UNIVERSITÉ DU BURUNDI
GRENIER DU SAVOIR DU BURUNDI
Dépôt institutionnel officiel
https://repository.ub.edu.bi

Traitement tertiaire par phytoremediation des eaux issues des stations d’épuration et valorisation énergétique des macrophytes (eicchornia crassipeset pistia stratiotes) en biogaz

NTAKIYIRUTA, Pierre

2021-10-01
Universite du Burundi
https://repository.ub.edu.bi/handle/123456789/26

Document téléchargé depuis le **Grenier du Savoir du Burundi** — https://repository.ub.edu.bi

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

Union -Discipline -Travail

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

REPUBLIQUE DU BURUNDI

Unité -Travail-Progrès

MINISTERE DE L'EDUCATION NATIONALE

Institut National Polytechnique
Félix HOUPHOUËT-BOIGNY

EDP
École Doctorale Polytechnique

Université du Burundi

Ecole Doctorale de l'Université du Burundi

N ° d'ordre :

THESE DE DOCTORAT UNIQUE EN COTUTELLE

Présentée pour l'obtention du grade de Docteur de l'Institut National Polytechnique Félix HOUPHOUËT-BOIGNY de YAMOUSSOUKRO et de l'Université du Burundi

Mention **:** Génie Chimique

Spécialité : Génie des Procédés et de l'Environnement

TRAITEMENT TERTIAIRE PAR PHYTOREMEDIATION DES EAUX ISSUES DES STATIONS D'EPURATION ET VALORISATION ENERGETIQUE DES MACROPHYTES (*EICCHORNIA CRASSIPES* ET *PISTIA STRATIOTES*) EN BIOGAZ

Présentée par

Pierre NTAKIYIRUTA
Maître en Sciences

Soutenue publiquement le **01/10/2021** devant le Jury composé de **:**

M. Yaya SORO	Professeur	INP-HB	**Président**
M. Kopoin ADOUBY	Professeur	INP-HB	**Directeur**
M. Gaspard NTAKIMAZI	Professeur	U.B	**Directeur**
M. Jean-Marie Pétémanagnan OUATTARA	Maitre de Conférences	UNA	**Rapporteur**
Mme Vestine NTAKARUTIMANA	Professeur	U.B	**Rapporteur**
M. Patrick Allali DROGUI	Professeur	INRS Canada	**Examinateur**
M. Benjamin Kouassi YAO	Professeur	INP-HB	**Invité**

DEDICACE

A ma chère épouse, Josélyne

A mes enfants, Aggie, Lily, Landry et Laure

A mon regretté père, Marcien

A ma mère, Godelieve

A toute ma famille

AVANT-PROPOS

Cette thèse a été réalisée dans le cadre d'une convention de cotutelle entre l'Université du Burundi et l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB) de Yamoussoukro en Côte d'Ivoire, grâce à une bourse du Gouvernement Français, à travers l'Ambassade de France au Burundi.

Elle a bénéficié des contributions financières lors de la mise en place du pilote expérimental de la part de l'Ambassade de France au Burundi, du Projet VLIR -UOS Belgique / Université du Burundi et du Laboratoire de Chimie, Sciences de la Terre et Génie de l'Environnement (LACHIST) / Université du Burundi.

Elle a également bénéficié du financement de l'Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur (ARES) de la Belgique lors de la collecte des échantillons sur le terrain.

Ce projet de thèse se rapporte sur le traitement tertiaire par lagunage à macrophytes des eaux de rejet des stations d'épuration des eaux usées d'INP-HB Centre en Côte d'Ivoire et de Buterere au Burundi d'une part ; et sur la valorisation énergétique par co-digestion anaérobie de la biomasse végétale utilisée en biogaz d'autre part.

En effet, la station de Buterere au Burundi n'élimine pas convenablement les nutriments et cela pourrait entraîner des conséquences néfastes (notamment l'eutrophisation) au lac Tanganyika, son affluent, situé à 2 Km de celle-ci.

Les conditions climatiques étant presque similaire dans les deux pays (climat tropical humide) ; les conditions optimales de la phytoremédiation ont été déterminée sur les échantillons d'eaux usées prélevés à la sortie de la station d'épuration d'INP-HB Centre en Côte d'Ivoire et puis ces dernières ont été appliquées pour traiter les eaux de rejet de la station d'épuration de Buterere au Burundi.

Afin d'éviter la recontamination des eaux traitées par les macrophytes mortes, ces derniers ont été utilisés pour produire du biogaz par le processus de co-digestion anaérobie.

REMERCIEMENTS

Cette thèse a été réalisée au Laboratoire des Procédés Industriels, de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN) de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB) de Yamoussoukro en COTE D'IVOIRE et au Laboratoire de Chimie, Sciences de la Terre et Génie de l'Environnement (LACHIST) de l'Université du Burundi (U.B) au BURUNDI.

Mes vifs remerciements s'adressent au Professeur Benjamin Kouassi YAO, Directeur du LAPISEN et de l'Ecole Doctorale Polytechnique (EDP) de l'INP-HB de m'avoir accueilli au sein de LAPISEN.

Je tiens à remercier le Professeur Libérata NIZIGIYIMANA, responsable du LACHIST de m'avoir accueilli au sein de LACHIST.

Mes vives reconnaissances s'adressent au Feu Professeur Kopoin ADOUBY, Ex-Directeur de l'Unité de Recherche « Groupe des Procédés de l'Environnement » du LAPISEN et Ex-Directeur de cette thèse ; pour la confiance qu'il a témoignée en vers moi en acceptant de co-diriger cette thèse. La pertinence de ses conseils méthodologiques, sa disponibilité et sa rigueur scientifique ont permis l'aboutissement de ce travail.

Au Professeur Gaspard NTAKIMAZI, enseignant chercheur à l'Université du Burundi, Directeur de cette thèse. Je vous adresse mes sincères remerciements pour avoir accepté de co-diriger mes travaux de recherche depuis le Master jusqu'au Doctorat. Vos conseils scientifiques et surtout votre disponibilité ont contribué largement pour l'aboutissement de ce travail.

Au Professeur David NAHIMANA, Doyen de la Faculté des Sciences, Université du Burundi. Vos suggestions et surtout votre disponibilité ont contribué largement pour l'aboutissement de ce travail.

Mes vifs remerciements vont à l'endroit du Docteur Bi Gouessé Henri BRITON, Maitre-assistant à l'INP-HB. Votre disponibilité au laboratoire, vos critiques scientifiques pertinentes, vos encouragements, vos orientations et surtout de m'avoir pris comme votre petit frère.

Mes remerciements s'adressent également au Dr Jean -Marie Pétémanagnan OUATTARA, Maitre de conférences de l'Université Nagui Abrogoua (UNA) et au Professeur Vestine NTAKARUTIMANA de Université du Burundi (U.B), Rapporteurs de cette thèse. Je vous remercie des remarques pertinentes que vous avez apportées à cette thèse pendant son instruction et d'avoir autorisé sa soutenance.

Je remercie le Président et les Membres du Jury qui, malgré leurs multiples occupations, ont accepté de juger ce manuscrit. Vos critiques et suggestions contribueront sans doute à

l'amélioration de sa qualité. Au Docteur Gaston NSAVYIMANA, Chargé de cours à l'U.B, je vous remercie pour votre contribution pour la mise œuvre expérimentale et technique ainsi que la mobilisation des moyens financiers pendant cette thèse.

Au Docteur Doudjo SORO, Maître de Conférences INP-HB, Directeur des Etudes à l'EDP, qui m'a accueilli dès mon 1er jour à Yamoussoukro et qui a toujours répondu favorablement à ma demande lorsque j'avais besoin de lui.

A tous les enseignants de la Faculté des Sciences de l'U.B, pour leurs soutiens durant mon séjour au Burundi.

Je remercie mes chers Docteurs, Alain Stéphane ASSEMIAN, Arsène L.I. NOUGBOU, Sylvie Affoué, Didier FANOU, Soumahoro GUEU, Esaïe APPIAH, Koutouan Désiré Martial ABRO qui ont toujours répondu favorablement à ma demande lorsque j'avais besoin d'eux.

A Gisèle STANGER et N'Gouan AMOATA respectivement Secrétaire et Comptable de l'EDP qui ont toujours répondu favorablement à ma demande lorsque j'avais besoin d'eux pour mes dossiers administratifs.

J'exprime ma profonde gratitude à mes camarades doctorants de l'Ecole Doctorale Polytechnique de l'INP-HB, pour le temps que nous avons passé ensemble. Je vais essayer de citer N'Zebo Sylvestre YAPO, Paul Henri ALLE, Kouakou Eric ADOU, Dan Nixon NONH, Judicaël ANO, Sié Alain HIEN, Horo KONE, Kabagnan KONE, Parfait KOUASSI, Souley A. Aziz MAMANE, Judie Aissi VALIDINA, Brahima SOUMAHORO, Ferdinand SANOU, Ouattara YAYA, Ali SANOU, Kouakou Serges KOUADIO et à tous ceux qui n'ont pas pu être cités. Merci à vous pour ces moments d'ambiances et de difficultés que nous avons passés ensemble durant ces années de thèse. Je remercie tous les stagiaires qui m'ont aidé lors de mes analyses effectuées au laboratoire et surtout Monsieur Régis KEZIMANA pour son soutien durant mes travaux expérimentaux qui ont été réalisés au Burundi. A tous les techniciens des laboratoires LAPISEN et LACHIST pour leurs soutiens durant les périodes des manipulations. Je peux citer Oblé, Georges et Thierry pour LAPISEN et Jean Marie, Julie, Raphael, Rémy, Christine et Ernest pour LACHIST.

Mes remerciements vont également à l'endroit du personnel des Services Techniques Municipaux (SETEMU) pour les facilités qu'ils nous ont accordées lors de la collecte des échantillons à la Station d'Epuration des eaux usées de BUTERERE. A la famille du Docteur Gilbert HABONIMANA, je vous remercie pour votre soutien financier durant les travaux de cette thèse.

A l'Université du Burundi, pour m'avoir accordé des congés de formation pour des raisons d'études.

RESUME

Les stations d'épuration des eaux usées n'éliminent pas convenablement les nutriments à cause de l'absence de traitement tertiaire. Cela favorise le phénomène d'eutrophisation des cours d'eaux douces réceptrices des eaux de rejet de ces stations d'épurations. C'est dans ce contexte que cette thèse intitulée « Traitement tertiaire par phytoremédiation des eaux issues des stations d'épuration et valorisation énergétique des macrophytes en biogaz » a été menée. Pour mener cette étude, quatre (4) objectifs de recherche ont été abordés : (1) étudier l'influence des facteurs tels que le temps de séjour, la densité des plantes et la charge initiale en phosphore sur la performance épuratoire des eaux usées par *E. crassipes et P. stratiotes*; (2) comparer l'influence du traitement en modes continu et discontinu sur l'élimination des nutriments contenus dans les eaux usées domestiques ; (3) évaluer l'influence de la phytoépuration sur les métabolites secondaires des macrophytes et (4) déterminer le pouvoir énergétique d'*E. crassipes et P. stratiotes* après leur cycle d'utilisation en phytoremédiation. Les différents paramètres suivis au cours de cette étude ont été analysés à l'aide des méthodes classiques standards. Le traitement en mode batch des eaux de rejet de la STEP de l'INP-HB Centre en Côte d'Ivoire ont permis de montrer que le temps de séjour, la densité des plantes et la charge initiale en phosphore exercent une influence sur l'élimination de PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ et DCO. L'optimisation des modèles mathématiques obtenus à l'aide du Plan Factoriel Complet indique pour chaque cas que les conditions optimales correspondent à un temps de séjour de 30 jours, une densité de plantes de 60 pieds/m^2 et une concentration initiale de PO_4^{3-} de 10 mg/L. Ces dernières ont été appliquées pour traiter en mode continu l'effluent de la STEP de Buterere (Burundi). Les essais ont été suivis tous les deux (2) jours à la sortie de chaque tank en évaluant les concentrations des paramètres jusqu'à atteindre une efficacité de 86,0 %, 57,4 %, 46,2 %, 57,41 %, et 74,36 % respectivement pour NH_4^+, NO_3^-, PO_4^{3-} , DCO, DBO. Le screening phytochimique réalisés sur les extraits de *E. crassipes* et *P. stratiotes* a révélé la présence des composés phénoliques, des tannins et des flavoniques dans les deux macrophytes collectés au niveau deux pays. La valorisation énergétique de *E. crassipes* et *P. stratiotes* a été réalisée par co-digestion anaérobie d'un mélange des deux (2) plantes en présence de la boue de la STEP servant d'inoculum. Les résultats issus de cette étude correspondent à 13 797 mL de biogaz produits pour une période de 25 jours. La teneur en méthane de ce dernier est de 70,5%.

Mots Clés : Co-digestion anaérobie, eaux usées, *Eichhornia crassipes*, lagunage, mode batch, mode continu, nutriments, optimisation, phytoremédiation, *Pistia stratiotes*

ABSTRACT

Wastewater treatment plants do not adequately remove nutrients because of the lack of tertiary treatment. This favors the phenomenon of eutrophication of the freshwater streams receiving the discharge water from these treatment plants. It is in this context that this thesis entitled "Tertiary treatment by phytoremediation of water from wastewater treatment plants and energy recovery of macrophytes in biogas" was conducted. To conduct this study, four (4) research objectives were addressed: (1) to study the influence of factors such as residence time, plant density and initial phosphorus load on the purification performance of wastewater by E. crassipes and P. stratiotes; (2) to compare the influence of continuous and batch treatment on the removal of nutrients from domestic wastewater; (3) to evaluate the influence of phytoremediation on the secondary metabolites of macrophytes; and (4) to determine the energetic power of E. crassipes and P. stratiotes after their use in phytoremediation cycle The different parameters monitored during this study were analyzed using standard classical methods. The batch mode treatment of wastewater from the INP-HB Centre WWTP in Côte d'Ivoire showed that residence time, plant density and initial phosphorus load influence the removal of PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ and COD. Optimization of the mathematical models obtained using the Full Factorial Design indicates for each case that the optimal conditions correspond to a residence time of 30 days, a plant density of 60 ft/m^2 and an initial PO_4^{3-} concentration of 10 mg/L. These were applied to treat the effluent of the Buterere WWTP (Burundi) in continuous mode. The tests were monitored every two (2) days at the outlet of each tank by evaluating the concentrations of the parameters until reaching an efficiency of 86.08%, 57.37%, 46.21%, 57.41%, and 74.36% respectively for NH_4^+, NO_3^-, PO_4^{3-}, COD, BOD. The phytochemical screening performed on the extracts of *Eicchornia crassipes* and *Pistia stratiotes* revealed the presence of phenolic compounds, tannins and flavonics in the two macrophytes collected in the two countries. The energetic valorization of E. crassipes and P. stratiotes was carried out by anaerobic co-digestion of a mixture of the two (2) plants in the presence of the WWTP sludge serving as inoculum. The results of this study correspond to 13,797 mL of biogas produced for a period of 25 days. The methane content of the biogas is 70.53%.

Keywords: Anaerobic co-digestion, wastewater, *Eichhornia crassipes*, lagooning, batch mode, continuous mode, nutrients, optimization, phytoremediation, *Pistia stratiotes.*

TABLE DES MATIERES

DEDICACE…… I

AVANT-PROPOS II

REMERCIEMENTS III

RESUME……. V

ABSTRACT……. VI

LISTE DES FIGURES XIII

LISTE DES TABLEAUX XVI

LISTE DES SIGLES, SYMBOLES ET ABREVIATIONS XVIII

INTRODUCTION GENERALE 1

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE 6

CHAPITRE I. ETAT DES LIEUX DE L'ASSAINISSEMENT COLLECTIF DANS LES ZONES D'ETUDE ET GENERALITES SUR LES POLLUTIONS AZOTÉES ET PHOSPHATEES DES EAUX 8

I.1. Etat des lieux de l'assainissement collectif dans les zones d'étude 8

I.1.1. Situation géographique, démographique et hydrographique de la ville de Bujumbura 8

I.1.2. Système d'assainissement collectif à Bujumbura 9

I.1.3. Description de la station d'épuration de Buterere 11

I.1.4. Situation géographique, démographique et hydrographique de la ville de Yamoussoukro 15

I.1.5. Description de la station d'Epuration de l'INP-HB Centre 18

I.2. GENERALITES SUR LES POLLUTIONS AZOTEES ET PHOSPHATEES DES EAUX 18

I.2.1. Généralités sur la pollution azotée 18

I.2.1.1. Origines et formes de l'azote dans les eaux usées 19

I.2.1.2. Cycle de l'azote 21

I.2.1. 3. Mécanismes contribuant à l'élimination de l'azote dans les eaux usées 22

I.2.2. Généralités sur la pollution phosphatée 25

I.2.2.1. Elément phosphore du milieu naturel 25

I.2.2.2. Origines et formes du phosphore dans les eaux usées..... 25
I.2.2.3. Elément phosphore dans les eaux usées..... 27
I.2.2.4. Utilisations du phosphore..... 28
I.2.2.5. Rôle du phosphore dans l'eutrophisation des milieux aquatiques 28
I.2.2.6. Elimination du phosphore dans les eaux usées 30
CHAPITRE II. PHYTOEPURATION DES EAUX USEES ET ETDUDE DES METABOLITES SECONDAIRES DES VÉGÉTAUX..... 33
II.1. Phytoépuration des eaux usées 33
II. 1 .1. Principe de la phytoépuration 33
II.1.2. Mécanismes d'absorption des polluants par les plantes..... 33
II.1.3. Avantages et inconvénients de la phytoépuration..... 37
II. 1.3.1. Avantages de la phytoépuration..... 37
II.1.3.2. Inconvénients de la phytoépuration 37
II.1. 3. Lagunage naturel ou lagunage à microphytes..... 38
II.1. 4. Lagunage à macrophytes flottants 40
II.1.5. Marais artificiels 41
II.2. ETUDE DES METABOLITES SECONDAIRES DES VEGETAUX 42
II.2.1. Classification des métabolites secondaires 42
II.2.1. 1. Terpénoïdes 42
II.2.1.2. Composés phénoliques 43
II.2.1.3. Alcaloïdes..... 47
II.2.2. Mécanismes de défense des plantes contre les agresseurs..... 48
II.3. MACROPHYTES SELECTIONNEES POUR LE TRAITEMENT DE L'EAU. 49
II.3.1. *Pistia Stratiotes (L.)*..... 50
II.3.2. *Eicchornia crassipes* (Mart.Solms) 52
CHAPITRE III. VALORISATION ENERGETIQUE DES MACROPHYTES PAR DIGESTION ANAEROBIE 56
III.1. Processus de digestion anaérobie 56

III.2. Etapes de la digestion anaérobie 56
III. 3. Facteurs influençant la digestion anaérobie 59
III.4. Différents types de digesteurs 63
III.5. Valorisation énergétique de *E. crassipes* et *P. stratiotes.* 64
CHAPITRE IV. MODELISATION ET OPTIMISATION PAR LA METHODE DES PLANS D'EXPERIENCES 66
IV.1. Vocabulaire de base des plans d'expériences 66
IV.1.1. Définition d'une réponse (Y) 67
IV.1.2. Définition des facteurs (X) 67
IV.1.3. Domaine expérimental 68
IV.1. 4. Notion d'espace expérimental 68
IV.1.5. Notion de modélisation mathématique 69
IV.2. Notion d'interaction 69
IV.3. Matrice d'expériences 70
IV.4. Plan d'expérimentation 70
IV.5. Principe des plans d'expériences 70
IV.6. Criblage des facteurs 71
IV.7. Etude de quelques plans d'expériences 71
IV.7 .1. Plans de degré 1 : Plans factoriels complets 71
IV.7.2. Plan Factoriels Fractionnaires 72
IV.7 .3. Plans du second degré : Plans composites 72
IV.8. Logiciels pour les plans d'expériences 73
DEUXIEME PARTIE : APPROCHE METHODOLOGIQUE 70
CHAPITRE V. MATERIEL ET DISPOSITIFS EXPERIMENTAUX 73
V.1. Matériel 73
V.1.1. Matériel végétal 73
V.1. 2. Eaux usées 73
V.2. Dispositifs expérimentaux 73

V.2.1. Dispositif expérimental pour la détermination des conditions optimales de la phytoremédiation 73
V.2.2. Pilote expérimental pour le traitement des eaux usées en mode semi-continu 73
V.2.3. Dispositif pour la production du biogaz par co-digestion anaérobie d'*E. crassipes* et de *P. stratiotes* 75
CHAPITRES VI. METHODOLOGIE 76
VI.1. Appareillage 76
VI.2. Détermination des conditions optimales de phytoremédiation 76
VI. 3. Caractérisation des eaux 79
VI.3.1. pH et matières en suspension 79
VI.3.2. Dosage des phosphates 79
VI.3.3. Dosage des Nitrates 80
VI.3.4. Dosages des ions Ammoniums 81
VI.3.5. Détermination de la DCO et de la DBO_5 81
VI.4. Modélisation statistique de la phytoremédiation 81
VI.5. Application des conditions optimales pour le traitement en modes semi-continus des eaux usées de la STEP de Buterere au Burundi 83
VI.5.1. Traitement en mode continu 83
VI.5.2. Traitement en mode discontinu 84
VI.6. Identification et caractérisation des métabolites secondaires 84
VI.6.1. Identification des métabolites secondaires 84
VI.6.2. Dosage des métabolites secondaires 87
VI.7. Caractérisation des substrats utilisés pour la co-digestion anaérobie 88
VI.7.1. Détermination de la teneur en matière sèche 88
VI.7.2. Détermination de la matière organique 89
VI.7.3. Protocole expérimental de digestion anaérobie 89
TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION 92

CHAPITRES VII. PHYTOREMEDIATION DES EAUX USEES DOMESTIQUES PAR *E. CRASSIPES* ET *P. STRATIOTES*..... 93
VII .1. Détermination des conditions optimales de la phytoremédiation..... 93
VII.1.1. Développement et validation du modèle de régression..... 93
VII.1.2. ANOVA des modèles de régression..... 98
VII. 1.3. Contribution de chaque facteur aux différentes réponses..... 100
VII.1.4. Interactions des facteurs sur les taux d'élimination de la pollution..... 101
VII.1.5. Optimisation multi-réponse et comparaison des résultats avec les travaux antérieurs..... 104
VII.1. 6.Comparaison des résultats de cette étude aux normes de rejets..... 106
VII.1.7. Cinétique d'élimination de PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ et DCO..... 107
VII.2. Influence du traitement par phytoremédiation en mode continu..... 110
VII.2.1. Caractéristiques de l'effluent alimentant le dispositif expérimental..... 110
VII.2.2. Evolution des paramètres de pollution..... 111
VII.2.3. Rendements d'élimination des nutriments..... 117
VII .3. Influence du traitement par phytoremédiation en mode discontinu..... 119
VII.3.1. Evolution des paramètres de pollution..... 119
VII.3.2. Rendements d'élimination des nutriments..... 125
VII.3.3. Comparaison des résultats de cette étude avec d'autres travaux réalisés en mode discontinu..... 126
CHAPITRE. VIII. COMPOSITION CHIMIQUE DES MACROPHYTES AVANT ET APRES PHYTOREMEDIATION..... 129
VIII.1. Composition élémentaire de *P. stratiotes* et *E. crassipes*..... 129
VIII.2. Métabolites secondaires..... 132
VIII.2.1. Identification des métabolites secondaires..... 132
VIII.2.2. Quantification des métabolites secondaires..... 133
CHAPITRE IX. VALORISATION ENERGETIQUE *D'EICHHORNIA CRASSIPES* ET *PISTIA STRATIOTES* PAR METHANISATION..... 135

IX.1. Caractérisations des substrats 135
IX.2. Evolution de certains paramètres dans les digesteurs durant la co-digestion anaérobie 135
IX.3. Cinétique de production du biogaz 139
IX.4. Cinétique de production du méthane 142
IX.5. Estimation de la quantité d'énergie produite 143
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES 146
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 150
ANNEXES…… 172

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Zones à assainissement collectif et non collectif en ville de Bujumbura..... 10

Figure 2 : Schéma d'illustration de la station d'épuration (STEP) de Buterere 11

Figure 3 : Photographie de la station d'épuration (STEP) de Buterere..... 12

Figure 4 : Localisation des lacs artificiels de la Ville de Yamoussoukro..... 17

Figure 5 : Schéma du cycle d'azote 22

Figure 6: Domaines de prédominance des orthophosphates en fonction du pH 28

Figure 7: Schéma du cycle du phosphore 30

Figure 8 : Processus mis en œuvre par les plantes lors de la phytoremédiation 34

Figure 9 : Dispositif de rhizofiltration pour accéder aux contaminants en profondeur à Pointe-Saint Charles..... 35

Figure 10 : Principe de la phytoextraction des polluants 36

Figure 11 : Principe de la phytovolatilisation des éléments traces métalliques 37

Figure 12: Mécanismes biologiques dans un procédé de lagunage 39

Figure 13 : Structure de l'Isoprène 43

Figure 14: Structures de base des composés phénoliques 44

Figure 15 : Importance des composes phénoliques dans la vie de la plante 45

Figure 16 : Structures de bases de flavonoïdes 46

Figure 17 : Structure des tannins condensés 46

Figure 18 : Structures des tannins hydrolysables 47

Figure 19 : Structure de quelques alcaloïdes 48

Figure 20 : Photographie de *Pistia stratiotes* 50

Figure 21 : Photographie d'*Eichhornia crassipes* 53

Figure 22 : Différentes applications d'*Eichhornia crassipes* 54

Figure 23 : Schéma récapitulatif d'étapes de la méthanisation 58

Figure 24 : Equivalents énergétiques du méthane 59

Figure 25 : Efficience de la digestion anaérobie selon la température..... 60

Figure 26 : Vocabulaire pour les plans d'expériences 66

Figure 27 : Domaine expérimental d'un plan d'expériences à 2 nivaux 69

Figure 28 : Schéma de l'approche conceptuelle de la méthodologie de l'étude 72

Figure 29 : Schéma du pilote expérimental de la phytoremédiation en mode continu. 74

Figure 30: Montage expérimental de production du biogaz par digestion anaérobie 75

Figure 31 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des phosphates (PO_4^{3-})..... 80

Figure 32 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des nitrates (NO_3^-) 80

Figure 33 : Images photographiques des extraits liquides après extraction 85

Figure 34 : Corrélation entre les réponses expérimentales et prédites de PO_4^{3-} (a), NO_3^-(b), NH_4^+ (c) et de la DCO (d) en utilisant *E. crassipes.* 96

Figure 35 : Corrélation entre les réponses expérimentales et prédites de PO_4^{3-} (a), NO_3^-(b), NH_4^+ (c) et DCO (d) en utilisant *P. stratiotes*..... 97

Figure 36 : Diagrammes de Pareto sur la contribution des facteurs à la phytoremédiation : *E. crassipes* (a) et *P. stratiotes* (b)..... 100

Figure 37: Diagrammes d'interaction des facteurs X_1X_3 : *E. crassipes* (Y1(a) et Y4(c)) et *P. stratiotes* (Y1′(b) et Y4′(d) 102

Figure 38 : Diagramme d'interaction des facteurs X_2X_3 : *E. crassipes* (Y3(a)) et *P. stratiotes* (Y3′(b)) 104

Figure 39 : Croissance d'*E. crassipes* (a) et *P. stratiotes* (b) dans des conditions optimales de phytoremédiation. 105

Figure 40 : Cinétique d'élimination de PO_4^{3-} (a), NO_3^- (b), NH_4^+ (c) et DCO (d) dans les conditions optimales par *E. crassipes* et *P. stratiotes* 108

Figure 41 : Cinétique de réduction de PO_4^{3-} dans le dispositif expérimental..... 112

Figure 42 : Cinétique de réduction de NH_4^+ dans le dispositif expérimental. 112

Figure 43 : Cinétique de réduction de NO_3^- dans le dispositif expérimental..... 113

Figure 44: Cinétique de réduction des Chlorophylles A(a), B(b) et (C) dans le dispositif expérimental. 115

Figure 45 : Cinétique de réduction de la DBO_5 dans le dispositif expérimental..... 116

Figure 46 : Cinétique de réduction de la DCO dans le dispositif expérimental..... 116

Figure 47 : Cinétique de PO_4^{3-} dans les effluents traités pendant le traitement en mode discontinu . 120

Figure 48 : Cinétique de NH_4^+ dans les effluents traités pendant le traitement en mode discontinu . 120

Figure 49 : Cinétique de NO_3^- dans les effluents traités pendant le traitement en mode discontinu .. 121

Figure 50 : Cinétique de la DCO dans les effluents traités pendant le traitement en mode discontinu 122

Figure 51 : Cinétique de la DBO_5 dans les effluents traités pendant le traitement en mode discontinu 123

Figure 52 : Cinétique d'élimination de la Chlorophylle A(a), B(b) et (C)..... 124

Figure 53 : Composition en macroéléments d'*E. crassipes* et *P. stratiotes* du Burundi avant (a) et après (b) et de la Côte d'Ivoire avant (c) et après (d) phytoépuration. 130

Figure 54 : Composition en microéléments d'*E. crassipes* et *P. stratiotes* du Burundi avant (a) et après (b) et de la Côte d'Ivoire avant (c) et après (d) phytoépuration. 131

Figure 55: Composition en éléments traces métalliques macroéléments d'*E. crassipes* et *P. stratiotes* du Burundi avant (a) et après (b) et de la Côte d'Ivoire avant (c) et après (d) phytoépuration. 132

Figure 56 : Comparaison de la composition des macrophytes en métabolites secondaires de la Côte d'Ivoire et du Burundi..... 134

Figure 57 : Evolution du pH en fonction du temps dans les digesteurs 137

Figure 58 : Evolution de NH_4^+ durant la période de digestion anaérobie. 138

Figure 59 : Evolution de la DCO durant la période de digestion anaérobie..... 139

Figure 60 : Evolution journalière de la production du biogaz pour *E. crassipes* (a), *P. stratiotes* (b) et leur mélange (c)..... 140

Figure 61 : Evolution de la production cumulée du biogaz pour *E. crassipes* (a), *P. stratiotes* (b) et leur mélange (c) dans le temps. 141

Figure 62 : Evolution de la production cumulée du méthane (CH_4) pour *E. crassipes* (a), *P. stratiotes* (b) et leur mélange (c) dans le temps..... 142

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques géométriques des bassins de la STEP de Buterere (Niyongabo, 2006)... 14

Tableau 2 : Comparaison de la qualité des effluents traités par la STEP Buterere aux valeurs limites des rejets des eaux usées 15

Tableau 3 : Estimation de la population de la ville de Yamoussoukro à l'horizon 2050..... 17

Tableau 4 : Caractéristiques de l'effluent à la sortie de la STEP de l'INP-HB Centre. 18

Tableau 5: Classification botanique de *Pistia stratiotes* 50

Tableau 6 : Classification botanique de *E. crassipes* 53

Tableau 7 : Données de la littérature sur la production du biogaz avec *E. crassipes et P. stratiotes* .. 65

Tableau 8: Domaine expérimental de la phytoremédiation des échantillons d'eaux usées 77

Tableau 9 : Matrice d'expériences et plans d'expérimentation..... 78

Tableau 10 : Composition du mélange des digesteurs au cours de la co-digestion 91

Tableau 11 : Résultats du Plan Factoriel Complet dans l'expérimentation avec *E. Crassipes*..... 93

Tableau 12 : Résultats du Plan Factoriel Complet dans l'expérimentation avec *P. stratiotes* 94

Tableau 13 : Récapitulatif des coefficients moyens, principaux et d'interactions..... 94

Tableau 14 : Paramètres statistiques des modèles de régression 97

Tableau 15 : ANOVA concernant la modélisation du PFC adapté à la phytoremédiation des eaux usées 99

Tableau 16: Désirabilité individuelle (di) et globale (D) correspondant aux conditions expérimentales utilisant *E. crassipes* et *P. stratiotes* 105

Tableau 17 : Comparaison des caractéristiques des eaux traités aux normes des rejets 107

Tableau 18 : Caractéristiques des eaux d'alimentation du pilote expérimental comparées à celles de la STEP de Buterere et aux limites de rejet de l'OMS..... 110

Tableau 19 : Taux d'abattement des paramètres de pollution..... 118

Tableau 20 : Taux d'abattement des paramètres suivi au 31ème jour de traitement..... 126

Tableau 21 : Etude comparative des résultats cette étude avec ceux des travaux antérieurs 127

Tableau 22 : Métabolites secondaires présents dans les macrophytes étudiés..... 133

Tableau 23 : Caractéristiques des substrats utilisés pendant la co-digestion anaérobie d'*E. crassipes* et *P. stratiotes* 135

Tableau 24: Caractéristiques de quelques paramètres au début et à la fin des essais 136

Tableau 25 : Quantité cumulée et composition du biogaz produit..... 143

Tableau 26: Estimation de la quantité d'énergie produite pour chaque type de substrat par tonne et Par an 144

LISTE DES SIGLES, SYMBOLES ET ABREVIATIONS

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADP : Adénosine Diphosphate

AFNOR : Association Française de Normalisation

ALT : Alanine Aminotransférase

ANOVA : Analysis of Variance/analyse de variance

ARES : Académie de Recherche et d'Enseignement Supérieur

ARN : Acide Ribonucléique

ATP : Adénosine Triphosphate

BUN : Azote Uréique

C/N : Carbone/Azote

CK : Créatine Kinase

COD : Carbone organique Dissous

COT : Carbone Organique Total

CV : Coefficient de Variation

D.O **:** Densité Optique

DBO_5 : Demande Biochimique en Oxygène après 5 jours

DCO : Demande Chimique en Oxygène

E. crassipes : *Eichhornia crassipes*

E.H **:** Equivalent Habitant

FFD : Full Factorial Design

FPEH : Filtres Plantés à écoulement Horizontal

FPEV : Filtres Plantés à écoulement Vertical

FSL **:** Filtre à surface Libre

INP-HB : Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny

M.E. S : Matières en suspension

M.R.E : Méthodologie de Recherche Expérimentale

MS : Matière sèche

NEMR : New Efficient Method for Research and Optimisation Design/ Nouvelle Méthode efficace pour la recherche et la conception de l'Optimisation

Nm^3 : Normal mètre cube

NTK : Nitrogen Total Kjeldhal / Azote Total Kjeldhal

P. stratiotes : *Pistia stratiotes*

PCB : Biphényls Polychlorés

PED : Pays en développement

PFC **:** Plan Factoriel Complet

PPT : Polyphénols Totaux

REGIDESO **:** Régie de Production et de Distribution d'eau et d'Electricité

SETEMU : Services Techniques Municipaux

STEP : Station d'Epuration

TSH : Temps de Séjour Hydraulique

U. B : Université du Burundi

UNA : Université Nangui Abrogoua

W : Watt

WWTP **:** WasteWater Treatment Plant/ Station de traitement des eaux usées

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

L'eau constitue un élément indispensable à tout être vivant car sans elle la vie est pratiquement impossible. Cependant**,** cette précieuse source vitale est altérée par les activités humaines qu'elles soient domestiques, industrielles, artisanales ou agricoles, etc. (Adjagodo *et al*., 2016). En effet, après usage, l'eau dite « usée » doit être traitée avant de rejoindre le milieu récepteur constitué généralement des eaux de surface (lac, rivière, fleuve, etc.). Sans traitement, ces eaux usées contribuent à la réduction de la capacité auto-épuratrice des cours d'eau qui dépend essentiellement de l'oxygène dissous. En outre, lorsque le rejet excède la capacité auto-épuratrice de ces eaux de surface, la dégradation de l'environnement s'accentue à la suite de l'apparition des zones anoxies caractérisées par un appauvrissement sévère en oxygène. Cela entraine directement la mort de la flore aquatique (Effebi *et al*., 2017) ou stimule la formation des barrières infranchissables empêchant par exemple la migration des poissons (Zaviska, 2011). A cela, l'enrichissement en phosphore et en nitrate favorise le phénomène d'eutrophisation par la prolifération des macrophytes et microphytes nuisibles à la faune aquatique rendant difficile la baignade et la navigation (Pinay *et al*., 2017). L'utilisation de ces eaux de surface comme source d'eau brute pour la production d'eau potable nécessite de gros investissement car le taux de traitement devient important par une forte consommation des réactifs.

Pour protéger les milieux récepteurs et les cadres de vie de la population, les stations d'épuration collectives (type boues activées, lits bactériens, lagunages) constituent souvent un des procédés efficaces à moindre coûts et les mieux adaptés surtout pour les pays à climat tropical (Koné, 2002). Toutefois, un des défis à relever pour ce système de traitement est l'élimination des nutriments qui sont responsables de l'eutrophisation des écosystèmes aquatiques (Mama *et al*., 2012; Wang *et al*., 2016; Gboko *et al*., 2019).

Au Burundi, la seule station d'épuration (STEP) de type lagunage naturel qui existe est celle de Buterere située dans la zone urbaine de Buterere de la ville Bujumbura, sa capitale économique. Elle ne permet pas d'éliminer convenablement les nutriments à cause de l'absence de traitement tertiaire (Nsavyimana, 2015; Buhungu *et al*., 2018). En outre, cette station qui avait été conçue en 1994 pour traiter 40 000 m^3/j (Nsavyimana, 2015), doit désormais en traiter plus à cause de la croissance démographique estimée à 2,4% (Anonyme 1, 2021). En effet, l'étude de la qualité des eaux de la rivière Kinyankonge qui est un affluant du lac Tanganyika et aussi, exutoire direct des rejets de la station d'épuration (STEP) de Buterere, a montré que cette rivière est très riche en nutriments (Buhungu *et al*., 2018).

Parmi les différentes approches physiques, chimiques et biologiques utilisées pour éliminer les nutriments des eaux usées, la phytoremédiation est considérée comme une technologie prometteuse et peu coûteuse par laquelle les plantes sont utilisées pour éliminer les contaminants de l'eau (Shah *et al*., 2015). En outre, cette technologie respectueuse de l'environnement favorise la biodiversité, en fournissant des habitats pour les oiseaux, et la consommation de CO_2 pendant la photosynthèse dans les bassins de traitement *(*Sukumaran *et al.,* 2013*;* Guittonny-Philippe *et al.,* 2015). En effet, ces plantes servent de support au développement des bactéries qui effectuent la purification des matières organiques en rendant disponibles les nutriments nécessaires à la croissance de la plante qui, à son tour, fournit l'oxygène pour la survie de ces bactéries hétérotrophes (Sun *et al*., 2019). En outre, ces macrophytes, à la fin de leur cycle d'utilisation pour la phytoremédiation, peuvent être utilisés pour produire du biogaz en raison de leur forte teneur en humidité, en lignine et en cellulose (Koyama *et al*., 2017). Selon Ribeiro *et al*. (2016), ce biogaz peut être utilisé pour produire de l'électricité ou comme carburant pour les véhicules. Cette source d'énergie pourrait être une opportunité pour les pays en développement (Fernandes *et al.,* 2019). Tous les avantages de cette technologie incitent de nombreux chercheurs à se concentrer sur le traitement des eaux usées par phytoremédiation pour en tirer d'énormes profits.

De ce fait, le choix des plantes appropriées pour chaque type d'eaux usées est un facteur clé dans la mise en œuvre de la phytoremédiation. Ces plantes doivent répondre aux exigences de croissance rapide et leur capacité à accumuler les nutriments en fonction des racines immergées dans les eaux de surface (Gupta et Mahindrakar, 2012). Parmi les plantes pouvant répondre à ces critères, la jacinthe d'eau (*Eichhornia crassipes*) du groupe des macrophytes flottants, a une grande capacité d'accumulation des nutriments et un bon système racinaire pour favoriser une croissance prolifique (Gupta et Mahindrakar, 2012). De même, Ismail *et al*. (2015) et Kouamé *et al*. (2016) ont souligné que la laitue d'eau (*Pistia stratiotes*) a également une forte capacité de croissance dans un environnement riche en nutriments. La reproduction rapide et la croissance accélérée de ces deux (2) macrophytes sont étroitement liées à l'assimilation des nutriments dans un milieu aqueux. En effet, des travaux antérieurs ont rapporté que *P. stratiotes* double sa densité en cinq (5) jours (Fonkou *et al*., 2010) contre 10 jours pour *E. crassipes* (Gupta et Mahindrakar, 2012). En outre, de nombreux facteurs tels que la température, le pH et le rayonnement solaire peuvent influencer la croissance et les performances optimales de ces plantes. A cette fin, *E. crassipes* et *P. stratiotes* ne tolèrent pas les basses températures car le gel tue les feuilles extérieures de la plante (Sharma et Reddy, 2004). Leur croissance optimale se situe à une température comprise entre 25 et 30 °C (Sale *et*

al., 1985). C'est dans ce contexte que de nombreux auteurs ont souligné l'efficacité de ces deux (2) macrophytes flottants pour traiter les eaux usées dans les régions tropicales (Gupta et Mahindrakar, 2012 ; Mahunon *et al*., 2018). Plusieurs auteurs ont rapporté l'efficacité de ces deux (2) macrophytes flottants pour éliminer les contaminants organiques, les nutriments et les métaux lourds dans les eaux usées domestiques ou municipales (Gupta et Mahindrakar, 2012; Qin *et al*., 2016). Néanmoins, la plupart de ces travaux ont été consacrés au traitement d'effluents bruts fortement chargés en matière organique et en métaux lourds. De ces travaux, l'on peut citer ceux de Manjunath et Hina (2016) pour le traitement des eaux usées de l'industrie textile, de Mahunon *et al*. (2018) pour le traitement des eaux usées de porcherie, de Ugya *et al*. (2019) pour le traitement des eaux usées des activités de teinture et de Parwin *et al*. (2019) pour le traitement des eaux usées de cuisine. Les résultats de ces différentes études précitées ont montré que ces plantes aquatiques éliminent les composés organiques et les métaux lourds ainsi que les différentes formes des composés phosphatés et azotés.

Par ailleurs, la plupart des études de phytoremédiation ont été menées en utilisant la méthode classique qui consiste à varier l'un des paramètres en maintenant les autres fixes. Cette méthode classique d'expérimentation nécessite de nombreux tests qui prennent du temps. Elle ignore les effets d'interaction entre les paramètres et conduit à une faible efficacité (Hu *et al*., 2007 ; Ismail *et al*., 2015 ; Rezania *et al*., 2016). Quelques auteurs se sont intéressés à faire des études comparatives sur le rendement d'enlèvement des polluants dans les eaux usées en utilisant *E. crassipes* et *P. stratiotes* (Gupta et Mahindrakar., 2012; Qin *et al*., 2016 ; Kouamé *et al*., 2016 ; Zimmels *et al.,* 2019*).* Les résultats issus de ces travaux conduisent à des conclusions contradictoires car pendant que certains trouvent que l'efficacité d'élimination de l'azote et de phosphore est attribuée respectivement à *E. crassipes* et *P. stratiotes* (Qin *et al.,* 2016 ; Kouamé *et al*., 2016), d'autres rapportent le contraire (Gupta et Mahindrakar, 2012 ; Zimmels *et al., 2019*). En outre, ces études ont été réalisées, pour la plupart dans des dispositifs d'expérimentation en mode batch. Ainsi, ces résultats seraient difficiles à appliquer sur des systèmes de traitement continu réalisé dans des conditions réelles sur le terrain.

Les limites de cette méthode classique peuvent être surmontées en appliquant la méthodologie de recherche expérimentale qui implique une conception statistique d'expériences où tous les facteurs ou paramètres varient ensemble au cours d'une série d'essais (Ano *et al*., 2019). Parmi les plans d'expériences, le Plan Factoriel Complet (PFC) utilise certains outils statistiques qui facilitent leur mise en œuvre pour générer des modèles mathématiques capables de prédire les résultats ayant une corrélation avec les réponses expérimentales (Vera *et al*., 2014). Pour cette méthode, les rendements d'élimination sont bien meilleurs si le choix des

facteurs constituant les variables de fonctionnement est bien fait. Ainsi, l'étude comparative entre *E. crassipes* et *P. stratiotes* en phytoremédiation dans des conditions optimales, qui n'a pas encore été rapportée sur les effluents domestiques issus des stations à boues activées, peut être envisagée. Cette étude vise à réduire efficacement les nutriments et la pollution organique en utilisant *E. crassipes* et *P. stratiotes* dans des conditions optimales définies par le temps de séjour, la densité de plantes et la concentration initiale de phosphore. En effet, le phosphore étant l'un des principaux éléments nutritifs nécessaires à une croissance harmonieuse des plantes, une variation de sa concentration pourrait avoir une influence sur l'efficacité de la phytoremédiation (Conley *et al*., 2009 ; Qin *et al*., 2016). Cette efficacité a été évaluée en suivant la réduction de la Demande Chimique en Oxygène (DCO), de l'azote ammoniacal ($N\text{-}NH_4^+$), du nitrate (NO_3^-) et du phosphore (PO_4^{3-}) selon les différentes conditions expérimentales définies par le PFC. Les essais pour obtenir l'efficacité dans les conditions optimales ont été réalisés dans des bacs en polyéthylène selon le PFC pour traiter les eaux de rejet de la STEP de l'INP-HB Centre (Yamoussoukro, Côte d'Ivoire). Ces conditions optimales ont été appliquées au cours de cette étude pour traiter à l'échelle pilote (dans des tanks) en mode semi-continu les eaux de rejet de la STEP de Buterere au Burundi.

Au meilleur des connaissances, peu d'études sur la phytoremédiation des eaux usées mettant en jeux l'action combinée d'*E. crassipes* et de *P. stratiotes* et fonctionnant sous climat tropical ont été menés. A cet effet, une hypothèse de recherche selon laquelle l'action combinée d'*E. crassipes* et *P. stratiotes* peut donner un rendement important d'élimination des nutriments dans un système de lagunage à macrophytes pour traiter les eaux de rejet du bassin facultatif de STEP de Buterere. De ce fait, le traitement tertiaire qui constituait le bassin de maturation de la STEP de Buterere serait substitué par les bassins à *E. crassipes* et *P. stratiotes*. Cela pourrait être possible si on tient compte des facteurs influençant le traitement en mode continu comme le temps de séjour hydraulique (TSH) pour obtenir un taux important d'élimination des polluants (Mara, 2003).

Un autre défi à relever est la gestion des déchets après leur cycle d'utilisation en phytoremédiation des eaux usées car ces plantes doivent être renouvelées après leur maturation afin d'eviter la recontamination des eaux usées traitées par après par la mort des plantes. Il serait donc intéressant de trouver des voies de valorisation de ces macrophytes en fin de cycle d'utilisation constituant ainsi des déchets en grande quantité. Plusieurs auteurs ont rapporté l'utilisation d'*E. crassipes* et *P. stratiotes* dans la production du biogaz par méthanisation (Almoustapha *et al*., 2009 ; Muthoni *et al*., 2015 ; Njogu *et al*., 2015 ; Pantawong *et al*., 2015 ; Adjahatode *et al*., 2016). Toutefois, la plupart de ces travaux ont été menés en utilisant qu'une

seule plante. La présente étude se propose de déterminer le rendement méthanogène d'un processus de co-digestion anaérobie d'*E. crassipes* et de *P. stratiotes* en présence de la boue biologique de la STEP servant d'inoculum.

De tout ce qui précède, cette thèse qui s'intitule : **« Traitement tertiaire par phytoremédiation des eaux issues des stations d'épuration et valorisation énergétique des macrophytes (*Eicchornia crassipes* et *Pistia stratiotes*) en biogaz »** a pour objectif général de traiter des effluents domestiques par *E. crassipes* et *P. stratiotes* et de valoriser la biomasse de *ces* deux (2) macrophytes en énergie. De cet objectif général, se dégagent quatre (4) objectifs spécifiques :

- déterminer les effets du temps de séjour, de la densité des plantes et de la charge initiale en phosphore sur la performance épuratoire d'*E. crassipes* et de *P. stratiotes* dans le traitement tertiaire eaux usées ;
- examiner l'influence du traitement en mode semi-continu sur l'élimination des nutriments dans les eaux usées domestiques ;
- évaluer l'influence de la phytoépuration sur les métabolites secondaires des macrophytes ;
- déterminer le pouvoir énergétique d'*E. crassipes* et de *P. stratiotes* après leurs utilisations en phytoremédiation.

❖ **Originalité de ce travail**

- Dans la littérature, Peu de travaux sur l'application des résultats de da la méthodologie de recherche expérimental sur des systèmes de traitement des eaux usées domestiques en mode continu réalisé dans des conditions réelles sur le terrain ont été menés ;
- La production d'énergie à partir de la co-digestion d'E. crassipes et de P. stratiotes après leur cycle d'utilisation en phytoremédiation constitue une valeur ajoutée en matière d'assainissement des eaux usées.

Cette thèse est structurée en trois (3) grandes parties. La première partie présente une revue de la littérature consacrée aux généralités sur les systèmes collectifs d'épuration des eaux usées, les pollutions azotées et phosphatées, la phytoépuration, quelques notions relatives aux métabolites secondaires des végétaux, aux plans d'expériences, et sur la digestion anaérobie. La deuxième partie présente le matériel et les méthodes ayant permis la réalisation de ce travail. La troisième partie est consacrée à la présentation et la discussion des résultats. Une conclusion générale et des recommandations vont sortir de nouvelles perspectives de recherche.

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. ETAT DES LIEUX DE L'ASSAINISSEMENT COLLECTIF DANS LES ZONES D'ETUDE ET GENERALITES SUR LES POLLUTIONS AZOTÉES ET PHOSPHATEES DES EAUX

I.1. Etat des lieux de l'assainissement collectif dans les zones d'étude

I.1.1. Situation géographique, démographique et hydrographique de la ville de Bujumbura

La ville de Bujumbura, capitale économique de la République du Burundi, est située à l'Ouest du pays et au bord du lac Tanganyika. Ce lac a une superficie de 32 800 km^2 est le deuxième lac plus profond du monde après le Baïkal (Brion *et al*., 2006). Il se situe au Nord de Kigoma, au Nord-Est de Baraka et à l'Est d'Uvira en République Démocratique du Congo (RDC). La ville de Bujumbura se situe à 3°22'32" de latitude Sud et 29°21'33" de longitude Est. Le climat de Bujumbura est de type tropical, caractérisé par un ensoleillement dominant toute l'année. Ces données physiques influencent la répartition spatiale de la pluviométrie dont les moyennes annuelles varient entre 800 et 1 000 mm/an (Sinarinzi , 2005) . Bujumbura, comme l'ensemble du pays connaît deux grandes saisons: une saison sèche qui dure quatre (4) mois (Juin à Septembre) et une saison pluvieuse, la plus longue qui s'étale sur neuf (9) mois, d'octobre à mai (Sinarinzi, 2005). L'altitude de la ville de Bujumbura est comprise entre 774 et 1 000 m (774 m correspondant au niveau du lac Tanganyika par rapport à celui de la mer), ce qui lui confère un niveau relativement bas par rapport à celui de l'ensemble du pays. Cette ville s'étend actuellement sur une superficie de 14 500 hectares. Elle est située à 1 200 km de l'Océan Indien, à 2 200 km de l'Océan Atlantique, à 3 800 km de la mer Méditerranée et à 3 500 km du Cap (Afrique du Sud) (Gahiro, 2011). Cela montre que le Burundi est un pays enclavé et éloigné de la mer.

Pour accéder à la mer à des fins d'importation ou d'exportation, le pays dispose de quatre (4) principales voies :

- la première (la plus utilisée) est une voie routière appelée corridor Nord : Burundi (Bujumbura)- Kigali (Rwanda)- Kampala (Ouganda)- Mombassa (Kenya) ;
- la deuxième est également un axe routier appelé Corridor Central : Bujumbura (Burundi)- Kobero (Burundi)- Dodoma (Tanzanie)- Dar-Es-Salaam (Tanzanie) ;
- la troisième voie, nommée corridor Est, est mixte "ferrée-maritime » : Burundi (Bujumbura)- Kigoma (Tanzanie) par le lac Tanganyika ; puis Tabora-Dar-Es-Salaam (Tanzanie) par rail ;

- la quatrième et dernière voie, est aussi mixte "maritime-terrestre", elle est nommée corridor Sud : Burundi (Bujumbura)- Mpulungu (Zambie) en passant par le lac Tanganyika ; puis Mozambique.

Partant de ce constat des corridors qui permettent au Burundi d'accéder à la mer, on peut dire que le lac Tanganyika joue un rôle économique et social important. Sa faune revêt une grande diversité d'espèce d'animaux (plus de 1 300 espèces) dont plus de 600 parmi eux sont des espèces endémiques (non rencontrés dans aucun autre lac du monde) (Vincens, 1993).

Le lac Tanganyika est, d'après Cohen *et al*. (2005), la deuxième réserve mondiale en eau douce et constitue par ailleurs une source importante en eau de consommation pour la majeure partie de la population de la ville de Bujumbura [plus de 90 % ; information qui a été communiquée par la Régie de production et de distribution d'eau et d'électricité (REGIDESO)]. Avec une superficie de 32 800 km^2, 1470 m de profondeur, 673 km de longueur, d'une largeur moyenne de 50 km, 1 838 km de périmètre et 18900 km^3 de volume (Cohen *et al.*, 2005), ce lac apporte un revenu important aux pays riverains (Burundi, République Démocratique Congo, Tanzanie et Zambie). La production annuelle en poissons est estimée entre 165 000 et 200 000 tonnes/an (Allison *et al*., 2000). De même, ce lac renforce les moyens d'échanges pour le transport des marchandises et des personnes. Cependant, compte tenu de son niveau d'altitude plus bas par rapport à celui des agglomérations érigées sur ses rives, le lac Tanganyika constitue le principal milieu récepteur des pollutions de toutes sortes générées dans ces agglomérations [Bujumbura (du côté du Burundi), Uvira, Kalemie et Moba (du côté de RD Congo), Kigoma et Kipili (du côté de la Tanzanie) et Mpulungu (du côté de la Zambie)]. Ces agglomérations abritent également une variété d'industries et d'activités qui génèrent des quantités énormes d'eaux usées. Ces eaux usées constituent donc un danger pour ce lac si elles ne sont pas traitées. Du côté de Bujumbura (Burundi), qui est concerné par cette étude, la population est actuellement estimée à 1 225 414 d'habitants avec une densité de 11 668 hab/km^2 et est répartie en trois (3) communes (Muha, Mukaza et Ntahangwa) composées de treize (13) zones (Buterere, Kinama, Cibitoke, Kamenge, Ngagara, Gihosha, Nyakabiga, Bwiza, Buyenzi, Rohero, Kinindo, Musaga et Kanyosha). Sur la base de cette donnée démographique, il est évident que les rejets d'eaux usées sont non négligeables.

I.1.2. Système d'assainissement collectif à Bujumbura

Dans la ville de Bujumbura, l'assainissement collectif concerne principalement le centre-ville. Dans cette localité, les eaux usées collectées sont acheminées par un réseau d'égout vers la

station d'épuration (STEP) de Buterere (Figure 1**)**. Sur treize zones, reparties actuellement en trois communes, seulement cinq (Ngagara, Buyenzi, Bwiza, Nyakabiga et Rohero) sont partiellement raccordées à la STEP de Buterere (Bigumandondera, 2014).

Par ailleurs, cette station d'épuration d'une superficie d'environ 64 hectares, avait été dimensionnée pour une charge nominale de 266 667 Equivalent-Habitants (EH), calculée sur la base du débit journalier maximal à traiter de 40 000 m^3/J et d'un volume de rejet par EH de 150 L/J (Niyongabo, 2006). Son exploitation date de l'année 1994 et le projet avait été réalisé dans le but de collecter, d'évacuer et de traiter toutes les eaux usées générées dans la zone du projet (Niyongabo, 2006). Les rivières qui traversent la ville de Bujumbura emportent généralement avec elles une pollution générée dans la ville, lorsqu'elle n'est pas traitée.

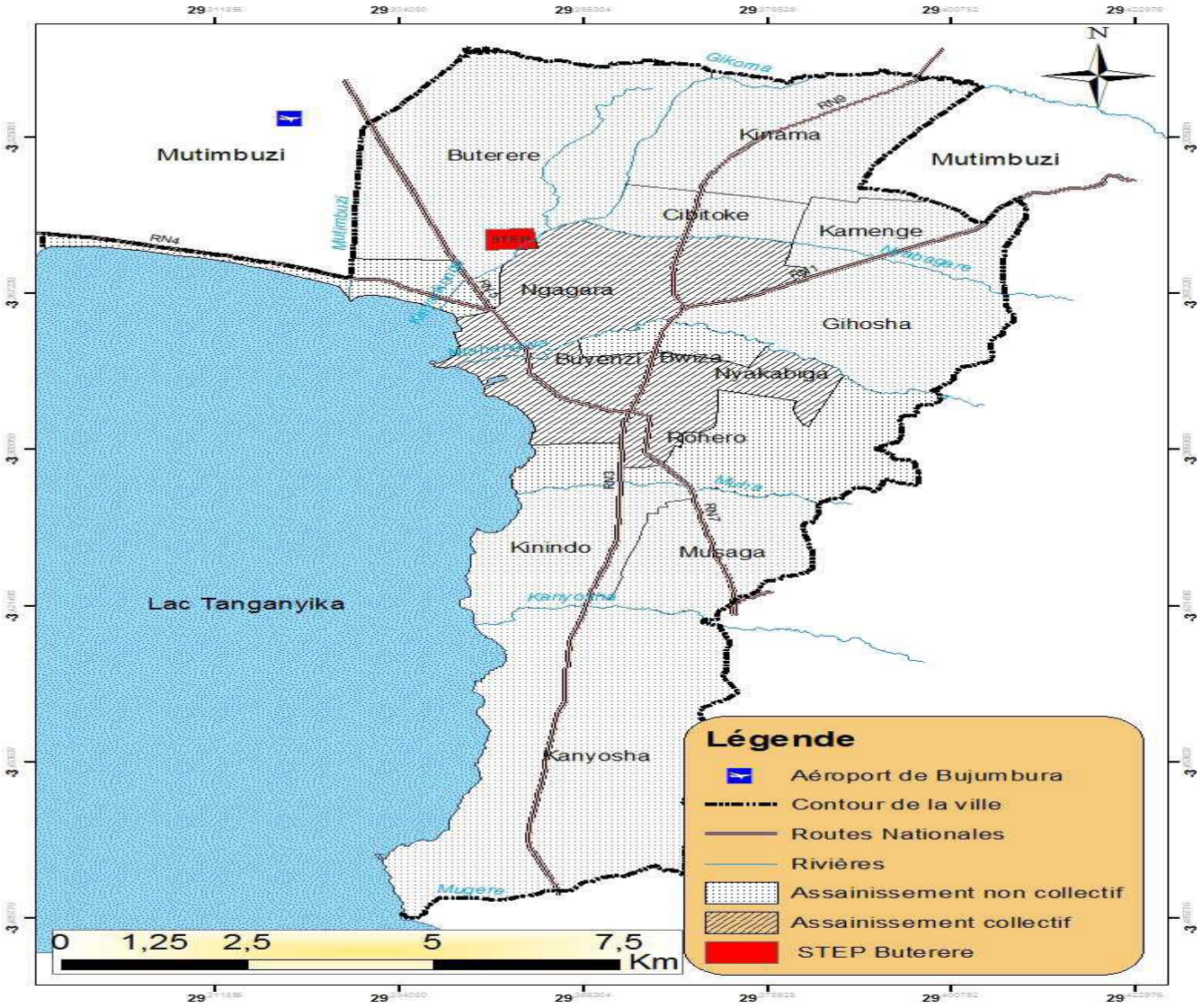


Figure 1: Zones à assainissement collectif et non collectif en ville de Bujumbura (Bigumandondera, 2014)

I.1.3. Description de la station d'épuration de Buterere

La station d'épuration de Buterere, est une station d'épuration de type lagunage naturel (Figure 3). Elle a été implantée en zone urbaine de Buterere et elle est située à environ deux kilomètres du lac Tanganyika. Elle s'étend sur une superficie d'environ 64 hectares (Niyongabo, 2006). Cette STEP rejette ses effluents dans la rivière Kinyankonge qui est située tout près de celle-ci. Le système lagunage naturel de Buterere comprend deux (2) séries de bassins montées en parallèle et fonctionnant en alternance (Figure 2). Chacune de ces séries est donc constituée : (i) d'un bassin anaérobie (BA), (ii) d'un bassin facultatif (BF) et (iii) d'un bassin de maturation (BM). Chacun de ces bassins joue un rôle spécifique et il est dimensionné de manière à accomplir sa tâche. Le principe d'épuration est basé sur l'activité microorganismes qui dégradent la matière organique (Boukary, 2019).

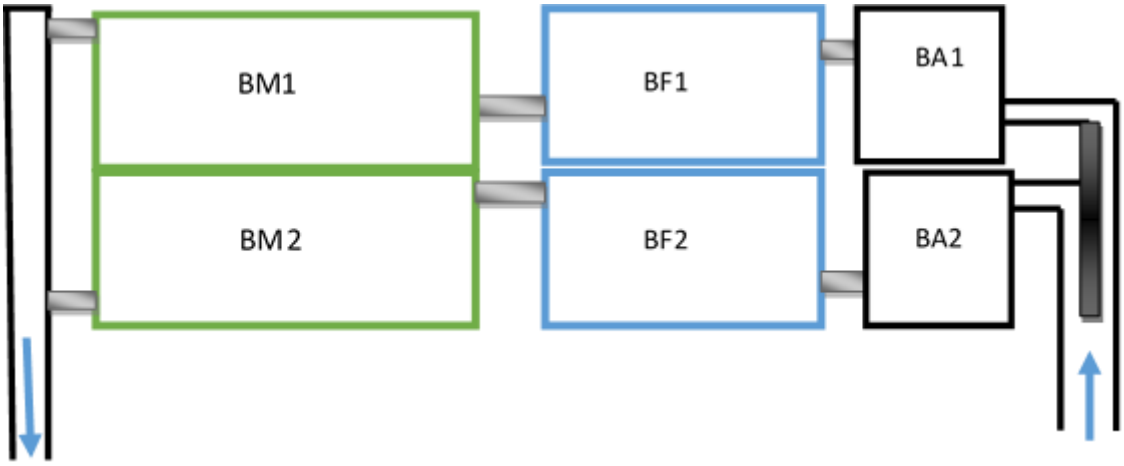


Figure 2 : Schéma d'illustration de la station d'épuration (STEP) de Buterere



Figure 3 : Photographie de la station d'épuration (STEP) de Buterere

I.1.3 .1. Bassins anaérobies

Les deux (2) bassins anaérobies sont placés en amont du système et sont montés en parallèle. Ils sont dimensionnés de manière à favoriser la décomposition anaérobie, c'est à dire que ce sont les bactéries anaérobies qui dégradent la matière organique (Edeline, 1997). Il est par conséquent dépourvu d'oxygène et d'algues. L'entrée et la sortie d'eaux dans le bassin sont situées dans des coins diagonaux de celui-ci et l'objectif est d'augmenter le temps de séjour hydraulique (TSH). Quant aux caractéristiques géométriques de chacun d'eux, elles sont présentées dans le Tableau 1. Suivant les normes proposées par l'OMS, un bassin anaérobie doit être caractérisé par un temps de séjour hydraulique (TSH) de 1 à 5 jours avec une profondeur de 2,5 à 5 mètres (Mara, 2003). En comparant les valeurs présentées dans le Tableau 1 avec les normes OMS, l'on peut dire que chacun des bassins anaérobies de la STEP de Buterere a été dimensionné en respectant la réglementation internationale.

I.1. 3. 2. Bassins facultatifs

Les deux (2) bassins facultatifs montés en parallèle viennent après les bassins anaérobies. Ils sont dimensionnés de manière à favoriser la décomposition aérobie, c'est à dire que ce sont les bactéries aérobies qui dégradent la matière organique (Edeline, 1997). Dans de tels bassins, la

présence d'oxygène dissous est obligatoire dans les couches supérieures pour que les bactéries aérobies et/ou facultatives ainsi que les algues puissent assurer convenablement leur rôle épurateur. Dans les couches inférieures, il n'y a pas évidement d'oxygène dissous. Mais du fait que ces bassins sont moins profonds, la couche inférieure est très négligeable de sorte que son influence ne se fait pas remarquer. Techniquement, les bassins facultatifs reçoivent les effluents qui sortent des bassins anaérobies, c'est à dire dont une partie de pollution a été déjà éliminée. L'entrée et la sortie d'eaux dans le bassin sont situées dans des coins diagonaux de celui-ci et l'objectif est d'augmenter le temps de séjour hydraulique (TSH). Toutefois, les normes OMS envisagent qu'un bassin facultatif doit être caractérisé par un temps de séjour hydraulique (TSH) de 5 à 50 jours avec une profondeur de 1 à 1,5 mètres (Mara, 2003).

I.1. 3. 3. Bassins de maturation

Les deux (2) bassins de maturation montés en parallèle viennent après les bassins facultatifs. Ces bassins sont placés en aval du système et sont également appelés bassins de finition. Leur principe de fonctionnement est basé sur la décomposition aérobie et leur rôle principal est l'élimination des agents pathogènes, la réduction des nutriments (azote et Phosphore), l'élimination des matières en suspension et des matières organiques biodégradables n'ayant pas été éliminées lors des étapes précédentes (Mara, 2003). L'entrée et la sortie d'eaux dans le bassin sont situées dans des coins diagonaux de celui-ci et l'objectif est d'augmenter le temps de séjour hydraulique (TSH). Les normes OMS recommandent que de tels bassins doivent être caractérisés par un temps de séjour hydraulique (TSH) de 3 à 20 jours avec un minimum de 5 jours lorsqu'on travaille sur une seule ligne, c'est à dire quand on ne dispose pas des bassins montés en parallèle (Mara, 2003).

Les caractéristiques géométriques de chacun des bassins de la STEP de Buterere sont présentées dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Caractéristiques géométriques des bassins de la STEP de Buterere (Niyongabo, 2006)**.**

Bassins	**BA_1**	**BA_2**	**BF_1**	**BF_2**	**BM_1**	**BM_2**
Longueur (m)	90	90	528	528	731	731
Largeur (m)	150	150	150	150	150	150
Surface (m^2), (Lxl)	13 500	13 500	79 200	79200	109 650	109 650
Profondeur (m)	2	2	1,5	1,5	1	1
Volume (m^3)	27 000	27 000	11 880	118 800	109 650	109 650
TSH (j)	1,35	1,35	5,94	5,94	5,48	5,48
Débit théorique (m^3/j)	20 000	20 000	20 000	20000	20 000	20 000

La capacité épuratoire de la STEP de Buterere peut être évalué en comparant les valeurs obtenues par la caractérisation de l'effluent du bassin de maturation de la STEP (Nsavyimana, 2015) et aux valeurs relatives à la norme de rejet des eaux usées selon l'OMS (Carr *et al*., 2004). En effet, le bassin de maturation correspond à la dernière étape de traitement de la STEP de Buterere. Le tableau 2 montre que les caractéristiques des eaux de rejet de la STEP sont en dehors des valeurs limites préconisées par l'OMS (Carr *et al*., 2004). Cela révèle les limites de cette STEP qui rejette des eaux susceptibles de polluer directement la rivière Kinyankonge, son exutoire. La pollution de cette rivière entraine directement la pollution du lac Tanganyika, son affluent, qui est situé à 2 Km de celle-ci (Buhungu *et al*., 2018). Par ailleurs, si l'enlèvement de la pollution organique évaluée par la teneur en DCO et en DBO (Tableau 2) semble satisfaisant, ce procédé présente des limites en ce qui concerne l'élimination des nutriments (phosphore et azote). Ainsi, le recourt au procédé de traitement tertiaire par lagunage utilisant les *P. stratiotes* et les *E. crassipes*, pourrait trouver sa place dans cette étude afin d'éliminer les nutriments qui sont difficiles à éliminer par lagunage naturel.

Tableau 2 : Comparaison de la qualité des effluents traités par la STEP Buterere aux valeurs limites des rejets des eaux usées

Paramètres	**Rejets de la STEP Buterere/Burundi (Nsavyimana, 2015)**	**Valeurs limites des rejets des eaux usées** (Carr *et al.,* 2004*)*
pH	8,2 ± 0,13	6,5 - 9,5
Chlorophylle A (µg/L)	6125 ± 101,0	0 - 200
Chlorophylle Brute (µg/L)	424,30 ± 9,55	0 - 200
Chlorophylle C (µg/L)	1280,10± 8,18	0 - 200
PO_4^{3-} (mg/L)	25,40 ± 3,13	≤ 2
$N\text{-}NH_4^+$ (mg/L)	68,50 ± 10,89	≤ 15
$N\text{-}NO_3^-$ (mg/L)	41,20 ± 4,71	≤ 30
DCO (mg O_2/L)	123,00 ± 17,92	≤ 150
DBO_5 (mg O_2/L)	51,00 ± 6,98	≤ 50

I.1.4. Situation géographique, démographique et hydrographique de la ville de Yamoussoukro

- **Situation géographique**

La ville de Yamoussoukro est la capitale politique de la Côte d'Ivoire. Elle est située au centre du pays, à 248 km de la ville d'Abidjan, entre 6°40' et 7° de latitude Nord et entre 6°48' et 5°30' de longitude Ouest, Yamoussoukro couvre une superficie 3500 kilomètres carrés et compte 14 quartiers organisés (Bede, 2010). Elle est limitée au Nord par le Département de Sakassou, à l'Est par le Département de Dimbokro, à l'Ouest par le Département de Bouaflé eau Sud par le Département de Toumodi. Les lacs numéro neuf (9) et dix (10) où ont été collectés les macrophytes utilisés dans cette étude sont délimités par les quartiers Habitat et N'Zuessi (Figure 4). La ville de Yamoussoukro est accessible à partir du Sud (Abidjan) par voie autoroutière, en provenance du Nord (Bouaké) ou de l'Ouest (Daloa, Sinfra).

- **Relief**

Le relief du District Autonome de Yamoussoukro est dans l'ensemble un type de relief de plaines et de plateaux, où la planité et des horizons est le caractère fondamental du paysage. On peut distinguer plusieurs niveaux de plateaux étagés, entre 200 et 500 mètres, séparés les des autres par un talus de faible hauteur (10 à 30 mètres) (Bede, 2010). Ce type de relief est caractéristique de celui de la zone centre de la Côte d'Ivoire (Anonyme 2, 2013).

❖ **Hydrographie**

Le District Autonome de Yamoussoukro bénéficie d'un réseau hydrographique essentiellement composé de la Marahoué (ou Bandama rouge) et du N'Zi, deux affluents du Bandama, seul fleuve à prendre sa source en Côte d'Ivoire. Ces deux cours d'eau appartiennent au régime équatorial de transition atténué, intermédiaire entre le régime tropical de transition le régime équatorial de transition. La saison des moyennes et hautes eaux s'étale de Mai à Novembre, mais le dédoublement de la crue annuelle n'est plus toujours marqué (Kra, 2007). Il est nécessaire que la pluviosité de la deuxième saison des pluies soit très faible pour que la pointe de Juin –Juillet devienne prédominante par rapport à celle de Septembre –Octobre.

❖ **Climat**

La ville de Yamoussoukro est soumise à un climat équatorial comportant quatre saisons (N'guessan et al., 2014) :

- une longue saison sèche de mi-novembre à mi-mars, caractérisée par la présence, en décembre et janvier, d'harmattan, qui abaisse considérablement l'humidité ;
- une longue saison des pluies, de mi-mars à mi-juillet ;
- une courte saison sèche de mi-juillet à mi-septembre ;
- une courte saison des pluies, de mi-septembre à mi-octobre.

Les moyennes des quantités de pluie varient de 900 à 1 100 mm par an, avec une répartition spatiale très variable dans l'année et d'une année à l'autre (N'guessan et al., 2014). La température moyenne de la commune de Yamoussoukro est d'environ 25,85 °C **(**N'guessan, 2015).

❖ **Démographie**

Yamoussoukro est une commune cosmopolite avec une population estimée à près de 355 573 habitants, soit une densité de 85,7 habitants au kilomètre carré (Bede, 2010). Cette population est jeune avec 56,46 % des habitants qui ont au moins 20 ans (Ba, 2014). En partant de l'hypothèse que le transfert de la capitale sera achevé à l'horizon 2050 et en appliquant un taux d'accroissement moyen de 4,5 % entre 2015 et 2030 et 2,70 % entre 2031 et 2050, la projection de la population par période quinquennale est présentée par le Tableau 3 (Anonyme 3, 2016**).**

Tableau 3 : Estimation de la population de la ville de Yamoussoukro à l'horizon 2050

Année	2015	2020	2025	2030	2050
Population	259 333	323 155	399 900	500 113	852 788

❖ **Urbanisation et Tourisme**

La commune de Yamoussoukro est organisée autour de l'axe principal qui conduit vers le Nord du pays. Elle est divisée en plusieurs quartiers dont les plus peuplés sont Assabou, Habitat, Dioulakro, Kokrenou, Morofé, N'zuessi, 220 Logements, Énergie (Anonyme 4, 2021). Le quartier Habitat constitue un centre d'intérêt, vu sa position au centre de la ville. Elle comporte également d'immenses boulevards, larges comme des autoroutes et éclairés en permanence, mais souvent désespérément vides, reliant des constructions plus modernes.

Sur le plan touristique, Yamoussoukro reste un important centre urbain par la disposition de nombreux lacs artificiels et des lacs aux caïmans, des édifices comme la basilique notre dame et aussi la fondation Felix Houphouët Boigny. La figure 4 localise les lacs dans l'espace urbain de Yamoussoukro.

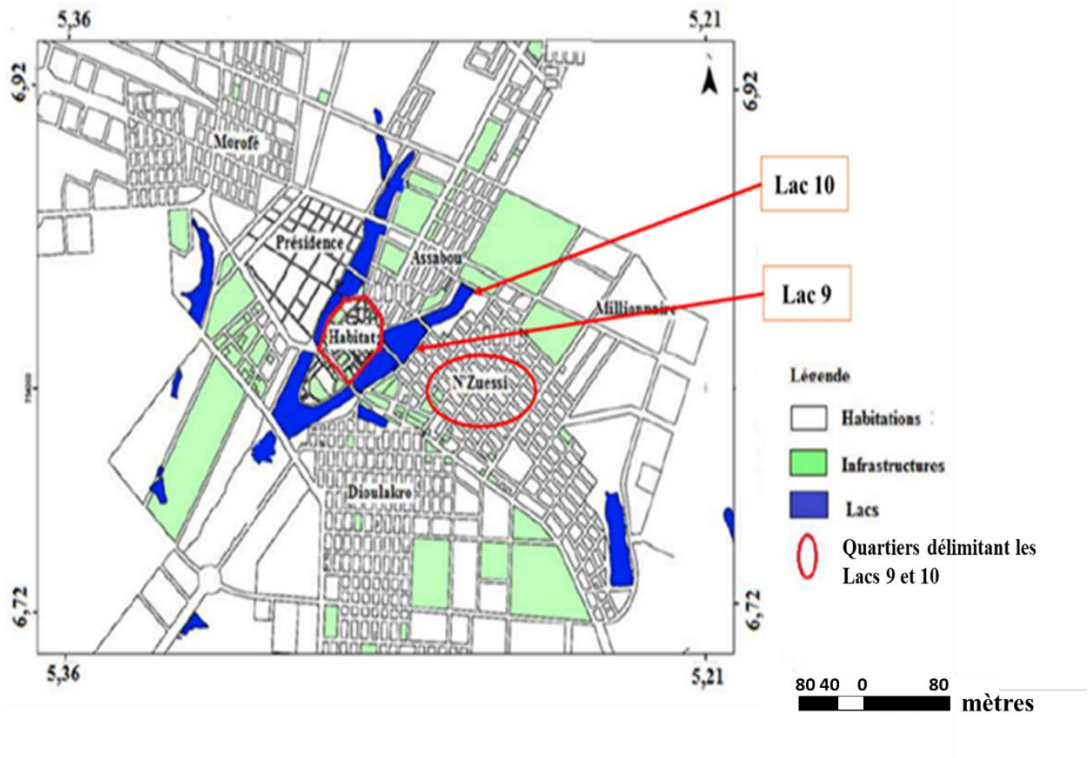


Figure 4 : Localisation des lacs artificiels de la Ville de Yamoussoukro (Bede, 2010)

I.1.5. Description de la station d'Epuration de l'INP-HB Centre

La station d'épuration de l'INPHB Centre traite les eaux résiduaires en provenance de la cité estudiantine de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny (INP-HB) de Yamoussoukro. Elle est située à 6° 52' 43''de latitude Nord et à 5° 13' 36''de Longitude Ouest. A l'instar de la STEP de Buterere ; cette station est de type lagunage naturel mais s'étend à une superficie d'environ 1 hectare (ha) contrairement à celle de Buterere dont la superficie est de 64 hectares (ha) car cette dernière est destinée à traiter les eaux usées de toute la ville de Bujumbura.

Les caractéristiques de l'effluent de la STEP de l'INP-HB Centre sont présentées dans le Tableau 4. Elles montrent que les valeurs des paramètres de pollution tels que la DCO, les matières en suspension (MES) et la DBO_5 sont toutes supérieures aux normes de rejet. On note également la teneur élevée en nutriments sous différentes formes (azote et phosphore). Cela peut contribuer à l'eutrophisation des cours d'eau (Rezania *et al.*, 2016). Ces caractéristiques confirment la nécessité d'un post-traitement car les paramètres indicateurs de la pollution dépassent les normes de rejet. Par conséquent, la phytoremédiation étant un procédé facile à mettre en œuvre et peu couteux (Qin *et al*., 2016) peut être utilisée afin de poursuivre le traitement de cet effluent.

Tableau 4 : Caractéristiques de l'effluent à la sortie de la STEP de l'INP-HB Centre.

	pH	**MES (mg/L)**	**PO_4^{3-} (mg/L)**	**NH_4^+ (mg/L)**	**NO_3^- (mg/L)**	**DCO (mgO_2/L)**	**DBO_5 (mgO_2/L)**
Valeurs mesurées	7,5	120	10	28,5	32,5	330	260
Valeurs limites (Silva, 2008)	6,5-9,5	≤ 30	≤ 2	≤ 15	≤ 30	≤ 125	≤ 25

I.2. GENERALITES SUR LES POLLUTIONS AZOTEES ET PHOSPHATEES DES EAUX

I.2.1. Généralités sur la pollution azotée

L'azote (N) est présent partout dans le sol, l'air et l'eau. Il peut également peut atteindre les nappes phréatiques par l'intermédiaire de l'eau (par drainage ou par minéralisation et précipitations) (Turin, 1990). Dans l'atmosphère, il est en grande partie présent sous forme gazeuse inerte (N_2). L'ensemble des réactions biologiques de croissance des plantes nécessite la présence de l'azote (Rabinowitz et Greppin, 1991). L'azote est un nutriment essentiel à la

croissance des plantes, mais lorsqu'il est présent en excès dans l'écosystème, des contaminations ont lieu vers les hydrosystèmes sous forme de nitrate (NO_3^-**)** ou vers l'atmosphère sous forme de protoxyde d'azote ou oxyde nitreux (N_2O). L' oxyde nitreux est un gaz à effet de serre dont le potentiel de réchauffement est 298 fois plus élevé que celui du dioxyde de carbone (CO_2) (Billen *et al*., 2013). L'homme a fortement modifié les proportions de nitrate et de nitrite, du fait essentiellement de l'application d'engrais riches en nitrate pour amender le sol. L'azote est également émis en grande quantité par les industries, augmentant ainsi l'apport de nitrate et de nitrite dans le sol et dans l'eau (Figure 5). A cet effet, la teneur en nitrate ne cesse d'augmenter de façon importante dans les ressources aquatiques. Les nitrates et les nitrites présentent plusieurs effets néfastes sur la santé humaine. Les plus communs (Rodier *et al.*, 2016) sont:

- les réactions avec l'hémoglobine du sang, provoquant une diminution des capacités de transport de l'oxygène (nitrites) ;
- la diminution du fonctionnement de la glande thyroïde (nitrates) ;
- le manque de vitamine A (nitrates) ;
- la production de nitrosamines, qui sont connues comme l'une des causes les plus communes de cancer (nitrites et nitrates).

I.2.1.1. Origines et formes de l'azote dans les eaux usées

I.2.1.1.1. Origines de l'azote dans les eaux usées

Les composés azotés sont utilisés dans divers domaines. Suivant les différents usages, les origines de l'azote des eaux usées sont classées en trois (3) sources principales à savoir les eaux usées domestiques, les eaux résiduaires urbaines et eaux usées industrielles et eux usées des rejets agricoles (Smith *et al*., 1999) :

I.2.1.1.1.1. Eaux usées domestiques

Pour cette source, l'azote existe principalement sous la forme d'azote organique (urée, acide urique, créatinine) et d'azote ammoniacal. L'urée et les acides aminés s'hydrolysent rapidement pour donner de l'ammonium. Selon le temps de séjour dans le réseau d'assainissement, l'azote organique sera plus ou moins ammonifié (Farawati *et al*., 2019).

I.2.1.1.1.2. Rejets des eaux résiduaires urbaines et aux industrielles

Les concentrations d'azote dans le rejet urbain et industriel varient selon l'activité urbaine ou les types d'industries. L'azote présent dans les eaux résiduaires urbaines provient principalement des déjections humaines. Les urines contribuent largement à cet apport essentiellement sous forme d'urée, d'acide urique et d'ammoniaque. Par ailleurs, les eaux de cuisine véhiculent des protéines comportant des acides aminés, et certains agents de surface (assouplissant,…) qui incluent dans leurs molécules des radicaux azotés*(*Gaëlle *et al.,* 2001*)*.
Les industries présentant un faible niveau de pollution, telle que celle de la fabrication du papier produisent des concentrations de 5 à 20 mg/l d'Azote total Kjeldahl (NTK) *(*Gaëlle *et al.,* 2001*)*. Pour les industries les plus polluantes, le rejet présente des concentrations beaucoup plus importantes (exemple : production d'engrais azotés : 1 500 et 5 000 mg/l) (Guergueb, 2016).

I.2.1.1.1.3. Epandages et fertilisation en agriculture

Les apports d'azote d'origine agricole aux eaux de surface varient de façon considérable d'une région à une autre. Ils sont en relation avec la pédologie, l'hydrographie, le climat, les pratiques culturales, la nature des récoltes et plus ou moins la bonne maîtrise des agriculteurs de l'emploi des divers engrais. Selon la nature des apports fertilisants et la granulométrie du sol, on constate que les engrais représentent un surcroît de 10 à 50% (Guergueb, 2016) des pertes naturelles (maximum pour des sols à faible fraction fine). Cet apport d'azote se fait presque uniquement sous sa forme la plus mobile, c'est-à-dire l'azote nitrique NO_3^-. L'ampleur et la hiérarchie des apports d'azote aux eaux de surface *(*Gaëlle *et al.,* 2001*)* sont donc fonction de l'importance relative de l'urbanisation (rejets domestiques), de l'industrialisation (rejets industriels) et de l'intensification de l'agriculture.

I.2. 1.1.2. Formes de l'azote dans les eaux usées

L'azote existe dans les eaux usées sous deux (2) formes :

- la forme organique non oxydée et peu soluble, (azote organique) ;
- la forme minérale et soluble, (azote inorganique).

L'azote organique peut être présent dans les acides aminés (forme une chaîne peptidique qui fait des protéines), l'urée (produit lors de l'élimination de l'ammoniac par les mammifères), les acides uriques (produits par les oiseaux et les insectes) purines et pyrimidines (impliquées dans la fabrication des acides nucléiques) (Saeed et Sun, 2012). Les formes inorganiques de l'azote sont l'ammonium (NH_4^+), le nitrite (NO_2^-), le nitrate (NO_3^-), le protoxyde d'azote (N_2O) et

l''azote élémentaire dissous ou azote gazeux (N_2). L'azote gazeux comprend le diazote (N_2), le protoxyde d'azote (N_2O), l'oxyde nitrique (NO_2^-) et l'ammoniac libre (NH_3).

I.2.1.2. Cycle de l'azote

Le cycle de l'azote est un cycle biogéochimique qui décrit la succession des modifications subies par les différentes formes de l'azote (Launay, 2016) en passant de la forme neutre aux formes réactives (azote organique, ammoniaque, nitrate, nitrite et diazote) (Figure 5). Les analyses isotopiques de l'azote faites récemment dans différents compartiments géologiques, de la biosphère et notamment dans les sédiments lacustres montrent que son cycle a été fortement perturbé par l'homme. Ce qui a plus doublé la quantité d'azote réactif (Nr) annuellement ajoutés à la biosphère (Holtgrieve *et al*., 2011).

