
- Kehila Youcef, 2014. Rapport sur la gestion des déchets solides en Algérie. GIZ Tunisia / SWEEP-Net / D-Waste.
- Keskinkan, Olcayto, and Behzat Balci. 2016. “Biotic and Abiotic Bisphenol-A Removal from Wastewater by Activated Sludge: Effects of Temperature, Biomass, and Bisphenol-A Concentrations.” *Water Science and Technology* 73 (2): 317–28. <https://doi.org/10.2166/wst.2015.495>.
- Kim, Ji Young, Keungarp Ryu, Eui Jung Kim, Woo Seok Choe, Gi Cheol Cha, and Ik Keun Yoo. 2007. “Degradation of Bisphenol A and Nonylphenol by Nitrifying Activated Sludge.” *Process Biochemistry* 42 (10): 1470–74. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.06.010>.
- Kim M, Oh HS, Park SC, Chun J (2014) Towards a taxonomic coherence between average nucleotide identity and 16S rRNA gene sequence similarity for species demarcation of prokaryotes. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 64:346–351.

- Krieg, N. R. & Holt, J. G. E. (1984). *Bergey's manual of systematic bacteriology*. pp. 1104-1207. Edited by Williams & Wilkins. Baltimore.
- Kumar, Sudhir, Glen Stecher, and Koichiro Tamura. 2016. "MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets." *Molecular Biology and Evolution* 33 (7): 1870–74. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>.
- Kümmerer, K. (2011) *Treatise on Water Science*. Treatise on Water Science (p. 69-87). Elsevier.
- Lagier, 2000. Etude des macromolécules de lixiviat : Caractérisation et comportement vis-à-vis des métaux. Thèse de doctorat. Université de Limoges.
- Labanowski J., 2004. Matière organique naturelle et anthropique : vers une meilleure compréhension de sa réactivité et de sa caractérisation. Thèse de doctorat – Université de Limoges.
- Larsson, D. G. J., Adolfsson-Erici, M., Parkkonen, J., Pettersson, M., Berg, A. H., Olsson, P.E. et Förlin, L. 1999. Ethinylloestradiol - an undesired fish contraceptive? *Aquatic Toxicology*, vol. 45, n°2, p. 91-97.
- LCPE, Loi canadienne sur la protection de l'environnement 1999. Disponible en ligne à : <http://laws-lois.justice.gc.ca/fra/lois/c-15.31/TexteCompleet.html>.
- Le Clech p., Chen V., Fane TAG., 2006. Fouling in membrane bioreactors used in wastewater treatment. *Journal of membrane Science*, 284, 17-53.
- Le Clech P., Jefferson B., Judd S., 2005. A comparison of submerged and sidstream tubular membrane bioreactor configurations. *Desalination*, 173 (2), 113-122.
- Leclerc G. ; Bonneau A., 1982. La lixiviation : source, composition et atténuation. Limoges.
- Lee, Soo-Min, Bon-Wook Koo, Joon-Weon Choi, Don-Ha Choi, Beum-Soo An, Eui-Bae Jeung, and In-Gyu Choi. 2005. Degradation of Bisphenol A by White Rot Fungi, *Stereum Hirsutum* and *Heterobasidium Insulare*, and Reduction of Its Estrogenic Activity. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 28 (February): 201–7. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.201>.
- Lesjean B., E.H. Huisjes. 2008. Survey of the European BRM market : trends and perspectives.

- Journal of Desalination. 231, 71-81.
- Li, Guiying, Lei Zu, Po Keung Wong, Xinping Hui, Yu Lu, Jukun Xiong, and Taicheng An. 2012. "Biodegradation and Detoxification of Bisphenol A with One Newly-Isolated Strain *Bacillus* Sp. GZB: Kinetics, Mechanism and Estrogenic Transition." *Bioresource Technology* 114: 224–30. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.03.067>.
- Li, X., Lin, L., Zou, S., Lan, C. et Luan, T. (2006) Determination of Bisphenol A in Landfill Leachate by Solid Phase Microextraction with Headspace Derivatization and Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, vol. 34, n°3, p. 325-328
- Liu, J.Y., Xu, D.M., Zhao, Y.C., Huang, R.H., Zhou, H.Y., Zhang, J., 2001. Natural reduction of ammonia-N in leachate of large-scale landfill. *J. Environ. Sci. (China)* 21, 323–327.
- Liu, Yang, Qiliang Lai, Juan Du, and Zongze Shao. 2016. "Bacillus Zhangzhouensis Sp. Nov. and Bacillus Australimaris Sp. Nov." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 66 (3): 1193–99. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000856>.
- Lobos, J. H., T. K. Leib, and T. M. Su. 1992. "Biodegradation of Bisphenol A and Other Bisphenols by a Gram-Negative Aerobic Bacterium." *Applied and Environmental Microbiology* 58 (6): 1823–31.
- Mata-Alvarez J., 2003. Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes. London: IWA, 323.
- Matejka G., 1995. La gestion des déchets ménagers et la qualité des eaux. OIE, Paris.
- Matsumura Y, Hosokawa C, Sasaki-Mori M, Akahira A, Fukunaga K, Ikeuchi T, Oshiman K, Tsuchido T (2009) Isolation and characterization of novel bisphenol-A-degrading bacteria from soils. *Biocontrol Sci* 14:161–169
- Mcbean, E. A., Rovers, F. A. et Farquhar, G. J. 1995. Solide waste landfill engineering and design. New Jersey, United States of America : Prentice Hall PTR.
- Millot N., 1986. Les lixiviats de décharges contrôlées. Caractérisation analytique et études des filières de traitement. Thèse de doctorat, INSA Lyon.
- Mita, Luigi, Laura Grumiro, Sergio Rossi, Carmen Bianco, Roberto Defez, Pasquale Gallo, Damiano Gustavo Mita, and Nadia Diano. 2015. "Bisphenol A Removal by a *Pseudomonas Aeruginosa* Immobilized on Granular Activated Carbon and Operating in a

- Fluidized Bed Reactor.” *Journal of Hazardous Materials* 291: 129–35. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.02.072>.
- Mohapatra, D. P., Brar, S. K., Tyagi, R. D. et Surampalli, R. Y. 2010. Physico-chemical pretreatment and biotransformation of wastewater and wastewater sludge--fate of bisphenol A. *Chemosphere*, vol. 78, n°8, p. 923-41
- Nalbone, G., Cicoletta, A. et Laot-Cabon, S. 2011. L'exposition humaine au bisphénol A : un facteur de risque environnemental des maladies métaboliques et cardiovasculaires. *Médecine & Longévité*, vol. 3, n°1, p. 42-51.
- National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database; CID=6623, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6623> (accessed Nov. 6, 2018).
- Oshiman, Ko Ichi, Yuji Tsutsumi, Tomoaki Nishida, and Yoshinobu Matsumura. 2007. “Isolation and Characterization of a Novel Bacterium, *Sphingomonas Bisphenolicum* Strain AO1, That Degrades Bisphenol A.” *Biodegradation* 18 (2): 247–55. <https://doi.org/10.1007/s10532-006-9059-5>.
- Pant, Jayanti, and Shripad B. Deshpande. 2012. “Acute Toxicity of Bisphenol a in Rats.” *Indian Journal of Experimental Biology* 50 (6): 425–29.
- Pellegrin M.L., C. Wisniewski, A. Grasmick, A. Tazi-Pain, H. Buisson.2002. Sequenced aeration in a membrane bioreactor: specific nitrogen removal rates. *Can. J. Chem. Eng.*80, 386392.peroxide oxidation and effect on phltotoxicity. *Journal of Hazardous Materials*.B133135-142.
- Peng, Yu Huei, Ya Jou Chen, Ying Jie Chang, and Yang hsin Shih. 2015. “Biodegradation of Bisphenol A with Diverse Microorganisms from River Sediment.” *Journal of Hazardous Materials* 286: 285–90. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.051>.
- Petti, C. A. (2007). Detection and identification of microorganisms by gene amplification and sequencing. *Clinical Infectious Diseases* 44, 1108- 1114.
- Pichler M.; Kogel-Knaber I., 2000. Chemolytic analysis of organic matter during aerobic and anaerobic treatment of municipal solid waste. *J.Environ. Qual.*, 29, 13371344.Press Limited, 213-229.
- Poblete, R., Otal, E., Vilches, L.F., Vale, J., Ferandez-Pereira, C., 2011. Photocatalytic degradation of humic acids and landfill leachate using a solid industrial byproduct