L'azote est un composé essentiel pour la synthèse de nombreuses macromolécules biologiques dont les bases azotées de l'ADN ainsi que les acides aminés constituant les protéines (Gaudnik, 2011). L'atmosphère contient une grande quantité de diazote (78% en volume), mais cet azote gazeux est très peu biodisponible pour la plupart des espèces. Seules certaines bactéries présentes dans le sol telles qu'Azotobacter *vinelandii* peuvent fixer l'azote contenu dans l'atmosphère (Saeed et Sun, 2012). Elles le font grâce à une enzyme, la nitrogénase qui est capable de casser la triple liaison N≡N qui rend l'azote gazeux stable, mais uniquement dans certains contextes (Sun *et al*., 2019). En effet, cette réaction de transformation de l'azote atmosphérique en une forme assimilable par les organismes exige beaucoup d'énergie et fait appel à d'autres éléments pour faire la biosynthèse de la nitrogénase (Gaudnik, 2011). Pour ces raisons, l'azote est considéré comme un facteur limitant pour la production de biomasse algale et végétale, donc pour la productivité de nombreux écosystèmes. Ceci explique également pourquoi la disponibilité en azote est un facteur majeur dans la structuration, la dynamique et l'évolution de nombreuses espèces végétales (Saeed et Sun, 2012). Les bactéries fixatrices de l'azote produisent de l'ammoniaque (NH_4OH) à partir de l'hydrogène de l'eau et l'azote atmosphérique. Certaines de ces bactéries, comme Rhizobium, vivent en symbiose avec des plantes, produisant de l'ammoniaque. Dans les sols bien oxygénés, mais aussi en milieu aquatique oxygéné, des bactéries transforment l'ammonium (NH_4^+) en nitrite (NO_2^-), puis en nitrates (NO_3^-), au cours du processus de nitrification (Figure 5). On peut décomposer cette transformation en nitritation et nitratation. En contrepartie de ce service, les plantes symbiotes fournissent des glucides aux bactéries (dans la rhizosphère) (Sun *et al*., 2019). La décomposition d'organismes morts (nécromasse) par des bactéries saprophytes sous forme d'ions ammonium (NH_4^+) est une autre source d'ammoniaque. Les végétaux absorbent (au

travers des racines pour certaines plantes aquatiques et si non via les feuilles) les ions nitrates (NO_3^-) et, dans une moindre mesure, l'ammonium présent dans le sol. Ils seront principalement incorporés dans les acides aminés et les protéines (Gaudnik, 2011). Les végétaux constituent ainsi la source primaire d'azote assimilable par les animaux. En milieu anoxique (en l'absence d'oxygène), les bactéries dites dénitrifiantes transforment les nitrates en gaz diazote (Saeed et Sun, 2012). C'est le processus de dénitrification. Le cycle naturel de l'azote a toutefois été fortement perturbé par les activités humaines, qui ont modifié la disponibilité de l'azote, avec des implications encore mal évaluées pour les écosystèmes à travers le monde *(*Gaëlle *et al.,* 2001*).*

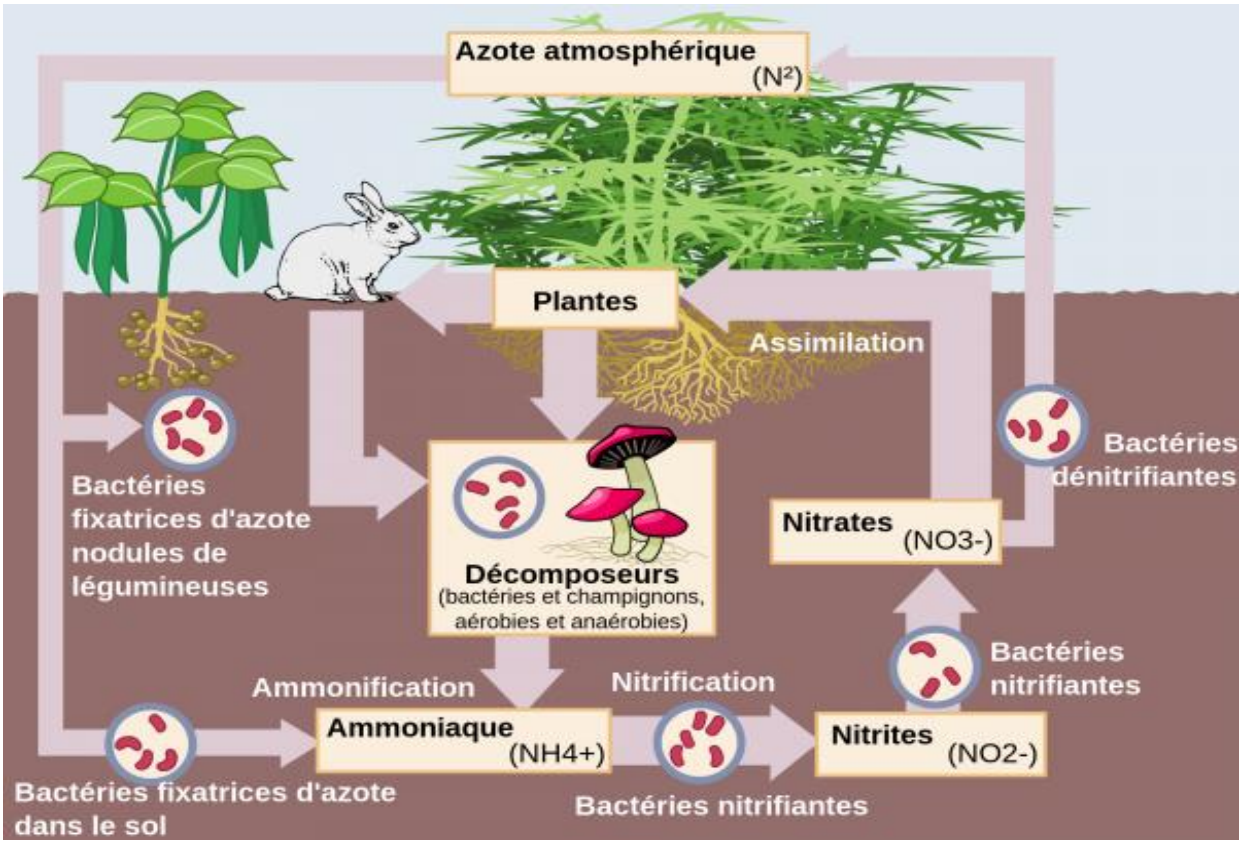


Figure 5 : Schéma du cycle d'azote (Launay, 2016)

I.2.1. 3. Mécanismes contribuant à l'élimination de l'azote dans les eaux usées

L'élimination de l'azote constitue une étape incontournable lors du traitement des eaux usées. L'azote peut être séparé des eaux par différents mécanismes (Saeed et Sun, 2012) :

: physique (par décantation lorsqu'il est lié aux matières en suspension), physico-chimique (stripping sous forme de gaz ammoniac lorsque le pH est basique, oxydations et réductions chimiques) et biologique (incorporation aux bactéries produites, transformation en nitrates puis en azote gazeux lors des processus de nitrification-dénitrification). Actuellement, les voies

physico-chimiques d'élimination de l'azote des eaux résiduaires urbaines ne sont pas beaucoup utilisées, pour des raisons économiques, à des applications industrielles du fait de la nature essentiellement soluble de l'azote de ces eaux et de sa faible concentration (Launay, 2016). Dans les stations d'épuration biologique, les rendements liés aux mécanismes physico-chimiques sont très faibles compte-tenu de la composition des eaux résiduaires urbaines et des conditions du milieu (Sun *et al*., 2019). L'essentiel du traitement est lié à des processus physiques (décantation, séquestration) et surtout biologiques tels que l'assimilation, la nitrification et la dénitrification

I.2. 1.3.1. Décantation

De nombreuses filières d'épuration comportent une décantation primaire. L'extraction des boues qui s'y accumulent permet naturellement de séparer la fraction de l'azote liée aux matières en suspension des eaux brutes contenues par l'ouvrage.

En fonction de la longueur et de la pente du réseau, l'élimination de l'azote par décantation primaire est comprise entre 5 et 10 % de l'azote total reçu par temps sec. Cette élimination est plus élevée en temps de pluie pour un réseau unitaire lorsqu'il s'effectue un auto-curage du réseau (Gaëlle *et al.*, 2001).

Lorsque les boues primaires séjournent longtemps au contact de l'eau, la libération progressive d'azote ammoniacal produit par la lyse des bactéries réduit le rendement de la décantation des effluents bruts. C'est le cas pour les procédés extensifs d'épuration tels le lagunage naturel et le lagunage aéré ou encore pour les filières précédées par une fosse septique ou un décanteur-digesteur. Par ailleurs, pour cette étape de traitement, on doit considérer que la part de l'élimination de l'azote par la décantation primaire est négligeable (Gaëlle *et al*., 2001)

L'élimination de l'azote par voie biologique requiert des bactéries de types trophiques très différents. Les différentes formes d'azote servent donc comme source d'azote, source d'énergie et d'accepteur final d'électrons et de protons. Ce processus peut être illustré par l'équation (Eq.1) :

$$R - NH_2 \overset{(i)}{\rightarrow} NH_4^+ \overset{(iii)}{\longrightarrow} NO_2^- \overset{iV}{\rightarrow} NO_3^- \overset{(V)}{\rightarrow} N_2 \qquad (\mathbf{Eq.1})$$

(ii) ↓

$R - NH_2$

(i) : ammonification ; (ii) : assimilation ; (iii) : nitritation ; (iv) : nitratation ; (v) dénitrification

I.2.1.3.2. Ammonification

L'azote organique des eaux urbaines existe principalement sous forme d'urée et d'acides aminés. Sous l'action des bactéries et par hydrolyse, l'ammonification se réalise selon l'équation (Eq.2) que le milieu soit oxydant (STEP) ou non (collecteur) (Saeed et Sun, 2012):

$$R - NH_2 \xrightarrow{H^+} R + NH_3 \xrightarrow{Spontanée(H^+)} NH_4^+ \qquad (\mathbf{Eq.2})$$

Cette réaction, réalisée par des germes hétérotrophes, ne permet pas de faire un abattement important de l'azote Kjeldhal (NTK) mais, simplement, elle permet de fournir une source d'azote minéral que les bactéries de nitritation, de nitratation et de dénitrification transforment en différentes formes d'azote (équation 1). Les STEP soumises à des rejets importants en azote (zones sensibles à l'eutrophisation) doivent compléter ce traitement par un autre traitement qui permet de transformer l'ammonium en diazote (N_2) par les réactions de nitrification et de dénitrification.

I.2.1.3.3. Nitrification biologique

La réaction de nitrification de l'azote ammoniacal par les bactéries autotrophes nitrifiantes en présence d'oxygène dissous peut être représentée par l'équation suivante (Eq. 3) (Saeed et Sun, 2012):

$$NH_4^+ + 1{,}83O_2 + 1{,}98HCO_3^- \rightarrow 0{,}01C_5H_7NO_2 + 1{,}04H_2O + 0{,}98NO_3^- + 1{,}88H_2CO_3 \ (\mathbf{Eq.3})$$

Cette réaction globale, liée aux synthèses cellulaires, rend compte de l'action de deux types de bactéries nitrifiantes dont l'un est nitritant (*Nitrosomonas*) et l'autre nitratant (*Nitrobacter*). Ces bactéries sont aérobies strictes et tirent leur énergie dans la réaction d'oxydation de l'ammonium.

En réalité, cette réaction s'effectue en deux (2) étapes successives (nitritation et nitratation) réalisées par des bactéries ci-haut citées selon les équations (Eq.4) et (Eq .5) ci-après (Saeed et Sun, 2012) :

Nitritation :

$$55NH_4^+ + 76O_2 + 109HCO_3^- \rightarrow C_5H_7NO_2 + 54NO_2^- + 57H_2O + 104H_2CO_3 \qquad (\mathbf{Eq.4})$$

Nitratation :

$$400NO_2^- + NH_4^+ + 104H_2CO_3 + HCO_3^- + 195O_2 \rightarrow C_5H_7NO_2 + 3H_2O + 400NO_3^- \ (\mathbf{Eq.5})$$

I.2.1.3.4. Dénitrification

La réaction d'assimilation de matière organique par les bactéries hétérotrophes en l'absence d'oxygène dissous et en présence de nitrate peut être représentée par la réaction suivante (Eq.6) (Arvin et Kristensen, 1982) :

$$97NO_3^- + 50CH_2OH - CH_3 + 97H^+ \rightarrow 5C_5H_7NO_2 + 75CO_2 + 181H_2O + 46N_2 \ (\mathbf{Eq.6})$$

Cette réaction est liée aux synthèses cellulaires et est catalysée par des bactéries anaérobies strictes pouvant vivre en l'absence d'oxygène. Dans ces conditions, le milieu doit être anoxie (c'est -à-dire présence d'oxygène lié au nitrate (NO_3^-) mais absence d'oxygène libre) afin de favoriser la respiration sur les nitrates libérant ainsi le diazote (N_2) dans l'atmosphère.

I.2.2. Généralités sur la pollution phosphatée

I.2.2.1. Elément phosphore du milieu naturel

Le phosphore naturel est extrait des sols sous forme de phosphates de calcium dont l'apatite $Ca_5(PO_4)_3F$ et l'hydroxyapatite $Ca_5(PO_4)_3(OH)$. Il peut exister dans la nature sous trois (3) formes. De la forme la plus stable vers la moins stable, on peut distinguer le phosphore noir, le phosphore rouge et le phosphore blanc. Le phosphore blanc se transforme lentement, sous l'influence de la lumière et de la chaleur, en phosphore rouge. Sous l'action de la chaleur, le phosphore blanc et le phosphore rouge brûlent respectivement à 40 °C et à 240 °C. Le phosphore rouge n'est pas toxique alors que le phosphore blanc est un poison violent. Le phosphore d'origine artificielle se rencontre soit sous forme minérale, halogénures, sulfures de phosphore ; soit sous forme organique (Deronzier et Choubert, 2004). Pour la suite, il sera question de décrire les formes du phosphore qui interviennent dans la problématique de traitement du phosphore, à savoir les formes minérales oxydées et les formes organiques. Les utilisations et le cycle du phosphore seront ensuite présentés.

I.2.2.2. Origines et formes du phosphore dans les eaux usées

I.2.2.2.1. Origine du phosphore dans les eaux usées

Les composés phosphorés sont utilisés dans divers domaines. Suivant les différents usages, les origines des phosphates des eaux usées sont classées en cinq (5) principaux groupes (Coulibaly, 2014) :

- du métabolisme humain : un homme excrète entre 1 et 2 g de phosphore par jour. Il s'agit de l'apport principal en phosphore dans les cours d'eau ;
- des produits de lessive et de nettoyage 1 à 2 g de phosphore par jour et par habitat ;

- des rejets industriels : les effluents d'industries agro-alimentaires, d'abattoirs, de laveries industrielles, d'industries de traitement de surface et d'industries chimiques spécialisées ;
- les rejets agricoles ou d'origine naturelle sont retenus dans les sols et ne se retrouvent pas dans les eaux usées ;
- les eaux de surface peuvent éventuellement en contenir en raison de l'érosion et du ruissellement entraînant des particules de sol vers les cours d'eau.

Le phosphore des eaux usées est essentiellement constitué de :

- phosphore inorganique (essentiellement des polyphosphates) et des orthophosphates dont une part provient de l'hydrolyse des premiers ;
- phosphore organique : phospholipides, esters, polynucléotides, ATP et ADP.

Les phosphates de sodium et de potassium sont solubles dans l'eau, les phosphates monocalciques et les phosphates de magnésium le sont également, mais dans une moindre mesure. Les autres phosphates sont insolubles. Le phosphore total est la somme du phosphore inorganique et organique.

I.2.2.2.2. Formes du phosphore dans les eaux usées

I.2.2.2.2.1. Formes minérale oxydées du phosphore

Parmi les différentes formes oxydées du phosphore, les phosphates (forme soluble du phosphore) sont les plus abondants dans les eaux usées. Ce sont les sels de l'acide orthophosphorique H_3PO_4. En fonction du pH, cet acide peut exister dans trois (3) états de protonation impliqués dans les équilibres acido-basiques suivants les équations (Eq.7) à (Eq.9) (Prigent., 2013):

$$H_3PO_4 \rightleftarrows H_2PO_4^- + H_{aq}^+ \quad pK_{a1} = 2{,}1 \qquad (\mathbf{Eq.7})$$

$$H_2PO_4^- \rightleftarrows HPO_4^{2-} + H_{aq}^+ \quad pK_{a2} = 7{,}2 \qquad (\mathbf{Eq.8})$$

$$HPO_4^{2-} \rightleftarrows PO_4^{3-} + H_{aq}^+ \quad pK_{a3} = 12{,}35 \qquad (\mathbf{Eq.9})$$

Les polyphosphates sont des molécules comportant au moins deux (2) unités phosphates. Leur formule chimique est $M_{n+2}P_nO_{3n+1}$, où n représente le nombre d'atomes de phosphore. Le pentoxyde de phosphore (P_2O_5) est également intéressant à citer puisque les agronomes et les

laboratoires d'analyse des sols expriment souvent le résultat de la mesure de phosphore dans les boues à partir de cet oxyde. Il se forme lorsqu'il y a le phosphore qui brûle à l'air et il réagit très violemment avec l'eau pour donner l'acide phosphorique.

I.2.2.2.2.2. Formes organiques du phosphore

Le phosphore est un élément important de la vie. Il intervient dans le processus de synthèse de nombreuses molécules biologiques telles que les protéines et les acides nucléiques (ARN et ADN) mais également dans le cycle de production d'énergie au sein de la cellule (ATP). Chez les animaux, et en particulier dans le corps humain, on peut noter en plus la présence du phosphore dans les os, les dents, les nerfs, etc. (Deronzier et Choubert, 2004). Néanmoins, si les phosphates sont présents en grande quantité dans le corps humain ; ils peuvent provoquer des problèmes de santé, tels que l'hyperphosphatémie ou des problèmes aux reins. Les carences en phosphates dans l'organisme peuvent être dues à une utilisation intensive de médicaments, provoquant des problèmes de santé (Rodier *et al*., 2016).

I.2.2.3. Elément phosphore dans les eaux usées

Dans les eaux usées, le phosphore peut exister sous différentes formes chimiques. On peut distinguer la forme organique, la forme minérale et le phosphore total correspondant à la somme des deux (2). La première catégorie correspond notamment à l'ensemble des phosphates (forme oxydée du phosphore) comprenant les sels d'acide orthophosphorique (H_3PO_4) pouvant s'ioniser en $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}, PO_4^{3-} selon le pH (Figure 6), et les polyphosphates (Campbell *et al*., 2005). La Figure 3 permet de déterminer à pH neutre la forme du phosphore ionisée la plus dominante. On distingue les phosphates monosodiques (NaH_2PO_4), utilisés dans les lessives, des phosphates disodiques (Na_2HPO_4) et du phosphate trisodique (Na_3PO_4). Dans la gamme de pH de 7 à 8,5 typique de l'eau de mer, la forme HPO_4^{2-} est toujours majoritaire devant les formes PO_4^{3-} et enfin H_2PO_4 (Campbell *et al*., 2005). Le pentoxyde de phosphore est également présent sous forme d'acide phosphorique en présence d'eau.

La deuxième catégorie correspond au phosphore organique qui est présent dans les acides nucléiques (ADN, ARN), l' ATP et les phosphoprotéines (Liu, 1996)

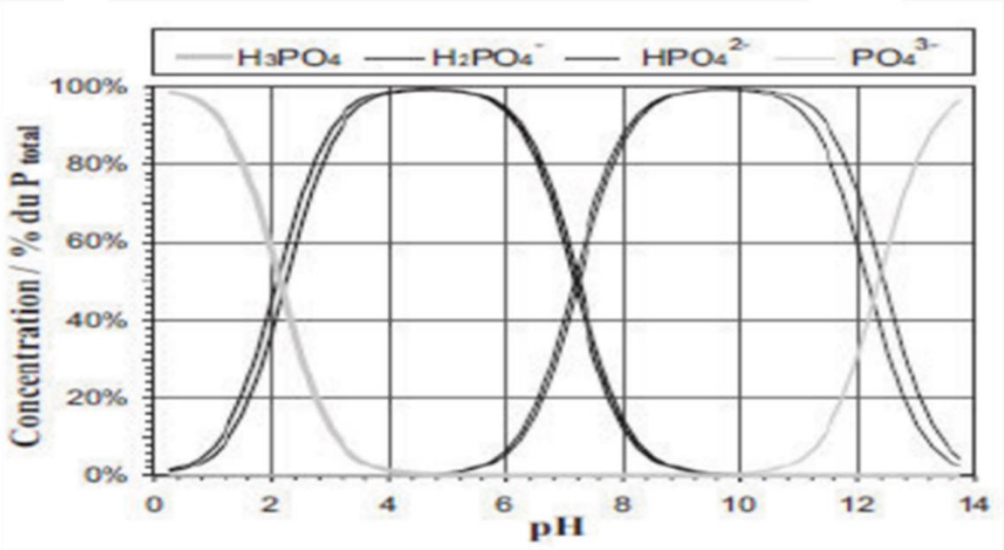


Figure 6: Domaines de prédominance des orthophosphates en fonction du pH (Coulibaly, 2014)

I.2.2.4. Utilisations du phosphore

Une grande portion du phosphore utilisable dans la vie courante est sous forme d'acide orthophosphorique. Cet acide s'obtient après calcination et transformation de phosphore naturel. Les sels de cet acide ont des utilisations diverses :

- NaH_2PO_4, est un composant des lessives avec phosphate (en mélange avec le bicarbonate de sodium) et intervient dans le traitement des eaux de chaudière pour éviter l'entartrage,
- Na_3PO_4 est un composant des produits de nettoyage des boiseries ;
- le phosphore entre également dans la composition d'engrais sous forme de phosphates ;
- les phosphates naturels ne sont pas une source de phosphore pour les végétaux car trop peu solubles. Ils sont transformés en phosphate monocalcique, $Ca(H_2PO4)_2$, plus solubles ;
- la présence du phosphore (phosphore rouge) sur les frottoirs qui enflamment les allumettes.

I.2.2.5. Rôle du phosphore dans l'eutrophisation des milieux aquatiques

Le terme eutrophisation désigne l'enrichissement général d'un milieu. Il recouvre l'augmentation de la ressource en nutriments, et celle de la production primaire. Il comprend également des notions d'intensification des flux de matière et d'énergie (Genin *et al.*, 2003).

Contrairement à l'azote, le cycle du phosphore n'a pas de composante atmosphérique significative. Il comprend une phase terrestre et marine (Figure 7). Le phosphore terrestre

provient de l'altération du phosphore contenu dans les roches et de l'utilisation animale et végétale de celui-ci. Il est assimilé premièrement par les plantes, puis par les animaux via la chaîne alimentaire. Une partie est retournée au sol via les excréments et la matière organique morte, une autre entre dans le système des eaux continentales puis dans la mer et les océans. Là, une fraction du phosphore est utilisée par les animaux marins dans le métabolisme de leur squelette. Une autre fraction rejoint les sédiments sous la forme d'animaux morts et de particules. Beaucoup plus tard seulement, les roches sédimentaires sont ramenées en surface. À échelle humaine de temps, il est préférable de parler de « perte » de phosphore et non de « cycle », ce qui implique que la source de phosphore diminue et que sa récupération deviendra un jour nécessaire (Labry, 2001). Le rôle du phosphore dans l'eutrophisation des rivières se comprend facilement si on se réfère au mécanisme de la photosynthèse. Il s'agit d'un processus au cours duquel le dioxyde de carbone et l'eau sont transformés en matière vivante grâce à l'énergie lumineuse et en présence de phosphore, azote et de quelques autres éléments traces. Les macrophytes et les algues sont capables d'effectuer eux même la photosynthèse. Pour ce processus, sont définis comme éléments limitants, ceux dont la carence dans le milieu empêche le phénomène de se produire. Dans le cas de l'eutrophisation des eaux douces, qui conduit au développement excessif d'algues, le phosphore est le seul facteur limitant (Howarth et Marino, 2006). En effet, lorsque la concentration en azote est trop faible dans les eaux, l'atmosphère peut fournir de l'azote au milieu aquatique à l'aide de certaines algues capables de fixer l'azote gazeux. En appliquant un raisonnement identique, aux estuaires et aux zones côtières, le phosphore devrait être également le facteur limitant dans l'eutrophisation de ces milieux. Or d'autres chercheurs comme Campbell *et al*., (2015) donnent des idées contraires à celles de Howarth et Marino, (2006). En effet, plusieurs éléments montrent que la concentration en phosphore dans le milieu serait en excès par rapport à celle de l'azote. Premièrement, le rapport azote sur phosphore est moins élevé dans certaines rivières que celui du plancton de certains estuaires. Deuxièmement, dans les sédiments déposés, l'azote se régénère plus lentement que le phosphore. En outre, une dénitrification peut diminuer la concentration en azote. Ainsi, selon les apports d'azote et de phosphore dans les estuaires ou dans la bande côtière, le phosphore ou l'azote peut être un facteur limitant (Campbell *et al*., 2005).

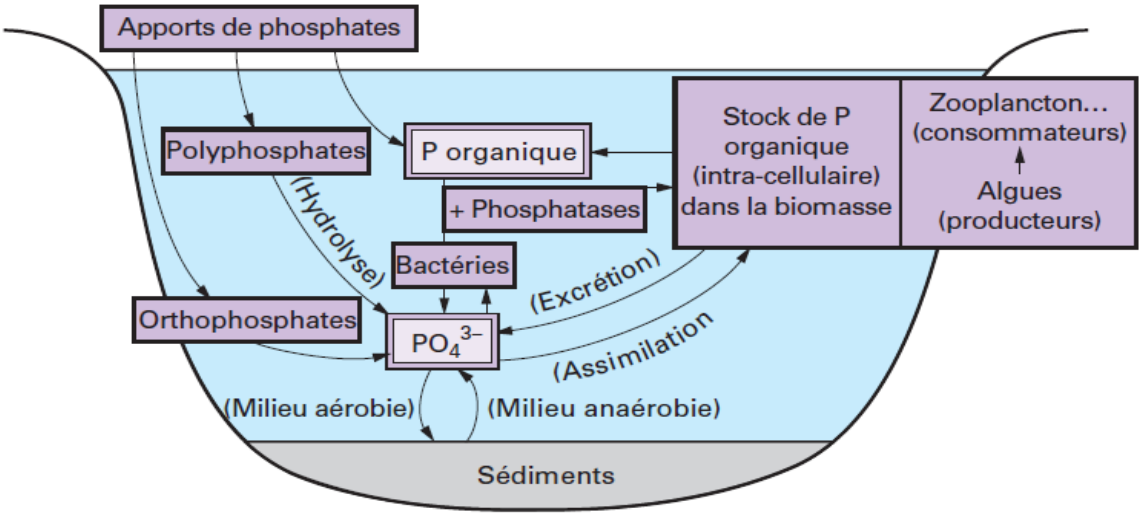


Figure 7: Schéma du cycle du phosphore (Lefebvre, 2000)

I.2.2.6. Elimination du phosphore dans les eaux usées

I.2.2.6.1. Traitement physicochimique du phosphore

Le traitement du phosphore par voie physicochimique consiste à « piéger » le phosphore dissous sous forme particulaire. Ce changement de phase a lieu au contact de cations (ions calcium, magnésium, aluminium ou ferriques) apportés soit par les eaux usées (précipitation naturelle), soit par ajout de réactifs à base de fer, d'aluminium ou de chaux (précipitation forcée) (Duchène, 1999).

Les principaux mécanismes intervenants sont au nombre de trois (3) :

- précipitation chimique de complexes hydroxo-métalliques ;
- adsorption sélective d'espèces phosphorées dissoutes sur la surface des complexes déjà précipités ;
- floculation et coprécipitation de matière colloïdale finement dispersée.

Ces trois mécanismes ont normalement lieu simultanément, et leur action combinée est responsable des hautes performances de déphosphatation généralement atteintes dans les stations de traitement chimiques. La séparation du phosphore particulaire de l'eau aura lieu lors de la décantation.

I.2.2.6.2. Traitement biologique du phosphore

Le traitement biologique, au sens large, englobe d'une part l'assimilation du phosphore par la biomasse bactérienne pour ses besoins métaboliques minimums, et d'autre part la suraccumulation du phosphore par des bactéries déphosphatantes au-delà de leurs besoins

métaboliques (Metahri, 2012). Par convention, on parle de traitement biologique du phosphore (au sens strict) lorsqu'il s'opère une suraccumulation du phosphore.

I.2.2.6.2.1. Assimilation du phosphore

Le phosphore, de même que l'azote, est un composant essentiel de la biomasse épuratrice, bactéries et protozoaires ce qui représente de l'ordre de 1 à 2 % de la matière sèche des boues activées non déphosphatantes, exprimée en matière volatile en suspension (Comeau, 1997). La réaction d'assimilation de la matière organique est assurée par les bactéries hétérotrophes en présence d'oxygène dissous. Les besoins en phosphore pour la synthèse des nouvelles bactéries sont de l'ordre de 1% de la DBO_5 éliminée par la biomasse épuratrice (Duchène, 999). L'assimilation ne permet en aucun cas une élimination poussée du phosphore puisque le rapport P/DBO_5 est nettement plus élevé que 0,01 et se situe à 0,04 environ (Comeau, 1997).

I.2.2.6.2.2. Processus de suraccumulation du phosphore

Dans le procédé d'élimination biologique du phosphore par boue activée, la biomasse est exposée à une alternance de conditions anaérobies et aérobies. Le processus d'élimination biologique du phosphore peut être décrit, de manière simplifiée comme suit (Metahri, 2012) :

- Dans le bassin d'anaérobiose, les bactéries déphosphatantes, synthétisent un produit de réserve, les poly-β-alcanoates (PHA), à partir du substrat facilement biodégradable des eaux usées et de l'énergie libérée par l'hydrolyse intracellulaire de polyphosphates. Il en résulte un relargage de phosphate dans le milieu externe.
- Dans le bassin d'aération, les poly-β-alcanoates (PHA) et la matière organique contenue dans les eaux usées sont oxydés par les bactéries. La respiration produit l'énergie nécessaire aux bactéries qui régénèrent leurs stocks de polyphosphates.

Conclusion partielle

L'enrichissement général d'un milieu aquatique en nutriments (principalement en azote et en phosphore) a comme conséquence l'augmentation de la production primaire, désigné souvent sous le phénomène d'eutrophisation. Parmi ces éléments, le phosphore est généralement désigné comme facteur limant ce phénomène. L'azote et le phosphore existent dans ce milieu soit sous forme organique, soit sous forme inorganique. Ils peuvent avoir des origines domestiques, industrielles etc. et leur cycle dans le milieu naturel différent par le fait que le

phosphore n'a pas de composante significative atmosphérique. L'azote peut être séparé des eaux par différents mécanismes : : physique (par décantation lorsqu'il est lié aux matières en suspension), physico-chimique (stripping sous forme de gaz ammoniac lorsque le pH est basique, oxydations et réductions chimiques) et biologique (incorporation aux bactéries produites, transformation en nitrates puis en azote gazeux lors des processus de nitrification-dénitrification). Le phosphore peut être éliminé des eaux usées par voie physico-chimique (assimilation) et par voie biologique (suraccumulation).

CHAPITRE II. PHYTOEPURATION DES EAUX USEES ET ETDUDE DES METABOLITES SECONDAIRES DES VÉGÉTAUX

II.1. Phytoépuration des eaux usées

II. 1 .1. Principe de la phytoépuration

La phytoépuration est un système de traitement des eaux usées utilisant les plantes. Les plantes assimilent les nutriments contenus dans l'eau. Elles peuvent fixer toute une série de polluants y compris certains métaux lourds (Runying, 2009). La phytoépuration des eaux usées est basée sur le principe de symbiose entre les bactéries et les plantes. En effet, au cours ce processus les bactéries aérobies transforment les matières organiques en matières minérales assimilables par les plantes. A leur tour, les plantes approvisionnent, à partir de leurs racines, de l'oxygène dont les bactéries ont besoin (Sun *et al*., 2019). Appelés entre autres filtres plantés, bassins à macrophytes, zones humides, les marais artificiels permettent d'associer les capacités épuratoires naturelles des végétaux supérieurs, des micro-organismes et divers substrats. Plusieurs centaines de plantes utiles en phytoépuration ont été recensées dans le monde : *Roseaux, typha, P. stratiotes, E. crassipes, saule, iris*, etc.(Gupta et Mahindrakar, 2012; Mahunon *et al*., 2018), stimulant ainsi la biodiversité. En poussant, les plantes vont absorber les éléments qui leur sont nécessaires pour leur croissance, apporter de l'oxygène aux microorganismes qui interviennent dans la décomposition des matières organiques (phytodégradation), ou encore fixer certains polluants plus toxiques. Ainsi, il existe plusieurs applications pour cette technique : on peut traiter des eaux usées urbaines, des rejets industriels, ou même créer des piscines naturelles ou filtrer des eaux pluviales.

II.1.2. Mécanismes d'absorption des polluants par les plantes

La phytoremédiation regroupe un grand nombre de mécanismes très différents les uns des autres, agissant sur des polluants organiques ou inorganiques. Chaque plante peut agir par différents moyens, soit par ses racines et les microorganismes qui y sont associés, soit par ses tissus et par son métabolisme. Dans les sections qui suivent, l'on décrira les diverses techniques de phytoremédiation, qui sont basées sur différents principes d'action (extraction, stabilisation, dégradation, volatilisation ou filtration) (Conesa *et al 2012*). Même si ces processus ne sont pas mutuellement exclusifs et peuvent opérer simultanément (Pilon-Smits, 2005), il convient de distinguer leur fonctionnement propre. Par exemple, la phytoremédiation est souvent confondue avec la phytoextraction, mais ces deux termes ne sont pas équivalents comme vous le verrez ci-

dessous. Ainsi, les composés organiques non biodégradables sont généralement dégradés par phytodégradation ou rhizodégradation, alors que les composés inorganiques sont plus souvent accumulés par phytoextraction ou par rhizofiltration, ou encore complexés par phytostabilisation.

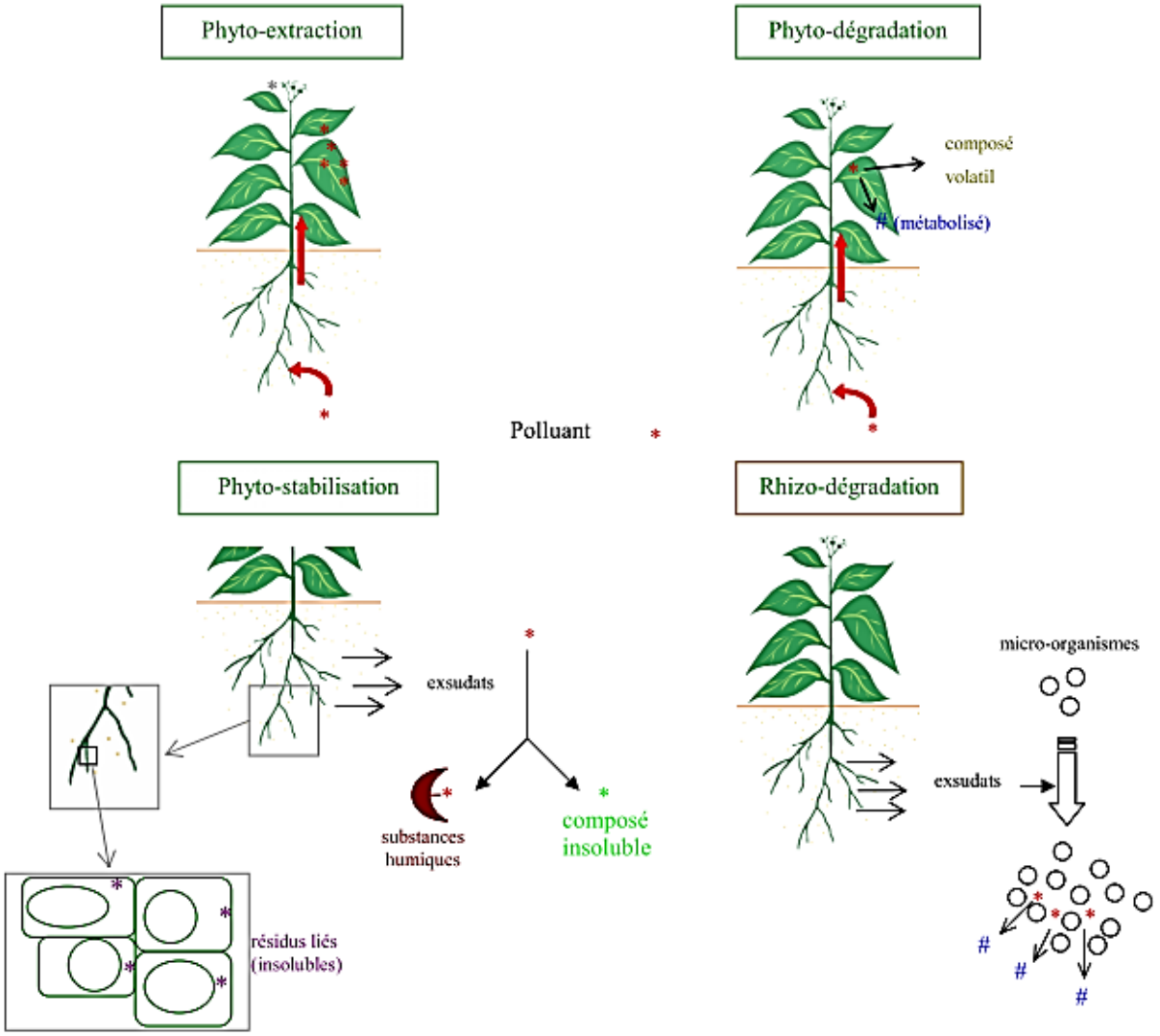


Figure 8 : Processus mis en œuvre par les plantes lors de la phytoremédiation (Vila, 2006)

IV.1.2.1. Rhizofiltration ou phytostabilisation

Certaines plantes ont la capacité de sécréter des composés par voie racinaire afin de complexer les polluants dans leur milieu au lieu de les absorber. A travers leurs exsudats racinaires, les plantes induisent des changements des paramètres physico-chimiques (pH, potentiel rédox, etc.) dans la rhizosphère modifiant la forme chimique des contaminants et conduisant à leur rétention sous des formes moins mobiles (Figure 9). Ces exsudats racinaires servent également de source d'énergie pour l'activité des microorganismes (Olson *et al.*, 2004). La fourniture de substrats

organiques peut également être favorable à la sorption des polluants au niveau de la rhizosphère, contribuant ainsi à leur phytostabilisation (Gadd, 2010). Le fort potentiel d'évapotranspiration de certains végétaux est mis en exergue dans les alentours d'effluents contaminés pour freiner le ruissellement de l'eau ou sa diffusion dans le sol (Olson *et al*., 2004).

La rhizofiltration pourrait être utilisée pour traiter les eaux usées municipales ou industrielles, le ruissellement de surface ou l'eau qui s'infiltre dans le sol en zone agricole, le lixiviat des mines et des sites d'enfouissement, ou encore la contamination de l'eau souterraine ((Vila, 2006 ; Pilon-Smits, 2005). La rhizofiltration peut utiliser des plantes aquatiques ou des plantes terrestres, et parfois une combinaison d'espèces ayant des propriétés complémentaires (Vila, 2006). La rhizofiltration repose souvent sur des systèmes en réacteur (flow-through) qui maximisent le contact entre l'eau et les racines, et minimisent ainsi la durée du traitement (Olson et al., 2004). La rhizofiltration peut prendre la forme d'un étang artificiel ou d'un système hydroponique (Pilon-Smits, 2005).

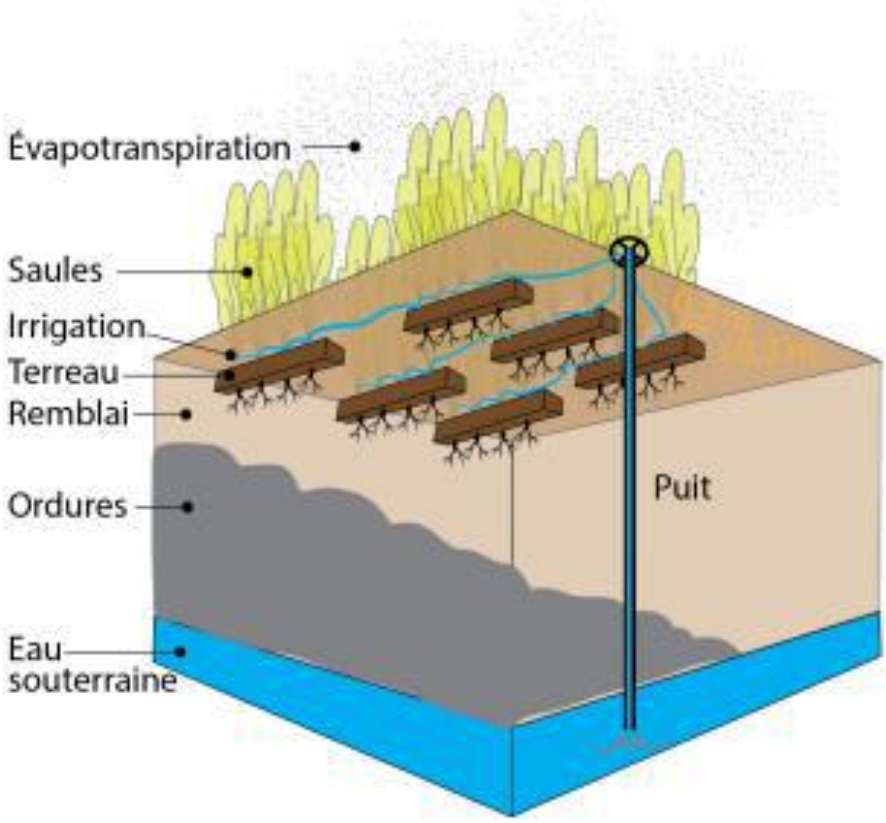


Figure 9 : Dispositif de rhizofiltration pour accéder aux contaminants en profondeur à Pointe-Saint Charles (Vila, 2006)

IV.2.2. Phytoextraction

La phytoextraction encore appelée phytoaccumulation permet aux plantes de retirer les polluants disponibles et de les accumuler dans leurs parties aériennes que l'on peut récolter par la suite (Figure 10). Il en résulte une absorption et une accumulation des polluants dans les

tissus aériens sans impliquer leur dégradation (Vila, 2006). Une fois dans la plante, les contaminants peuvent rester dans les racines, mais pour faciliter l'extraction, l'idéal est qu'un maximum soit transloqué avec la sève, dans les vaisseaux du xylème, vers les parties aériennes de la plante. Ceci a lieu quand il existe une pression négative dans le xylème, créée par la transpiration des feuilles qui s'accélère sous l'effet de la chaleur, du vent, d'une faible humidité ambiante ou d'une lumière forte.

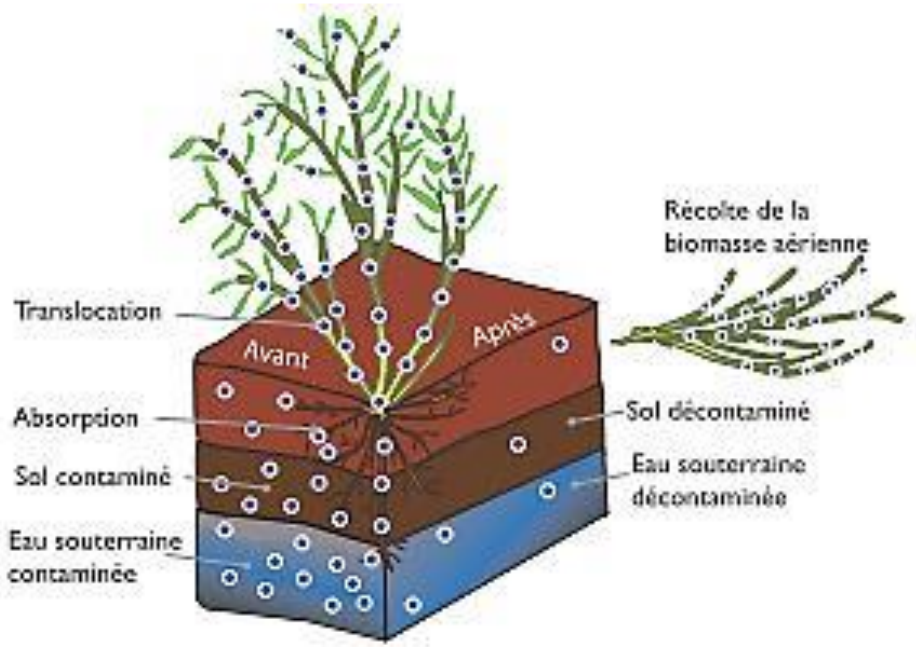


Figure 10 : Principe de la phytoextraction des polluants (Vila, 2006)

IV.2.3. Phytovolatilisation

La phytovolatilisation consiste à l'extraction des polluants organiques et de certains composés inorganiques par les plantes qui les transportent dans leur système vasculaire, puis les relarguent dans l'atmosphère par transpiration (Figure 11). Elle correspond à l'évapotranspiration des contaminants par voie racinaire ou aérienne des plantes après leur absorption et leur éventuelle conversion sous une forme volatile (Chaney et al., 1997). Il n'est donc pas nécessaire de récolter et de traiter les plantes utilisées. Cependant, le risque du transfert des polluants vers l'atmosphère doit être bien caractérisé avant d'entreprendre de la phytovolatilisation.

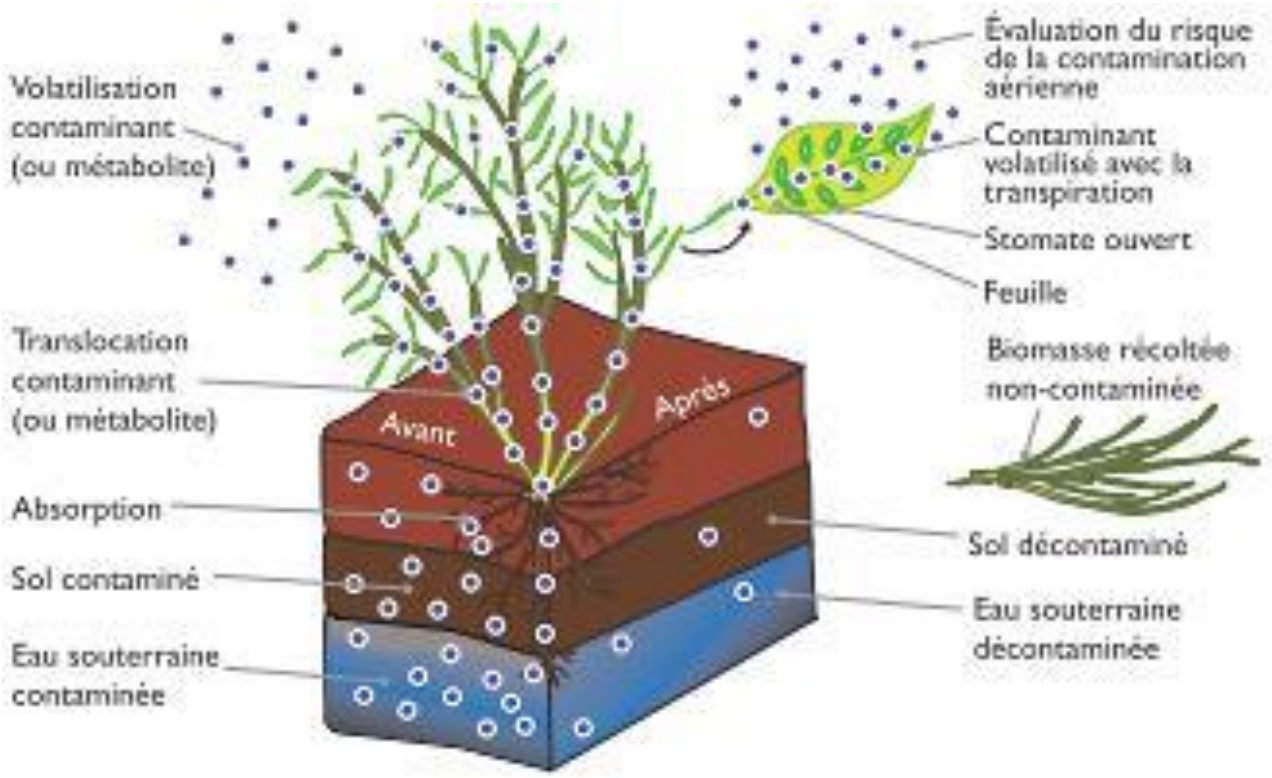


Figure 11 : Principe de la phytovolatilisation des éléments traces métalliques (Pilon-Smits, 2005)

II.1.3. Avantages et inconvénients de la phytoépuration

II. 1.3.1. Avantages de la phytoépuration

Parmi les avantages de la phytoépuration on peut citer (Deronzier et Choubert, 2004) :

- un aspect paysager qui fournit de l'oxygène au milieu naturel ;
- peu consommatrice d'énergie ;
- durabilité : l'action mécanique du vent sur les plantes fait bouger les racines ce qui évite le colmatage ;
- l'eau à la sortie peut être utilisée pour arroser les jardins ;
- un faible investissement.

II.1.3.2. Inconvénients de la phytoépuration

La phytoépuration a beaucoup d'avantages, toutefois, il y a quelques inconvénients (Deronzier et Choubert, 2004):

- un traitement primaire est impératif en amont ;
- une surface importante ;
- elle demande beaucoup d'entretien ;

- il n’est pas applicable dans des zones trop polluées.

II.1. 3. Lagunage naturel ou lagunage à microphytes

Le lagunage naturel est un procédé d’autoépuration naturel des eaux usées qui consiste à faire circuler des effluents dans une série de bassins pendant un temps suffisamment long (Hakima, 2010). Il est pratiqué dans des bassins de faible profondeur dans les régions très ensoleillées. Le principe général de ce processus est de créer, dans des bassins, des chaînes alimentaires aquatiques (Figure 12). Le rayonnement solaire est utilisé comme source d'énergie permettant la production de matières vivantes par les chaînes trophiques (Boukary, 2019). Les substances nutritives sont apportées par l'effluent alors que les végétaux fournissent au système les matières consommables et l’oxygène (Hakima, 2010).

Les bactéries assurent la part importante dans l'épuration. La microfaune quant à elle contribue à l'éclaircissement du milieu par ingestion directe des matières organiques mais également des populations bactériennes et algales mortes (Boukary, 2019). Ce procédé simple demande de grandes surfaces car les temps de réactions sont très longs (Benmoussa et Gasmi., 2015). Pour que le lagunage s'effectue dans de bonnes conditions d'aérobiose, tout en évitant les odeurs et la prolifération des insectes, il faut préconiser une décantation primaire des effluents. On évite, ainsi, un colmatage rapide des bassins. Suivant les régions, on peut traiter par ce procédé entre 25 et 50 kg de DBO par ha et par jour (Perera. et Baudot, 1991). La faiblesse majeure de ce type de procédé est le dépôt qui se produit à la longue et qui reste en phase anaérobie. Ce traitement demande des surfaces importantes avec des temps de séjour pouvant varier entre 30 et 60 jours et une profondeur des bassins variant entre 0, 5 et 1, 2 m (Boukary, 2019).

On peut distinguer 3 catégories de lagunages à microphytes (Benmoussa.et Gasmi., 2015). : le lagunage naturel, le lagunage aéré et le lagunage anaérobie

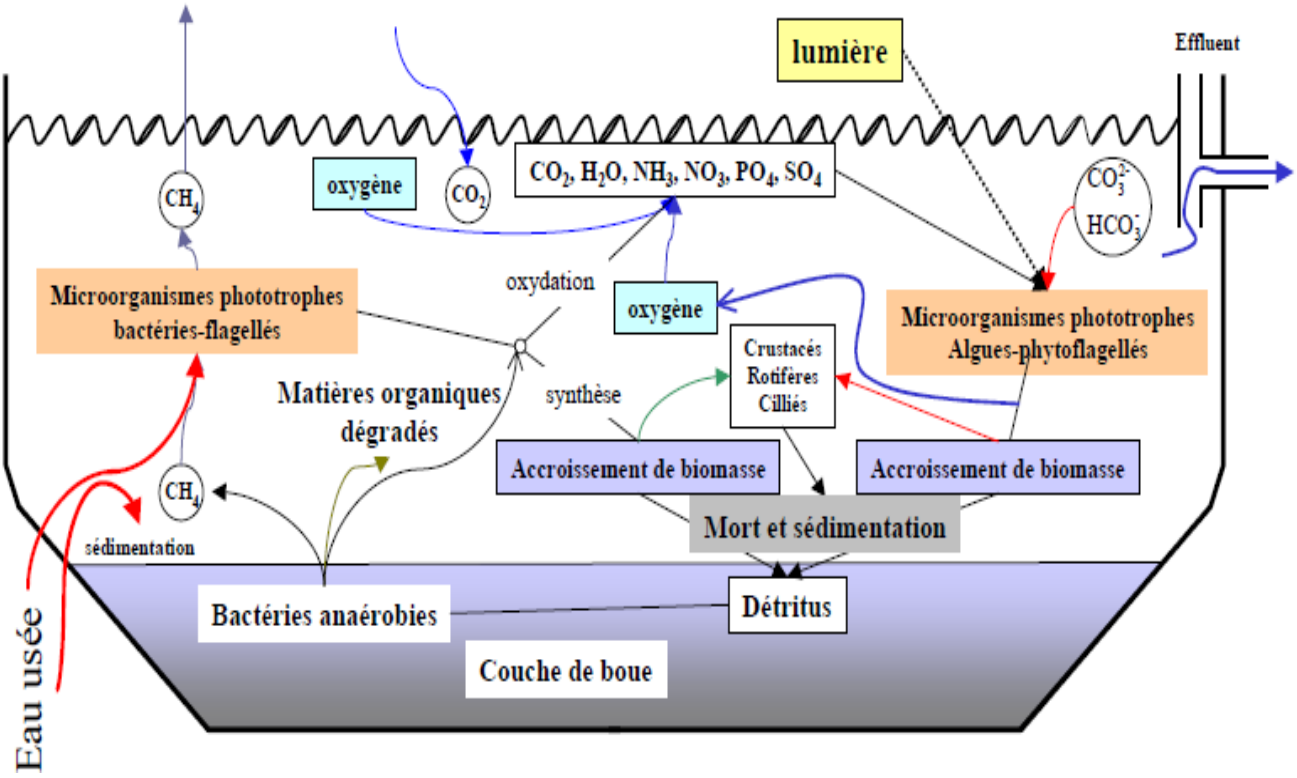


Figure 12: Mécanismes biologiques dans un procédé de lagunage (Boukary, 2019)

II.1.4.1. Lagunage naturel

Il est constitué des bassins de faible profondeur où l'eau va stagner pendant une période plus ou moins longue. Les microphytes, qui sont des algues planctoniques, se développent dans ce bassin. Elles consomment la pollution azotée et phosphatée des eaux usées. Le lagunage à microphytes est souvent le premier bassin d'une station de lagunage car ce traitement est insuffisant et nécessite un lagunage à macrophytes (Justoberthe, 2013). La photosynthèse produite par les algues augmente la teneur en oxygène de l'eau que les microorganismes ont besoin.

Les rôles des microorganismes dans l'épuration des eaux usées sont :

- ils fournissent des éléments nutritifs aux plantes à partir des réactions de dégradations des matières organiques ;
- ils nourrissent des effluents et dégradent la matière organique qui devient dès lors assimilable par les plantes.

II.1.4.2. Lagunage aéré

En fournissant l'oxygène par un moyen mécanique, on réduit les volumes nécessaires et on peut accroître la profondeur de la lagune (Boukary, 2019). La concentration en bactéries est plus importante qu'en lagunage naturel. Le temps de séjour est de l'ordre d'une semaine et la profondeur varie de 1 à 4 m. Le rendement peut être 80 % et il n'y a pas de recyclage de boues (Hakima, 2010). L'homogénéisation doit être satisfaisante pour éviter les dépôts. Certains rejets industriels sont traités par ce procédé qui reste valable pour les produits organiques très lentement biodégradables. Ces rejets sont caractérisés par de faibles teneurs en MES et avec des DBO dans la gamme de 300 à 1500 mgO_2/L (Hakima, 2010). Le brassage est effectué par des turbines fixées sur des flotteurs amarrés au centre du bassin (Manoli *et al*., 2000).

II.1.4.3. Lagunage anaérobie

Il n'est applicable que sur des effluents très concentrés et, le plus souvent comme prétraitement avant un étage aérobie. La couverture de ces lagunes et le traitement des gaz produits sont nécessaires vu les mauvaises odeurs produites. Les temps de séjour sont souvent supérieurs à 50 jours. Une profondeur importante (entre 5 et 6 m) est en principe un élément favorable au processus. En réalité, la distinction entre lagunage aérobie et anaérobie est superflue, car dans les régions en amont ou profondes des lagunes aérobies, on observe souvent une déficience d'oxygène. Un curage des bassins tous les 10 ans est nécessaire du fait de la production des boues (Boukary, 2019).

II.1. 4. Lagunage à macrophytes flottants

Le lagunage à macrophytes est apparu pour la première fois aux États Unis à San Diego en 1981. Il a été adapté en Afrique à partir du Cameroun (Yaoundé) à l'aide des macrophytes flottants de *P. stratiotes* en 1986 (Morel, 1998).

Dans le cas des lagunes à macrophytes, les eaux passent dans des bassins de lagunage couvert de plantes aquatiques flottantes. Le traitement devient aérobie dans la rhizosphère tandis que les décomposeurs anaérobies du fond continuent à dégrader la matière organique qui à son tour libère des éléments nutritifs à la surface où ils sont piégés dans les racines des plantes (Vivier, 1994). La surface des feuilles permet de réguler la température ce qui a un impact sur les rendements épuratoires surtout dans les climats froids (Morel, 1998). De petites quantités d'oxygène provenant des parties aériennes sont rejetées à l'apex des radicelles des plantes, mais

elles sont insuffisantes pour contribuer seules à la satisfaction des besoins d'oxygène de la biomasse bactérienne responsable de la dégradation de la matière organique ce qui fait qu'une partie d'oxygène est fournie aux microorganismes à travers les racines des plantes (Guittonny-Philipe *et al*., 2015). Les tissus racinaires et leurs exsudats constituent vraisemblablement des niches plus accueillantes pour les microorganismes ainsi que des substrats minéraux inertes (Vivier, 1994). Le rôle métabolique des plantes (assimilation des nutriments) affecte plus ou moins le traitement en fonction des surfaces mises en jeu. Enfin , ces plantes servent de support au développement des bactéries qui réalisent l'épuration des matières organiques rendant disponibles les nutriments nécessaires à la croissance de la plante qui, à son tour fournit l'oxygène nécessaire à la survie de ces bactéries hétérotrophes (Chirakkara et Reddy, 2015; Sukumaran *et al*., 2013).

Le milieu humide étant favorable pour leur multiplication ; les microorganismes font partis des matières dont sont chargées les eaux usées. Véritables « ciseaux biologiques » ; elles les convertissent en molécules inoffensives. La décomposition de la matière organique et la dénitrification d'azote dans la région des racines des plantes où s'effectue le traitement se fait par l'intermédiaire des microorganismes (Kobayashi et Rittmann, 1982)

II.1.5. Marais artificiels

Les marais artificiels sont généralement appelés lits à macrophytes, filtres plantés de macrophytes ou encore filtres plantés de roseaux (Prigent, 2013). Ils permettent d'infiltrer un effluent brut à travers des lits composés de terre ou d'un mélange de sables et de graviers sur lesquels sont plantés les macrophytes (Brix, 1997). Ils ont l'avantage d'être moins exigeante en termes de coûts de mise en œuvre et d'exploitation d'autant plus qu'ils ne nécessitent pas un apport énergétique (Koné, 2002). Le procédé d'épuration des eaux usées par marais artificiel est basé sur les connaissances scientifiques et techniques des marais naturels. En effet, la reproduction des mécanismes épuratoires présents dans des marais naturels est mise en jeu dans les marais artificiels (Prigent, 2013).

On peut classer les filtres plantés en deux catégories, suivant le sens de l'écoulement de l'effluent à traiter :

- les filtres plantés à écoulement vertical (FPEV) ;
- les filtres plantés à écoulement horizontal (FPEH).

Les FPEV sont alimentés en surface, percole verticalement à travers le substrat. La rétention des matières en suspension s'effectue à la surface des filtres (Poulet *et al.* , 2004).

Les FPEH ne sont pas alimentés par la surface, comme les filtres verticaux. Les eaux usées décantées entrent directement dans le massif filtrant à travers un gabion d'alimentation, Il est donc nécessaire de débarrasser l'effluent, au préalable, des matières en suspension soit par un premier étage de filtration verticale , soit par l'intermédiaire d'un décanteur placé en amont (Poulet *et al.*, 2004)

II.2. ETUDE DES METABOLITES SECONDAIRES DES VEGETAUX

Les **métabolites primaires** regroupent toutes les composés indispensables à la croissance et au développement de la plante. Ils jouent donc un rôle clé et bien établi chez tous les végétaux (acides aminés et protéines, acides gras, sucres et polysaccharides…) (Royer, 2013).

Contrairement aux métabolites primaires, **les métabolites secondaires** regroupent les autres voies de synthèse de composés qui ne sont pas directement impliqués dans la croissance de la plante. Les métabolites secondaires agissent chez la plante au moment où elle s'adapte avec son environnement (attraction d'insectes utiles pour la pollinisation, soutien, défense, protection contre les rayonnement UV, mise en place de symbiose, etc.) (Royer, 2013). Certains de ces composés participent à la défense contre les bio-agresseurs (Herms et Mattson, 1992).

II.2.1. Classification des métabolites secondaires

On distingue quatre (4) catégories principales de métabolites secondaires chez les végétaux, et une catégorie secondaire de composés mixtes(Dai et Mumper, 2010). Ce sont :

- les composés terpéniques ;
- les composés phénoliques ;
- les alcaloïdes et composés azotés (dérivés des acides aminés).

II.2.1. 1. Terpénoïdes

Le nom terpénoïde est attribué à ces métabolites secondaires à cause de leur origine d'isolement qui est térébenthine qui provient du mot grec « terpentin ». Ils sont constitués par la polymérisation des unités à cinq (5) atomes (Figure 13) de carbone (Krief, 2003).

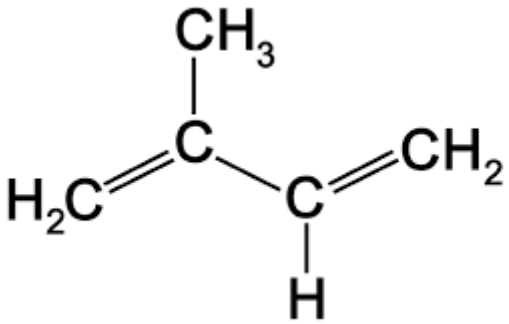


Figure 13 : Structure de l'Isoprène (Krief, 2003)

II.2.1.2. Composés phénoliques

L'appellation « polyphénols » ou « composés phénoliques » regroupe un vaste ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à six (6) carbones, lui-même porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH).

Les polyphénols représentent une famille de molécules organiques largement disponibles dans le règne végétal. Ils se distinguent des autres composés, comme l'indique leur nom, par la présence d'au moins deux (2) groupements phénoliques associés en structures plus ou moins complexes, ayant un poids moléculaire élevé (Figure 14)**.** Les polyphénols prennent une place croissante dans les travaux des chercheurs, notamment à cause de leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, ils jouent un rôle d'antioxydants naturels et sont de plus en plus utilisés dans la prévention et le traitement des maladies inflammatoires, cardiovasculaires, neurodégénératives et du caner. Ils sont également utilisés comme additifs dans les industries pharmaceutiques, agroalimentaires et cosmétiques (Dai et Mumper, 2010).

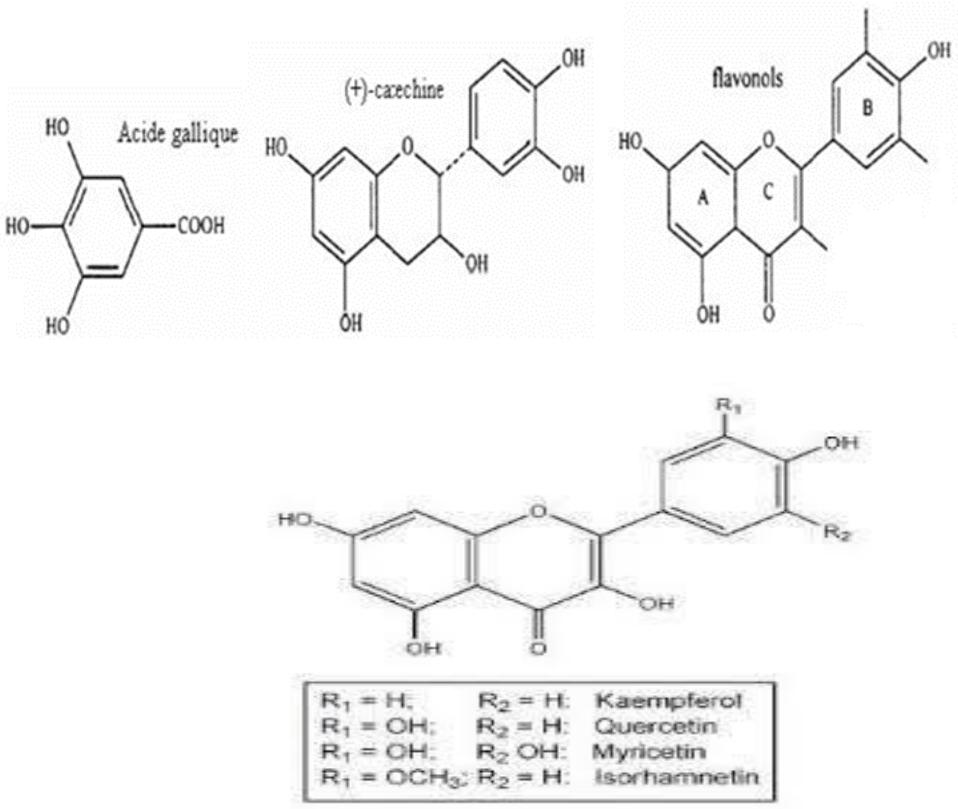


Figure 14: Structures de base des composés phénoliques (Macheix, 1996)

Les composes phénoliques ont été impliqués depuis longtemps dans certains aspects de la physiologie de la plante et regroupent d'une part la plupart des aspects classiques et d'autre part certaines orientations ou des arguments expérimentaux décisifs ont été apportés récemment, grâce en particulier aux données de la biologie moléculaire (Macheix, 1996). La Figure 15 présente l'importance des composés phénoliques dans la vie d'une plante et pour l'homme.

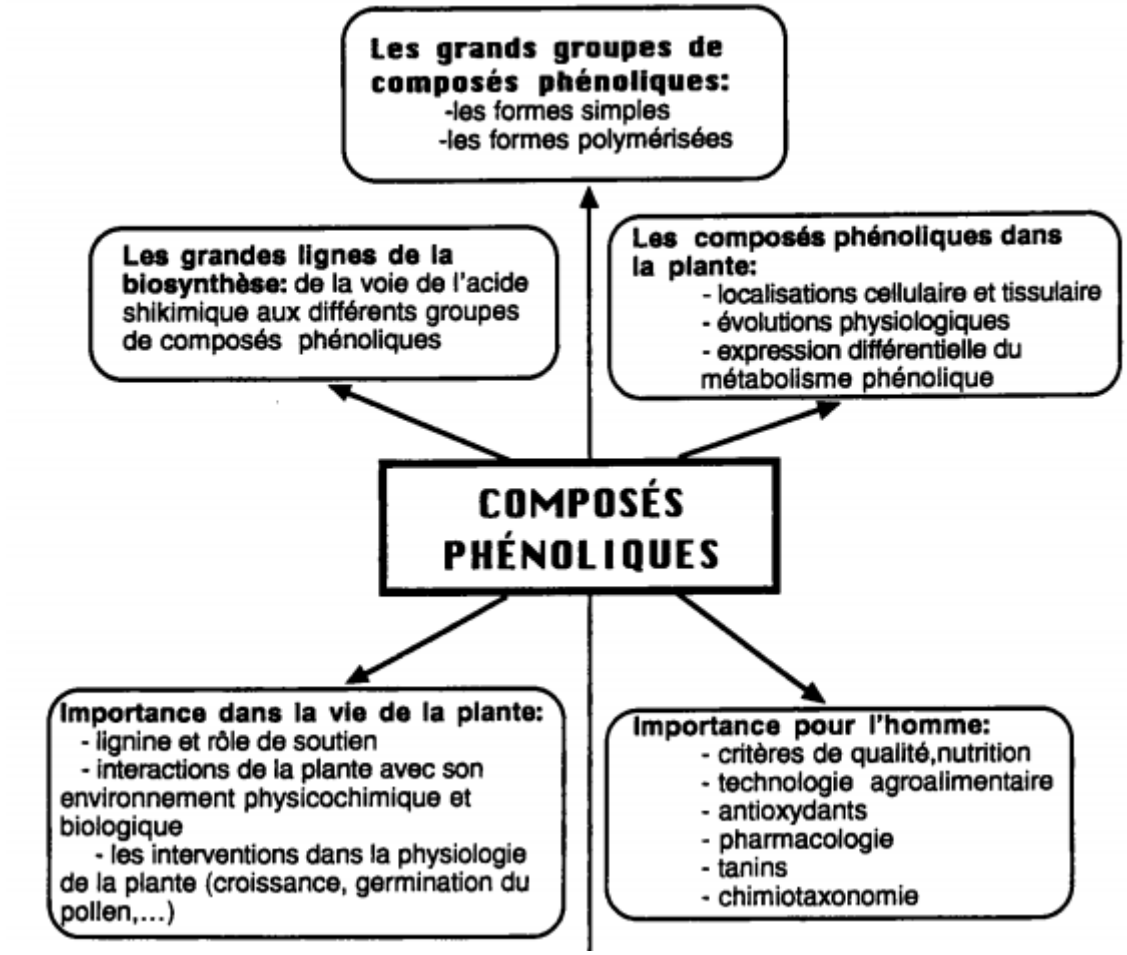


Figure 15 : Importance des composes phénoliques dans la vie de la plante (Macheix, 1996)

II.2.1.2.1. Flavonoïdes (composés mixtes)

La structure de base des flavonoïdes est le noyau flavanique, contenant 15 atomes de carbone disposés en trois (3) cycles (C_6-C_3-C_6), qui sont marqués A, B et C (Figure 16). Les flavonoïdes sont eux-mêmes divisés en six sous-groupes : flavones, flavonols, flavanols, flavanones, isoflavones et anthocyanes, selon l'état d'oxydation du cycle central (D'Archivio *et al*., 2007). Les flavonoïdes sont impliqués dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales et protègent également les plantes contre les radiations UV (Tohge *et al*., 2018). Ils agissent comme des pigments ou des co-pigments. Les flavonoïdes peuvent moduler la distribution d'auxine. Ils fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses. Ils facilitent la fixation de l'azote moléculaire. Ils interviennent également dans l'élongation des tiges et dans la maturité des fruits. Les flavonoïdes sont à l'origine des goûts amers et astringents afin de repousser les animaux herbivores (Subramanian *et al.*, 2007).

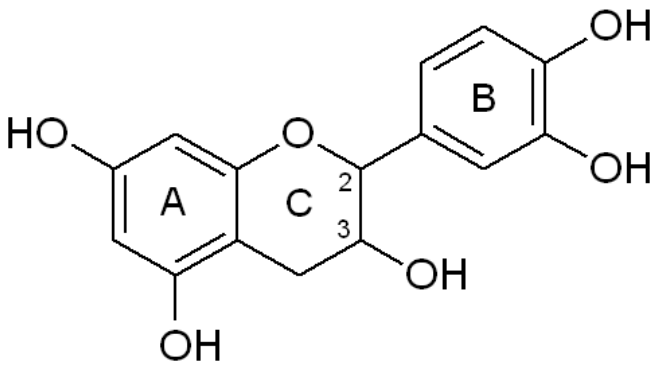


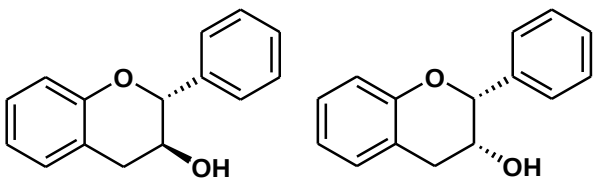
Figure 16 : Structures de bases de flavonoïdes (Krief, 2003)

II. 2. 1.2.2. Tannins

Les tanins constituent un groupe important de polyphénols dans notre alimentation et sont généralement subdivisés en deux groupes : les tanins condensés (Figure 17) et les tanins hydrolysables (Figure 18). Les tanins condensés sont des polymères ou oligomères de flavan-3-ol. Ils sont constitués d'unités de flavan-3-ol liées entre elles, par des liaisons carbone-carbone de type 4-8 ou 4-6.

Les tanins ont des propriétés anti-oxydantes, anti-microbiennes et anti-inflammatoires. Leur aptitude à piéger les radicaux libres pourrait réduire le risque de maladies cardio-vasculaires et de cancer (Macheix, 1996).

Chez les humains comme chez les animaux de laboratoires , plusieurs observations suggèrent que les tannins renferment un large spectre de propriétés thérapeutiques, pharmaceutiques et chimioprotectrices dues à leur propriété antiradicalaire (Tohge *et al*., 2005). En effet, les tannins protègent l'organisme contre les toxicités causées par différents agents chimiques contre l'hypercholestérolémie et les changements de la formule sanguine (ALT, BUN et CK). Ils jouent aussi un rôle important dans la lutte contre les deux formes de mort cellulaire connues, apoptose et nécrose, ralentissant ainsi les dommages causés dans l'ADN lors de la mort de ces deux dernières (Harrar, 2012).



Catéchine Epi-catéchine

Figure 17 : Structure des tannins condensés (Krief, 2003)

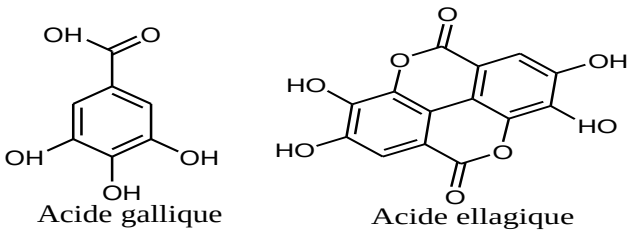


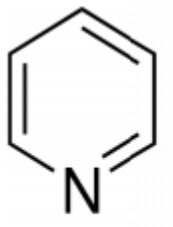
Figure 18 : Structures des tannins hydrolysables (Macheix, 1996)

Les tannins hydrolysables sont abondants chez les angiospermes et les gymnospermes et les tannins condensés encore appelés proanthocyanidines sont abondants chez les plantes dicotylédones. Sous l'action de la lumière solaire et en présence de l'acide carbonique, les tannins se forme dans les feuilles et est ensuite dirigé vers la partie inférieure de la plante où il s'accumule. Il n'entre pas dans la formation de nouveaux tissus mais joue le rôle de protection, principalement contre la pourriture (Lutz, 1928).

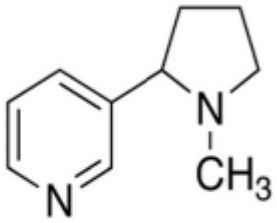
II.2.1.3. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés à bases azotées, le plus souvent hétérocycliques et dont la majorité d'entre eux sont d'origine végétale. Ils peuvent se regrouper sous forme de molécules organiques hétérocycliques azotées basiques (Figure 19). De tous les métabolites secondaires des végétaux connus, environ 20% appartiennent à la catégorie des alcaloïdes.

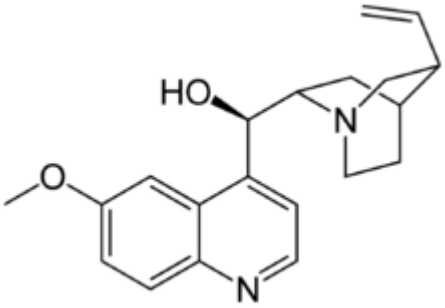
Les alcaloïdes sont des produits azotés basiques, d'origine naturelle dont l'atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et dont l'activité pharmacologique est significative. Les pseudo-alcaloïdes ne sont pas des dérivés des acides aminés. On les nomme alors alcaloïdes terpéniques et les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Les alcaloïdes ont, de plus, la propriété de réagir avec des sels de métaux lourds, ce qui permet leur caractérisation aisée (Krief, 2003). Les alcaloïdes en tant que composés du métabolisme secondaire jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores.



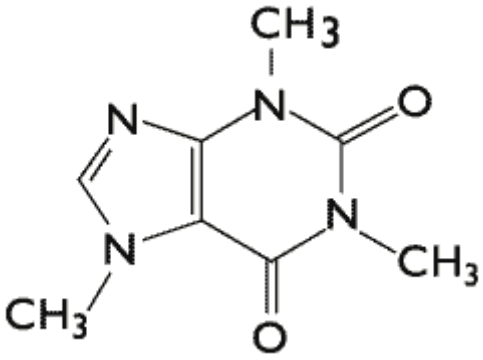
Pyridine



nicotine



Quinine



Caféine

Figure 19 : Structure de quelques alcaloïdes (Krief, 2003)

II.2.2. Mécanismes de défense des plantes contre les agresseurs

Au cours de leur croissance, toutes les plantes ont élaboré un système immunitaire capable de déceler la présence d'un danger, que ce dernier soit de nature abiotique (vent, gel, pluie, grêle) ou biotique (microorganisme pathogène, insecte ravageur) (Clérivet, 1996). En l'absence des lymphocytes et d'anticorps que l'on rencontre dans le système immunitaire humain, le système humanitaire des plantes se distingue par la variété des molécules de défense qu'il produit en présence d'un stress (Macheix, 1996). Cette stratégie de défense, activée par la présence d'un agresseur, entraine des modifications importantes sur l'activité métabolique des cellules végétales, se traduisant ainsi par une succession d'événements destinés à restreindre la progression des agents infectieux et à réduire les dommages causés par le danger (Benhamou et Rey, 2012). On distingue chez les plantes deux (2) types de résistance aux agresseurs dont la résistance passive constituée par des barrières préformées ou constitutives et la résistance active pour laquelle des barrières sont nouvellement formées en réponse au stress.

- **Défenses passives**

La défense passive, c'est la barrière physique, qui empêche l'agresseur de pénétrer à l'intérieur de la plante. Pour cela, les feuilles des plantes peuvent se présenter sous différentes formes

notamment avec cuticule plus cireuse ou épaisse, ce qui rend difficile l'accès à l'intérieur des cellules de l'épiderme foliaire. La paroi pectocellulosique assure une protection supplémentaire. Elle s'enveloppe chez chaque cellule végétale et freine son attaque par l'agresseur (Clérivet, 1996).

- **Défenses actives**

Il peut arriver que les barrières physiques soient insuffisantes pour empêcher le virus ou le champignon de pénétrer à l'intérieur de la cellule. Dans ce cas plusieurs réactions sont déclenchées à la suite de la présence de molécules étrangères permettant de prévenir contre l'agresseur. On peut simuler ces réactions défensives aux défenses immunitaires chez les animaux. Plusieurs mécanismes de défense peuvent avoir lieu, successivement ou simultanément (Macheix, 1996) :

La cellule infectée s'autodétruit (apoptose) dans le but de piéger l'agresseur : pour le faire, elle envoie un message d'alerte aux cellules environnantes et ces dernières se préparent elles-mêmes à contrer l'attaque, créant ainsi une zone de résistance destinée à empêcher la progression de l'agresseur dans la cellule.

Le signal d'alerte induit chez les autres cellules la synthèse de différentes substances défensives notamment l'acide salicylique et éthylène qui initient l'anabolisme des protéines de défense comme les chitinases, l'acide jasmonique qui induit la synthèse d'antibiotiques végétaux (phytoalexines). Le signal d'alerte peut aussi influencer la fabrication de la ligne et l'augmentation de l'épaisseur des parois cellulaires, afin de renforcer les barrières physiques (Clérivet, 1996). La destruction programmée des cellules infectées et le renforcement de l'épaisseur des parties endommagées sont à l'origine des taches nécrotiques que l'on observe sur les tiges ou les feuilles des plantes malades. En effet, les plantes détruisent elles-mêmes les zones infectées et les isolent des parties saines, afin de contourner l'agresseur. C'est ce qu'on appelle « politique de la terre brûlée » (Benhamou et Rey, 2012).

II.3. MACROPHYTES SELECTIONNEES POUR LE TRAITEMENT DE L'EAU.

Comme l'on a indiqué dans l'introduction, la sélection de plantes appropriées est un facteur clé dans la mise en œuvre de la phytoremédiation. Ces plantes doivent être capables de croître rapidement et d'accumuler de grandes quantités de nutriments lorsque leurs racines sont immergées dans l'eau à traiter. En outre, de nombreux facteurs environnementaux tels que la température, le pH, le rayonnement solaire, les nutriments et la salinité de l'eau peuvent influencer la croissance et les performances optimales des plantes (Gupta et Mahindrakar, 2012)

II.3.1. *Pistia Stratiotes (L.)*

II.3.1.1. Caractéristiques du *P. stratiotes*

P. stratiotes, parfois appelée « laitue d'eau », « salade d'eau » ou « chou aquatique », est une espèce de plantes aquatiques de la famille des Araceae (Verloove *et al.*, 2014). *Pistia stratiotes* est une plante vivace largement répandue dans les régions tropicales et subtropicales (Sukumaran *et al*., 2013). Dans de nombreux pays, il est connu comme l'une des plus importantes herbes aquatiques pantropicales (Šajna et al., 2007). C'est une plante flottante, dérivante, sans tige, formée de feuilles, de 5 à 25 cm de diamètre et de stolons courts donnant naissance à des plantes filles (Figure 20). Son mode de reproduction peut être sexuée ou asexuée (Gupta et Mahindrakar, 2012). En raison de sa distribution commune dans les environnements tropicaux, sa résistance à la variabilité climatique et son mode de reproduction rapide, *Pistia stratiotes* a été largement utilisé pour la phytoremédiation des eaux usées (Patel, 2010). Le Tableau 5 présente la classification botanique de *Pistia stratiotes*.

Tableau 5: Classification botanique de *Pistia stratiotes*

(Verloove *et al*., 2014)

Embranchement	*Phanérogames*
Sous-embranchement	*Angiospermes*
Classe	*Monocotylédones*
Sous -classe	*Arecidae*
Ordre	*Arales*
Famille	*Araceae*
Genre	*Pistia*
Espèce	*Stratiotes*
Nom binomial	*Pistia stratiotes L*



Figure 20 : Photographie de *Pistia stratiotes*

II.3.1.2 Facteurs écologiques du *P. stratiotes*

Par rapport à d'autres petites plantes aquatiques comme Lemna spp ; *P. stratiotes* a une productivité élevée (Reddy *et al*., 1983) ce qui lui permet d'avoir une grande capacité d'épuration des eaux usées du milieu eutrophe. En effet, comme l'ont indiqué Fonkou *et al*., (210) ; la laitue d'eau double sa biomasse seulement en 5 jours, elle la triple en 10 jours, la quadruple en 20 jours et voit sa biomasse initiale multipliée par un facteur 9 pendant 30 jours (Gupta et Mahindrakar, 2012). La connaissance de la tolérance à la salinité de la plante peut aider à mieux l'utiliser sans provoquer de catastrophe car elle a des effets significatifs sur sa croissance et ses performances. Selon Haller *et al.* (1974), les plantes flottantes telles que *Pistia stratiotes* ont un taux de survie plus élevé ce qui indique que *Pistia stratiotes* résiste à des conditions de salinité plus élevées mais ne pousse pas à des niveaux de la Demande Chimique en Oxygène (DCO) plus élevés (Sooknah et Wilkie, 2004). Toutefois, elle ne résiste pas aux températures inférieures à 15 °C, sa température de croissance optimum se situe entre 25 et 30 °C (Sale *et al*., 1985).

Bien que *Pistia stratiotes* puisse produire une biomasse élevée et éliminer de grandes quantités de nutriments et de métaux, elle peut ne pas convenir aux zones tempérées ou glaciales en raison de sa sensibilité aux températures froides, ce qui affecte considérablement ses performances. Clough et al., *(*1987) et Lu *et al*. (1987) ont suggéré que le Fe, Cu et Ni sont essentiels à la croissance des plantes, mais lorsqu'ils sont présents à des concentrations élevées, ils sont toxiques pour les plantes. Lu *et al*. (2010) ont également signalé qu'une faible concentration de nutriments peut réduire la performance de la plante à éliminer les nutriments.

II.3.1.3. Différentes utilisations du *Pistia stratiotes*

Le *P. stratiotes* peut avoir plusieurs applications notamment dans le domaine de traitement des eaux usées, dans la production d'énergie et de la médecine. Cette plante est parfois utilisée pour le traitement des eaux usées, la décontamination des métaux lourds, notamment en lagunage naturel. La *P. stratiotes* est un hyperaccumulateur de cadmium, de cuivre et de mercure (Koné, 2002), des nutriments et des matières organiques (Gupta et Mahindrakar 2012, Mahunon *et al*., 2017, Rezania et al. 2016). Il est aussi reconnu que cette plante a de grandes propriétés de fixation du calcium dissous contenu dans l'eau. Le calcium intervient dans la biosynthèse de l'acide oxalique et de l'oxalate de calcium rencontrés en concentration importante dans les tissus de la plante (Keates *et al*., 2000, Kostman et Franceschi, 2000). Dans

le domaine pastoral, *P. stratiotes* a été testée dans l'alimentation des bovins, des porcins et de la volaille en Malaisie et au Sénégal (Morel, 1996 ; Gonzaga et Monteiro, 2000).

Dans la médecine traditionnelle, Kokwaro (1976) a signalait déjà l'utilisation de *P. stratiotes* en Afrique de l'Est dans le traitement de la démence. Plusieurs auteurs rapportent que la cendre de la plante est un remède efficace contre la tachycardie et la toux, et qu'elle a également des propriétés antidysentérique et hypotensives (Watt et Breyer-Brandwijk, 1962 ; Kokwaro,1976 ; Colares *et al*., 1997). Les récents travaux ont mis en évidence quelques propriétés chimiques, biochimiques, médicales et pharmaceutiques de *P. stratiotes* qui laissent présager des possibilités de valorisation industrielle. En Inde, les feuilles sont utilisées en médecine traditionnelle contre la teigne, contre les chancres de la syphilis, les furoncles, blessures et maladies de la peau. Une étude récente a montré l'efficacité de l'extrait de feuille contre plusieurs dermatophytes responsables de mycoses de la peau**.** La médecine populaire chinoise utilise toute la plante contre l'eczéma et la syphilis (Premkumar *et al.* 2005).

II.3.2. *Eicchornia crassipes* (Mart.Solms)

II.3.2 .1. Caractéristiques de *E. crassipes*

E. crassipes (Mart.Solms) appelée jacinthe d'eau en français, membre de la famille des monocotylédones Pontederiaceae , est un macrophyte aquatique pérenne indigène flottant originaire de l'Amérique du Sud (Pilon-Smits, 2005). La plante est notoire en tant que mauvaise herbe exotique hautement nuisible en raison de son taux de croissance extrêmement vigoureux (Mishra *et al*., 2008). Cependant, étant donné sa forte capacité à absorber les éléments nutritifs , sa croissance rapide ainsi que ses racines logues et denses (Figure 21) contrairement au plantes émergentes dont les racines sont fixées au substrat, son système racinaire dense, ses caractéristiques physiologiques particulière et une intolérance aux conditions environnementales (Rommens *et al*., 2003), *E. crassipes* a été largement utilisée ces dernières années pour la phytoremédiation de nombreuses eaux usées (Chavan et Dhulap, 2012). Le Tableau 6 présente la classification botanique de *E. crassipes*.

Tableau 6 : Classification botanique de *E. crassipes*

(Jaikumar, 201)

Règne	*Plantae*
Sous-règne	*Tracheobionta*
Division	*Magnoliophyta*
Classe	*Liliopsida*
Sous-classe	*Commeinidae*
Super ordre	*Commelinanae*
Ordre	*pontederiales*
Famille	*Pontederiaceae*
Genre	*Eichhornia*
Espèce	*Crassipes*
Nom binomial	*Eichhornia crassipes (Mart.) salms*



Figure 21 : Photographie d'*Eichhornia crassipes*

II.3.2.2. Facteurs écologiques de *E. crassipes*

E. crassipes est une espèce envahissante à prolifération rapide. Elle possède deux (2) modes de reproduction, sexuel ou par graines et asexué ou végétatif, qui sont très efficaces. Il se reproduit principalement par voie végétative (Gupta et Mahindrakar, 2012) (filiations) à partir de fleurs dispersés par le courant. Ainsi, les nouvelles plantes sont produites par l'élongation des stolons due à la division des méristèmes axillaires de la plante mère. Les clones très fragiles restent attachés à la plante mère par le stolon et se détachent ensuite sous la pression des courants d'eau, ce qui permet à de nouveaux individus de coloniser d'autres zones (Mitchell, 1985).Si les conditions sont favorables, le nombre de plantes de *E. crassipes* double tous les 10 jours. Dix plantes seulement en huit mois peuvent produire une population de 655 330 individus (Gupta et Mahindrakar, 2012). Elle forme généralement des tapis denses et imbriqués en raison de son taux de reproduction rapide et de sa structure racinaire complexe. *E. crassipes* ne tolère pas les basses températures car le gel tue les feuilles extérieures de la plante. Sa température optimale de croissance se situe entre 25 et 30 °C (Sale *et al.*, 1985). Cette fourchette de température est bien adaptée au climat tropical humide de l'Afrique de l'Est (Burundi) et de l'Ouest (Côte d'Ivoire) où cette étude a été menée. Ce qui justifié le choix cette plante pour bien mener cette étude.

II.3.2.3. Différentes utilisations de *Eicchornia crassipes*

Les informations contenues dans la littérature rapportent que l'utilisation de *E. crassipes* dans le traitement des eaux usées est faite de différentes manières et avec différentes catégories d'eaux usées. Elle a été utilisée dans le traitement des eaux usées de l'industrie textile (Manjunath et Hina 2016), des eaux usées domestiques (Rezania *et al*., 2016) des eaux usées de porcherie (Sooknah et Wilkie, 2004, Mahunon *et al.*, 2017), des eaux usées des activités de teinture (Ugya *et al*., 2019) et des eaux usées de cuisine (Parwin *et al*., 2019. En plus de son utilisation dans le secteur de traitement des eaux, *E. crassipes* est utilisée dans l'agriculture, l'élevage (alimentation du bétail), l'artisanat, la médecine, l'énergie (Rezania *et al.* 2016, Almoustapha *et al*. 2009) et l'industrie. La Figure 22 récapitule sur les différents domaines de valorisation de *E. crassipes*.

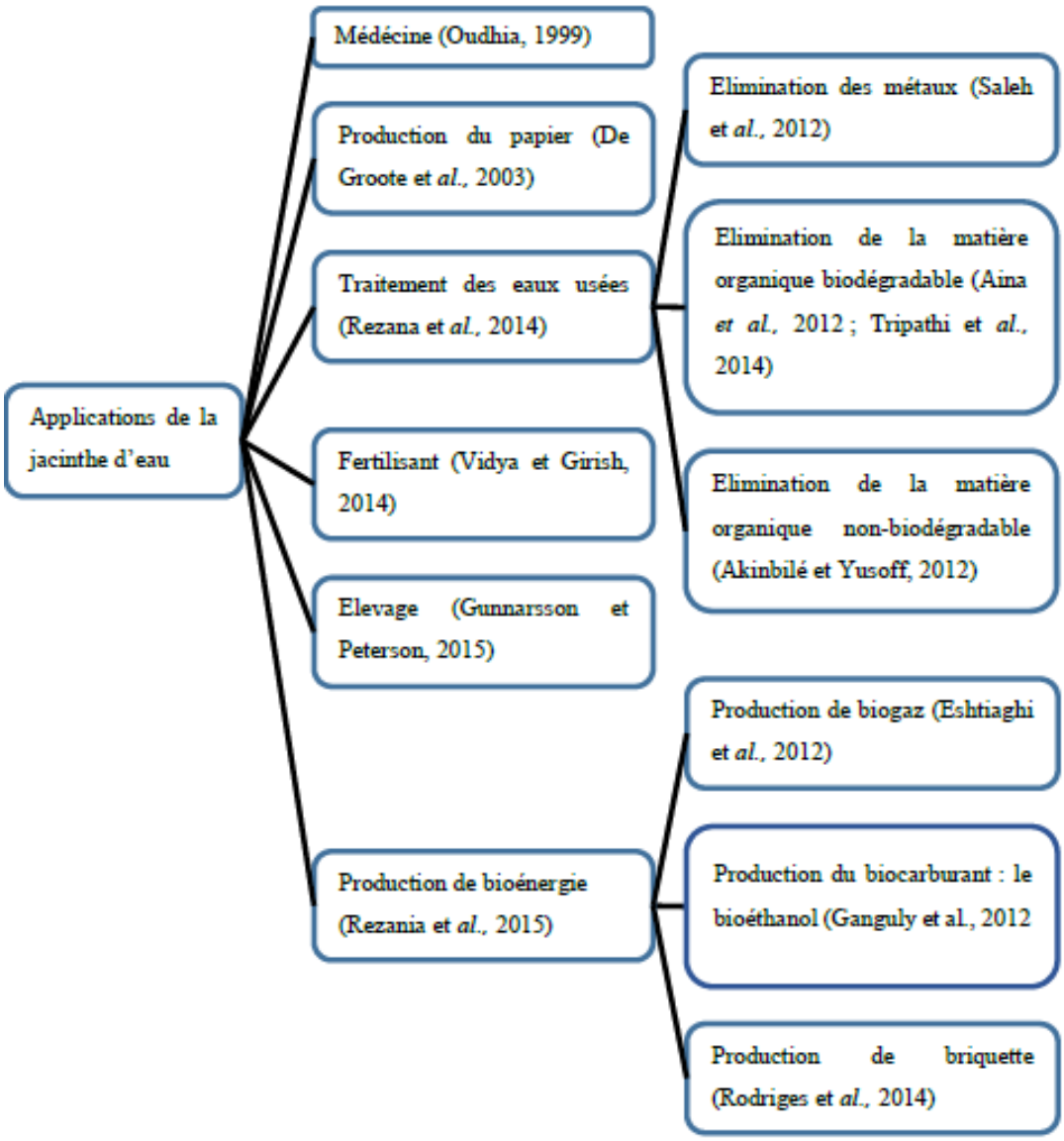


Figure 22 : Différentes applications d'*Eichhornia crassipes* (Shahabaldin *et al*., 2014)

Conclusion partielle

La phytoépuration est une technologie de traitement des eaux usées fiable est basée sur le principe de symbiose entre les bactéries et les plantes qui est bien acceptée par les habitants en raison de sa bonne aptitude à l'intégration paysagère. Ainsi, elle s'avère fortement recommandée pour les petites collectivités et les pays à faibles ressources financières. En outre, la technique consomme très peu ou pas d'énergie ce qui réduit considérablement les coûts d'exploitation d'autant plus que la maintenance revient à changer les filtres de décantation une seule fois par an alors que l'installation est assurée à vie .La technique présente aussi d'autres avantages dont le moins négligeable reste l'aspect esthétique et sanitaire car, la technique ne génère ni odeurs ni présence de moustiques, ce qui permet son installation à proximité immédiate des habitations tout en offrant des paysages agréables et variés par l'utilisation de plantes macrophytes florales. Les métabolites secondaires sont constitués de quatre (4) grandes familles : la famille des stéroïdes et terpènes, celle des alcaloïdes, celle des flavonoïdes et la famille des composés phénoliques. Chacune de ces familles a un rôle à jouer pour la plante pendant sa défense lorsqu'elle est exposée aux agressions extérieures telles que les agressions microbiologiques et la régulation des rayons ultraviolets émis par les rayons solaires. Ces derniers forment un groupe très large de métabolites secondaires rencontrés dans le règne végétal. On retrouve chez les plantes deux types de résistance : la résistance passive, impliquant des barrières préformées ou constitutives dont la plante s'est dotée à la suite d'une adaptation climatique, et la résistance active, impliquant des barrières nouvellement formées en réponse au stress.

CHAPITRE III. VALORISATION ENERGETIQUE DES MACROPHYTES PAR DIGESTION ANAEROBIE

III.1. Processus de digestion anaérobie

La digestion anaérobie consiste en la fermentation bactérienne des déchets en l'absence d'oxygène libre. La fermentation conduit à la dégradation des matières organiques complexes en quatre (4) étapes à savoir l'hydrolyse, l'acidogénèse, l'acétogenèse et la méthanogénèse (Abbasi *et al*., 2012). C'est un processus complexe, qui exige des conditions environnementales spécifiques et différentes populations bactériennes. Les différentes bactéries dégradent les composés organiques, produisant ainsi un produit final, un précieux mélange de gaz à haute énergie constitué principalement de méthane (CH_4) et de dioxyde de carbone (CO_2) (Lastella *et al*., 2002) appelé biogaz.

III.2. Etapes de la digestion anaérobie

III. 1.1. Hydrolyse

Elle consiste à dégrader les molécules organiques complexes appelées polymères en molécules de petites tailles dénommées monomères (Cazier, 2015). Les composés tels que les polysaccharides (comme l'amidon), les protéines et les lipides sont hydrolysés en sucres simples, en acides aminés, en glycérol et en acides gras. Cette transformation est réalisée par des enzymes extracellulaires. La plupart des molécules solubles dans l'eau sont facilement hydrolysables (Abbasi *et al*., 2012).

III.1.2. Acidogénèse

Cette phase, également appelée phase fermentative, décompose les différents monomères issus de l'hydrolyse en acides organiques à courte chaîne (2 à 6 carbones) ; ces acides sont constitués principalement de l'acide acétique, de l'acide propionique et de l'acide butyrique. Comme son nom l'indique, l'étape d'acidogénèse se manifeste souvent par une acidification du milieu. Elle est en général rapide en raison de la vitesse de croissance élevée des bactéries mises en jeu. D'autres co-produits sont également générés par ce processus comme le dioxyde de carbone (CO_2) et l'hydrogène (H_2), ainsi que de l'azote ammoniacal (sous forme NH_4^+ ou NH_3) dans le cas de la dégradation des protéines (Tchouate Heteu, 2003).

III.1.3. Acétogenèse

C'est l'étape où les acides gras volatils (AGV) et les substances de petite taille moléculaire (quelques alcools) sont transformés en acétate par des bactéries acétogènes, en produisant du dihydrogène (H_2) et du dioxyde de carbone (CO_2) (Benyahia, 2012). Ces molécules vont ensuite servir de substrat aux bactéries méthanogènes. Les bactéries acétogènes produisent de l'H_2 mais leur activité est inhibée par un excès de H_2 dans le milieu. Ainsi, la symbiose de ces bactéries avec les bactéries consommatrices d'H_2 (méthanogènes notamment) est indispensable pour garantir une bonne activité bactérienne dans le digesteur. Les acétogènes et les méthanogènes vivent fixées les unes aux autres. Une agitation rapide risque de détruire ce lien d'où la recommandation d'un brassage lent (Malina et Pohland, 1992).

III.1.4. Méthanogenèse

Les organismes méthanogènes, qui sont strictement anaérobies, consomment l'acétate, l'hydrogène et une partie du dioxyde de carbone pour produire du méthane. Leur taux de croissance est plus faible que celui des bactéries acidogènes. Trois (3) voies biochimiques (Eq.10 à Eq.12)) sont utilisées par les agents méthanogènes (Abbasi *et al.*, 2012) :

- Les méthanogènes acétotrophes responsables de 70 % de la production de méthane dans les digesteurs utilisant l'acétate :

  $$CH_3COOH \rightarrow CO_2 + CH_4 \qquad \textbf{(Eq.10)}$$

- Les méthanogènes hydrogénotrophes qui utilisent l'hydrogène et le dioxyde de carbone.

  $$CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O \qquad \textbf{(Eq.11)}$$

- Les méthanogènes méthylotrophiques qui utilisent des substrats méthyles (tels que le méthanol) et l'hydrogène pour produire du méthane

  $$CH_3OH + H_2 \rightarrow CH_4 + H_2O \qquad (\textbf{Eq. 12})$$

La Figure 23 illustre les différentes étapes de la digestion anaérobie.

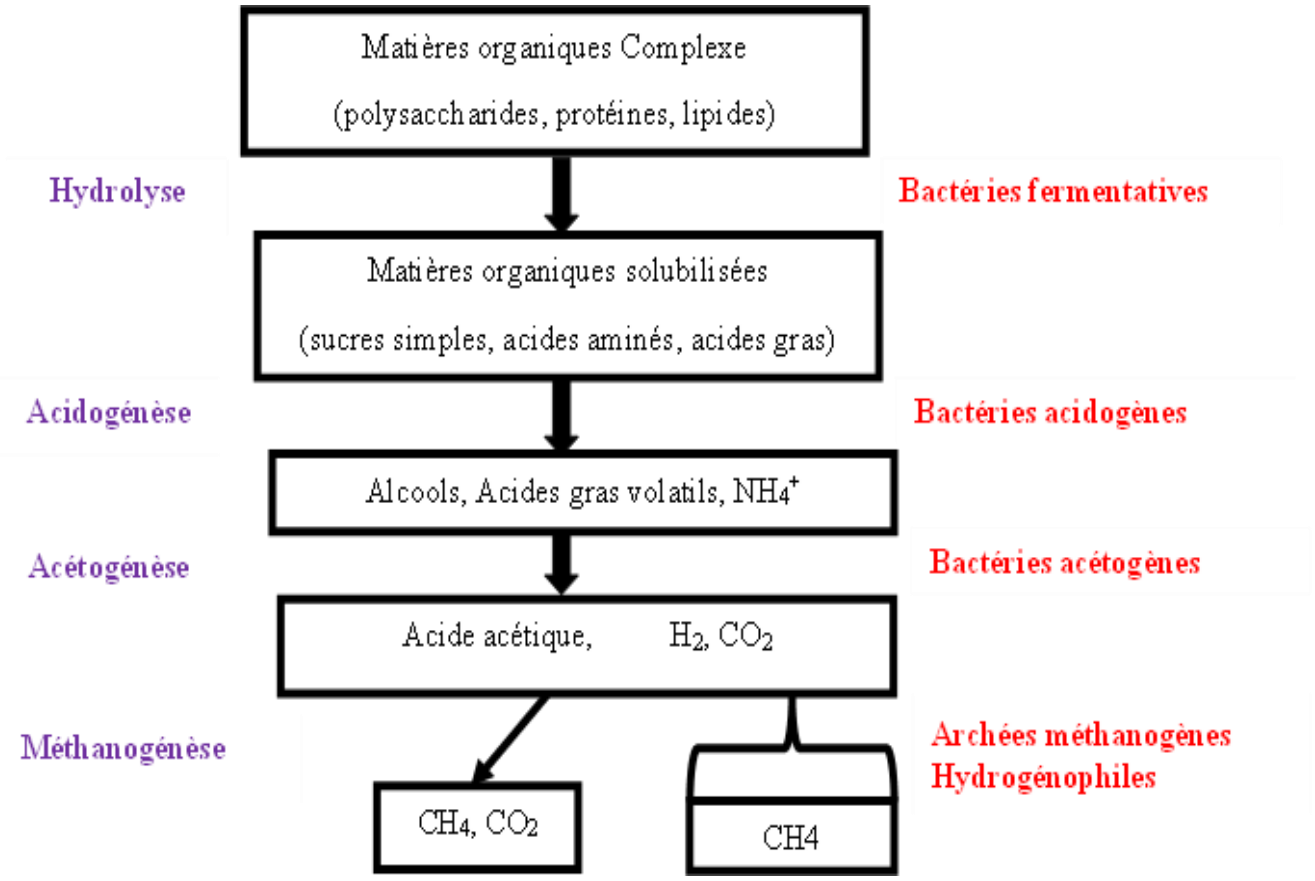


Figure 23 : Schéma récapitulatif d'étapes de la méthanisation (Cazier, 2015)

Malgré les avantages de la digestion anaérobie, en particulier la production de méthane (CH_4), potentiellement valorisable comme source d'énergie (Figure 24), elle possède aussi des inconvénients :

- la vitesse de croissance des microorganismes est très faible, ce qui nécessite de fixer des temps de séjour de boues élevés ;
- il y a potentiellement production d'odeurs ;
- elle est fortement dépendante du pH et sensible aux variations environnementales ;
- elle possède une écologie microbienne complexe, impliquant différents types de microorganismes, ce qui conduit à l'absence des conditions optimales simultanément pour tous les organismes.

Etant donné que parmi les constituants du biogaz, seul le méthane est valorisable énergétiquement, il serait intéressant de préciser l'équivalent énergétique d'un mètre cube (m^3) de méthane afin de pouvoir estimer l'énergie produit dans le temps (Figure 24).

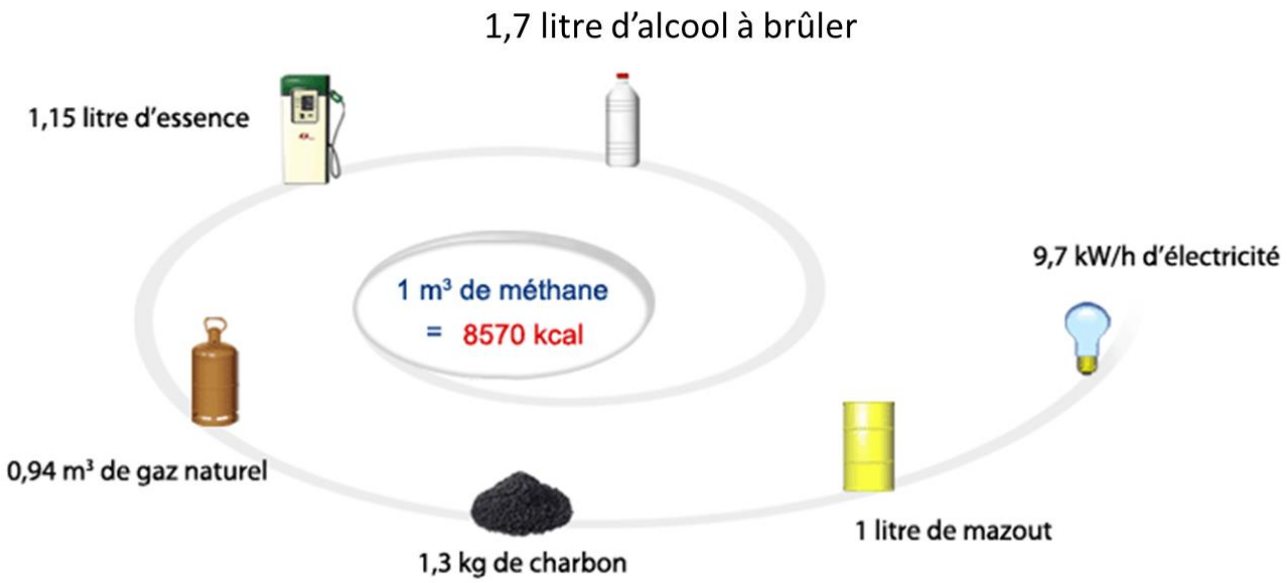


Figure 24 : Equivalents énergétiques du méthane (Benyahia, 2012)

III. 3. Facteurs influençant la digestion anaérobie

Le processus d'évolution de la digestion anaérobie dépend de plusieurs facteurs environnementaux. Il nécessite une interaction complexe de plusieurs paramètres qui doivent être en équilibre pour que le digesteur reste stable. Les modifications des conditions environnementales peuvent perturber l'équilibre et entraîner l'accumulation d'intermédiaires qui peuvent inhiber le processus global ou l'arrêter complètement (Gelegenis *et al*., 2007). Il s'avère nécessaire que le gestionnaire utilise des technologies de contrôle de ces paramètres et les ajuste en cas de besoin. Plusieurs facteurs à l'intérieur du digesteur ont un effet sur l'environnement physique et donc sur le taux de digestion des matières organiques et de production du biogaz (Ostrem, 2004). Les gestionnaires d'installations doivent surveiller et maintenir les paramètres tels que le pH, la température, le rapport C/N, le temps de séjour, le taux de la charge organique, la nature des substrats et l'agitation dans des limites acceptables (Khanal, 2011). En dehors de ces limites, le digesteur peut se rompre, ce qui peut coûter cher car le démarrage est un processus lent.

III. 3.1. Température

Les processus anaérobies, comme les autres processus biologiques, dépendent fortement de la température. Cependant, comme l'indique la Figure 25, la croissance de l'efficacité de ces processus n'est pas linéaire, mais dépend plutôt des zones idéales de température (Ostrem, 2004). Le rendement du processus est calculé en fonction de la production de biogaz, de la

vitesse de croissance des microorganismes et de la performance de dégradation du substrat (Khanal, 2011).

La conversion anaérobie de la matière organique atteint son efficacité maximale à une température de 35 à 50°C pour les conditions mésophiles et à environ 55°C pour les conditions thermophiles. Les processus anaérobies, cependant, peuvent fonctionner dans une plage de température de 10 à 45°C sans changements majeurs dans l'écosystème microbiologique. Bien que le processus de digestion anaérobie thermophile soit généralement plus efficace que le processus mésophile, il demande un apport énergétique supplémentaire. Cela conduit à la réduction du bilan énergétique par rapport au digestion anaérobie mésophile (Abbasi *et al.*, 2012). En général, les processus de traitement anaérobie sont plus sensibles que les processus de traitement aérobie (Khanal, 2011).

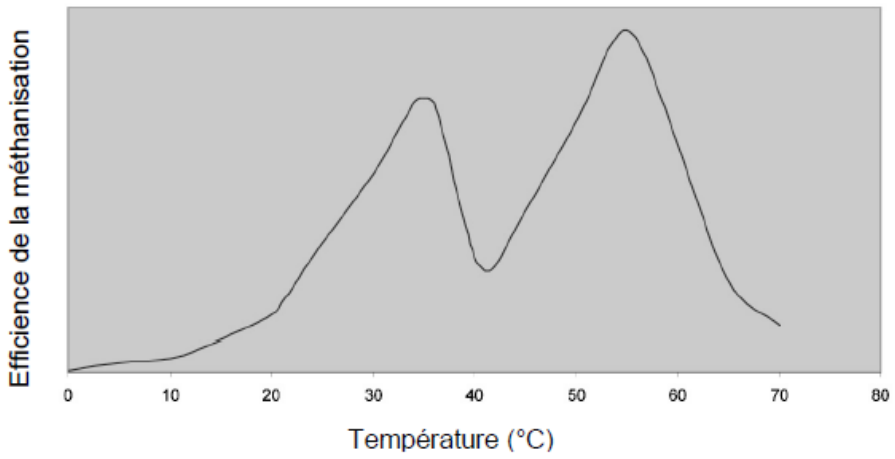


Figure 25 : Efficience de la digestion anaérobie selon la température (Ostrem, 2004)

III.3.2. Nature des substrats

Bien que les matières organiques soient capables de se dégrader et de produire du méthane, certaines d'entre elles possèdent plus de potentiel méthanogène que d'autres. La composition du substrat joue un rôle important car elle permet de définir la quantité de biogaz qui peut être produite par l'action des bactéries anaérobies. Par exemple la biomasse lignocellulosique peut se dégrader et former du méthane, mais la vitesse à laquelle se produit sa décomposition est lente en raison de la configuration de ses molécules, lesquelles sont plus résistantes à l'action des microorganismes (Mata-Álvarez, 2002). La matière grasse renferme des molécules riches en carbone et en hydrogène qui peuvent produire du biogaz avec une teneur élevée en méthane. Ce type de substrat demande aussi de long temps de séjour pour sa dégradation (Malina et Pohland, 1992). Les résidus d'origine animale peuvent aussi produire du biogaz mais leur

potentiel est limité étant donné qu'ils contiennent plus d'azote ammoniacal (NH_4^+) par rapport à d'autres types de biomasses utilisées. Une teneur élevée de cet élément perturbe l'activité des bactéries pendant la digestion anaérobie et diminue la formation du biogaz (Goux, 2015).

III.3.3. Rapport carbone/azote (C/N)

Le rapport C/N est une mesure des quantités relatives de carbone organique et d'azote présent dans la matière première. Il renseigne sur le degré de minéralisation de la matière organique d'un substrat donné. En effet, plus le taux d'azote est important, plus ce rapport est bas et cela accélère la vitesse de minéralisation. Pour la digestion anaérobie, le rapport C/N optimal est compris entre 20 et 30, la plupart des auteurs rapporte 25 comme niveau idéal (Ostrem, 2004). Un rapport plus élevé entraîne une consommation rapide de l'azote et cela conduit à une diminution de la quantité de biogaz produit. D'un autre côté, une trop faible valeur entraîne une accumulation d'ammoniac et un pH dépassant 8,5. La valeur de ce pH est toxique pour les bactéries méthanogènes. Cela peut conduire à l'inhibition du processus de biométhanisation et donc à une diminution ou même à un arrêt de la production de biogaz (Goux, 2015). Un rapport idéal peut être obtenu en mélangeant des déchets à faibles et à forts rapports C/N, comme par exemple la co-digestion des déchets organiques solides avec des déjections animales (Ostrem, 2004).

III.3.4. pH et alcalinité

L'acidité ou la basicité du milieu réactionnel joue un rôle important dans le fonctionnement d'un bioréacteur. En effet, le pH doit être compris entre 6,2 et 7,4 afin d'assurer l'équilibre physico-chimique du milieu réactionnel avec une valeur optimale autour de la neutralité (Guwy *et al*., 1997). Le contrôle régulier de ce paramètre est essentiel pour le bon fonctionnement d'un digesteur. Le pH varie au cours du procédé de la digestion anaérobie par les produits des différentes réactions. C'est notamment le carbone et les acides gras qui modifient les pH optimaux pour les différentes étapes de la digestion anaérobie. On peut ajuster les valeurs, soit en augmentant le pH optimal pour l'acidogénèse compris entre 5,5 et 6,5 ; soit en diminuant le pH optimal pour la méthanogénèse compris entre 6,8 et 7,2 (Ward *et al.,* 2008).

Le pouvoir tampon est souvent appelé alcalinité en digestion anaérobie. C'est l'équilibre entre le dioxyde de carbone et les ions bicarbonates. Ceux-ci permettent de résister aux changements importants et rapides de pH. Le pouvoir tampon est donc proportionnel à la concentration de bicarbonate. La mesure du pouvoir tampon est une méthode plus fiable pour mesurer le

déséquilibre du digesteur que les mesures directes de pH, car une accumulation d'acides gras à chaîne courte réduira la capacité de tamponnement de manière significative avant que le pH ne diminue. La régulation du pouvoir tampon du milieu est mieux réalisée en réduisant la charge. Une approche plus rapide est l'ajout de bases fortes ou de sels de carbonate pour éliminer le dioxyde de carbone de l'espace gazeux et le convertir en bicarbonate, ou bien le bicarbonate peut être ajouté directement (Guwy *et al*., 1997). L'ajout direct de bicarbonate est plus précis car la conversion du dioxyde de carbone en bicarbonate nécessitera un délai long pour que l'équilibre gazeux puisse se produire ; ce qui pourrait entraîner un surdosage. Il a également été démontré que le rapport substrat/inoculum peut être également ajusté pour maintenir un pH constant (Ward *et al*., 2008).

III.3.5. Temps de séjour

Le temps de séjour appelé également le temps de rétention est le temps pour lequel la matière première utilisée au cours de la digestion anaérobie reste dans le digesteur. Ce temps est déterminé par le temps moyen de digestion des matières organiques, mesuré par rapport à la DCO et DBO de l'effluent sortant. Plus un substrat est maintenu longtemps dans des conditions de réaction appropriées, plus sa dégradation sera complète. Cependant, la vitesse de production du biogaz diminuera avec l'augmentation du temps de séjour, ce qui indique qu'il existe un temps optimal pour obtenir la quantité maximum de ce dernier (Ostrem, 2004). Pour la plupart des procédés secs, le temps de rétention varie entre 14 et 30 jours, et pour les procédés humides, entre 15 et 20 jours. La valeur optimale varie en fonction de la technologie en place, la température du processus et la composition des déchets. Une bonne installation prendra en considération tous ces facteurs pour déterminer le temps de séjour.

III.3.6. Oxygénation et teneur en eau

L’oxygène est extrêmement toxique pour les bactéries anaérobies strictes (acétogènes et méthanogènes). Il est donc indispensable de protéger le milieu de toute entrée d'air. La façon la plus simple étant de travailler en système noyé (saturé en eau) dans une cuve avec un « ciel » de faible volume. Les procédés de méthanisation sont donc spécialement adaptés pour les déchets très humides (teneur en eau supérieure à 80 %) (Faixo, 2018).

III.3.7. Charge organique entrante

Si le déchet est bien fermentescible, il faut éviter les surcharges brutales (augmentation de plus de 20 % en moins d'une journée) qui risquent de déséquilibrer le processus et d'acidifier le milieu par suite d'une trop rapide production d'acides gras volatils. Pour les déchets organique dont la matière sèche représente 50%, on obtient environ 1 Nm^3 de biogaz par kilogramme de matière organique (1Nm^3/KgMO) dégradée (Goux, 2015).

III.3.8. Agitation

L'agitation du contenu du digesteur assure un transfert rapide de l'oxygène dans le liquide, une solubilisation rapide du substrat, un bon contact entre les microorganismes et le substrat et une homogénéité de la température. Elle empêche également la formation de la croûte en surface et facilite le dégagement du gaz (Ngoma *et al.,* 2015).

III.4. Différents types de digesteurs

Le digesteur, encore appelé fermenteur ou bioréacteur-anaérobie, est généralement constitué d'une cuve fermée, étanche à l'air et isolée thermiquement de l'extérieur dans laquelle les microorganismes se sont enfermés pour dégrader chimiquement et biologiquement les effluents organiques et produire du biogaz (Gelegenis et al., 2007). La classification des digesteurs varie en fonction du type de déchets à traiter et de l'application visée. Nous pouvons classer les digesteurs selon (Rakotondramiarana, 2004) :

- le mode d'alimentation : batch (discontinu), continu ou semi-continu ;
- le type de substrats : solide, semi-solide ou liquide ;
- le nombre d'étapes : mono ou bi-étapes selon que la méthanisation et l'acidogénèse se déroulent dans un même digesteur ou dans des cuves séparées.

Pour cette étude l'on se limitera aux digesteurs en mode batch ou mode discontinu. Ils ont l'avantage d'être simple à mettre en place car il s'agit d'une construction simple contrairement à la construction des digesteurs en mode continu qui est bien adaptée pour les installations de grande taille (Kastner *et al*., 2012). Le mode opératoire pour la digestion en mode batch consiste à introduire dans les digesteurs les substances organiques et laisser digérer, le temps de séjour étant fonction de la température et d'autres facteurs comme la nature des substrats (Gelegenis *et al*., 2007). Après la digestion, le digestat est évacué du réacteur et le processus peut recommencer. Ce système est souvent utilisé pour traiter les déchets solides comme les fumiers, les ordures ménagères, les résidus agricoles etc. (Rakotondramiarana, 2004).

III.5. Valorisation énergétique de *E. crassipes* et *P. stratiotes.*

E. crassipes et *P. stratiotes*, faisant partie des macrophytes flottants à la surface des eaux douces, sont des plantes aquatiques envahissantes. Ces plantes sont devenues de véritables fléaux des eaux douces du monde entier. Cela à cause des effets néfastes sur l'écosystème aquatique et les activités humaines. En effet, les plantes invasives altèrent le bon fonctionnement des écosystèmes aquatiques en menaçant les pêches, les transports fluviaux, le tourisme, etc. (Almoustapha *et al.*, 2009). De plus, en empêchant la pénétration du rayonnement solaire, le tapis dense d'*E. crassipes* et *P. stratiotes,* diminue la photosynthèse des producteurs primaires à la base des chaînes alimentaires. La dégradation des feuilles mortes entraine l'asphyxie du milieu, conduisant ainsi à l'eutrophisation du plan d'eau et privant d'oxygène les espèces de l'écosystème. On observe ainsi le manque d'oxygène pour les animaux aquatiques vivant dans les milieux de grandes proliférations de ces plantes. Cela a des conséquences négatives sur la pêche, sur la navigation, l'irrigation, la production d'électricité et la conservation de la diversité biologique car elle provoque la disparition de nombreuses espèces de flore et de faune (Adjahatode *et al.,* 2016). Les premières initiatives adoptées dans le but d'éradiquer ces plantes, par voie physique (mécanique), chimique ou biologique ont rapidement montré leurs limites face à la vitesse de multiplication de celles-ci. C'est dans ce contexte que certains auteurs ont menées des études visant à trouver des techniques fiables pour valoriser *E. crassipes* et *P. stratiotes*, qui respectent de façon durable l'environnement dans toutes ses formes. Ainsi, il a été démontrée que ces deux plantes se révèlent très efficaces dans plusieurs domaines tels que l'épuration des eaux usées (Gupta et Mahindrakar, 2012). Toutefois, la gestion des macrophytes provenant d'une station d'épuration des eaux usées reste toujours un défi à relever. Ainsi, ces plantes peuvent être utilisées dans l'alimentation du bétail et dans la confection des objets d'art et de décoration tels que les représentations animales, les porte-stylos, les sacs, … Plusieurs auteurs ont démontré l'utilisation d' *E. crassipes* et *P. stratiotes* dans les processus de méthanisation et de compostage (Almoustapha *et al*., 2009; Pantawong *et al.*, 2015, Njogu *et al*., 2015, Adjahatode *et al.*, 2016, Kumar *et al*., 2017). Etant donné la quantité de biomasse qui est disponible après ce traitement des eaux, il est donc intéressant de trouver des voies de valorisation de cette dernière. Le Tableau 7 présente les expériences impliquant *E. crassipes* et *P. stratiotes* dans la production du biogaz qui ont été recensées dans la littérature.

Tableau 7 : Données de la littérature sur la production du biogaz avec *E. crassipes et P. stratiotes*

Auteurs	**Matériel végétal**	**Biogaz (mL /Kg.M. sèche)**	**% CH_4**	**Temps de Résidence (jours)**	**Température (°C)**	**Tye de Réacteur**
(Almoustapha *et al.*, 2009)	*E. crassipes*	392,37	-	54	-	Digesteurs en mode discontinu de 200 litres
(Kumar *et al*., 2017)	*P. stratiotes*	720	-	30	30	Digesteurs en mode discontinu (2 litres)
(Adjahatode *et al*., 2016)	*E. crassipes*	3 500	-	64	saison sèche (30-40 °c)	Digesteurs en mode discontinu (5 m^3)
		25 000	-	96	saison pluvieuse (20-30°C)	
(Pantawong *et al.*, 2015)	*P. stratiotes*	400	66,35%	45	40	Digesteurs en mode discontinu de 2 litres
(Njogu *et al*., 2015)	*E. crassipes*	5 000	53%	36	22,8-36,6	Digesteur en mode discontinu (6 m^3)

Conclusion partielle

La digestion anaérobie ou méthanisation constitue une alternative source d'énergie pour les pays en voie de développement. Outre la production d'énergie, cette technique constitue une voie de recyclage et de gestion des déchets pouvant être responsables des différentes causes de maladie une fois que ces deniers sont rejetés clandestinement dans l'environnement. Pour la réussir, cette technique nécessite que certains paramètres notamment la température, le pH, la teneur en matière organique etc… soient suivis quotidiennement. Les déchets utilisés dans ce processus doivent être riches en matières carbonées et facilement biodégradables.

CHAPITRE IV. MODELISATION ET OPTIMISATION PAR LA METHODE DES PLANS D'EXPERIENCES

Introduction

La découverte de l'outil informatique a favorisé le développement de plusieurs techniques scientifiques dont la Méthodologie de la Recherche Expérimentale (M.R.E). La M.R.E encore appelée plans d'expériences permet d'optimiser l'organisation des essais afin de résumer les connaissances disponibles sous forme d'équations (Khoder, 2011). Elle met en exergue le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt appelé réponse ou observation (y) et des variables appelés facteurs (xi) (Rabier, 2007). Elle permet d'analyser le comportement des systèmes complexes, difficiles à étudier autrement (Goupy et Creighton, 2006). L'objectif de cette méthodologie qui obéit à des règles mathématiques strictes avec l'adoption d'une démarche rigoureuse, est d'obtenir un maximum d'informations avec un minimum d'expériences.

IV.1. Vocabulaire de base des plans d'expériences

Le chercheur est souvent amené à comprendre comment évolue un système en fonction des facteurs capables de le modifier. Pour visualiser cette évolution, il effectue des mesures de la réponse et va ensuite chercher à établir des relations de cause à effet entre les réponses et les facteurs (Figure 26).

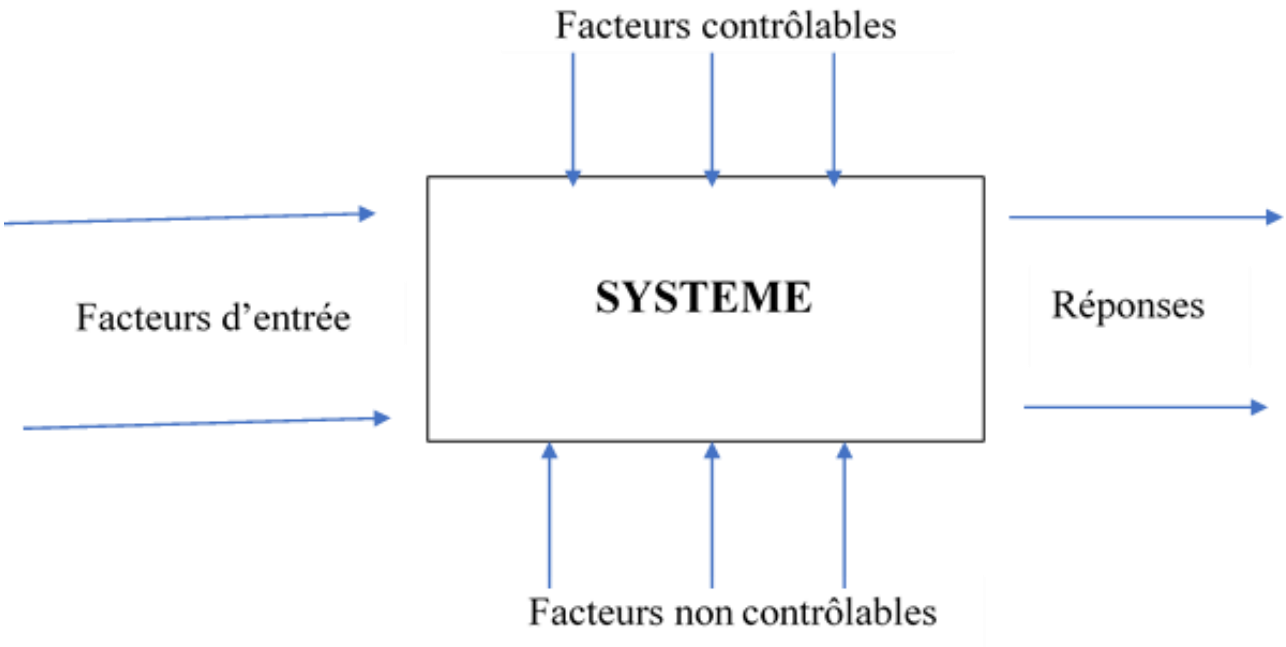


Figure 26 : Vocabulaire pour les plans d'expériences (Gendre *et al*., 2009)

IV.1.1. Définition d'une réponse (Y)

Une réponse expérimentale (parfois appelée variable dépendante) est une manifestation mesurable que l'on observe lorsque l'on fait varier les facteurs étudiés. Un phénomène peut être éventuellement décrit par plusieurs réponses expérimentales. Elle doit être représentative et le moins dispersée possible pour des variables d'entrée constantes. La réponse Y peut être exprimée sous la forme $Y = f(X_1, X_2, X_3, \ldots, X_n)$ où f est la relation fonctionnelle qui lie la réponse aux n facteurs X1, X_2, X_3, …, Xn. Dans le cadre des processus d'optimisation, la grandeur étudiée dont on recherche les meilleures valeurs est généralement appelée fonction objective. Les fonctions objectives peuvent être une réponse particulière ou une combinaison de plusieurs réponses du système étudié (Khoder, 2011).

IV.1.2. Définition des facteurs (X)

Les variables qui sont susceptibles de modifier la réponse sont appelées facteurs. On parle donc des facteurs dont dépend la réponse (Karam, 2004). Les facteurs rencontrés dans l'étude des plans d'expériences jouent un rôle important lors de leur mise en place et de l'interprétation des résultats obtenus. Les facteurs sont classés en plusieurs catégories. : les facteurs continus, les facteurs discrets, les facteurs ordonnables et les facteurs booléens (Goupy et Creighton, 2006).

- **Facteurs continus ou quantitatifs**

Les facteurs quantitatifs ou continus sont ceux naturellement exprimés à l'aide de valeurs numériques et pour lesquels l'on peut définir un domaine expérimental d'intérêt. Le pH est un exemple de facteur quantitatif. Dans un intervalle de pH donné, on peut choisir toutes les valeurs possibles. Il en est de même pour la pression, longueur, la concentration ou la température. Les valeurs prises par les facteurs quantitatifs sont donc représentées par des nombres continus.

- **Facteurs discrets ou qualitatifs**

Contrairement aux facteurs quantitatifs, les facteurs discrets ou qualitatifs ne peuvent prendre que des valeurs particulières. Ces valeurs ne sont pas nécessairement numériques. Un facteur discret peut être représenté soit par un nom, une lettre ou une propriété. Par exemple, le goût et la couleur sont des facteurs discrets.

- **Facteurs ordonnables**

Il s'agit de facteurs discrets que l'on peut mettre dans un ordre bien précis. Par exemple petit, grand et moyen ou encore premier, deuxième, troisième et quatrième.

- **Facteurs booléens**

Les facteurs discrets qui ne peuvent prendre que deux valeurs sont appelées des facteurs booléens (haut ou bas, ouvert ou fermé, blanc ou noir, etc.).

IV.1.3. Domaine expérimental

La définition du domaine expérimental résulte directement de l'étape précédente, à savoir de la définition des facteurs et de leurs modalités. En effet le domaine expérimental est défini comme étant l'ensemble des combinaisons réalisables à partir des modalités des facteurs. Lorsque tous les facteurs ont le même nombre de modalités, le domaine est dit symétrique, dans le cas contraire, il est asymétrique. Par exemple pour 3 facteurs à 4 modalités, 2 facteurs à 3 modalités et 1 facteur à 2 modalités, le domaine expérimental est asymétrique et se compose de 1152 combinaisons possibles (Rabier, 2007). La maitrise de la méthodologie des plans d'expériences découle de deux (2) expressions essentielles, celle d'espace expérimental et celle de modélisation mathématique des grandeurs étudiées.

IV.1. 4. Notion d'espace expérimental

Un industriel ou un scientifique qui débute une étude s'intéresse chaque fois à la grandeur qu'il veut connaitre à savoir la valeur à chaque essai. La grandeur de cette valeur est fonction de plusieurs variables. Dans les plans d'expériences au lieu d'utiliser le terme « variable » on utilise souvent le mot facteur. La valeur attribuée à un facteur pour réaliser une expérience est appelée niveau. Lorsqu'on cherche à déterminer l'influence d'un facteur, on limite, en général, ses variations entre deux (2) bornes. La borne inférieure nommée niveau bas et la borne supérieure appelée niveau haut. Le domaine expérimental regroupe l'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut. On note le niveau bas par –1 et le niveau haut par +1 (Figure 27). Ces variables sont dites codées, normées ou centrées réduites (Goupy, 1990). La théorie des plans d'expériences et les statistiques qui y sont utilisées permettent d'identifier le nombre d'expériences minimales à réaliser afin de tirer le maximum d'informations concernant un phénomène donné. Une ou plusieurs réponses sont ensuite

modélisées par une équation mathématique qui sert par la suite à prédire ces réponses dans un domaine expérimental afin de les minimiser ou de les maximiser (Gendre *et al*., 2009).

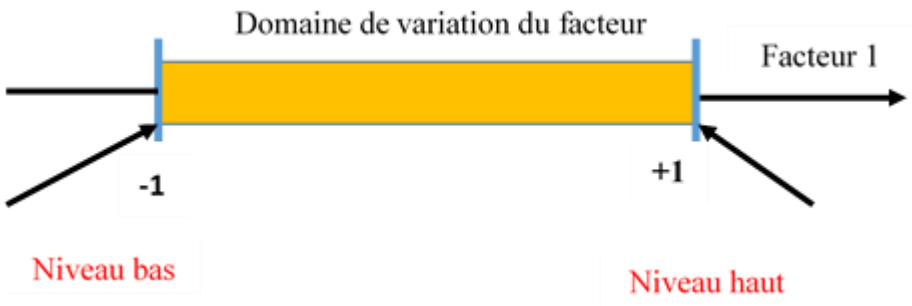


Figure 27 : Domaine expérimental d'un plan d'expériences à 2 nivaux (Goupy et Creighton, 2006)

IV.1.5. Notion de modélisation mathématique

On met en place a priori une fonction mathématique qui relie les facteurs et la réponse (Eq.13). Pour résoudre l'équation, on fait recours à un développement limité de la série de Taylor-Mac Laurin. Les dérivées sont supposées constantes et le développement prend la forme d'un polynôme de degré plus ou moins élevé (Goupy et Creighton, 2006, Gendre *et al*., 2009) :

$$Y = a_0 + \sum a_i X_i + \sum a_{ij} X_i X_j + \cdots \sum a_{ii} X_i^2 + \sum a_{ij\ldots z} X_i X_j \ldots X_z \qquad (\mathbf{Eq.\ 13})$$

Où :

• Y est la réponse ou la grandeur d'intérêt. Elle est mesurée par l'expérimentateur et elle est obtenue avec une méthode donnée.

• X_i correspond à un niveau attribué au facteur i par l'expérimentateur pour réaliser ses essais. Cette valeur est parfaitement connue d'avance. On suppose même que ce niveau est fixé au début des essais

• a_0, a_i, a_{ij}, aii sont les coefficients du modèle mathématique obtenu après modélisation. Ils ne sont pas connus et doivent être calculés à partir des résultats expérimentaux.

L'avantage de modéliser la réponse par un polynôme est d'être à mesure de prédire par la suite toutes les réponses du domaine d'étude sans faire d'autres expériences

IV.2. Notion d'interaction

Il y a interaction entre deux (2) facteurs A et B si l'effet de A sur la réponse dépend du niveau de B ou inversement (Vivier, 2002).

IV.3. Matrice d'expériences

Une matrice d'expériences représente sous forme codée ou normée l'ensemble des expériences à réaliser. Elle est constituée de N lignes, correspondant à N expériences, et de K colonnes, correspondant aux K variables étudiées. L'élément x_{ij} de la matrice ainsi formée correspond au niveau que prend la j-ème variable (codée ou normée) à la i-ème expérience (Goupy Creighton, 2006).

IV.4. Plan d'expérimentation

Un plan d'expérimentation est la traduction d'une matrice d'expériences exprimée en fonction des facteurs (ou éventuellement des variables réelles). IL contient des données, directement utilisables par l'expérimentateur. Ce tableau est, comme la matrice d'expériences, constitué de N lignes et de K colonnes. Chacun de ces éléments U_{ij} correspond à un niveau que prend le j-ème facteur (ou la j-ème variable naturelle) à la i-ème expérience (Karam, 2004).

IV.5. Principe des plans d'expériences

La méthodologie utilisée par les plans d'expériences aide à répondre aux exigences fixées. Le principe de cette technique consiste à faire varier simultanément les niveaux d'un ou plusieurs facteurs à la fois à chaque essai. Ceci permet d'une part, de diminuer fortement le nombre d'expériences à réaliser tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés et d'autre part, de détecter les interactions entre les facteurs et la détermination du réglage dit optimal de ces facteurs par rapport à une réponse (Mahunon *et al*., 2018). La bonne stratégie lors d'utilisation des plans d'expériences est donc de parvenir à minimiser le plus possible le nombre d'expériences à réaliser sans sacrifier la précision sur les résultats.

On distingue plusieurs plans différents. Néanmoins, on peut classer les plans d'expériences en deux grandes catégories (Karam, 2004) :

- les plans pour estimer et comparer les effets des différents paramètres ;
- les plans qui ont pour but d'atteindre les conditions optimales d'expérimentation.

Toutes les catégories de plan d'expériences utilisent la même méthodologie qui est en cinq (5) étapes. Ces cinq (5) étapes sont les suivantes (Belayachi, 2019) :

- définir les objectifs et critères ;
- choisir les réponses ;

- choisir les facteurs à étudier et le domaine expérimental ;
- établir la stratégie expérimentale ;
- interpréter les résultats.

IV.6. Criblage des facteurs

La technique du criblage ou « screening » en anglais, permet de déterminer, parmi un ensemble initial de facteurs, ceux qui exercent une influence statistiquement non négligeable sur les variations de la réponse. Il s'agit donc d'un procédé visant à une sélection parmi un lot de facteurs ceux qui sont sensés influencer un phénomène, ceux dont l'expérimentateur ne peut pas s'en passer au cours de ses expériences (Vivier, 2002).

IV.7. Etude de quelques plans d'expériences

IV.7 .1. Plans de degré 1 : Plans factoriels complets

Le plan factoriel complet permet de fournir une information la plus complète possible sur des systèmes présentant relativement peu de facteurs. Ces plans consistent à faire varier toutes les combinaisons possibles, en faisant varier simultanément tous les facteurs à tous leurs niveaux. D'où leur nom de plans factoriels complets ou plus simplement plans complets (Gendre *et al*., 2009). Les plans factoriels complets (PFC) sont des plans de degré 1 dans lesquels les facteurs ne peuvent prendre que 2 niveaux distincts correspondants à (-1) et (+1) en variables codées. Ce sont des plans à $N = 2^k$ nombre d'expériences à réaliser où k représente le nombre de facteur. Le modèle mathématique associé aux plans factoriels complets est un polynôme du premier degré par rapport à chaque variable. On suppose que les effets des facteurs sont additifs et qu'il peut y avoir des interactions entre les facteurs. Ce modèle se présente comme suit :

$$Y = b_0 + \sum b_i X_i + \sum b_{ij} X_i X_j \qquad (\mathbf{Eq.\ 14})$$

Y représente la réponse mesurée

b_0 : effet moyen

bi : effets principaux

bij : effet d'interaction entre le facteur i et j

X_i est le niveau attribué au facteur i

X_j est le niveau attribué au facteur j

X_i Xj représente l'interaction entre les facteurs i et j

IV.7.2. Plan Factoriels Fractionnaires

Dans la section précédente l'on vient de rapporter qu'avec les plans factoriels complets le nombre d'essais à réaliser augmente très vite avec le nombre de facteurs à étudier. C'est pourquoi les expérimentateurs utilisent de préférence les plans factoriels fractionnaires. Les plans factoriels fractionnaires résultent du fractionnement d'un plan factoriel complet. Ils permettent d'étudier tous les facteurs mais le nombre de conditions opératoires est divisé par 2 ou par 4 fois ou par 2q (où q est le nombre de facteurs). Néanmoins, ces plans fractionnaires ne permettent pas d'étudier les effets d'ordre supérieur (X_2, X_3,) et les interactions d'ordre supérieur (Khoder, 2011).

IV.7 .3. Plans du second degré : Plans composites

Le plan composite consiste à réaliser les essais d'un plan factoriel, complété par des expériences au centre du domaine d'étude et des essais en étoile.

Le nombre total d'essais (N) à réaliser est la somme de :

- n_f essais d'un plan factoriel complet ;
- 2k essais en étoile sur les axes à une distance α du centre du domaine ;
- n_0 essais à réaliser au centre du domaine expérimental.

Les plans composites sont des plans associés au modèle mathématique ayant un polynôme du second degré avec interactions. On ne conserve, en général, que les interactions d'ordre deux (Goupy et Creighton, 2006). Ainsi, l'équation (Eq.15) de régression s'écrit :

$$Y = b_0 + \sum b_i X_i + \sum b_{ij} X_i X_j + \ldots \sum b_{ij} X_i^2 + b_{i,j\ldots z}\ X_i X_j \ldots . X_z \qquad \textbf{(Eq.15)}$$

Avec :

b_0 le coefficient de l'effet moyen ;

b_i, b_j b_z les coefficients des effets principaux ;

b_{ij} les coefficients des effets d'interaction entre le facteur i et j ;

Xi, X_j les variables codées du facteur i et j.

Le plan d'expérience le plus utilisé dans cette catégorie est le plan central composite (PCC) qui est généralement appelé plan composite (Mahunon, 2017). Pour ce type de plan, chaque facteur est à cinq (5) niveaux : -α, -1, 0, +1 et +α. Contrairement aux plans factoriels complets, le domaine expérimental est ici délimité par le rayon α qui peut prendre des nombres fractionnaires. Alors, la construction d'une matrice d'expériences se fait en remplaçant les

variables codées par leurs valeurs réelles. Dans le cas du plan composite complet, elle s'obtient en combinant une série de trois essais issus des trois différentes parties.

IV.8. Logiciels pour les plans d'expériences

L'outil informatique joue un rôle primordial dans la réalisation rapide et précise d'une recherche menée à l'aide d'un plan d'expériences. Il existe donc plusieurs logiciels de traitement des données possédant des bibliothèques de plans classiques et capables de construire les plans sur mesures, ou avec un tableur qui nécessite de la programmation et du temps. Parmi ceux-ci on peut citer Statgraphics, XLSTAT, JMP, Minitab, NEMROD.

Il est possible d'utiliser des logiciels directement spécialisés dans la problématique des plans d'expériences. Il s'agit le plus souvent des modules particuliers des logiciels de statistique présentés dans le paragraphe précédent. Prenons par exemple le cas du logiciel SAS (Statistical Analysis System) le module SAS/QC (Quality Control) (dédié au contrôle de la qualité) permet d'avoir accès à de multiples procédures relatives à la construction des plans d'expériences. Il existe cependant un logiciel, NEMROD, qui est exclusivement dédié à la construction et à l'analyse des plans d'expériences (Mahunon , 2017).

Conclusion partielle

La méthodologie de recherche expérimentale constitue une meilleure méthode de recherche par rapport aux méthodes classiques. En effet, elle permet d'obtenir des résultats tout en minimisant le nombre d'expériences, ce qui permet de gagner en termes de temps et de réactifs. Elle étudie les interactions et permet d'avoir une vue globale du domaine d'étude. Elle est basée sur la modélisation des résultats expérimentaux, ce qui permet de prévoir les résultats expérimentaux à partir d'une équation mathématique. Elle permet également de déterminer les conditions optimales d'expérimentations pouvant conduire à de meilleurs résultats. On peut classer les plans d'expériences en deux grandes catégories à savoir les plans pour estimer et comparer les effets des différents paramètres et les plans qui ont pour but d'atteindre les conditions optimales d'expérimentation.

DEUXIEME PARTIE : APPROCHE METHODOLOGIQUE

Cadre conceptuel de l'approche méthodologique

L'approche globale de la méthodologie de la présente étude est décrite à la Figure 28. Quatre (4) essais ont été réalisés. Le premier a consisté à examiner l'influence des facteurs temps de séjour, densité des plantes et charge intiale en phosphore sur la phytoremédiation des eaux de rejet de station d'épuration (STEP) de l'INP-HB Centre en utilisant *Eicchornia crassipes et Pistia stratiotes*. Il a été réalisé dans un lagunage à macrophytes constitués des bacs de 27 litres selon les conditions expérimentales définies par le Plan Factoriel Complet (PFC). Cet essai a consisté en la détermination des concentrations résiduaires en PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ et DCO. A l'issue de cet essai, les conditions optimales obtenues ont été appliquées pour réaliser le deuxième essai qui a consisté à traiter les eaux de rejets du bassin facultatifs de la STEP de Buterere au Burundi. Il s'agit d'un temps de séjour de 30 jours, d'une densité des plantes de 60 pieds/m^2 et de la concentration intiale en phosphates (PO_4^{3-}) de 10 mg /L. Ces deux (2) premiers essais de traitement ont été réalisés avec de l'eau usée de rejets des STEP de INP-HB centre en Côte d'Ivoire et de Buterere au Burundi et ont duré huit (8) mois, soit deux (2) mois pour la détermination et la validation (cinétique d'élimination des nutriments) des conditions optimales de l'élimination des nutriments et six (6) mois pour la conception du dispositif expérimental et les traitements en modes continu et discontinu des eaux de rejet du bassin facultatif de la STEP de Buterere au Burundi. Le troisième essai a consisté en la détermination de la composition élémentaire, identification et dosages des metabolites secondaires dans *Eicchornia crassipes* et *Pistia stratiotes* avant et après la phytoremediation des eaux usées. Ces essais été réalisés à partir de l'extrait et du broyat obtenus à l'aide de la poudre provenant de ces macrophytes après les avoir séchés pendant une période d'un mois et demi sur les paillasses du laboratoire afin d'éviter l'évaporation des composés phénoliques. Le screening phytochimique réalisé sur l'extrait et le broyat a révélé la présence des phénols, des flavonoïdes et des tannins. C'est sur ces composés qui ont été révélés par le screening phytochimique qu'a consisté le dosage des métabolites secondaires. Quant au quatrième essai, il s'agit de la détermination du pouvoir énergétique de *Eicchornia crassipes* et de *Pistia stratiotes* par co-digestion anaérobie après leur cycle utilisation en phytoremédiation des eaux usées. Les expériences ont été réalisés en mode discontinu dans trois (3) digesteurs de 4 litres en utilisant des substrats soit constitué de *Eichhornia crassipes* seule ou *Pista stratiotes* seule ; soit de leur mélange en présence de la boue de la STEP comme inoculum. Les essais ont été réalisés dans les scénarios du rapport substrat /inoculum (S/I) 3/1, 2/1 et sur le témoin. Les essais ont duré un période de trois (3) mois c'est -à-dire un mois pour chaque type de substrats et un mois pour leur mélange.

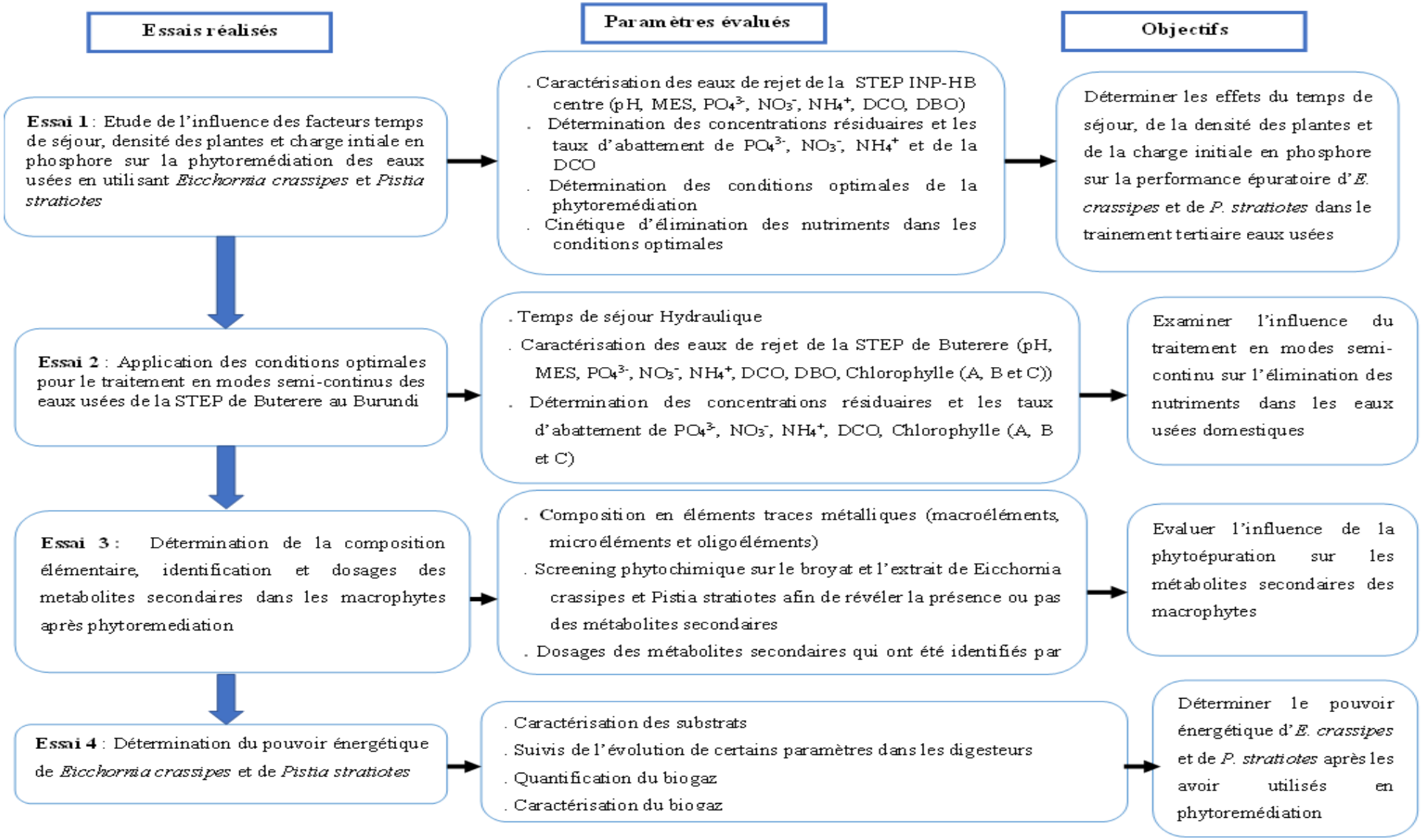


Figure 28 : Schéma de l'approche conceptuelle de la méthodologie de l'étude

CHAPITRE V. MATERIEL ET DISPOSITIFS EXPERIMENTAUX

V.1. Matériel

V.1.1. Matériel végétal

Pour cette étude *E. crassipes* et *P. stratiotes* ont été sélectionnés et collectés dans le bassin versant de la rivière Kinyankonge, exutoire des rejets de la STEP de Buterere (S 3°20´16,647" ; E 29°15´32,525") au Burundi entre Novembre 2018 et Février 2019. En Côte d'Ivoire, ces derniers ont été collectés dans la période d'Avril et Juin 2018 dans les lacs n° 9 (N 5° 16' 38,8'', W 6° 49' 0,08'') et 10 (N 5° 16' 38,8'', W 6° 49' 0,08'') à Yamoussoukro, entre les quartiers N'Zuessy et Habitat en Côte d'Ivoire.

V.1. 2. Eaux usées

Les échantillons d'eaux usées ont été prélevés à la sortie de la station d'épuration des eaux résiduaires en provenance de la cité estudiantine de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny (INP-HB) de Yamoussoukro (Côte d'Ivoire). Au Burundi, les échantillons d'eaux usées qui ont été utilisées au cours de cette étude ont été prélevés à la sortie du bassin facultatif de la station d'épuration des eaux résiduaires de Buterere.

V.2. Dispositifs expérimentaux

V.2.1. Dispositif expérimental pour la détermination des conditions optimales de la phytoremédiation

Pour chaque type de macrophytes, huit bacs en polyéthylène d'une capacité de 27 litres ont été utilisés pour constituer le pilote expérimental. Dans chaque bacs un volume de 25 litres d'eau usée à traiter a été introduit. Ils ont été placés sous une galerie pour éviter une évaporation accélérée des eaux par le rayonnement solaire. Ce site expérimental présente les caractéristiques climatiques suivantes : température annuelle moyenne allant de 21 à 32 ° C et des précipitations comprises entre 1 200 et 1 900 mm/an (Coulibaly *et al.*, 2015).

V.2.2. Pilote expérimental pour le traitement des eaux usées en mode semi-continu

Le lagunage à macrophytes flottants a été mis en place à l'aide d'un pilote expérimental installé dans les enceintes du Campus Mutanga de l'Université du Burundi (Coordonnées GPS : S3°22´54", E29°23´03" ; altitude : 798,7 m). Cette zone d'étude est caractérisée par une pluviométrie variant entre 800 et 1 100 mm/an et une température qui varie entre 23 à 28 °C (Nsavyimana, 2015).

Le dispositif expérimental est constitué en deux (2) séries de bassins interconnectés qui sont alimentés par un tank réservoir (capacité 5 m^3) et dans lesquels *P. stratiotes* et *E. crassipes* sont respectivement cultivés depuis l'alimentation en effluent. Pour dupliquer les essais afin d'évaluer leur reproductibilité, six tanks expérimentaux (P1 - P2 - P3//E1- E2 - E3) et deux tanks témoins (T1 // T2) ont été utilisés lors de la mise en place du pilote expérimental y compris le grand tank réservoir (Figure 29). Ces tanks ont chacun une capacité de 1,5 m^3 (1,68 m X 1,38 m X 0,65 m). Les tanks T1, P1, P2 et P3 sont connectés directement au tank réservoir par un répartiteur pour recevoir progressivement de l'eau usée en mode continu. En contrepartie, les tanks T2, E1, E2 et E3 sont à leur tour connectés respectivement à T1, P1, P2 et P3. La Figure 29 illustre le schéma du pilote expérimental utilisé pour mener cette étude.

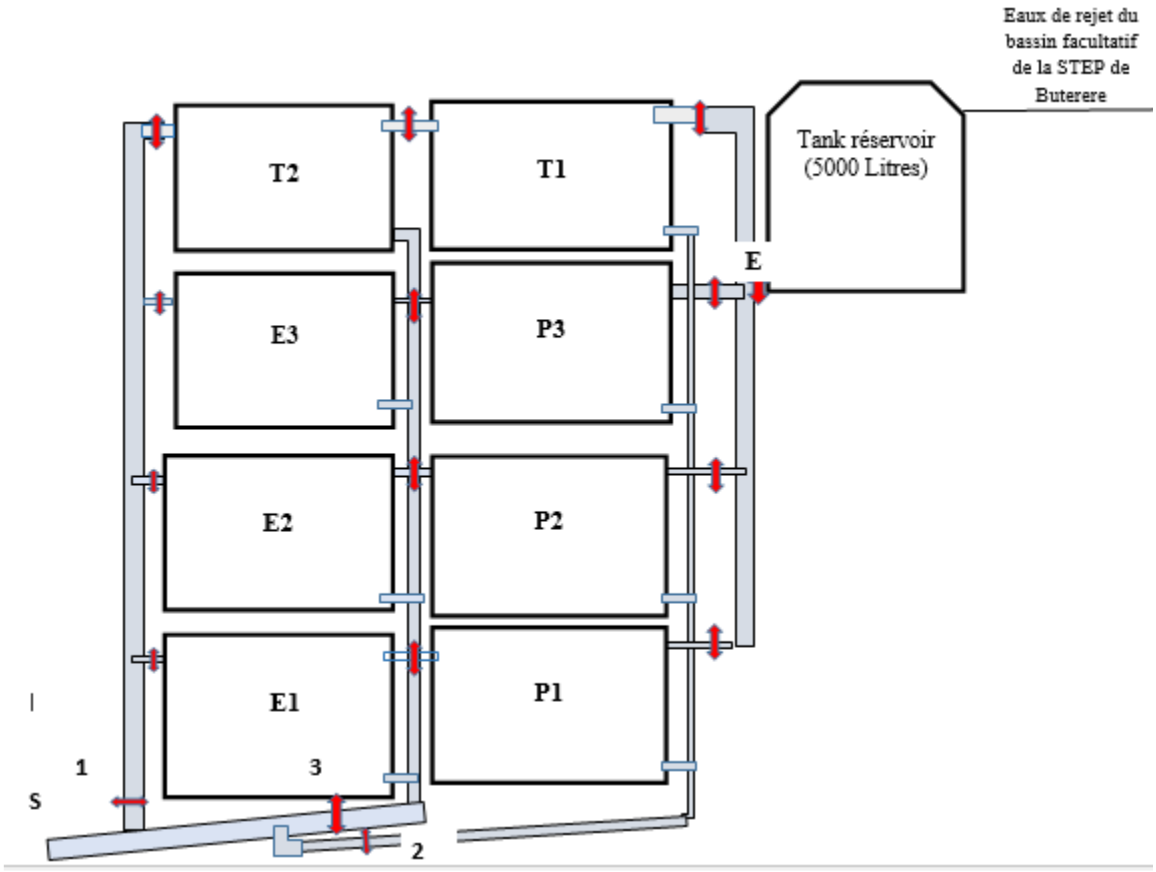


Figure 29 : Schéma du pilote expérimental de la phytoremédiation en mode continu.

***E** : Effluent à traiter ; P. stratiotes (**P1 :** essai 1 ; **P2** : essai 2, **P3** : essai 3); E. crassipes (**E1** : essai 1 ; **E2** : essai 2, **E3** : essai 3), **S :** Sortie d'effluent traité ; **1 :** Evacuation de l'effluent traité ; **2** : Evacuation P1, P2 et P3 à la fin des essais ; **3 :** Evacuation E1 ; E2 et E3 à la fin des essais ; **T1 et T2 : Tanks** témoins, Vanne :*

V.2.3. Dispositif pour la production du biogaz par co-digestion anaérobie d'*E. crassipes* et de *P. stratiotes*

Le montage expérimental qui a été utilisé comprend trois (3) dispositifs : (i) le dispositif de digestion anaérobie, (ii) le dispositif de quantification du biogaz et (iii) le dispositif de détermination des teneurs en méthane (CH_4) et en dioxyde de carbone (CO_2) du biogaz (Figure 30).

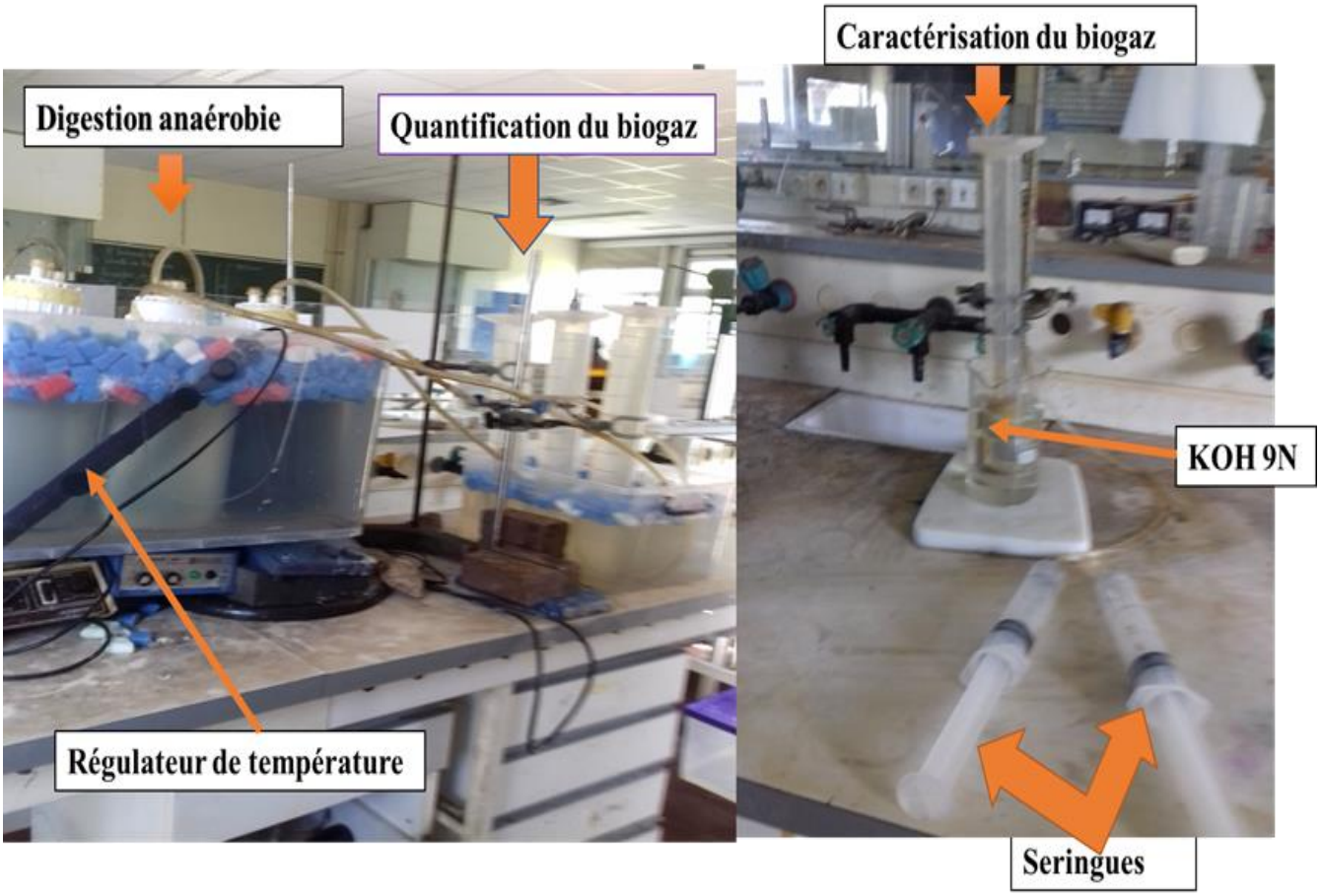


Figure 30: Montage expérimental de production du biogaz par digestion anaérobie

CHAPITRES VI. METHODOLOGIE

VI.1. Appareillage

V.1.1. Principe de fonctionnement du Spectrophotomètre (UV-visible)

La spectrophotométrie est une technique d'analyse quantitative basée sur la propriété de la matière, et plus particulièrement de certaines molécules, d'absorber la lumière ou la densité optique à certaines longueurs d'ondes du spectre UV-visible. La quantité de lumière absorbée est proportionnelle à la concentration de ces molécules étudiées. Pour cette étude la lecture de l'intensité de coloration a été effectuée à l'aide du spectrophotomètre UV/VIS de marque *JASCO V – 530* à 770 nm

V1.2. Principe de fonctionnement du Diffractomètre aux Rayons X (DRX)

La Diffraction des Rayons X (DRX) est une technique de caractérisation des matériaux cristallisés, qu'ils soient massifs, sous forme de poudre ou de dépôts. Cette technique est principalement appliquée aux matériaux inorganiques : minéraux, métaux, alliages et céramiques. Les faisceaux de Rayons X produits par le tube sont envoyés sur l'échantillon dans lequel ils sont déviés par les atomes. Ces faisceaux diffractés interfèrent entre eux, conduisant à la production d'un signal intense dans certaines zones précises de l'espace. Ce signal est collecté par le détecteur, tracé sous forme d'une courbe (diffractogramme) présentant des pics à des angles bien spécifiques de diffraction (Kenfack, 2014). La position de ces pics est une véritable signature de l'arrangement des atomes à l'intérieur d'un cristal (distance entre atomes, entre plans intracristallins). Pour cette étude le DRX de type SEPERMINI 2000 de marque Rigaku a été utilisé.

VI.2. Détermination des conditions optimales de phytoremédiation

En se référant aux travaux antérieurs relatifs à la phytoremédiation, le temps de séjour, la densité des plantes et la charge initiale en phosphates ont été choisis comme des variables ou paramètres expérimentaux pour conduire cette étude (Fonkou *et al*., 2010, Gupta et Mahindrakar, 2012, Ugya *et al.*, 2015, Ting *et al*., 2018, Mahunon *et al*., 2018). Le phosphore a été choisi parmi les nutriments pour apprécier son influence dans ce processus. Il est considéré comme le facteur limitant la croissance des plantes aquatiques malgré la disponibilité de l'azote (Shah *et al*.,

2015). Un plan factoriel complet (PFC) a été utilisé dans le but d'évaluer les effets des facteurs principaux et leurs interactions sur la phytoremédiation (Kaifas *et al*., 2014, Guittonny-Philippe *et al*., 2015). Pour les trois (3) variables retenues, le modèle prévoit 8 expériences et les taux d'abattement en phosphore, en nitrate, en azote ammoniacal et en Demande Chimique en Oxygène (DCO) ont été choisis comme réponses ou facteurs d'intérêt. Le domaine expérimental est consigné dans le Tableau 8 où les valeurs de chaque paramètre ont été choisies en se référant aux travaux antérieurs (Gupta et Mahindrakar, 201*2*, Mahunon *et al.*, 2018*)*.

Tableau 8: Domaine expérimental de la phytoremédiation des échantillons d'eaux usées

Facteurs	Niveau des facteurs	
	-1	1
Temps de séjour (j)	5	30
Densité des plantes (Pieds/m^2)	30	60
Charge initiale en PO_4^{3-} (mg/L)	2	10

La matrice d'expérience y compris les essais au centre du domaine expérimental ainsi que le plan d'expérimentation sont présentés dans le Tableau 9. Le plan d'expérimentation est obtenu en remplaçant dans la matrice d'expériences, les valeurs -1 et +1 des variables codées par les valeurs réelles des facteurs correspondants. Chaque ligne de la matrice expérimentale (matrice de Yates) indique les conditions expérimentales de l'expérience à effectuer.

Tableau 9 : Matrice d'expériences et plans d'expérimentation

N° Essais	Matrices d'expériences			Plan d'expérimentation		
	Valeurs codées			Valeurs réelles		
	X1	X2	X3	U1 Temps (jours)	U2 Plantes (pieds /m^2)	U3 PO_4^{3-} (mg/L)
1	-1	-1	-1	5	30	2
2	1	-1	-1	30	30	2
3	-1	1	-1	5	60	2
4	1	1	-1	30	60	2
5	-1	-1	1	5	30	10
6	1	-1	1	30	30	10
7	-1	1	1	5	60	10
8	1	1	1	30	60	10
9	0	0	0	17,5	45	6
10	0	0	0	17,5	45	6
11	0	0	0	17,5	45	6

Les expériences ont consisté à mettre 25 litres d'eau usées de la station d'épuration de l'INP-HB Centre à des concentrations connues en PO_4^{3-}, dans des bacs dont les dimensions ont été indiquées précédemment (voir section V.2.1). Pour atteindre le niveau bas de la concentration en phosphore, l'effluent brut a été dilué 5 fois avec de l'eau déminéralisée. Après avoir rempli les bacs avec l'eau à traiter, les échantillons de macrophytes, préalablement lavés, ont été directement introduits dans ces derniers selon le plan d'expérimentation (Tableau 9).

Après le temps de séjour indiqué (Tableau 8), les concentrations résiduaires en orthophosphate (PO_4^{3-}), en nitrates (NO_3^-, en ammonium (NH_4^+) et en Demande chimique en oxygène (DCO) ont été déterminées.

Les valeurs obtenues avant et après le traitement des eaux usées permettent de calculer le taux d'abattement des ions phosphates, nitrates, ammonium et de la DCO suivant l'expression suivante (Eq.16) :

$$Y(\%) = \frac{C_0 - C_t}{C_0} * 100 \qquad (\mathbf{Eq.16})$$

Où Y, C_0 et C_t représentent respectivement le taux d'abattement en pourcentage, les concentrations initiales et à l'instant t des paramètres de pollution.

La contribution (Pi) (Rezania *et al.*, 2016) de chaque facteur sur le taux d'abattement des différentes réponses a été calculée en utilisant l'équation (Eq.17) suivante:

$$P_i(\%) = \frac{100 * b_i^2}{\sum_{i=1}^{k} b_i^2} \qquad (\mathbf{Eq.\ 17})$$

Où bi désigne le coefficient du facteur principal ou leur interaction dans l'équation de régression

VI. 3. Caractérisation des eaux

La caractérisation des eaux avant et après traitement a consisté en la détermination du pH, des matières en suspension (MES), de la Demande Chimique en Oxygène (DCO), de la Demande Biochimique en Oxygène (DBO), de l'ammonium (NH_4^+), de phosphore (PO_4^{3-}) et de l'azote nitrique (NO_3^-).

VI.3.1. pH et matières en suspension

Les mesures de pH ont été faites à l'aide d'un pH-mètre de type WTW 340i (Norme AFNOR :ISO 10523 :2008) et les matières en suspension ont été obtenues par filtration à l'aide des papiers filtres type Whatman® 0,47µm (Norme AFNOR : ISO 11923 :1997).