- containing TiO<sub>2</sub> and Fe. *Appl. Catal. B: Environ.* 102, 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2010.11.039>.
- Porcheron, G., Garenaux, A., Proulx, J., Sabri, M., Dozois, C.M., 2013. Iron, copper, zinc, and manganese transport and regulation in pathogenic Enterobacteria: correlations between strains, site of infection and the relative importance of the different metal transport systems for virulence. *Front Cell Infect Microbiol.* 3, 90. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00090>.
- Ramade F., 1998. Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau: biogéochimie et écologie des eaux continentales et littorales. Ediscience, 354-356.
- Ramakrishnan, A., Blaney, L., Kao, J., Tyagi, R. D., Zhang, T. et Surampalli, R. 2015. Emerging contaminants in landfill leachate and their sustainable management. *Environmental Earth Sciences*, vol. 73, n°3, p. 1357-1368.
- Rejsk F., 2002. Analyse des eaux : aspects réglementaires et techniques. Séries Sciences et techniques de l'environnement ISBN : 2-86617-420-8.
- Relman, D. A. (1999). The search for unrecognized pathogens. *Science* 284, 1308-1310.
- Renou, S., Givaudan, J.G., Poulain, S., Dirassouyan, F., Moulin, P., 2008. Landfill leachate treatment: review and opportunity. *J. Hazard. Mater.* 150, 168–193. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.077>.
- Renvoisé Aurélie, 2012. Applicabilité de la PCR « universelle » 16S comme outil d'identification et de détection bactérienne en laboratoire hospitalier de bactériologie. Thèse de doctorat. Université d'Aix Marseille. France.
- Robinson, H.D., Maris, P.J., 1983. The treatment of leachates from domestic wastes in landfills aerobic biological treatment of a medium-strength leachate. *Water Res.* 17 (11), 153–1548.
- Robinson, H. D. et Grantham, G. 1988. The treatment of landfill leachates in on-site aerated lagoon plants: Experience in Britain and Ireland. *Water research*, vol. 22, n°6, p. 733- 747.
- Rodier J., Legube B., Merlet N., 2009. Analyse de l'eau édition DUNOD. ISBN 978-210-054179-9.
- Rodriguez I.J. ; Castrillon P.L. ; Maranon M.E.; Sastre A.H., 2000. A comparative study of leachates produced by anaerobic digestion in a pilot plant and at sanitary landfills in

- Asturias, Spain. *Waste Management and Research* .18 : 86 – 93.
- Roh, Hyungkeun, Nethra Subramanya, Fuman Zhao, Chang Ping Yu, Justin Sandt, and Kung Hui Chu. 2009. Biodegradation Potential of Wastewater Micropollutants by Ammonia-Oxidizing Bacteria. *Chemosphere* 77 (8): 1084–89.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.08.049>.
- Ronen, Zeev, and Aharon Abeliovich. 2000. “Anaerobic-Aerobic Process for Microbial Degradation of Tetrabromobisphenol A.” *Applied and Environmental Microbiology* 66 (6): 2372–77. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.6.2372-2377.2000>.
- Ruginescu, Robert Marian, Roxana Cojoc, Mădălin Enache, and Veronica Lazăr. 2018. “Preliminary Characterization of a Cellulase Producing Bacterial Strain Isolated from a Romanian Hypersaline Lake,” 1066–81. <https://doi.org/10.4236/jep.2018.910066>.
- Ruel, S. M., Choubert, J. M., Esperanza, M., MiegE, C., Madrigal, P. N., Budzinski, H., LE Menach, K., et al. 2011. On-site evaluation of the removal of 100 micro-pollutants through advanced wastewater treatment processes for reuse applications. *Water Science & Technology*, vol. 63, n°11, p. 2486-2497.
- Saitou, N. & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4, 406-425.
- Saiyood, S, A S Vangnai, P Thiravetyan, and D Inthorn. 2010. “Bisphenol A Removal by the *Dracaena* Plant and the Role of Plant-Associating Bacteria.” *Journal of Hazardous Materials* 178 (1–3): 777–85. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.02.008>.
- Sajiki, Junko, and Jun Yonekubo. 2004. Leaching of Bisphenol A (BPA) from Polycarbonate Plastic to Water Containing Amino Acids and Its Degradation by Radical Oxygen Species. *Chemosphere* 55 (6): 861–67. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.11.065>.
- Sakai, Kiyofumi, Hayato YAMANAKA, Kunihiro MORIYOSHI, Takashi OHMOTO, and Tatsuhiko OHE. 2007. “Biodegradation of Bisphenol A and Related Compounds by *Sphingomonas* Sp. Strain BP-7 Isolated from Seawater.” *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 71 (1): 51–57. <https://doi.org/10.1271/bbb.60351>.
- Sakamoto, H., Shoji, S. et Kaneko, H. 2007. Leaching characteristics of bisphenol A from epoxy-resin pavement materials. *Toxicological & Environmental Chemistry*, vol. 89, n°2, p. 191-203.



- Sasaki, Miho, Jun Ichi Maki, Ko Ichi Oshiman, Yoshinobu Matsumura, and Tetsuaki Tsuchido. 2005. Biodegradation of Bisphenol A by Cells and Cell Lysate from *Sphingomonas* Sp. Strain AO1. *Biodegradation* 16 (5): 449–59. <https://doi.org/10.1007/s10532-004-5023-4>.
- Schwarzbauer, J., Heim, S., Brinker, S. et Littke, R. (2002) Occurrence and alteration of organic contaminants in seepage and leakage water from a waste deposit landfill. *Water research*, vol. 36, n°9, p. 2275-2287.
- Scriban R., 1999. *Biotechnologie. Edition TEC & DOC. 5ème édition.*
- Sénat. Presse, France, 2013. Disponible en ligne à: [http://www.senat.fr/espace\\_presse/actualites/2012\\_10/vers\\_une\\_interdiction\\_complete-des\\_conditionnements-alimentaires\\_contenant-du\\_bisphenola.html](http://www.senat.fr/espace_presse/actualites/2012_10/vers_une_interdiction_complete-des_conditionnements-alimentaires_contenant-du_bisphenola.html).
- Serpell, A. et Alarcon, L. F. 1998. Construction process improvement methodology for construction projects. *International Journal of Project Management*, vol. 16, n°4, p. 215-221.
- Seyhi, B. (2012) Contribution à l'étude de l'applicabilité des bio-traitement membranaire dans le traitement des eaux usées contaminées par le bisphenol-A et d'autres polluants organiques et inorganiques. Thèse de doctorat, Université du Québec, Institut National de la Recherche Scientifique, Centre Eau Terre Environnement, Québec, Québec, Canada, 322 p.
- Seyhi B., P. Droguia, G. Buelna, J.F. Blais. 2013. Biodegradation of Bisphenol-A in aerobic membrane bioreactor sludge. *Journal of Water Science & Technology*, 68.9.
- Stasinakis, Athanasios S., Constantinos I. Kordoutis, Vasiliki C. Tsiouma, Georgia Gatidou, and Nikolaos S. Thomaidis. 2010. "Removal of Selected Endocrine Disrupters in Activated Sludge Systems: Effect of Sludge Retention Time on Their Sorption and Biodegradation." *Bioresource Technology* 101 (7): 2090–95. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.086>.
- Stegman R., 1997. Description of a laboratory scale method to investigate anaerobic degradation processes taking place in solid waste. In: Christensen T.H., Cossu R. & Stegmann R. (Eds). *Proceedings sardinia 97, Sixth International waste Management and Landfill Symposium*, 37-43.
- Talalaj, A.I., 2015. Mineral and organic compounds in leachate from landfill with concentrate

- recirculation. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 2622–2633. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3533-0>.
- Tamura, K, and M Nei. 1993. “Estimation of the Number of Nucleotide Substitutions in the Control Region of Mitochondrial DNA in Humans and Chimpanzees.” *Molecular Biology and Evolution* 10 (3): 512–26. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023>.
- Thonart P.; Steyer E.; Drion R.; Hiligsmann S., 1997. La gestion biologique d’une décharge. *Tribune de l’Eau*, 590/591, 3-12. TiO<sub>2</sub>. Thèse de doctorat, Université de Metz, 164 p.\*
- Urase, T. et Miyashita, K. (2003) Factors affecting the concentration of bisphenol A in leachates from solid waste disposal sites and its fate in treatment processes. *Journal of Material Cycles and Waste Management*, vol. 5, n°1, p. 77-82.
- Vandenberg, Laura N., Russ Hauser, Michele Marcus, Nicolas Olea, and Wade V. Welshons. 2007. “Human Exposure to Bisphenol A (BPA).” *Reproductive Toxicology* 24 (2): 139–77. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.07.010>.
- Virkutyte E, J., Varma, R. S. et Jegatheesan, V. 2010. Treatment of micropollutants in water and wastewater. London, UK : IWA Publishing.
- Vom Saal F.S., P.S. Cooke, D.L. Buchanan, P. Palarza, K.A. Thayer, S.C. Nagel, S. Parmigiani, Vy'.V. Welshons. 1998. A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior' *Toxicology and Industrial Health* 14,239-260
- Wang, Z.P., Zhang, Z., Lin, Y.J., Deng, N.S., Tao, T., Zhuo, K., 2002. Landfill leachate treatment by a coagulation- photooxidation process. *J. Hazardous Mater.* 95, 153–159. [https://doi.org/10.1016/S0304-3894\(02\)00116-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(02)00116-4).
- Wang, L.K., Ivanov, V., Tay, J.-H., Hung, Y.-T., 2010. Handbook of Environmental Engineering, vol. 10: Environmental Biotechnology. doi:10.1007/978-1-60327140-0\_1.
- Warith, M., 2002. Bioreactor landfills: experimental and field results. *Waste Manage.* 22, 7–17. [https://doi.org/10.1016/S0956-053X\(01\)00014-9](https://doi.org/10.1016/S0956-053X(01)00014-9).
- Weisburg, WG; Barns, SM; Pelletier, DA; et al. 1991. JOURNAL OF BACTERIOLOGY Volume: 173 Issue: 2 Pages: 697-703 Published: JAN 1991
- Welshons WV, Nagel SC, vom Saal FS. Large effects from small exposures, III. Endocrine

- mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. *Endocrinology* 2006;147:S56–69.
- Wetherill Y.8., B.T. Akingbemi, J. Kanno, J.A. Mcl,achlffi, A.Nadal, C. Sonnenschein, C.S. Watson, R.T. Zoeller, S.M. Belcher. 2007. Invitro molecular mechanisms of bisphenol A action *Journal of Reproductive Toxicology* 24, 178 - 198.
- Williams P.T., 1998. Waste treatment and disposal. Department of fuel and energy, the university of Leeds, UK, England: John Wiley & sons Ltd, 417 p.
- Woese, C. R. 1987. Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* 51, 222-270.
- Wu, J., Zhang, L. et Yang, Z. 2010. A Review on the Analysis of Emerging Contaminants in Aquatic Environment. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, vol. 40, n°4, p. 234- 245.
- Xie, B., Lv, Z., Lv, B.Y., Gu, Y.X., 2010. Treatment of mature landfill leachate by biofilters and Fenton oxidation. *Waste Manage.* 30, 2108–2112. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.06.018>.
- Xu, S., Zhang, H., He, P. et Shao, L. 2011. Leaching behaviour of bisphenol A from municipal solid waste under landfill environment. *Environmental technology*, vol. 32, n°11, p. 1269-1277.
- Yahiat S., 2010. Traitement des perturbateurs endocriniens par un procédé integer. Thèse de Doctorat. Université de Rennes.
- Yamamoto, Takashi, Akio Yasuhara, Hiroaki Shiraishi, and Osami Nakasugi. 2001. “Bisphenol A in Hazardous Waste Landfill Leachates.” *Chemosphere* 42 (4): 415–18. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00079-5](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00079-5).
- Yamamoto K., Aiasa M., Mahmood T., Matsvo T., 1989. Direct solid-liquid separation using hollow fiber membrane in an activated sludge aeration tank. *Wat. Sci. Tech.*, 43-53.
- Yamanaka, Hayato, Kunihiko Moriyoshi, Takashi Ohmoto, Tatsuhiko Ohe, and Kiyofumi Sakai. 2007. “Degradation of Bisphenol a by *Bacillus Pumilus* Isolated from Kimchi, a Traditionally Fermented Food.” *Applied Biochemistry and Biotechnology* 136 (1): 39–51. <https://doi.org/10.1007/BF02685937>.

- Yang W., N. Cicek, J. Ilg. 2006. State-of-the-art of membrane bioreactors: Worldwide research and commercial applications in North America. *Journal of Membrane Science* 270, 201-211.
- Yassine Ouarda. (2014). Le bioréacteur à membrane pour le traitement des eaux usées contaminées par le bisphénol A. Maitrise en sciences de l'eau. Institut national de recherche scientifique, centre eau terre environnement. Université du Québec. Canada.
- Yoon, Yeomin, Paul Westerhoff, Shane A. Snyder, and Mario Esparza. 2003. "HPLC-Fluorescence Detection and Adsorption of Bisphenol A, 17 $\beta$ -Estradiol, and 17 $\beta$ -Ethinyl Estradiol on Powdered Activated Carbon." *Water Research* 37 (14): 3530–37. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(03\)00239-2](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00239-2).
- Zalko D, Soto AM, Dolo L, Dorio C, Rathahao E, Debrauwer L, et al. Biotransformations of bisphenol A in a mammalian model: answers and new questions raised by low-dose metabolic fate studies in pregnant CD1 mice. *Environ Health Perspect* 2003;111:309–19.
- Zaloum, R., Abbott, M., 1997. Anaerobic pretreatment improves single sequencing batch reactor treatment of landfill leachates. *Water. Sci. Tech.* 35, 207–214.
- Zhang, Chang, Guangming Zeng, Li Yuan, Jian Yu, Jianbing Li, Guohe Huang, Beidou Xi, and Hongliang Liu. 2007. "Aerobic Degradation of Bisphenol A by *Achromobacter Xylooxidans* Strain B-16 Isolated from Compost Leachate of Municipal Solid Waste." *Chemosphere* 68 (1): 181–90. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.12.012>.
- Zhang, Q.Q., Tian, B.H., Zhang, X., Ghula, A., Fang, C.R., He, R., 2013. Investigation on characteristics of leachate and concentrated leachate in three landfill leachate treatment plants. *Waste Manage.* 33, 2277–2286. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.07.021>.
- Zhao Q.,H. Han, C. Xu, H. Zhuang, F. Fang, L. Zhang.2013. Effect of powdered activated carbon technology on short-cut nitrogen removal for coal gasification wastewater. *Journal of Bioresource Technology*, | 42, t7 9-185.
- Zhou G-M., Herbert H. P. Fang. 1997 . Co-degradation of phenol and m-cresol in a UASB reactor *Bioresource* . *Journal of Bioresource Technology* 61,47-52.

## 6 ANNEXE 1 : Description des sites de prélèvements

Centre d'enfouissement technique (CET)	Date d'entrée en exploitation	superficie	Capacité/nombre de casiers	Station de traitement des lixiviats	Date d'arrêt d'exploitation
Hamici (W. Alger)	09/2013	90 ha	Réception de l'ensemble des déchets des communes d'Alger 4500 tonnes/j.  Disposition de deux chaînes de tri de 140 t/J.  Nombre de casiers : 7 casiers  1 <sup>er</sup> casier contient 1,8 millions de tonnes de déchets, fermeture du 1 <sup>er</sup> casier en décembre 2016.  Entrée en exploitation du 2 <sup>eme</sup> casier en janvier 2017, capacité de 3millions de m <sup>3</sup> , taux de saturation a atteint les 45% aujourd'hui.	Station de traitement des lixiviats à membrane (que pour le premier casier) d'une capacité de 80 m <sup>3</sup>  Station de traitement du lixiviat de 120 m <sup>3</sup> pour le 2 <sup>eme</sup> casier, système membranaire : osmose inverse (à l'arrêt actuellement)	/
Corso (W. Boumerdes)	01/2014	60 ha	1 <sup>er</sup> casier : 1,5 millions m <sup>3</sup> , en voie de fermeture  Second casier de 1,5 millions de m <sup>3</sup> est en cours de réalisation  Réception de 800 tonnes/j de 18 communes	Osmose inverse d'une capacité de 80 m <sup>3</sup> /j, à l'arrêt actuellement	/
Staoueli (W. Alger)	2012		Capacité de 500000 m <sup>3</sup>	Ne dispose pas de station de traitement	2014

			Recevait les déchets de 10 communes ; 200 tonnes/j		
Ouled fayet (W. Alger)	2002	40 ha	Capacité des casiers réalisés 200000 tonnes Recevait 800 tonnes/j	Dispose de deux bassins de lagunages	2013 (en cours de réhabilitation)
Souama (W. Blida)	2006	5 ha	Capacité de 400000 m <sup>3</sup> Premier casier saturé en 2008  Deuxième casier de 500000 m <sup>3</sup> exploité depuis 2014	Dispose de 2 bassins de lagunage	/
			Réception de 300 tonnes/j		
			Dispose d'un centre de tri de 110 tonnes/j		
Khenchela (W. Khenchela) (intercommunal)	2010	2 ha	1 <sup>er</sup> casier : 144000 m <sup>3</sup> saturé  2eme casier en cours de réalisation (capacité de 144000 m <sup>3</sup> )	Dispose de 3 bassins de lagunage de 600 m <sup>3</sup> chacun.	/
			Réception de 140 tonnes/j		
			Tri manuel 2,5 tonnes/j		

---

## **7 ANNEXE 2 : Composition des milieux de cultures pour l'étude de la biodégradation du BPA dans les cultures pures**

---

Composition du BPA-PBYS pour l'étude de la biodégradabilité du BPA (Yamanaka et al. 2007) :

<b>Composants</b>	<b>Concentration en (g.L<sup>-1</sup>)</b>
Bisphénol A	0.01
Peptone	5
Extrait de bœuf	2.5
Extrait de levure	1
NaCl	50
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1
KCl	0.3
MgSO <sub>4</sub>	0.5
CaCl <sub>2</sub>	0.2
FeCl <sub>2</sub>	0.01