VI.3.2. Dosage des phosphates

Les phosphates ont été dosés selon la méthode définie par la norme NFT90-923. Ces ions forment un complexe avec le paramolybdate d'ammonium ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$) et le tartrate d'antimoine et de potassium ($K(SbO)C_4H_4O_6$). Ce complexe est réduit par l'acide ascorbique en complexe coloré. Les résultats obtenus sont rapportés à une courbe d'étalonnage (Figure 27) réalisée avec une solution standard de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4).

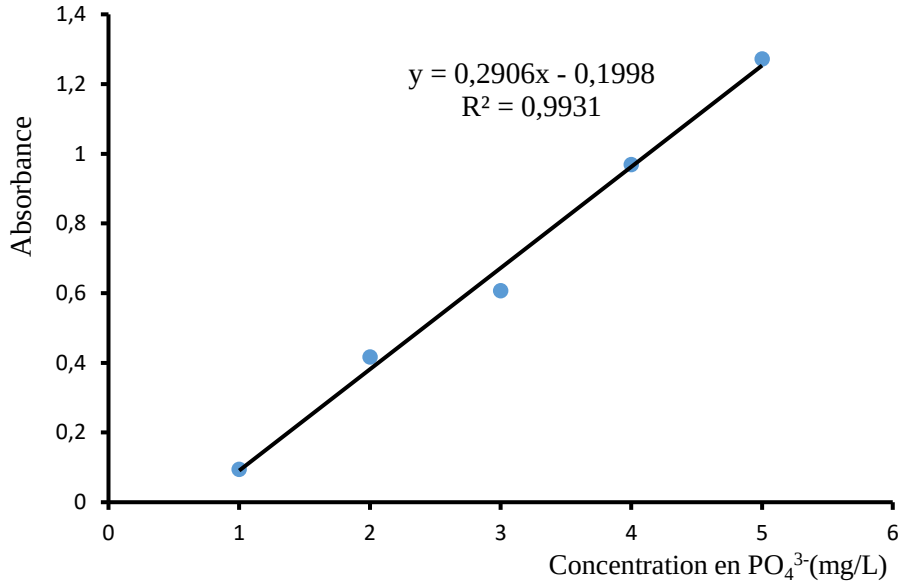


Figure 31 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des phosphates (PO_4^{3-})

VI.3.3. Dosage des Nitrates

Le dosage des nitrates a été effectué par la méthode de spectrométrie d'absorption moléculaire décrit dans Rodier *et al*., (2016). En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosalicylate de sodium, coloré en jaune. La lecture de l'intensité de coloration a été effectuée à l'aide du spectrophotomètre de marque *JASCO V – 530* à 415 nm. Les résultats obtenus sont rapportés à une courbe d'étalonnage (Figure 28) comme pour le cas des phosphates mais cette fois ci réalisée avec une solution standard de nitrate de potassium (KNO_3).

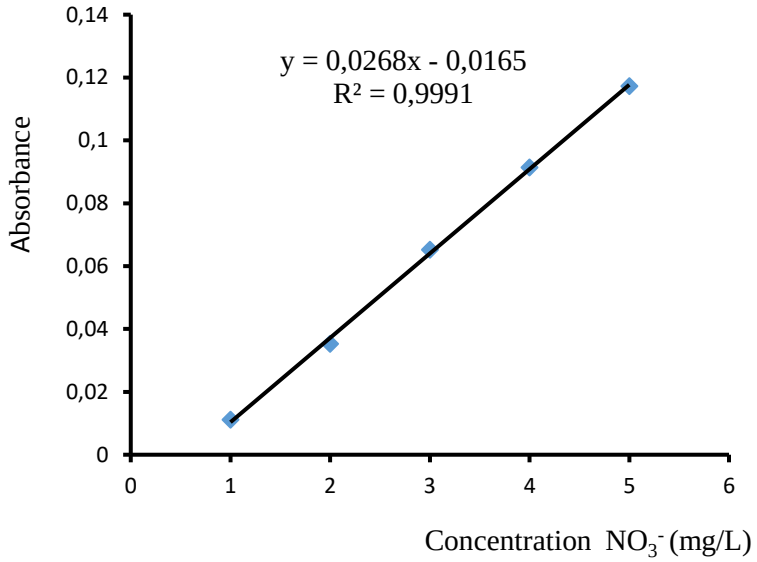


Figure 32 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des nitrates (NO_3^-)

VI.3.4. Dosages des ions Ammoniums

La détermination de l'ammonium NH_4^+ a été effectuée par acidimétrie, après distillation selon AFNOR NF T90-015. En effet, 50 mL d'échantillon et 20 mL d'une solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) ont été introduit dans le ballon à distiller. Le mélange a été chauffé pendant 20 min et le distillat a été recueilli dans 5 mL de solution d'acide borique (pour piéger l'ammoniac dégagé) puis additionné de 2 gouttes d'indicateur de Tashiro et d'environ 3 mL d'eau distillée pour permettre un barbotage. Le distillat a été titré avec l'acide sulfurique à 0,1 N. Un essai à blanc a été effectué dans les mêmes conditions que le dosage de l'échantillon et la teneur en azote ammoniacal, exprimée en mg de NH_4^+ par litre a été calculée à l'aide de l'expression suivante (Eq.18) :

$$\frac{(V1 - V0) * T * 1000 * 18}{V2} \qquad (\mathbf{Eq.\ 18})$$

Avec :

V1 : Volume en mL de solution d'acide sulfurique utilisé pour le dosage ;

V0 : Volume en mL de solution d'acide sulfurique utilisé pour l'essai à blanc ;

T : Normalité de la solution d'acide sulfurique utilisée (0,1 N).

V2 : Volume en mL de la prise d'essai.

VI.3.5. Détermination de la DCO et de la DBO_5

La DCO permet d'évaluer la quantité des matières organiques ou minérales oxydables se trouvant dans l'eau. Elle a été mesurée selon la méthode volumétrique par oxydation des matières organiques au dichromate de potassium à chaud en milieu acide et en présence de sulfate d'argent comme catalyseur, conformément à la norme AFNOR T-90-101. La DBO_5 a été évaluée selon la méthode manométrique avec des manomètres de type Oxytop WTW, selon la norme NF 90-103.

VI.4. Modélisation statistique de la phytoremédiation

Les résultats des 8 essais définis par le modèle expérimental ont été modélisés selon l'équation polynomiale du premier degré (Eq.19) associée au plan factoriel complet. Cette équation a permis de comprendre les probables variations des résultats obtenus à chaque série.

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_{12} X_1 X_2 + b_{13} X_1 X_3 + b_{23} X_2 X_3 \quad \text{(Eq. 19)}$$

Où

Y représente la réponse expérimentale

b_0 la valeur du coefficient moyen ; b_1, b_2 et b_3 coefficients principaux des variables codées X_1, X_2 et X_3 ; et b_{12}, b_{13}, b_{23},coefficient d'interaction entre les variables X_1 et X_2, X_1 et X_3 et X_2 et X_3 (Karam, 2004).

Les coefficients b_1, b_2 et b_3, b_{12}, b_{13} et b_{23}, les coefficients de détermination R^2 et R^2 ajusté et les réponses prédites ou calculées (Y_{cal}) ont été obtenues en utilisant le logiciel NEMROD-W LAPRAI 9901. Le Test de Fischer a été utilisé pour l'analyse de variance (ANOVA). Le test de significativité a été utilisé pour choisir les facteurs qui ont exercé une influence sur la phytoremédiation. Ainsi, un coefficient est statistiquement significatif si sa valeur absolue est supérieure ou égale à deux (2) fois l'erreur expérimentale (σ) (Feinberg, 1996). σ a été calculée à partir de trois (3) essais qui ont été réalisées au centre du domaine expérimental (expériences 9, 10 et 11 du Tableau 9 de la section VI.2).

Le coefficient de variation (CV) qui est le rapport entre l'écart type et la valeur moyenne d'une réponse observée, a été calculé pour apprécier la reproductibilité du modèle. Les conditions optimales de la phytoremédiation ont été obtenues en utilisant la fonction de désirabilité pour atteindre simultanément, la valeur optimale pour toutes les variables. La désirabilité de chaque réponse (di) prend toujours des valeurs comprises entre 0 et 1, où $d(Y_i) = 0$ pour une réponse indésirable ($Y_{i,min}$), et $d(Y_i) = 1$ représente une valeur souhaitable ou une réponse idéale ($Y_{i,max}$). Cette désirabilité est donnée par l'expression suivante (Eq.21) (Karam, 2004).

$$d(Y_i) = \frac{Y_i - Y_{i,min}}{Y_{i,max} - Y_{i,min}} \quad si \quad Y_{i,min} < Y_i < Y_{i,max} \qquad (\mathbf{Eq.20})$$

Enfin, la désirabilité globale (D) permet de trouver les meilleures réponses conjointes en utilisant l'équation (Eq.21) suivante (Ennaciri *et al.*, 2014) :

$$D = [d(Y_1) * d(Y_2) * d(Y_3) * d(Y_4)]^{1/4} \qquad (\boldsymbol{Eq.21})$$

Dans le but de valider les conditions optimales obtenues à partir d'une fonction de désidérabilité, ; la cinétique de décroissance exponentielle de premier ordre a été utilisée pour modéliser l'évolution de concentration en fonction du temps. Pour une réaction qui décrit parfaitement la cinétique de décroissance exponentielle du premier ordre, la concentration

instantanée (C) du paramètre est traduite par l'équation suivante (Eq.22) (Akinbile et Yusoff, 2012; Rezania *et al.*, 2016).

$$C = C_o e^{-kt} \qquad (\mathbf{Eq.22})$$

Où C_o (mg / L) : concentration initiale du paramètre, k : constante cinétique au $jour^{-1}$ et t: temps de séjour en jours. Pour savoir si cette équation cinétique prédit avec précision les temps de la phytoremédiation, un ajustement a été effectué à travers les régressions pour approximer un modèle approprié.

Les sections suivantes présentent la méthodologie utilisée lors de l'application *in situ* des conditions optimales obtenues pour traiter en modes semi-continus les eaux usées de la station d'épuration de Buterere (Burundi).

VI.5. Application des conditions optimales pour le traitement en modes semi-continus des eaux usées de la STEP de Buterere au Burundi

VI.5.1. Traitement en mode continu

En partant des conditions optimales obtenues précédemment (voir section VI.2), la densité des plantes a été fixée à 144 pieds par espèce sur 2,4 m^2 du plan d'eau de chaque tank pour démarrer la phytoremédiation. Les macrophytes utilisés ici sont ceux collectés dans le bassin versant de la rivière Kinyankonge (Burundi)**.**

Les eaux usées à traiter passent d'abord dans les tanks P1, P2 et P3 des *P. stratiotes* et puis dans les tanks E1, E2 et E3 des *E. crassipes* avant d'être rejetées du pilote expérimental. Le temps de séjour hydraulique des eaux usées pour ce parcours est de 16,6 jours (soit 8,3 jours/tank). En effet, un débit de 0,27 m^3/j d'eaux usées est évacué dans chaque série de tanks à partir du tank réservoir. Pour garder ce débit, le tank réservoir est aussi alimenté tous les 5 jours via un camion-citerne de 8 m^3 en eaux usées de rejet du bassin facultatif de la STEP de Buterere (S 3°20´16,647" ; E 29°15´32,525" ; et altitude de 762,5 m). Les eaux usées qui séjournent dans les deux tanks témoins (T1 et T2) sortent sans être mélangées à celles des tanks à macrophytes. Ces tanks T1 et T2 ont été utilisés pour mettre en exergue uniquement l'action des microorganismes et des algues (microphytes) sur l'effluent brut. La qualité de l'eau usée prélevée à la sortie du bassin facultatif de la STEP de Buterere a été à chaque fois évaluée au cours de dix prélèvements par la mesure du pH, de la chlorophylle (A, B et C), du phosphore (PO_4^{3-}), de l'azote ammoniacal ($N\text{-}NH_4^+$), de l'azote nitrique ($N\text{-}NO_3^-$), de la DCO et de la DBO_5. Les mêmes paramètres indicateurs de pollution ont été analysés sur des échantillons

prélevés tous les deux jours, à l'entrée et à la sortie de chaque tank. Tous ces résultats ont été traités pour déterminer le rendement de la phytoremédiation par ces deux macrophytes sur ce pilote expérimental. Les moyennes et les écarts types ont été calculés pour mieux apprécier la variation des données par rapport aux deux séries à trois tanks chacune. Le rendement a été calculé selon l'expression de l'équation (Eq.16) (voir section VI.2).

VI.5.2. Traitement en mode discontinu

Pour le traitement en mode discontinu, les échantillons d'eaux usées ont été prélevés à la sortie du bassin facultatif de la station d'épuration des eaux résiduaires de Buterere au Burundi. Les racines des macrophytes qui ont été collectés dans les bassins versants de la rivière Kinyankonge ont été lavées à plusieurs reprises avec de l'eau distillée avant d'être introduites respectivement dans les tanks E1, E2, E1 et P1, P2 et P3 du pilote expérimental pour *E. crassipes* et *P. stratiotes* (Figure 29 de la section V.2.2). Il faut noter que les vannes d'interconnexion entre les tanks à *E. crassipes* et *P. stratiotes* sont restés fermés durant toute la période des essais. Comme c'est le cas pour le traitement en mode continu les Tanks T1 et T2 ont été alimentés en effluent d'eaux usées à traiter afin de ressortir l'action des microorganismes et microphytes sur l'effluent brut. Les méthodes d'analyses physico-chimiques des échantillons utilisés pour le traitement en mode continu sont aussi valables pour le traitement en mode discontinu.

VI.6. Identification et caractérisation des métabolites secondaires

VI.6.1. Identification des métabolites secondaires

Les analyses chimiques préliminaires sont nécessaires pour avoir une idée générale sur les différentes familles de métabolites secondaires présentes dans les plantes. Les différentes classes des métabolites secondaires ont été mises en évidence grâce à des tests consistant en l'apparition des colorations et/ou des couleurs spécifiques caractéristiques de ces dernières à l'aide des réactifs appropriés (Hakim *et al*., 2014)**.** Le screening phytochimique ne renseigne pas sur la structure d'une molécule bien déterminée. Il met seulement en évidence la présence de telle ou telle famille chimique pouvant contenir des molécules différentes, mais de structures apparentées en général (Marinova *et al*., 2005).

Après la collecte de *E. crassipes* et *P. stratiotes* pour les utiliser en phytoremédiation des usées, une partie des échantillons a été séchée à la température du laboratoire (23-28 ° C) pendant 45 jours jusqu'à stabilisation de leur masse afin d'éviter tout risque d'oxydation des polyphénols. Une autre partie a été utilisée pour traiter les eaux usées domestiques e t puis séchée comme

précédemment après utilisation. Cette étude a fait donc l'objet d'un screening phytochimique afin de révéler les métabolites secondaires contenus dans l'*E. crassipes* et le *P. stratiotes* à travers des réactions chimiques.

VI.6.1.1. Préparation des extraits

Dans un erlenmeyer de 250 mL, ont été introduits 10 g de matériel végétal et 100 mL du solvant éthanol-eau 70 % en volume d'éthanol. Le mélange a été macéré pendant 24 heures et puis filtré pour récupérer l'extrait. L'expérience a été répétée 2 fois sur le résidu obtenu avec le même volume du solvant d'extraction. La Figure 33 montre l'aspect des extraits après filtration.



Figure 33 : Images photographiques des extraits liquides après extraction

VI.6.1.2. Réactions en tube

Les tests en tube ont été effectués sur les différents broyats et extraits des deux (2) plantes étudiées. La détection d'un métabolite secondaire consiste à introduire dans un tube à essai 2 mL de l'extrait organique, puis 2 mL du réactif spécifique à chaque composé chimique à identifier. La mise en évidence de ces composés est possible grâce à l'apparition des colorations et/ou des précipités.

VI.6.1.3. Tests des stérols et terpènes par la réaction de Lieberman et Bürchard

Sur le broyat : On réalise une macération de 24 heures avec 1 g de broyat dans 20 mL d'hexane. L'extrait est filtré et complété à 100 mL avec de l'eau distillée. Dans une capsule, 10 mL d'extrait hexanique sont évaporés à sec et repris avec 1 mL d'anhydride acétique puis 1 mL de chloroforme. Un volume de 1 à 2 mL d'acide sulfurique est déposé au font du tube, contenant l'extrait. En cas de réaction positive, il se forme un anneau rouge brunâtre à la zone de contact des 2 liquides, la couche surnageante étant verte.

Sur les extraits : Un volume de 5 mL de la solution à analyser est évaporé à sec dans une capsule sur un bain de sable. Le résidu obtenu est dissout à chaud dans 1 mL d'anhydride acétique [$(CH_3CO)_2O$] puis transvasé dans un tube à essais auquel est ajouté 0,5 mL d'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré. La réaction est positive, s'il y a 'apparition d'un anneau violet virant au bleu puis au vert (Nyamien *et al*., 2013) .

VI. 6.1.4. Tests des polyphénols

Sur le broyat : Dans un tube à essais, à 5 mL d'infusé à 5 % (5 g de broyat dans 100 mL d'eau bouillante), est ajouté 1 mL d'une solution aqueuse diluée de trichlorure de fer ($FeCl_3$) à 1 %. En présence de composés polyphénoliques, il se développe une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

Sur les extraits : On ajoute une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique 2 % à 2 mL d'extrait. L'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée traduit la présence de composés phénoliques (Facult, 2014).

VI.6.1.5. Tests des flavonoïdes par la réaction à la cyanidine

Sur le broyat : Dans un tube à essais, à 5 mL d'infusé à 5 % sont ajoutés 5 mL d'alcool chlorhydrique (mélange de l'alcool à 95 °, de l'eau distillée et de HCl concentré), 1 mL d'alcool isoamylique puis quelques copeaux de magnésium. L'apparition d'une coloration rose-orangée (flavones) ou rose-violacée (flavanones) ou rouge (flavonones, flavanonols) rassemblée dans la couche surnageante d'alcool isoamylique indique la présence d'un flavonoïde libre (génine). Les colorations sont moins denses avec les hétérosides flavoniques.

Sur les extraits : Deux (2) mL d'extrait sont évaporés. Après refroidissement, le résidu est repris par 5 mL d'alcool chlorhydrique dilué deux fois dans un tube à essais. On y ajoute 2 à 3

copeaux de magnésium. L'addition de 3 gouttes d'alcool isoamylique intensifie une coloration orange , indiquant la présence de flavonoïdes (Facult, 2014; Nyamien *et al*., 2014).

VI.6.1.6. Tests des tanins

Un millilitre de solution d'alcool chlorhydrique (mélange de 5 mL d'alcool, 5 mL d'eau distillée, 5 mL d'acide chlorhydrique concentré) est ajouté à 5 mL d'infusé. La solution obtenue est ensuite portée à ébullition pendant 15 minutes. La formation de précipité rouge soluble dans l'alcool amylique indique la présence de **tanins catéchiques**. A 30 ml de l'infusé à 5%, ajouter 15 ml de réactif de Stiasny (10 ml de formol à 40% et 5ml de HCl concentré) et chauffer au bain-marie à 90°C pendant 15mn environ. Le filtrat est ensuite saturé par 5g d'acétate de sodium pulvérisé ; ajouter goutte à goutte 1ml d'une solution de FeCl3 à 1%. L'obtention d'un précipité beige montre la présence de **tanins galliques** (Elbidi, 2016).

VI.6.1.7. Tests des alcaloïdes

Sur le broyat : Dix (10) grammes de poudre végétale sont ajoutés à 50 mL d'une solution d'acide sulfurique (H_2SO_4) diluée au 1/10. Le mélange est agité et macéré pendant 24 heures à la température ambiante du laboratoire puis filtré sur papier. Dans 2 tubes à essais contenant chacun 1 mL de filtrat sont respectivement ajoutées 5 gouttes de réactifs de Mayer et de Dragendorff. La présence d'alcaloïdes est révélée par l'apparition de précipité.

Sur les extraits : le résidu obtenu à partir de 6 mL d'extrait évaporé, est repris dans 6 mL d'alcool à 60 ° (degré alcoolique) et la solution alcoolique ainsi obtenue est placée dans 1 tube à essais. Dans le tube à essai contenant l'extrait, sont ajoutées 2 gouttes de réactifs de Dragendorff. L'apparition d'un précipité ou d'une coloration orange indique la présence d'alcaloïdes (Facult, 2014).

VI.6.2. Dosage des métabolites secondaires

VI.6.2.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

Le dosage des PPT dans les différents extraits est réalisé par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965).

La méthode est basée sur l'oxydation en milieu basique des fonctions oxydables des composés polyphénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu avec la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène (Mo_8O_{23}-$W8O_{23}$). Le dosage des PPT est effectué par la comparaison de

la différence optique (D.O) observée à celle obtenue par un étalon d'acide gallique de concentration connue (Nyamien *et al*., 2014).

VI.6.2.2. Dosages des Flavonoïdes

Les flavonoïdes totaux ont été déterminés par la méthode de Marinova *et al*. (2005) . Un volume de 0,75 mL du nitrite de sodium ($NaNO_2$) à 5 % (p / v) a été ajouté à 2,5 mL d'extrait dans un ballon de 25 ml. 0,75 mL de chlorure d'aluminium (AlCl3) à 10 % (m/v) y ajoutée et une incubation a été effectuée pendant 6 minutes dans l'obscurité. Après incubation, 5 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH 1 N) ont été ajoutés et le volume a été complété à 25 mL avec de l'eau distillée. Le mélange a été agité vigoureusement avant d'être dosé au Spectrophotomètre UV-visible à 510 nm. Le blanc a été préparé de la même manière tout en remplaçant l'extrait par l'éthanol (solvant d'extraction). Les tests ont été effectués en trois exemplaires et la teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent quercétine (QE) / kg masse fraîche (Facult, 2014; Nyamien *et al*., 2014)

VI.6.2.3. Dosages des tannins condensés

Le dosage est fait utilisant la vanilline et l'acide chlorhydrique concentré. Le principe de ce dosage est basé sur la fixation en milieu acide du groupement aldéhydique de la vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500 nm (Mythili *et al.*, 2014).Dans un tube à essai sont introduits 50 µL de l'extrait, 3 mL de Vanilline/MeOH (4 %) et 1,5 mL d'acide chlorhydrique fumant. Après 15 minutes, l'absorbance du mélange obtenu est mesurée au spectrophotomètre UV-visible à 500 nm contre un blanc. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g Ms) (Gonzalo *et al*., 2003).

VI.7. Caractérisation des substrats utilisés pour la co-digestion anaérobie

VI.7.1. Détermination de la teneur en matière sèche

La matière sèche (MS) représente ce qui reste lorsqu'on élimine l'eau d'un produit. Pour déterminer la matière sèche, une prise d'échantillon de masse égale à 2 grammes, soit (M1), est versée dans une capsule de masse connue préalablement nettoyée et séchée, soit (M). L'ensemble est introduit dans une étuve à 105°C pendant 12 heures. Après cette étape, la capsule est refroidie dans un dessiccateur et puis pesée ; soit M_2. Le pourcentage de matière sèche est le rapport entre le poids de la matière sèche et la masse de la matière non-séchée

(hydratée). Le pourcentage de matière sèche s'obtient selon la relation (Eq.23) suivante (Ahmed *et al*., 2016) :

$$\text{MS (\%)} = \frac{M_1 - [(M_1 +) - (M_2 + M)]}{M_1} * 100 \qquad (\mathbf{Eq.23})$$

Avec :

M : masse de la capsule ;

M1 : masse de l'échantillon avant dessiccation ;

M2 : masse de l'échantillon après dessiccation.

VI.7.2. Détermination de la matière organique

Pour déterminer la teneur en matière organique (MO), une masse de l'échantillon obtenue après dessiccation (M1) a été introduite dans la capsule de masse M préalablement nettoyée et séchée et le tout a été placé dans le four à moufle réglé à 550°C pendant 10 min pour calcination. Après cela, la capsule et son contenu a été refroidis au dessiccateur et puis pesés encore une fois. La masse de la matière organique est obtenue par différence entre la masse de matière sèche et la masse de matière minérale (Ahmed *et al.*, 2012).

Le pourcentage de matière organique (MO) s'obtient selon la relation (Eq.24) suivante :

$$\text{MO (\%)} = \frac{M_1 - [(M_1 + M) - (M_2 + M)]}{M_1} * 100 \qquad (\mathbf{Eq.24})$$

Où :

M : masse de la capsule ;

M1 : masse de l'échantillon après dessiccation

M2 : masse de l'échantillon après calcination

VI.7.3. Protocole expérimental de digestion anaérobie

Le principe du procédé est tel que la digestion est faite dans trois (3) digesteurs biologiques de quatre (4) litres fermés hermétiquement avec des bouchons spécifiques (Figure 30) de la section V.2.3). Ces digesteurs sont déposés dans un bac de 50 L d'eau afin d'éviter toute pénétration d'oxygène. Chacun des réacteurs possède trois ouvertures dont une permet d'amener le biogaz vers le dispositif de quantification, la 2ème ouverture permet d'introduire un milieu de culture favorisant la croissance des bactéries anaérobies puis de l'azote gazeux afin de chasser l'oxygène présent éventuellement dans le volume mort du digesteur. Il convient par ailleurs de signaler

que ce milieu de culture représente dans chacun des digesteurs, 5 % (v/v) du volume utile de celui-ci (volume occupé par l'échantillon). La troisième ouverture permet d'échantillonner dans le digesteur afin de déterminer l'évolution du milieu réactionnel (suivi de certains paramètres comme le pH, le NH_4^+ et la DCO). Le dispositif de quantification du biogaz comprend un bac d'environ 25 litres dans lequel sont disposés de manière renversée trois (3) éprouvettes graduées comportant un robinet à gaz. Les éprouvettes renversées sont plongées dans une solution piège constituée d'une eau saturée en NaCl pour éviter que le dioxyde du carbone (CO_2) du biogaz ne se solubilise (Nsavyimana, 2015). Un bouchon septum (préparé à cet effet) est ensuite appliqué sur chacun de ces robinets afin de prendre un échantillon de biogaz de volume connu et le faire passer dans le dispositif de détermination des teneurs en CH_4 et en CO_2. Pendant l'injection de cet échantillon de biogaz dans le dispositif de détermination des teneurs en CH_4 et en CO_2, le CO_2 est absorbé dans une solution de KOH à 9 N se trouvant dans ce dispositif et le CH_4 n'étant pas soluble, déplace celle-ci, ce qui facilite la quantification du volume de ce gaz méthane. Le volume de CO_2 correspond à la différence entre le volume de biogaz injecté et celui de CH_4. Pour maintenir les digesteurs à la température mésophile (35°C), des résistances de chauffage réglables étaient plongées dans le bac contenant 50 L d'eau et les trois (3) digesteurs. En plus, des barreaux magnétiques ont été placés dans les digesteurs, afin de répartir de manière homogène le mélange substrat-inoculum ainsi que la température du milieu réactionnel.

Des mousses solides en polyuréthane ont été aussi utilisées pour minimiser d'une part des variations de température dans le bac contenant l'eau et les digesteurs en cas de coupure d'électricité, et d'autre part, pour réduire l'évaporation de la solution piège dans le bac contenant les éprouvettes renversées.

Le mélange pour la fermentation est composé de 4 kg d'un mélange d'*E. crassipes* fraîches (dans le rapport 69 :13 :45, respectivement pour les tiges, racines et feuilles) et de *P. stratiotes* finement broyés à l'aide d'un mixeur Binatone Blender BLG-451 -1.5L - 350W. La boue de la station d'épuration a été utilisée comme inoculum. Dans ces essais, trois (3) scénarios différents définis sur la base d'un critère « rapport Substrat /Inoculum (S/I) » ont été évalués où S représente le mélange de macrophytes *E. crassipes* et *P. stratiotes* et I la boue de la station d'épuration des eaux usées (jouant le rôle d'inoculum). Les ratios S/I qui sont respectivement égaux à 3/1 et 2/1 ont été évalués comme le montre le Tableau 10. Pour le mélange des macrophytes, il faut noter que le ratio en masse d'*E. crassipes* / *P. stratiotes* égale à 2 a été utilisé. Ce rapport a été choisi en se basant sur les ratio C/N respectives qui sont de 9 et 31,8 (Ancion *et al.*, 2009). Les expériences ont été reprises dans les mêmes conditions que

l'expérience précédente, en remplaçant le mélange *E. crassipes – P. stratiotes* soit avec *E. crassipes*, soit par *P. stratiotes*. Il faut noter qu'à chaque fois un réacteur témoin (sans inoculum) a été utilisé.

La durée de suivi des digesteurs a été de 25 jours pour les scénarios 3/1, 2/1 et le témoin quel que soit le type de substrat (*E. crassipes, P. stratiotes* ou de leur mélange).

Tableau 10 : Composition du mélange des digesteurs au cours de la co-digestion

	***E. crassipes* (%)**	***P. stratiotes* (%)**	***E. crassipes et P. stratiotes* (%)**	**Inoculum (%)**	**mélange Total (%)**	**Rapport S/I**
Témoin	100	100	100	-	100	-
E. crassipes	75	-	-	25	100	3/1
	66	-	-	34	100	2/1
P. stratiotes	-	75	-	25	100	3/1
	-	66	-	34	100	2/1
E. crassipes* + *P. stratiotes	50	25	75	25	100	3/1
	44	22	66	34	100	2/1

Conclusion partielle

L'échantillonnage du matériel végétal et des eaux usées a été effectué au Burundi et en Côte d'Ivoire. Les dispositifs expérimentaux utilisés comprennent ceux de la conception expérimentale par la méthodologie des plans d'expériences, du traitement en mode continu et discontinu des eaux usées et de la co-digestion anaérobie des macrophytes. L'appareillage qui a été utilisé au cours de cette étude est constitué d'un spectrophotomètre UV-visible et d'un diffractomètre aux rayons X (D.R.X). Le traitement des eaux usées a été réalisé soit en mode batch, soit en mode continu par application des conditions optimales obtenues par la méthodologie des plans d'expériences. L'analyse des paramètres responsables de la pollution a été réalisée selon les méthodes classiques standards décrites dans AFNOR (Association Française de normalisation). L'étude de la valorisation énergétique des macrophytes après leur cycle d'utilisation en phytoremédiation a été réalisée par co-digestion anaérobie. Elle a été réalisée en présence de la boue de la STEP qui a servi comme inoculum. Pour cette étude la digestion en mode discontinu a été retenue. Elle présente l'avantage d'être simple à mettre en place et le suivi.de l'évolution des digesteurs n'est pas exigeant par rapport à la digestion anaérobie en mode continu.

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRES VII. PHYTOREMEDIATION DES EAUX USEES DOMESTIQUES PAR *E. CRASSIPES* ET *P. STRATIOTES*

VII .1. Détermination des conditions optimales de la phytoremédiation

VII.1.1. Développement et validation du modèle de régression

Les résultats obtenus après le traitement des eaux usées par *E. crassipes* et *P. stratiotes* sont respectivement donnés dans les Tableaux 11 et 12. Il existe une variation des réponses en fonction des conditions de traitement. Cela montre l'importance des variables choisies dans cette étude pour rechercher les conditions optimales de traitement de cet effluent par phytoremédiation.

Tableau 11 : Résultats du Plan Factoriel Complet dans l'expérimentation avec *E. Crassipes*

	Variables Codés			Variables Réelles			Réponses Expérimentales				Réponses Prédites			
Essais	X_1	X_2	X_3	U_1	U_2	U_3	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4
1	-1	-1	-1	5	30	2	11,5	68,2	63,2	23,0	11,0	67,9	63,7	23,4
2	1	-1	-1	30	30	2	78,5	86,2	93,8	35,8	79,0	86,5	93,3	35,5
3	-1	1	-1	5	60	2	27,0	79,1	81,3	49,1	27,5	79,4	80,8	48,8
4	1	1	-1	30	60	2	85,0	84,3	97,4	53,0	84,5	84,0	97,9	53,4
5	-1	-1	1	5	30	10	23,2	58,5	54,2	37,4	23,7	58,8	53,7	37,1
6	1	-1	1	30	30	10	95,7	96,4	93,8	48,8	95,2	96,1	94,2	49,2
7	-1	1	1	5	60	10	34,8	70,8	66,0	58,3	34,3	70,5	66,5	58,6
8	1	1	1	30	60	10	94,2	93,3	95,0	63,6	94,7	93,6	94,5	63,3

Tableau 12 : Résultats du Plan Factoriel Complet dans l'expérimentation avec *P. stratiotes*

	Variables Codés			Variables Réelles			Réponses expérimentales				Réponses Prédites			
Essais	X_1	X_2	X_3	U_1	U_2	U_3	Y'_1	Y'_2	Y'_3	Y'_4	Y'_1	Y'_2	Y'_3	Y'_4
1	-1	-1	-1	5	30	2	7,0	53,38	68,75	35,7	7,45	52,2	66,5	34,68
2	1	-1	-1	30	30	2	72,5	74,46	87,5	58,5	72,05	75,6	89,7	59,54
3	-1	1	-1	5	60	2	28,0	58,15	75,0	43,3	27,55	59,3	77,3	44,39
4	1	1	-1	30	60	2	71,0	76,92	93,75	77,3	71,45	75,7	91,5	76,20
5	-1	-1	1	5	30	10	24,7	63,2	37,5	61,9	24,25	64,4	39,7	63,03
6	1	-1	1	30	30	10	91,5	87,35	98,75	69,5	95,55	86,2	96,5	68,46
7	-1	1	1	5	60	10	42,4	71,1	56,25	73,1	42,85	69,9	53,9	72,11
8	1	1	1	30	60	10	93,9	83,6	99,47	83,4	93,45	84,8	99,17	84,47

L'exécution du logiciel NEMROD-W LAPRAI 9901 pour les différentes réponses a permis de générer les coefficients consignés dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Récapitulatif des coefficients moyens, principaux et d'interactions

	E. crassipes				***P. stratiotes***			
Coefficient	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y_1'	Y_2'	Y_3'	Y_4'
bo	**56,23**	**79,59**	**80,56**	**46,13**	**54,32**	**70,79**	**77,12**	**62,36**
b1	**32,11**	**10,45**	**14,41**	**4,18**	**28,8**	**9,53**	**17,46**	**8,8**
b2	**4,01**	**2,27**	**4,34**	**9,88**	**4,5**	**1,39**	**3,99**	**6,93**
b3	**5,73**	**0,149**	**-3,33**	**5,49**	**9,7**	**5,26**	**-4,12**	**9,65**
b12	-0,26	**-3,53**	**-3,12**	**-1,87**	**-5,17**	-1,77	**-2,25**	2,26
b13	**0,863**	**4,64**	**2,73**	0	**1,67**	-0,43	**8,37**	**-4,36**
b23	**-1,48**	0,024	**-1,08**	**-0,95**	-0,37	-0,41	0,87	-0,66
2σ	0,512	0,33	0,481	0,343	0,45	1,197	2,252	1,158

σ : erreur expérimentale

L'effet moyen des différents facteurs (X_i) sur les réponses (Y_i) est représenté par le coefficient bo. Les effets principaux et les effets d'interactions sont représentés respectivement par le coefficient bi et bij (Eq.19). Le test de significativité stipule qu'un coefficient est statistiquement significatif si sa valeur absolue est supérieure ou égale à deux fois erreur expérimentale (Feinberg, 1996**)**. De ce fait, à partir du Tableau 9**,** l'on peut dire qu'à part l'influence de la charge initiale en phosphore (Y_1) qui a un effet antagoniste sur l'élimination des ions NH_4^+(Y_3), tous les autres facteurs principaux (b_1, b_2 et b_3) influencent le phénomène

étudié quelle que soit la plante (*E. crassipes ou P. stratiotes*) utilisée. En somme tous les coefficients statistiquement significatifs sur le modèle étudié sont présentés en gras. Ainsi, les équations (Eq.25 – Eq.32) donnent le modèle mathématique de post-traitement des eaux usées par phytoremédiation. Ces équations pourraient prédire le taux d'élimination de la pollution (valeur Yi) en fonction du temps de séjour (X_1), de la densité de plantes (X_2) et de la concentration initiale en PO_4^{3-} (X_3).

Pour *E. crassipes*, l'équation (Eq.19) devient :

$$Y_1 = 56{,}23 + 32{,}11X_1 + 4{,}01X_2 + 5{,}73X_3 - 2{,}76X1X_2 + 0{,}863X_1X_3 - 1{,}48X_2X_3 \quad (\mathbf{Eq.25})$$

$$Y_2 = 79{,}59 + 10{,}45X_1 + 2{,}27X_2 + 0{,}149X_3 - 3{,}53X_1X_2 + 4{,}64X_1X_3 + 0{,}024X_2X_3 \quad (\mathbf{Eq.26})$$

$$Y_3 = 80{,}56 + 14{,}41X_1 + 4{,}34X_2 - 3{,}33X_3 - 3{,}12X_1X_2 + 2{,}73X_1X_3 - 1{,}08X_2X_3 \quad (\mathbf{Eq.27})$$

$$Y_4 = 46{,}13 + 4{,}18X_1 + 9{,}88X_2 + 5{,}89X_3 - 1{,}87X_1X_2 + 0{,}00X_1X_3 - 0{,}95X_2X_3 \quad (\mathbf{Eq.28})$$

Pour *P. stratiotes*, équation (Eq.19) devient :

$$Y_1' = 54{,}32 + 28{,}80X_1 + 4{,}50X_2 + 9{,}70X_3 - 5{,}17X_1X_2 + 1{,}67X_1X_3 - 0{,}37X_2X_3 \quad (\mathbf{Eq.29})$$

$$Y_2' = 70{,}99 + 9{,}53X_1 + 1{,}39X_2 + 5{,}26X_3 - 1{,}77X_1X_2 - 0{,}43X_1X_3 - 0{,}41X_2X_3 \quad (\mathbf{Eq.30})$$

$$Y_3' = 77{,}12 + 17{,}46X_1 + 3{,}99X_2 - 4{,}12X_3 - 2{,}25X_1X_2 + 8{,}37X_1X_3 + 0{,}87X_2X_3 \quad (\mathbf{Eq.31})$$

$$Y_4' = 62{,}36 + 8{,}80X_1 + 6{,}93X_2 + 9{,}65X_3 + 2{,}26X_1X_2 - 4{,}36X_1X_3 - 0{,}66X_2X_3 \quad (\mathbf{Eq.32})$$

Ces équations montrent comment les variables expérimentales et leurs interactions influencent la phytoremédiation par *E. crassipes et P. stratiotes.* Le signe positif qui précède chaque terme indique l'effet synergique tandis que le signe négatif reflète l'effet antagoniste sur le processus. En d'autres termes, des valeurs positives de ces effets révèlent que l'augmentation de ces facteurs augmente les réponses. À l'inverse, des valeurs négatives révèlent une diminution des réponses. Ainsi, parmi tous les principaux facteurs, seule l'augmentation de la concentration de PO_4^{3-} (X_3) a provoqué une diminution de l'efficacité d'élimination du NH_4^+ (confère Y_3 et Y_3'). En effet, Abbona *et al*. (1982) ont rapporté que les ions PO_4^{3-} pouvaient complexer NH_4^+ en présence de Mg^{2+} pour former des composés tels que la struvite ($MgNH_4PO_4, 6H_2O$) dans les eaux usées selon l'équation (Eq.3) (Tansel *et al.,* 2108). Ainsi, le processus de nitrification biologique de NH_4^+ en NO_3^- est alors retardé car les plantes n'assimilent que le NO_3^- pour leur croissance.

$$Mg^{2+} + NH_4^+ + PO_4^{3-} + 6H_2O \rightarrow MgNH_4PO_4.6H_2O \qquad \textbf{(Eq. 33)}$$

Ce processus est presque similaire à l'élimination du NO_3^- car, bien que l'effet soit synergique, la contribution de X_3 par son coefficient sur la réponse Y_2 est relativement faible par rapport à celle des réponses Y_1 et Y_4. De plus, l'ajustement et la robustesse des modèles de régression ont été effectués en considérant les réponses expérimentales et prédites à travers les R^2_{ajust} et R^2 (Figures 34-35).

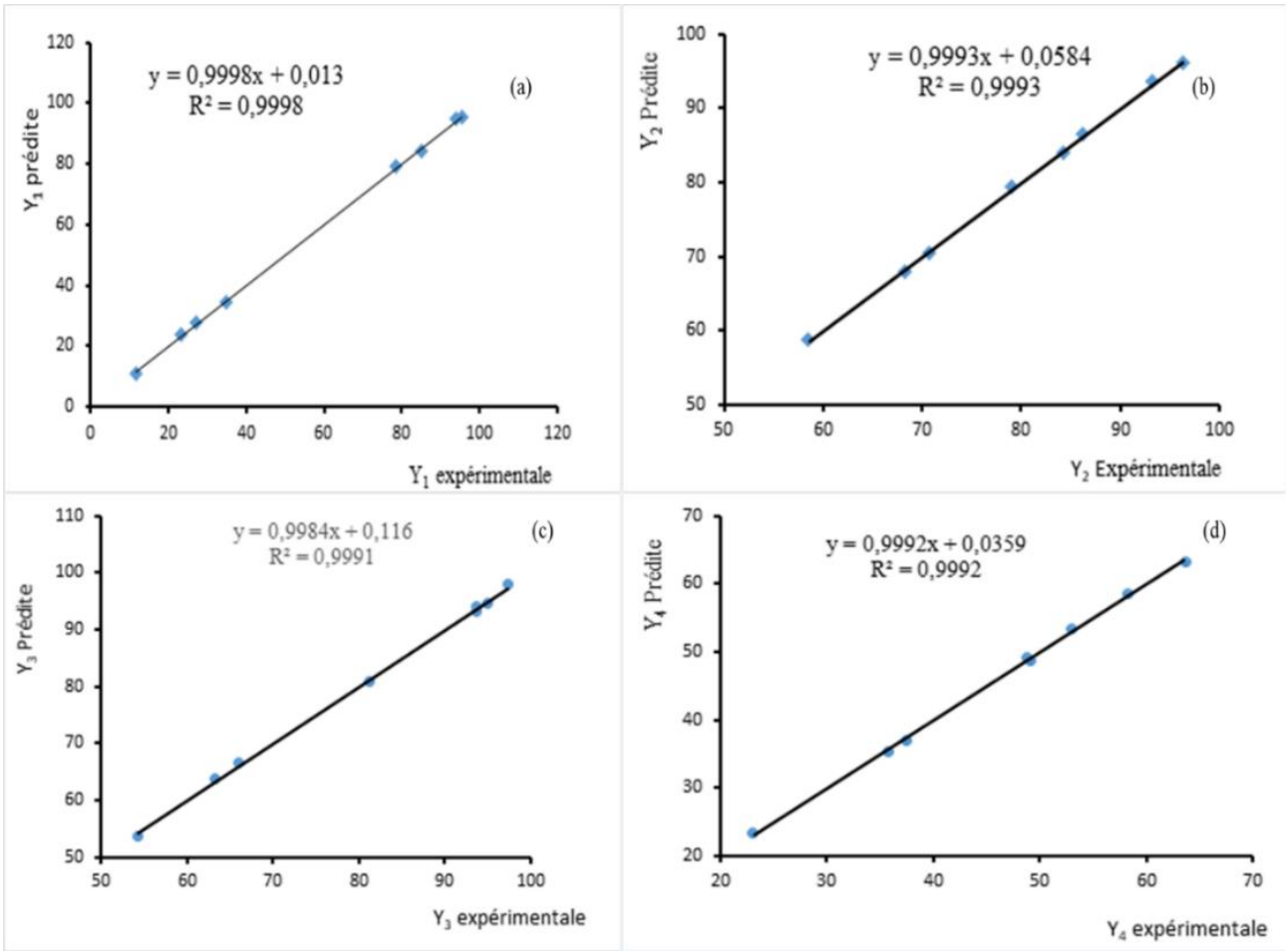


Figure 34 : Corrélation entre les réponses expérimentales et prédites de PO_4^{3-} (a), NO_3^-(b), NH_4^+(c) et de la DCO (d) en utilisant *E. crassipes.*

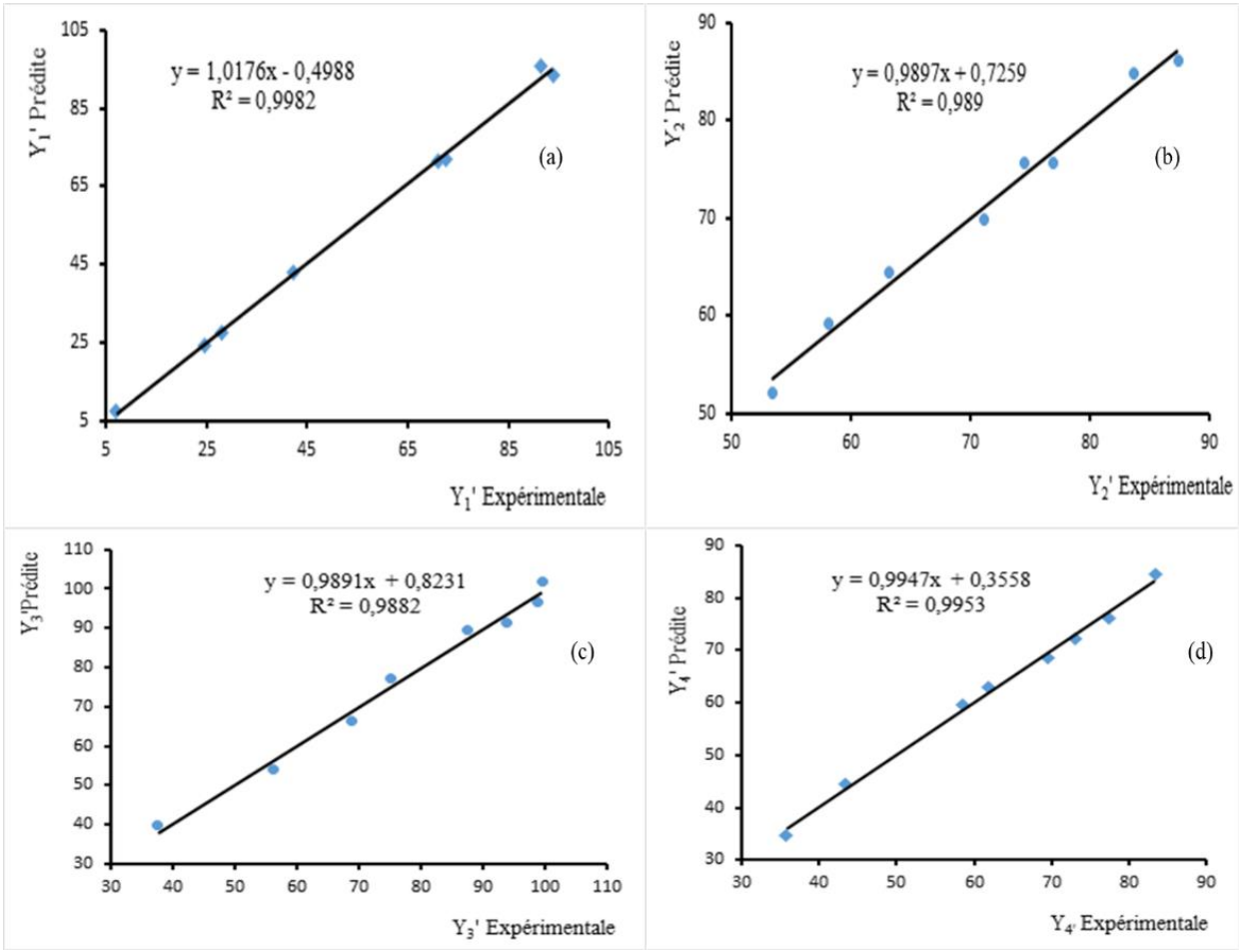


Figure 35 : Corrélation entre les réponses expérimentales et prédites de PO_4^{3-} (a), NO_3^-(b), NH_4^+(c) et DCO (d) en utilisant *P. stratiotes*

Il existe une très bonne corrélation entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites pour la réduction de PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ et DCO. Les valeurs de R^2 sont toutes proches de 1, tandis que les valeurs de R^2adj varient de 0,917 à 0,999 (Tableau 14).

Tableau 14 : Paramètres statistiques des modèles de régression

	E. crassipes				*P. stratiotes*			
	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y_1'	Y_2'	Y_3'	Y_4'
R^2	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999	0,989	0,988	0,995
R^2_{adj}	0,998	0,995	0,994	0,994	0,994	0,924	0,917	0,967
CV (%)	2,58	1,19	1,69	2,10	2,34	4,70	8,27	4,79

Ces modèles de régression sont capables de prédire les taux d'élimination de ces polluants par *E. crassipes* ou *P. stratiotes*. De plus, pour ces deux macrophytes, CV varie de 1,19 à 8,27 %. En fait, ces faibles valeurs de CV reflètent la fiabilité et la reproductibilité des expériences car

un modèle est raisonnablement reproductible si la valeur de CV est inférieure à 10 % (Silva, 2008). Compte tenu des informations présentées par ces modèles de régression, une validation statistique par l'ANOVA permet de les utiliser pour prédire avec précision le processus de post-traitement des eaux usées par phytoremédiation en utilisant *E. crassipes* et /ou *P. stratiotes.*

VII.1.2. ANOVA des modèles de régression

Afin de proposer un modèle approprié, les tests de signification des principaux facteurs, des facteurs d'interaction et des modèles de régression, ont été effectués en appliquant l'ANOVA. P-val est la valeur de probabilité associée à la valeur de Fischer (F-val) pour un seul facteur testé ou pour une interaction à 2 facteurs. Tous les calculs ont été effectués avec un niveau de signification de 5 %. Les résultats sont rapportés dans le Tableau 15.

Le facteur X_1 (P-val = 0,01 - 0,02 < 0,05) montre une différence significative élevée sur le modèle d'élimination des PO_4^{3-}, NO_3^- et NH_4^+ respectivement décrit par Y_1, Y_2 et Y_3, alors que, aucun effet significatif n'a été trouvé sur le modèle d'élimination de la DCO décrit par Y_4. Les facteurs X_2 (P-val = 0,02) et X_3 (P-val = 0,04) ont un effet significatif élevé sur l'élimination de la DCO. Cela implique l'existence d'une bonne corrélation entre la densité des plantes (X_2) et la teneur en phosphore (X_3) sur les performances de la phytoremédiation par *E. crassipes*.

Quant aux effets d'interaction, seule l'interaction X_1X_3 a un effet significatif sur l'élimination du NO_3^- par *E. crassipes*. En ce qui concerne *P. stratiotes*, le test ANOVA a montré que les facteurs X_1 et X_3 ont des effets très significatifs (P-val < 0,05) sur l'élimination de PO_4^{3-} (Y_1') et peu significatifs (P-val = 0,07 > 0,05) sur l'abattement de la DCO (Y_4'). Pour Y_2' et Y_3', seul le facteur X_1 a un effet peu significatif avec une P-val respective de 0,07 et 0,08. Un autre effet peu significatif a été observé avec l'interaction X_1X_2 car le P-val (0,055) est légèrement supérieur à 0,05. De plus, F-val qui est défini comme le rapport entre les carrés moyens du modèle et le carré moyen des erreurs résiduelles permet de juger de la validité et de la robustesse du modèle de régression. Ainsi, pour le modèle d'élimination de PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ et DCO respectivement décrit par Y_1, Y_2, Y_3 et Y_4, les valeurs F calculées sont respectivement de 692,2, 221,9, 184,14 et 218,88. PourY_1',Y_2', Y_3' et Y_4', les valeurs F sont 801,2, 15,3, 13,9 et 34,9, respectivement. Ces valeurs sont supérieures au Fischer tabulé ($F_{(n-p, p-1, 0,05)} = F_{(1, 6, 0,05)} = 5,99$ avec n indiquant le nombre d'essais et p le nombre de facteurs) au niveau de signification de 5 %. Ces résultats montrent que ces modèles mathématiques sont valides et robustes pour expliquer les variations des taux d'élimination des PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ et DCO en fonction des conditions définies par les variables.

Tableau 15 : ANOVA concernant la modélisation du PFC adapté à la phytoremédiation des eaux usées

	E. crassipes								*P. stratiotes*							
		Y_1		Y_2		Y_3		Y_4		Y_1'		Y_2'		Y_3'		Y_4'	
	Ddl	F-val	P-val	F-val	P-val	F-val	P-val	F-val	P-val	F-val	P-val	F-val	P-val	F-val	P-val	F-val	P-val
Model	6	692,2	0,03	221,9	0,05	184,1	0,056	218,9	0,05	801,2	0,03	15,3	0,19	13,9	0,2	34,9	0,13
X_1	1	3926	0,01	980,1	0,02	896,1	0,02	148,6	0,05	4096	0,01	67,1	0,07	62	0,08	76	0,07
X_2	1	61,3	0,08	46,1	0,09	81,5	0,07	831,3	0,02	100	0,06	1,5	0,44	3,2	0,33	36,3	0,1
X_3	1	125,3	0,057	0,2	0,73	47,9	0,09	296	0,04	464,6	0,03	20,5	0,14	3,4	0,32	73,6	0,07
X_1X_2	1	29,1	0,12	111,6	0,06	42	0,09	29,7	0,11	132,2	0,055	2,2	0,37	1	0,5	2,6	0,35
X_1X_3	1	2,8	0,34	193,4	0,04	32,2	0,11	0	1	13,8	0,17	0,1	0,79	13,8	0,17	20,7	0,14
X_2X_3	1	8,4	0,21	0,01	0,95	5	0,26	7,7	0,22	0,7	0,56	0,1	0,79	0,2	0,76	0,02	0,9

VII. 1.3. Contribution de chaque facteur aux différentes réponses

La Figure 36 présente la contribution des facteurs et de leurs interactions sur l'efficacité de la phytoremédiation par *E. crassipes* et *P. stratiotes* selon le modèle expérimental établi.

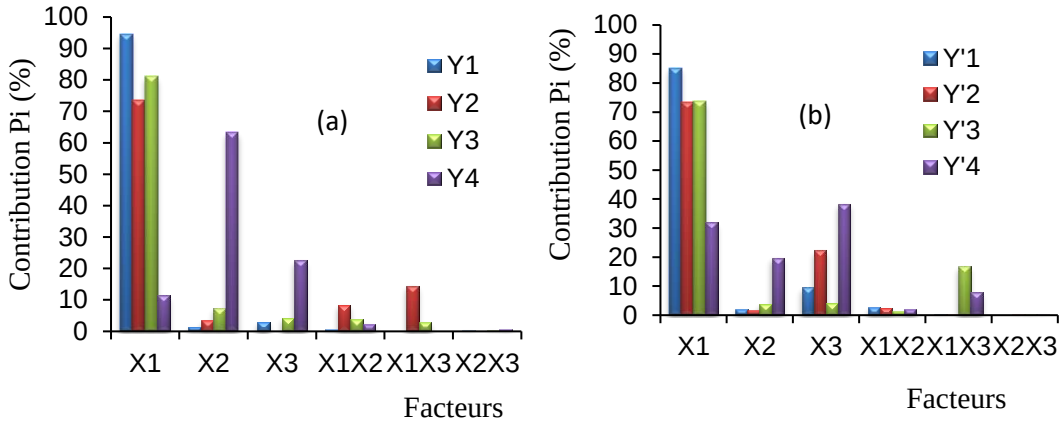


Figure 36 : Diagrammes de Pareto sur la contribution des facteurs à la phytoremédiation : *E. crassipes* (a) et *P. stratiotes* (b).

Au vu des résultats relatifs à *E. crassipes* (Figure 36 (a)), le temps de séjour (X_1) semble exercer une forte influence sur la phytoremédiation. En effet, sa contribution à l'élimination des PO_4^{3-}, NO_3^- et NH_4^+ est respectivement de 94,55%, 73,6 % et 81,14 % dans les eaux usées domestiques traitées. Outre la contribution du temps de séjour à l'élimination de la DCO, la densité de la plante (X_2), la concentration initiale de phosphore (X_3) ont également montré une bonne contribution à l'élimination de la DCO, respectivement de 63,3% et de 22,5%. Cela pourrait s'expliquer par le système racinaire très dense d'*E. crassipes* qui favorise la fixation de microorganismes capables de dégrader les polluants organiques (Abbona *et al*., 1982). On note également que l'interaction entre le temps (X_1) de séjour et la charge initiale en phosphore (X_3) exerce une influence (15%) sur l'élimination des nitrates (Figure 36(a)). Cela pourrait s'expliquer par le fait que l'augmentation de la biomasse de *E. crassipes* exige un temps de séjour hydraulique élevé par rapport à celle de *P. stratiotes* (Fonkou *et al*., 210) ce qui fait qu'il a besoin un peu de temps pour pouvoir éliminer les nitrates. Dans le cas de *P. stratiotes* (Figure 36 (b)), il convient également de noter que le temps de séjour (X_1) a une forte influence sur l'élimination des PO_4^{3-}, NO_3^- et NH_4^+ avec des contributions estimées à 85,20 % ; 73,29 % et 73,70 %, respectivement. Il faut souligner aussi que la concentration initiale en phosphore (X_3) exerce une influence (22 %) sur l'élimination des nitrates (Figure 36 (b)). On peut expliquer

cela par le fait le phosphore est considéré comme facteur limitant (Conley *et al*., 2009) et donc son augmentation influence l'élimination des nitrates étant que les plantes absorbent l'azote sous forme de nitrates (forme soluble) en phase de croissance (Qin *et al*., 2016). En ce qui concerne la contribution des facteurs d'interaction, seul l'interaction entre le temps de séjour et la concentration en phosphore (X_1X_3) a une contribution relativement forte à l'élimination de NH_4^+ et de DCO avec des valeurs estimées à 16,94 % et 7,82 %, respectivement. Pour les deux macrophytes l'interaction entre la densité des plantes et la concentration initiale en phosphore (X_2X_3) n'a pas d'influencer sur l'élimination des nutriments. Cela vient pour confirmer les valeurs coefficients associés aux équations (Eq.25 à Eq.32) du modèle de régression. En effet, tous les effets significats de ces coefficients sont négatifs ce qui signifie que cette interaction exerce des effets antagonistes sur les l'élimination des paramètres suivis au cours de cette étude. Cela ne pourrait pas s'expliquer par les contributions des facteurs décrit par les diagrammes de Pareto (Figure 36) mais peut s'expliquer à partir des digrammes d'interactions (Figures33-34) où l'on a discuté en montrant que l'abattement des ammoniums diminue lorsque la concentration en phosphore augmente par suite de la complexation de NH_4^+ par PO_4^{3-} pour forme la struvite ($MgNH_4PO_4, 6H_2O$) en présence de Mg^{2+} (Abbona *et al*.,1982, Tansel *et al.,* 2108).

VII.1.4. Interactions des facteurs sur les taux d'élimination de la pollution

Dans cette section, une attention particulière a été accordée aux interactions entre le temps de séjour et la concentration initiale en phosphore (X_1X_3) et entre la densité des plantes et la charge initiale en phosphore (X_2X_3) car ces deux interactions ont montré une faible contribution. Les diagrammes d'interaction ont été tracés pour comprendre l'influence effective de chaque facteur sur l'élimination de PO_4^{3-} (Y1 ou Y_1' '), l'élimination de NO_3^-(Y3 ou Y_3'), l'élimination de NH_4^+ (Y_3 ou Y_3') et l'élimination de la DCO (Y_4 ou Y_4'). Les Figures 37 (a) et 37(c) montre que, lorsque le temps de séjour est au niveau le plus bas, l'augmentation de la concentration de phosphore de 2 à 10 mg/L induit une faible efficacité du procédé d'élimination du phosphore et de la DCO. La même tendance a été observée lorsque le temps de séjour a été fixé à 30 jours.

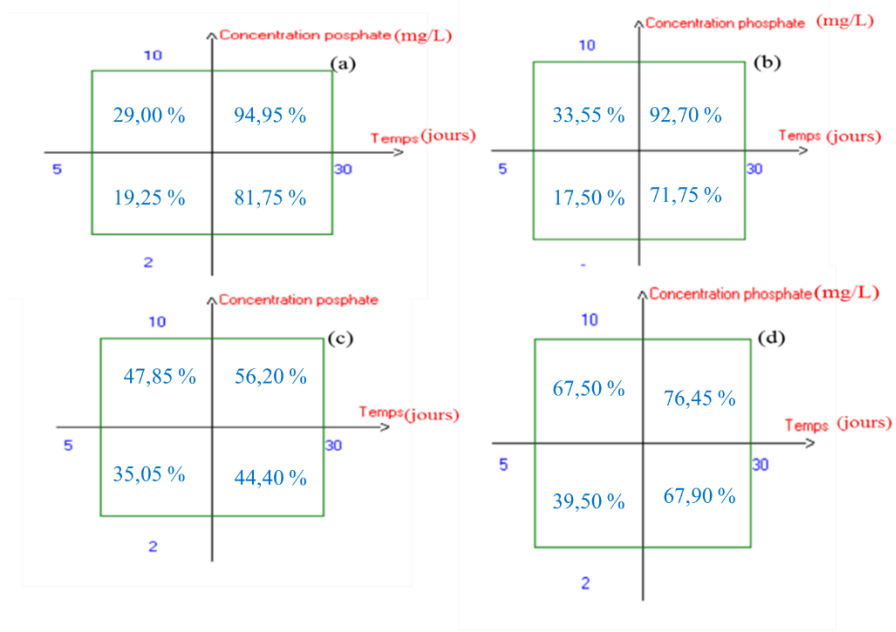


Figure 37: Diagrammes d'interaction des facteurs X_1X_3 : *E. crassipes* ($\mathbf{Y_1}$(a) et $\mathbf{Y_4}$(c)) et *P. stratiotes* ($\mathbf{Y_1'}$(b) et $\mathbf{Y_4'}$(d)

La variation pour les deux rendements (Y_1 (a) et Y_4 (c)) prises dans le sens vertical a été estimée à près de 13%. Par ailleurs, que la concentration initiale de phosphore soit faible ou élevée, une augmentation du temps de séjour a conduit à un important taux d'élimination du phosphore. En effet, le taux d'élimination du phosphore à faible concentration (2 mg/L PO_4^{3}) est de 63 % de 5 à 30 jours alors qu'elle est de 66 % pour la concentration élevée (10 mg/L PO_4^{3-}). Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'*E. crassipes* a besoin d'un certain temps pour épuiser la quantité de nutriments phosphorés dans les eaux de surface pour sa croissance. L'utilisation de *P. stratiotes* pour l'élimination de PO_4^{3-} (Figure 38 (b)) et de la DCO (Figure 38 (d)) donnent de meilleurs résultats par rapport à ceux d'*E. crassipes* avec un temps de séjour (également appelé temps de rétention hydraulique) de 5 jours.

Lorsque le temps de séjour est de 30 jours, *E. crassipes* élimine mieux le phosphore que *P. stratiotes* qui à son tour est plus efficace à réduire la DCO Selon Shah *et al*. (2015) et Rezania *et al*. (2016) l'élimination de la DCO est le résultat de la croissance de bactéries aérobies qui se sont développées sur le système racinaire des plantes. Ces bactéries transforment la matière organique biodégradable en composés minéraux utiles à la croissance de ces macrophytes. Il ressort de cette interaction entre le temps de séjour et la concentration initiale en phosphore (X_1X_3) que l'augmentation de la concentration initiale de PO_4^{3-} non seulement augmente l'élimination de PO_4^{3-} par les plantes, mais contribue également à l'élimination de la DCO. Il en résulte une croissance harmonieuse des macrophytes. De plus, l'interaction entre le temps de

séjour et la concentration initiale en phosphore (X_1X_3) révèle qu'*E. crassipes* est moins efficace pour des temps de séjour relativement courts mais très efficace lorsque la phytoremédiation est effectuée avec un temps de rétention hydraulique élevé, contrairement à *P. stratiotes*. Cela pourrait s'expliquer par une très bonne couverture spatiale du plan d'eau par *P. stratiotes* au cours de sa croissance par rapport à *E. crassipes* (Tabinda *et al*., 2019).

L'interaction entre la densité des plantes et la charge initiale en phosphore (X_2X_3) fournit des informations très intéressantes sur l'élimination de NH_4^+ par ces deux (2) macrophytes. En effet, à travers les diagrammes d'interaction des facteurs décrits dans les Figures 38 (a) et 38 (b), il apparaît que lorsque la concentration de PO_4^{3-} augmente de 2 mg/L à 10 mg/L, une diminution du taux d'élimination du NH_4^+ est observée pour les deux macrophytes indépendamment de la densité de plantes. Cela pourrait s'expliquer par le fait que la présence des ions PO_4^{3-} dans l'eau en quantité élevée peut causer la complexation des ions NH_4^+ sous forme la struvite ($MgNH_4PO_4, 6H_2O$) en présence de Mg^{2+} ralentissant ainsi le processus de nitrification biologique de NH_4^+ en NO_3^- et par conséquent son élimination (Abbona *et al*.,1982, Tansel *et al.*, 2108). Cette perte de potentiel d'élimination de NH_4^+ est d'environ 5 % pour *E. crassipes* contre 10 % pour *P. stratiotes*. Cependant, à une concentration fixe de PO_4^{3-}, une augmentation de la densité des plantes contribue à une meilleure élimination du NH_4^+. En effet, en fixant la densité de plantes à 30 ou 60 pieds/m^2, *E. crassipes* élimine mieux NH_4^+ que *P. stratiotes* quelle que soit la concentration initiale de PO_4^{3-}.

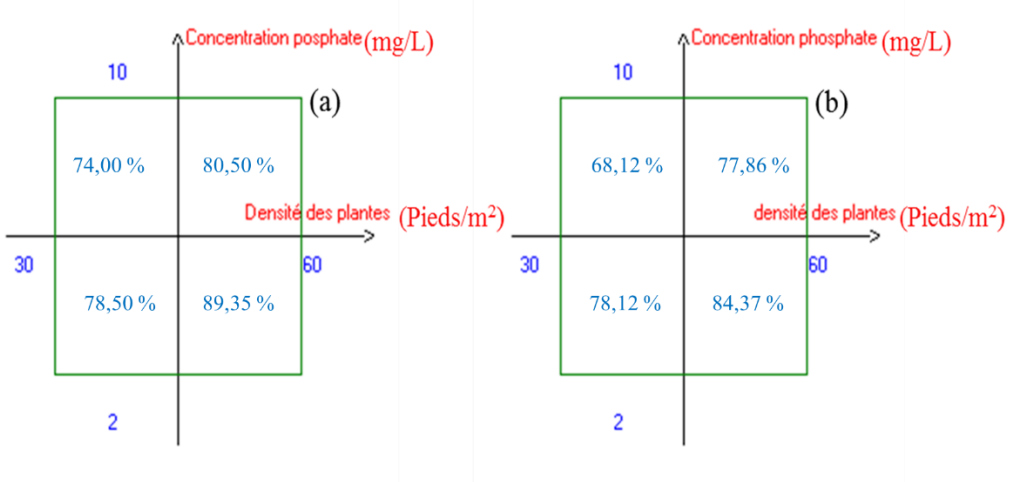


Figure 38 : Diagramme d'interaction des facteurs X_2X_3 : *E. crassipes* ($\mathbf{Y_3}$(a)) et *P. stratiotes* ($\mathbf{Y_3'}$(b))

VII.1.5. Optimisation multi-réponse et comparaison des résultats avec les travaux antérieurs

Les conditions optimales pour le post-traitement des eaux usées étudiées par phytoremédiation ont été obtenues en utilisant la fonction de désirabilité. Selon les résultats présentés dans le Tableau 16, la désirabilité globale maximale (D) est de 0,96 et 0,97 pour *E. crassipes et P. stratiotes*, respectivement. Ces données indiquent pour chaque cas, les conditions optimales correspondant à un temps de séjour de 30 jours, une densité de plante de 60 pieds/m^2 et une concentration initiale de PO_4^{3-} de 10 mg/L. Ces conditions optimales correspondent en fait au test 8 décrit dans les Tableaux 11 et 12, et qui a conduit à des taux d'élimination de 94,2% de PO_4^{3-} ; 93,3 % de NO_3^- ; 95,0 % de NH_4^+ et 63,6 % de la DCO dans le cas d'*E. crassipes* contre 93,9 % de PO_4^{3-}, 83,4 % de NO_3^- ; 99,47 % de NH_4^+et 85,6 % de la DCO dans le cas de *P. stratiotes.*

Tableau 16: Désirabilité individuelle (di) et globale (D) correspondant aux conditions expérimentales utilisant *E. crassipes* et *P. stratiotes*

	E. crassipes					***P. stratiotes***				
	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4		Y'_1	Y'_2	Y'_3	Y'_4	
	Désirabilité					Désirabilité				
Expérience	d_1	d_2	d_3	d_4	D	d_1	d_2	d_3	d_4	D
1	0	0,256	0,20	0	0	0	0	0,504	0	0
2	0,796	0,731	0,91	0,31	0,64	0,743	0,621	0,807	0,47	0,65
3	0,184	0,543	0,62	0,64	0,45	0,238	0,14	0,605	0,15	0,24
4	0,873	0,681	1	0,73	0,81	0,726	0,693	0,908	0,87	0,79
5	0,139	0	0	0,35	0	0,201	0,289	0	0,55	0
6	1	1	0,91	0,63	0,87	1	1	0,988	0,70	0,92
7	0,277	0,324	0,27	0,86	0,38	0,402	0,522	0,302	0,78	0,47
8	0,982	0,917	0,94	1	**0,96**	0,986	0,89	1	1	**0,97**

D'après ces taux d'élimination trouvés dans cette étude, il semble qu'*E. crassipes* élimine mieux le NO_3^- que le *P. stratiotes* alors que ce dernier a un meilleur potentiel d'élimination du NH_4^+ et de la DCO. Une exception est observée pour le taux d'élimination de PO_4^{3-} où il est presque le même pour les deux (2) macrophytes. Les travaux récents de Tabinda *et al*. (2019) ont également rapporté que *P. stratiotes* est bien meilleur qu'*E. crassipes* en termes de réduction de la DCO d'un effluent textile. Cela pourrait s'expliquer par une très bonne couverture spatiale du plan d'eau par *P. stratiotes* au cours de sa croissance comme le montre la Figure 39.

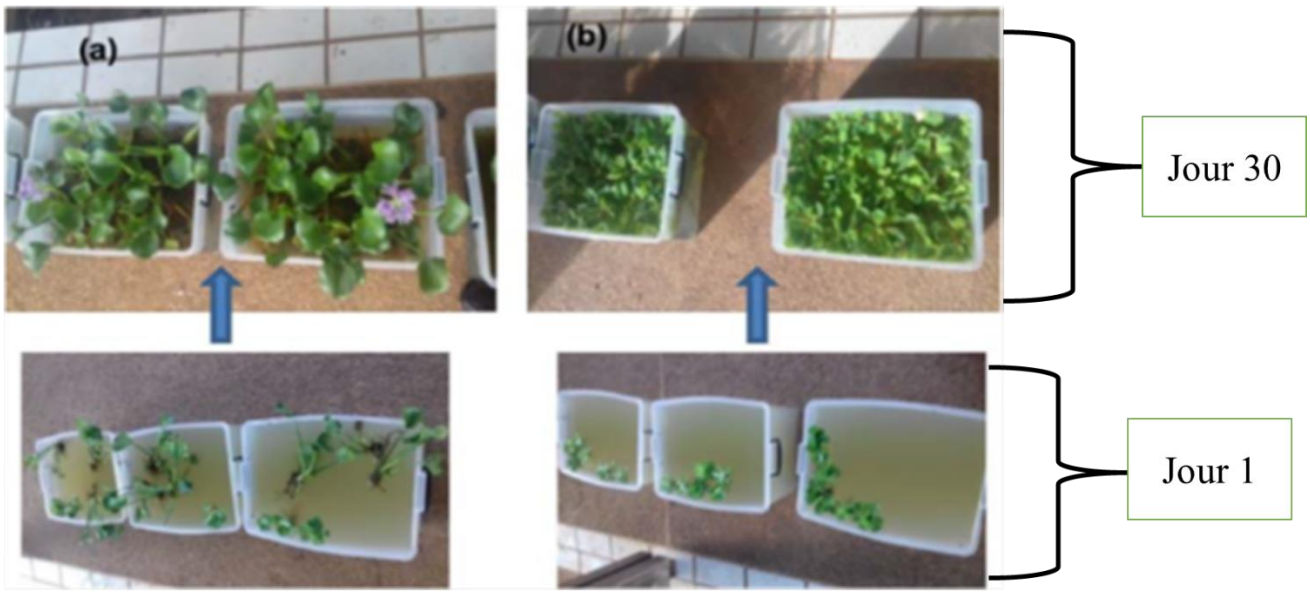


Figure 39 : Croissance d'*E. crassipes* (a) et *P. stratiotes* (b) dans des conditions optimales de phytoremédiation.

VII.1. 6.Comparaison des résultats de cette étude aux normes de rejets

Les valeurs finales et le taux d'abattement de chaque paramètre de pollution suivis permettent de connaitre l'efficacité de cette étude par rapport aux normes de rejets (Tableau 17). En analysant ces résultats, on peut conster quelle que soit la plante utilisée (*E. crassipes* ou *P. stratiotes)* les valeurs de tous paramètres suivis respectent les normes de rejets. En comparant l'efficacité d'élimination de ces paramètres par *E. crassipes* et *P. stratiotes* on peut dire que *E. crassipes* a été très efficace en ce qui concerne l'élimination du nitrate (sa concentration passe de 28,5 à 1,9 mg/L ; soit un taux d'abattement de 93,3%) par à *P. stratiotes* (sa concentration passe de 28,5 à 4,67 mg/L ; soit un taux d'abattement de 83, 6%). Cela pourrait s'expliquer par le système racinaire d'*E. crassipes* très dense par rapport à celui de *P. stratiotes* qui pourrait favoriser l'absorption du nitrate par *E. crassipes* (Abbona et al., 1982).

En revanche, *P. stratiotes* a été efficace pour éliminer NH_4^+ et DCO par rapport à *E. crassipes*. En effet, leurs concentrations respectives passent de 32,5 à 0,17 mg/L et 360 à 54,78 mg O_2/L ; soient des taux d'abattement de 99,47 % et 84,3 % respectivement. Force est de constater les valeurs trouvées sur l'élimination de PO_4^{3-} sont presque similaires pour les deux macrophytes. Cela pourrait s'expliquer par une très bonne couverture spatiale du plan d'eau par *P. stratiotes* au cours de sa croissance par rapport à *E. crassipes* comme le montre la Figure 39.

Comme le montre le Table 17, la concentration en PO_4^{3-} passe respectivement de 10 à 0,58 mg/L et 10 à 0,61 mg/L pour *E. crassipes* et *P. stratiotes* ; soient des taux d'abattement de 94,2 et 93,6 % respectivement. Par ailleurs, ces résultats sont en accord avec les travaux antérieurs où l'on note des contradictions en ce qui concerne l'élimination des nutriments par *E. crassipes* et *P. stratiotes*. En effet, certains trouvent que l'efficacité d'élimination du phosphore est attribuée à *E. crassipes* (Qin *et al.*, 2016 ; Kouamé *et al*., 2016), d'autres rapportent P. *stratiotes* (Gupta *et al.*, 2012 ; Zimmels *et al., 2019*). Au vu de ces contradictions, il serait donc intéressant de valider ces conditions optimales par une étude cinétique réalisée dans ces conditions (Figure 40).

Tableau 17 : Comparaison des caractéristiques des eaux traités aux normes des rejets

		E. crassipes		***P. stratiotes***		
Paramètres	**Valeur intiale**	**Valeur finale**	**Taux d'abatt (%)**	**Valeur finale**	**Taux d'abatt (%)**	**Normes de rejets** (Silva, 2008)
PO_4^{3-} (mg/L)	10	0,58	94,2	0,61	93,6	2
NO_3^- (mg/L)	28,5	1,9	93,3	4,67	83,36	15
NH_4^+ (mg/L)	32,5	1,62	95,0	0,17	99,47	30
DCO (mg O_2/L)	360	120,12	63,6	54,78	83,4	125

VII.1.7. Cinétique d'élimination de PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ et DCO

Les graphiques de Pareto ont montré que la phytoremédiation dépend fortement du temps de séjour des macrophytes dans les eaux usées. En effet, une diminution de la concentration des paramètres a été observée dans l'eau pendant la période de traitement (Figure 40). Cette figure montre que le temps nécessaire pour éliminer les différents nutriments est fonction du type de nutriments. En effet, il a fallu environ 25 jours pour réduire les phosphates et les nitrates alors que la vitesse d'élimination de NH_4^+ et de la DCO est constante à partir du $20^{ème}$ jour. Pour le cas des phosphates, cela pourrait s'expliquer par la forte affinité qu'à le phosphore envers les sédiments qui diminue sa biodisponibilité. En ce qui concerne nitrates, ce temps de traitement se justifie par les différentes étapes de transformation des matières organiques aboutissant à la libération des nitrates dans le cycle d'azote (confère Figure 5 de la section I.2.1.2).

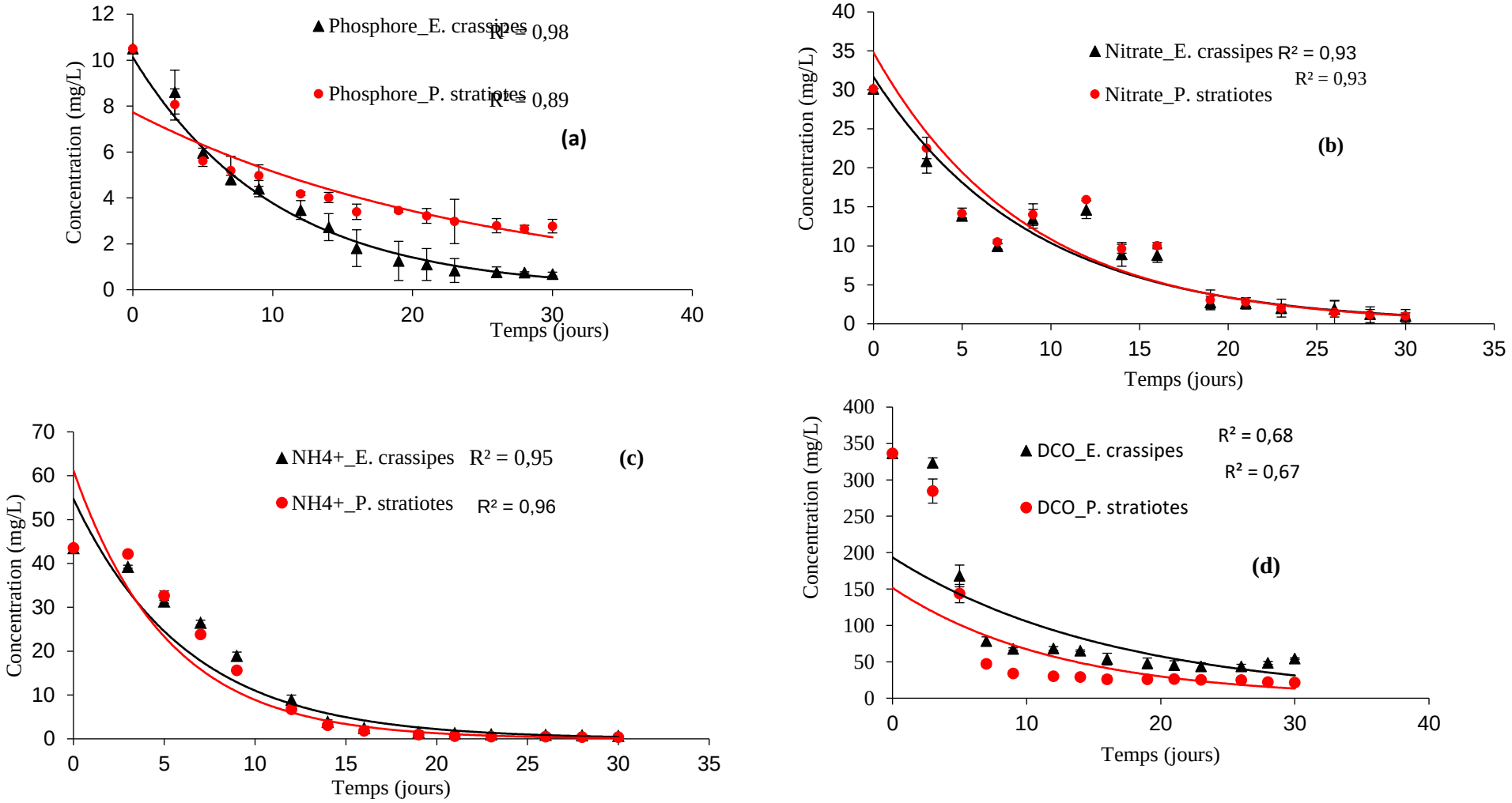


Figure 40 : Cinétique d'élimination de PO_4^{3-} (a), NO_3^- (b), NH_4^+ (c) et DCO (d) dans les conditions optimales par *E. crassipes* et *P. stratiotes*

Cela a permis d'obtenir les équations de prédiction suivantes tirées de la Figure 40. En effet, ces équations de prédiction (Eq.34 à Eq.41) relatives à la cinétique d'élimination de PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ et DCO par *E. crassipes s* et *P. stratiotes* sont les suivantes :

Pour *E. crassipes* :

$$C_{PO_4^{-3}} = 10{,}124e^{-0{,}099t} = 0{,}964C_{0(PO_4^{3-})}e^{-0{,}099t} \quad (R^2 = 0{,}98) \quad (\mathbf{Eq.34})$$

$$C_{NO_3^-} = 31{,}66e^{-0{,}11t} = 1{,}05C_{0(NO_3^-)}e^{-0{,}11t} \quad (R^2 = 0{,}93) \quad (\mathbf{Eq.35})$$

$$C_{NH_4^+} = 54{,}72e^{-0{,}16t} = 1{,}258C_{0(NH_4^+)}e^{-0{,}16t} \quad (R^2 = 0{,}95) \quad (\mathbf{Eq.36})$$

$$C_{DCO} = 193{,}5e^{-0{,}06t} = 0{,}575C_{0(COD)}e^{-0{,}06t} \quad (R^2 = 0{,}68) \quad (\mathbf{Eq.37})$$

Pour *P. stratiotes* :

$$C'_{PO_4^{3-}} = 7{,}729e^{-0{,}04t} = 0{,}736C_{0(PO_4^{3-})}e^{-0{,}04t} \quad (R^2 = 0{,}89) \quad (\mathbf{Eq.38})$$

$$C'_{NO_3^-} = 34{,}78e^{-0{,}11t} = 1{,}154C_{0(NO_3^-)}e^{-0{,}11t} \quad (R^2 = 0{,}93) \quad (\mathbf{Eq.39})$$

$$C'_{NH_4^+} = 61{,}22e^{-0{,}19t} = 1{,}407C_{0(NH_4^+)}e^{-0{,}19t} \quad (R^2 = 0{,}96) \quad (\mathbf{Eq.40})$$

$$C'_{DCO} = 151{,}6e^{-0{,}08t} = 0{,}451C_{0(COD)}e^{-0{,}08t} \quad (R^2 = 0{,}67) \quad (\mathbf{Eq.41})$$

R^2 attaché à ces régressions varie de 0,98 à 0,68. Pour *E. crassipes*, la cinétique de la décroissance exponentielle du premier ordre du phosphore décrit mieux l'élimination du PO_4^{3-}. Globalement, mis à part la DCO où R^2 est faible, les deux autres paramètres (NO_3^- et NH_4^+) sont relativement bien décrits par ce modèle cinétique car leur R^2 est supérieur à 0,80 (Shah *et al.*, 2015). En effet, pour ces trois (3) paramètres dont R^2 est supérieur à 0,80, le modèle cinétique de premier ordre peut être utilisé pour prédire le temps de traitement de ces eaux usées par *E. crassipes* en raison de l'existence d'une bonne corrélation entre les valeurs réelles et les valeurs prédites. Comme pour *E. crassipes*, les paramètres NO_3^- et NH_4^+ ont des coefficients de détermination relativement élevés respectivement 0,93 et 0,96 lorsque *P. stratiotes* est utilisé. De plus, la tendance d'élimination de ces deux (2) paramètres a bien suivi la cinétique de premier ordre. Pour NH_4^+, bien que sa concentration initiale soit pondérée par le facteur 1,407 (supérieur aux autres), sa constante cinétique k qui est de 0,19 $jour^{-1}$ permet d'accélérer sa vitesse d'élimination dans le temps. En comparant les modèles cinétiques de ces deux (2) macrophytes en ce qui concernent l'élimination de PO_4^{3-}, le modèle de *E. crassipes* (Eq.34) est meilleur (R^2= 0,98) par rapport à celui de *P. stratiotes* (Eq.10) pour lequel R^2 vaut 0,98. Ce

résultat corrobore avec les résultats de certains auteurs (Qin *et al.*, 2016 ; Kouamé *et al*., 2016) qui ont rapporté dans leurs travaux que *E. crassipes* éliminent mieux le phosphore par rapport à *P. stratiotes.*

En ce qui concerne la DCO (Eq.37 et Eq.41), cette mauvaise corrélation est probablement due à une grande différence entre la concentration initiale réelle (C_0) et la concentration initiale prédite ($0{,}451C_0$) selon le modèle ajusté. Cela reflète également la complexité liée au processus de la dégradation des composés organiques dans l'eau. En effet, ces composés organiques doivent subir une dégradation par les bactéries fixées aux racines pour favoriser une meilleure assimilation par les macrophytes (Tabinda *et al*., 2019). Dans le même temps, selon Wang et Sample (2014), les macrophytes sécrètent des exsudats des racines. Si ces exsudats sont utilisés par les bactéries pour la dénitrification biologique, il est clair que ce phénomène est à l'origine de la lixiviation des composés organiques entraînant le ralentissement de la cinétique d'élimination de la DCO. Cela a déjà été révélé par Kozdrój et Van Elsas, (2000), suivis par Griffiths *et al,* (2001) qui ont montré que la quantité d'exsudats racinaires est supérieure aux concentrations de carbone organique total calculées pour un sol rhizosphérique.

VII.2. Influence du traitement par phytoremédiation en mode continu

VII.2.1. Caractéristiques de l'effluent alimentant le dispositif expérimental

Les valeurs moyennes des paramètres analysés lors de la caractérisation de l'effluent du bassin facultatif de la STEP de Buterere sont présentées dans le Tableau 18.

Tableau 18 : Caractéristiques des eaux d'alimentation du pilote expérimental comparées à celles de la STEP de Buterere et aux limites de rejet de l'OMS

Paramètres	Effluent des bassins facultatifs	Rejets de la STEP Buterere(Nsavyimana , 2015)	Limites de rejet de OMS (Carr *et al.*, 2004)
pH	8,3 ±0,12	8,2 ± 0,13	6,5 - 9,5
Chlorophylle A (µg/L)	8 860 ±90,0	6 125 ± 101,0	0 – 200
Chlorophylle B (µg/L)	640 ±10	424,30 ± 9,55	0 – 200
Chlorophylle C (µg/L)	1 530 ±9.8	1 280,10± 8,18	0 – 200
PO_4^{3-} (mg/L)	28,11 ±2,15	25,40 ± 3,13	≤ 2
$N\text{-}NH_4^+$ (mg/L)	82,80 ± 0,25	68,50 ± 10,89	≤ 15
$N\text{-}NO_3^-$ (mg/L)	47,03 ± 1,17	41,20 ± 4,71	≤ 30
DCO (mg O_2/L)	358,13 ± 30,5	123,00 ± 17,92	≤ 150
DBO_5 (mg O_2/L)	260,00 ± 20,45	51,00 ± 6,98	≤ 50

Ces résultats ont été comparés à la qualité de l'effluent du bassin de maturation de la STEP (Nsavyimana, 2015) et aux valeurs relatives à la norme de rejet des eaux usées selon l'OMS (Carr e*t al*., 2004). En effet, le bassin de maturation correspond à la dernière étape de traitement de la STEP de Buterere. On constate que l'effluent du bassin facultatif de la STEP de Buterere est très chargé par rapport aux eaux de rejet du bassin de maturation de ladite STEP. Par ailleurs, les caractéristiques des eaux de rejet de la STEP sont en dehors des valeurs limites préconisées par l'OMS (Carr *et al.*, 2004). Cela révèle les limites de cette STEP qui rejette des eaux susceptibles de polluer les cours d'eau.

VII.2.2. Evolution des paramètres de pollution

Pour le traitement en mode continu, la performance épuratoire du dispositif mis en place a été suivie par les cinétiques de réduction de PO_4^{3-} (Figure 41), de NH_4^+ (Figure 42), de NO_3^- (Figure 43), des Chlorophylles (Figure 44), de la DBO_5 (Figure 45) et de la DCO (Figure 46).

A cet effet, une réduction importante de PO_4^{3-} a été observée après un temps de séjour de l'effluent dans les bassins à *P. stratiotes* puis à *E. crassipes*. Pour le bassin témoin, une légère réduction de PO_4^{3-} a été observée. Cela est dû à l'action des microphytes et des algues. On remarque après le 25^e jour, une remontée de la concentration en PO_4^{3-}qui pourrait indiquer le vieillissement et la mort des macrophytes. En effet, la dégradation des macrophytes dans l'eau à la suite de cette mortalité entraîne la recontamination des eaux usées traitées en nutriments et en matières organiques. De ce fait, un renouvèlement des plantes doit être effectué pour assurer la pérennité de la phytoremédiation. Ainsi, en se référant à un séjour maximal de 25 jours, on obtient un rendement de 46,21 % de réduction de PO_4^{3-}.

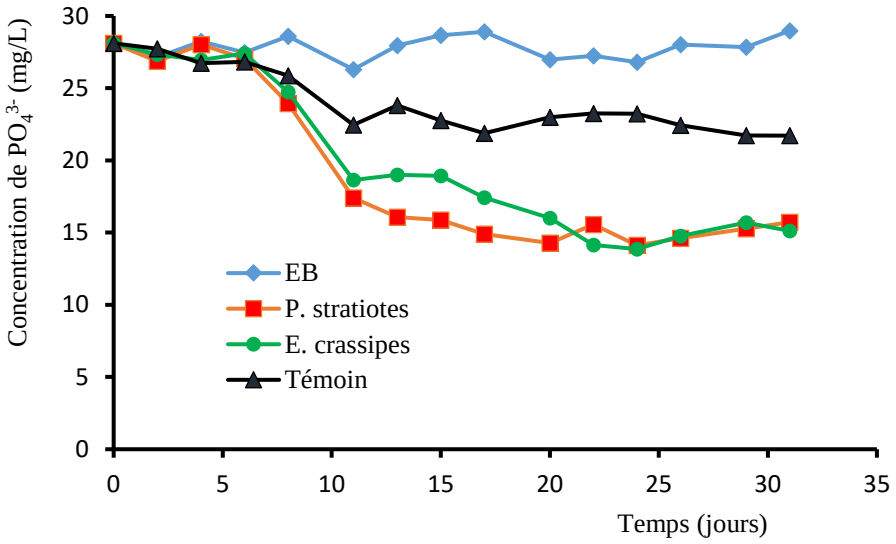


Figure 41 : Cinétique de réduction de PO_4^{3-} dans le dispositif expérimental

Quant à l'élimination de NH_4^+, sa concentration passe de 82,8 à 4,32 mg/L après la phytoépuration (Figure 42). En effet, l'abattement de NH_4^+ a été importante jusqu'au 13^e jour avec un rendement de 91,11 % à la sortie du dispositif expérimental. En outre, on constate que la cinétique d'élimination de NH_4^+ est pratiquement semblable au niveau des deux macrophytes. Ce temps qui a été nécessaire pour abattre NH_4^+ pourrait s'expliquer par le fait que NH_4^+ est la première forme d'azote qui est libérée par dégradation de la matière organique par les bactéries lors du processus d'ammonification et qui par la suite sera convertie respectivement en nitrites et puis en nitrates par les processus de nitritation et nitratation (Sun *et al*., 2019).

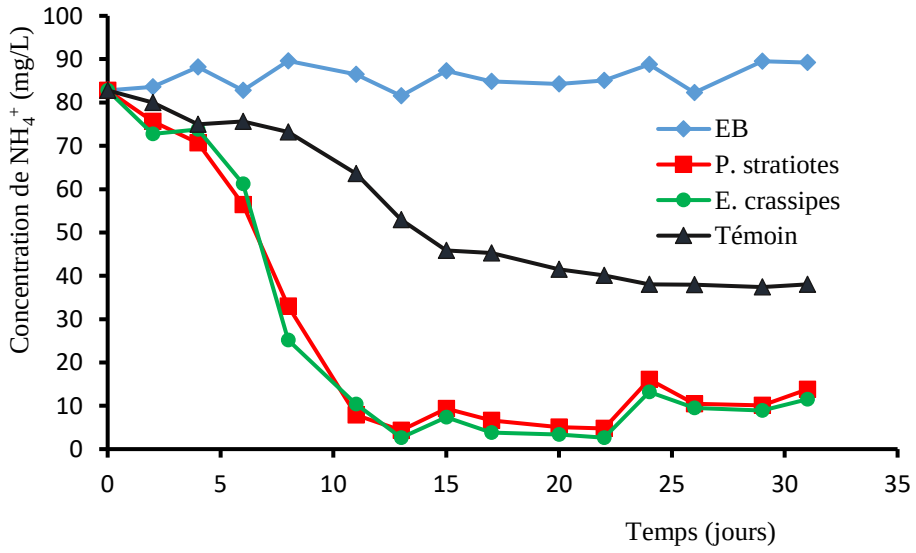


Figure 42 : Cinétique de réduction de NH_4^+ dans le dispositif expérimental**.**

La Figure 43 présente une chute rapide de la concentration de NO_3^-au bout de 15 jours. Cela pourrait s'expliquer par la croissance rapide des macrophytes qui consomment beaucoup NO_3^- étant donné qui c'est la forme soluble d'azote qui est facilement absorbé par les plantes (Fonkou *et al*., 2010, Gupta et Mahindrakar, 2012, Ting *et al*., 2018). On remarque après le 15e jour, une remontée de la concentration en NO_3^- qui pourrait indiquer le vieillissement et la mort des macrophytes. Cette mortalité pourrait entraîner la recontamination des eaux usées traitées en NO_3^-.

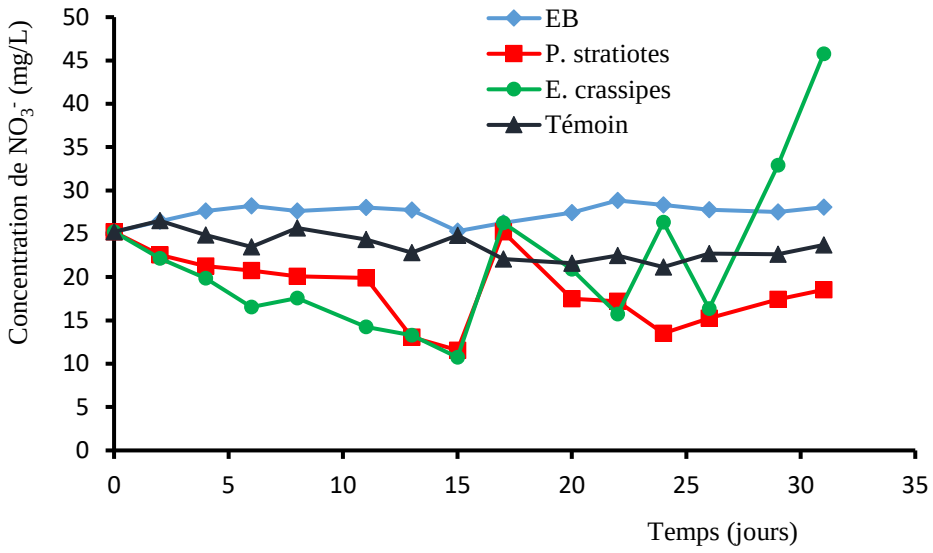


Figure 43 : Cinétique de réduction de NO_3^- dans le dispositif expérimental.

En ce qui concerne la cinétique d'élimination des chlorophylles, les résultats montrent que la charge en Chlorophylle A (Figure 44 (a)) augmente de 886 à 1 304,36 µg/L jusqu'au 15e jour dans les bassins à *P. stratiotes* et *E. crassipes*. Celle de la chlorophylle C (Figure 44 (c)) atteint le maximum à 616,60 µg/L au 6e jour. Cette évolution est pratiquement la même dans les bassins témoins.

Une évolution similaire de la teneur en chlorophylles pour les bassins témoins et pour les bassins à macrophytes a été remarquable. En comparant les bassins témoins et les bassins à macrophytes, on constate que le développement des macrophytes réduit la teneur en chlorophylles. Ces macrophytes sécrètent des composés phénoliques, des hydroquinones et du résorcinol ayant une activité inhibitrice à la croissance des microphytes responsables de la teneur en chlorophylle (Ismail *et al*., 2015). En outre, la couverture intégrale du plan d'eau par les macrophytes empêche les rayons solaires d'activer la photosynthèse pour la croissance des microphytes. Ainsi, à partir du 15e jour, une chute de la teneur en chlorophylles A (Figure 44 (a)) a été remarquable au point d'atteindre parfois des valeurs nulles. Cela pourrait s'expliquer

par la croissance des macrophytes qui empêche notamment les microphytes de recevoir de la lumière nécessaire à leurs activités photosynthétiques entrainant ainsi leurs disparitions.

En ce qui concerne la chlorophylle C (Figure 44 (c)), cette chute est décrite par une allure sinusoïdale avant d'atteindre la valeur nulle. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Fang *et al*. (2007). Cependant, dans le bac témoin, l'absence d'une quelconque activité inhibitrice minimise la variation temporelle de la chlorophylle A et celle de la chlorophylle C. Pour la Figure 44 (b), on constate que c'est le contraire qui se produit. En effet, l'allure des courbes est la même, mais avec des concentrations en chlorophylle B bien supérieures dans les bassins à macrophytes que dans l'eau brute. En d'autres termes, les substances inhibitrices (composés phénoliques, des hydroquinones et du résorcinol) n'ont pas d'influence sur la teneur en microphytes responsables de la teneur en chlorophylles B. On observe une augmentation brusque de la teneur en chlorophylle B entre le $5^{ème}$ et le $10^{ème}$ jour (Figure 44 (b)). Cette augmentation de la chlorophylle B serait due à la diminution de la chlorophylle A, principal pigment photosynthétique, entraînant ainsi l'arrêt de la photosynthèse consommatrice de la teneur de ce pigment. En effet, la chlorophylle B est le pigment accessoire qui collecte l'énergie et la transmet à la chlorophylle A. Cela veut dire qu'en absence de la chlorophylle A, la chlorophylle B n'est pas utilisée par les macrophytes (Féret, 2009).

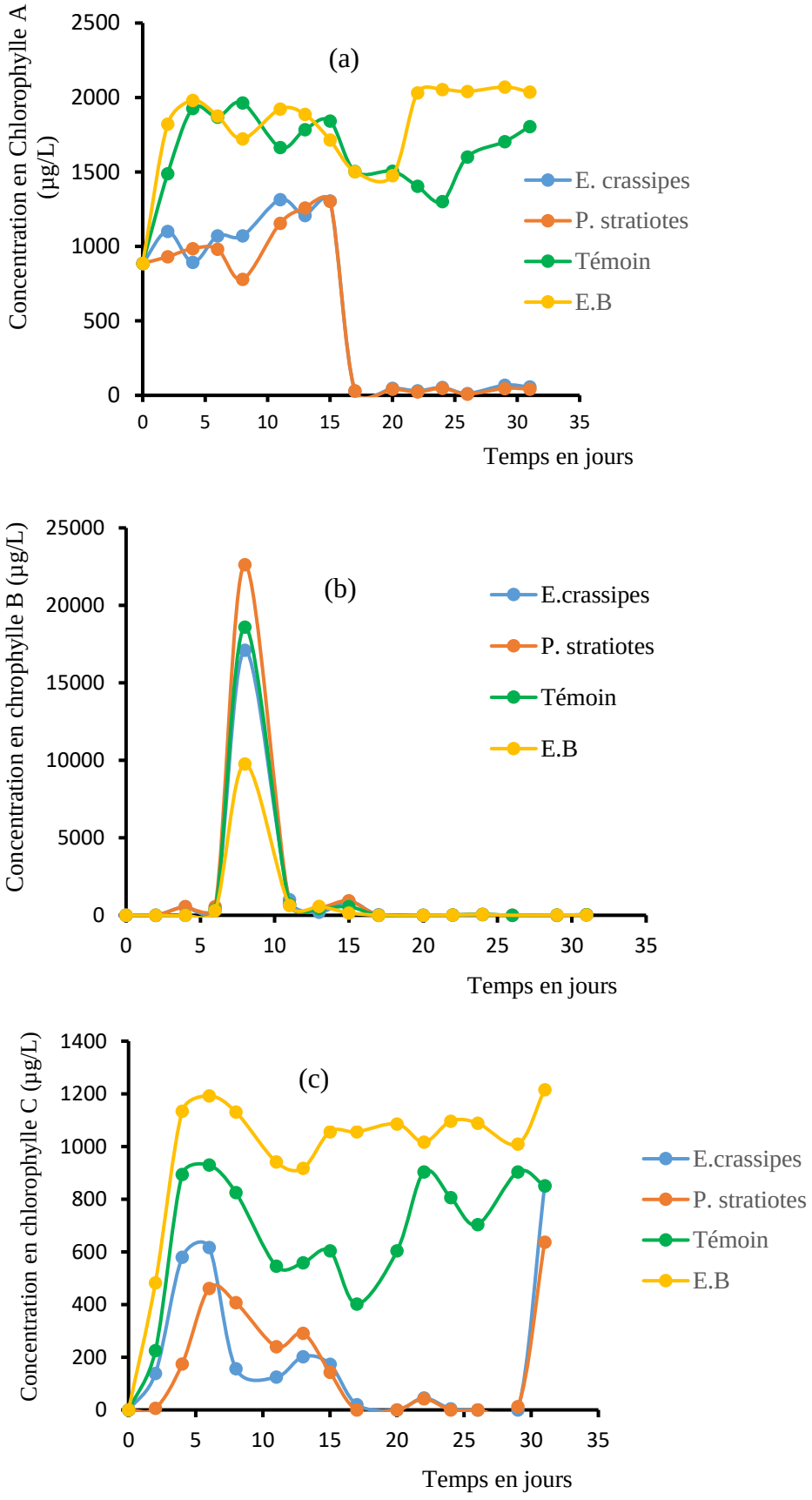


Figure 44: Cinétique de réduction des Chlorophylles A(a), B(b) et (C) dans le dispositif expérimental.

Enfin, l'élimination de la pollution organique évaluée par la charge en DCO et en DBO vient approuver l'efficacité de ce dispositif expérimental à la dépollution des eaux usées domestiques. En effet, la DBO_5 qui reflète la pollution organique biodégradable est restée plus ou moins constante à partir du 15^{e} jusqu'au 25ème jour avec un taux d'abattement de 74,36 % (Figure 45).

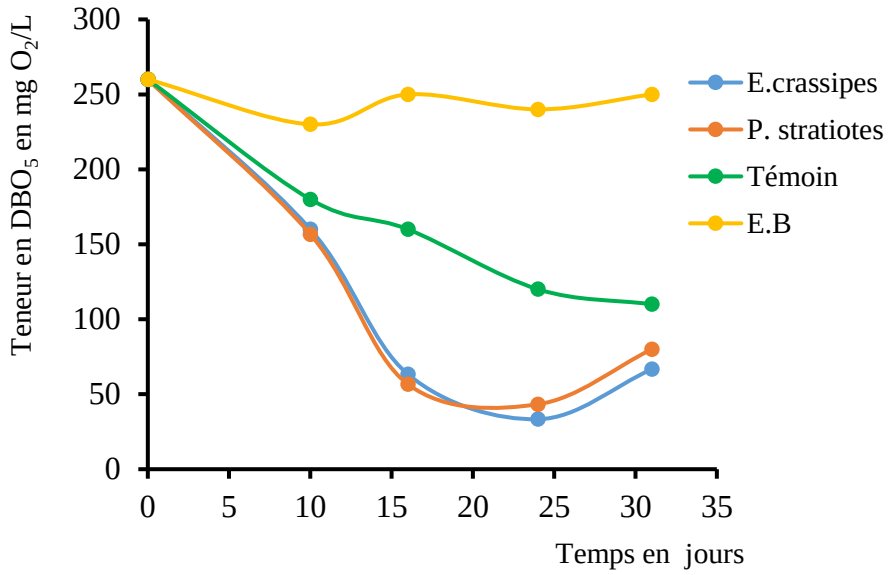


Figure 45 : Cinétique de réduction de la DBO_5 dans le dispositif expérimental.

Quant à la DCO, un taux d'élimination de 57,41 % a été obtenu après 25 jours de traitement. Cependant, la minéralisation des matières dissoutes au cours de la phytoremédiation et la forte présence des nitrates ont favorisé l'augmentation de la DCO (Figure 46).

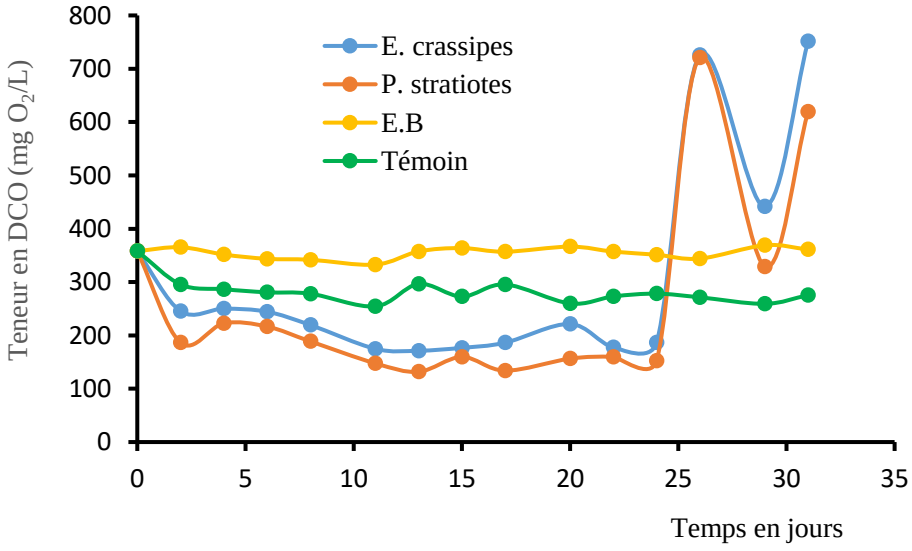


Figure 46 : Cinétique de réduction de la DCO dans le dispositif expérimental.

Par conséquent, il est possible d'affirmer à travers la DBO (Figure 45) que la pollution organique a connu un fort abattement par ces macrophytes à travers ce dispositif expérimental. Outre cela, au regard des résultats relatifs à l'élimination des nutriments, une comparaison de la performance épuratoire de ce dispositif expérimental avec celle de STEP de Buterere est en faveur de ce dispositif.

VII.2.3. Rendements d'élimination des nutriments

Après avoir présenté la cinétique d'élimination des différents paramètres de pollution étudiés, il est nécessaire d'évaluer l'efficacité du dispositif expérimental à travers leurs taux d'élimination (Tableau 19). Cela mène à comparer les résultats du dispositif expérimental qui traite les eaux de rejets du bassin facultatif de la STEP de Buterere à la qualité des eaux de rejet du bassin de maturation de la même STEP ainsi qu'à celle des eaux des tanks témoins. A cet effet, cette performance du pilote expérimental a été scindée en deux périodes vu les cinétiques d'élimination. Il s'agit des 15 premiers jours et le 31^{e} jour de la phytoépuration. Pour les nutriments, des taux de 91,1 %, 57,36 % et 32,61 % respectivement pour NH_4^+, NO_3^- et PO_4^{3-} après 15 jours ont été obtenus. Ces résultats reflètent une bonne activité des macrophytes comparativement aux résultats obtenus au niveau des tanks témoins. Cette période correspond à une croissance rapide des macrophytes à tel enseigne que la demande en nutriments est de plus en plus élevée. Toutefois, jusqu'au 31^{e} jour, on assiste à une augmentation de la production des nitrates comme déjà révélée précédemment. Cette tendance observée pour les nutriments est vraisemblablement contraire chez les chlorophylles car au 15^{e} jour, la production est importante avec des concentrations supérieures à celles de l'effluent brut. Mais après cette période, la croissance rapide des macrophytes a renversé la tendance au point d'avoir des rendements pouvant atteindre 100 %. Cela est dû à l'élimination des microphytes par les macrophytes à la suite de leur compétition vis –à- vis des éléments nutritifs.

Tableau 19 : Taux d'abattement des paramètres de pollution.

Paramètres	Effluent traité après 15 jours		Effluent traité après 31 jours		Effluent traité après 31 jours (Témoins)		STEP de Buterere (mg/L) (Nsavyimana, 2015)
	Valeur finale (mg/L)	Y (%)	Valeur finale (mg/L)	Y (%)	Valeur finale (mg/L)	Y (%)	
Chlorophylle A	1,3044	++	0,0563	99,37	1,8056	++	6,125
Chlorophylle B	0,9104	++	0,0395	93,77	0,0314	++	0,4243
Chlorophylle C	0,1736	++	0,00	100,0	0,8503	++	1,2801
PO_4^{3-}	18,94	32,61	15,11	46,21	21,71	29,45	25,40
NH_4^+	7,37	91,10	11,52	86,08	38,0	54,10	68,50
$N\text{-}NO_3^-$	10,74	57,36	45,76	++	23,72	6,27	41,20
DCO	176,73	57,41	756,25	++	275,45	23,08	123,00
DBO	63,33	75,64	66,66	74,36	110,00	57,69	51,00

NB : ++ : concentration finale supérieure à la concentration initiale (absence d'abattement)

Le résultat d'élimination de PO_4^{3-} de 46,21 % au 31ème jour est en accord avec celui rapporté par Rezania *et al*. (2016). Au cours de ce processus de phytoremédiation, l'élimination de PO_4^{3-} au niveau du bassin à *E. crassipes* est inférieure à celui de *P. stratiotes*. Et pourtant, on s'attendrait à un abattement bien meilleur dans le deuxième bassin (à *E. crassipes*) après un temps de séjour dans le premier bassin (à *P. stratiotes*) (confère le dispositif expérimental de la section V.2.2). Cela pourrait s'expliquer par la fraction particulaire du phosphore qui minéralise dans le deuxième bassin sous l'action des microorganismes (Jerbi, 2015) en libérant le phosphore soluble (PO_4^{3-}). En outre, le bassin à *E. crassipes* reçoit aussi le phosphore résiduel issu du bassin à *P. stratiotes*. Cela entraîne une charge supplémentaire de PO_4^{3-} à éliminer dans le deuxième bassin. Comme le phosphore, l'azote ammoniacal (NH_4^+) a été fortement éliminé pour satisfaire le besoin en nutriments des deux macrophytes. En effet, le processus biologique impliquant les bactéries, accélère la conversion de NH_4^+ en NO_3^- par la réaction de nitratation (Eq.42) (Saeed et Sun, 2012).

$$NH_4^+ + 2O_2 \rightarrow NO_3^- + H_2O + 2H^+ : \Delta G = -349{,}3\ \frac{kJ}{mol} \qquad (\mathbf{Eq.42})$$

Ces microorganismes pour assurer cette réaction, bénéficient de l'oxygène dissous issu de la photosynthèse des plantes qui ont pratiquement colonisé les plans d'eau. Cette couverture totale du plan d'eau maintient constant la température pour éviter toute variation de la teneur en oxygène dissous. C'est à juste titre, qu'au niveau des tanks témoins, une légère élimination de NH_4^+ a été réalisée sous l'action des bactéries qui reçoivent seulement de l'oxygène à travers

la photosynthèse des microphytes où l'équilibre thermique n'est point assuré. De façon générale, ce dispositif expérimental a permis d'avoir des résultats très intéressants comparativement aux travaux de Rezania *et al*. (2016) qui ont rapporté un taux d'élimination de NH_4^+ de 85% pour un traitement en mode continu.

En ce qui concerne l'élimination du nitrate, après la chute de sa teneur correspondant à 57,36% de réduction au 15^e jour, une remontée de cette teneur a été constatée au-delà de cette date car cette période correspond au pic de transformation biologique de NH_4^+ en NO_3^- (confère Figure 5). Ces résultats sont en accord avec les travaux antérieurs de Qin *et al*.(2016) et Kouamé *et al*.(2016) qui ont trouvés qu' *E. crassipes* a une bonne capacité d'éliminer du nitrate.

Les résultats obtenus au cours du traitement en mode continu (Tableau 14) présentent un faible taux d'abattement en ce qui concerne l'élimination de PO_4^{3-}, de NO_3^- et de la DCO. C'est dans ce contexte qu'un traitement en mode discontinu des eaux usées de la STEP de Buterere au Burundi a été réalisé afin de comparer le rendement épuratoire de ces deux modes de traitement.

VII .3. Influence du traitement par phytoremédiation en mode discontinu

VII.3.1. Evolution des paramètres de pollution

Pour le traitement en mode discontinu, la performance épuratoire du dispositif mis en place a été suivie par les cinétiques de réduction de PO_4^{3-} (Figure 47), de NH_4^+ (Figure 48), de NO_3^- (Figure 49), de la DBO (Figure 50) et de la DCO (Figure 51) et des Chlorophylles (Figure 52).

VII.3.1.1 Evolution de la concentration en PO_4^{3-}

Un abattement significatif de PO_4^{3-} (Figure 47) est constaté après un temps de séjour de l'effluent de 26 jours aussi bien pour *E. crassipes* que pour *P. stratiotes*. Après ce temps de séjour, on observe un taux d'élimination de 73,12 % de PO_4^{3-} contre 46,2 % en mode continu. Cela montre combien ce traitement améliore le taux d'abattement des phosphates par rapport au mode continu. En effet, pour le traitement en mode continu, l'effluent à traiter est renouvelé tous les 5 jours ce qui diminue le temps de séjour hydraulique par rapport au mode discontinu. Pour les tanks témoins, une légère diminution de PO_4^{3-} est également observée grâce à l'action des microorganismes et des microphytes.

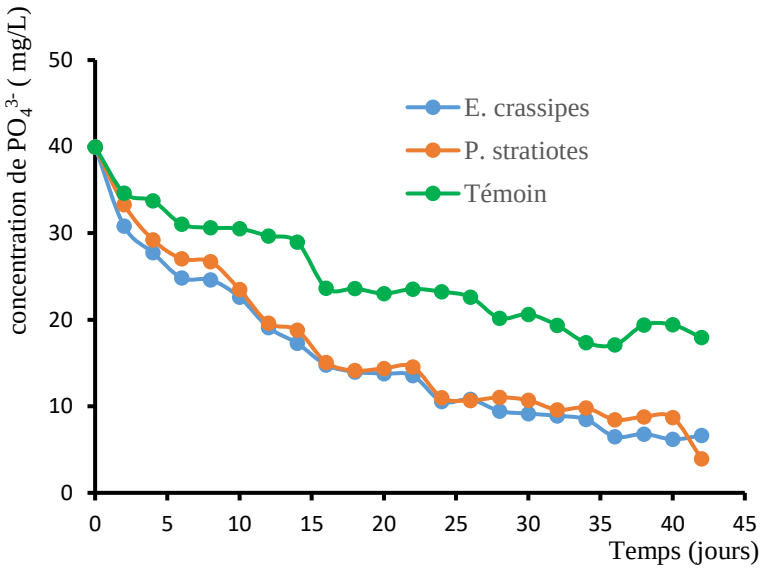


Figure 47 : Cinétique de PO_4^{3-} dans les effluents traités pendant le traitement en mode discontinu

VII.3.1.2 Evolution de la concentration en NH_4^+

En ce qui concerne la concentration de NH_4^+, celle-ci est passée de 93,6 à 2,16 mg/L après l'activité des macrophytes soit un taux d'élimination de 97,69 % (Figure 48) contre 86,08 % pour le traitement en mode continu. En effet, l'élimination maximale de NH_4^+ a été observée au 40ème jour de traitement. En outre, on remarque que la cinétique d'élimination de NH_4^+ est pratiquement similaire pour *E. crassipes et P. stratiotes.*

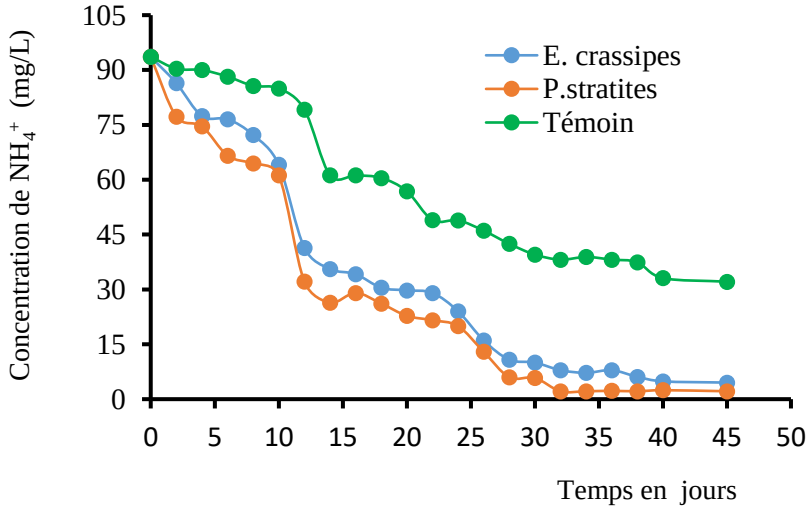


Figure 48 : Cinétique de NH_4^+ dans les effluents traités pendant le traitement en mode discontinu

VII.3.1.3 Evolution de la concentration en NO_3^-

Pour l'élimination de NO_3^-, celle-ci est passée de 77,11 à 12,14 mg/L après l'activité des macrophytes soit un taux d'élimination de 83,54 % (Figure 49) contre 57,36 % pour le traitement en mode continu. Ces résultats traduisent une bonne élimination des nitrates en mode discontinu comparativement aux données obtenues au niveau du traitement en mode continu. Cela a été observé au 15ème jour de traitement et après cette période on constate une augmentation de la teneur en nitrate qui pourrait traduire le vieillissement et la mort des macrophytes. En effet, la décomposition des macrophytes dans l'eau entraîne l'enrichissement du milieu en nutriments et en composés organiques. Un renouvèlement des plantes doit être fait pour continuer la phytoépuration avec de jeunes plantes (Qin *et al.*, 2016; Kouamé *et al.*, 2016).

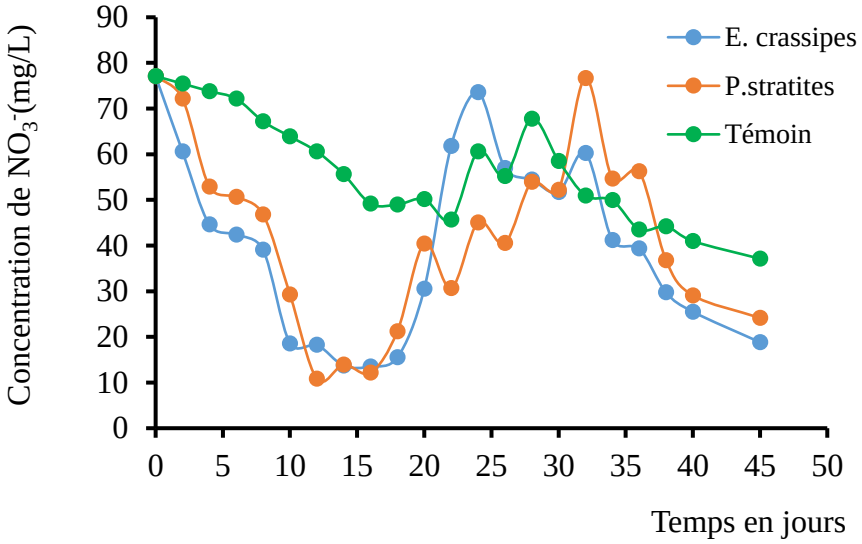


Figure 49 : Cinétique de NO_3^- dans les effluents traités pendant le traitement en mode discontinu

VII.3.1.1.4 Evolution de la concentration en DCO

Les résultats d''élimination de la DCO (Figure 50), présentent une allure simillaire à celle des courbes d'élimination des nitrates. En effet, celle-ci passe de 360 à 105,33 mgO_2/L au 15ème jour de traitement soit un taux d'élimination de 70,74 % contre 57,41 % obtenu pour le traitement en mode continu. Ces résultats viennent pour confirmer l'efficacité du traitement en mode batch en ce qui concerne l'élimination des matières organiques. De même, après cette période, on observe une remontée de la teneur en DCO. Tout comme dans le cas des nitrates, cette augmentation pourrait s'expliquer par le vieillissement et la mort des macrophytes.

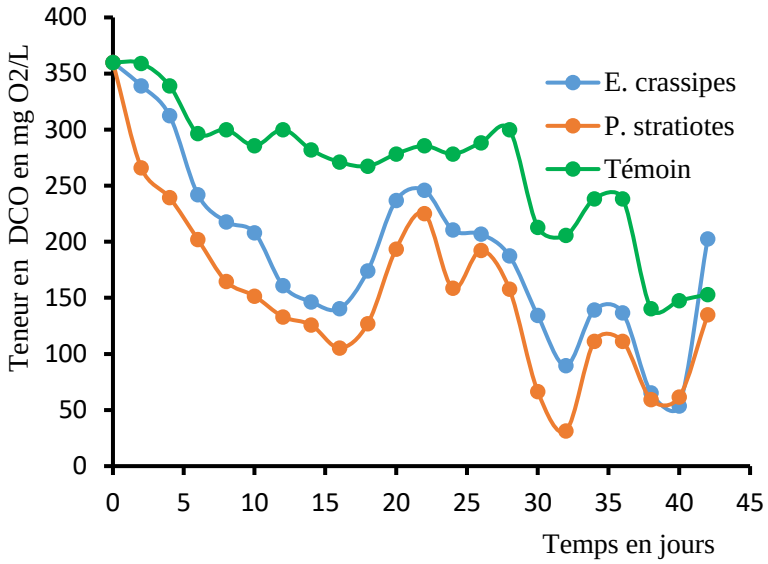


Figure 50 : Cinétique de la DCO dans les effluents traités pendant le traitement en mode discontinu

VII.3.1.5 Evolution de la concentration en DBO

En ce qui est de l'élimination de la DBO (Figure 51), celle-ci passe de 260 à 24,46 mg O_2 /L au 25ème jour de traitement, soit un taux d'abattement de 90,52 % contre 74,36 % obtenu pour le traitement en mode continu. Dans les tanks témoins, on observe également un taux d'élimination de la DBO évalué à 61,53 %. Cela pourrait se justifier par l'activité des microphytes (algues) et microorganismes pendant la phytoépuration des eaux usées. Cela est facilité par leur extrême richesse en enzymes qui catalysent les réactions nécessaires d'une part, à leur respiration, et d'autre part à la synthèse de la matière vivante par biodécomposition du milieu (Durot, 2009).

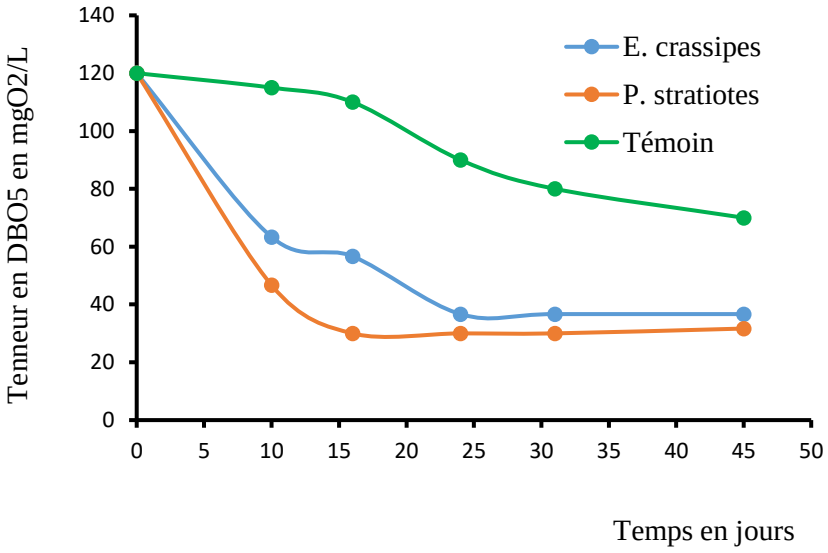


Figure 51 : Cinétique de la DBO_5 dans les effluents traités pendant le traitement en mode discontinu

VII.3.1.6 Evolution de la charge en Chlorophylle

Les résultats ont montré que la charge en chlorophylle A (Figure 52 (a)) augmente de 8861,65 à 11292,95 µg/L jusqu'au 5^{e} jour dans les bassins à *P. stratiotes* et *E. crassipes,* puis celle en chlorophylle C (Figure 52 (c)) atteint le maximum à 616,60 µg/L au 5^{e} jour.

Une évolution semblable de la teneur en chlorophylles dans les bassins témoins et dans les bassins à macrophytes a été observée. A travers les tanks témoins, on constate que la croissance des macrophytes réduit la teneur en chlorophylles. Par ailleurs, la couverture totale du plan d'eau par les macrophytes empêche les rayons solaires d'activer la photosynthèse pour la croissance des microphytes. Ainsi, à partir du 5^{e} jour, une chute de la teneur en chlorophylles A a été observée. Il arrive même des cas où on peut atteindre des valeurs nulles. En ce qui concerne la chlorophylle C, cette chute est décrite par une allure sinusoïdale avant d'atteindre la valeur nulle. Ces résultats corroborent avec les travaux de Fang *et al.* (2007*)*. En revanche, dans le bac témoin, l'absence d'une quelconque activité inhibitrice de la croissance des microphytes minimise la variation de la chlorophylle A dans le temps et un peu moindre celle de la chlorophylle C. Pour la chlorophylle B (Figure 52 (b)), on constate que c'est le contraire qui se produit. En effet, l'allure des courbes est la même, mais avec des concentrations en chlorophylle B bien supérieures dans les tanks à macrophytes que les tanks témoins. En d'autres termes, les substances inhibitrices n'ont pas d'influence sur les microphytes responsables de l'abattement de la chlorophylle B. On observe une augmentation exponentielle de la teneur en chlorophylle B entre le 5ème et le 10ème jour de la phytoépuration (Figure 52 (b)). Cette augmentation de la chlorophylle B serait due à la diminution de la chlorophylle A, principal pigment responsable de la photosynthèse, entraînant ainsi l'arrêt de la photosynthèse consommatrice de la teneur de ce pigment. En effet, comme nous l'avons déjà signalé pour le traitement en mode continu ; la chlorophylle B est un pigment accessoire qui collecte l'énergie et la transmet à la chlorophylle A. Ceci veut dire qu'en absence de la chlorophylle A, la chlorophylle B n'est pas consommé par les microphytes (Féret, 2009).

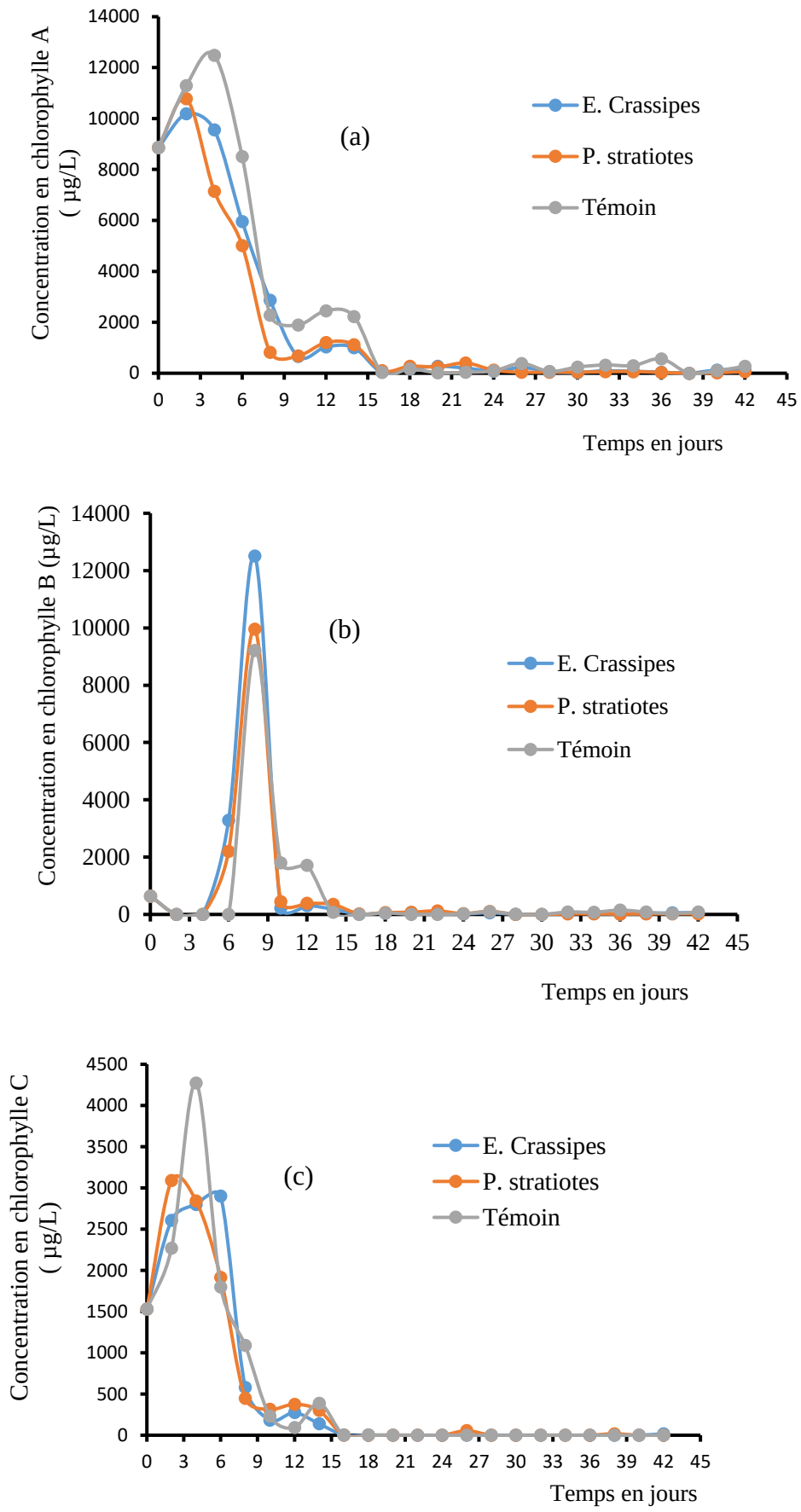


Figure 52 : Cinétique d'élimination de la Chlorophylle A(a), B(b) et (C)

VII.3.2. Rendements d'élimination des nutriments

Après avoir présenté la cinétique d'élimination de certains paramètres de pollution, il est important d'évaluer l'efficacité du dispositif expérimental à travers les taux d'abattement comme nous l'avons fait pour le traitement en mode continu (Tableau 19). Cela nous permettra de comparer ces résultats aux caractéristiques de l'effluent à la sortie du bassin facultatif de la STEP de Buterere, des tanks témoins et ceux observés pour le traitement en mode continu. En effet, pour les nutriments, des rendements de 91,23 %, 82,53 % et 93,3 0 % respectivement pour NH_4^+, NO_3^- et PO_4^{3-} après 31 jours de phytoépuration ont été obtenus lorsque *E. crassipes* est utilisé. Pour le cas de *P. stratiotes* ; des rendements de 96,67 %, 84,24 % et 76,77 % respectivement pour NH_4^+, NO_3^- et PO_4^3 ont été trouvés après cette même période. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés pendant la détermination des conditions optimales. En ce qui concernent l'élimination des nitrates des résultats presque similaires ont été obtenus (82,53 et 84, 24 % respectivement pour *E. crassipes et P. stratiotes*). Ces résultats traduisent une bonne activité des macrophytes comparativement aux données obtenues au niveau des tanks témoins où des taux d'abattement de 64,2 %, 50,82 % et 52,42 % respectivement pour NH_4^+, NO_3^- et PO_4^{3-} ont été obtenus.

Cependant, jusqu'au 31^e jour, on assiste à une augmentation de la production des nitrates comme cela a été déjà révélée précédemment lors du traitement en mode continu. En revanche, cette tendance observée pour les nutriments est vraisemblablement contraire chez les chlorophylles car au 5^e jour la production est remarquable avec des concentrations bien supérieures à celles des tanks témoins. Mais après cette période, la croissance rapide des macrophytes a renversé la tendance au point d'avoir des rendements en élimination des chlorophylles pouvant atteindre 100 %.

Comme le phosphore, l'azote ammoniacal (NH_4^+) a été fortement éliminé pour satisfaire le besoin en nutriment des deux macrophytes. C'est à ce titre, qu'au niveau des tanks témoins, une légère élimination de NH_4^+ a été observée sous l'action des microorganismes qui reçoivent seulement de l'oxygène à travers la photosynthèse des microphytes où l'équilibre thermique n'est point assuré. De façon générale, ce pilote expérimental a permis d'avoir des résultats très intéressants au regard des travaux de Rezania *et al*. (2016) qui ont rapporté un taux d'élimination de NH_4^+ autour de 85 %. La DBO_5 qui permet de mettre en évidence la pollution organique biodégradable est restée plus ou moins constante depuis le 15^e jusqu'au 31^e jour avec un taux d'abattement autour de 85,26 % (Figure 50). Quant à la DCO qui traduit la présence des matières oxydables d'origine organique et minérale, un taux d'abattement d'environ

70,74 % a été obtenu dès les deux premières semaines de traitement (Figure 51). Les résultats sur l'élimination des différents paramètres suivis au cours du traitement en mode discontinu sont présentés dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Taux d'abattement des paramètres suivi au 31ème jour de traitement

Paramètres	*E. crassipes*		P. stratiotes		Témoin		STEP de Buterere (mg /L), (Nsavyimana, 2015)
	Valeur finale	Abatt (%)	Valeur finale	Abatt (%)	Valeur finale	Abatt (%)	
Chlorophylle A (mg/L)	0,12±0,13	98,65	0,04±0,0	99,53	0,27	96,93	6,125
Chlorophylle B (mg/L)	0,058±0,0	90,96	0,02±0,0	97,01	0,09	86,76	0,4243
Chlorophylle C (mg/L)	0,00	100,00	0,00	100,0	0,00	100,00	1,2801
PO_4^{3-} (mg/L)	6,63±2,39	83,30	9,22±2,8	76,77	18,89	52,42	25,40
NH_4^+ (mg/L)	8,21±2,74	91,23	3,12±1,0	96,67	33,1	64,62	68,50
N-NO_3^-(mg/L)	13,47±0,3	82,53	12,15±0	84,24	37,9	50,82	41,20
DCO (mg O_2/L)	140,4±3,6	61,00	105,3±3,	70,74	271	24,71	123,00
DBO_5 (mgO_2/L)	43,33±5,7	83,33	38,33±2,	85,26	70,0	73,08	51,00

Abatt : Abattement

VII.3.3. Comparaison des résultats de cette étude avec d'autres travaux réalisés en mode discontinu

En analysant les résultats du Tableau 21, on peut constater que quels que soient la durée du traitement et le type d'effluent, cette étude a été satisfaisante en ce qui concerne l'abattement des nitrates (83, 30 à 84,24 %). Les autres paramètres tels que le PO_4^{3-} et le NH_4^+ ont été fortement éliminés par rapport à certaines données des travaux antérieurs du Tableau 17. Ceci confirme l'intérêt suscité par cette étude réalisée dans des conditions optimales au cours du traitement en mode discontinu des eaux usées par les macrophytes. En ce qui concerne l'élimination de NH_4^+, les résultats de cette étude sont accord avec ceux de Sooknah et Wilkie, (2004) qui ont trouvé des taux d'élimination de 99,6 % et 99,2 % respectivement *E. crassipes* et *P. stratiotes*. Quant à l'abattement de PO_4^{3-} par *E crassipes* (taux d'abattement de 83,30 %), le résultat est en accord avec celui trouvé par Akinbile , (2012) pour le même macrophyte (taux d'abattement de 78,5 %).

Tableau 21 : Etude comparative des résultats cette étude avec ceux des travaux antérieurs

Types d'eaux usées	Temps (jour)	*E. crassipes*			*P. stratiotes*			Références
		PO_4^{3-} (%)	NH_4^+ (%)	NO_3^- (%)	PO_4^{3-} (%)	NH_4^+ (%)	NO_3^- (%)	
Effluents domestiques	31	83,30	91,2	82,53	76,7	96,6	84,2	Cette étude
Eaux usées municipal	21	55	72	29,6	60	83	31,1	(Ismail *et al*., 2015)
Effluents industriels	21	56,8	71	-	47,1	66,5	-	(Kouamé et al., 2016)
Eaux usées municipal	25	67	81	92	-	-	-	(Kutty *et al.*, 2000)
Eaux usées domestiques	30	53 ,4	47,4	-	58,2	46,5	-	(Qin *et al.*, 2016)

Conclusion partielle

Le post-traitement des eaux usées par phytoremédiation en utilisant *E. crassipes et P. stratiotes* a montré le lien étroit entre les facteurs temps de séjour, la densité de la plante et la concentration initiale de phosphore sur l'élimination de PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ et DCO. L'analyse statistique ANOVA appliquée à cette étude a montré que le modèle expérimental basé sur le PFC a donné une bonne corrélation avec une signification et une robustesse élevée entre les réponses expérimentales et prédites. Pour *E. crassipes* et *P. stratiotes*, l'optimisation multi-réponses réalisée en utilisant la fonction de désirabilité a montré que ces deux macrophytes avaient la même condition optimale de phytoremédiation définie par un temps de séjour de 30jours, une densité de la plante de 60 pieds/m^2 et une concentration initiale en PO_4^{3-} de 10 mg/L. Les conditions optimales ainsi obtenues, ont été appliquées pour traiter l'effluent des bassins facultatifs de la STEP de Buterere (Burundi) en simulant les conditions réelles dans un pilote expérimental constitué de deux séries de tanks à *P. stratiotes* et *E. crassipes* en mode continu. A cet effet, la cinétique de la phytoremédiation des paramètres de pollution a été suivie à la sortie des tanks à *P. stratiotes* puis celle des tanks à *E. crassipes.* Cette étape a permis de comprendre que la réduction des paramètres est fonction de la croissance des macrophytes et de leur temps de séjour dans ces différents tanks à eau usée. Ainsi, certains paramètres comme les chlorophylles A, B et C ont été insensibles à la phytoremédiation car leurs concentrations n'ont cessé d'augmenter pour atteindre le pic au 15^e jour. Mais après ce pic, une chute de la concentration des chlorophylles (A, B et C) a été remarquable jusqu'au 31^e jour car la

couverture intégrale de la surface d'eau par suite d'une forte croissance des macrophytes a empêché le développement des microphytes. Cette croissance des macrophytes a été également favorable à l'élimination de l'azote ammoniacal, de phosphore et de la DBO. Cependant, au cours de cette même période, une forte présence de nitrate et de la DCO a été constatée à la suite de la minéralisation des composés organiques et la nitrification de l'azote ammoniacal en nitrate. En effet, cette augmentation de la teneur en nitrate ne remet pas en cause la performance du dispositif expérimental. Cela doit nous amener à travers des études de traitement en mode discontinu (section. VII .3.), à mettre en place un troisième bassin en aval de traitement en mode batch (ou discontinu) pour affiner le traitement tertiaire en utilisant soit *P. stratiotes* ou *E. crassipes*. En comparant l'influence de ces deux modes de traitement sur la phytoremédiation ; il va s'en dire que les deux modes de traitement se complètent et que le traitement mode discontinu élimine mieux certains polluants tels que les phosphates et les nitrates par rapport au traitement mode continu.

La phytoremédiation étant un procédé qui est mené dans les contions du milieu naturel ; les plantes qui sont responsables font face à des agressions extérieures. C'est dans ce contexte que le chapitre suivant, présente les résultats obtenus sur l'analyse des métabolites secondaires qu'utilisent ces macrophytes pour lutter contre ces agresseurs.

CHAPITRE. VIII. COMPOSITION CHIMIQUE DES MACROPHYTES AVANT ET APRES PHYTOREMEDIATION.

La composition chimique d'une plante dépend du type d'espèce, de la saison à laquelle elle a été collecté et de son environnement. Il est essentiel de connaître leur composition chimique si l'on veut envisager des perspectives d'utilisation. Ce chapitre présente l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus lors de l'analyse élémentaire, l'identification et la caractérisation des métabolites secondaires qui interviennent dans la défense contre les agressions extérieures sur *P. stratiotes* et *E. crassipes.*

VIII.1. Composition élémentaire de *P. stratiotes* et *E. crassipes*

❖ Macroéléments

La Figure 53 présente les teneurs en macroéléments de *P. stratiotes* et *E. crassipes* qui ont été collectés au Burundi et en Côte d'Ivoire avant et après les avoir utilisés en phytoépuration.

Le soufre (S), le potassium (K), le calcium (Ca), le sodium (Na), le phosphore (P), le magnésium (Mg) et le chlore (Cl) constituent les macroéléments évalués. L'analyse de la Figure 53 montre que l'*E. crassipes* est riche en soufre alors que *P. stratiotes* est riche en potassium. Il faut noter que d'une part les macrophytes collectés au Burundi sont plus riches en soufre (459 µg /Kg. M. S) que ceux collectés en Côte d'Ivoire (280 µg /Kg. M. S). D'autre part les macrophytes collectés en Côte d'Ivoire sont riches en potassium (311 µg /Kg. M. S) par rapport à ceux collectés au Burundi (281 µg /Kg. M. S). En note également que les macrophytes collectés au Burundi sont riches en élément Ca (219 µg /Kg. M. S) par rapport à ceux collectés en Côte d'Ivoire (194 µg /Kg. M. S). A leur tour, les macrophytes collectés en Côte d'Ivoire sont riches en élément Cl (415 µg /Kg. M. S) par rapport à ceux collectés au Burundi (415 µg /Kg. M. S). Pour les deux (2) microélément (Ca et Cl) l'on note l'augmentation de leur teneur après phytoépuration des eaux usées. Cela signifie qu'ils sont absorbés par les macrophytes dans les eaux usées pendant la phytoépuration des eaux usées.

Ces différences de concentrations en macronutriments entre les deux pays pourraient s'expliquer par les caractéristiques édaphiques (température, précipitation, etc.) de leur environnement. Après la phytoépuration, on observe une diminution de la concentration en macroéléments. Cela est dû au fait qu'une partie de ces derniers a été utilisée par les macrophytes au cours de leur croissance.

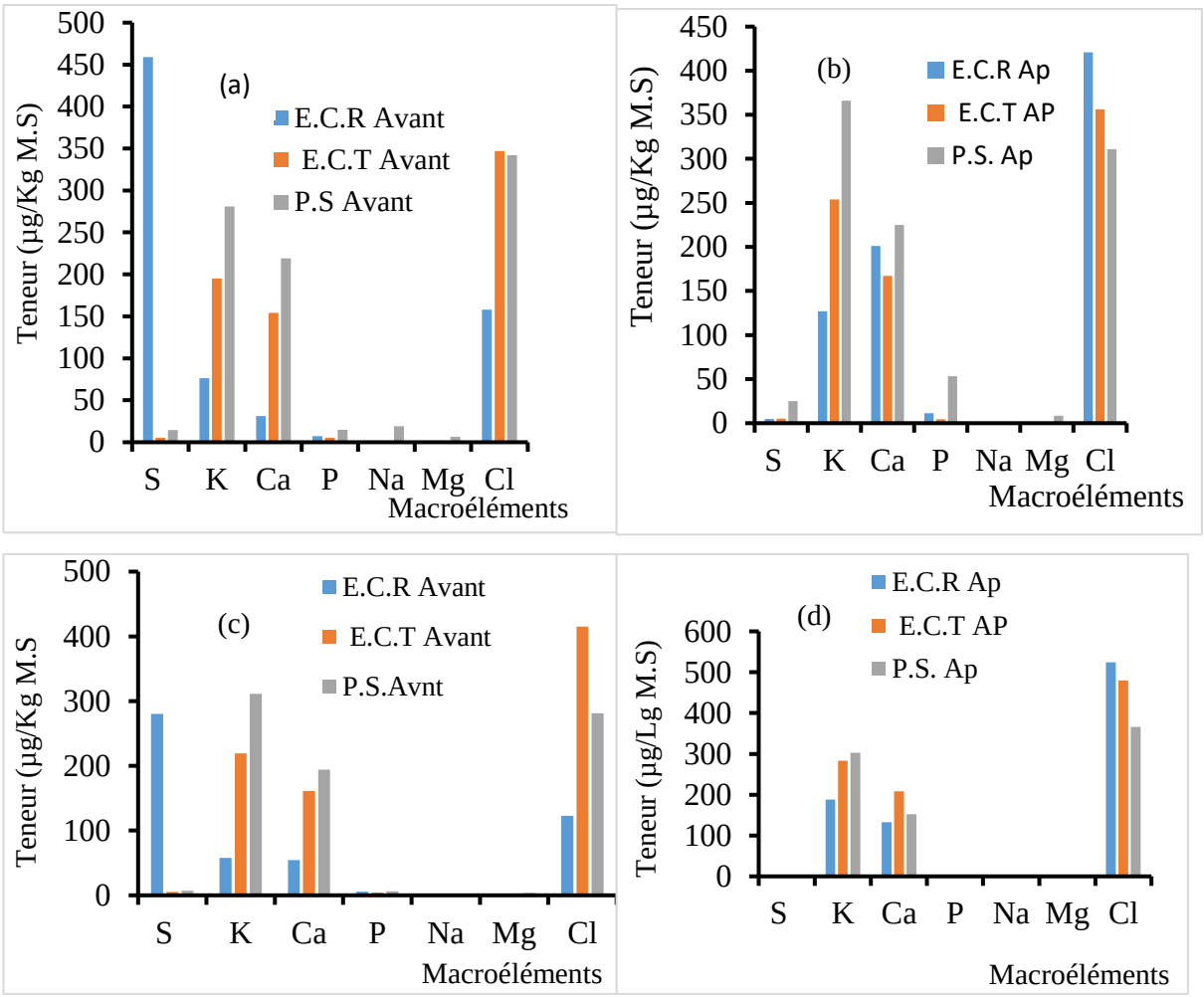


Figure 53 : Composition en macroéléments d'*E. crassipes* et *P. stratiotes* du Burundi avant (a) et après (b) et de la Côte d'Ivoire avant (c) et après (d) phytoépuration.

E.C.R Avant : E. crassipes Racine *avant traitement ; E.C.R AP : E. crassipes* Racine *après traitement ; E.C.T Avant : : E. crassipes* Tige *avant traitement, E.C.T Avant : : E. crassipes* Tige *après traitement ; P.S Avant : P. stratiotes avant traitement ; P.S Ap : P. stratiotes après traitement*

❖ Microéléments

La Figure 54 présente les teneurs en microéléments de *P. stratiotes* et *E. crassipes* qui ont été collectés au Burundi et en Côte d'Ivoire avant et après les avoir utilisés en phytoépuration.

Le fer (Fe), le brome (Br) et le zinc (Zn) constituent les microéléments évalués. L'analyse de la Figure 54 montre que l'*E. crassipes* de Côte d'Ivoire est riche fer (42,7 µg/kg. M. S) par rapport à celui du Burundi (22,4 µg /kg. M. S).

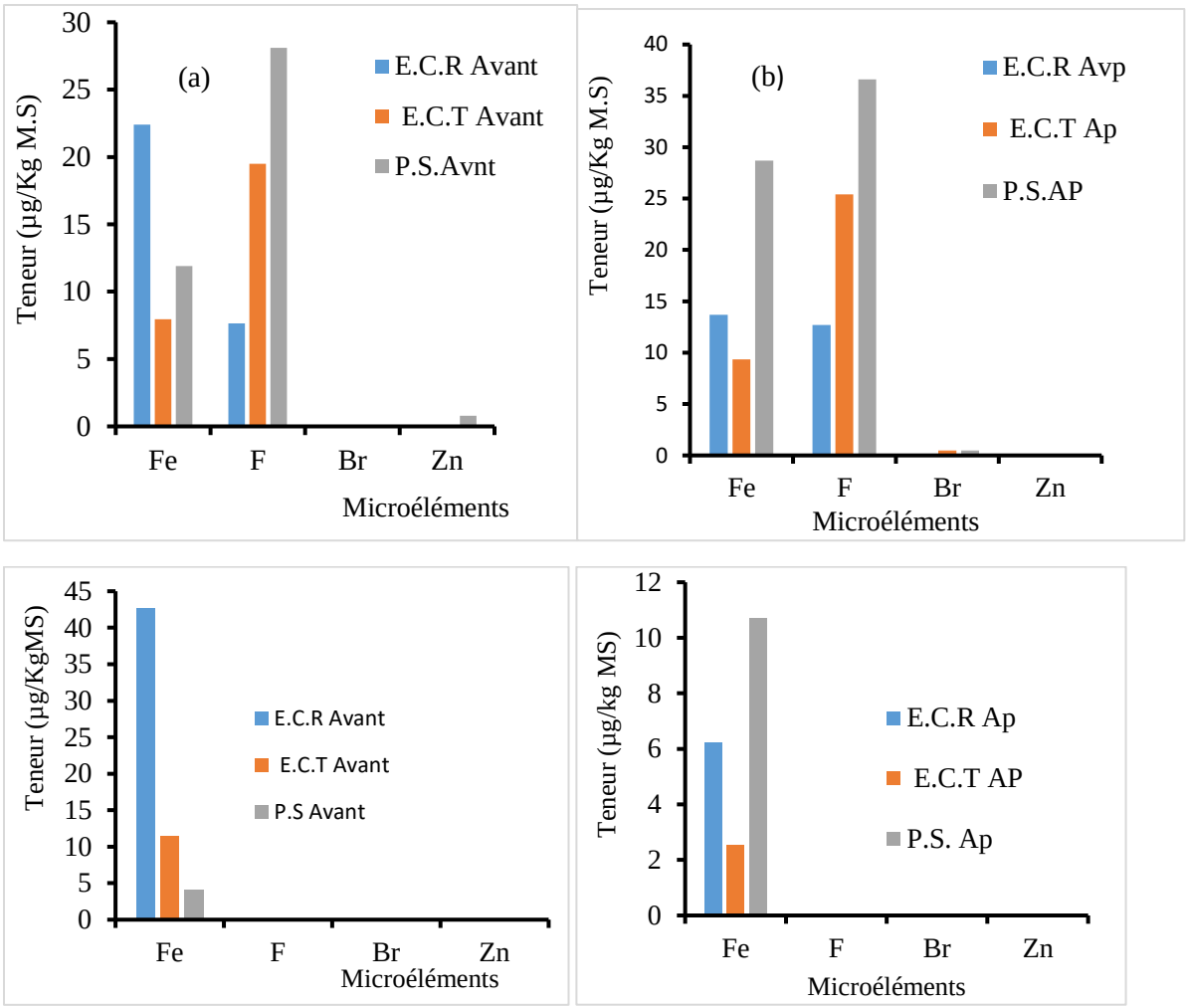


Figure 54 : Composition en microéléments d'*E. crassipes* et *P. stratiotes* du Burundi avant (a) et après (b) et de la Côte d'Ivoire avant (c) et après (d) phytoépuration.

❖ Eléments traces métalliques

La Figure 55 présente les teneurs en éléments traces métalliques de *P. stratiotes* et *E. crassipes* qui ont été échantillonnés au Burundi et en Côte d'Ivoire avant et après les avoir utilisés en phytoépuration. En analysant la Figure 55, on remarque l'absence du manganèse (Mn) et du silicium (Si) dans les racines d'*E. crassipes* avant la phytoremédiation des eaux usées quel que soit le pays dans lequel cette plante a été collectée. En revanche, ces éléments sont présents dans les tiges de cette plante au début des essais de la phytoépuration. Après la phytoremédiation, une certaine quantité de ces éléments dans les racines de cette plante a été observée (4,7 µg /Kg. M. S pour le Mn et 3,82 µg /Kg. M. S pour le Si). Cela pourrait s'expliquer par le fait que cette plante est souvent utilisée pour l'élimination des métaux (Rezania *et al.*, 2016). Pour *P. stratiotes* où la plante entière a été utilisée ; on note la présence de ces éléments traces au début et à la fin des essais. Il en est de même pour les tiges d'*E.*

crassipes. On pourrait expliquer cela en disant que ces éléments traces métalliques se concentrent dans les parties aériennes de la plante avant leur cycle d'utilisation en phytoremédiation.

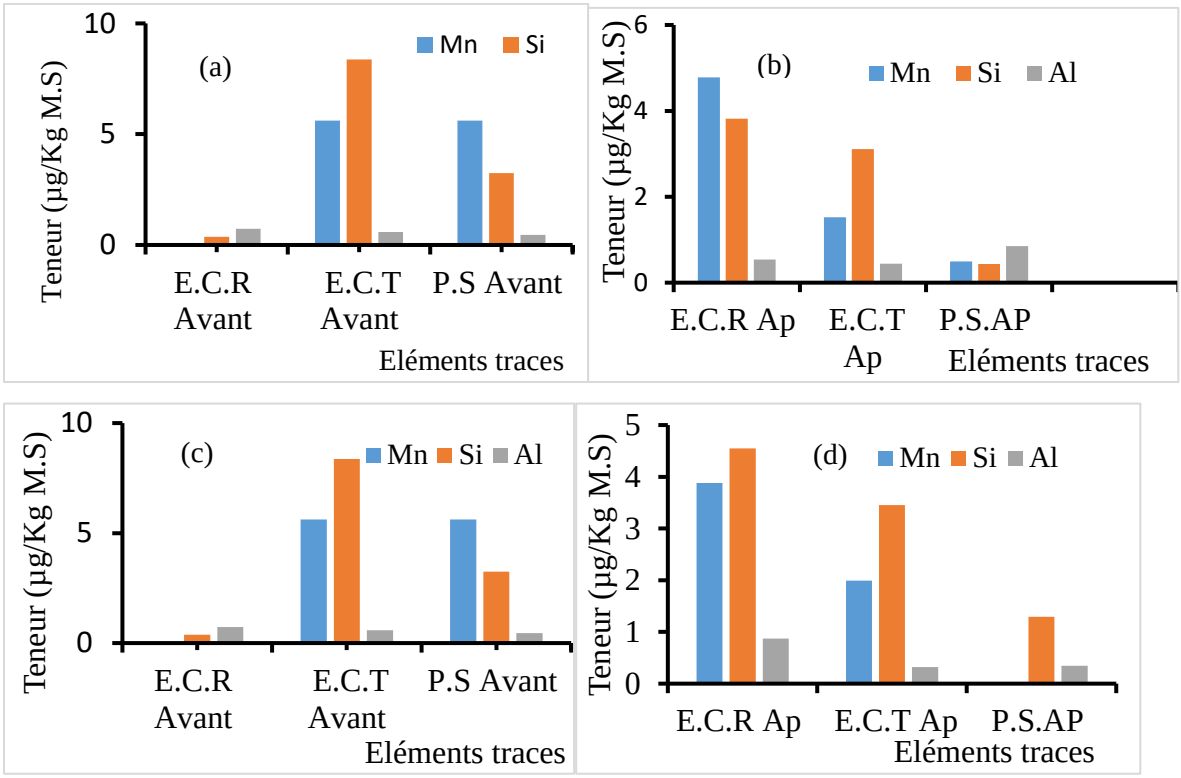


Figure 55: Composition en éléments traces métalliques macroéléments d'*E. crassipes* et *P. stratiotes* du Burundi avant (a) et après (b) et de la Côte d'Ivoire avant (c) et après (d) phytoépuration.

VIII.2. Métabolites secondaires

VIII.2.1. Identification des métabolites secondaires

Le screening phytochimique d'*E. crassipes* et *P. stratiotes* collectés au Burundi et en Côte d'Ivoire indique la présence des composés chimiques comme les polyphénols, les flavonoïdes (flavonoïdes fibres, leucoanthocyanes) et les tannins catéchiques et galliques (Tableau 22). On remarque l'absence de stérols, de terpènes et d'alcaloïdes. Ces résultats corroborent avec ceux trouvés par Thamaraiselvi *et al*. (2012). La présence des composés phénoliques, des tannins et flavonoïques est due à la capacité de ces macrophytes à secréter ses substances inhibitrices au cours de la phytoremédiation afin d'éliminer les microphytes (Ismail, 2015). La présence de ces composés est également bénéfique pour la lutte des plantes contre les agresseurs, les

protègent contre le rayonnement UV, permet l'élongation de leurs tiges (Flavonoïdes) et dans la germination du pollen (polyphénols) (Macheix, 1996).

Tableau 22 : Métabolites secondaires présents dans les macrophytes étudiés

		Côte d'Ivoire		Burundi	
		E. crassipes	***P. stratiotes***	***E. crassipes***	***P. Stratiotes***
Stérols et terpènes		-	-	-	-
Polyphénols		+	+	+	+
	Anthocyanes	+	+	±	+
Flavonoïdes	**Flavonoïdes libres**	±	+	±	+
	Leucoanthocyanes	+	±	±	+
	Catéchiques	+	±	±	±
Tannins	**Galliques**	+	±	±	+
Alcaloïdes		-	-	-	-

- : absents ; + : présents ; ± **:** présents sous forme de traces

VIII.2.2. Quantification des métabolites secondaires

Les résultats obtenus au cours de l'analyse quantitative (Figure 56) viennent pour confirmer les observations faites durant le processus du screening phytochimique (Tableau 21). Pour les trois familles des métabolites secondaires étudiés ; nous constatons que les macrophytes collectés au Burundi sont riches par rapport à ceux colletés en Côte d'Ivoire. Cela pourrait s'expliquer par les conditions environnementales (température précipitation) ainsi que l'état du milieu aquatique dans lequel les macrophytes ont été collectés. Il faut souligner pour les deux plantes que la phytoremédiation contribue d'une façon générale à la diminution de la teneur en métabolite secondaire. Cela pourrait s'expliquer par le fait que ces derniers ont été utilisés pour lutter contre les agresseurs et /ou à l'élimination des microphytes (algues) qui sont en compétition avec les macrophytes pendant la phytoépuration (Ismail *et al.*, 2015). L'analyse quantitative (Figure 56) a révélé en outre, une concentration élevée de flavonoïdes totaux par rapport aux tanins et aux polyphénols, quelle que soit la plante utilisée (*E. crassipes* ou *P. stratiotes*) ou le pays dans lequel cette dernière a été récoltée. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Mahunon *et al*. (2017). La présence des flavonoïdes en grande quantité est très bénéfique pour la plante vu le rôle joué par ces deniers notamment dans les processus de défense contre les infections bactériennes et virales et contre les radiations UV. Ils agissent

également comme des pigments ou des co-pigments et régularisent l'élongation des tiges (Tohge *et al*., 2018).

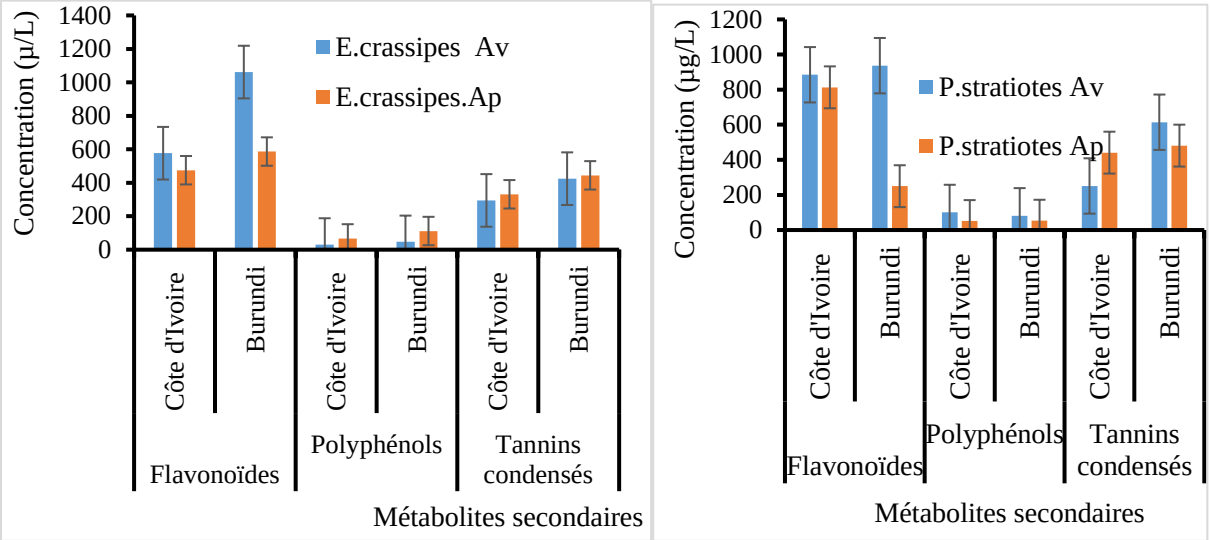


Figure 56 : Comparaison de la composition des macrophytes en métabolites secondaires de la Côte d'Ivoire et du Burundi

Conclusion partielle

L'analyse élémentaire a permis d'identifier les macroéléments, microéléments ainsi que les éléments traces métalliques contenus dans les macrophytes avant et après les avoir utilisés en phytoépuration des eaux usées. La composition élémentaire en macrophytes varie d'un pays à l'autre. Le screening phytochimique a permis de révéler les métabolites secondaires contenus dans *E. crassipes* et *P. stratiotes*. Il indique la présence des composés chimiques comme les polyphénols, les flavonoïdes (flavonoïdes fibres, leucoanthocyanes) et les tannins catéchiques et galliques. On remarque l'absence de stérols, de terpénoïdes et d'alcaloïdes dans les plantes collectées en Côte d'Ivoire et au Burundi. L'absence de ces métabolites fait penser à ce que ces derniers ne sont pas utilisés par les plantes pour lutter contre les agresseurs lors de la phytoremédiation. Les métabolites trouvés dans ces plantes sont en grande quantité sous forme de flavonoïdes et de tannins. Les polyphénols totaux sont présents mais en faible quantité.

Compte tenu de la quantité de biomasse des macrophytes disponibles après leur cycle de phytoremédiation, il est donc intéressant de trouver des voies de valorisation de cette dernière. Le chapitre suivant fait l'objet de cette étude.

CHAPITRE IX. VALORISATION ENERGETIQUE *D'EICHHORNIA CRASSIPES* ET *PISTIA STRATIOTES* PAR METHANISATION

IX.1. Caractérisations des substrats

Le Tableau 23 présente les résultats qui ont été obtenus au cours de la caractérisation des substrats utilisés lors de la digestion anaérobie. La teneur en matière sèche est de 17,79 et 26,74 % respectivement pour *E. crassipes* et *P. stratiotes*. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Ancion *et al.* (2009) (20, 6 et 33,0 % respectivement pour *E. crassipes* et *P. stratiotes)*. Les résultats de ce Tableau montrent également que *E. crassipes* est très riche en eau (82,21%) par rapport à *P. stratiotes*. En revanche, *P. stratiotes* est en son tour riche matière organique (22,19 %) par rapport à *E. crassipes* (16,26%). Ces valeurs de matières sèches traduisent le faible rapport C /N d'*E. crassipes* par rapport à celui de *P. stratiotes*. Elles permettent également d'expliquer pourquoi le rendement en biogaz *d'E. crassipes* est inférieur à celui de *P. stratiotes* (Almoustapha *et al*., 2008).

Tableau 23 : Caractéristiques des substrats utilisés pendant la co-digestion anaérobie d'*E. crassipes* et *P. stratiotes*

Paramètres (%)	***E. crassipes***	***P. stratiotes***
Teneur en eau (TE)	82,21 ± 2,54	72,26 ± 2,59
Matières sèches (M.S)	17,79 ± 2,54	26,74 ± 2,59
Matières organiques (MO) dans la matière brute	16,26 ± 1,56	22,19 ± 2,06
Matières organiques (MO) dans M.S	76,89 ± 1,47	86,9 ± 1,80

IX.2. Evolution de certains paramètres dans les digesteurs durant la co-digestion anaérobie

Le Tableau 24 présente les valeurs de la DCO, de la DBO_5 et de NH_4^+ au début et à la fin des essais. Les paramètres suivis au cours de la co-digestion anaérobie augmentent de valeurs à la fin des essais. Pour le cas des matières organiques (DCO et DBO_5) cela pourrait s'expliquer par la dégradation de la majorité de substrat qui se traduit bien évidemment par le volume de biogaz. En effet, au cours de méthanisation les microorganismes dégradent les substrats libérant ainsi du biogaz (Angeli, 2019). Quant aux valeurs des ions ammoniums cela pourraient provenir de la dégradation des substrats dont les matières organiques qui sont riches en protéines (Angeli, 2019). En outre, la digestion étant anaérobie ; les ions ammoniums produits ne sont pas

convertis en nitrate par le processus de nitrification qui est possible seulement en présence d'oxygène. En ce qui concerne le pH, son l'augmentation à la fin des essais serait liée à la présence des bactéries méthanogènes qui sont responsables de la consommation des acides gras volatils et de l'acide acétique libérés dans les étapes d'acidogénèse et d'acétogenèse qui sont responsable de la diminution du pH au dé but des essais. Par ailleurs, l'étape de méthanogénèse peut être inhibée à un pH faible (Angeli, 2019). C'est la raison pour laquelle on observe une augmentation de pH vers la fin de la digestion anaérobie.

Tableau 24: Caractéristiques de quelques paramètres au début et à la fin des essais

		Paramètres							
	Scénarii (Rapport S/I)	**pH**		**DCO (mgO_2/L)**		**DBO5 (mgO_2/L)**		**NH_4^+ (mg/L)**	
Substrats		**In**	**Fin**	**In**	**Fin**	**In**	**Fin**	**In**	**Fin**
	T	6,62	6,39	659,2	4 160	450	980	32,4	75,6
E. crassipes	3/1	6,04	7,22	988,8	5 040	780	2 500	46,8	122,4
	2/1	5,84	6,56	959,2	4 640	750	1 750	39,6	129,6
	T	6,70	6,29	1 553,6	3 629,6	1500	1 900	43,2	93,6
P. stratiotes	3/1	6,05	7,02	1 094,4	4 614,4	1200	2 000	36,4	91,2
	2/1	5,95	6,76	929,6	4 284,8	1200	2 600	34,4	82,8
Mélange *E. crassipes* et *P. stratiotes*	T	5,93	6,97	2 449,6	3 640,8	1250	2 250	28,8	104,4
	3/1	5,94	7,31	1 956,8	2 940,4	1200	1 500	39,6	86,4
	2/1	5,94	6,95	1971,2	2 632	1050	1 470	30,0	133,4

T : Témoin ; S/I : rapport substrat/ inoculum ; in : initiale ; Fin= Finale

IX.2.1 Evolution du pH durant la période de digestion anaérobie

Le pH est un facteur important à contrôler pendant le processus de digestion anaérobie (Djaafri *et al*., 2014). La Figure 57 présente l'évolution du pH des scénarios S/I 3/1 ; 2/1 et le témoin pendant la co-digestion anaérobie. Cette figure montre qu'au début des essais les valeurs du pH varient entre 5,84 et 6,70 tandis que ses valeurs sont comprises entre 6,29 et 7,31 à la fin des essais. On note également l'évolution du pH est presque similaire pour les 3 scénarios.

Des augmentations et diminutions de pH ont été observées durant la co-digestion anaérobie. La diminution du pH observée au début du processus (Figure 57) serait due, d'une part à la nature acide des substrats, et d'autre part à la formation des acides gras volatils et des acides organiques lors de la dégradation des différents déchets. En effet, la diminution du pH survient le plus souvent pendant les étapes d'hydrolyse et d'acidogénèse au cours de la digestion anaérobie. Au cours de ces étapes, les matières particulaires sont dégradées en composés

solubles puis elles sont converties en hydrogène, en dioxyde de carbone, en acétate, en propionate et en butyrate (Haider *et al*., 2015). Les bactéries responsables de l'hydrolyse et de l'acidogène peuvent s'adapter à un pH faible tandis que les bactéries méthanogènes sont sensibles à des faibles valeurs de pH. Ainsi l'étape de méthanogénèse peut être inhibée à un pH faible (Angeli, 2019). C'est la raison pour laquelle on observe une augmentation de pH vers la fin de la digestion anaérobie (méthanogénèse). L'augmentation du pH traduit une diminution de la majorité des acides gras volatils et des acides organiques produit à la phase d'hydrolyse et d'acidogénèse. Ces acides ont été consommés par les bactéries méthanogène (Nsavyimana, 2015).