## 8 ANNEXE 3 : Protocole de la coloration de Gram

1 ETAPES	MODE OPERATOIRE	2 TEMPS	PRINCIPE
<b>COLORATION PRIMAIRE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Recouvrir la lame de <b>crystal violet ou violet de gentiane</b></li> <li>- Rincer à l'eau distillée et récupérer le cristal violet dans un bûcher</li> </ul>	1 minute	Le colorant violet pûnètre dans les cellules bactériennes
<b>MORDANÇAGE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Recouvrir de <b>Lugol</b></li> <li>- Rincer à l'eau distillée et l'égoutter</li> </ul>	1 minute	Il se forme un complexe chimique entre le violet et le Lugol qui fixe le violet et colore le cytoplasme de toutes les bactéries en violet.
<b>DÉCOLORATION</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Tenir la lame inclinée et faire couler pendant <u>quelques secondes</u> de l'alcool à 95° jusqu'à écoulement incolore.</li> <li>- Rincer immédiatement à l'eau distillée et égoutter</li> </ul>	5 secondes environ	<p>L'alcool dissout le violet de gentiane, si la paroi bactérienne est perméable à l'alcool (les lipides sont dissous par l'alcool), celui-ci pûnètre dans les bactéries et décolore leur cytoplasme : les bactéries deviennent incolores.</p> <p>Si les bactéries ont une paroi imperméable à l'alcool (épaisse et sans lipides), elles restent colorées en violet et elles sont dites GRAM + ou positif.</p>
<b>COLORATION SECONDAIRE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Recouvrir la lame de <b>fuschine</b></li> <li>- Rincer à l'eau distillée</li> </ul>	1 minute	La fuschine recolore en rose les bactéries précédemment décolorées : les bactéries Gram – ou négatif.
<b>SÉCHAGE</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Egoutter entre 2 morceaux de papier-filtre et laisser sécher</li> </ul>		



## 9 ANNEXE 4 : Courbe d'étalonnage du Bisphénol A par HPLC-UV

### ==== Shimadzu LcSolution Analysis Report ====

C:\LabSolutions\Data\Latifa Azzouz\20171127\BPA 10 PPM 10\_27112017\_9.lcd

Sample Name : BPA 10 PPM 10

Tray# : 1

Vail # : 1

Injection Volume : 10 uL

Data File Name : BPA 10 PPM

10\_27112017\_9.lcd Method File Name

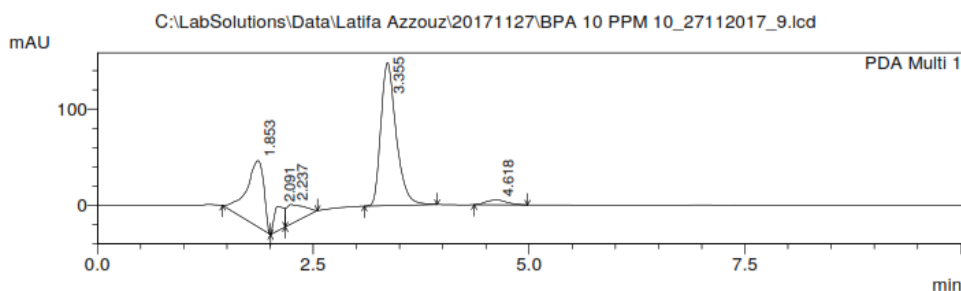
: BPA - 20171127.calibration lcm.lcm Batch

File Name : S8.lcb

Data Acquired : 27/11/2017 17:03:06

Data Processed : 27/11/2017 17:27:42

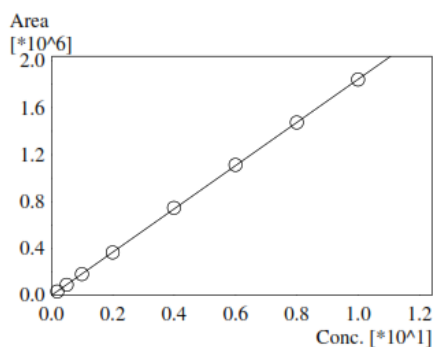
#### <Chromatogram>



#### Calibration Curve

Name : RT3.355  
 Quantitative Method : External Standard  
 FitType : Linear  
 Detector Name : PDA  
 Correlation Coefficient : 0.9999748

#	Conc. (Ratio)	MeanArea
2	0.200	31960.4
3	0.500	88811.8
4	1.000	179865.3
5	2.000	365948.4
6	4.000	746330.6
7	6.000	1112396.0
8	8.000	1475504.6
9	10.000	1840851.6



#### Quantitative Results

ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	ug/ml
1	RT3.355	3.355	1840852	148960	9.976

C:\LabSolutions\Data\Latifa Azzouz\20171127\BPA 10 PPM 10\_27112017\_9.lcd



Contents lists available at ScienceDirect

## Waste Management

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/wasman](http://www.elsevier.com/locate/wasman)

## Membrane bioreactor performance in treating Algiers' landfill leachate from using indigenous bacteria and inoculating with activated sludge

Latifa Azzouz, Nouara Boudjema, Fares Aouichat, Mohamed Kherat, Nabil Mameri\*

Unité de Recherche UR1E, Ecole Nationale Polytechnique, 10 Avenue Hacén Badi, 16200 Algiers, Algeria

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 27 August 2017

Revised 30 January 2018

Accepted 2 February 2018

Available online xxx

## Keywords:

Landfill leachates

Water pollution

Membrane bioreactor

SBR

Activated sludge

## ABSTRACT

This study focuses on the treatment of both organic and metallic pollution in the Staoueli landfill leachate. This leachate contains a large amount of organic and inorganic matter and it must imperatively be treated before being released into the environment. Our work presents a comparative study between two membrane sequenced batch bioreactors (B2 contains indigenous leachate bacteria and B1 contains activated sludge). The purpose is to assess the best treatment to use, one that allows the reduction of the polluting load of the leachate and a reduction of membrane fouling. Performances were evaluated by measuring the chemical oxygen demand (COD) and the metal content of the leachate (zinc, iron). The results showed a similar COD removal efficiency in B2 (95%) and B1 (93%). Coupling the bioreactors with an ultrafiltration process allowed a notable reduction in zinc and iron concentrations: Fe of 35% and Zn of 78% for B1UF, and Fe of 71% and Zn of 74% for B2UF.

© 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

In Algeria, for some years now, under the impulse of exponential economic and demographic development, the problem of solid wastes is above anything else a constraint faced by local authorities. It creates direct and indirect negative effects that are linked to the amount of waste, its disposal and treatment. Landfilling remains the only solid waste management tool adopted by developing countries. A dump can be the source of several nuisances: odor emissions, production of biogas and especially of leachate. Landfill leachates are complex and heavily polluted waters resulting from the percolation of rainwater, through solid waste and also from biological, physical and chemical processes taking place within the landfill itself. Indeed, rainfall and decomposition of waste produces leachate at the bottom of the landfill (Francois et al., 2007; He et al., 2005; Liu et al., 2001). It presents high values of biological oxygen demand (BOD), total organic carbon (TOC), chemical oxygen demand (COD), ammonia nitrogen (NH<sub>3</sub>-N), dark color, heavy metals and its composition depends on many factors: composition of the wastes, age of the landfill, meteorological conditions, and several more (Chu et al., 2008; Calabrò et al., 2010; Zhang et al., 2013). In most cases, it is made up from humic substances (Kang et al., 2002) and ammoniacal nitrogen, organochlorines and inorganic salts (Wang et al., 2002). Because of their

composition, leachates are likely to contaminate the natural environment, particularly groundwater if not properly treated.

In order to limit the harmful effects of these leachates, different types of treatments can be applied to reduce their biological or chemical pollutant content. They must be treated before being released into the environment (Renou et al., 2008). Due to an increase in discharge standards, new treatment techniques have emerged in this area including membrane processes such as micro-filtration, ultrafiltration, nanofiltration and reverse osmosis (Renou et al., 2008; Talalaj, 2015). The efficiency of these processes on an industrial scale is still limited, mainly because of the high polluting load of the leachate concerned.

Biological methods, including activated sludge, anaerobic filter, leachate recirculation, and sequencing batch reactor (SBR), are widely applied in the treatment of leachate to reduce the high values of BOD, COD, and NH<sub>3</sub>-N (Lema et al., 1988).

This study presents a sequenced batch biological (SBR) reactor treatment, coupled with a membrane process in a second step. In order to simulate the treatment plant used in Algiers, activated sludge from a wastewater treatment plants was added. The objective of the study is to examine general parameters: pH, conductivity, suspended matter, volatile matter, organic compounds ((COD) and (BOD<sub>5</sub>), total organic nitrogen, BOD<sub>5</sub>/COD ratio), and inorganic compounds (nitrogen ammonia, Nitrite, Nitrate, phosphate, ferrous, cadmium, chrome, copper, lead) in order to find solutions for the pollution load from Staoueli's landfill leachate and to bring the remaining load to discharge standards.

\* Corresponding author.