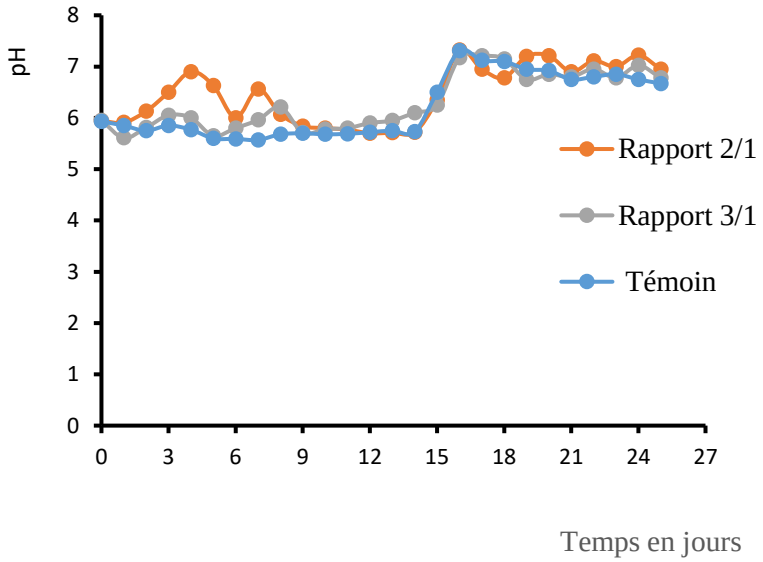


Figure 57 : Evolution du pH en fonction du temps dans les digesteurs

IX.2.2 Evolution de l'Azote ammoniacal durant la période de digestion anaérobie

La Figure 58 montre l'évolution de la teneur en azote ammoniacal durant la période de digestion anaérobie. Au niveau des digesteurs, la quantité de NH_4^+ augmente en fonction du temps. L'une des explications à ce comportement est sans doute le développement de la population bactérienne. En effet, les bactéries induisent la minéralisation de la matière organique riche en azote telles que les protéines ou l'urée libérant ainsi de NH_4^+. Toutefois, la concentration en NH_4^+ reste favorable à la digestion anaérobie. Ce dernier est toxique au microorganisme de digestion lorsque sa concentration varie entre 150 et 200 mg/L (Angeli, 2019). En analysant la Figure 58, on peut dire que la quantité de NH_4^+ évolue en fonction du rapport S/I dans le temps. En effet, cette quantité augmente du rapport S/I 2 /1, témoin, 3 /1 respectivement. Après 15 jours on observe un saut brusque de la quantité NH_4^+ produite. Cette augmentation

exponentielle de NH_4^+ indique la fin l'étape d'acidogénèse (Cazier, 2015) qui serait responsable de la dégradation des acides aminés et des acides gras riche en azote le libère sous forme de NH_4^+.

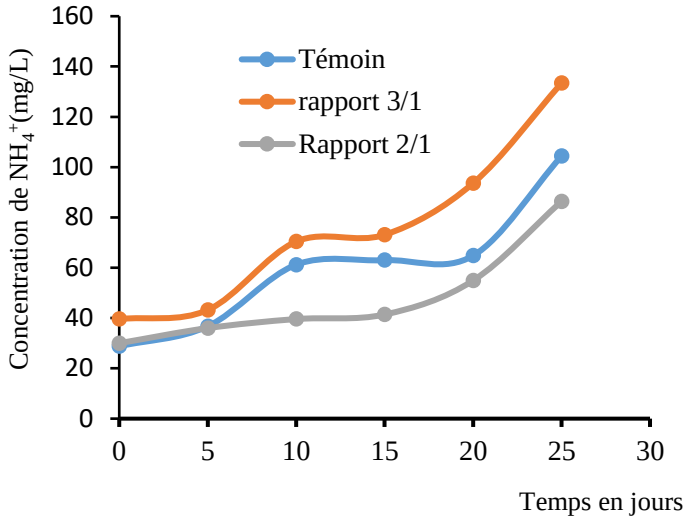


Figure 58 : Evolution de NH_4^+ durant la période de digestion anaérobie.

IX.2.3 Evolution de la DCO durant la période de gestion anaérobie

Durant les premiers jours de la digestion anaérobie, la DCO est faible. Cela est dû à la faible dégradation des substrats qui sont constitués majoritairement par des macromolécules (phase d'hydrolyse et acidogènes). Au cinquième jour, la DCO atteint son maximum (environ 8000 mgO_2/L), cela pourrait s'expliquer par la dégradation de la majorité de substrat qui se traduit bien évidemment par le volume de biogaz produit pendant cette période (Figure 59). Après le cinquième jour, la DCO commence à diminuer jusqu'à ce qu'elle atteigne sa valeur minimale qui est de l'ordre de 4000 mg O_2/l à la fin de la digestion. Ce résultat est en bon accord avec les travaux de Djaafri *et al*. (2014) qui ont montré que la valeur minimale à la fin de la digestion est celle citée-ci haut. En analysant la Figure 59, on peut dire que la quantité de la DCO évolue en fonction du rapport S/I dans le temps. En effet, cette quantité augmente du rapport S/I 2 /1, témoin, 3 /1 respectivement. Après 5 jours on observe la quantité de la DCO produite atteint son maxima. Après cette on observe une diminution progressive de la DCO jusqu'à ce que se stabilisé entre 20 et 25 jours. Cette allure de la DCO serait liés à la dérogation progressive de la matière organique présente dans les substrats et la stabilisation de sa valeur à la fin indique la fin du processus de méthanisation qui se termine par la phase méthanogène (Cazier, 2015).

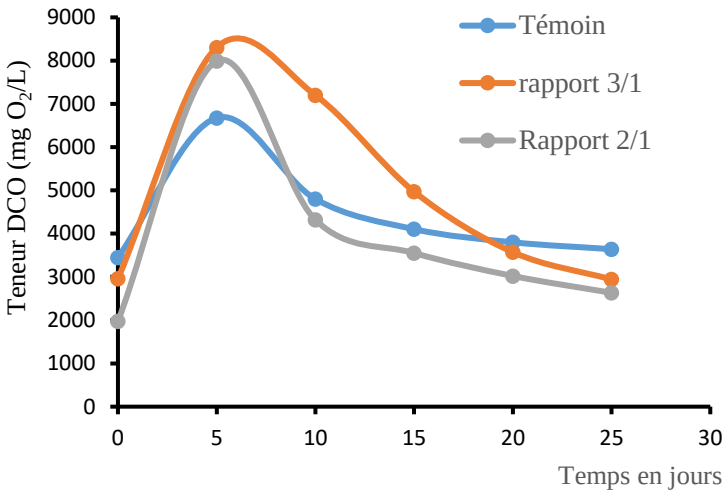


Figure 59 : Evolution de la DCO durant la période de digestion anaérobie.

IX.3. Cinétique de production du biogaz

La Figure 0 présente la quantité de biogaz produit durant le processus de co-digestion anaérobie. L'analyse des résultats de cette figure montre que le rapport 3/1 du mélange substrat et inoculum a un rendement journalier en biogaz élevé par rapport à tous les autres scénarios. Il faut noter que le mélange *E. crassipes – P. stratiotes* (Figure 60 (c)) produit une grande quantité de biogaz, ensuite *P. stratiotes* seul (Figure 60 (b)) et enfin *E. crassipes* (Figure 60 (a)) seul. Cela pourrait s'expliquer par le rapport C/N qui est de 31,8 pour *P. stratiotes* et 9 pour *E. crassipes* (Ancion *et al*., 2009). Le mélange *E. crassipes – P. stratiotes* dans lequel la quantité d'*E. crassipes* est le double de *P. stratiotes* permet de ramener le rapport C/N dans l'intervalle de 20 à 30 qui est favorable à la digestion du substrat par les microorganismes (Aoun et Bouaoun, 2015). Toutefois, le maxima de production de biogaz est obtenu selon le rapport substrat/inoculum (S/I). En effet, le 1er maxima est obtenu au 6ème jour de co-digestion pour un rapport de 2/1, puis au 7ème jour pour un rapport de 3 /1 et enfin au 8ème jour pour le témoin. Cela pourrait se justifier par le fait que l'inoculum joue le rôle d'activation du processus en générant rapidement les microorganismes nécessaires à la co-digestion des substrats.

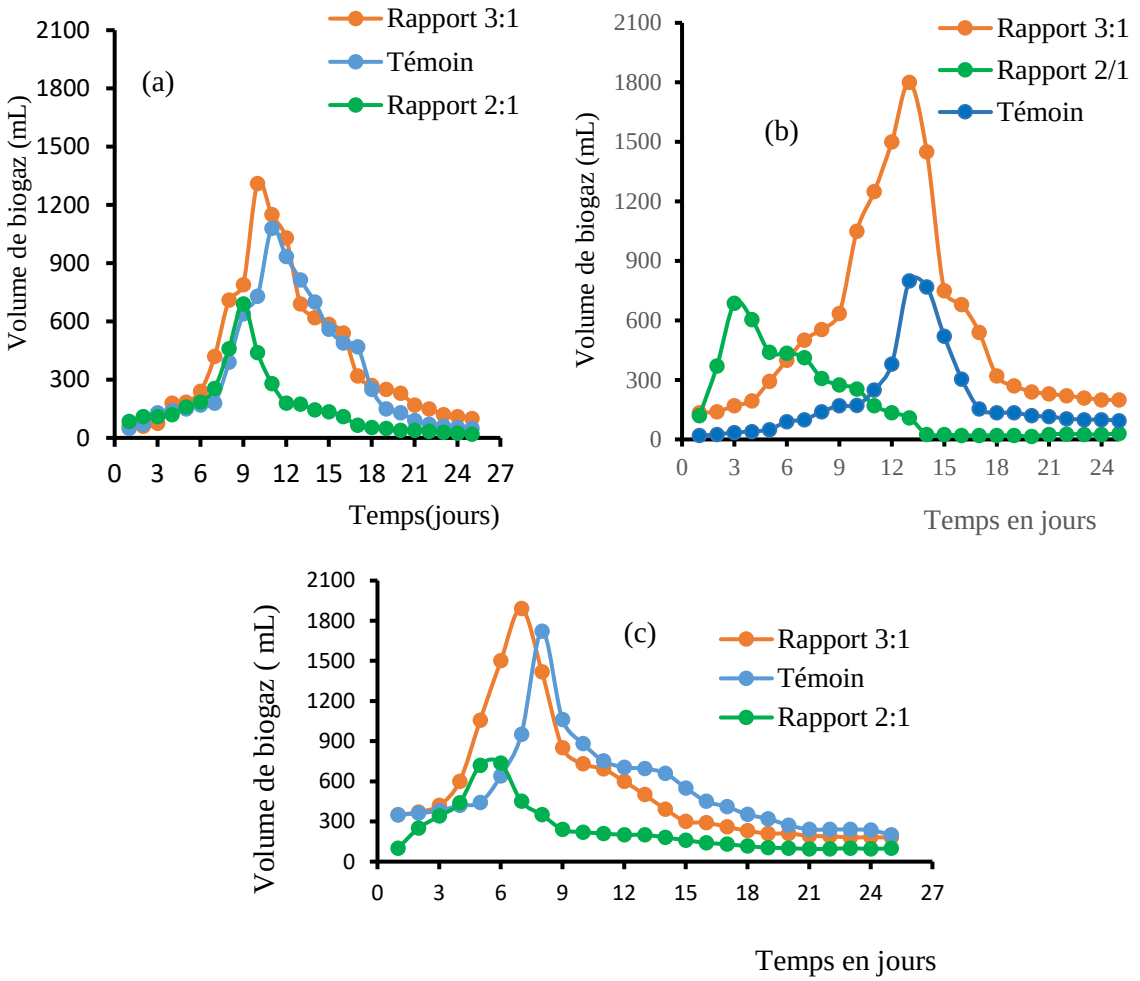


Figure 60 : Evolution journalière de la production du biogaz pour *E. crassipes* (a), *P. stratiotes* (b) et leur mélange (c).

La quantité cumulée de biogaz produite durant les 25 jours est de 10 635 mL, 13 935 mL et 13 797 mL respectivement pour *E. crassipes* (Figure (61 (a)), *P. stratiotes* (Figure 61 (b)) et leur mélange (Figure 61 (c)) lorsque le rapport S/I est de 3/1. Cela est justifié par le fait que le rapport C/N de *P. stratiotes* est supérieur à celui d'*E. crassipes* ce qui facilite sa digestion par les microorganismes. En outre, en considérant le même rapport S/I, la quantité de biogaz produit par *P. stratiotes* est supérieure à celle d'*E. crassipes*. Cela pourrait s'expliquer par le fait que la teneur en matière sèche de *P. stratiotes* est supérieure à celle d'*E. crassipes* (Tableau 23). Cette étude montre qu'en mélangeant les deux macrophytes on augmente le rendement en biogaz produit ainsi que sa teneur en méthane (Tableau 25).

Le même constant a été fait par M'Sadack et M'Barek, (2015) sur la production du biogaz par co-digestion des déchets animales et végétales. Au niveau des témoins on observe une performance de la production du biogaz lorsque les deux plantes sont mélangées. Cela est dû au fait qu'en combinant les deux plantes on augmente le rapport C/N. Ainsi, la valeur ce rapport

pourrait se retrouver entre 20 et 30, condition favorable aux microorganismes pour pouvoir dégrader les substrats (Ostrem, 2004) introduits au niveau du digesteur. Il faut noter que la quantité cumulée de biogaz produit augmente selon le rapport substrat/Inoculum. Celle-ci augmente dans l'ordre du rapport 2/1 puis le rapport 3/1 (Figure 61). Cela pourrait s'expliquer par la quantité de la charge organique présente le digesteur. En effet, la quantité de biogaz produit pendant la digestion anaérobie est fonction de la teneur en matière organique (Forster-Carneiro *et al.*, 2008). En analysant la Figure 61, on peut dire qu'il a fallu au moins 10 jours afin de pouvoir observer l'augmentation exponentielle du biogaz cumulé. Cette période de la latence correspond aux premières étapes de la digestion anaérobie (hydrolyse, acidogénèse et acétogenèse) avant d'atteindre la dernière étape (méthanogène) responsable de la production du biogaz (Cazier, 2015).

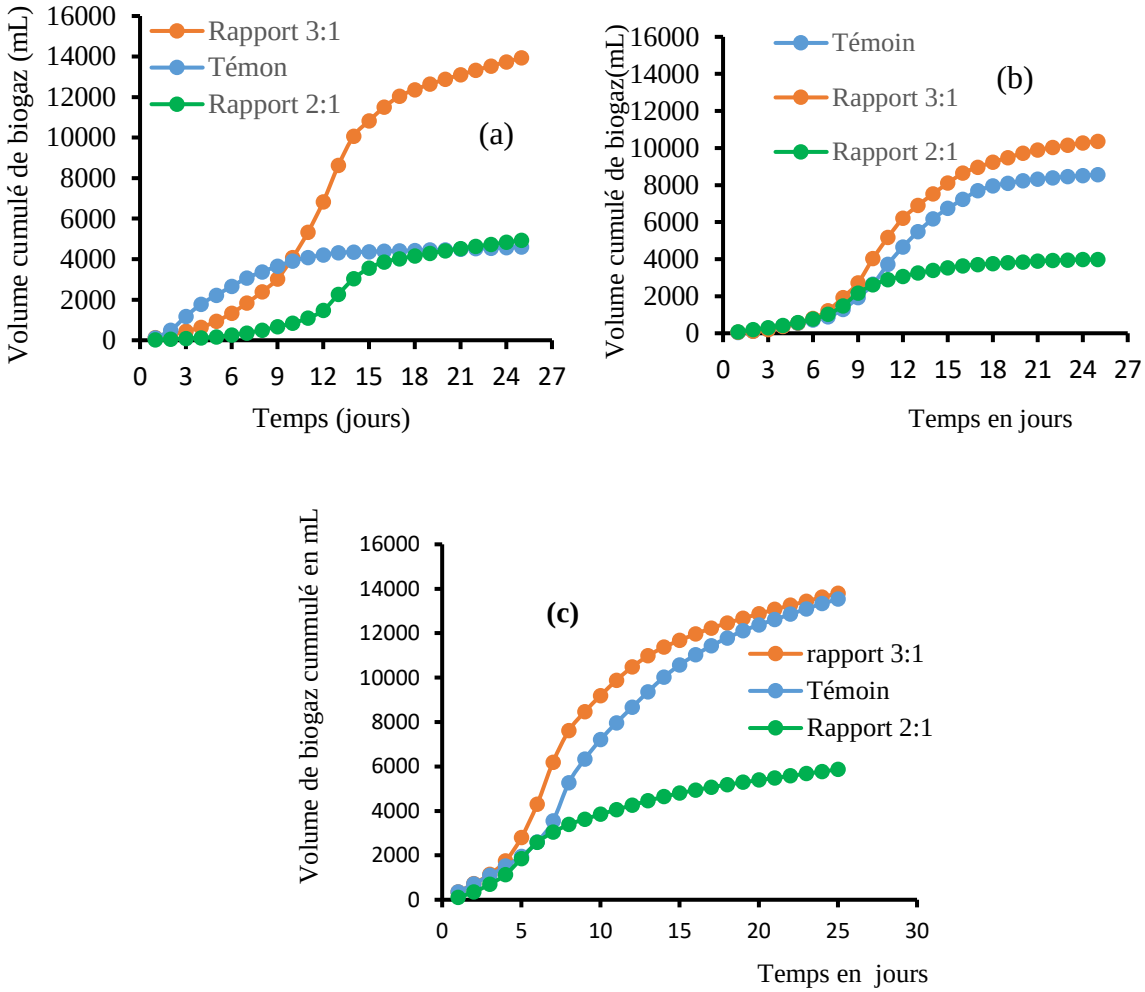


Figure 61 : Evolution de la production cumulée du biogaz pour *E. crassipes* (a), *P. stratiotes* (b) et leur mélange (c) dans le temps.

IX.4. Cinétique de production du méthane

La Figure 62 présente la quantité cumulée de méthane (CH_4) produit durant le processus de co-digestion anaérobie. Cette figure montre qu'*E. crassipes* seul produit moins de méthane par rapport au *P. stratiotes* lorsque le rapport S/I est égale à 3/1. La co-digestion anaérobie d'un mélange *d'E. crassipes- P. stratiotes* augmente également le rendement en méthane (CH_4). Cela pourrait se justifier par l'augmentation de la teneur en MO lorsque les deux substrats sont mis ensemble (voir Tableau 23). En outre, ce meilleur rendement en méthane (CH_4) pour le rapport 3 /1 serait lié au rapport C/N du mélange d'*E. crassipes et P. stratiotes* (compris entre 20 et 30, plage optimale pour la production du méthane en digestion anaérobie). En analysant la Figure 62, on peut dire qu'il a fallu au moins 10 jours afin de pouvoir observer l'augmentation exponentielle du méthane cumulé. Cette période de la latence correspond aux premières étapes de la digestion anaérobie (hydrolyse, acidogénèse et acétogenèse) avant d'atteindre la dernière étape (méthanogène) responsable de la production du méthane (Cazier, 2015).

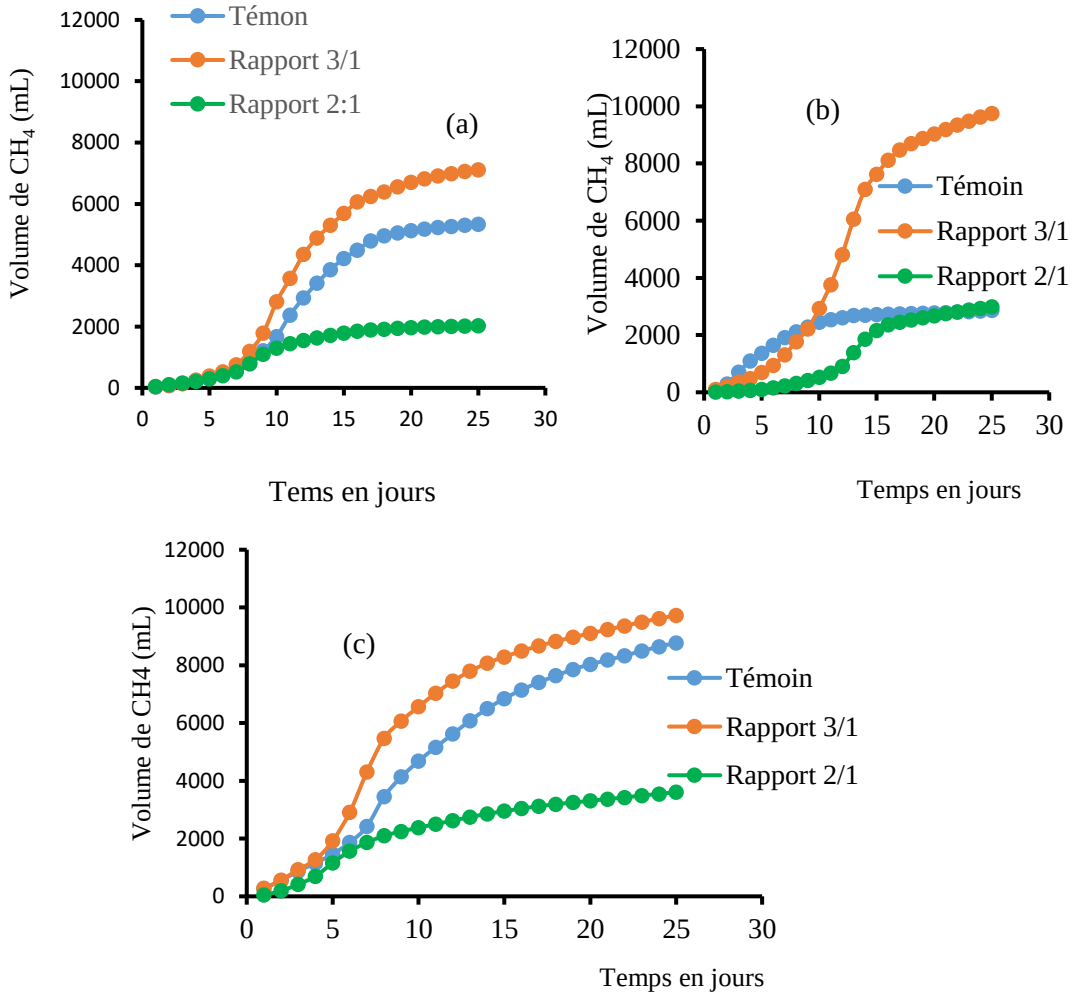


Figure 62 : Evolution de la production cumulée du méthane (CH_4) pour *E. crassipes* (a), *P. stratiotes* (b) et leur mélange (c) dans le temps

La composition en méthane (CH4) du biogaz produit est indiqué dans Tableau 25. Dans tous les cas le mélange S/I dans le rapport 3/1 produit du biogaz très en méthane (CH4) par rapport aux autres scénarios. Il s'agit respectivement des rendements en méthane de 68,63 %, 69,99% et 70,53% pour *E. crassipes*, *P. stratiotes* et leur mélange (Tableau 25). Quant à la quantité de méthane cumulé produit sur une période de 25 jours de méthanisation ; il s'agit respectivement des rendements en volume de méthane cumulé de 7114,1 mL, 9753,88 mL et 9731 mL pour *E. crassipes*, *P. stratiotes* et leur mélange (Tableau 25).

Tableau 25 : Quantité cumulée et composition du biogaz produit

Types de substrats	**Types de digesteur**	**Quantité cumulée de biogaz (mL)**	**Quantité cumulée de CH_4 (mL)**	**% CH_4**	**% CO_2**
E. crassipes	Témoin	8 555	5 333, 7	62,34	37,66
	Rapport S/I (3/1)	10 365	7 114,1	68,63	31,37
	Rapport S/I (2/1)	3 975	20 30,9	51,09	48,91
P. stratiotes	Témoin	4926	2 861,17	62,18	37,82
	Rapport S/I (3/1)	13 935	9 753,88	69,99	30,01
	Rapport S/I (2/1)	4 601	2 988,41	60,66	39,34
Mélange *E crassipes*-*P. stratiotes*	Témoin	13 528	8 775,77	64,87	35,13
	Rapport S/I (3/1)	13 797	9 731,88	70,53	29,47
	Rapport S/I (2/1)	5 870	3 607,5	61,45	38,55

IX.5. Estimation de la quantité d'énergie produite

Le Tableau 26 présente une estimation de la quantité d'énergie électrique produite par la co-digestion du mélange des différents substrats par tonne et par an. La quantité d'énergie électrique produite par la co-digestion anaérobie d'une tonne de *E. crassipes*, de *P. stratiotes* d'un mélange des deux (2) (*E. crassipes et P. stratiotes*) du scénario rapport S/I 3/I est estimée respectivement à 251,81 KW, 345,32 KW et 344,54 KW par an (Tableau 26). Cette quantité d'énergie pourrait remplacer le courant électrique pendant une année pour un ménage dans les milieux ruraux. Cela constitue une solution au problème d'énergie pour ces ménages à faible niveau économique qui ne disposent pas de moyens pour s'approvisionner en courant électrique.

Tableau 26: Estimation de la quantité d'énergie produite pour chaque type de substrat par tonne et Par an

Types de substrats	Types de digesteur	Quantité cumulée de biogaz (mL)	% CH_4	Volume de CH4 (mL) Pour 25 jours	Volume* CH4 (m^3/T/an)	Energie (KW)
E. crassipes (4kg)	Témoin	8555	62,34	5 333, 7	19,46	188,76
	S/I (3/1)	10365	68,63	7 114,1	25,96	251,81
	S/I (2/1)	3975	51,09	20 30,9	7,41	71,87
P. stratiotes (4kg)	Témoin	4926	62,18	2 861,17	10,44	101,27
	S/I (3/1)	13935	69,99	9 753,88	35,60	345,32
	S/I (2/1)	4601	60,66	2 988,41	10,9	105,73
Mélange *E. crassipes-P. stratiotes (4kg)*	Témoin	13528	64,87	8 775,77	32,03	310,69
	S/I (3/1)	13797	70,53	9 731,88	35,52	344,54
	S/I (2/1)	5870	61,45	3 607,5	13,14	127,45

* 1 m^3 de CH4= 8570kcal =9,7 KW, (Benyahia, 2012)

Conclusion partielle

Ce chapitre qui a pour objectif la détermination du pouvoir énergétique d'un mélange *d'E. crassipes* et *P. stratiotes* par co-digestion anaérobie a permis de produire, quantifier et de caractériser le biogaz produit durant ce processus. Il ressort de cette étude que le mélange *E. crassipes* et *P. stratiotes* dans les digesteurs améliore la quantité et la qualité du biogaz produit. Il faut noter que le pH est un facteur important à suivre au quotidien durant le processus de la co-digestion anaérobie.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Cette étude a montré que le temps de séjour, la densité des plantes et la charge initiale en phosphore exercent une influence sur l'élimination des phosphates (PO_4^{3-}), des nitrates (NO_3^-), de l'azote ammoniacal (NH_4^+) et de la Demande Chimique en Oxygène (DCO). Les conditions optimales de la phytoremédiation ont été obtenues en utilisant la fonction de désirabilité. Les désirabilités globales maximales (D) obtenues à partir des résultats du Plan Factoriel Complet (PFC) sont respectivement 0,96 et 0,97 pour *E. crassipes et P. stratiotes*. Ces données indiquent pour chaque cas, les conditions optimales correspondant à un temps de séjour de 30 jours, une densité de plante de 60 pieds/m^2 et une concentration initiale de PO_4^{3-} de 10 mg/L. Ces conditions optimales conduisent à des taux d'élimination de 94,2 % de PO_4^{3-} ; 93,3 % de NO_3^- ; 95,0 % de NH_4^+ et 63,6 % de DCO dans le cas d'*E. crassipes* contre 93,9 % PO_4^{3-}, 83,4 % NO_3^- ; 99,47 % NH_4^+et 85,6 % DCO dans le cas de *P. stratiotes.* Cependant, dans ces mêmes conditions optimales, l'efficacité d'élimination de la DCO par *P. stratiotes* est supérieure à celle *d'E. crassipes*. Pour les nutriments, l'efficacité d'élimination du phosphore par *E. crassipes* est supérieure à celle de *P. stratiotes.* Les modèles cinétiques décrivant l'élimination de NO_3^- et NH_4^+ sont très proches quelle que soit la plante utilisée (*E. crassipes* ou *P. stratiotes*). Concernant la prédiction du temps de traitement précis dans le post-traitement des eaux usées par phytoremédiation en utilisant *E. crassipes et/ou P. stratiotes*, cette étude a révélé que les modèles cinétiques ayant R^2 supérieur à 80 % prédisent bien le temps requis pour le processus.

A cet effet, les conditions optimales obtenues ont été appliquées pour traiter l'effluent des bassins facultatifs de la STEP de Buterere (Burundi) en simulant les conditions réelles par un pilote expérimental constitué des séries de tanks à *P. stratiotes* et *E. crassipes* en mode continu. Ainsi, la cinétique de la phytoremédiation des paramètres de pollution a été suivie à la sortie des tanks à *P. stratiotes* puis celle des tanks à *E. crassipes.* Cette étape a permis de comprendre que la réduction des paramètres est fonction de la croissance des macrophytes et de leur temps de séjour dans ces différents tanks à eau usée. Ainsi, certains paramètres comme les Chlorophylles A, B et C ont été insensibles à la phytoremédiation car leurs concentrations n'ont cessé d'augmenter pour atteindre le pic au 15^e jour. Mais après ce pic, une chute de la concentration des Chlorophylles (A, B et C) a été remarquable jusqu'au 31^e jour car la couverture intégrale de la surface d'eau à la suite d'une forte croissance des macrophytes a empêché le développement des microphytes. Cette croissance des macrophytes a été également favorable à l'élimination de l'azote ammoniacal (86,08 %), de phosphore (46,21 %) et de la DBO (74,36 %). En revanche, au cours de cette même période, une forte présence de nitrate et

de la DCO a été constatée à la suite de la minéralisation des composés organiques et la nitrification de l'azote ammoniacal en nitrate. En effet, cette augmentation de la teneur en nitrate ne remet pas en cause la performance du dispositif expérimental. Cela doit nous amener à travers des études de traitement en mode discontinu (section VII .3.), à mettre en place un cet autre type de (traitement en mode batch) pour comparer les résultats des deux modes de traitement. De ce fait, nous pouvons dire que le traitement en mode batch élimine mieux certains polluants tels que les phosphates (83,30 % et 76,77 % respectivement pour *E. crassipes* et *P. stratiotes*), la DCO (61,00 % et 70,704 % respectivement pour *E. crassipes* et *P. stratiotes*) et les nitrates (82,52 % et 84 ,24 % respectivement pour *E. crassipes* et *P. stratiotes*) par rapport au traitement en mode continu. Nous pouvons dire que les résultats de cette étude devraient être appliqués pour substituer les bassins de maturation par les bassins à macrophytes afin d'améliorer l'efficacité de la station de lagunage de Buterere par exemple. D'une part, l'analyse élémentaire réalisée sur les différentes parties d'*E. crassipes* et *P. stratiotes* a révélé la présence des macroéléments, microéléments et éléments traces métalliques. D'autre part, l'identification des métabolites secondaires dans les macrophytes collectés dans les deux pays à travers le screening phytochimique a révélé la présence des polyphénols, des Flavonoïdes et des tannins. Il a été remarqué l'absence de certains métabolites comme les alcaloïdes et les terpénoïdes dans les macrophytes collectés dans les deux pays. Enfin, le dosage des métabolites secondaires identifiés a été réalisé par la méthode spectrophotométrique et a permis de confirmer les résultats du screening phytochimique. Il faut noter que les macrophytes collectés au Burundi sont riches en métabolites secondaires par rapport à ceux qui sont collectés en Côte d'Ivoire.

Un procédé de digestion anaérobie a été réalisé sur *E. crassipes* puis *P. stratiotes* et en fin sur le mélange des deux plantes. L'inoculum constitué de la boue de la STEP a été utilisée comme source des microorganismes responsables de la digestion anaérobie. Les scenarios (3/1, 2/1) du rapport S/I en plus du témoin ont été introduits dans les digesteurs pendant ce processus. Les résultats issus de cette étude montrent que lorsque les deux plantes sont mélangées dans un rapport substrat/ inoculum 3/1, un volume de 13797 mL de biogaz a été produit dont sa composition en méthane vaut 70,53 %. D'une part, avec ce même ratio 10365 mL de biogaz dont le pourcentage en méthane vaut 68, 63 % est produit lorsque *E. crassipes* seul a été utilisé. D'autre part, quand *P. stratiotes* est utilisé seul avec le même ratio S/I, 13935 mL de biogaz dont le pourcentage en méthane vaut 69,99 % a été produit. Cette étude montre qu'en mélangeant les deux macrophytes, on augmente le rendement en biogaz produit ainsi que sa teneur en méthane. A cet effet, elle constitue une voie de gestion simultanée de ces deux plantes envahissantes lorsqu'elles sont toutes présentes dans les plans d'eaux. Cette étude recommande

de faire un traitement tertiaire par couplage d'un mode continu et discontinu pour lequel le traitement en mode continu est placé en amont du système et le mode discontinu en aval pour obtenir un bon rendement de la phytoremédiation.

PERSPECTIVES

A la fin de cette thèse, les propositions suivantes peuvent être formulées en guise des recommandations :

- ✓ faire une étude sur la valorisation des macrophytes par biométhanisation couplée au co-compostage afin de produire en même temps du biogaz servant à la production d'énergie et du compost pour amender les sols ;
- ✓ poursuivre l'étude de production de biogaz à partir d'*E. crassipes* et *P. stratiotes* tout en mettant en place une technique de sa purification.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abbasi, T., Tauseef, S. M., & Abbasi, S. A. (2012). Anaerobic digestion for global warming control and energy generation—An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews, 16*(5) : 3 228-3 242.

Abbona, F., Lundager Madsen, H. E., & Boistelle, R. (1982). Crystallization of two magnesium phosphates, struvite and newberyite : Effect of pH and concentration. *Journal of Crystal Growth.* 57(1) : 6-14.

Adjagodo, A., Tchibozo, M. A. D., Kelome, N. C., & Lawani, R. (2016). Flux des polluants liés aux activités anthropiques, risques sur les ressources en eau de surface et la chaine trophique à travers le monde : Synthèse bibliographique. *International Journal of Biological and Chemical Sciences, 10*(3) : 1 459-1 472.

Adjahatode, F., Kobede, A., Daouda, M., Hodonou, A., Guehou, B., & Aina, M. (2016). Valorisation de la jacinthe d'eau (Eichhornia crassipes) par la production de biocarburant : Expérimentation. *Déchets, sciences et techniques* 20(72) : 1-6.

AFNOR, (1994a). (2001). Norme NF T90-101, Qualité de l'eau-Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO)*, (Indice de classement : T90-101).* In : Qualité de l'eau. Association Française de normalisation, Paris 861p.

Ahmed, T., Khelafi, M., & Kaidi, K. (2016). Production de biogaz à partir du déchet de la pomme de terre. *Conférence : JET'2016 à Hammamet en Tunisie At: Hôtel Laïco Hammamet Tunisie.* https://www.researchgate.net/publication/315670797

Ahmed, T., Mohammed, D., Khelafi, M., Slimane, K., & Fathya, S. (2012). Amélioration du rendement de la production de biogaz par co- digestion des déchets organiques (déchets d'abattoir et de volaille). *Revue des Energies Renouvelables.* 12 (3) : 375 – 380

Akinbile, C. O. and M. S. Y. (2012). Assessing water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and Lettuce (*Pistia Stratiotes*) effectiveness in aquaculture wastewater treatment. *International Journal of Phytoremediation, 14*(3) : 201-211.

Allison E. H., Paley R. G. T., Ntakimazi G., Cowan V. J. and West K. (2000). Evaluation et Conservation de Biodiversité dans le lac Tanganyika : Lutte contre la pollution et autres mesures visant à

protéger la biodiversité du lac Tanganyika. (RAF/92/G32) Rapport Technique Final de BIOSS, Bujumbura, 205p.

Almoustapha, O., Kenfack, S., & Millogo-Rasolodimby, J. (2009). Biogas production using water hyacinths to meet collective energy needs in a Sahelian country. T*he journal of field actions*, 1(2) : 73-79

Almoustapha, O., Millogo-Rasolodimby, J., & Kenfack, S. (2008). Production de biogaz et de compost à partir de la jacinthe d'eau pour un développement durable en Afrique sahélienne. *VertigO - la revue électronique en sciences de l'environnement*, 8(1) : 1-8.

Ancion, P. Y., Hoang Thi Thai Hoa, P. Ton That, C. N. Chiang, et J. E. Dufey. 2009. Utilisation agricole de plantes aquatiques, notamment en tant qu'amendement des sols, dans la province de Thua Thien Hue, Centre Vietnam. Inventaire, abondance et caractérisation chimique des plantes aquatiques disponibles localement. *Tropicultura,* 27(3) : 14-51.

Angeli, J.-R. B. (2019). Etude de faisabilité de la micro-méthanisation par co-digestion à l'échelle des quartiers. Thèse de Doctorat, Ecole nationale supérieure mines-telecom atlantique bretagne pays de la LOIRE, France, 198 p.

Ano, J., Assémian, A. S., Yobouet, Y. A., Adouby, K., & Drogui, P. (2019). Electrochemical removal of phosphate from synthetic effluent : A comparative study between iron and aluminum by using experimental design methodology. *Process Safety and Environmental Protection*, *129* : 184-195.

Anonyme 1 (2011). Burundi • Fiche pays • PopulationData.net. (s. d.). PopulationData.net. 10p.

Anonyme 2 (2013). Mise en oeuvre du RASOP-Africa dans la ville de Yamoussoukro en RCI.Rapport d'audit et de plan d'amélioration des performances (PAP) 60 p.

Anonyme 3 (2016). Agence de l'eau seine-Normandie : les branchements au réseau d'assainissement 68 p.

Anonyme 4 (2021). Mise en oeuvre du RASOP-Africa dans la ville de Yamoussoukro en RCI. Rapport d'évaluation initiale des performances 51 p.

Aoun, J., & Bouaoun, D. (2015). Etude des paramètres physico-chimiques de la biométhanisation des ordures ménagères. *Déchets, sciences et techniques*, 41(1) :17-23

Arvin, E., & Kristensen, G. H. (1982). Effect of Denitrification on the pH in Biofilms. *Water Science and Technology*, 14(8) : 833-848.

Ba, I. (2014). Recensement Général de la Population et de l'Habitat en Côte d'Ivoire. Rapport d'exécution et présentation des principaux résultats, 49 p.

Bede, A. Y.C. (2010). Analyse situationnelle de la gestion des eaux usées domestiques dans la commune de YAMOUSSOUKRO (Centre de la Côte d'Ivoire) : CAS DU QUARTIER HABITAT. Mémoire de Master, Génie de l'eau et de l'Environnement, Université Jean LOROUGNON GUEDE, 67 p.

Belayachi, S. I. (2019). Elimination d'un colorant anionique par Fenton et traitement biologique : Modélisation par plan d'expériences. Mémoire de Magister, Génie des procédés, Génie Chimique, Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, Algérie, 63p.

Benhamou, N., & Rey, P. (2012). Stimulateurs des défenses naturelles des plantes : Une nouvelle stratégie phytosanitaire dans un contexte d'écoproduction durable. I. Principes de la résistance induite. *Phytoprotection*, *92*(1) : 1-23.

Benmoussa, S. et Gasmi, I. (2015). Etude de faisabilité de l'épuration des eaux usées par un lagunage naturel (Cas de la région de M'rara). Mémoire Master en Hydraulique, Université de Echahid Hamma Lakhdar-El Oued, Algérie, 140 p.

Benyahia, B. (2012). Modélisation et observation des bioprocédés à membranes : Application à la digestion anaérobie. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier (Sciences et Techniques), France, 152p.

Bigumandondera, P. (2014). Étude de l'assainissement non collectif en Afrique subsaharienne : Application à la ville de Bujumbura. Thèse de Doctorat, Université de Liège, Belgique, 298p.

Billen, G., Garnier, J., Benoît, M., & Anglade, J. (2013). La cascade de l'azote dans les territoires de grande culture du Nord de la France. *Cahiers Agricultures*, 22(4) : 272-281.

Brion, N., Nzeyimana, E., Goeyens, L., Nahimana, D., Tungaraza, C., & Baeyens, W. (2006). Inorganic Nitrogen Uptake and River Inputs in Northern Lake Tanganyika. *Journal of Great Lakes Research*, 32(3) : 553-564.

Brix, H. (1997). Do macrophytes play a role in constructed treatment wetlands ? *Water Science and Technology*, 35(5) : 11-17.

Buhungu, S., Montchowui, E., Barankanira, E., Sibomana, C., Ntakimazi, G., & Bonou, C. A. (2018). Caractérisation spatio-temporelle de la qualité de l'eau de la rivière Kinyankonge, affluent du Lac Tanganyika, Burundi. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 12(1) : 576-595.

Boukary, S. (2019). Traitement des eaux usées industrielles par des procédés membranaires sous climat sahélien : cas des eaux usées de brasserie au Burkina Faso. Génie des procédés. Thèse de Doctorat, Université Montpellier ; Institut international d'ingénierie de l'eau et de l'environnement, France, 196 p.

Campbell, R., Teegarden, G., Cembella, A., & Durbin, E. (2005). Zooplankton grazing impacts on Alexandrium spp. In the nearshore environment of the Gulf of Maine. *Deep Sea Research Part II Topical Studies in Oceanography*, 52 (19) : 2817-2833.

Carr, R. M., Blumenthal, U. J., & Duncan Mara, D. (2004). Guidelines for the safe use of wastewater in agriculture : Revisiting WHO guidelines. *Water Science and Technology*, 50(2) : 31-38.

Cazier, E. (2015). Impact of dissolved gas on dry anaerobic digestion of lignocellulosic residues. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier, France,197p.

Chaney R. L., Malik M. L. Y. M., Brown S. L., Brewer E. P., Angle J. S., Baker A. J. M. (1997). Phytoremediation of soil metals. *Current Opinion in Biotechnology* 8, 279-284.

Chavan, B., & Dhulap, V. P. (2012). Optimization of pollutant concentration in sewage treatment using constructed wetland through phytoremediation. *International Journal of Advanced Research in Engineering and Applied Sciences*, 1(6) : 1-16.

Chirakkara, R. A., & Reddy, K. R. (2015). Biomass and chemical amendments for enhanced phytoremediation of mixed contaminated soils. *Ecological Engineering, 85* : 265-274.

Clérivet, A., Alami , I., Frédéric Breton, F. , Garcia, D. & Christine Sanier, C. (1996). Les composés phénoliques et la résistance des plantes aux agents pathogènes. *Acta Botanica Gallica,* 143(6) : 531-538.

Clough, K.S., DeBusk, T.A. and Reddy, K.R. (1987). Model water hyacinth and pennywort systems for the secondary treatment of domestic wastewater., In: Aquatic Plants for WaterTreatment and Resource Recovery, K.R. Reddy and W.H. Smith (ed.), Magnolia Publishing Inc., Orlando, FL, 1031p.

Cohen, A. S., Palacios-Fest, M. R., Msaky, E. S., Alin, S. R., McKee, B., O'Reilly, C. M., Dettman, D. L., Nkotagu, H., & Lezzar, K. E. (2005). Paleolimnological investigations of anthropogenic environmental change in Lake Tanganyika : IX. Summary of paleorecords of environmental change and catchment deforestation at Lake Tanganyika and impacts on the Lake Tanganyika ecosystem. *Journal of Paleolimnology, 34*(1) : 125-145.

Colares Marta, N., Delucchi, G., Novoa Maria, C. and Vizcaino Claudia, E. (1997). "Anatomy ethnobotany of medicinal species of monocotyledons from pampean steppe : Alismataceae, Araceae and Arecaceae. *Acta Farmaceutica Bonaerense,* 16(3) : 137-143.

Comeau Y, (1997). Procédés et conception de filières de déphosphatation biologique.Journées internationales d'étude des eaux : la déphosphatation des eaux usées, *CEBEDOC éditeur.* Liège, Palais des congrès, p 22-23,

Conesa, H., Evangelou, M., Robinson, B., & Schulin, R. (2012). A Critical View of Current State of Phytotechnologies to Remediate Soils : Still a Promising Tool? *TheScientificWorldJournal,* 17(3) 8-29.

Conley, D. J., Paerl, H. W., Howarth, R. W., Boesch, D. F., Seitzinger, S. P., Havens, K. E., Lancelot, C., & Likens, G. E. (2009). Controlling Eutrophication : *Nitrogen and Phosphorus. Science,* 323(5917) :1014-1015.

Coulibaly, N. D., Kone, M., Kone, T., Hilairekouakou, T., & Kouadio, Y. J. (2015). Influence des conditions pédo-climatiques sur les composantes du rendement de Jatropha curcas (L) dans les zones Nord de savane et Sud forestière de la Côte d'Ivoire. *International Journal of Biological and Chemical Sciences, 9*(5): 2346-2361.

Coulibaly, S. L. (2014). Abattement des phosphates des eaux usées par adsorption sur des géomatériaux constitués de Latérite, grès et schistes ardoisiers. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, France, 238p.

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, *15*(10) :7313-7352.

D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali Dell'Istituto Superiore Di Sanita*, *43*(4) : 348-361.

Deronzier, G., & Choubert, J.-M. (2004). *T*raitement du phosphore dans les petites stations d'épuration à boues activées : Comparaisons techniques et économiques des voies de traitement biologique et physico-chimique. – Document technique FNDAE n° 29, 2004. 1re édition coordonnée par le Cemagref, 24p.

Djaafri, M., Kaloum, S., Khelafi, M., Tahri, A., Salem, F., Kaidi, K., Bensmail, L., Barako, O., Kadri, A., & Amrouche, A. (2014). Méthanisation des déchets organiques issus de la résidence universitaire de l'université Africaine de la ville d'Adrar Sud-Ouest de l'Algéri*e. Journal of Material and Environmental Sciences*, 5 (52) : 2484-2488.

Duchène, Ph. (1999). Estimation de la production des boues, Brochure orange. Rapport Cemagref n° 22, 68p .

Durot, M. (2009). Elucidation du métabolisme des microorganismes par la modélisation et l'interprétation des données d'essentialité de gènes. Application au métabolisme de la bactérie Acinetobacter baylyi ADP1. Thèse de Doctorat, Université d'Evry-Val d'Essonne, France, 283p.

Edeline F. (1997). Théorie et technologie des réacteurs. L'épuration biologique des eaux. *Editions CEBEDOC*, Liège, 303 p.

Effebi, K., Kouakou, E., Adou, E., Koffi, T., Koffi, S., Ehouman, Gone, D., Perrin, J., Kamagaté, B., Noufé, D., & Séguis, L. (2017). Assessment of the pollution in Aghien lagoon and its tributaries (Côte d'Ivoire, West Africa). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11(1) : 515-530.

Elbidi, A. (2016). Screening phytochimique de quelques plantes steppiques Artemisia Campestris et Teucrium Polium de la région de El Hamel wilaya de M ' Sila. Mémoire de Master Professionnel en chimie organique, Université ZIANEA CHOURDE DJELFA, Algérie, 98p.

Ennaciri, K., Baçaoui, A., Sergent, M., & Yaacoubi, A. (2014). Application of fractional factorial and Doehlert designs for optimizing the preparation of activated carbons from Argan shells. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, *139* : 48-57.

Facult, A. H. (2014). Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d ' Asteriscusgraveolenssubsp. Odorus. *Journal Afrique Science* 10(3) : 316 - 328.

Faixo, S. (2018). La digestion des boues de stations d'épuration : État de l'art et paramètres clés. Mémoire Master, INSA Toulouse, Formation génie de procédés et environnement, France, 48p.

Fang, Y. Y., Yang, X. E., Chang, H. Q., Pu, P. M., Ding, X. F., & Rengel, Z. (2007). Phytoremediation of Nitrogen-Polluted Water Using Water Hyacinth. *Journal of Plant Nutrition*, *30*(11) : 1753-1765.

Farawati A., R., Sayed, M., & Rasul, Md. M. (2019). Nitrogen, Phosphorus and Organic Carbon in the Saudi Arabian Red Sea Coastal Waters : Behaviour and Human Impact. *International Journal of Environmental Studies* 59 : 89-104.

Feinberg, M. (1996). La validation des méthodes d'analyse : Une approche chimiométrique de l'assurance qualité au laboratoire. Paris Milan Barcelone, Masson. Print.397*p.*

FéreT, M. J.-B. (2009). Apport de la modélisation pour l'estimation de la teneur en pigments foliaires par télédétection. Thèse de Doctorat, Université PIERRE ET Marie Curie, 214p.

Fernandes, K. D., Cañote, S. J. B., Ribeiro, E. M., Thiago Filho, G. L., & Fonseca, A. L. (2019). Can we use Cd-contaminated macrophytes for biogas production ? *Environmental Science and Pollution Research International*, *26*(27) : 27620-27630.

Fonkou, T., Fonteh, M. F., Kanouo, M. D., & Akoa, A. (2010). *P erformances des filtres plantes de Echinochloa pyramidalis dans l ' épuration des eaux usées de distillerie en Afrique subsaharienne*. *Tropicultura*, 28(2) : 69-76.

Forster-Carneiro, T., Pérez, M., & Romero, L. I. (2008). Influence of total solid and inocula contents on performance of anaerobic reactors treating food waste. *Bioresource Technology*, 99(15) : 6994-7002.

Gadd G. M. (2010). Metals, minerals and microbes : geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology* 14 (2) : 177-186.

Gaëlle, D., Sylvie, S., Yvan, R., Jean-Pierre, C., Alain, L., Alain, H., & Philippe, D. (2001). Traitement de l'azote dans les stations d'épuration biologique des petites collectivités. In Ministère de l'Agriculture et de la pêche. Document technique FNDAE (Vol. 25), 79 p.

Gahiro, L. (2011). Compétitivité des filières rizicoles Burundaises : Le riz de l'Imbo et le riz des marais. Thèse de Doctorat, Gembloux Agro-Biotech, Université de Liège, 244p.

Gaudnik, C. (2011). Impacts des dépôts d'azote atmosphérique sur la végétation des prairies acides du domaine atlantique Français- approche comparative et expérimentale. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux 1, 246p.

Gboko, A. J., Akobe, A. C., Aka, A. M., Aka, C. A., Kouame, A. F., Adou, K. N., Yapo, O. B., Monde, S., & Aka, K. (2019). Etat d'eutrophisation de la lagune continentale Ono (Bonoua sud-est de la Côte d'Ivoire) dans un environnement agro-industriel durant la crue du fleuve Comoé. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *13*(6) : 2942-2958.

Gelegenis, J. Georgakakis, D., Angelidaki, I., Mavris, V. (2007). Optimization of biogas production by co-digesting whey with diluted poultry manure. *Renewable Energy*, 32 : 2147-2160.

Gendre, L., Savary, A., & Soulier, B. (2009). Les Plans d'expériences. Ens Cachan, 14p.

Genin, B., Chauvin, C., & Ménard, F. (2003). Cours d'eau et indices biologiques : Pollution, méthodes, IBGN. Educagri Editions, 221p.

Gonzaga, H. S. G. and Monteiro, C. A. F. (2000). "Composicao quimica de quatro especies demacrofitas aquaticas e possibilidades de uso de suas biomassas. Chemical composition of four aquatic macrophyte species and use potential of your biomass. *Naturalia Rio Claro*, 25 : 111-125.

Gonzalo, H., Pilar, F., F Javier, G., Angel, R. M., & Del, P. (2003). Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. *Animal Feed Science and Technology*, 109(1-4): 65-78.

Goupy, J., & Creighton, L. (2006). Introduction aux plans d'expériences. Dunod, Hachette 3ème édition, Technique et Ingénierie, 324p.

Goupy, J. L. (1990). Étude comparative de divers plans d'expériences. *Revue de statistique appliquée, tome* 38(4) : 5-44.

Goux, X. (2015). Influence de différents facteurs opérationnels sur la structure des communautés microbiennes impliquées dans le processus de digestion anaérobie. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, 205p.

Griffiths, B. S., Bonkowski, M., Roy, J., & Ritz, K. (2001). Functional stability, substrate utilisation and biological indicators of soils following environmental impacts. *Applied Soil Ecology*, 16(1) : 49-61.

Guergueb, S. (2016). Etude des niveaux de concentration de l'azote et duphosphore minéraux et leur incidence d'eutrophisation à l'embouchure de l'Oued El-Kébir Est (Wilaya d'El-Tarf). T*hèse de doctorat, Université de BADJI MOKHTAR - ANNABA, Algérie*, 126p

Guittonny-Philippe, A., Masotti, V., Claeys-Bruno, M., Malleret, L., Coulomb, B., Prudent, P., Höhener, P., Petit, M. É., Sergent, M., & Laffont-Schwob, I. (2015). Impact of organic pollutants on metal and As uptake by helophyte species and consequences for constructed wetlands design and management. *Water Research*, 68 : 328-341.

Gupta P, Roy S, Mahindrakar AB, (2012). Treatment of water using water hyacinth, water lettuce and Vetiver Grass . *A review. Ressources Environment*, 2 :202–215.

Guwy, A., Hawkes, F., Wilcox, S., & Hawkes, D. (1997). Neural network and on-off control of bicarbonate alkalinity in a fluidised-bed anaerobic digester. *Water Research 31* : 2019-2025.

Haider, M. R., Zeshan, null, Yousaf, S., Malik, R. N., & Visvanathan, C. (2015). Effect of mixing ratio of food waste and rice husk co-digestion and substrate to inoculum ratio on biogas production. *Bioresource Technology*, 190 :451-457.

Hakim, A., Bencharki, B., Idrissi Hassani, L. M., & Barka, N. (2014). Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d'Asteriscusgraveolenssubsp. Odorus. *Afrique Science*, 10(3) : 316 - 328.

Hakima, E. H, (2010). Traitement des eaux usées par les réservoirs opérationnels et réutilisation pour l'irrigation. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, Sciences de l'ingénieur, France, 205 p.

Haller, W.T., Sutton, D.L. and Barlowe, W.C., 1974, Effects of salinity on growth of several aquatic macrophytes., *Ecology*, 55 : 891-894.

Harrar, A. E. N. (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de Rhamnus alaternus L. Mémoire de Magister, Option Biochimie et physiologie expérimentale, Université Ferhat Abass-sétif, Faculté des sciences naturelles et de la Vie, 95p.

Herms, D. A., & Mattson, W. J. (1992). The Dilemma of Plants : To Grow or Defend. *The Quarterly Review of Biology*, 67(3) : 283-335.

Holtgrieve, G. W., Schindler, D. E., Hobbs, W. O., Leavitt, P. R., Ward, E. J., Bunting, L., Chen, G., Finney, B. P., Gregory-Eaves, I., Holmgren, S., L isac, M. J., Lisi, P. J., Nydick, K., Rogers, L. A., Saros, J. E., Selbie, D. T., Shapley, M. D., Walsh, P. B., & Wolfe, A. P. (2011). A Coherent Signature of Anthropogenic Nitrogen Deposition to Remote Watersheds of the Northern Hemisphere. *Science*, *334*(6062) :1545-1548.

Howarth, R. W., & Marino, R. (2006). Nitrogen as the limiting nutrient for eutrophication in coastal marine ecosystems : Evolving views over three decades. *Limnology and Oceanography*, 51(2) : 364-376.

Hu, C., Sun, Z., & Li, J. (2007). Application of water hyacinth in restoration of heavily polluted urban rivers. *Chinese Journal of Environment and Engineering*, 1 :51-56.

Ismail, Z., Othman, S. Z., Law, K. H., Sulaiman, A. H., & Hashim, R. (2015). Comparative Performance of Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and Water Lettuce (*Pista stratiotes*) in Preventing Nutrients Build-up in Municipal Wastewater. *CLEAN – Soil, Air, Water*, *43*(4) : 521-531.

Jaikumar, M. (2012). Water hyacinth (Eichhornia crassipes) phytoremediation to treat aqua pollution in Velachery Lake. International Journal of Recent Scientific Research, 3 : 95-102.

Jerbi, N. A. G. (2015). Eutrophisation et dynamique du phosphore et de l'azote en Seine : Un nouveau contexte pour donner suite à l'amélioration du traitement des eaux usées. Thèse de Doctorat en Biogéochimie, Biologie Moléculaire, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 267p.

Justoberthe, R. F. (2013). La faisabilité de la phytoépuration des eaux usées dans la ville de Toliara. Mémoire, Diplôme d'Études Approfondies en Biodiversité et Environnement Option : Biologie Végétale, Université de Toliara, 94 p.

Kaifas, D., Malleret, L., Kumar, N., Fétimi, W., Claeys-Bruno, M., Sergent, M., & Doumenq, P. (2014). Assessment of potential positive effects of nZVI surface modification and concentration levels on TCE dechlorination in the presence of competing strong oxidants, using an experimental design. *Science of the Total Environment*, *481*(1) : 335-342.

Karam, S. (2004). Application de la méthodologie des plans d'expériences et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt. Thèse de Doctorat, Université de Limoges, 234p.

Kastner, V., Somitsch, W., Schnitzhofer, W. (2012) : The anaerobic fermentation of food waste: a comparison of two bioreactor systems. *Journal of Cleaner Production,* 34 : 82-90.

Keates, S. E., Tarlyn, N. M., Loewus, F. A. and Franceschi, V. R. (2000). "L-ascorbic acidand L-galactose are sources for oxalic acid and calcium oxalate in Pistia stratiotes. *Phytochemistry Oxford* 53(4) : 433-440.

Kenfack, T. P. (2014). Synthèse, Caractérisation et Etude du Comportement à la Déshydratation parDiffraction des Rayons X sur Monocristal et Poudre, de Quelques ComposésSupramoléculaires à base de Métallo-tectons Ioniques, Thèse de Doctorat, université de Laurraine (France), 276 p.

Khanal, S. K. (2011). Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production : Principles and Applications. *John Wiley & Sons*. Editorial Office 21-21 State Avenue, Ames, Iowa 50014-8300, USA, *308p.*

Khoder, K. (2011). Optimisation de composants hyperfréquences par la technique des plans à surfaces de réponses. Thèse de Doctorat, Université de Limoges, 112p.

Kobayashi, H., & Rittmann, B. E. (1982). Microbial removal of hazardous organic compounds. *Environmental Science & Technology*, *16*(3): 170-183.

Koné, D. (2002). Lagunage à microphytes et à macrophytes (Pistia stratiotes) en Afrique de l'Ouest et du centre : Etat des lieux, performances épuratoires et critères de dimensionnement Thèse de Doctorat, Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, Suisse, 194p.

Kokwaro, J. O. (1976). Médicinal plants of East Africa and African littérature. Kampala : East African Literature Bureau, 384p.

Kostman, T. A. and Franceschi, V. R. (2000). Cell and calcium oxalate crystal growth is coordinated to achieve high-capacity calcium regulation in plants. *Protoplasma*, 214(3-4): 166-179.

Kouamé K. V., Yapoga. S., Kouadio K N, Tidou Abiba S. & A. Boua C. (2016). Phytoremediation of wastewater toxicity using waterhyacinth (Eichhornia crassipes) and water lettuce (Pistia stratiotes), International Journal of Phytoremediation, 18 :10, 949-955

Kozdrój, J., & van Elsas, J. (2000). Response of the Bacterial Community to Root Exudates in Soil Polluted with Heavy Metals Assessed by Molecular and Cultural Approaches. *Soil Biology and Biochemistry*, *32* : 1405-1417.

Koyama, M., Yamamoto, S., Ishikawa, K., Ban, S., & Toda, T. (2017). Inhibition of anaerobic digestion by dissolved lignin derived from alkaline pre-treatment of an aquatic macrophyte. Chemical Engineering Journal, 311 : 55-62.

Kra, E. K.F. E. (2007). Exploitation des eaux des lacs de la ville de Yamoussoukro pour le fonctionnement d'une chaufferie industrielle. Thèse de Doctorat, Université de COCODY / ABIDJAN, 202 p.

Krief, S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : Surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Museum national d'histoire naturelle -MNHN Paris, 348p.

Kumar, L. R., Yellapu, S. K., Zhang, X., & Tyagi, R. D. (2019). Energy balance for biodiesel production processes using microbial oil and scum. *Bioresource Technology*, 272 : 379-388.

Kumar, V., Singh, J., Pathak, V., Ahmad, S., & Kothari, R. (2017). Experimental and kinetics study for phytoremediation of sugar mill effluent using water lettuce (*Pistia stratiotes L*.) and its end use for biogas production. *Biotechnology*, 7(5) :330-340.

Kutty, S.R.M., Ngatenah, S.N.I.&Isa, M.H. (2009). Nutrients removal from municipal wastewater treatment plant effluent using *Eichhornia crassipes*. *World Academy Sciences Engineering Technology*, 60 :826–831.

Labry, C. (2001). Dynamique du phosphore et rôle comme facteur limitant de la production planctonique dans le panache de la Gironde sur le plateau continental Sud Gascogne. Thèse de Doctorat, Université de la Méditerranée, 182p.

Lastella, G., Testa, C., Cornacchia, G., Notornicola, M., Voltasio, F., & Sharma, V. K. (2002). Anaerobic digestion of semi-solid organic waste : Biogas production and its purification. *Energy Conversion and Management*, *43*(1) : 63-75.

Launay, J. (2016). Encyclopédie des plantes : Nature et Environnement. BoD - Books on Demand, 458p.

Lefebvre, S. (2000). Cycles de l'azote et du phosphore dans un système aquacole intégré poisson-phytoplancton-bivalve : Etudes expérimentales et modélisations. Thèse de Doctorat, Université de Nantes, 257p.

Liu, L. (1996). La selection d'un milieu filtrant utilisé dans un marais artificiel pour la déphosphatation des eaux usées municipales. Mémoire de Master, Université du Québec à Chicoutimi, 96p.

Lu, Q. (2009). Evaluation of aquatic plants for phytoremediation of eutrophic stormwaters. Thèse de Doctorat, Univers Florida, Florida, 127 p.

Lu, Q., He, Z.L., Graetz, D.A., Stoffella, P.J. and Yang, X. (2010). Phytoremediation to remove nutrients and improve eutrophic stormwaters using water lettuce (Pistia stratiotes L.)., *Environ. Sciences and Pollution*, 17 :84-96.

Lu, SZ., Hellawell, A. (1987). Le mécanisme de modification du silicium dans les alliages aluminium-silicium : jumelage induit par les impuretés. Metall Mater Trans A 18, 1721-1733.

Lutz, L. (1928) Sur le rôle biologique du tanin dans la cellule végétale. *Bulletin de la Société Botanique de France*, 75(1) :9-18.

Macheix, J. J. (1996). Les composés phénoliques des végétaux : Quelles perspectives à la fin du XXème siècle ? *Acta Botanica Gallica*, *143*(6) :473-479.

Mahunon, S., Aina, M., Akowanou, A. V. O., Kouassi, E., Yao, B., Kopoin, A., & Drogui, P. (2018). Optimization process of organic matter removal from wastewater by using Eichhornia crassipes. *Environmental Science and Pollution Research*, *25* (29) : 29219-29226

Mahunon, S. E. R. (2017). Mécanismes d'élimination des polluants organiques et métalliques dans les processus de traitement des eaux usées par le lagunage à macrophytes flottants Thèse de Doctorat, Université d'Abomey-Calavi, Bénin, 188p.

Mahunon, S. E. R., AINA, M. P., Kouassi, E. K., Agbangnan-dossa, C. P., Yao, B. K., & Adouby, K. (2017). Study of the variation in the chemical composition of Eichhornia crassipes exposed to external aggressions. *International Journal of Green and Herbal Chemistry*, *6*(3) :81-91.

Malina, J. F., & Pohland, F. G. (1992). Design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes. *Water Quality Management Library*, 7 :1-68.

Mama, D., Aina, M., Alassane, A., Boukari, O. T., Chouti, W., Deluchat, V., Bowen, J., Afouda, A., & Baudu, M. (2012). Caractérisation physico-chimique et évaluation du risque d'eutrophisation du lac Nokoué (Bénin). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(5) : 2076-2093.

Manjunath, S., & Hina, K. (2016). Phytoremediation of Textile Industry Effluent using Aquatic Macrophytes. *International Journal of Environmental Sciences*, *5*(2) :65-74.

Manoli, E., Samara, C., Konstantinou, I., & Albanis, T. (2000). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the bulk precipitation and surface waters of Northern Greece. *Chemosphere*, 41(12) : 1845-1855.

Mara, D., (eds),. (2003). Domestic Wastewater Treatment in Developing countries. Earthscan, London, UK, 293p.

Marinova, D., Ribarova, F., & Atanassova, M. (2005). Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, *40*(3) : 255-260.

Mata-Álvarez, J. (2002). Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes. Fundamental Anaerobic Digestion Process. 4ème Édition IWA, 336p.

Metahri, M. S. (2012). Elimination simultanée de la pollution azotée et phosphatée des eaux usées traitées par des procédés mixtes : Cas de la STEP est de la ville de Tizi Ouzou. Thèse de Doctorat Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, 172p.

Mishra, V. K., Upadhyaya, A. R., Pandey, S. K., & Tripathi, B. D. (2008). Heavy metal pollution induced due to coal mining effluent on surrounding aquatic ecosystem and its management through naturally occurring aquatic macrophytes. *Bioresource Technology*, 99(5) : 930-936.

Mitchell, D. S. (1985). Surface-floating aquatic macrophytes. In P. Denny (Éd.), The ecology and management of African wetland vegetation : A botanical account of African swamps and shallow waterbodies. *Springer Netherlands*, 1 : 109-124

Morel, A., M. K. (1998). Le lagunage à macrophytes, une technique permettant l'épuration des eaux usées pour son recyclage et de multiples valorisations de la biomasse. *Sud Sciences and Technologies*, 1 : 5-16

Morel, M. (1996). L'utilité des végétaux aquatiques pour le traitement des eaux usées sous climat tropical. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale d'Agronomie et des Industries Alimentaires, 139 p.

M'Sadack, Y., & M'Barek, B. A., (2015). Caracterization of co-products of the pilot digesters to animal in Tunisia. *Journal Fundamental Applied Sciences*,7(2) :182-202.

Muthoni, P., Kinyua, R., Njogu, P., & Nemoto, Y. (2015). Biogas Production Using Water Hyacinth (Eicchornia crassipes) for Electricity Generation in Kenya. *Energy and Power Engineering*, 7(5) :720-726.

Mythili, K., Reddy, C. U., Chamundeeswari, D., & Manna, P. K. (2014). Determination of Total Phenol, Alkaloid, Flavonoid and Tannin in Different Extracts of Calanthe. *Triplicata. Research & Reviews : Journal of Pharmacognosie and Phytochemistry, 2*(2) : 40-44.

Ngoma, P. M., Hiligsmann, S., Zola, E. S., Ongena, M., & Thonart, P. (2015). Potentiel d'élimination des déchets végétaux (feuilles de Mangifera Indica et de Manihot Utilissima) par méthanisation à Kinshasa (République Démocratique du Congo). *VertigO - la revue électronique en sciences de l'environnement*, 15(1) :1-20

N'guessan K.A., Kouassi A.M., Gnabo R., Traoré K. S. & Houenou P.V(2014). Analyse de phénomènes hydrologiques dans un bassin versant urbanisé : cas de la ville de Yamoussoukro (centre de la Côte- d'Ivoire). Larhyss journal, 17 : 135-154.

N'guessan K.A. (2015). Gestion intégrée de l'hydrosystème lacustre urbain de la commune deYamoussoukro : caractérisation de la pollution anthropique et approche de restauration. Thèse de Doctorat, Université Nanguy Abrogoua d'Abidjan, 160 p.

Niyongabo, H. (2006). Intégration des enjeux social et quantitatif pour la maîtrise de l'assainissement liquide en Afrique Tropicale : Application à la ville de Bujumbura. Thèse de Doctorat Université de Liège, Faculté des Sciences Appliquées, 293p.

Njogu, P., Kinyua, R., Muthoni, P., & Nemoto, Y. (2015). Biogas Production Using Water Hyacinth (Eicchornia crassipes) for Electricity Generation in Kenya. *Energy and Power Engineering*, 7(5) : 209-216.

Nsavyimana, G. (2015). Modélisation des processus physiques et biologiques dans des fosses septiques et voies de valorisations des boues de Vidange : Application à Bujumbura-Burundi. Thèse de Doctorant, Université de Liège, 427p.

Nyamien, Y., Adje, F., Niamké, F., Chatigre, O., Adima, A., & Biego, G. H. (2014). Caffeine and Phenolic Compounds in Cola nitida (Vent.) Schott and Endl and Garcinia kola. Heckel Grown in Côte d ' Ivoire. *British Journal of Applied Science & Technology*, 4(35) : 4846-4859.

Nyamien, Y., Adjé, F., Niamké, F., Koffi, E., Chatigre, O., Adima, A., & Biego, H. G. (2013). Effect of Solvents and Solid-Liquid Ratio on Caffeine Extraction from Côte d'Ivoire Kola Nuts (Cola nitida*). International Journal of Sciences and Research*, 6 (14) : 222-227.

Olson, P.; Reardon, K.; Pilon-Smits, E., (2004).Ecology of Rhizosphere Bioremediation. *Phytoremediation : transformation and control of contaminants* 121: 303-317.

Ostrem, K. M. (2004). Greening waste : anaerobic digestion for treating the organic fraction of municipal solid wastes. Columbia University. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 9(5) : 2743-2756.

Pantawong, R., Chuanchai, A., Thipbunrat, P., Unpaprom, Y., & Ramaraj, R. (2015). Experimental Investigation of Biogas Production from Water Lettuce, *Pistia stratiotes L. Emergent Life Sciences Research*, 1 : 41-46.

Parwin Rijwana & Karar Paul Kakoli. (2019). Phytoremediation of Kitchen Wastewater Using *Eichhornia crassipe*s. *Journal of Environmental Engineering*, 145(6) : 0733-0752

Patel, D. (2010). Phytoremediation potential of duckweed (lemna minor l : a tiny aquatic plant) in the removal of pollutants from domestic wastewater with special reference to nutrients. *The Bioscan*, 5(3) : 355-358.

Perera, P. et Baudot B. (1991). Procédés extensifs d'épuration des eaux usées adaptés aux petites collectivités. Mise en œuvre de la Directive du Conseil Relatives aux Traitements des Eaux Usées Urbaines Résiduaires n°91, France, 44 p.

Pilon-Smits, E. (2005). Phytoremediation. *Annual Review of Plant Biology, 56*(1):15-39.

Pinay, G., Gascuel, C., Menesguen, A., Souchon, Y., Le Moal, M., Levain, A., Moatar, F., Pannard, A., & Souchu, P. (2017). L'eutrophisation : Manifestations, causes, conséquences et prédictibilité. Synthèse de l'Expertise scientifique collective CNRS - Ifremer - INRA - Irstea. , éditions Quæ (France), 176p.

Poulet, J.B. A., TERFOUS, S. D. & A. G. I. (2004). Stations d ' Epuration à lits filtrants plantés de macrophytes. *Courrier du Savoir, Université Mohamed Khider – Biskra, Algérie*, 5 : 103-106

Prigent, S. (2013). Optimisation du traitement de l'azote et du phosphore des eaux usées domestiques adapté aux filtres plantés de roseaux. Thèse de Doctorat, Génie des procédé, Ecole des Mines Nantes. France, 179 p.

Premkumar, V.G. Shyamsundar, D. (2005). Antidermatophytic activity of *Pistia stratiotes*. *Research Letter, Indian J. Pharmacol*, 37(2) : 127-128

Qin, H., Zhang, Z., Liu, M., Liu, H., Wang, Y., Wen, X., Zhang, Y., & Yan, S. (2016). Site test of phytoremediation of an open pond contaminated with domestic sewage using water hyacinth and water lettuce. *Ecological Engineering*, 95 : 753-762.

Rabier, F. (2007). Modélisation par la méthode des plans d ' expériences du comportement dynamique d ' un module IGBT utilisé en traction ferroviaire. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, 239 p.

Rabinowitz, J., & Greppin, H. (1991). Les oxydes d&#039 ; azote et dérivés. *Médecine & Hygiène*, *49*(1914) : 3449-3454.

Rakotondramiarana, H. T. (2004). Etude théorique du séchage thermique et de la digestion anaérobie des boues des stations d'épuration – Mise au point des dispositifs pilotes de laboratoire pour lacaractérisation expérimentale liée au séchage et à la méthanisation des boues Thèse de Doctorat, Université d'Antananarivo, 281 p.

Reddy, K.R., Sutton, D.L. and Bowes, G., 1983, Production de biomasse de plantes aquatiques d'eau douce en Floride (jacinthe d'eau, laitue d'eau, ombelle, azolla, lentille d'eau, quenouille). *Actes - Soil and Crop Science Society of Florida (USA)*, 42 : 28-40.

Rezania, S., Ponraj, M., Talaiekhozani, A., Mohamad, S. E., Md Din, M. F., Taib, S. M., Sabbagh, F., & Sairan, F. M. (2016). Perspectives of phytoremediation using water hyacinth for removal of heavy metals, organic and inorganic pollutants in wastewater. *Journal of Environmental Management*, 163 :125-133.

Ribeiro, E. M., Barros, R. M., Tiago Filho, G. L., dos Santos, I. F. S., Sampaio, L. C., dos Santos, T. V., da Silva, F. das G. B., Silva, A. P. M., & de Freitas, J. V. R. (2016). Power generation potential in posture aviaries in Brazil in the context of a circular economy. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 18 :153-163.

Rodier, J., Legube, B., & Merlet, N. (2016). L'analyse de l'eau ; eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. Hall du Livre Nancy, 10è edition,1600 p.

Rommens, W., Maes, J., Dekeza, N., Inghelbrecht, P., Nhiwatiwa, T., Holsters, E., Ollevier, F., Marshall, B., & Brendonck, L. (2003). The impact of water hyacinth (Eichhornia crassipes) in a eutrophic subtropical impoundment (Lake Chivero, Zimbabwe). I. Water quality. Archiv für Hydrobiologie, 158 :373-388.

Royer, M. (2013). Étude des relations entre croissance, concentrations en métabolites primaires et secondaires et disponibilité en ressources chez la tomate avec ou sans bioagresseurs. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, 209 p.

Runying, W. (2009). Phytoépuration de boues biologiques provenant de l'industrie agroalimentaire : traitement par un système de marais artificiels à flux vertical en région méditerranéenne française. Thèse de Doctorat, Université de Lille III, 262 p.

Saeed, T., & Sun, G. (2012). A Review on Nitrogen and Organics Removal Mechanisms in Subsurface Flow Constructed Wetlands : Dependency on Environmental Parameters, Operating Conditions and Supporting Media. *Journal of environmental management*, 112 : 429-448.

Šajna, N., Haler, M., Škornik, S., & Kaligarič, M. (2007). Survival and expansion of Pistia stratiotes L. in a thermal stream in Slovenia. *Aquatic Botany*, 87(1) :75-79.

Sale, P. J. M., Orr, P. T., Shell, G. S., & Erskine, D. J. C. (1985). Photosynthesis and Growth Rates in Salvinia molesta and Eichhornia crassipes. *Journal of Applied Ecology*, 22(1) : 125-137.

Shahabaldin R., Mohanadoss P., Mohd Fadhil M. D., Shreeshi V., Chelliapan and Fadzlin Md S. (2014). Effectiveness of *Eichhornia crassipes* in nutrient removal from domestic wastewater based on its optimal growth rate. Desalination and Water Treatment. 57(1) :360–365.

Shah, M, Hashmi, H. N., Ghumman, A. R., & Zeeshan, M. (2015). Performance assessment of aquatic macrophytes for treatment of municipal wastewater. *Journal of the South African Institution of Civil Engineering*,57(3):18-25.

Sharma, H. D., & Reddy, K. R. (2004). Geoenvironmental Engineering : Site Remediation, Waste Containment, and Emerging Waste Management Technologies. *John Wiley & Sons, Environment International*, 35 :50-55

Silva, M. D. C. L. da. (2008). Effet de la variabilité du fractionnement de la pollution carbonée sur le comportement des systèmes de traitement des eaux usées par boues activées. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, 208 p.

Sinarinzi, E. (2005) - Etude de base sur la mise en œuvre du Mécanisme de Développement Propre et proposition de projets MDP pour le Burundi, Rapport final, ONUDI/Burundi, 113 p.

Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3) : 144-158.

Smith, V. H., Tilman, G. D., & Nekola, J. C. (1999). Eutrophication : Impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. *Environmental Pollution*, *100*(1-3) :179-196.

Sooknah, R. D., & Wilkie, A. C. (2004). Nutrient removal by floating aquatic macrophytes cultured in anaerobically digested flushed dairy manure wastewater. *Ecological Engineering*, 22(1) :27-42.

Subramanian, S., Stacey, G., & Yu, O. (2007). Distinct, crucial roles of flavonoids during legume nodulation. *Trends in Plant Science*, 12(7) :282-285.

Sukumaran, D., Anilkumar, A., Saha, R., & Thanga, V. S. G. (2013). Phytoremediation of radionuclide polluted industrial effluent by constructed wetland technology. *Advances in Agriculture, Sciences and Engineering Research*, 3(4) :768-774.

Sun, H., Xu, S., Wu, S., Wang, R., Zhuang, G., Bai, Z., Deng, Y., & Zhuang, X. (2019). Enhancement of facultative anaerobic denitrifying communities by oxygen release from roots of the macrophyte in constructed wetlands. *Journal of Environmental Management*, 246 : 157-163.

Tabinda, A. B., Arif, R. A., Yasar, A., Baqir, M., Rasheed, R., Mahmood, A., & Iqbal, A. (2019). Treatment of textile effluents with Pistia stratiotes, Eichhornia crassipes and Oedogonium sp. *International Journal of Phytoremediation*, 21(10) :939-943.

Tansel B, Lunn G, Monje O. (2018). Struvite formation and decomposition characteristics for ammonia and phosphorus recovery: a review of magnesium-ammonia-phosphate interactions. *Chemosphere.* ;194 :504–514.

Tchouate Heteu, P. (2003). Contribution des énergies renouvelables au développement durable du secteur électrique : Le cas du Cameroun. Thèse de Doctorat, Université Catholique de Louvain,182 p.

Thamaraiselvi, Lalitha, P., & Jayanthi, P. (2012). Preliminary studies on phytochemicals and antimicrobial activity of solvent extracts of Eichhornia crassipes (Mart.)Solms. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2 (2):115-122

Ting, W. H. T., Tan, I. A. W., Salleh, S. F., & Wahab, N. A (2018). Application of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) for phytoremediation of ammoniacal nitrogen : A review. *Journal of Water Process Engineering*, 22 :239-249

Tohge, T., Nishiyama, Y., Hirai, M. Y., Yano, M., Nakajima, J., Awazuhara, M., Inoue, E., Takahashi, H., Goodenowe, D. B., Kitayama, M., Noji, M., Yamazaki, M., & Saito, K. (2005). Functional genomics by integrated analysis of metabolome and transcriptome of Arabidopsis plants over-expressing an MYB transcription factor. *The Plant Journal : For Cell and Molecular Biology*, 42(2) : 218-235.

Tohge, T., Perez de Souza, L., & Fernie, A. R. (2018). On the natural diversity of phenylacylated-flavonoid and their in planta function under conditions of stress. *Phytochemistry Reviews*, 17(2) : 279-290.

Turin, A. (1990). La pollution des eaux souterraines par les nitrates en Lorraine. *Revue Géographique de l'Est*, 30(3) : 257-273.

Ugya, A. Y., Imam, T. S., & Tahir, S. M. (2019). The Use Of Pistia stratiotes To Remove Some Heavy Metals From Romi Stream : A Case Study Of Kaduna Refinery And Petrochemical Company Polluted Stream. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 9(1) : 48-51.

Vera Candioti, L., De Zan, M. M., Cámara, M. S., & Goicoechea, H. C. (2014). Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. *Talanta*, 124 : 123-138.

Verloove, F., Lambinon, J., & Hoste, I. (2014). La sixième édition de la Nouvelle Flore de la Belgique

Vila M. (2006). Utilisation de plantes agronomiques et lacustres dans la dépollution des sols contaminés par le RDX et le TNT: approches en laboratoire. Thèse doctorat, l'Institut National Polytechnique de Toulouse 204p.

Vincens, A. (1993). Nouvelle séquence pollinique du lac Tanganyika : 30,000 ans d'histoire botanique et climatique du bassin Nord. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 78(3) : 381-394.

Vivier, E. (1994). Lagunage naturel, technique d'épuration des eaux, Pourquoi ? Comment ? Les principes, les techniques, les questions, les exemples et suggestions. Nord-Nature (hors-série), Eds Fédération Nord Nature, 69 p.

Vivier, S. (2002). Stratégies d'optimisation par la méthode des plans d'expériences et Application aux dispositifs électrotechniques modélisés par éléments finis. Thèse de Doctorat, Université des Sciences et technologie de Lille, 309 p.

Wang, C.-Y., & Sample, D. J. (2014). Assessment of the nutrient removal effectiveness of floating treatment wetlands applied to urban retention ponds. *Journal of Environmental Management*, 137 :23-35.

Wang, Y., Sun, W., Wei, H., & Sun, C. (2016). Extended study of ammonia conversion to N2 using a Ru/0.2TiZrO4 catalyst via catalytic wet air oxidation. *Catalysis Science & Technology*, 6(15) : 6144-6151.

Ward, A. J., Hobbs, P. J., Holliman, P. J., & Jones, D. L. (2008). Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource Technology*, 99(17) :7928-7940.

Watt, J. M. and Breyer-Brandwijk, M. G. (1962). The medecinal and poisonous plants of Southern and Eastern Africa. 2ème Edition, Edinburgh and London, E. & S. Livingstone,1457 p.

Zaviska, F. (2011). Modélisation du traitement de micropolluants organiques par oxydation électrochimique. Thèse de doctorat, Université du Québec Institut National de la Recherche Scientifique Centre Eau Terre Environnement, 385 p.

Zimmels, Y., Kirzhner, F., & Malkovskaja, A. (2019). Application of Eichhornia crassipes and Pistia stratiotes for treatment of urban sewage in Israel. *Journal of environmental management*, *81* : 420-428.

ANNEXES

Annexe I : Les Figures

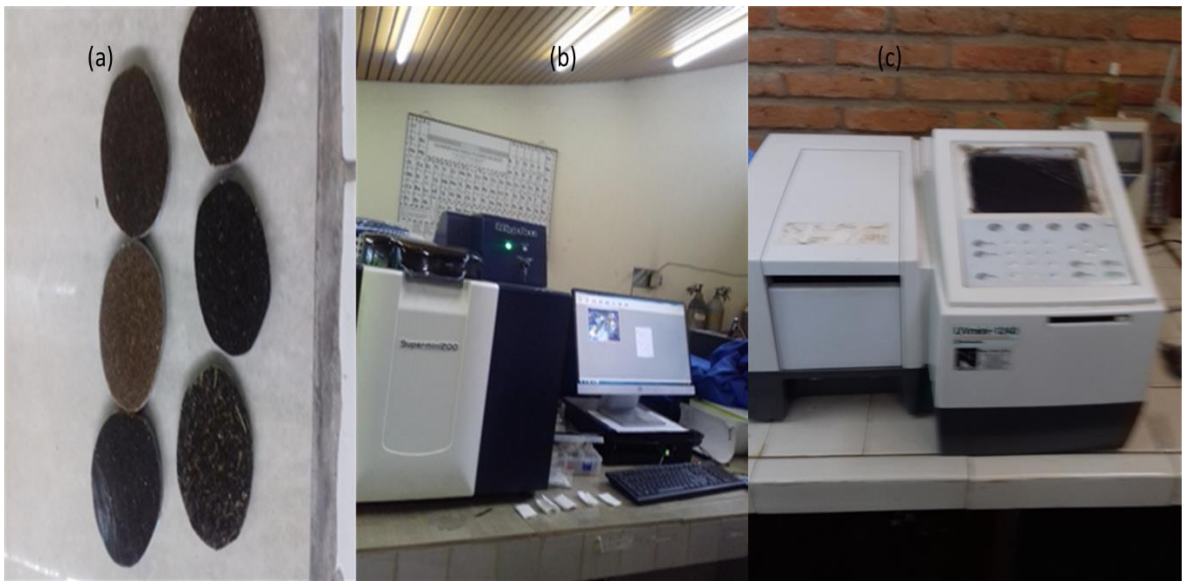


Figure I : Spatille (a) pour analyse élémentaire, diffractomètre aux rayons X (b) et spectrophotomètre UV-visible (c)



Figure II : Schéma du pilote expérimental ayant sévi pour le traitement en modes continu et discontinu des eaux de rejet de la STEP de Buterere au Burundi avant (a) et pendant (b) les essais et aspect de l'effluent avant après traitement (c)

Annexe II : Les Tableaux

Tableau I : Composition en masse (%) des macrophytes du Burundi et de la Côte d'Ivoire avant et après traitement des eaux usées

Elément	E.C.R Avant		E.C.R AP		E.C.T Avant		E.C.T AP		P.S Avant		P.S AP	
	B	**C**	**B**	**C**	**B**	**C**	**B**	**C**	**B**	**C**	**B**	**C**
Mg	-	-	-	-	-	-	-	-	0,65	0,38	0,84	-
Al	0,7	0,6	0,53	0,8	0 ,57	0,39	0,44	0,31	0,45	0,73	0,84	0,34
Si	0,3	4,1	3,82	4,5	8,37	2,31	3,11	3,45	3,25	3,63	0,43	1,29
P	0,7	0,5	1,14	-	0,53	0,42	0,46	-	1,50	0,63	5,34	0,23
S	45	28	0,49	-	0,52	0,52	0,50	0,20	1,44	0,72	2,49	0,37
Cl	15	12	42,1	52	34,7	41,5	35,6	48	34,2	28,1	31,1	36,6
K	7,6	5,7	12,7	18,	19,5	21,9	25,4	28,3	28,1	31,1	36,6	30,3
Ca	3,1	5,4	20,1	13,	15,4	16,1	16,7	20,8	21,9	19,4	22,5	15,2
Mn	-	-	4,78	3,8	5,62	1,4	1,52	1,99	-	8,70	0,49	-
Fe	22,	42,	13,7	6,2	7,96	11,4	9,36	2,54	11,9	4,15	28,7	10,7
Rb	-	0,4	-	-	0,44	-	-	-	-	-	1,60	-
Sr	-	-	0,66	-	-	0,68	0,59	-	0,33	-	0,67	-
Br	-	-	-	-	-	-	0,47	-	-	-	0,47	-
Na	-	-	-	-	-	-	-	-	1,92	-	-	-
Zn	-	-	-	-	-	-	-	-	0,78	-	-	-

E.C.R Avant : E. crassipes Racine avant traitement ; E.C.R AP : E. crassipes Racine après traitement ; E.C.T Avant : : E. crassipes Tige avant traitement, E.C.T Avant : : E. crassipes Tige après traitement ; P.S Avant : P. stratiotes avant traitement ; P.S Ap : P. stratiotes après traitement.; B : Burundi ; C : Côte d'Ivoire

Tableau II. Plan d'expérimentation et les réponses pour le PFC et les essais au centre du domaine expérimentale.

	Valeurs réelles			**Réponses (*E. crassipes %)***				**Réponses (*P. stratiotes%*)**			
Expériences	Temps (jours)	Densité Plantes (pieds/m)	PO_4^{3-} (mg/L)	Y1 PO_4^{3-}	Y2 NO_3^-	Y3 NH_4^+	Y4 DCO	Y1' PO_4^{3-}	Y2' NO_3^-	Y3' NH_4^+	Y4' DCO
1	5	30	2	11,5	68,2	63,20	23,03	7,00	53,38	68,75	35,75
2	30	30	2	78,5	86,2	93,7	35,8	72,5	74,4	87,5	58,4
3	5	60	2	27,0	79,0	81,2	49,1	28,0	58,1	75,0	43,3
4	30	60	2	85,0	84,3	97,4	53,0	71,0	76,9	93,7	77,2
5	5	30	10	23,2	58,5	54,2	37,4	24,7	63,2	37,5	61,9
6	30	30	10	95,7	96,4	93,7	48,8	95,1	87,3	98,7	69,5
7	5	60	10	34,8	70,8	66,0	58,3	42,4	71,1	56,2	73,1
8	30	60	10	94,2	93,2	95,0	63,6	93,9	83,6	99,4	83,4
9	17,5	45	6	85,6	95,9	97,9	60,3	95,3	81,2	97,9	60,3
10	17,5	45	6	87,2	89,5	97,9	63,5	95,8	74,5	97,9	63,5
11	17,5	45	6	84,6	92,2	95,8	58,5	95,0	79,2	95,8	53,3

Tableau III : comparaison de la composition quantitative en métabolites secondaires des macrophytes d e la Côte d'Ivoire et du Burundi

	Flavonoïdes totaux (µg/mL)		**Polyphénols taux (µg/mL)**		**Tannins condensés (µg/mL)**	
Macrophytes	**Côte d'Ivoire**	**Burundi**	**Côte d'Ivoire**	**Burundi**	**Côte d'Ivoire**	**Burundi**
P.S avant	884,65	936,50	100,21	81,04	251,00	614,33
REC avant	576,50	1061,50	30,63	46,46	294,33	424,33
T EC vant	618,17	1246,50	63,13	81,88	291,00	671,00
P.S ap	813,17	249,83	51,04	53,13	441,00	481,00
R EC ap	474,83	586,50	67,29	111,46	331,00	444,33
T EC ap	926,50	558,17	64,79	90,21	471,00	294,33

P.S avant : P. stratiotes avant traitement des eaux usées ; P.S ap : P. stratiotes après traitement des eaux usées, Racine EC avant : Racine E. crassipes avant traitement des eaux usées, Racine E. ap: Racine E. crassipes après traitement des eaux usées, Tige EC avant : Tige E. crassipes avant traitement des eaux usées Tige EC ap : Tige E. crassipes après traitement des eaux usées.

Annexe III : Productions Scientifiques

C

1. Publications dans les revues internationales avec comité de

Pierre NTAKIYIRUTA, Gaston NSAVYIMANA, Bi Gouessé HENRI BRITON[1], Kopoin ADOUBY, David NAHIMANA, Gaspard NTAKIMAZI. Actions combinées d'*Eichhornia crassipes* et *Pistia stratiotes* pour traitement tertiaire de l'effluent des bassins facultatifs de la station d'épuration de Buterere, Burundi. Int. J. Biol. Chem. Sci. 14(7): 2463-2475, September 2020. DIO: https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v14i7.8

Pierre NTAKIYIRUTA, Gaston NSAVYIMANA, Bi Gouessé HENRI BRITON, Kopoin ADOUBY, David NAHIMANA, Gaspard NTAKIMAZI & Laurence REINERT. Optimization of the phytoremediation conditions of wastewater in post-treatment by *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes*: kinetic model for organic and nutrients removal. Environmental Technology, December2020. https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1852445

Pierre NTAKIYIRUTA, Ossey Clovis Seka, Bi Gouessé Henri Briton, David Nahimana, Kouassi Edmond Konan, Adouby Kopoin, Yao Kouassi Benjamin, Gaspard Ntakimazi. Effect of wastewater phytoremediation process on the chemical composition of Eichhornia crassipes and Pistia stratiotes. International Journal of Green and Herbal Chemistry, September 2021, Sec. A ; Vol.10, No.4, 301-312. **DOI: 10.24214/IJGHC/GC/10/4/30112.**

2. Communications avec actes dans un congrès international ou national

Pierre NTAKIYIRUTA, Gaston NSAVYIMANA, Bi Gouessé Henri BRITON, Kopoin ADOUBY, Gaspard NTAKIMAZI. Phytoremédiation de la pollution azotée et phosphatée des eaux usées domestiques par les espèces *Eichhornia crassipes* et *Pistia stratiotes*. *20èmes Journées Scientifiques Annuelles de la Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.IM*, 06 – 09 Août 2019 à Bamako – MALI

Pierre NTAKIYIRUTA, Gaston NSAVYIMANA, Bi Gouessé Henri BRITON, Kopoin ADOUBY, Gaspard NTAKIMAZI. Elimination de la pollution azotée et phosphatée des eaux

usées en utilisant Eichhronia Crassipes et Pistia stratiotes : Modélisation et Optimisation à partir d'un Plan factoriel complet. 4ème édition des Doctoriales conjointes INPHB 2017 Côte-d'Ivoire, Bénin, Togo, 03 – 06 Juillet 2018, INP-HB Yamoussoukro – Côte-d'Ivoire.

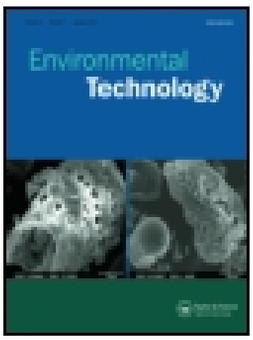
Pierre NTAKIYIRUTA, Gaston NSAVYIMANA, Bi Gouessé Henri BRITON, Kopoin ADOUBY, Gaspard NTAKIMAZI. Phytoremédiation des nutriments des eaux de rejet d'une station d'épuration de Buterere au Burundi. 5ème édition des Doctoriales conjointes INPHB 2017 Côte-d'Ivoire, Bénin, Togo, 10 – 14 Juin 2019, INP-HB Yamoussoukro – Côte-d'Ivoire.

Pierre NTAKIYIRUTA, Gaston NSAVYIMANA, Bi Gouessé Henri BRITON, Kopoin ADOUBY, Gaspard NTAKIMAZI. Valorisation énergétique d'*Eichhornia crassipes* et *Pistia stratiotes* par biométhanisation après les avoir utilisées en phytoremédiation des eaux usées. Projet VLIR UOS/UB *Conférence Régionale à l'Université du Burundi-2eme EDITION* du 25 octobre 2019.

Pierre NTAKIYIRUTA, Bi Gouessé Henri BRITON, David NAHIMANA, Kouassi Benjamin YAO, Gaspard NTAKIMAZI. Valorisation énergétique d'*Eichhornia crassipes* et *Pistia stratiotes* par co-digestion anaérobie. *Communication dans le groupe thématique de "l'Energie" aux doctoriales organisées en ligne le 19 mai 2021, par le Réseau d'Excellence des Sciences de l'Ingénieur de la Francophonie (RESCIF) et INP-HB de Yamoussoukro.*

3. Communication par affichage dans un congrès international

Pierre NTAKIYIRUTA, Bi Gouessé Henri BRITON, David NAHIMANA, Kouassi Benjamin YAO, Gaspard NTAKIMAZI. Détermination des conditions de la phytoremédiation des eaux usées dans un traitement tertiaire par Eichhornia crassipes et Pistia stratiotes : Modèle cinétique d'enlèvement des polluants. 7ème édition des Doctoriales conjointes INPHB 2021 Côte d'Ivoire, Burkinafaso, Niger, Bénin, Togo, Guinée, Sénégal, 01-04 Juin 2021, INPHB, YAMOUSSOUKRO- Côte d'Ivoire



Environmental Technology

ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: https://www.tandfonline.com/loi/tent20

Optimization of the phytoremediation conditions of wastewater in post-treatment by *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes*: kinetic model for pollutants removal

Pierre Ntakiyiruta , Bi Gouessé Henri Briton , Gaston Nsavyimana , Kopoin Adouby , David Nahimana , Gaspard Ntakimazi & Laurence Reinert

To cite this article: Pierre Ntakiyiruta , Bi Gouessé Henri Briton , Gaston Nsavyimana , Kopoin Adouby , David Nahimana , Gaspard Ntakimazi & Laurence Reinert (2020): Optimization of the phytoremediation conditions of wastewater in post-treatment by *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes*: kinetic model for pollutants removal, Environmental Technology, DOI: 10.1080/09593330.2020.1852445

To link to this article: https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1852445

Published online: 07 Dec 2020.

Submit your article to this journal

Article views: 53

View related articles

View Crossmark data

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=tent20

ENVIRONMENTAL TECHNOLOGY
https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1852445

Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

Check for updates

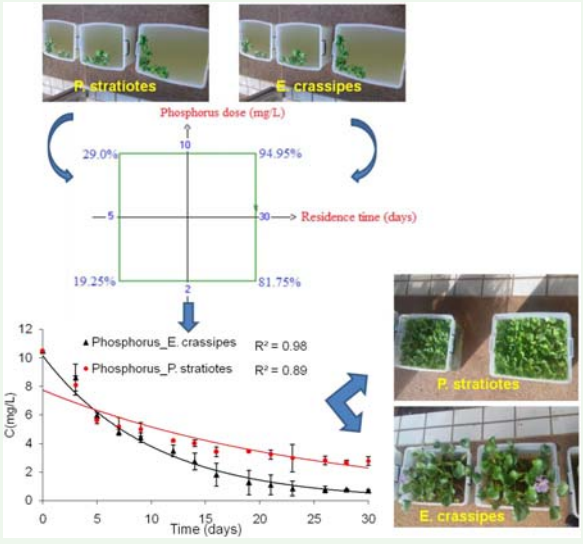
Optimization of the phytoremediation conditions of wastewater in post-treatment by *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes*: kinetic model for pollutants removal

Pierre Ntakiyiruta[a,b], Bi Gouessé Henri Briton [a], Gaston Nsavyimana[b], Kopoin Adouby[a], David Nahimana[b], Gaspard Ntakimazi[b] and Laurence Reinert[c]

[a]Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire; [b]Centre de Recherche en Sciences Naturelles et de l'Environnement (CRSNE), Université de Burundi, Bujumbura, Burundi; [c]Laboratoire de Chimie Moléculaire et de l'Environnement (LCME), Université Savoie Mont Blanc, Chambéry, France

ABSTRACT

This study aims at determining the optimal conditions for pollutants removal in wastewater using *Eichhornia crassipes (E. crassipes)* and *Pistia stratiotes (P. stratiotes)* as appropriate aquatic plants for a post-treatment by phytoremediation. From factors such as residence time, plant density and initial PO_4^{3-} concentration, four responses, i.e. the removal efficiency of PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ and the chemical oxygen demand (COD) were followed, using complete factorial design. After validation of the regression models by the statistical analyses, optimal conditions were obtained by using the global desirability function. Global desirabilities of 0.96 and 0.97 were respectively obtained for *E. crassipes* and *P. stratiotes,* for a residence time of 30 days, a plant density of 60 feet/m^2 and an initial PO_4^{3-} concentration of 10 mg/L. Using *E. crassipes,* this corresponds to the elimination of 94.2% of PO_4^{3-}; 93.3% of NO_3^-; 95.0% of NH_4^+ and 63.6% of COD. In the case of *P. stratiotes*, 93.9% of PO_4^{3-}; 83.4% of NO_3^-, 99.5% of NH_4^+ and 84.4% of COD were removed. Finally, under the used conditions, *E. crassipes* are able to better eliminate phosphorus and nitrates, while *P. stratiotes* are very effective in removing NH_4^+ and COD.



ARTICLE HISTORY
Received 30 April 2020
Accepted 12 November 2020

KEYWORDS
Eichhornia crassipes; *Pistia stratiotes*; nutrients; phytoremediation; optimization

1. Introduction

In recent years, the amount of wastewater produced by domestic or industrial activities has significantly increased, mainly due to higher living standards [1]. Wastewater management has thus become an environmental and economic challenge in developing countries with high population growth [2]. In some countries, wastewater is sometimes still directly released into water ecosystems, without any prior treatment [3]. Moreover, even in the presence of sewage networks,

CONTACT Bi Gouessé Henri Briton britonbig@yahoo.fr Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny, Yamoussoukro BP 1093, Côte d'Ivoire

© 2020 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

the wastewater treatment plants are limited to the biological degradation of organic matter that may generate nutrients such as phosphorus and nitrogen in the treated effluents [2]. It is well known that nitrogen and phosphorus compounds are responsible for the pollution of rivers as they favour the development of aquatic plants [4]. This phenomenon known as eutrophication could be avoided by implementing efficient tertiary treatment processes to increase the purification capacity of the existing plant.

Among the different physical, chemical and biological approaches used to remove nutrients from wastewater, phytoremediation is considered as a promising and cheap technology, using plants to remove contaminants from water [5]. This environmentally friendly technology offers other advantages, such as promoting biodiversity by providing habitats to birds and consuming CO_2 photosynthesis in treatment basins [6]. Indeed, the used plants serve as supports for the development of bacteria that are responsible for the purification of the organic matter, thus making available the nutrients necessary for the growth of the plant which, in turn, provides the oxygen for the survival of these heterotrophic bacteria [7]. Moreover, these macrophytes, at the end of their cycle of use by phytoremediation, can be used to produce biogas because of their high content of moisture, lignin and cellulose [8]. According to Ribeiro et al [9], this biogas can be used to produce electricity or as fuel for vehicles. This biogas technology may be a viable option for developing countries [10]. All of these benefits are driving many researchers to focus on wastewater phytoremediation that is economically viable and profitable.

The choice of appropriate plants for each type of wastewater is a key factor in the implementation of phytoremediation. Plants must be able to grow fast and to accumulate high amounts of nutriments while their roots are immerged in surface water [11]. Among the plants satisfying these criteria, water hyacinth (*Eichhornia crassipes: E. crassipes*) belonging to the floating macrophyte class, possesses a high capacity to accumulate nutrients and has a good root system to promote prolific growth [11]. Ismail et al. [12] and Victor et al. [13] have emphasized that water lettuce (*Pistia stratiotes: P. stratiotes*) has a strong ability to grow in a nutrient-rich environment. The rapid reproduction and accelerated growth of these two macrophytes are closely linked to the assimilation of nutrients in an aqueous medium. Indeed, studies have shown that *P. stratiotes* doubles its biomass in 5 days [14] compared to 10 days for *E. crassipes* [11]. In addition, many environmental factors such as temperature, pH and solar radiation can influence the growth and optimal performance of these plants. For this purpose, *E. crassipes* and *P. stratiotes* do not tolerate low temperatures because frost kills the outer leaves of the plant [15]. Their optimal growth temperature is between 25 and 30°C [16]. It is in this context that many authors have highlighted the effectiveness of these two floating macrophytes to treat wastewater in tropical regions [11,17]. Most of the works reported in the literature are related to the treatment of raw effluents highly loaded with organic matter and heavy metals. As for example, very recently, Manjunath and Kousar [18] have treated wastewater from the textile industry, Mahunon et al. [17] have treated sewage from pigsties, Ugya et al. [19] have purified wastewater from dyeing activities and Parwin and Karar [20], those of culinary activities.

Many authors are interested by the post-treatment of effluents due to the dysfunction of some wastewater treatment stations. Recently, Schwantes et al. [21] have claimed the effectiveness of *P. stratiotes* for this purpose. However, the comparative study of *E. crassipes* and *P. stratiotes* in phytoremediation under optimal conditions has not yet been reported for the treatment of domestic effluents from activated sludge plants. Most phytoremediation studies have been conducted by a classical method, i.e. by modifying one parameter after another, while fixing all the other ones. This classical experimentation method requires many tests, which are time-consuming, and it ignores the interaction effects between the parameters and leads to low efficiency in optimization [12,22,23]. The limitation of this classical method can be avoided by applying the experimental research methodology which involves a statistical design of experiments in which all factors vary together over a series of experimental trials [24]. Among the design of experiments, the complete factorial design (CFD) uses some statistical methods that facilitate their implementation to generate mathematical models capable of predicting the results having a correlation with the experimental responses [25]. For this method, the elimination efficiencies are much better if the choice of the factors constituting the operating variables is well done. The novelty of the present study is to use *P. stratiotes* and *E. crassipes* in order to simultaneously investigate the optimal conditions for phytoremediation of domestic effluents from a treatment plant using CFD.

This study aims at effectively reducing nutrients and organic pollution of domestic wastewater from an activated sludge plant, using *E. crassipes* and *P. stratiotes* under optimal conditions defined by three main factors: the residence time, the plant density and the initial phosphorus concentration. Since phosphorus is one of the main nutrient required for a harmonious

growth of plants, a variation in its concentration could have an influence on the efficiency of phytoremediation [1,2]. Thus, phytoremediation was assessed by reducing the chemical oxygen demand (COD), ammonium (NH_4^+), nitrate (NO_3^-) and phosphorus (PO_4^{3-}) concentrations, under different experimental conditions of the CFD. The statistical analyses were further done using multiple regressions for model fitting and analysis of variance (ANOVA) for the contribution of each factor and their interaction effect on the efficiency of phytoremediation. Finally, the kinetics of nutrients and organic pollutants removal were studied under optimal conditions according to the first order model [26].

2. Material and methods

2.1. Wastewater sampling and experimental setup

Wastewater samples were taken at the outlet of activated sludge station of the National Polytechnic Institute Félix Houphouët Boigny (Yamoussoukro / Côte d'Ivoire). *E. crassipes* and *P. stratiotes* were collected along Yamoussoukro's artificial Lake IX (6° 49′008″N, 5° 16′ 238.8″ W). The climatic characteristics of this experimental site are the following: average annual temperature ranging between 21 and 32 °C and rainfall between 1200 and 1900mm [27]. Their roots were washed several times with distilled water before being introduced into eight polyethylene tanks each containing 25 litres of wastewater. These tanks were settled under a roof of 2.5 m height. The presence of this roof has minimized evaporation by solar radiation and prevented modification of the wastewater characteristics by possible rain while allowing natural air circulation.

2.2. Experimental design methodology

Three experimental parameters, i.e. residence time; plant density and initial phosphorus concentration were chosen and their influence on the phytoremediation process was studied [6, 28]. Phosphorus was chosen among the nutriments as a key parameter as it is well known that this element constitutes a limiting factor regarding to the aquatic plant growth [29]. Indeed, in the absence of phosphorus, the growth of plants stops, whatever the amount of nitrogen available [5]. The experimental device was set up according to CFD. The CFD has allowed setting two levels for the factors: a low level (-) and a high level (+), respectively corresponding to the smallest and the highest values of the variables in the experimental domain. CFD is a powerful technique to determine the contribution of each factor and optimize the performance of the process. For the three chosen factors, the model predicts eight experiments generated by the 2^k expression of the CFD (where k is the number of factors). The minimum and maximum values of the three factors are given in Table 1.

2.3. Statistical modelling of phytoremediation

The results of the 8 tests defined by the experimental model were modelled according to the first degree polynomial Equation (1) associated with CFD:

$$Y = b_0 + \sum_{i=1}^{n} b_i X_i + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^{n} b_{ij} X_i X_j \quad (1)$$

where Y represents the experimental responses (Y_1: PO_4^{3-} removal, Y_2: NO_3^- removal, Y_3: NH_4^+ removal and Y_4: COD removal), b_0: constant coefficient, b_i: main coefficient of the coded factor X_i, and b_{ij}: coefficient of interaction between the coded factors X_i and X_j [17]. This equation allows understanding the variations of the responses obtained for each test.

The b_i and b_{ij} values, coefficient of determination (R^2), adjusted coefficient of determination (R^2_{adj}) and predicted responses were obtained using the NEMROD-W LAPRAI 9901 software. Fischer test was used for the ANOVA. The coefficient of variation (CV) was used to assess the reliability and reproducibility of the experiments [30]. The optimal conditions of phytoremediation were obtained by using the desirability function to simultaneously achieve optimal value for all variables. The desirability of each response ($d(Yi)$) always ranges between 0 and 1. For an undesirable response ($Y_{i,min}$), $d(Yi)$ equals 0, whereas for an ideal response ($Y_{i,max}$), $d(Yi)$ equals 1. The desirability value is given by Equation (2) [31].

$$d(Y_i) = \frac{Y_i - Y_{i,min}}{Y_{i,max} - Y_{i,min}} \quad if \quad Y_{i,min} < Y_i < Y_{i,max} \quad (2)$$

The global desirability (D) can be used to find the best concomitant responses using Equation (3) [32]:

$$D = [d(Y_1) * d(Y_2) * d(Y_3) * d(Y_4)]^{1/4} \quad (3)$$

Table 1. Factors and levels of CFD.

Factor	Real variable	Coded variable	Level of factor −1	Level of factor 1
Residence time (days)	U_1	X_1	5	30
Plant density (Feet/m^2)	U_2	X_2	30	60
Initial charge in PO_4^{3-} (mg/L)	U_3	X_3	2	10

2.4. Characterization of wastewater

The characterization of wastewater sampled at the outlet of the biological treatment station was made by the determination of the following parameters [33]: pH, total suspended solids (TSS), COD using standard method NFT 90-101. Biochemical oxygen demand (BOD) was determined by themanometric method, NH_4^+ content by the acidimetric method after distillation, PO_4^{3-} content by UV-Visible spectrophotometry after complexation by ammonium molybdate and NO_3^- content by molecular absorption spectrometry using sodium salicylate.

2.5. Wastewater treatment by phytoremediation

Phytoremediation efficiency was assessed after 5 and 30 days. The rates of pollution removal (β) were calculated from initial and final values of COD, PO_4^{3-}, NO_3^- and NH_4^+ concentrations, according to Equation (4):

$$\beta(\%) = \left(1 - \frac{C}{C_0}\right) \times 100 \quad (4)$$

where C_0 (mg/L) and C (mg/L) represent the initial and final concentrations of pollution indicator parameters, respectively.

3. Results and discussion

3.1. Characteristics of wastewater

The characteristics of wastewater are presented in Table 2. Determined pollution parametervalues, such as COD, TSS and BOD were all above discharge standards [34]. It can also be noted that the nitrogen content (in various forms), as well as the PO_4^{3-} content were relatively high, which could contribute to the eutrophication of watercourses [35]. These results clearly confirm the need of a post-treatment that could be achieved by phytoremediation, as this process is environmentally friendly.

Table 2. Characteristics of the effluent sampled at the outlet of the activated sludge plant.

	Parameters						
	pH	TSS (mg/L)	PO_4^{3-} (mg/L)	NH_4^+ (mg/L)	NO_3^- (mg/L)	COD (mg O_2/L)	BOD (mg O_2/L)
Values	7.5	120	10	28.5	32.5	330	260
Limit values [34]	6.5-9.5	≤ 30	≤ 2	≤ 15	≤ 30	≤ 125	≤ 25

3.2. Development and validation of regression models

The results obtained after wastewater treatment by *E. crassipes* and *P. stratiotes* are respectively given in Tables 3 and 4. A variation of the responses according to the treatment conditions was observed, showing the importance of the chosen variables in this study.

To understand the effects of these variables, a thorough analysis was performed by modelling this process by the multiple linear regression equation generated using NEMROD-W LAPRAI 9901 software. Equations (5) to (12) give the mathematical model of post-treatment of wastewater by phytoremediation. These equations could predict the removal rate of pollution (Y_i value) as a function of the residence time (X_1), the plant density (X_2) and the initial concentration in PO_4^{3-} (X_3). The main effects, as well as their interactions were modelled, giving the main advantage to CFD, compared to the traditional classical approach.

For *E. crassipes,* Equation (1) becomes:

$$Y_1 = 56.23 + 32.11X_1 + 4.01X_2 + 5.73X_3 - 2.76X1X_2 + 0.863X_1X_3 - 1.48X_2X_3 \quad (5)$$

$$Y_2 = 79.59 + 10.45X_1 + 2.27X_2 + 0.149X_3 - 3.53X_1X_2 + 4.64X_1X_3 + 0.024X_2X_3 \quad (6)$$

$$Y_3 = 80.56 + 14.41X_1 + 4.34X_2 - 3.33X_3 - 3.12X_1X_2 + 2.73X_1X_3 - 1.08X_2X_3 \quad (7)$$

$$Y_4 = 46.13 + 4.18X_1 + 9.88X_2 + 5.89X_3 - 1.87X_1X_2 + 0.00X_1X_3 - 0.95X_2X_3 \quad (8)$$

For *P. stratiotes,* Equation (1) becomes:

$$Y_1' = 54.32 + 28.80X_1 + 4.50X_2 + 9.70X_3 - 5.17X_1X_2 + 1.67X_1X_3 - 0.37X_2X_3 \quad (9)$$

$$Y_2' = 70.99 + 9.53X_1 + 1.39X_2 + 5.26X_3 - 1.77X_1X_2 - 0.43X_1X_3 - 0.41X_2X_3 \quad (10)$$

$$Y_3' = 77.12 + 17.46X_1 + 3.99X_2 - 4.12X_3 - 2.25X_1X_2 + 8.37X_1X_3 + 0.87X_2X_3 \quad (11)$$

$$Y_4' = 62.36 + 8.80X_1 + 6.93X_2 + 9.65X_3 + 2.26X_1X_2 - 4.36X_1X_3 - 0.66X_2X_3 \quad (12)$$

These equations showed how experimental variables and their interactions influence phytoremediation by *E. crassipes* and *P. stratiotes*. The positive sign preceding each term indicates the synergistic effect whereas the negative sign reflects the antagonistic effect on the process. In other words, positive values of these effects

Table 3. CFD results for experiments performed with *E. Crassipes*.

	Coded variables			Real variables			Experimental responses				Predicted responses			
Run	X_1	X_2	X_3	U_1	U_2	U_3	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4
1	−1	−1	−1	5	30	2	11.5	68.2	63.2	23.0	11.0	67.9	63.7	23.4
2	1	−1	−1	30	30	2	78.5	86.2	93.8	35.8	79.0	86.5	93.3	35.5
3	−1	1	−1	5	60	2	27.0	79.1	81.3	49.1	27.5	79.4	80.8	48.8
4	1	1	−1	30	60	2	85.0	84.3	97.4	53.0	84.5	84.0	97.9	53.4
5	−1	−1	1	5	30	10	23.2	58.5	54.2	37.4	23.7	58.8	53.7	37.1
6	1	−1	1	30	30	10	95.7	96.4	93.8	48.8	95.2	96.1	94.2	49.2
7	−1	1	1	5	60	10	34.8	70.8	66.0	58.3	34.3	70.5	66.5	58.6
8	1	1	1	30	60	10	94.2	93.3	95.0	63.6	94.7	93.6	94.5	63.3

revealed that the increase of these factors increases the responses. Conversely, negative values revealed a decrease of the responses. Thus, among all the main factors, only the increase in the PO_4^{3-} concentration (X_3) caused a decrease of the NH_4^+ removal efficiency through Y_3 and Y_3' responses. Indeed, Abbona et al. [36] have reported that PO_4^{3-} ions could precipitate NH_4^+ ones in the presence of Mg^{2+} to form compounds such as struvite in wastewater, according to Equation (13) [37]. The biological nitrification process of NH_4^+ to NO_3^- is then delayed, as plants only assimilate NO_3^- for their growth.

$$Mg^{2+} + NH_4^+ + PO_4^{3-} + 6H_2O \rightarrow MgNH_4PO_4.6H_2O$$

This process is almost similar to the elimination of NO_3^- because, although the effect was synergistic, the contribution of X_3 by its coefficient on the response Y_2 was relatively small compared to that of Y_1 and Y_4 responses. In addition, the fit and robustness of the regression models were done by considering the experimental and predicted responses, using the R^2_{adj} and R^2 parameters (Figures 1–2). There is a very good correlation between experimental and predicted values for the reduction of PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ and COD amounts. R^2 values were all close to 1, while R^2_{adj} values ranged from 0.998 to 0.994 (Table 5). In other words, these regression models are able to predict the removal rates of the studied pollutants by *E. crassipes* or *P. stratiotes*. Furthermore, for these two macrophytes, the coefficient of variation CV ranged from 1.19 to 8.27% (Table 5). These low CV values reflected the reliability and reproducibility of the experiments, as it is usually assumed that a model is reasonably reproducible if its CV value is lower than 10% [14]. A statistical validation by ANOVA could thus use the information given by these regression models, to accurately predict the post-treatment process of wastewater by phytoremediation, using *E. crassipes* or/and *P. stratiotes*.

3.3. ANOVA of regression models

In order to ensure an appropriate model, the significance tests of the main factors, interaction factors and of the regression models were performed by applying ANOVA. P-val is the probability value associated with the Fischer value (F-val) for a single tested factor or for a 2-factors' interaction. Results of all calculations, performed with a significance level of 5%, are reported in Table 6. Whereas the X_1 factor (P-val = 0.01-0.02 < 0.05) has shown a significant difference on the PO_4^{3-}, NO_3^- and NH_4^+ removal model, described by Y_1, Y_2 and Y_3, respectively, no significant effect was found for the COD removal model described by Y_4. Moreover, the X_2 (P-val = 0.02) and X_3 (P-val = 0.04) factors had a significant effect on the COD removal. This implies the existence of a good correlation between the residence time (X_2) and the phosphorus content (X_3) for the degradation of the oxidizable pollution, measurable either by the COD or nitrogen content, in its different forms. In other words, these main factors have shown their influence on the performance of the phytoremediation by *E. crassipes*.

Concerning the interaction effects, only the X_1X_3 interaction has a significant effect on the NO_3^- removal by *E. crassipes*. However, ANOVA test have shown that,

Table 4. CFD results for experiments performed with *P. stratiotes*.

	Coded variables			Real variables			Experimental responses				Predicted responses			
Run	X_1	X_2	X_3	U_1	U_2	U_3	Y_1'	Y_2'	Y_3'	Y_4'	Y_1'	Y_2'	Y_3'	Y_4'
1	−1	−1	−1	5	30	2	7.0	53.38	68.75	35.7	7.45	52.2	66.5	34.68
2	1	−1	−1	30	30	2	72.5	74.46	87.5	58.5	72.05	75.6	89.7	59.54
3	−1	1	−1	5	60	2	28.0	58.15	75.0	43.3	27.55	59.3	77.3	44.39
4	1	1	−1	30	60	2	71.0	76.92	93.75	77.3	71.45	75.7	91.5	76.20
5	−1	−1	1	5	30	10	24.7	63.2	37.5	61.9	24.25	64.4	39.7	63.03
6	1	−1	1	30	30	10	91.5	87.35	98.75	69.5	95.55	86.2	96.5	68.46
7	−1	1	1	5	60	10	42.4	71.1	56.25	73.1	42.85	69.9	53.9	72.11
8	1	1	1	30	60	10	93.9	83.6	99.47	83.4	93.45	84.8	99.17	84.47

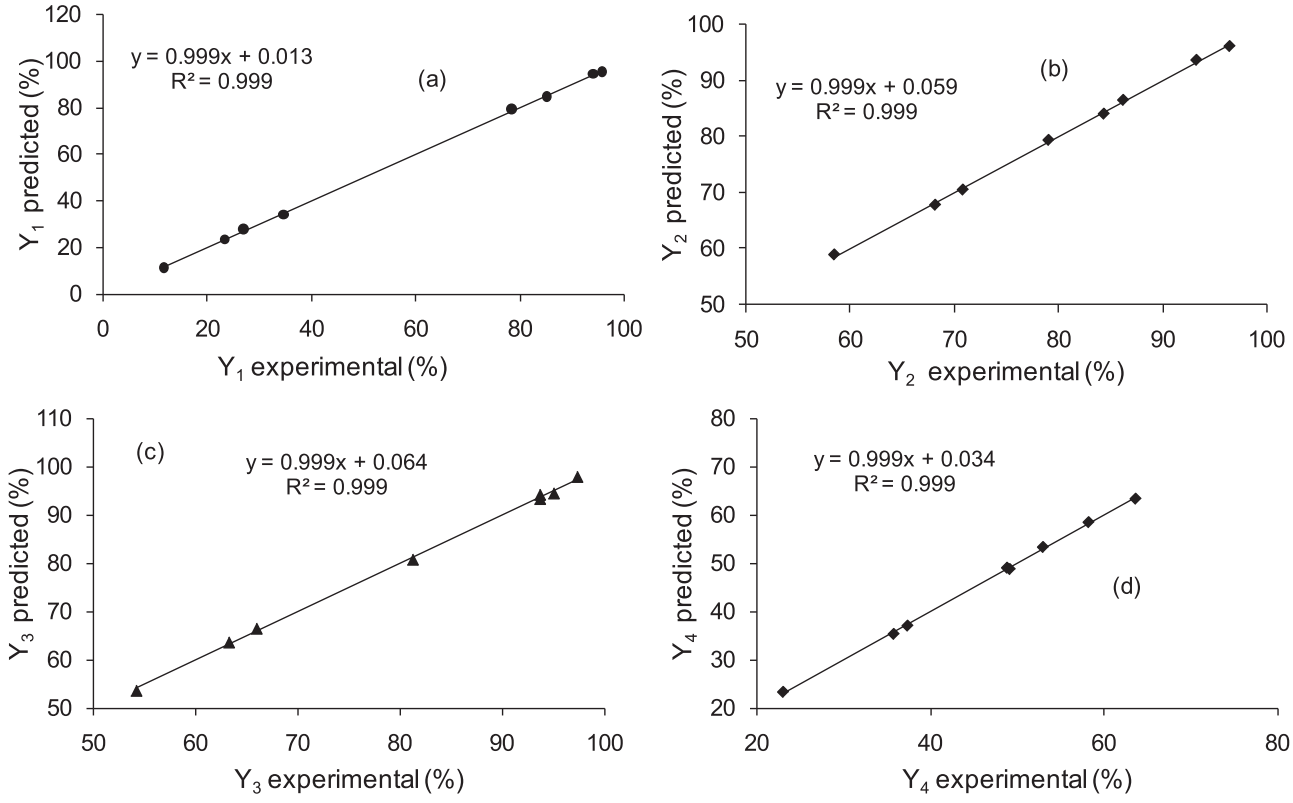


Figure 1. Correlation between experimental and predicted elimination responses of: (a) PO_4^{3-}, (b) NO_3^-, (c) NH_4^+, and (d) COD by using *E. crassipes.*

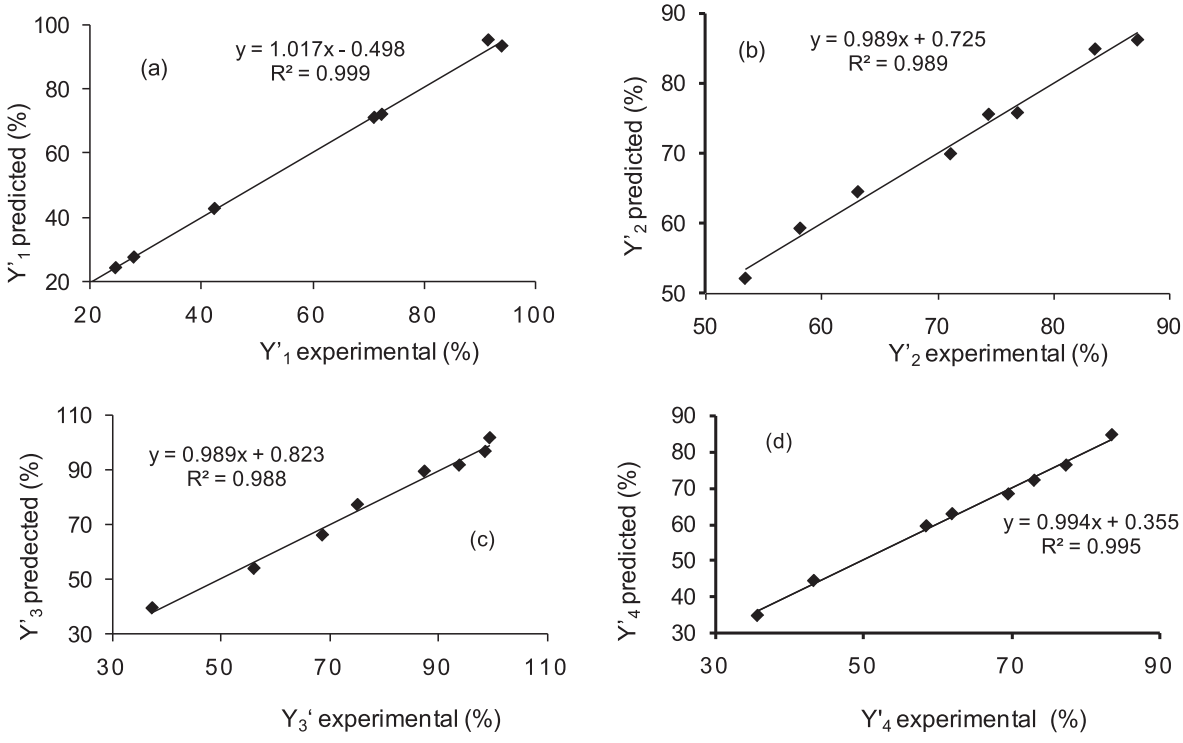


Figure 2. Correlation between experimental and predicted elimination responses of: (a) PO_4^{3-}, (b) NO_3^-, (c) NH_4^+, and (d) COD by using *P. stratiotes.*

Table 5. Statistical parameters of regression models.

	E. crassipes				*P. stratiotes*			
	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4	Y'_1	Y'_2	Y'_3	Y'_4
R^2	0.999	0.999	0.999	0.999	0.999	0.989	0.988	0.995
R^2_{adj}	0.998	0.995	0.994	0.994	0.994	0.924	0.917	0.967
CV (%)	2.58	1.19	1.69	2.10	2.34	4.70	8.27	4.79

using *P. stratiotes,* X_1 and X_3 factors had very significant effects (P-val < 0.05) on PO_4^{3-} removal (Y'_1) and no significant effect (P-val = 0.07 > 0.05) on COD removal (Y'_4). For Y'_2 and Y'_3 only the X_1 factor had a significant effect with a P-val value of 0.07 and 0.08, respectively. Another significant effect was observed with the X_1X_2 interaction because the P-val parameter (0.055) is slightly greater than 0.05. In addition, the F-val parameter, which is defined as the ratio between the average squares of the model and the mean square of the residual errors allows estimating the validity and the robustness of the regression model. For the removal model of PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ and COD, respectively described by Y_1, Y_2, Y_3 and Y_4, the calculated F-val are 692.2, 221.9, 184.14 and 218.88, respectively. For Y'_1, Y'_2,Y'_3 and Y'_4, F-values are equal to 801.2, 15.3, 13.9 and 34.9, respectively. These values were greater than the tabulated Fischer ($F_{(n-p,\ p-1,\ 0.05)} = F_{(1,\ 6,\ 0.05)} = 5.99$, with n being the number of trials and p number of factors) at the 5% level of significance. These results show that these mathematical models are valid and robust to explain the variations of PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ and COD removal rates, according to the conditions defined by the variables.

3.4. Contribution of each factor to the different responses

Figure 3 presents the contribution of the factors and their interactions on the phytoremediation efficiency by *E. crassipes* and *P. stratiotes* according to the established experimental model. The (P_i) contribution [38] of each factor was calculated by using Equation (14):

$$P_i(\%) = \frac{100 * b_i^2}{\sum_{i=1}^{k} b_i^2} \tag{14}$$

According to the results obtained for *E. crassipes* (Figure 3(a)), phytoremediation was highly dependent on the residence time (X_1). Its contributionon PO_4^{3-}, NO_3^- and NH_4^+ removal from domestic wastewater was of 94.55%, 73.60% and 81.14%, respectively. In addition to the influence of the residence time on the COD removal, the plant density (X_2) and initial phosphorus concentration (X_3) also showed a contribution to the COD removal, of 63.3% and 22.5%. This could be explained by the very dense root system of *E. crassipes* which favours the fixation of microorganisms capable of degrading organic pollutants [39]. In the case of *P. stratiotes* (Figure 3(b)), it should also be noted that the residence time (X_1) has a strong influence on the PO_4^{3-}, NO_3^- and NH_4^+ removal with contributions estimated at 85.20%; 73.29% and 73.70%, respectively. Concerning the contribution of the interaction factors, only X_1X_3 has a relatively strong contribution to the NH_4^+ and COD removal with estimated values of 16.94% and 7.82%, respectively.

3.5. Interactions of factors on the pollution removal rates

In this section, a special attention will be given to X_1X_3 and X_2X_3 interactions, since these two interactions showed a small contribution. The interaction diagrams were plotted (Figure 4) to understand the effective influence of each factoron the PO_4^{3-} (Y_1 or Y'_1), the COD (Y_4 or Y'_4) and the NH_4^+ (Y_3 or Y'_3) removal. As shown on Figure 4(a,c), when the residence time was at the lowest level (5 days), the increase of the phosphorus concentration from 2 to 10 mg/L slightly improved the removal of phosphorus and COD. The

Table 6. ANOVA for CFD model fitting to the phytoremediation of wastewater.

		E. crassipes								*P. stratiotes*							
		Y_1		Y_2		Y_3		Y_4		Y'_1		Y'_2		Y'_3		Y'_4	
	ddl	F-val	*P*-val	F-val	*P*-val	F-val	*P*-val	F-val	*P*-val	F-val	*P*-val	F-val	*P*-val	F-val	*P*-val	F-val	*P*-val
Model	6	692.2	0.03	221.9	0.05	184.1	0.056	218.9	0.05	801.2	0.03	15.3	0.19	13.9	0.2	34.9	0.13
X_1	1	3926	0.01	980.1	0.02	896.1	0.02	148.6	0.05	4096	0.01	67.1	0.07	62	0.08	76	0.07
X_2	1	61.3	0.08	46.1	0.09	81.5	0.07	831.3	0.02	100	0.06	1.5	0.44	3.2	0.33	36.3	0.1
X_3	1	125.3	0.057	0.2	0.73	47.9	0.09	296	0.04	464.6	0.03	20.5	0.14	3.4	0.32	73.6	0.07
X_1X_2	1	29.1	0.12	111.6	0.06	42	0.09	29.7	0.11	132.2	0.055	2.2	0.37	1	0.5	2.6	0.35
X_1X_3	1	2.8	0.34	193.4	0.04	32.2	0.11	0	1	13.8	0.17	0.1	0.79	13.8	0.17	20.7	0.14
X_2X_3	1	8.4	0.21	0.01	0.95	5	0.26	7.7	0.22	0.7	0.56	0.1	0.79	0.2	0.76	0.02	0.9

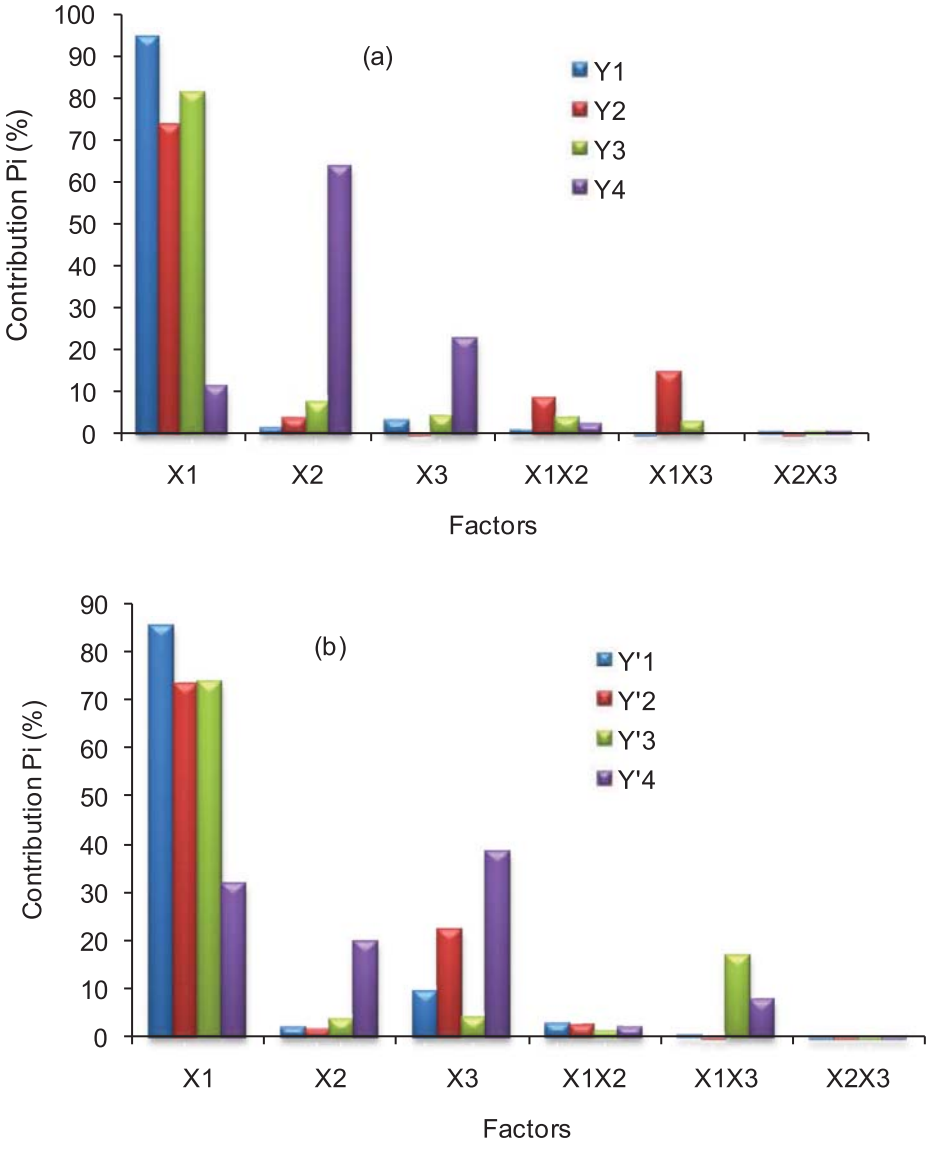


Figure 3. Pareto diagrams of the contribution of factors to phytoremediation: (a) *E. crassipes* and (b) *P. stratiotes.*

same trend was observed when the residence time was fixed at 30 days. The variation for the two efficiencies (Y_1(a) and Y_4(c)) taken in the vertical direction was estimated at almost 13%. On the other hand, either forlow or high initial phosphorus concentration, an increase in the residence time led to a high phosphorus removal efficiency. Indeed, the increase in the phosphorus removal efficiency between 5 and 30 days was of 63% and 66%, at low (2 mg/L) and high (10 mg/L) PO_4^{3-} concentration, respectively. This could be explained by the fact that *E.crassipes* needs time to exhaust the amount of phosphorus nutrient from the surface water for its growth. For short residence times, also called hydraulic retention times (5 days), the PO_4^{3-} (Figure 4(b)) and COD removals (Figure 4(d)) are much higher for *P. stratiotes* than for *E.crassipes*

Moreover, when the residence time is equal to 30 days, the PO_4^{3-} removal is better achieved by *E. crassipes* than by *P. stratiotes*. However, these latter species are more efficient for the removal of COD. According to Shah et al.[40] and Rezania et al.[35], the COD removal is the result of the growth of aerobic bacteria that have grown on the root systems of plants. These bacteria transform the biodegradable organic matter into mineral compounds which are useful for the growth of these macrophytes. It appears from this X_1X_3 interaction that increasing the initial PO_4^{3-} concentration increases the PO_4^{3-} removal by plants but also the COD removal. This results in harmonious growth of macrophytes. Moreover, the X_1X_3 interaction reveals that *E. crassipes* is less effective for relatively short residence times but very effective when phytoremediation

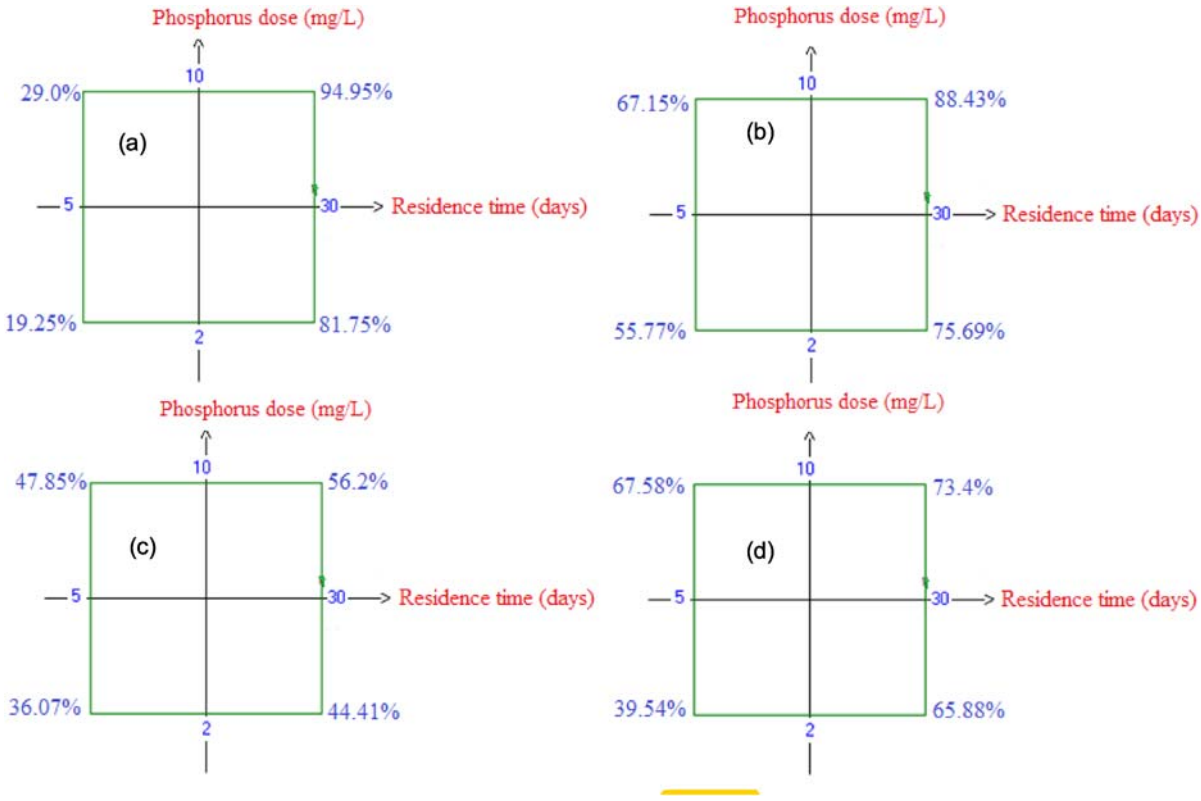


Figure 4. X_1X_3 factor interaction diagram: (a,c) *E. crassipes* (Y_1,Y_4) and (b,d) *P. stratiotes* ($Y_1^{'}$,$Y_4^{'}$).

is carried out at high hydraulic retention times, unlike *P. stratiotes*.

The X_2X_3 interaction provides very interesting information on the NH_4^+ removal by these two macrophytes. Indeed, it can be deduced from the factor interaction diagrams (Figure 5(a,b)) that when the PO_4^{3-} concentration increases from 2 to 10 mg/L, a decrease in the NH_4^+ removal efficiency occurs for both macrophytes, regardless of the plant density. This decrease represents about 5% for *E.crassipes,* compared to 10% for *P. stratiotes*. However, at a fixed PO_4^{3-} concentration, an increase in plant density contributes to a higher NH_4^+ removal. In fact, at a fixed plant density (30 or 60 feet/m^2), *E. crassipes* better removes NH_4^+ than *P. stratiotes, whatever* the initial PO_4^{3-} concentration.

3.6. Multi-response optimization and comparison of results with previous work

The optimal conditions for the post-treatment of studied wastewater by phytoremediation were obtained using the desirability function. The maximum overall desirability (D) obtained was of 0.96 and 0.97 for *E. crassipes* and *P. stratiotes*, respectively (Table 7). Obtained data indicate that the optimal conditions are the same for two macrophytes. This corresponds to a residence time of

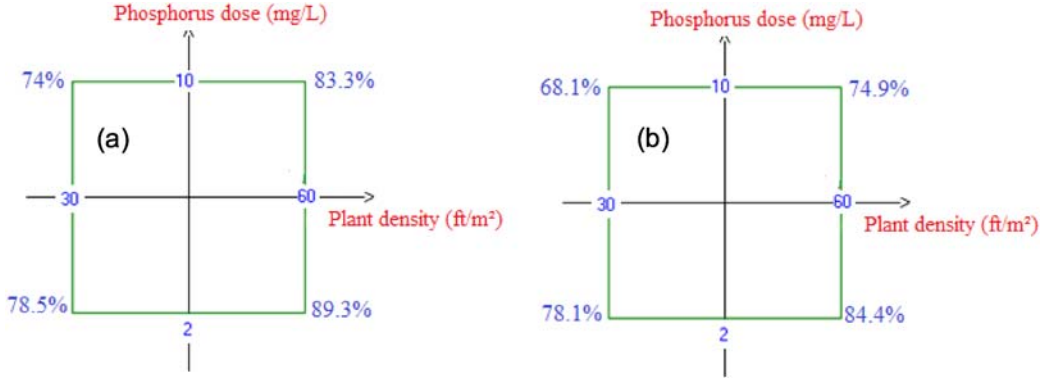


Figure 5. X_2X_3 factor interaction diagrams: (a) *E. crassipes* (Y_3) and (b) *P. stratiotes* ($Y_3^{'}$).

Table 7. Individual and global desirabilities corresponding to the experimental conditions using *E. crassipes* and *P. stratiotes*.

	Y_1	Y_2	Y_3 Desirability	Y_4		Y'_1	Y'_2	Y'_3 Desirability	Y'_4	
Run	d_1	d_2	d_3	d_4	D	d_1	d_2	d_3	d_4	D
1	0	0.256	0.208	0	0	0	0	0.504	0	0
2	0.796	0.731	0.915	0.315	0.64	0.743	0.621	0.807	0.477	0.65
3	0.184	0.543	0.626	0.642	0.45	0.238	0.14	0.605	0.159	0.24
4	0.873	0.681	1	0.739	0.81	0.726	0.693	0.908	0.871	0.79
5	0.139	0	0	0.354	0	0.201	0.289	0	0.55	0
6	1	1	0.915	0.635	0.87	1	1	0.988	0.709	0.92
7	0.277	0.324	0.273	0.869	0.38	0.402	0.522	0.302	0.785	0.47
8	0.982	0.917	0.944	1	**0.96**	0.986	0.89	1	1	**0.97**

30 days, a plant density of 60 feet/m^2 and an initial PO_4^{3-} concentration of 10 mg/L. These optimal conditions correspond to the test number 8, described in Tables 3 and 4, which led to removal rates of 94.2% for PO_4^{3-}, 93.3% for NO_3^-, 95.0% for NH_4^+ and 63.6% for COD in the case of *E. crassipes,* against 93.9% for PO_4^{3-}, 83.4% for NO_3^-, 99.47% for NH_4^+ and 85.6% for COD in the case of *P. stratiotes*.

From the removal rates determined in this study, it appears that *E. crassipes* better eliminates NO_3^- than *P. stratiotes,* whereas these latter species possess a higher NH_4^+ and COD removal potential. An exception is observed for the PO_4^{3-} removal rate, which is almost the same for both macrophytes. In their recent work, Amtul et al.[41] have also reported that *P. stratiotes* was much more efficient than *E. crassipes* for COD abatement. This could be explained by a very good spatial coverage of the body of water by *P. stratiotes* during its growth, as shown in Figure 6.

The phytoremediation of wastewater by *E. crassipes* and *P. stratiotes* has already been studied by several authors. However, the search for optimal conditions responding to both better activity of each of the macrophytes has not yet been reported. Therefore, it would be interesting to compare the results of the present study with those found in the literature. These results on the removal of phosphorus, ammonium and nitrate from wastewater are presented in Table 8. In analysing the results, it can be seen that regardless of the treatment time and the type of effluent, the efficiency of our study was remarkable in terms of nitrate removal (83.4–93.3%). The other parameters such as PO_4^{3-} and NH_4^+ have been strongly eliminated compared to some data from previous work in Table 8. This confirms the interest aroused by this work using statistical tools to find the optimal conditions of wastewater treatment by macrophytes.

3.7. Kinetics of PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ and COD removal

The Pareto graphs have shown that phytoremediation strongly depends on the residence time of macrophytes in wastewater. Indeed, a decrease of the concentrations of the studied species was observed during the

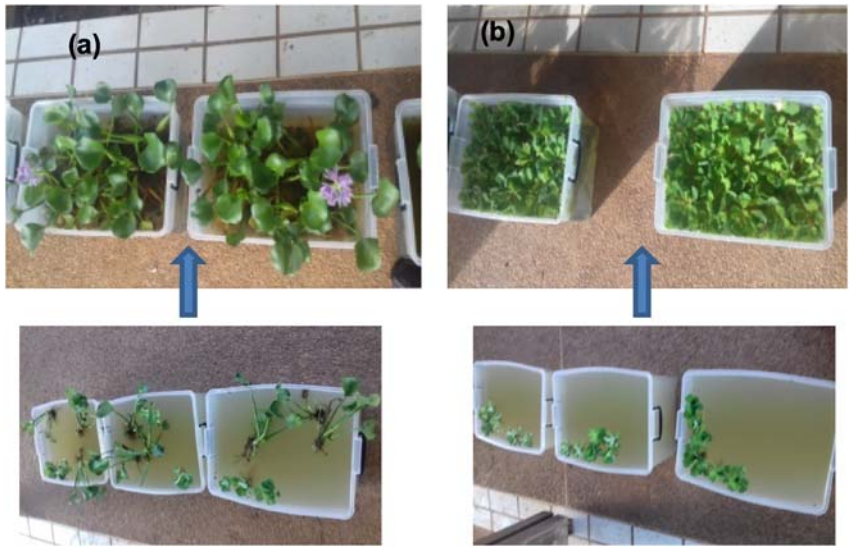


Figure 6. Growth of *E. crassipes* (a) and *P. stratiotes* (b) under optimal phytoremediation conditions.

Table 8. Comparative study of this study with previous work on nutrient removal by *E. crassipes* and *P. stratiotes*.

		E. crassipes			*S. stratiotes*			
Type of wastewater	Time (days)	PO_4^{3-} (%)	NH_4^+ (%)	NO_3^-(%)	PO_4^{3-} (%)	NH_4^+ (%)	NO_3^-(%)	References
Domestic effluent	30	94.2	95	93.3	93.9	99.5	83.4	This study
Municipal wastewater	21	55	72	29.6	60	83	31.1	[12]
Dairy manure wastewater	31	60.6	99.6	-	48.5	99.2	-	[42]
Aquaculture wastewater	31	78.5	84.8	89.8	54.5	81.9	48.6	[39]
Industrial effluent	21	56.8	71	-	47.1	66.5	-	[13]
Urban effluent	31	53.8	86	-	55.9	83.3	-	[43]

treatment period (Figure 7). Thus, a first-order exponential decreasing kinetic model, described by Equation (15), was used to describe the concentration variation versus time [26, 44]:

$$C = C_o e^{-kt} \tag{15}$$

where C (mg/L) is the studied parameter concentration at time t, C_o (mg/L) its initial concentration, k represents the kinetic constant (day^{-1}) and t, the residence time (day).

To determine if this kinetic equation accurately predicts phytoremediation times, the regressions were adjusted in order to define a suitable model. From data depicted in Figure 7, the prediction Equations (16)–(23), related to the elimination kinetics of PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ and COD by *E. crassipes* and *P. stratiotes*, can be defined.

For E. crassipes:

$$C_{PO_4^{-3}} = 10.124e^{-0.099t} = 0.964C_{0(PO_4^{3-})}e^{-0.099t} \quad (R^2 = 0.98) \tag{16}$$

$$C_{NO_3^-} = 31.66e^{-0.11t} = 1.05C_{0(NO_3^-)}e^{-0.11t} \, (R^2 = 0.93) \tag{17}$$

$$C_{NH_4^+} = 54.72e^{-0.16t} = 1.258C_{0(NH_4^+)}e^{-0.16t} \, (R^2 = 0.95) \tag{18}$$

$$C_{COD} = 193.5e^{-0.06t} = 0.575C_{0(COD)}e^{-0.06t} \, (R^2 = 0.68) \tag{19}$$

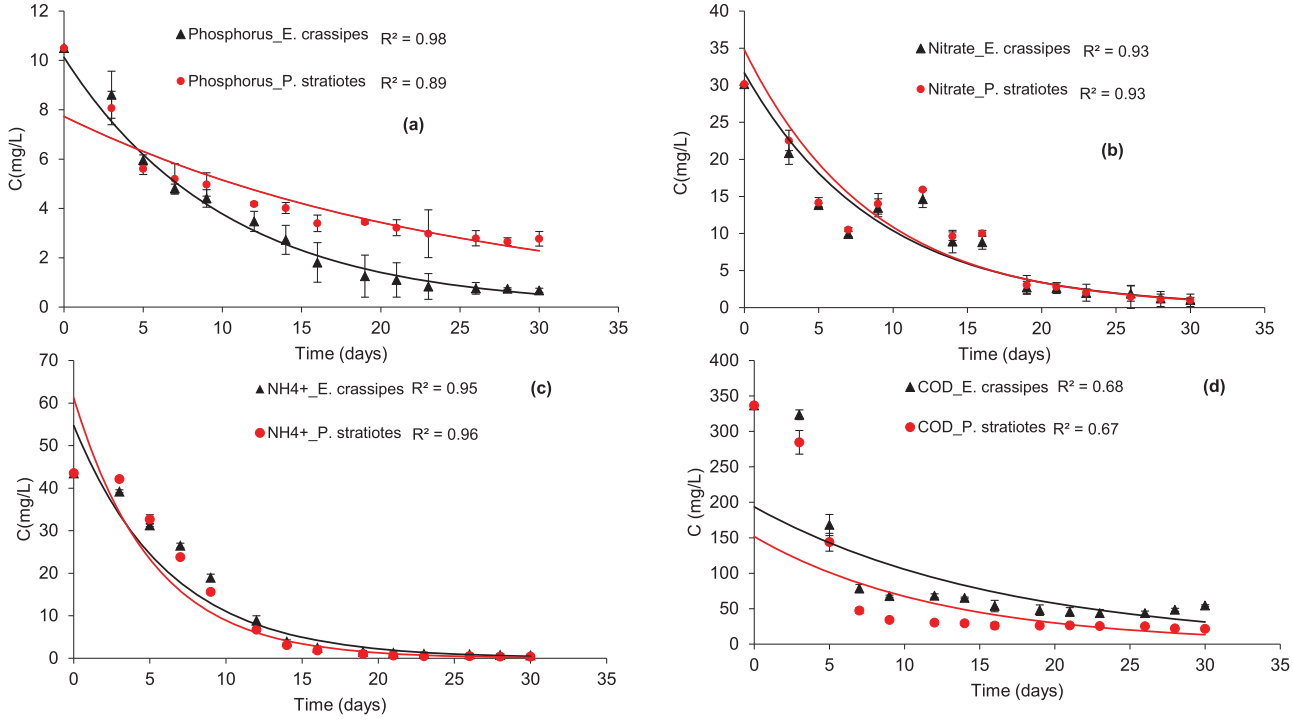


Figure 7. Kinetics curves for the removal of PO_4^{3-} (a), NO_3^- (b), NH_4^+ (c) and COD (d) under optimal conditions by *E. crassipes* and *P. stratiotes*.

For *P. stratiotes*:

$$C'_{PO_4^{3-}} = 7.729e^{-0.04t} = 0.736C_{0(PO_4^{3-})}e^{-0.04t}\ (R^2 = 0.89) \quad (20)$$

$$C'_{NO_3^-} = 34.78e^{-0.11t} = 1.154C_{0(NO_3^-)}e^{-0.11t}\ (R^2 = 0.93) \quad (21)$$

$$C'_{NH_4^+} = 61.22e^{-0.19t} = 1.407C_{0(NH_4^+)}e^{-0.19t}\ (R^2 = 0.96) \quad (22)$$

$$C'_{COD} = 151.6e^{-0.08t} = 0.451C_{0(COD)}e^{-0.08t}\ (R^2 = 0.67) \quad (23)$$

The R^2 parameter calculated for these regressions ranged from 0.98–0.67.

For *E. crassipes*, the first-order exponential decay kinetic model better describes the PO_4^{3-} removal. Except for the COD parameter, for which R^2 is low, the NO_3^- and NH_4^+ parameters are relatively well described by this kinetic model, with R^2 values greater than 0.80 [45]. For the three parameters generating R^2 values greater than 0.80, a good correlation between measured and predicted values exists. The first-order kinetics model can thus be used to predict the time required for the treatment of the studied wastewater by *E. crassipes*.

For *P. stratiotes*, the NO_3^- and NH_4^+ parameters are well described by the kinetic model, as R^2 values are of 0.93 and 0.96, respectively. For NH_4^+, although its initial concentration is weighted by 1.407 (higher value than for the others), its kinetic constant k of 0.19 d^{-1} favours its elimination rate. The low correlation for the COD parameter might be due to a high difference between the measured initial concentration (C_0) and the initial concentration predicted according to the adjusted model ($0.451C_0$).

These results reflect the complexity of the degradation process of the organic compounds in water. Indeed, the organic compounds must undergo a degradation by the bacteria linked to the roots to promote better assimilation by macrophytes [46]. At the same time, as suggested by Wang et al. [47], macrophytes secrete exudates from the roots. If these exudates are used by bacteria for biological denitrification, it is clear that this phenomenon is the cause of the leaching of organic compounds resulting in the slowing of the COD elimination kinetics. This fact was already described by Kozdrój and Van Elsas [48], and by Griffiths et al. [49] who showed that the amount of exudates secreted by the roots was greater than the Total Organic Carbon of a rhizospheric soil.

4. Conclusion

This study on the post-treatment of wastewater by phytoremediation using *E. crassipes* and *P. stratiotes* showed the tight link between the residence time, plant density and initial phosphorus concentration on the PO_4^{3-}, NO_3^-, NH_4^+ and COD removal. The ANOVA statistical test carried out has shown that the experimental model based on the CFD reveals a good correlation with high significance and robustness between the experimental and predicted responses, allowing predicting phytoremediation results in optimal conditions. For *E. crassipes* and *P. stratiotes*, the multi-response optimization carried out by using desirability function showed that these two macrophytes had the same optimal condition of phytoremediation defined by residence time, plant density and initial PO_4^{3-}concentration. However, under these same optimal conditions, the COD removal efficiency is higher for *P. stratiotes* than for *E. crassipes*. For the nutrients, the phosphorus removal efficiency by *E. crassipes* is higher than that of *P. stratiotes*. The kinetic models describing the NO_3^- and NH_4^+ removal are very close for *E. crassipes* and *P. stratiotes*. This study has also revealed that the treatment time in post-treatment of wastewater by phytoremediation using *E. crassipes* and/or *P. stratiotes*, could be accurately described by first-order exponential decay kinetic models, with R^2 values greater than 0.8.

Acknowledgements

The authors thank the Embassy of France in Burundi via *Campus France* for granting a scholarship to Pierre Ntakiyiruta in order to carry out his doctoral thesis work.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

ORCID

Bi Gouessé Henri Briton http://orcid.org/0000-0002-4465-9443

References

[1] Qin H, Zhang Z, Liu M, et al. Site test of phytoremediation of an open pond contaminated with domestic sewage using water hyacinth and water lettuce. Ecol Eng. 2016;95:753–762. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.07.022.

[2] Conley DJ, Paerl HW, Howarth RW, et al. Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus. Science. 2009;323:1014–1015.

[3] Fang YY, Yang XE, Chang HQ, et al. Phytoremediation of nitrogen-polluted water using water hyacinth. J Plant

Nutr. 2007;30:1753–1765. doi:10.1080/15226510701375507.
[4] Kutty SRM, Ngatenah SNI, Isa MH, et al. Nutrients removal from municipal wastewater treatment plant effluent using *Eichhornia crassipes*. World Acad Sci Eng Technol. 2009;60:826–831.
[5] Shah M, Hashmi HN, Ejaz N, et al. Performance evaluation of aquatic macrophytes for municipal wastewater treatment. J Eng Appl Sci. 2013;32:1–11.
[6] Guittonny-Philippe A, Masotti V, Claeys-Bruno M, et al. Impact of organic pollutants on metal and As uptake by helophyte species and consequences for constructed wetlands design and management. Water Res. 2015;68:328–341. doi:10.1016/j.watres.2014.10.014.
[7] Sun H, Xu S, Wu S, et al. Enhancement of facultative anaerobic denitrifying communities by oxygen release from roots of the macrophyte in constructed wetlands. J Environ Manage. 2019;246:157–163. doi:10.1016/j.jenvman.2019.05.136.
[8] Koyama M, Yamamoto S, Ishikawa K, et al. Inhibition of anaerobic digestion by dissolved lignin derived from alkaline pre-treatment of an aquatic macrophyte. Chem Eng J. 2017;311:55–62. doi:10.1016/j.cej.2016.11.076.
[9] Ribeiro EM, Barros RM, Filho GLT, et al. Power generation potential in posture aviaries in Brazil in the context of a circular economy. Sustain Energy Technol Assess. 2016;18:153–163. doi:10.1016/j.seta.2016.10.009.
[10] Fernandes KD, Cañote SJB, Ribeiro EM, et al. Can we use Cd-contaminated macrophytes for biogas production? Environ Sci Pollut Res. 2019;26:27620–27630. doi:10.1007/s11356-018-2318-2.
[11] Gupta P, Roy S, Mahindrakar AB. Treatment of water using water hyacinth, water lettuce and Vetiver Grass – a review. Resour Environ. 2012;2:202–215. doi:10.5923/j.re.20120205.04.
[12] Ismail Z, Othman SZ, Law KH, et al. Comparative performance of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and water lettuce (*Pista stratiotes*) in Preventing nutrients Build-up in Municipal wastewater, CLEAN – soil, Air. Water (Basel). 2015;43:521–531. doi:10.1002/clen.201200254.
[13] Victor KK, Séka Y, Norbert KK, et al. Phytoremediation of wastewater toxicity using water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and water lettuce (*Pistia stratiotes*). Int J Phytorem. 2016;18:949–955. doi:10.1080/15226514.2016.1183567.
[14] Fonkou T, Agendia P, Kengne IM, et al. Potentials of water lettuce (Pistia stratiotes) in domestic sewage treatment with macrophytic lagoon systems in Cameroon. Proc Int Symp Environ Pollut Control Waste Manag. 2002; 709–714.
[15] Sharma HD, Reddy KR. Geoenvironmental engineering: site remediation, waste containment, and emerging waste management technologies. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons; 2004.
[16] Sale PJM, Orr PT, Shell GS, et al. Photosynthesis and growth rates in *Salvinia molesta* and *Eichhornia crassipes*. J Appl Ecol. 1985;22:125–137. doi:10.2307/2403332.
[17] Mahunon S, Aina M, Akowanou AVO, et al. Optimization process of organic matter removal from wastewater by using Eichhornia crassipes. Environ Sci Pollut Res. 2018;25. doi:10.1007/s11356-018-2771-y.
[18] Manjunath S, Kousar H. Phytoremediation of textile industry effluent using aquatic, in. Int J Environ Sci. 2016;5:65–74.
[19] Ugya AY, Hua X, Ma J. Phytoremediation as a tool for the remediation of wastewater resulting from dyeing activities. Appl Ecol Environ Res. 2019;17:3723–3735. doi:10.15666/aeer/1702_37233735.
[20] Parwin R, Karar Paul K. Phytoremediation of Kitchen wastewater using *Eichhornia crassipes*. J Environ Eng. 2019;145:04019023. doi:10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001520.
[21] Schwantes D Jr, Schiller ACG, Manfrin J, et al. Pistia stratiotes in the phytoremediation and post-treatment of domestic sewage. Int J Phytorem. 2019;21:714–723. doi:10.1080/15226514.2018.1556591.
[22] Rezania S, Ponraj M, Talaiekhozani A, et al. Perspectives of phytoremediation using water hyacinth for removal of heavy metals, organic and inorganic pollutants in wastewater. J Environ Manage. 2015;163:125–133. doi:10.1016/j.jenvman.2015.08.018.
[23] Hu C, Sun Z, Li J. Application of water hyacinth in restoration of heavily polluted urban rivers, Chinese. J Environ Eng. 2007;1:51–56.
[24] Ano J, Assémian AS, Yobouet YA, et al. Electrochemical removal of phosphate from synthetic effluent: a comparative study between iron and aluminum by using experimental design methodology. Process Saf Environ Prot. 2019;129:184–195. doi:10.1016/j.psep.2019.07.003.
[25] Candioti LV, De Zan MM, Cámara MS, et al. Experimental design and multiple response optimization. using the desirability function in analytical methods development. Talanta. 2014;124:123–138. doi:10.1016/j.talanta.2014.01.034.
[26] Murray EW, Greenberg BM, Cryer K, et al. Kinetics of phytoremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil. Int J Phytorem. 2019;21:27–33. doi:10.1080/15226514.2018.1523870.
[27] Coulibaly ND, Kone M, Kone T, et al. Influence des conditions pédo-climatiques sur les composantes du rendement de Jatropha curcas (L) dans les zones Nord de savane et Sud forestière de la côte d'Ivoire. Int J Biol Chem Sci. 2015;9:2346–2361. doi:10.4314/ijbcs.v9i5.8.
[28] Kaifas D, Malleret L, Kumar N, et al. Assessment of potential positive effects of nZVI surface modification and concentration levels on TCE dechlorination in the presence of competing strong oxidants, using an experimental design. Sci Total Environ. 2014;481:335–342. doi:10.1016/j.scitotenv.2014.02.043.
[29] Ghaly AE, Kamal M, Mahmoud NS. Phytoremediation of aquaculture wastewater for water recycling and production of fish feed. Environ Int. 2005;31:1–13. doi:10.1016/j.envint.2004.05.011.
[30] Briton BGH, Duclaux L, Richardson Y, et al. Optimization of total organic carbon removal of a real dyeing wastewater by heterogeneous Fenton using response surface methodology. Desalin Water Treat. 2018;136:186–198. doi:10.5004/dwt.2018.22845.
[31] Das S, Mishra S. Box-Behnken statistical design to optimize preparation of activated carbon from *Limonia acidissima* shell with desirability approach. J Environ Chem Eng. 2016;5:588–600. doi:10.1016/j.jece.2016.12.034.
[32] Ennaciri K, Baçaoui A, Sergent M, et al. Application of fractional factorial and Doehlert designs for optimizing the preparation of activated carbons from Argan shells. Chemom Intell Lab Syst. 2014;139:48–57. doi:10.1016/j.chemolab.2014.09.006.

[33] AFNOR, Essais des Eaux. Qualité de l'eau, Association Française de normalisation, Paris, 1994.
[34] M. do C.L. da Silva. Effet de la variabilité du fractionnement de la pollution carbonée sur le comportement des systèmes de traitement des eaux usées par boues activées, these de Doctorat. Inst Natl Polytech Lorraine. 2008.
[35] Rezania S, Din MFM, Taib SM, et al. The efficient role of aquatic plant (water hyacinth) in treating domestic wastewater in continuous system. Int J Phytorem. 2016;18:679–685.
[36] Abbona F, Lundager Madsen HE, Boistelle R. Crystallization of two magnesium phosphates, struvite and newberyite: effect of pH and concentration. J Cryst Growth. 1982;57:6–14. doi:10.1016/0022-0248(82)90242-1.
[37] Tansel B, Lunn G, Monje O. Struvite formation and decomposition characteristics for ammonia and phosphorus recovery: a review of magnesium-ammonia-phosphate interactions. Chemosphere. 2018;194:504–514. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.12.004.
[38] S. Karam, Application de la méthodologie des plans d'expériences et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt, thesis, Limoges, 2004.
[39] Akinbile CO, Yusoff MS. Assessing water hyacinth (*Eichronia crassipes*) and lettuce (*Pistia stratiotes*) effectiveness in aquaculture wastewater treatment. Int J Phytorem. 2012;14:201–211. doi:10.1080/15226514.2011.587482.
[40] Shah M, Hashmi HN, Ali A, et al. Performance assessment of aquatic macrophytes for treatment of municipal wastewater. J Environ Health Sci Eng. 2014;12:1–12. doi:10.1186/2052-336X-12-106.
[41] Tabinda AB, Arif RA, Yasar A, et al. Treatment of textile effluents with *Pistia stratiotes*, *Eichhornia crassipes* and *Oedogonium sp*. Int J Phytorem. 2019: 1549–7879. doi:0.1080/15226514.2019.1577354.
[42] Sooknah RD, Wilkie AC. Nutrient removal by floating aquatic macrophytes cultured in anaerobically digested flushed dairy manure wastewater. Ecol Eng. 2004;22:27–42. doi:10.1016/j.ecoleng.2004.01.004.
[43] Ntakiyiruta P, Nsavyimana G, Briton BGH, et al. Actions combinées de *Eichhornia crassipes* et *Pistia stratiotes* pour traitement tertiaire de l'effluent des bassins facultatifs de la station d'épuration de Buterere, Burundi. Int J Biol Chem Sci. 2020;14:2463–2475.
[44] de Souza TD, Borges AC, de Matos AT, et al. Kinetics of arsenic absorption by the species *Eichhornia crassipes* and *Lemna valdiviana* under optimized conditions. Chemosphere. 2018;209:866–874. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.06.132.
[45] Bal Krishna KC, Polprasert C. An integrated kinetic model for organic and nutrient removal by duckweed-based wastewater treatment (DUBWAT) system. Ecol Eng. 2008;34:243–250. doi:10.1016/j.ecoleng.2008.08.013.
[46] Pang S, Zhang S, Lv XY, et al. Characterization of bacterial community in biofilm and sediments of wetlands dominated by aquatic macrophytes. Ecol Eng. 2016;97:242–250. doi:10.1016/j.ecoleng.2016.10.011.
[47] Wang Q, Liu Q, Hu Y, et al. Effect of carbon source derived from macrophytes on microbial denitrification in constructed wetlands: role of plant species. Bioresour Tech Rep. 2019;7:100217. doi:10.1016/j.biteb.2019.100217.
[48] Kozdrój J, Van Elsas JD. Response of the bacterial community to root exudates in soil polluted with heavy metals assessed by molecular and cultural approaches. Soil Biol Biochem. 2000;32:1405–1417. doi:10.1016/S0038-0717(00)00058-4.
[49] Griffiths BS, Bonkowski M, Roy J, et al. Functional stability, substrate utilisation and biological indicators of soils following environmental impacts. Appl Soil Ecol. 2001;16:49–61. doi:10.1016/S0929-1393(00)00081-0.

Available online at http://www.ifgdg.org

Int. J. Biol. Chem. Sci. 14(7): 2463-2475, September 2020

ISSN 1997-342X (Online), ISSN 1991-8631 (Print)

International Journal of Biological and Chemical Sciences

Original Paper http://ajol.info/index.php/ijbcs http://indexmedicus.afro.who.int

Actions combinées de *Eichhornia crassipes* et *Pistia stratiotes* pour traitement tertiaire de l'effluent des bassins facultatifs de la station d'épuration de Buterere, Burundi

Pierre NTAKIYIRUTA[1,2*], Gaston NSAVYIMANA[2], Bi Gouessé Henri BRITON[1], Kopoin ADOUBY[1], David NAHIMANA[2] et Gaspard NTAKIMAZI[2]

[1]*Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny, BP 1093 Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.*
[2]*Centre de Recherche en Sciences Naturelles et de l'Environnement (CRSNE), Université de Burundi, BP 1550 Bujumbura, Burundi.*
[*]*Auteur correspondant; E-mail: pierrentakiyiruta@yahoo.fr; Tél.: 0025779229032*

RESUME

Le lac Tanganyika, exutoire des eaux de rejet de la station d'épuration de Buterere, est menacé par l'eutrophisation à cause de l'enrichissement en nutriments. Conséquence de la pression démographique, un redimensionnement en vue d'accroître la performance épuratrice de ladite station nécessiterait d'importants investissements. Fort de cela, l'action combinée de *Pistia stratiotes* et *Eichhornia crassipes* en traitement tertiaire a été envisagée. A cet effet, six tanks disposés deux à deux en série ont constitué des bassins de phytoremediation contre deux témoins. Ces tanks étaient alimentés en continu par l'effluent prélevé à la sortie des bassins facultatifs de la station. Les *Pistia stratiotes* et *Eichhornia crassipes* étaient respectivement cultivées dans ces tanks placés en amont et aval du pilote expérimental avec une densité initiale de 60 pieds/m^2. Ces essais ont été suivis tous les deux jours à la sortie de chaque tank en évaluant les concentrations des paramètres jusqu'à atteindre une efficacité de 86,08%; 57,37%, 46,21%; 57,41%, 74,36%; 99,37%; 93,77% et 100% respectivement pour NH_4^+, NO_3^-, PO_4^{3-}, DCO, DBO, Chlorophylle A, Chlorophylle B et Chlorophylle C. Au vue de ces résultats, cette action combinée est une alternative pour renforcer la capacité épuratrice de la station de Buterere.
© 2020 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : Eaux usées, nutriments, phytoremédiation, lagunage, tank, mode continu.