E-mail address: [nabil.mameri@utc.fr](mailto:nabil.mameri@utc.fr) (N. Mameri).<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.02.003>

0956-053X/© 2018 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Please cite this article in press as: Azzouz, L., et al. Membrane bioreactor performance in treating Algiers' landfill leachate from using indigenous bacteria and inoculating with activated sludge. Waste Management (2018), <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.02.003>

The aim is to compare the performance of a SBR which only contains raw leachate and in which indigenous bacteria already present inside will be responsible for the reduction of the organic load of the leachate, and another SBR in which activated sludge was added to the leachate, as it is done in leachate treatment plants in Algiers.

This would allow us to assess the necessity of adding sludge to the leachate. Indeed, if the difference in performance between the two bioreactors is low, it would imply that using non inoculated bioreactors would be preferable. This would lead to a reduction in the quantity of sludge generated at the end of the process, which therefore reduces the amount of solid waste that has to be treated.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Samples

A volume of 60 L was taken from the catchment area of Staoueli's landfill (Algiers). In order to treat the leachate in SBR, a volume of 20 L of activated sludge was taken from the aeration tank of the wastewater's treatment plant in Beni Messous (Algiers).

The activated sludge (SS = 2.1 g/l, MSS = 57%) is put in clean water, stirred, and then submitted to decantation. The water is removed and the sediment (the activated sludge) is once again put in clean water. This operation is repeated 5 times and the whole process took about 2 h. Since the bacteria present in the activated sludge are aerobic, it is aerated at room temperature to preserve its quality (Yahiat, 2010). A pre-culture of the activated sludge was carried out before its use. A volume of 50% activated sludge is inoculated into 50% of the leachate for 3 days under aeration and stirring (Chemlal et al. (2014)).

### 2.2. Experimental device

Two batch bioreactors (B1 and B2), each with a capacity of 8 L are installed and compared to the control. The control was composed of 100% leachate maintained throughout the treatment period without agitation nor aeration to assess the growth of the leachate's indigenous microorganisms. The first bioreactor (B1) consists of 90% leachate where 10% of activated sludge preculture was added (Chemlal et al., 2014). The second bioreactor (B2) consists of 100% leachate with oxygenation. We used an air pump for aquarium, model, MARINA Air pump 50:50 L/h.

The bioreactors B1 and B2 were stirred at 200 rpm during the treatment time, with aeration, at ambient temperature (25 °C). Samples were taken every 2 h during the treatment period. Nutrients were added to adjust the C/N/P ratio to 100/5/1. This allows an optimization of the microorganisms' activity. To attain this ratio, 1.88 g/8 L of Urea and 0.375 g/8 L of  $K_2HPO_4$  were added to the leachate.

To improve the general performances of the treatment, we coupled the bioreactor with an ultrafiltration device using the ultrafiltration membrane (Carbosep M5) with 10 kDa molecular weight cut-off (Fig. 1).

During this study, we followed the evolution of the experimental parameters: pH, COD and microbial biomass OD600 (samples were diluted prior to analyses when necessary) (Norme ISO 7218: 1996 (F)).

The pH of the samples was measured using a HANNA pH meter, model pH 211.

A SOLAAR UNICAM M series Atomic absorption spectrophotometer was used to analyze heavy metals (Fe, Pb, Cu, Zn) according to the method described in Standard Methods (3030 G. Nitric Acid-Sulfuric Acid Digestion- APHA, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22rd Edition 2014). The

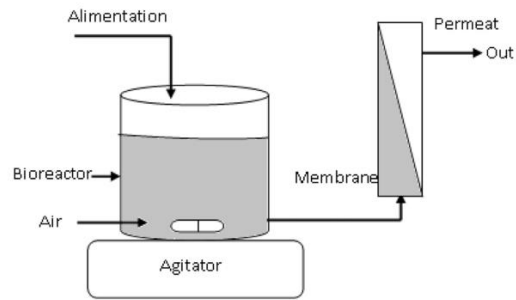


Fig. 1. Experimental bioreactor device in batch mode.

suspended matter (MES) were measured following the French AFNOR standards (NF T90-AFNOR, 1983).

The membrane permeability ( $L_p$ ) was determined experimentally using Darcy's relation:

$$L_p = \frac{J_v}{\Delta P} (\text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{bar}^{-1}) \quad (1)$$

where  $J_v$  and  $\Delta P$  are respectively the permeate solvent flux and the transmembrane pressure.

The transmembrane pressure ( $\Delta P$ ) is obtained by calculating the mean between the inlet pressure and the outlet pressure of the ultrafiltration module.

The variation of the membrane permeability may be calculated by the Poiseuille law (Eq. (2)):

$$L_p = \frac{N_p \cdot \pi \cdot r_p^4}{8 \cdot \mu \cdot e} (\text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{bar}^{-1}) \quad (2)$$

$L_p$ : Membrane permeability

$N_p$ : Number of pores;  $r_p$ : Average pore radius

$\mu$ : Dynamic viscosity

$e$ : Thickness of the active layer

### 2.3. Statistical analysis

The principal components analysis (PCA), the representation of trio's size, correlation analysis and variance analysis (ANOVA) were performed by STATISTICA 7 (Dell software 2004) to analyze the experimental data obtained.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Sequenced batch bioreactors treatment

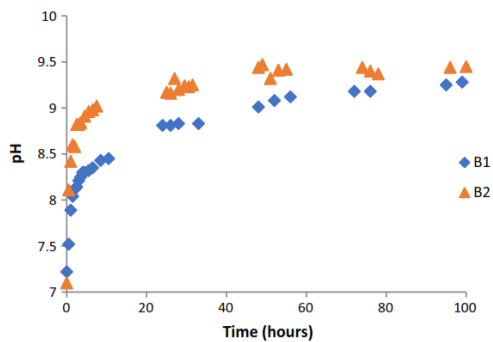
After analyzing the landfill leachate, we obtained the results that are summarized in the Table 1.

In this study, the approximate initial leachate pH value was 7. With the digestion of organic matter, the leachate pH increased rapidly and reached 9–9.5 in B1 and B2 after 5 days (Fig. 2). The recorded pH values favor the development of neutrophilic microorganisms during aerobic biological treatment. The biological treatment has the advantage of accelerating the process of degradation of organic matter by the self-purification process (Wang et al., 2010).

We recorded the same pattern of pH evolution for B1 and B2 during the treatment period. At the end of the 5th day of treatment, alkalization of the medium was achieved. However, the pH change in B2 is greater than that one observed in B1. This is probably due to the development of the indigenous microorganisms of the leachate, which are denser in B2 compared to B1, and that are

**Table 1**  
Physico-chemical characteristics of Staoueli's landfill leachate.

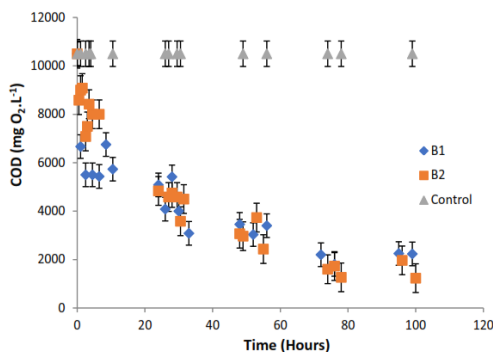
Parameter	Unit	Sample	Algerian rejection standards JORA, 2006	Algerian water treatment plant standards JORA, 2009
pH	–	7.10	6.5–8.5	5.5–8.5
Conductivity	mS	8.7	–	–
SM	mg·L <sup>-1</sup>	7370	40	600
VM	mg·L <sup>-1</sup>	2770	–	–
COD	–	10,500	130	1000
BOD <sub>5</sub>	–	5500	40	500
BOD <sub>5</sub> /COD	–	0.52	–	–
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	mg·L <sup>-1</sup>	311.51	–	–
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	mg·L <sup>-1</sup>	Trace	–	–
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mg·L <sup>-1</sup>	36.27	–	–
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	mg·L <sup>-1</sup>	19.02	15	–
Fe	mg·L <sup>-1</sup>	0.27	5	1
Cd	mg·L <sup>-1</sup>	–	–	–
Cr	mg·L <sup>-1</sup>	–	–	–
Cu	mg·L <sup>-1</sup>	0.014	1	1
Pb	mg·L <sup>-1</sup>	0.005	0.75	0.5
Zn	mg·L <sup>-1</sup>	0.017	–	–



**Fig. 2.** Evolution of leachate pH by batch bioreactor treatment ( $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH} = 7.5$ , Conductivity:  $8.7\text{ mS}$ ).

already accustomed to the different substrates present in the leachate. This induces an acceleration of the organic matter's degradation. The neutral and alkaline environments could have eliminated the inhibition that the acidic leachate had on the neutrophilic microorganisms and then accelerated the stabilization of the leachate (He et al., 2005).

Concerning the COD pollution parameter, leachate is highly loaded with an initial concentration of  $10,500\text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ . Fig. 3



**Fig. 3.** kinetics of abatement of leachate COD during bioreactor treatment of B1 and B2 ( $T = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH} = 7.5$ , Conductivity:  $8.7\text{ mS}$ ).

shows a significant decrease after 24 h of treatment to reach  $4000\text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$ . Note that the plateau was reached after 72 h of treatment (3 days) with concentrations of 1833 for B1 and  $1300\text{ mgO}_2\cdot\text{L}^{-1}$  for B2.

The  $\text{BOD}_5 = 5500$  and the  $\text{BOD}_5/\text{COD}$  ratio, which indicates the biodegradability of the leachate, is equal to 0.52. This means that even though the leachate's pollutant load is high, it is still highly biodegradable. This could explain why the biological COD removal was fast (Rodier (1996); De Morais and Zamora (2005)).

Indeed, other authors noted similarly high COD removal rates when treating leachates with a  $\text{BOD}_5/\text{COD}$  higher than 4. Zaloum and Abbott (1997) treated a landfill leachate with a  $\text{BOD}_5/\text{COD}$  that varied between 0.4 and 0.5 in a SBR and achieved COD removals that ranged from 82.1% to 94.6%.

Robinson and Maris (1983) treated a domestic waste leachate with a  $\text{BOD}_5/\text{COD} = 0.6$  using an aerobic biological process in continuous flow with a 10 days retention time and reached a COD removal of 91%. The slow COD removal speed can be attributed to the low temperature at which the experiments were done ( $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).

Conversely, authors who treated leachates and waste waters with lower  $\text{BOD}_5/\text{COD}$  ratios obtained lower COD removal rates. Baumgarten and Seyfried (1996) treated a less biodegradable landfill leachate ( $\text{BOD}_5/\text{COD} = 0.33$ ) and only reached 59% removal of organic pollutants.

When we look at the results obtained for the COD removal versus time in a previous work (Chemlal et al., 2014) in which Oued Smar leachate, with a  $\text{BOD}_5/\text{COD}$  ratio close to 0.04, was treated, the total COD removal was low, this could be caused by the presence of highly refractory substances and slowly biodegradable organic materials. A stabilized leachate is very complex; it is characterized by a low  $\text{BOD}_5/\text{COD}$  ratio (lower than 0.1) (De Morais and Zamora (2005)). This complexity is due to the fulvic acid and humic acid of high molecular weight ( $>10\text{ kD}$ ) predominance. This can be explained by the operating of the Oued Smar landfill ( $>30$  years). According to Poblete et al. (2011), stabilized leachate has a very low  $\text{BOD}_5/\text{COD}$  ratio due to the recalcitrant organic matter presence and then it increases the treatment difficulty.

According to Chemlal et al. (2014), Oued smar landfill leachate was pretreated by photocatalytic oxydation to make it more biodegradable, and then combined to a biologic treatment with activated sludge. The COD abatement ratio after treatment by bioreactor ranging from 60 to 77%. The COD reduction ratios almost similar results were obtained by Del Moro et al. (2013), Cassano et al. (2011) and Xie et al. (2010)

In the course of our treatment we obtained a yield of 83 and 88% for bioreactors B1 and B2 respectively. No COD reduction was

Please cite this article in press as: Azzouz, L., et al. Membrane bioreactor performance in treating Algiers' landfill leachate from using indigenous bacteria and inoculating with activated sludge. Waste Management (2018), <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.02.003>

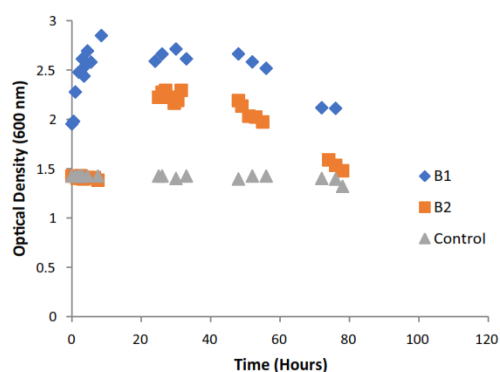


Fig. 4. Kinetics of growth of microorganisms during the treatment of bioreactors (B1 and B2).

observed in the control (leachate without stirring and without aeration). The microorganisms present in the control did not digest the organic matter, which means that the conditions mentioned above (stirring and aeration) are favorable to the development of the indigenous microorganisms of the landfill leachate. The high total COD abatement rates obtained may be explained by the fact that the sludge and the endogenous biomass used in each bioreactor degrade the organic matter present in the leachate. Homogenizing and stirring raw leachate can promote microbial growth and enhance microbial pollutant degradation activity (Warith, 2002; Benson et al., 2007).

The microorganism growth kinetics, during the treatment in each bioreactor, is presented in Fig. 4. In the bioreactor B1, the microorganism growth started directly at the growth phase, from

OD600 = 2 (initial biomass concentration was over 300 ufv/ml), without going through the latent phase. The microorganisms from the sludge are adapting rapidly to the substrates present in the leachate, this might be explained by the fact that the sludge underwent an acclimation period prior to inoculation. During the stationary phase from 20 to 60 h of treatment, the COD abatement was significant (Fig. 3). The subsequent decline phase corresponds to cell death due to a decrease in substrate concentration.

However, the bioreactor B2 (raw leachate with aeration) shows a growth curve which begins with a latent phase of 10 h; this is explained by a time of adaptation of the microorganisms present in the leachate to the new environmental conditions (Aeration and stirring) or by an enhancement of the substrate mass transfer from the bulk to the cells due to stirring. In a manner similar to B1, the COD abatement was more consistent in the stationary phase of growth, which varied from 20 to 60 h of treatment.

The growth curve of B1 has a higher density than the one of B2. This is explained by a much richer microbial population in activated sludge to which leachate indigenous microorganisms is added. While B2 only contains the latter. The high concentrations of recalcitrant organic matter as well as heavy metals, chlorinated organic and inorganic salts in the concentrated leachate, might inhibit microbial activity (Calabrò et al., 2010).

Fig. 5 shows a considerable decrease in the concentrations of metal cations: iron and zinc, by bioreactor (B2) with yields of 62 and 52% respectively and 14 and 35% with bioreactor B1. We found that the yield is much better with the bioreactor B2 compared to the bioreactor B1. This phenomenon can be explained by the assimilation, by the microorganisms, of these metal ions as oligonutrients for their metabolisms. Indeed, iron and zinc are most abundant trace metal and necessary for the survival of all living organisms (Blindauer, 2015; Porcheron et al., 2013). Moreover it is a well-known fact that these metal ions are used as cofactors (Andreini et al., 2008).

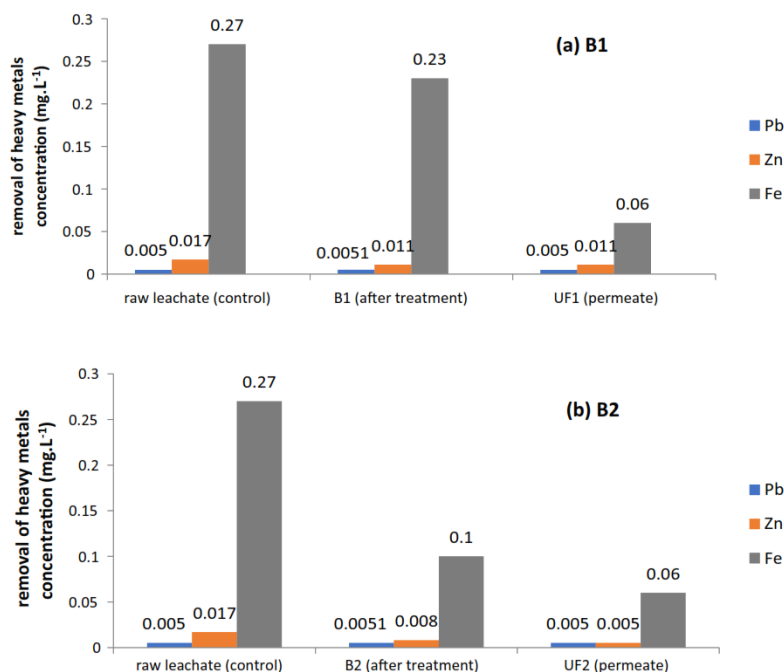


Fig. 5. Impact of sequenced batch bioreactor treatment and ultrafiltration on heavy metal removal. (a) raw leachate + activated sludge B1 (b) raw leachate only B2.

Please cite this article in press as: Azzouz, L., et al. Membrane bioreactor performance in treating Algiers' landfill leachate from using indigenous bacteria and inoculating with activated sludge. Waste Management (2018), <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.02.003>

3.2. Coupling treatments SBR 1 and 2 to ultrafiltration membrane process

We optimized the transmembrane pressure of the ultrafiltration process before performing the coupling. The coupling of the bioreactor treatment to the ultrafiltration is carried out with a permeability of  $29 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ bar}^{-1}$ , a transmembrane pressure of 1.5 bar for B2, and a permeability of  $26 \text{ L h}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ bar}^{-1}$ , with a transmembrane pressure of 1.7 bar for B1.

Coupling results showed an increase in COD abatement efficiency of 94 and 95%, respectively, for B1UF and B2UF. We note that a large biodegradable part of the COD was eliminated during the biological process, the rest being retained by the membrane during the treatment by ultrafiltration (UF) (Table 2).

Concerning heavy metals, we observed that the lead content varied throughout the treatment.

The removal of iron and zinc was 35% and 78% respectively for B1UF and 71% and 74% for B2UF. Thus, there is a better elimination of zinc in the case of B2UF. The results of the variation of the permeability of ultrafiltration membrane showed a reduction in the pore radius ( $r = 16 \text{ \AA}$ ). This is due to the adsorption of molecules at the surface of the membrane and within the pores themselves.

The balance sheet of Staoueli's landfill leachate COD during the different treatment steps is summarized in a histogram form (Fig. 6). The observation shows that bioreactor treatments have reduced to 83 and 88% the initial COD of B1 and B2 respectively. Coupling both bioreactors B1 and B2 with Ultrafiltration membrane allowed a similar elimination of COD and Suspended matters up to 95% and 100% for BRM2, and up to 93% and 100% for BRM1, respectively.

We notice that, after the treatment, the leachate's COD is within the Algerian water treatment plant standards for both bioreactors when coupled to ultrafiltration (B1UF and B2UF). Indeed the final

values of the COD are  $525 \text{ mgO}_2\text{-L}^{-1}$  for B1UF and  $735 \text{ mgO}_2\text{-L}^{-1}$  for B2UF, and are inferior to  $1000 \text{ mgO}_2\text{-L}^{-1}$ .

Moreover, Fig. 7 shows the variation of permeability before and after ultrafiltration for both B1UF and B2UF. The permeability

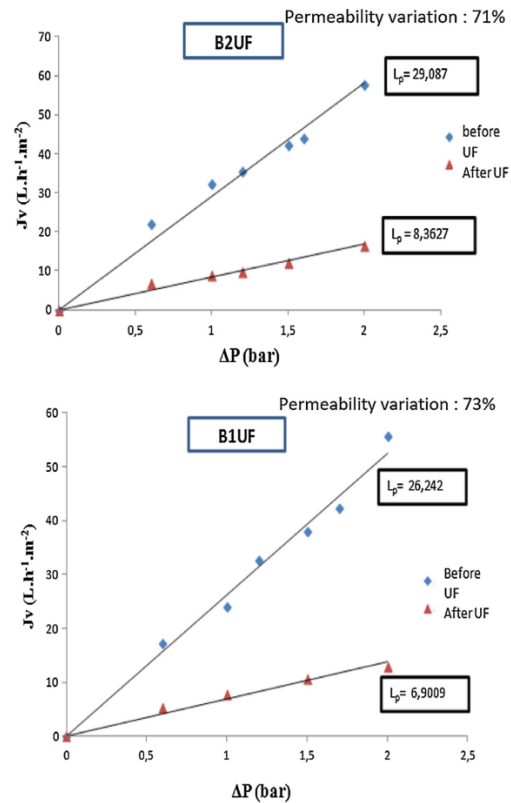


Fig. 7. Permeability to water, before and after ultrafiltration membrane treatment of B1 and B2.

Table 2  
Parameter yield study after coupling to ultrafiltration membrane treatment.

Parameters	Performance %	
	B1 UF	B2 UF
COD	94	95
Suspended Matters	100	100
Pb	0	0
Zn	35	71
Fe	78	74

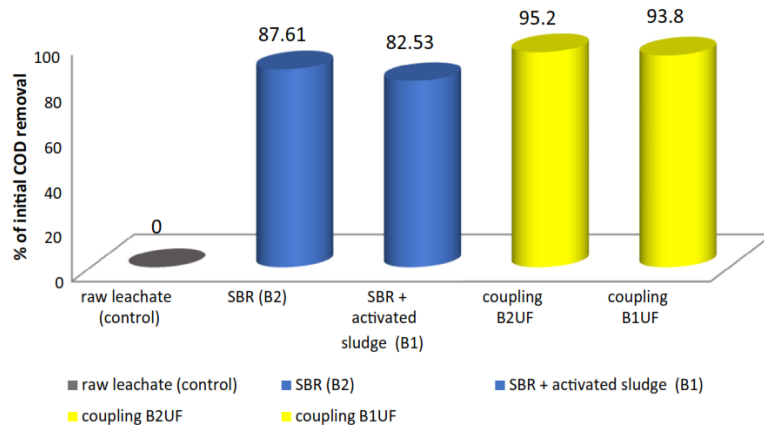


Fig. 6. Summary of the efficiency of COD abatement rates for the different experiments.

Please cite this article in press as: Azzouz, L., et al. Membrane bioreactor performance in treating Algiers' landfill leachate from using indigenous bacteria and inoculating with activated sludge. Waste Management (2018), <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.02.003>

variations are of 71% and 73% for B2UF and B1UF respectively, which is not a significant difference.

3.3. Statistical study

The principal component analysis shows the existence of a correlation between the studied parameters during the landfill leachate treatment by bioreactors B1 and B2, in the figure below (Fig. 8).

The factor F1 defines the following parameters: COD, time, pH and OD 600B2. Principal component analysis shows a negative correlation between COD and pH in both B1 and B2 bioreactors. The decreasing of COD increases the pH of B1 and B2 during the aerobic treatment.

Microbial density of B2 is negatively correlated with COD B2. During the treatment, multiplication of microorganisms in B2

bioreactor is high which, decreased the COD concentration. We don't notice the same case in B1 bioreactor.

ANOVA test shows a significant difference between B1 and B2 bioreactors for OD 600 (F = 166.65, P = 0.00 < 0.05).

Fig. 9 shows a correlation between two factors (bacterial density and time) that act simultaneously on the reduction of COD during the treatment of the leachate by the bioreactor.

In bioreactor B2 (Fig. 9a), the removal of COD is related to the density of the indigenous bacteria that increases due to aeration during the experiment time. In bioreactor B1 (Fig. 9b) the bacterial density is higher, it consists of the indigenous bacteria and the activated sludge that was added to the bioreactor.

The degradation of organic matter in landfills is mainly involved in a microbial degradation. The organic matter degradation and microbial metabolism can be evaluated by the first-order kinetics, as shown in the following Eq. (3) (Hamoda et al., 1998).

$$C_t = C_0 e^{-kt} \tag{3}$$

where  $C_0$  is the initial organic matter content.  $C_t$  is the organic matter content at  $t$ ,  $t$  is time,  $k$  is the degradation constant.

Tridimensional analysis shows (Fig. 9) the existence of significant interactions during the treatment, between COD and microbial density in B2 bioreactor compared to B1 bioreactor.

4. Conclusion

The raw leachate of Staoueli landfill contains a high organic load in terms of COD. Other chemical parameters are recorded in excessive levels such as suspended solids. The microbial charge found in the raw leachate is very high. According to this study, we found that the landfill leachate treatment in a SBR containing 100% of raw leachate with aeration, showed a reduction in pollution load; similar to the SBR containing 90% leachate and 10% activated sludge. The results showed a similar COD removal efficiency in B2 (95%) and B1 (93%). Coupling the bioreactors with an ultrafiltration process allowed a notable reduction in zinc and iron concentrations: (Fe) 35% and (Zn) 78% for B1UF, and (Fe) 71% and (Zn) 74% for B2UF with no noticeable membrane fouling.

These experiments have shown the ability of the landfill leachate indigenous micro-organism to degrade the organic matter. Inoculating landfill leachate with activated sludge isn't necessary for an efficient treatment. This method used by landfill leachate

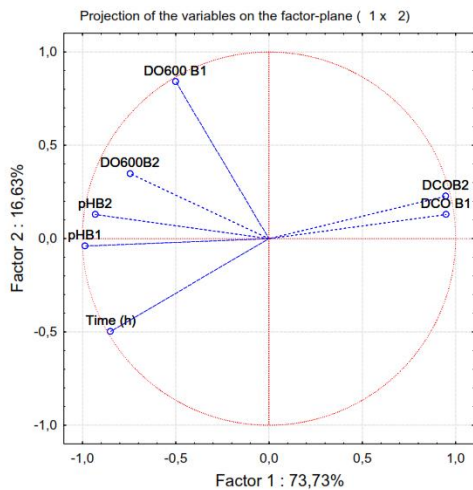


Fig. 8. Ordination of physico-chemical parameters (COD, pH) and density bacterial  $DO_{600}$  from the values obtained during Bioreactor treatment of landfill leachate (B1, B2) along two main axes after principal component analysis.

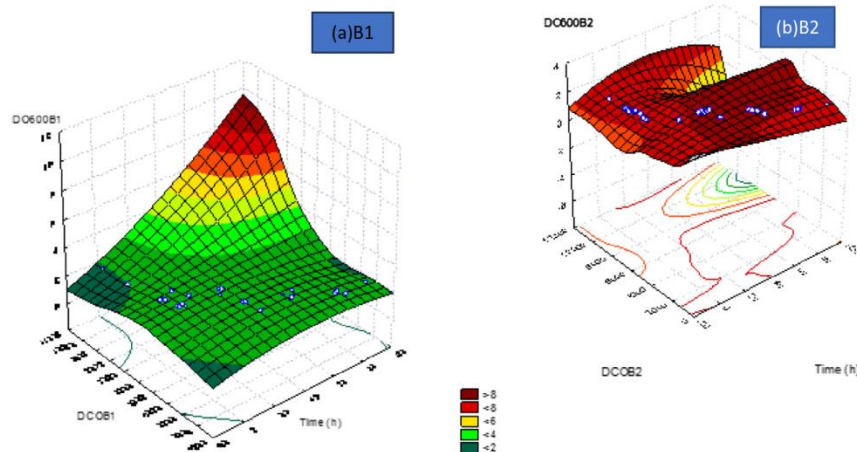


Fig. 9. Tridimensional interaction between COD, OD 600 during biological treatment of landfill leachate by B1(a) and B2(b).

Please cite this article in press as: Azzouz, L., et al. Membrane bioreactor performance in treating Algiers' landfill leachate from using indigenous bacteria and inoculating with activated sludge. Waste Management (2018), <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.02.003>

treatment plants in Algiers only increases suspended matters, transportation and treatment costs for the overproduced sludge which are solid wastes that need to be managed. Aerobic conditions and ambient temperature are favorable conditions which led to the degradation of organic matter in the raw leachate by its endogenous microorganisms.

## References

- AFNOR. 1983. Collection of French Standards: Water, Assay Methods (Original french title: Recueil de normes françaises: Eau, Méthode d'essai), second ed., Paris, France.
- Andreini, C., Bertini, I., Cavallaro, G., Holliday, G.L., Thornton, J.M., 2008. Metal ions in biological catalysis: from enzyme databases to general principles. *J. Biol. Inorgan. Chem.* 13 (8), 1205–1218. <https://doi.org/10.1007/s00775-008-0404-5>.
- APHA, American Public Health Association, 2014. Standard Methods for Analysis of Waste and Wastewater. DC, USA, Washington.
- Benson, C.H., Barlaz, M.A., Lane, D.T., Rawe, J.M., 2007. Practice review of five bioreactor/recirculation landfills. *Waste Manage.* 27, 13–29. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.04.005>.
- Baumgarten, G., Seyfried, C.F., 1996. Experiences and new developments in biological pretreatment and physical post treatment of landfill leachate. *Wat. Sci. Tech.* 34, 445–453.
- Blindauer, C.A., 2015. Advances in the molecular understanding of biological zinc transport. *Chem. Commun.* 51 (22), 4544–4563. <https://doi.org/10.1039/C4CC10174J>.
- Calabrò, P.S., Sbaiffoni, S., Orsi, S., Gentili, E., Meoni, C., 2010. The landfill reinjection of concentrated leachate: findings from a monitoring study at an Italian site. *J. Hazard. Mater.* 181, 962–968. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.05.107>.
- Cassano, D., Zapata, A., Brunetti, G., Del Moro, G., Di Iaconi, C., Oller, I., Malato, S., Mascolo, G., 2011. Comparison of several combined/integrated biological-AOPs setups for the treatment of municipal landfill leachate: minimization of operating costs and effluent toxicity. *Chem. Eng. J.* 172, 250–257. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.05.098>.
- Chemlal, R., Azzouz, L., Kernani, R., Abdi, N., Lounici, H., Grib, H., Mameri, N., 2014. Combination of advanced oxidation and biological processes for landfill leachate treatment. *Ecol. Eng.* 73, 281–289. [doi:10.1016/j.ecoleng.2014.09.043](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.09.043).
- Chu, Y., Zhang, Q., Xu, D., 2008. Advanced treatment of landfill leachate from a sequencing batch reactor (SBR) by electrochemical oxidation process. *J. Environ. Eng. Sci.* 7, 627–633. <https://doi.org/10.1139/S08-035>.
- De Morais, J.L., Zamora, P.P., 2005. Use of advanced oxidation processes to improve the biodegradability of mature landfill leachates. *J. Hazard. Mater.* 123, 181–186. <https://doi.org/10.1007/s40710-014-0016-8>.
- Del Moro, G., Mancini, A., Mascolo, G., Di Iaconi, C., 2013. Comparison of UV/H2O2 based AOP as an end treatment or integrated with biological degradation for treating landfill leachates. *Chem. Eng. J.* 218, 133–137. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.12.086>.
- Francois, V., Feuillade, G., Matejka, G., Lagier, T., Skhiri, N., 2007. Leachate recirculation effects on waste degradation: study on column. *Waste Manage.* 27, 1259–1272. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2006.07.028>.
- Hamoda, M.F., Abu Qdais, H.A., Newham, J., 1998. Evaluation of municipal solid waste composting kinetics. *Resour. Conserv. Recycl.* 23, 209–223. [https://doi.org/10.1016/S0921-3449\(98\)00021-4](https://doi.org/10.1016/S0921-3449(98)00021-4).
- He, R., Shen, D., Wang, J., He, Y., Zhu, Y., 2005. Biological degradation of MSW in a methanogenic reactor using treated leachate recirculation. *Process Biochem.* 40, 3660–3666. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.02.022>.
- Robinson, H.D., Maris, P.J., 1983. The treatment of leachates from domestic wastes in landfills aerobic biological treatment of a medium-strength leachate. *Water Res.* 17 (11), 153–154.
- ISO 7218: 1996 (F). Microbiology of food and animal feeding stuffs—General requirements and guidance for microbiological examinations Microbiologie des aliments—Exigences générales et recommandations.
- Kang, K.H., Shin, H.S., Park, H., 2002. Characterization of humic substances present in landfill leachates with different landfill ages and its implications. *Water Res.* 36, 4023–4032. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00114-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00114-8).
- Lema, J.M., Mendez, R., Blazquez, R., 1988. Characteristics of landfill leachates and alternatives for their treatment: a review. *Water Air Soil Pollut.* 40, 223–250. <https://doi.org/10.1007/BF00163730>.
- Liu, J.Y., Xu, D.M., Zhao, Y.C., Huang, R.H., Zhou, H.Y., Zhang, J., 2001. Natural reduction of ammonia-N in leachate of large-scale landfill. *J. Environ. Sci. (China)* 21, 323–327.
- Poblete, R., Otal, E., Vilches, L.F., Vale, J., Fernandez-Pereira, C., 2011. Photocatalytic degradation of humic acids and landfill leachate using a solid industrial by-product containing TiO<sub>2</sub> and Fe. *Appl. Catal. B: Environ.* 102, 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2010.11.039>.
- Porcheron, G., Garennaux, A., Proulx, J., Sabri, M., Dozois, C.M., 2013. Iron, copper, zinc, and manganese transport and regulation in pathogenic Enterobacteria: correlations between strains, site of infection and the relative importance of the different metal transport systems for virulence. *Front Cell Infect Microbiol.* 3, 90. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00090>.
- Renou, S., Givaudan, J.G., Poulain, S., Dirassouyan, F., Moulin, P., 2008. Landfill leachate treatment: review and opportunity. *J. Hazard. Mater.* 150, 168–193. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.077>.
- Rodier, J., 1996. Analysis of natural water, residual water, sea water. (Original French title: « L'analyse de l'eau naturelle, eaux résiduaires, eau de mer », eighth ed., Dunod, Paris.
- Talalaj, A.I., 2015. Mineral and organic compounds in leachate from landfill with concentrate recirculation. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22, 2622–2633. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3533-0>.
- Wang, L.K., Ivanov, V., Tay, J.-H., Hung, Y.-T., 2010. Handbook of Environmental Engineering, vol. 10: Environmental Biotechnology. doi:10.1007/978-1-60327-140-0\_1.
- Wang, Z.P., Zhang, Z., Lin, Y.J., Deng, N.S., Tao, T., Zhuo, K., 2002. Landfill leachate treatment by a coagulation- photooxidation process. *J. Hazardous Mater.* 95, 153–159. [https://doi.org/10.1016/S0304-3894\(02\)00116-4](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(02)00116-4).
- Warith, M., 2002. Bioreactor landfills: experimental and field results. *Waste Manage.* 22, 7–17. [https://doi.org/10.1016/S0956-053X\(01\)00014-9](https://doi.org/10.1016/S0956-053X(01)00014-9).
- Yahiat Souhila, 2010. Treatment of endocrinian perturbators using an integrated process. Doctorat thesis. Rennes University (Original title in french: Traitement des perturbateurs endocriniens par un procédé intégré, thèse de doctorat université de Rennes.France)
- Xie, B., Lv, Z., Lv, B.Y., Gu, Y.X., 2010. Treatment of mature landfill leachate by biofilters and Fenton oxidation. *Waste Manage.* 30, 2108–2112. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2010.06.018>.
- Zaloum, R., Abbott, M., 1997. Anaerobic pretreatment improves single sequencing batch reactor treatment of landfill leachates. *Water. Sci. Tech.* 35, 207–214.
- Zhang, Q.Q., Tian, B.H., Zhang, X., Ghula, A., Fang, C.R., He, R., 2013. Investigation on characteristics of leachate and concentrated leachate in three landfill leachate treatment plants. *Waste Manage.* 33, 2277–2286. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.07.021>.