Combined actions of *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes* for tertiary treatment of the effluent from the facultative basins of the Buterere treatment plant, Burundi

ABSTRACT

Lake Tanganyika, the outlet for the Buterere sewage treatment plant, is threatened by eutrophication due to nutrient enrichment. As a consequence of population pressure, a resizing to increase the treatment performance of the plant would require significant investments. With this in mind, the combined action of *Pistia stratiotes* and *Eichhornia crassipes* in tertiary treatment was considered. For this purpose, six tanks arranged two by two in series constituted phytoremediation basins against two controls. These tanks were continuously fed by the

© 2020 International Formulae Group. All rights reserved.
DOI : https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v14i7.8

effluent taken at the exit of the optional basins of the station. *Pistia stratiotes* and *Eichhornia crassipes* were respectively cultivated in these tanks placed upstream and downstream of the experimental pilot with an initial density of 60 feet/m^2. These tests were followed every two days at the exit of each tank by evaluating the concentrations of the parameters until an efficiency of 86.08%; 57.37%, 46.21%; 57.41%, 74.36%; 99.37%; 93.77% and 100% respectively for NH_4^+, NO_3^-, PO_4^{3-}, COD, BOD, Chlorophyll A, Chlorophyll B and Chlorophyll C was reached. In view of these results, this combined action is an alternative to strengthen the scrubbing capacity of the Buterere plant.
© *2020 International Formulae Group. All rights reserved.*

Keywords: Wastewater, nutrients, phytoremediation, lagooning, tank, continuous mode.

INTRODUCTION

Avec le développement galopant de l'urbanisation et de l'industrialisation, le volume des eaux usées domestiques et industrielles ne cesse d'augmenter. La gestion quotidienne de ces eaux usées devient de plus en plus une préoccupation majeure des pays en développement qui doivent consentir un budget conséquent pour assainir le cadre de vie (Yahiaoui et al., 2018). En effet, les eaux usées sont généralement le nid des bactéries responsables des maladies hydriques et des nuisances olfactives lorsqu'elles ne sont pas traitées correctement. Au nombredes procédés de traitement, le lagunage naturel constitue une technologie efficace à moindre coût et le mieux adapté pour les pays en développement à climat tropical (Kone, 2002). Toutefois, un des défis à relever pour ce système de traitement est l'élimination des nutriments qui causent toujours un véritable problème compte tenu des rejets qui ne respectent pas des normes (Mama et al., 2012; Wang and Sample, 2014; Gboko et al., 2019).

C'est le cas de la station d'épuration (STEP) de Buterere (Bujumbura / Burundi) de type lagunage naturel qui est dans l'incapacité d'éliminer convenablement les nutriments à cause de l'absence de traitement tertiaire (Nsavyimana, 2015; Buhungu et al., 2017). En outre, cette station qui avait été conçue en 1994 pour traiter 40 000 m^3/j (Nsavyimana, 2015), doit désormais en traiter plus à cause de la croissance démographique estimée à 2,4% (Sindayigaya, 2015). Par conséquent, l'étude de la qualité des eaux de la rivière Kinyankonge, exutoire des rejets de la STEP de Buterere/Burundi et affluent du lac Tanganyika, a montré que cette rivière est contaminée en nutriments par ces eaux de rejet (Buhungu et al., 2018).

Par ailleurs, des études ont montré que la phytoremédiation au moyen des plantes aquatiques telles que *Eichhornia crassipes* (*E. crassipes*)et *Pistia stratiotes* (*P. stratiotes)* est une technique très adaptée pour l'élimination des polluants dans les eaux usées, y compris les nutriments (Shah et al., 2015; Victor et al., 2016; Qin et al., 2016; Lu et al., 2018; Ting et al,. 2018).Les résultats de ces différentes études précitées ont montré que ces plantes aquatiques éliminent les métaux lourds et les composés organiques ainsi que les différentes formes des composés azotés et phosphatés. De ces études réalisées antérieurement, quelques-unes seulement se sont intéressées à faire des investigations comparatives sur l'efficacité d'élimination des polluants dans les eaux usées par *E. crassipes* et *P. stratiotes* (Ismail et al., 2014; Qin et al., 2016; Victor et al., 2016; Zimmels et al., 2019). Il ressort de ces travaux, des conclusions divergentes car pendant que certains rapportent que *E. crassipes* est efficace pour l'azote et *P. stratiotes* pour le phosphore (Qin et al., 2016; Victor et al., 2016), d'autres trouvent que c'est le contraire(Gupta et al., 2012). Ces études ont été réalisées, pour la plupart, en mode d'alimentation discontinu dans des dispositifs d'expérimentation. Par conséquent, ces résultats seraient difficiles à extrapoler sur des systèmes de traitement continu opérant dans des conditions réelles.

Au meilleur de nos connaissances, peu d'études sur la phytoremédiation dans le système lagunage naturel incluant l'action combinée de différentes plantes aquatiques et fonctionnant sous climat tropical d'Afrique sub-saharienne ont été réalisées. A cet effet,

une hypothèse de recherche selon laquelle l'action combinée d'*E. crassipes* et *P. stratiotes* permettrait d'éliminer convenablement les nutriments dans un système lagunage naturel après le bassin facultatif. De fait, le bassin de maturation qui assurait le traitement tertiaire serait substitué par les bassins à macrophytes. Cela pourrait être possible en prenant en compte des facteurs clés comme le temps de séjour hydraulique (TSH) pour réaliser de meilleures performances épuratoires (Mara, 2003).

Cette étude visait donc à évaluer la synergie de *E. crassipes* et *P. stratiotes* pour éliminer les nutriments, dans le système lagunage naturel fonctionnant sous des conditions précitées lorsque ces plantes aquatiques sont utilisées séparément. Ainsi, cette étude propose : (i) une nouvelle conception du bassin de maturation consistant à le subdiviser en deux sous-bassins et dans lesquels *E. crassipes* et *P. stratiotes* sont introduits dans des conditions bien précises; et (ii) de travailler en mode d'alimentation continue en effluent pour simuler la réalité de terrain.

MATERIEL ET METHODES

Dispositif expérimental

Le lagunage naturel par phytoremédiation a été réalisé sur un pilote expérimental installé au Campus Mutanga de l'Université du Burundi (Coordonnées GPS : S3°22´54", E29°23´03" ; altitude : 798,7 m). La zone d'étude est caractérisée par une température moyenne annuelle de 24,1 °C avec une température variant de 23 à 28 °C et une pluviométrie comprise entre 800 et 1100 mm/an (Nsavyimana, 2015).

E. crassipes et *P. stratiotes* qui sont des macrophytes flottants, ont été choisis pour assurer le traitement tertiaire d'une eau issue d'un traitement par lagunage naturel. De ce fait, le bassin a été subdivisé en deux sous bassins interconnectés et dans lesquels *P. stratiotes* et *E. crassipes* sont simultanément cultivées. Pour évaluer la reproductibilité des essais, six tanks expérimentaux (P1 - P2 - P3//E1- E2 - E3) et deux tanks témoins (T1 // T2) ont constitué le pilote expérimental y compris le grand tank réservoir (capacité 5 m^3) à eau usée sur une superficie de 1200 m^2 (Figure 1). Ces tanks ont chacun une capacité de 1,5 m^3 (1,68 m X 1,38 m X 0,65 m). Les tanks T1, P1, P2 et P3 sont connectés chacun au tank réservoir par un répartiteur pour recevoir progressivement de l'eau usée en mode continu. Par contre, les tanks T2, E1, E2 et E3sont connectés respectivement à T1, P1, P2 et P3. C'est donc à partir des tanks P1, P2 et P3 des *P. stratiotes* en passant par les tanks E1, E2 et E3 des *E. crassipes* que les eaux phyto-épurées sont rejetées du système après un temps de séjour hydraulique de 16,6 jours (soit 8,3 jours/tank). En effet, un débit de 0,27 m^3/j d'eaux usées sont évacuées dans chaque tank à partir du tank réservoir. Pour conserver ce débit, le tank réservoir est aussi alimenté tous les 5 jours en eaux usées prélevées à la sortie du bassin facultatif de la STEP de Buterere (S 3°20´16,647" ; E 29°15´32,525"; et altitude de 762,5 m). Les eaux usées qui séjournent dans les deux tanks T1 et T2 sortent sans être mélangées à celles des tanks à macrophytes. Ces tanks T1 et T2 ont été utilisés pour mettre en évidence uniquement l'action des microorganismes et des microphytes de l'effluent brut. La Figure 1 illustre le schéma du pilote expérimental utilisé pour mener cette étude.

Macrophytes et conditions expérimentales

En considérant, les conditions optimales obtenues par Mahunon et al. (2018), la densité des plantes a été fixée à 144 pieds par espèce sur 2,4 m^2 du plan d'eau de chaque tank pour démarrer la phytoremédiation. Ces macrophytes frais et vigoureux ayant pratiquement la même taille ont été collectés dans le bassin versant de la rivière Kinyankonge, exutoire des rejets de la STEP de Buterere/Bujumbura.

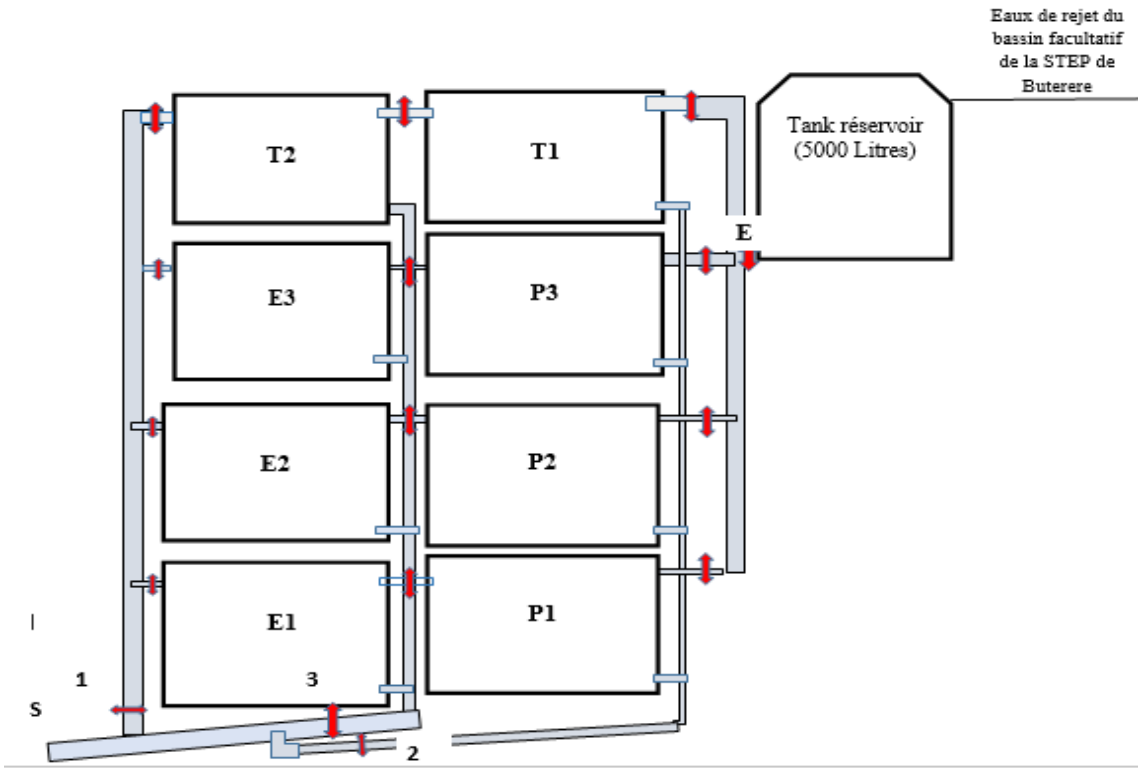
Evaluation de l'efficacité de traitement

La qualité de l'eau usée prélevée à la sortie du bassin facultatif de la STEP a été à chaque fois évaluée au cours des dix prélèvements par la mesure du pH, de la Chlorophylle (A, B et C), du phosphore (PO_4^{3-}), de l'azote ammoniacal ($N\text{-}NH_4^+$), de l'azote

nitrique (N-NO_3^-), de la demande chimique en oxygène (DCO) et de la demande biochimique en oxygène (DBO). Ce système lagunage naturel comporte une dernière étape ou bassin de maturation devant réceptionner les eaux issues du bassin facultatif pour assurer le traitement tertiaire. Les mêmes paramètres indicateurs de pollution ont été également analysés sur des échantillons prélevés tous les deux jours, à l'entrée et à la sortie des tanks. A part le pH qui a été déterminé par un pH-mètre de type WTW 340i, tous les autres paramètres ont été obtenus selon les normes françaises AFNOR (1994). Tous ces résultats ont été exploités pour déterminer le rendement de la phytoremédiation par ces deux macrophytes sur ce pilote expérimental. Les moyennes et les écarts types ont été également calculés pour mieux apprécier la variation des données par rapport aux deux séries à trois tanks chacune. Ce rendement a été calculé selon l'expression suivante :

$$Y(\%) = \left(1 - \frac{C_f}{C_i}\right) * 100 \qquad (1)$$

Où Y, C_i et C_f représentent respectivement le rendement de la phytoremédiation (%), les concentrations initiale et finale des paramètres indicateurs de pollution.



***E** : Effluent à traiter ; P. stratiotes (**P1 :** essai 1 ; **P2** : essai 2, **P3** : essai 3); E. crassipes (**E1** : essai 1 ; **E2** : essai 2, **E3** : essai 3), **S :** Sortie d'effluent traité ; **1 :** Evacuation de l'effluent traité ; **2** : Evacuation P1, P2 et P3 à la fin des essais ; **3 :** Evacuation E1 ; E2 et E3 à la fin des essais ; **T1 et T2 : Tanks** témoins, Vanne :* ⟷

Figure 1 : Schéma du pilote expérimental de la phytoremédiation en mode continu.

RESULTATS

Caractéristiques de l'effluent alimentant le pilote expérimental

Les caractéristiques moyennes de l'effluent du bassin facultatif sont présentées dans le Tableau 1. Ces résultats ont été comparés à la qualité de l'effluent du bassin de maturation de la station d'épuration de Buterere (Nsavyimana, 2015) et aux données relatives à la norme de rejet des eaux usées selon l'OMS (Carr et al., 2004). En effet, l'effluent du bassin de maturation correspond à la dernière étape de traitement de la station d'épuration (STEP) de Buterere. De toute évidence, on constate que l'effluent du bassin facultatif est chargé par rapport aux eaux de rejet de la dite STEP. Par contre, les caractéristiques des eaux issues de la STEP ne sont pas en conformité avec les valeurs limites préconisées par l'OMS (Carr et al., 2004). Cela traduit les limites de cette STEP qui rejette des eaux susceptibles de polluer les cours d'eau. Par ailleurs, si l'élimination de la pollution organique évaluée par la DCO et la DBO semble satisfaisante, force est de reconnaître que ce procédé est peu efficace vis-à-vis des nutriments (phosphore et azote). Par conséquent, la mise en place d'un traitement tertiaire par la phytoremédiation utilisant les actions combinées des *P. stratiotes* et *E. crassipes*, pourrait trouver son intérêt dans cette étude à travers l'évolution des paramètres de pollution.

Evolution des paramètres de pollution

La performance du dispositif mis en place a été suivie par les cinétiques de réduction de PO_4^{3-}(Figure 2), de NH_4^+ (Figure 3), de NO_3^- (Figure 4) et des Chlorophylles (Figure 5). A cet effet, une réduction significative de PO_4^{3-} (Figure 2) est constatée après un temps de séjour de l'effluent successivement dans les bassins à *P. stratiotes* puis à *E. crassipes*. Par ailleurs, pour le bassin témoin, une légère diminution de PO_4^{3-} est certainement due à l'action des microphytes ou des algues. On constate qu'après 25^e jour, une remontée de la concentration de PO_4^{3-}qui pourrait traduire le vieillissement et la mort des macrophytes. En effet, la décomposition des macrophytes dans l'eau suite à cette mortalité entraîne l'enrichissement du milieu en nutriments et en composés organiques. De ce fait, un renouvèlement des plantes doit s'imposer pour continuer la phytoremédiation avec de jeunes plantes. Ainsi, en considérant un séjour maximal de 25 jours, on réalise un rendement de 46,21% de réduction de PO_4^{3-}.

En ce qui concerne l'élimination de NH_4^+, celle-ci est passée de 82,8 à 4,32 mg/L après l'activité des macrophytes (Figure 3). En effet, l'élimination de NH_4^+ a été remarquable jusqu'au 13^e jour avec un taux de 94,78% à la sortie du dispositif expérimental. En outre, on remarque que la cinétique d'élimination de NH_4^+ est pratiquement similaire au niveau des deux macrophytes.

L'un des résultats aussi attendu est la cinétique d'élimination du nitrate. Ainsi, à travers la Figure 4, on constate une chute rapide de la concentration de NO_3^-au bout de 15 jours malgré l'apport continu de la transformation biologique de NH_4^+ en NO_3^-et celui fourni par l'eau brute.

Quant à la cinétique d'élimination des chlorophylles, les résultats ont montré que la charge en Chlorophylle A (Figure 5a) augmente de 886 à 1304,36 µg/L jusqu'au 15^e jour dans les bassins à *P. stratiotes* et *E. crassipes*, puis celle en Chlorophylle C (Figure 5c) atteint le maximum à 616,60 µg/L au 6^e jour. Cette tendance est pratiquement la même dans les bassins témoins et même dans le tank à eau brute.

Efficacité du pilote expérimental

Après avoir présenté la cinétique d'élimination de certains paramètres de pollution, il est important d'évaluer l'efficacité du dispositif expérimental à travers les taux d'abattement (Tableau 2). Cela nous permet de comparer ces résultats à la qualité de l'effluent à la sortie de la STEP de Buterere et des tanks témoins. A cet effet, cette performance du pilote expérimental a été scindée sur deux périodes au regard des cinétiques d'élimination. Il s'agit des 15 premiers jours et le 31^e jour de la phytoremédiation. Pour les nutriments, des rendements de 91,1%, 57,36% et 32,61% respectivement pour NH_4^+, NO_3^- et

PO_4^{3-} après 15 jours ont été obtenus. Ces résultats traduisent une bonne activité des macrophytes comparativement aux données obtenues au niveau des tanks témoins. Cette période correspond à une croissance accélérée des macrophytes à tel enseigne que la demande en nutriment est de plus en plus forte.

Cependant, jusqu'au 31^{e} jour, on assiste à une augmentation de la production des nitrates déjà révélée précédemment. Par contre, cette tendance observée pour les nutriments est vraisemblablement contraire chez les Chlorophylles car au 15^{e} jour la production est remarquable avec des concentrations bien supérieures à celles de l'effluent brut. Mais après cette période, la croissance harmonieuse des macrophytes a renversé la tendance au point d'avoir des rendements pouvant atteindre 100%.

Tableau 1 : Caractéristiques des eaux d'alimentation (Effluent des bassins facultatifs**)** du pilote expérimental.

Paramètre	Effluent des bassins facultatifs	Rejets de la STEP Buterere	Limites de rejet (OMS)
pH	8,3 ±0,12	8,2 ± 0,13	6,5 - 9,5
Chlorophylle A (µg/L)	8860 ±90,0	6125 ± 101,0	0 - 200
Chlorophylle B (µg/L)	640 ±10	424,30 ± 9,55	0 - 200
Chlorophylle C (µg/L)	1530 ±9.8	1280,10± 8,18	0 - 200
PO_4^{3-} (mg/L)	28,11 ±2,15	25,40 ± 3,13	≤ 2
$N\text{-}NH_4^{+}$ (mg/L)	82,80 ± 0,25	68,50 ± 10,89	≤ 15
$N\text{-}NO_3^{-}$ (mg/L)	47,03 ± 1,17	41,20 ± 4,71	≤ 30
DCO (mg O_2/L)	358,13 ± 30,5	123,00 ± 17,92	≤ 150
DBO_5 (mg O_2/L)	260,00 ± 20,45	51,00 ± 6,98	≤ 50

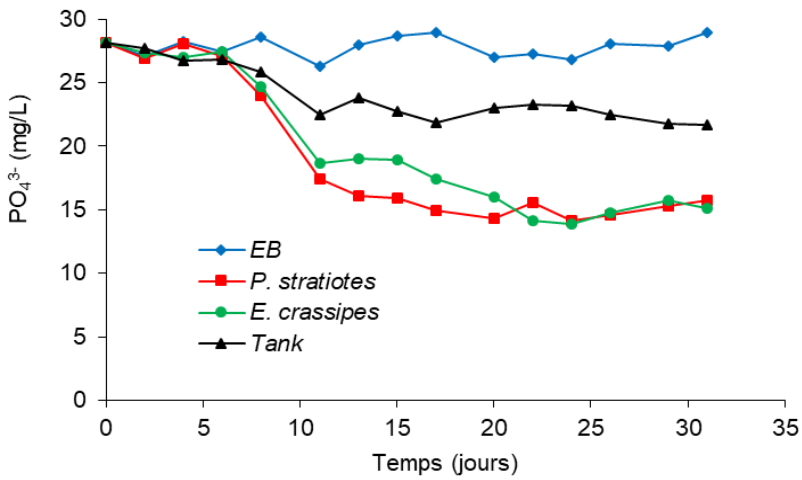


Figure 2 : Cinétique de réduction de PO_4^{3-}dans le dispositif expérimental.

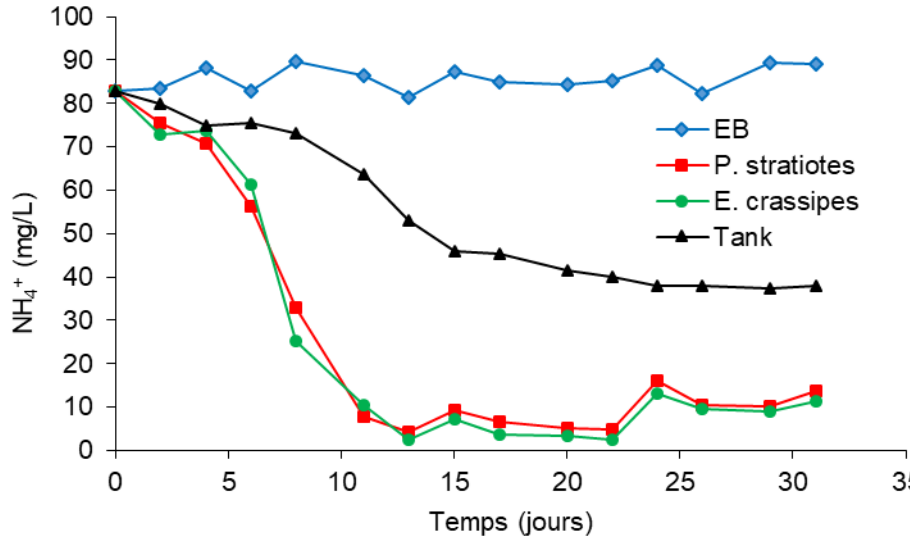


Figure 3 : Cinétique de réduction de NH_4^+dans le dispositif expérimental.

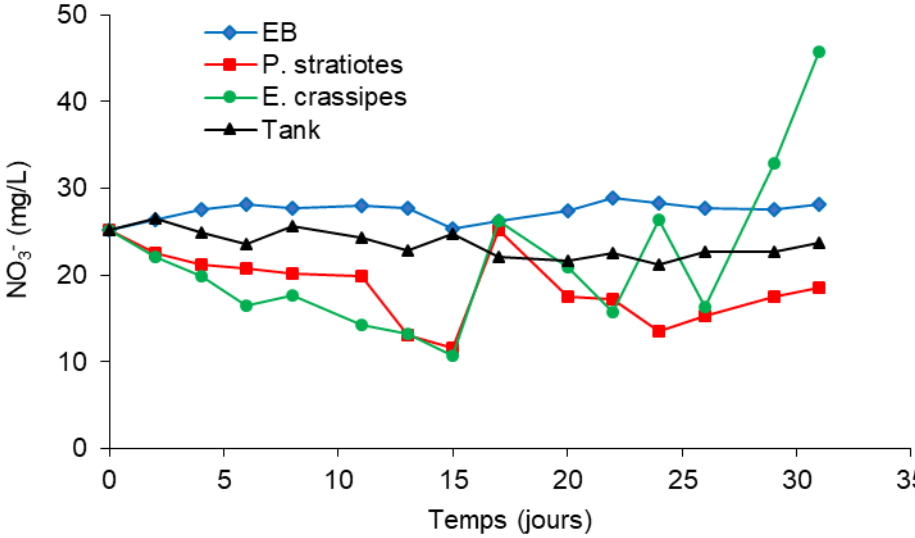


Figure 4 : Cinétique de réduction de NO_3^- dans le dispositif expérimental.

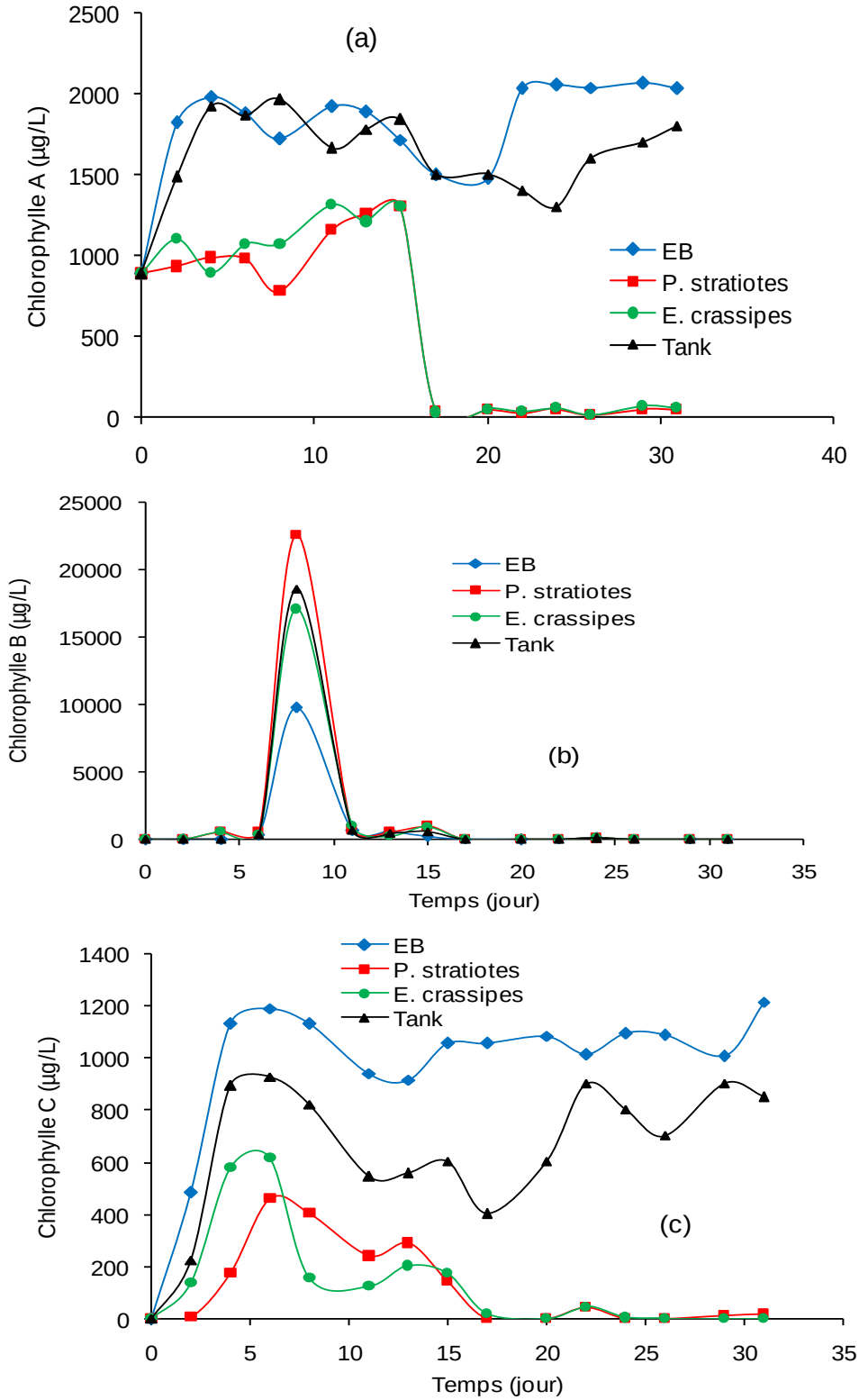


Figure 5 : Cinétique de réduction des Chlorophylles A(a), B(b) et (C) dans le dispositif expérimental.

Tableau 2 : Taux d'abattement des paramètres de pollution.

	Effluent traité après 15 jours		Effluent traité après 31 jours		Effluent traité après 31 jours (Témoins)		STEP de Buterere
Paramètres	**Valeur finale (mg/L)**	**Y (%)**	**Valeur finale (mg/L)**	**Y (%)**	**Valeur finale (mg/L)**	**Y (%)**	**Valeur finale (mg/L)**
Chlorophylle A	1,3044	++	0,0563	99,37	1,8056	++	6,125
Chlorophylle B	0,9104	++	0,0395	93,77	0,0314	++	0,4243
Chlorophylle C	0,1736	++	0,00	100,0	0,8503	++	1,2801
PO_4^{3-}	18,94	32,61	15,11	46,21	21,71	29,45	25,40
NH_4^+	7,37	91,10	11,52	86,08	38,0	54,10	68,50
$N\text{-}NO_3^-$	10,74	57,36	45,76	++	23,72	6,27	41,20
DCO	176,73	57,41	756,25	++	275,45	23,08	123,00
DBO	63,33	75,64	66,66	74,36	110,00	57,69	51,00

NB : ++ : concentration finale supérieure à la concentration initiale (absence d'abattement)

DISCUSSION

Le résultat d'élimination de PO_4^{3-} autour de 46,21% est en accord avec celui rapporté par Rezania et al. (2016). Au cours de ce processus de phytoremédiation, l'élimination de PO_4^{3-} au niveau du bassin à *E. crassipes* est moins importante que celui de *P. stratiotes*. Et pourtant, on s'attendrait à un abattement bien meilleur dans le deuxième bassin (*E. crassipes*) après un temps de séjour dans le premier bassin (*P. stratiotes*). Cela pourrait s'expliquer par la fraction particulaire du phosphore qui minéralise dans le deuxième bassin sous l'action des bactéries (Jerbi, 2015) en libérant le phosphore soluble (PO_4^{3-}). En outre, le bassin à *E. crassipes* reçoit aussi le phosphore résiduel issu du bassin à *P. stratiotes*. Cela entraîne une charge supplémentaire de PO_4^{3-} à éliminer dans le deuxième bassin. Comme le phosphore, l'azote ammoniacal (NH_4^+) a été fortement éliminé pour satisfaire le besoin en nutriment des deux macrophytes. En effet, le processus biologique impliquant les bactéries, accélère la conversion de NH_4^+ en NO_3^- par la réaction de nitratation (Equation 2) (Saeed and Sun, 2012). Ces bactéries pour assurer cette réaction, bénéficient de l'oxygène dissous issu de la photosynthèse des plantes qui ont pratiquement colonisé les plans d'eau. Cette couverture totale du plan d'eau maintient constant la température pour éviter toute variation de la teneur en oxygène dissous. C'est à juste titre, qu'au niveau des tanks témoins, une légère élimination de NH_4^+ a été réalisée sous l'action des bactéries qui reçoivent seulement de l'oxygène à travers la photosynthèse des microphytes où l'équilibre thermique n'est point assuré. De façon générale, ce dispositif expérimental a permis d'avoir des résultats très intéressants au regard des travaux de Rezania et al. (2016), qui ont rapporté un taux d'élimination de NH_4^+ autour de 85% de traitement en continu.

$$NH_4^+ + 2O_2 \rightarrow NO_3^- + H_2O + 2H^+ \ :$$
$$\Delta G = -349{,}3\ kJ/mol\ N \quad (Equation\ 2)$$

En ce qui concerne l'élimination du nitrate, après la chute de sa teneur correspondant à 57,36% de réduction au 15^e jour, une remontée de cette teneur a été constatée au-delà de cette date car cette période correspond au pic de transformation biologique de NH_4^+ en NO_3^- (conférer Figure 3). Ces résultats sont en accord avec les travaux antérieurs de ce que *E. crassipes* a une bonne capacité d'élimination de nitrate (Qin et al.,

2016; Victor et al., 2016).

Une évolution similaire de la teneur en chlorophylles dans les bassins témoins et dans les bassins à macrophytes a été remarquable. A travers les bassins témoins, on constate que le développement des macrophytes réduit la teneur en chlorophylles. Ces macrophytes sécrètent des composés phénoliques, des hydroquinones et de résorcinol ayant une activité inhibitrice à la croissance des microphytes responsables de la teneur en Chlorophylle (Ismail et al., 2015). En outre, la couverture intégrale du plan d'eau par les macrophytes empêche les rayons solaires d'activer la photosynthèse pour la croissance des microphytes. Ainsi, à partir du 15^{e} jour, une chute de la teneur en Chlorophylles A a été remarquable au point d'atteindre parfois des valeurs nulles. Quant à la Chlorophylle C, cette chute est décrite par une allure sinusoïdale avant d'atteindre le minima à zéro. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Fang et al. (2007). Par contre, dans le bac témoin, l'absence d'une quelconque activité inhibitrice minimise la variation temporelle de la Chlorophylle A et un peu moindre celle de la Chlorophylle C. Pour la Figure 5b, on constate que c'est le contraire qui se produit. En effet, l'allure des courbes est la même, mais avec des concentrations en Chlorophylle B bien supérieures dans les bassins à macrophytes que dans l'eau brute. En d'autres termes, les substances inhibitrices n'ont pas d'influence sur les microphytes responsables de la teneur en Chlorophylles B. On observe une augmentation brusque de la teneur en chlorophylle B entre le 5ème et le 10ème jour (Figure 5 (b)). Cette augmentation de la chlorophylle B serait due à la diminution de la chlorophylle A, principal pigment photosynthétique, entraînant ainsi l'inhibition de la photosynthèse consommatrice de la teneur de ce pigment. En effet, la chlorophylle B est le pigment accessoire qui collecte l'énergie et la transmet à la chlorophylle Ace qui signifie qu'en absence de la chlorophylle A, la chlorophylle B n'est pas utilisé par les macrophytes (Féret, 2009).

Enfin, l'élimination de la pollution organique évaluée par la DCO et la DBO (Tableau 2) vient confirmer l'efficacité de ce dispositif expérimental à la dépollution des eaux usées domestiques. En effet, la DBO qui traduit la pollution organique biodégradable est restée plus ou moins constante depuis le 15^{e} jusqu'au 31^{e} jour avec un taux d'abattement autour de 74,36%. Quant à la DCO qui traduit la présence des matières oxydables d'origine organique et minérale, un taux d'abattement d'environ 57,41% a été obtenu dès les deux premières semaines de traitement. Mais la minéralisation des matières dissoutes au cours de la phytoremédiation et la forte présence des nitrates ont été des facteurs favorisant l'augmentation de la DCO. Par conséquent, il est possible d'affirmer à travers la DBO que la pollution organique a connu une forte élimination par ces macrophytes à travers ce dispositif expérimental. Par ailleurs, au regard des résultats relatifs aux nutriments, une comparaison de la performance est en faveur de ce dispositif expérimental par rapport à la STEP de Buterere.

Conclusion

Cette étude a été entreprise pour traiter l'effluent des bassins facultatifs de la STEP de Buterere (Burundi) en simulant les conditions réelles par un pilote expérimental constitué des séries de tanks à *P. stratiotes* et *E. crassipes* en mode continu. A cet effet, la cinétique de la phytoremédiation des paramètres de pollution a été suivie à la sortie des tanks à *P. stratiotes* puis celle des tanks à *E. crassipes.* Cette étape a permis de comprendre que la réduction des paramètres est fonction de la croissance des macrophytes et de leur temps de séjour dans ces différents tanks à eau usée. Ainsi, certains paramètres comme les Chlorophylles A, B et C ont été insensibles à la phytoremédiation car leurs concentrations n'ont cessé d'augmenter pour atteindre le pic au 15^{e} jour. Mais après ce pic, une chute de la concentration des Chlorophylles (A, B et C) a été remarquable jusqu'au 31^{e} jour car la couverture intégrale de la surface d'eau suite à une forte croissance des macrophytes a empêché le développement des microphytes. Cette croissance des macrophytes a été également favorable à l'élimination de l'azote ammoniacal, de phosphore et de la

DBO avec des rendements respectifs de 86,08%, 46,21% et 74,36% au 31e jour. Par contre, au cours de cette même période, une forte présence de nitrate et de la DCO a été constatée suite à la minéralisation des composés organiques et la nitrification de l'azote ammoniacal en nitrate. En effet, cette augmentation de la teneur en nitrate ne remet pas en cause la performance du dispositif expérimental. Cela doit nous amener à travers des études ultérieures, à mettre en place un troisième bassin en aval pour affiner le traitement tertiaire en utilisant soit *P. stratiotes* ou *E. crassipes*. Enfin, les résultats de cette étude devraient être appliqués pour substituer les bassins de maturation par les bassins à macrophytes afin d'améliorer l'efficacité des stations de lagunage de Buterere par exemple.

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Tous les auteurs déclarent qu'il n'y a aucun conflit d'intérêts.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

PN a participé à la conception du dispositif expérimental, à la collecte des échantillons et aux analyses effectuées au laboratoire. Il a participé à la rédaction du manuscrit. GN a participé à la conception du dispositif expérimental, à la mobilisation des financements et à la rédaction du manuscrit. BGHB et KA ont contribué à l'exploitation scientifique des données. DN et GNT ont contribué au processus de rédaction. Tous les auteurs ont lu et approuvé le manuscrit final.

REMERCIEMENTS

Cette étude a bénéficié des soutiens financiers de l'Ambassade de France au Burundi, du Projet VLIR-UOS/U.B, du Projet ARES Belgique et du Laboratoire de Chimie et d'Analyses Environnementales (LCAE) de l'Université du Burundi.

REFERENCES

AFNOR. 1994. Essais des Eaux. In: Qualité de l'eau. Association Française de normalisation, Paris.

Atinkpahoun C, Soclo H, Pons M-N, Leclerc J-P. 2018. Physico-chemical characterization of domestic wastewaters in the "Vie-Nouvelle" agglomeration, Cotonou, Benin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **12**(1): 542-557. DOI: https://doi.org/10.4314/ijbcs.v12i1.42

Buhungu S, Montchowui E, Barankanira E, Sibomana C, Ntakimazi G, Bonou CA. 2018. Caractérisation spatio-temporelle de la qualité de l'eau de la rivière Kinyankonge, affluent du Lac Tanganyika, Burundi. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **12**(1): 576‑595. DOI: https://doi.org/10.4314/ijbcs.v12i1.44

Buhungu S, Houssou AM, Montchowui E, Ntakimazi G, Vasel JL, Ndikumana T. 2017. Etablissement du pollutogramme et de l'hydrogramme de la rivière Kinyankonge, Burundi. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **11**(3): 1386‑1399. DOI: https://doi.org/10.4314/ijbcs.v11i3.37

Carr RM, Blumenthal UJ, Duncan Mara D. 2004. Guidelines for the safe use of wastewater in agriculture : Revisiting WHO guidelines. *Water Science and Technology*, **50**(2): 31‑38. DOI: https://doi.org/10.2166/wst.2004.0081

Fang YY, Yang XE, Chang HQ, Pu PM, Ding XF, Rengel Z. 2007. Phytoremediation of Nitrogen-Polluted Water Using Water Hyacinth. *Journal of Plant Nutrition*, **30**(11): 1753‑1765. DOI: https://doi.org/10.1080/15226510701375507

Féret MJ-B. 2009. Apport de la modélisation pour l'estimation de la teneur en pigments foliaires par télédétection. PhD Thesis, Université Pierre ET Marie Curie, p. 203.

Gboko AJ, Akobe AC, Aka AM, Aka CA, Kouame AF, Adou KN, Yapo OB, Monde S, Aka K. 2019. Etat d'eutrophisation de la lagune continentale Ono (Bonoua sud-est de la Côte d'Ivoire) dans un environnement agro-industriel durant la crue du fleuve Comoé. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, **13**(6): 2942‑2958.

DOI: https://doi.org/10.4314/ijbcs.v13i6.40

Gupta P, Roy S, Mahindrakar AB. 2012. Treatment of Water Using Water Hyacinth, Water Lettuce and Vetiver Grass: A Review. *Resources and Environment,* **2**(5): 202‑215. DOI: 10.5923/j.re.20120205.04

Ismail Z, Othman SZ, Law KH, Sulaiman AH, Hashim R. 2015. Comparative Performance of Water Hyacinth (Eichhornia crassipes) and Water Lettuce (Pista stratiotes) in Preventing Nutrients Build-up in Municipal Wastewater. *CLEAN – Soil, Air, Water,* **43**(4): 521‑531. DOI: https://doi.org/10.1002/clen.201200254

Jerbi NAG. 2015. Eutrophisation et dynamique du phosphore et de l'azote en Seine : Unnouveau contexte suite à l'amélioration du traitement des eaux usées. PhD Thesis, Université Pierre ET Marie Curie, p. 267.

Kone D. 2002. Epuration des eaux usées par lagunage à microphytes et à macrophytes en Afrique de l'ouest et du centre : État des lieux, performances épuratoires et critères de dimensionnement. These de doctorat, École Polytechnique Fédéralede Lausanne, p. 194.

Lu B, Xu Z, Li J, Chai X. 2018. Removal of water nutrients by different aquatic plant species : An alternative way to remediate polluted rural rivers. *Ecological Engineering,* **110**: 18‑26. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.09.016

Mama D, Aina M, Alassane A, Boukari OT, Chouti W, Deluchat V, Bowen J, Afoud A, Baudu M. 2012. Caractérisation physico-chimique et évaluation du risque d'eutrophisation du lac Nokoué (Bénin). *International Journal of Biological and Chemical Sciences,* **5**(5): 2076-2093. http://ajol.info/index.php/ijbcs

Mara D. 2003. *Domestic Wastewater Treatment in Developing Countries* (3rd ed). Earthscan: London, UK.

Mahunon S, Aina M, Akowanou AVO, Kouassi E, Yao B, Kopoin A, Drogui P. 2018. Optimization process of organic matter removal from wastewater by using Eichhornia crassipes. *Environmental Science and Pollution Research,* **25**. DOI: https://doi.org/10.1007/s11356-018-2771-y

Nsavyimana G. 2015. Modélisation des processus physiques et biologiques dans des fosses septiques et voies de valorisations des boues de Vidange : Application à Bujumbura-Burundi. Thèse de Doctorant, Université de Liège, p. 427

Qin H, Zhang Z, Liu M, Liu H, Wang Y, Wen X, Zhang Y, Yan S. 2016. Site test of phytoremediation of an open pond contaminated with domestic sewage using water hyacinth and water lettuce. *Ecological Engineering,* **95**: 753‑762. DOI: https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.07.022

Rezania S, Din MFM, TaibS M, Dahalan FA, Songip AR, Singh L, Kamyab H. 2016. The efficient role of aquatic plant (water hyacinth) in treating domestic wastewater in continuous system. *International Journal of Phytoremediation,* 1**8**(7): 679‑685. DOI: https://doi.org/10.1080/15226514.2015.1130018

Saeed T, Sun G. 2012. A Review on Nitrogen and Organics Removal Mechanisms in Subsurface Flow Constructed Wetlands : Dependency on Environmental Parameters, Operating Conditions and Supporting Media. *Journal of Environmental Management,* **112**: 429-448. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2012.08.011

Shah M, Hashmi HN, Ghumman AR, Zeeshan M. 2015. Performance assessment of aquatic macrophytes for treatment of municipal wastewater. J*ournal of the South African Institution of Civil Engineering,* **57**(3): 18‑25. DOI: https://doi.org/10.17159/2309-8775/2015/V57N3A3

Sindayigaya S. 2015. Républiquedu Burundi, Ministère de l'Eau, de l'Environnement,

de l'Aménagement du Territoire et de l'Urbanisme. Rapport National pour Habitat III : Programme des Nations Unies pour le Développement, p. 71.

Ting WHT, Tan IAW, Salleh SF, Wahab NA. 2018. Application of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) for phytoremediation of ammoniacal nitrogen : A review. *Journal of Water Process Engineering,* **22**: 239‑249. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2018.02.011

Ugya AY, Hua X, Ma J. 2019. Phytoremediation as a tool for the remediation of wastewater resulting from dyeing activities. Applied Ecology and Environmental Research, **7,** 3723‑3735. DOI: https://doi.org/10.15666/aeer/1702_37233735

Victor KK, Séka Y, Norbert KK, Sanogo TA, Celestin AB. 2016. Phytoremediation of wastewater toxicity using water hyacinth (Eichhornia crassipes) and water lettuce (Pistia stratiotes). *International Journal of Phytoremediation,* **18**(10): 949‑955. DOI: https://doi.org/10.1080/15226514.2016.1183567

Wang CY, Sample DJ. 2014. Assessment of the nutrient removal effectiveness of floating treatment wetlands applied to urban retention ponds. *Journal of Environmental Management,* **137**: 23‑35. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.02.008

Yahiaoui K, Zoubeidi A, Rouahna N, Ouakouak A. 2018. Study of domestic wastewater treatment bymacrophyte plant in Arid Region of South-east Algeria (case of el oued region). *Journal of Fundamental and Applied Sciences,* **10**(2): Article 2. DOI: https://doi.org/10.4314/jfas.v10i2.19

ZimmelsY, Kirzhner F, Malkovskaja A. 2007. Application of *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes* for treatment of urban sewage in Israel. *Journal of Environmental Management,* **81**: 420‑428. DOI: https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2005.11.014.

E-ISSN: 2278-3229

IJGHC, September 2021 –November Sec. A; Vol.10, No.4, 301-312.
DOI: 10.24214/IJGHC/GC/10/4 /30112.

International Journal of Green and Herbal Chemistry

An International Peer Review E-3 Journal of Sciences

Available online at www.ijghc.com

Section A: Green Chemistry

Research Article

CODEN (USA): IJGHAY

Effect of wastewater phytoremediation process on the chemical composition of *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes.*

Pierre Ntakiyiruta[1, 2*], Ossey Clovis Seka[1], Bi Gouessé Henri Briton[1], David Nahimana[2], Kouassi Edmond Konan[1], Adouby Kopoin[1], Yao Kouassi Benjamin[1], Gaspard Ntakimazi[2].

[1]Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny (Côte d'Ivoire), BP 1313 Yamoussoukro

[2] Centre de Recherche en Sciences Naturelles et de l'Environnement (CRSNE), Université de Burundi, BP 1550 Bujumbura, Burundi

Received: 04 July 2021; **Revised:** 26 August 2021; **Accepted:** 05 September 2021

Abstract: *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes* are known for their ability to remove pollutants from wastewater. However, the latter often represent an external aggression towards these two plants. The objective of this study is to investigate the variation in the elemental and secondary metabolite composition that are secreted by these two plants to deal with external aggressions. The different secondary metabolites were identified and quantified, according to the standard procedure, in Pistia stratiotes and *Eichhornia crassipes* species from two countries (Burundi and Côte d'Ivoire). The results of the phytochemical screening revealed the presence of flavonoids, tannins and polyphenols and the absence of sterols, alkaloids and terpenoids. The quantitative analysis revealed a high concentration of total flavonoids compared to tannins and polyphenols, regardless of the plant used (Eichhornia crassipes or Pistia stratiotes) or

the country in which it was harvested. Moreover, the species harvested in Burundi are richer in these metabolites than those harvested in Côte d'Ivoire. Elemental analysis revealed the presence of macroelements (S, Na, Mg, Cl, P and K), microelements (Fe, Zn and Br) and trace elements (Mn, Si and Al).

Keywords: Secondary metabolites, Eichhornia crassipes, Pistia stratiotes, Elemental composition, phytochemical screening, External aggression.

INTRODUCTION

In recent years, floating macrophytes including water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and water lettuce (*Pistia stratiotes*), have been extensively studied as wastewater treatment agents to reduce parameters such as total dissolved solids (TDS), suspended solids (SS), pesticides, chlorides, ammonia nitrogen (NH_4-N), nitrate nitrogen (NO_3-N), ortho-phosphate (ortho-phosphate) and phosphorus (ortho-phosphate), suspended solids (SS), pesticides, chlorides, ammonia nitrogen (NH_4-N), nitrogen as nitrate (NO_3-N), ortho-phosphate (PO_4-P), total nitrogen Kjeldahl (TNK); Chemical Oxygen Demand (COD), Biochemical Oxygen Demand (BOD), turbidity, metals, etc.[1]. These aquatic plants offer a simple and inexpensive method of treating wastewater [2–4].

However, these pollutants often represent an external aggression towards these plants. In addition to these external aggressions, during the phytoremediation these macrophytes are in competition with the microphytes, (algae) as for their growth [2,5]. To do to these aggressions and inhibit the growth of microphytes; these macrophytes secrete chemical compounds called secondary metabolites [2,5,6]. These secondary metabolites are constituted of extremely diverse chemical compounds with various functions, each with well-defined biological activities [7]. They are extensively used in human, veterinary and agricultural therapy[8]. By phytochemical screening, it can be shown that these secondary metabolites are divided into several categories of terpenoids compounds, essential oils, alkaloids, lectinic and polypeptidic, phenolic and polyphenolic, quinonic, flavonic, flavonolic, tannic, and coumarinic [9]. Indeed, aquatic plants such as *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes* have various uses. *Eichhornia crassipes* has been used as animal feed and in fish farming [10].

We recognize many medicinal applications of *Pistia stratiotes*. Indeed, it is diuretic and is used against certain venereal diseases, hemorrhoids, and dysentery. It also helps to heal lung wounds caused by tuberculosis [11]. Moreover, these two plants are used in the production of biogas and bioethanol [12,13], compost, in the manufacture of paper [14]and as a biosorbent in the removal of toxic metals, organic matter and nutrients [5,15]. The chemical composition of a plant depends on the species, the season of its harvest and its environment, a knowledge of their chemical composition is essential if we want to consider prospects for use [16]. Several studies on the research of secondary metabolites of vegetables have been conducted for therapeutic purposes[7,9,17,18]. However, the secondary metabolite composition that are secreted by aquatic macrophytes to deal with external aggressions has been the subject of little work in the literature [6]. It is in this context that this study, which aims to evaluate the chemical and mineral composition of *Pistia stratiotes* and *Eichhornia crassipes*, collected in Burundi and Côte d'Ivoire, was conducted.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Macrophysics sampling and Preparation of vegetal material: The vegetal material used was composed essentially of whole plants of *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes* collected respectively in the watershed of the Kinyankonge river, outlet of the discharges of the Buterere (Burundi) wastewater treatment plant (WWTP) and lakes n° 9 and 10 in Yamoussoukro (Côte d'Ivoire),

between the N'Zuessy and Habitat neighborhoods. After simultaneous collection in both countries, part of the samples were dried at laboratory temperature (23-28°C) [4,5] for about a month until their mass stabilized in order to avoid any risk of oxidation of the polyphenols. Another part of these macrophytes was used to treat domestic wastewater of the countries and then dried as before after use cycle. The samples were then powdered to facilitate the penetration of the solvent during the extraction process and the manufacture of pellets that were used for elemental analysis by the X-Ray Diffractometer.

2.2. Secondary metabolites identification: Preliminary chemical analyses are necessary to have a general idea about the different families of secondary metabolites present in plants. The different classes of secondary metabolites have been highlighted through tests consisting in the appearance of colorations and/or specificities characteristic of them using appropriate reagents.

Phytochemical screening does not provide information on the structure of a specific molecule. It only highlights the presence of such or such chemical family which can contain different molecules, but of related structures in general, presenting one or more common characters [19]. This study was therefore the object of a photochemical screening to reveal the secondary metabolites contained in *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes* through chemical reactions. The **Table 1** presents the different classical methods that were used to identify the secondary metabolites [20,21].

Table 1 : Methods of identification of secondary metabolites

Secondary metabolites	Methodology	References
Sterols and Terpenes	Lieberman and Bürchard	Wagner, 1983
Polyphenols	Iron III trichloride testing	Wagner, 1983
Flavonoids	Reaction to cyanidine	Wagner, 1983
Catechic Tannins	Reaction to the Stiany	Ethel, 1922
Gallic Tannins	Reaction to the Stiany	Ethel, 1922
Alcaloids	Mayer's and Dragendorff's test	Harbon, 1998
Leucoanthocyanins	Reaction to cyanidine without addition of magnesium chips	Wagner, 1983
Anthocyanins	Acid-base reaction according to the coloring	Ethel, 1922

2.3. Dosage of Secondary Metabolites

2. 3.1. Dosage of total polyphenols (TPP): The dosage of PPT in the different extracts is performed by the colorimetric method of Folin-Ciocalteu [22]. It uses mainly the reagent of "Folin-Ciocalteu" which is a mixture of complexes of phosphotungstic ($H_3PW_{12}O_{40}$) and phosphomolybdic ($H_3PMo_{12}O_{40}$) acids of yellow color [22].

Principle: It is based on the oxidation in basic medium of the oxidizable functions of polyphenolics by the Folin-Ciocalteu reagent with the formation of a new molybdenum-tungsten complex (Mo_8O_{23}-W_8O_{23}). These molybdenum-tungsten complexes (metal oxides W_8O_{23}/Mo_8O_{23}) of blue color formed, present an absorption maximum at 765 nm with the formation of a phenolate ion whose intensity is proportional to the quantity of phenolic compounds present in the sample. The determination of the TPP is performed by comparing the difference in optical density (OD) observed with that obtained for a gallic acid standard of known concentration [23].

Figure 1 shows the calibration curve previously drawn with gallic acid under the same conditions as the samples to be analyzed. The results obtained are expressed as milligram equivalent of gallic acid per gram of dry matter (mg EGa/g Ms).

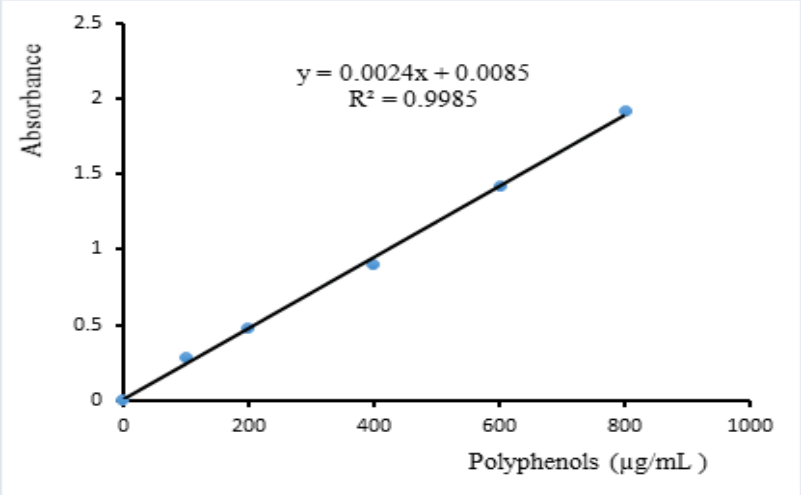


Figure 1: Calibration curve for the determination of total polyphenols

2.3.2. Dosage of Flavonoids: Total flavonoids were determined by the method of Marinova et al.[24]. A volume of 0.75 mL of 5% (w/v) sodium nitrite ($NaNO_2$) was added to 2.5 mL of extract in a 25 mL flask. 0.75 mL of 10% (w/v) aluminum chloride ($AlCl_3$) was added and incubated for minutes in the dark. After incubation, 5 mL of sodium hydroxide (1N NaOH) was added, and the volume was made up to 25 mL with distilled water. The mixture was shaken vigorously before being assayed with UV-visible Spectrophotometer. The reading was taken at 510 nm. The blank was prepared in the same way while replacing the extract with the extraction solvent. A calibration curve (**Figure2**) was performed with quercetin (0-1.5 $g.L^{-1}$) at different concentrations (0, 0.15, 0.3, 0.9, 1.2, 1.5 $g. L^{-1}$). The tests were carried out in triplicate and the flavonoid content is expressed as mg quercetin equivalent (QE) / kg fresh mass[23,25].

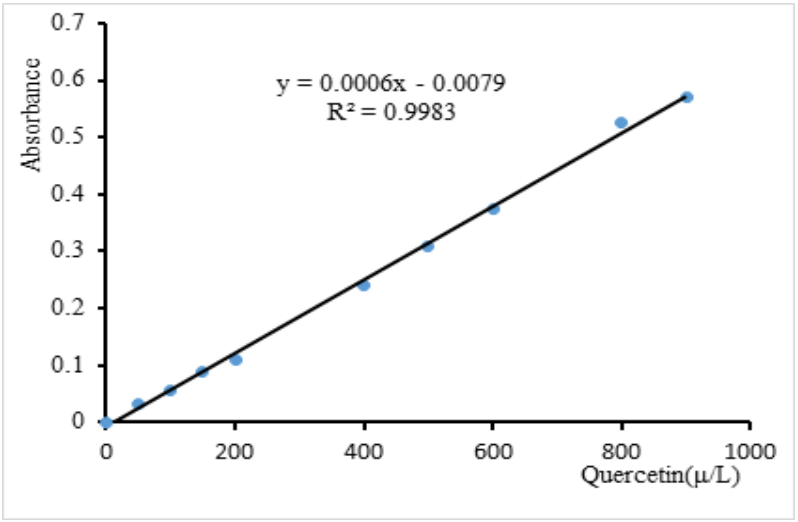


Figure 2: Calibration curve for the dosage of total flavonoids

2.3.3 Dosage of condensed tannins: The determination is done by the vanillin method using vanillin and concentrated hydrochloric acid.

Principle: The principle of this assay is based on the fixation in acid medium of the aldehydic group of vanillin on carbon 6 of the ring A of catechin to form a red chromophore complex that absorbs at 500 nm [26].

Procedure: In a 50µL test tube of the extract, 3 mL of Vanillin/MeOH (4%) and 1.5 mL of fuming hydrochloric acid are introduced. After 15 min, the absorbance of the resulting mixture is measured with a UV-visible spectrophotometer at 500 nm against a blank. The calibration curve (**Figure 3**) is developed with the standard solution of catechin prepared at different concentrations. The results are expressed in milligram catechin equivalent per gram of dry matter (mg EC/g Ms) [27].

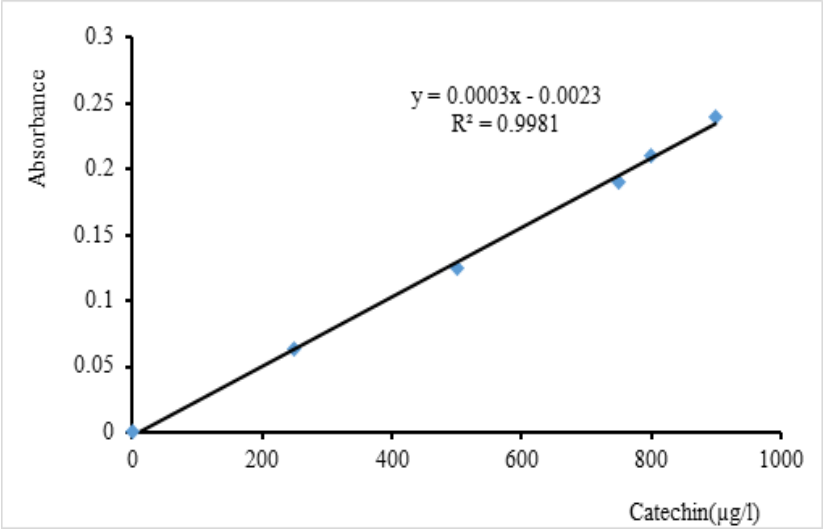


Figure 3: Calibration curve for the dosage of Tannins

3. RESULTS AND DISCUSSION

The chemical composition of a plant depends on the type of species, the season in which it was harvested and its environment. It is essential to know their chemical composition if one wants to consider prospects for their use. This section presents the analysis and interpretation of the results obtained during the elemental analysis, identification and characterization of secondary metabolites involved in the defense against external aggressions on *P. stratiotes and E. crassipes.*

3.1 Elemental composition of *P. stratiotes* and *E. crassipes*

- **Microelements: Figures 4 and 5** present the mineral content (macro and micro elements) of *P. stratiotes* and *E. crassipes* that were collected in Burundi and Côte d'Ivoire before and after using them in phytoremediation.

  Sulfur (S), Potassium (K), Calcium (Ca), Sodium (Na), Phosphorus (P), Magnesium (Mg) and Chlorine (Cl) constitute the macroelements evaluated. The analysis in **Figure 4** shows that *E. crassipes* is rich in Sulfur while *P. stratiotes* is rich in Potassium. It should be noted that the macrophytes collected in Burundi are rich in sulfur (459µg /L) than those collected in Côte d'Ivoire (280µg /L). On the other hand, the macrophytes collected in Ivory Coast are rich in

potassium (311µg /L) than those collected in Burundi (281µg /L). Our results are in agreement with those obtained by [28] who found in their work on monocotyledonous plants a macronutrient content greater than or equal to 1000 mg / kg dry matter. These differences in macronutrient concentrations between the two countries could be explained by the edaphic characteristics (temperature, precipitation etc.) of their environment. After phytoremediation, a decrease in macronutrient concentration is observed since part of the macronutrients is used by the macrophytes during their growth.

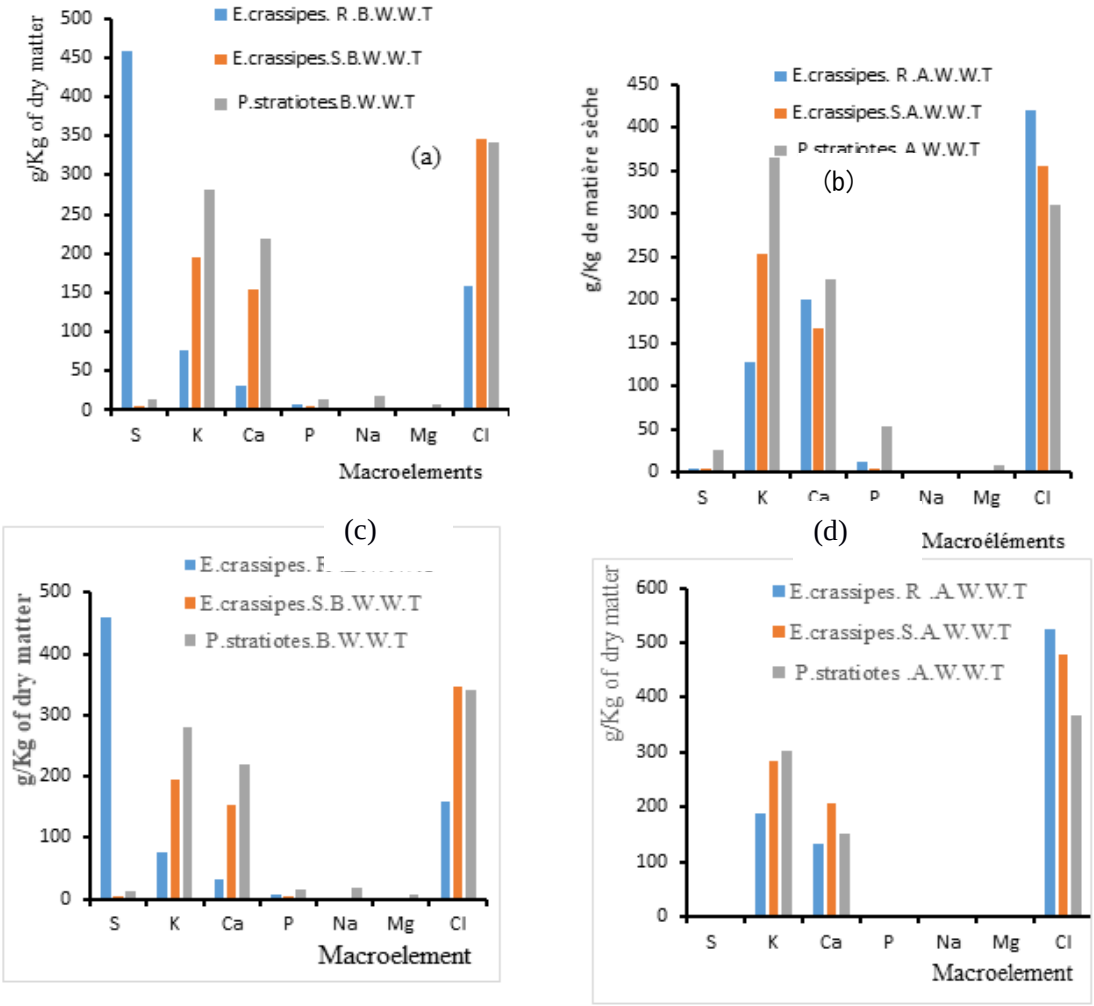


Figure 4: Macroelement composition of *E. crassipes* and *P. stratiotes* from Burundi before and after ((a) and (b)) and Côte d'Ivoire before and after ((c) and (d)) wastewater phytoremediation

E. crassipes. R.B.W.W.T*: Root Eichhornia crassipes before Wastewater Treatment;* ***E. crassipes. R.A.W.W.T****: Root Eichhornia crassipes After Wastewater Treatment****;* ***E. crassipes. S. B W.W.T****: Stem Eichhornia crassipes before wastewater treatment;* ***E. crassipes. S. A W.W.T:*** *Stem Eichhornia crassipes after wastewater treatment;* ***P. stratiotes. B.W.W.T:*** *Pistia stratiotes before wastewater treatment****; P. stratiotes A.W.W.T****: Pistia stratiotes after wastewater treatment.*

- **Microelements:** Iron (Fe), Bromine (Br) and Zinc (Zn) are the microelements evaluated. Analysis of **Figure 5** shows that E. crassipes from Côte d'Ivoire is rich in iron (42.7g/kg dry matter) compared to Burundi (22.4g/kg dry matter).

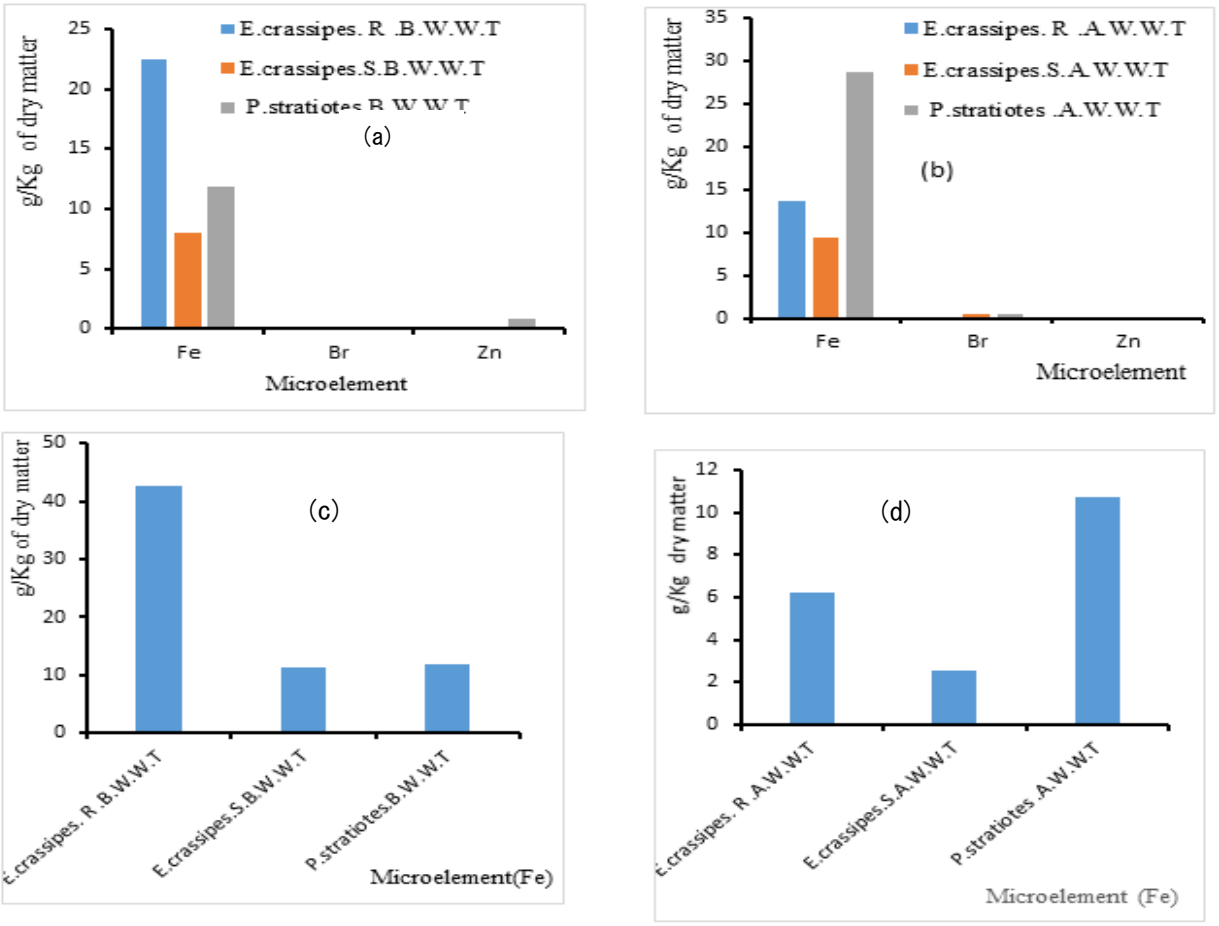


Figure 5: Microelement composition of *E. crassipes* and *P. stratiotes* from Burundi before and after ((a) and (b)) and Côte d'Ivoire before and after ((c) and (d)) wastewater phytoremediation

- **Trace elements:** Manganese (Mn), silicon (Si) and aluminum (Al) are the trace elements evaluated. **Figure 6** presents the trace element contents of *P stratiotes* and *E. crassipes* that were sampled in Burundi and Côte d'Ivoire before and after using them in phytoremediation. An analysis of **Figure 6** shows the absence of magnesium (Mg) and silicon (Si) in the roots of water hyacinth before wastewater phytoremediation, regardless of the country in which the plant was harvested. However, these elements were present in the stems of this plant at the beginning of the phytoremediation trials. After phytoremediation, a significant concentration of these elements in the roots of this plant was observed. This could be explained by the fact that this plant is often used for the elimination of metals [29]. For water lettuce where the whole plant was used; the presence of trace elements is noted at the beginning and at the end of the trials. The same is true for the stems of water hyacinth. This could be explained by saying that these trace elements concentrate in the aerial parts of the plant before their use cycle in phytoremediation.

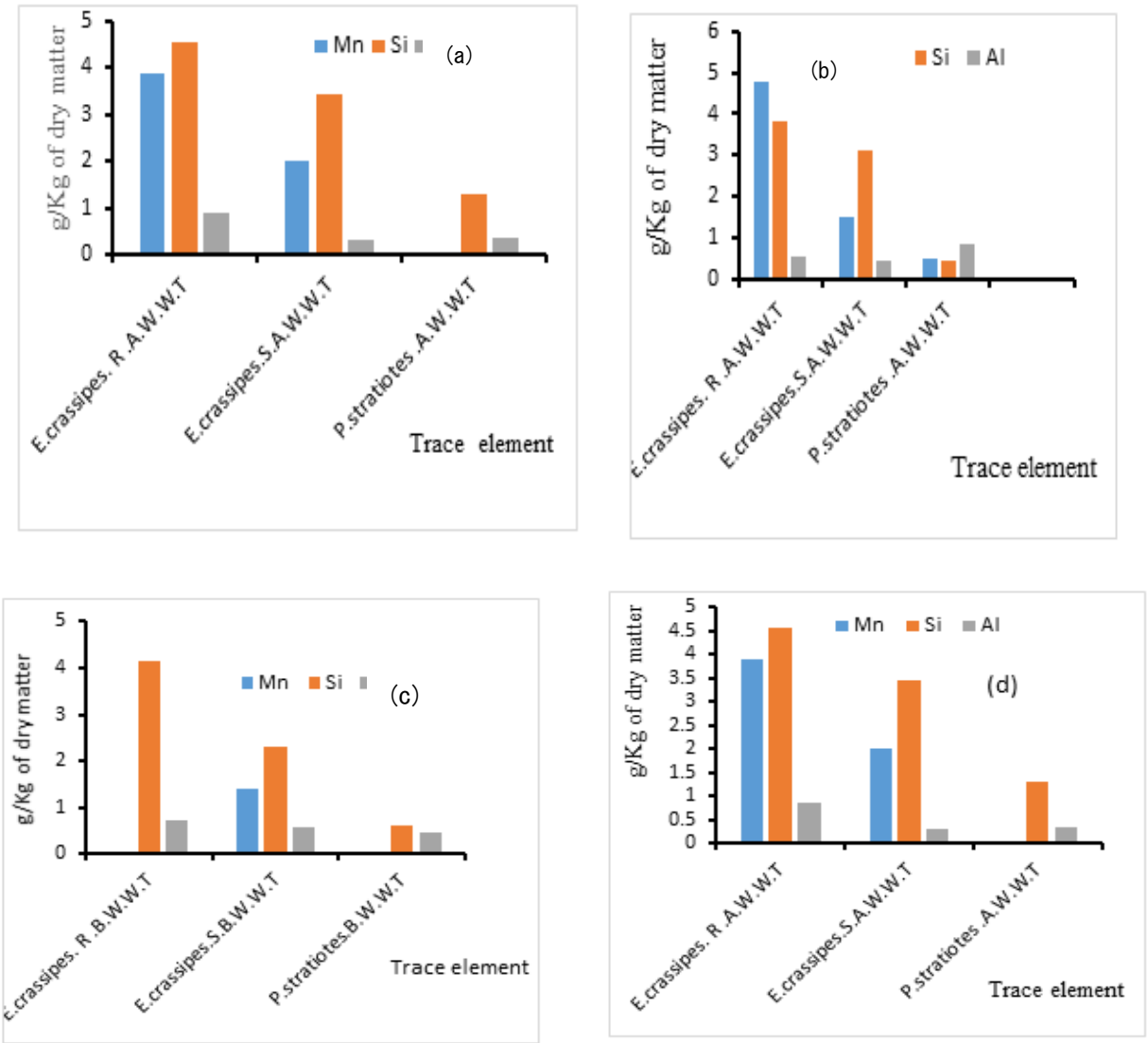


Figure 6: Trace element composition of *E. crassipes* and *P. stratiotes* from Burundi before and after ((a) and (b)) and Côte d'Ivoire before and after ((c) and (d)) wastewater phytoremediation

3.2 Secondary metabolites

3.2.1 Identification of secondary metabolites: Table 2 presents the results of the identification of secondary metabolites of *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes* from Burundi and Côte d'Ivoire by phytochemical screening.

Table 2: Identification of secondary metabolites present in macrophytes.

		Côte d'Ivoire		Burundi	
		Eichhornia crassipes	***Pistia stratiotes***	***Eichhornia crassipes***	***Pistia stratiotes***
Sterols and terpenes		-	-	-	-
Polyphenols		+	+	+	+
Flavonoids	**Anthocyanins**	+	+	±	+
	Free flavonoids	±	+	±	+
	Leucoanthocyanins	+	±	±	+
	Catechic	+	±	±	±
Tannins	**Gallic**	+	±	±	+
Alcaloids		-	-	-	-

- : absent ; + : present ; ± : present as traces

The phytochemical screening of *Eichhornia crassipes* and *Pistia stratiotes* collected in Burundi and Côte d'Ivoire indicates the presence of chemical compounds such as polyphenols, flavonoids (flavonoid fibers, leucoanthocyanins) and catechic and gall tannins. We notice the absence in both countries of sterols, terpenes and alkaloids. These results corroborate with those found by [6]**.**

3.2.2. Quantification of secondary metabolites: The results obtained during the quantitative analysis (**Figure 7)** come to confirm the observations made during the phytochemical screening process (**Table 2**). For the three families of secondary metabolites studied, we note that the macrophytes collected in Burundi are richer than those collected in Côte d'Ivoire. This could be explained by the environmental conditions (temperature, precipitation) as well as the state of the aquatic environment in which the macrophytes were collected. It should be noted that for both plants, phytoremediation contributes to a general decrease in secondary metabolite content. This could be explained by the fact that the latter were used to control aggressors and / or to eliminate microphytes (algae) that compete with macrophytes during phytoremediation[1]. Quantitative analysis (**Figure 7**) revealed a high concentration of total flavonoids compared to tannins and polyphenols, regardless of the plant used (*Eichhornia crassipes or Pistia stratiotes*) or the country in which it was harvested. These results are in agreement with those reported by Muhanon et al. [6].

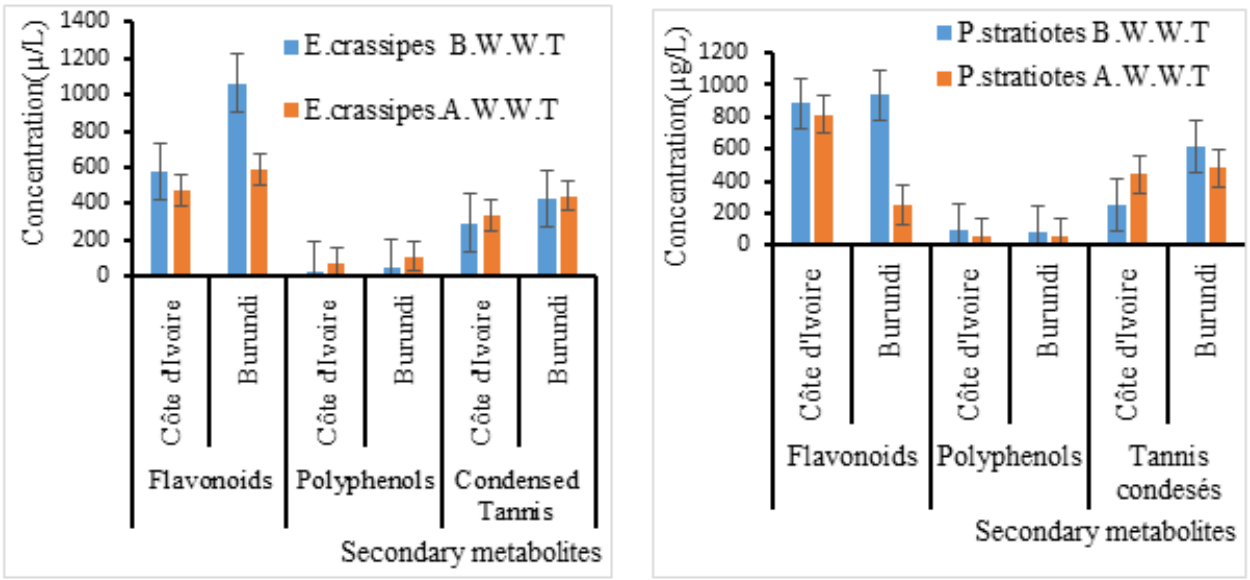


Figure 7: Comparison of the composition of macrophytes in secondary metabolites in Côte d'Ivoire and Burundi

CONCLUSION

The elemental analysis allowed the identification of macroelements, microelements and trace elements contained in macrophytes before and after their use in wastewater treatment. The elemental composition of macrophytes varies from country to country. The phytochemical screening revealed the secondary metabolites contained in *E. crassipes* and *P. stratiotes*. The absence of sterols, terpenoids and alkaloids in the plants harvested in Côte d'Ivoire and Burundi was noted. The absence of metabolites suggests that they are not used by the plants to fight against the aggressors during the phytoremediation of the studied pollutants. The metabolites found in these plants are in large quantities in the form of flavonoids and tannins. Total polyphenols are present but in small quantities. This could lead us to think that these phenolic compounds are used by plants to fight against aggressors and/or inhibit the growth of microphytes.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the Embassy of France in Burundi via Campus France for granting a scholarship to Pierre Ntakiyiruta to carry out his doctoral thesis work.

DISCLOSURE STATEMENT

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

REFERENCES

1. Z.Ismail, S.Z.Othman, K.H.Law, A.H.Sulaiman, R. Hashim, Comparative Performance of Water Hyacinth (Eichhornia crassipes) and Water Lettuce (Pista stratiotes) in Preventing Nutrients Build-up in Municipal Wastewater. CLEAN – Soil, Air, Water [Internet] 2015 [cited 2020 Jan 23]; 43(4):521–31.
2. Z.Ismail, S.Z.Othman, K.H.Law, A.H.Sulaiman, R. Hashim, Comparative Performance of Water Hyacinth (Eichhornia crassipes) and Water Lettuce (Pista stratiotes) in Preventing Nutrients Build-up in Municipal Wastewater. CLEAN – Soil, Air, Water [Internet] 2015 [cited 2020 Jun 26]; 43(4):521–31.
3. P. Gupta, S. Roy, A. Mahindrakar, Treatment of Water Using Water Hyacinth, Water Lettuce and Vetiver Grass - A Review. Resources and Environment 2012; 2:202–15.
4. P. Ntakiyiruta B.G.H. Briton, G. Nsavyimana K.Adouby, D. Nahimana G. Ntakimazi, et al. Optimization of the phytoremediation conditions of wastewater in post-treatment by Eichhornia crassipes and Pistia stratiotes: kinetic model for pollutants removal. Environmental Technology [Internet] 2020 [cited 2020 Nov 17]; 41(28):1–26.
5. P. Ntakiyiruta, G. Nsavyimana , B.G.H.Briton, A. Kopoin, D. Nahimana, G. Ntakimazi , Actions combinées de Eichhornia crassipes et Pistia stratiotes pour traitement tertiaire de l'effluent des bassins facultatifs de la station d'épuration de Buterere, Burundi. Interanational jouranal of Biological and Chemical Sciences 2020; 14(7):2463–75.
6. Mahunon Ser, M.P.Aina , E.K.Kouassi, C.P.Agbangnan-Dossa, B.K.Yao, K. Adouby, Study of the variation in the chemical composition of Eichhornia crassipes exposed to external aggressions - Recherche Google. International Journal of Green and Herbal Chemistry [Internet] 2017 [cited 2021 Mar 18]; 6(3):81–91.
7. S. Krief , Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan troglodytes schweinfurthii) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Sciences du Vivant [q-bio], Museum national d'histoire naturelle -MNHN PARIS, 2003; 348.
8. B. Abderrahmane, B. Mustapha, Etude théorique des métabolites secondaires des végétaux et des composés de synthèse sur le plan de l'activité biologique [Internet]. 2007 [cited 2020 Apr 22];Available from:
9. L. Lagunez Rivera, Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. 2006;
10. Mahunon Ser. Mécanismes d'élimination des polluants organiques et métalliques dans les processus de traitement des eaux usées par le lagunage à macrophytes flottants. 2017;
11. N. Mireille , F. Lecompte, B. Collange , M. Tchamitchian , Systèmes de culture et qualité de la laitue. Comment repenser les systèmes de culture pour réduire l'usage de pesticides et les risques de résidus ? Innovations Agronomiques 2010;9:67–84.
12. L.R.Kumar, S.K.Yellapu, X. Zhang, R.D.Tyagi, Energy balance for biodiesel production processes using microbial oil and scum. Bioresource Technology [Internet] 2019 [cited 2020 May 8]; 272:379–88.
13. R.Pantawong, A.Chuanchai, P. Thipbunrat, Y. Unpaprom, R.Ramaraj, Experimental

Investigation of Biogas Production from Water Lettuce, Pistia stratiotes L. Emergent Life Sciences Research 2015;1:41–6.

14. O.Almoustapha, J. Millogo-Rasolodimby, Production de biogaz et de compost à partir de eichhornia crassipes, (mart) solms-laub (pontederiaceae) pour un développement durable en Afrique sahélienne. VertigO - la revue électronique en sciences de l'environnement [Internet] 2006 [cited 2020 May 5];(Volume 7 Numéro 2).
15. S.E.R.Mahunon, M.P. Aina, A.V.O.Akowanou, E.K.Kouassi, B.K.Yao, K. Adouby, et al. Optimization process of organic matter removal from wastewater by using Eichhornia crassipes. Environ Sci Pollut Res [Internet] 2018 [cited 2021 Mar 2];25(29):29219–26.
16. J.B.Saint-Lager, Étude de l'influence chimique exercée par le sol sur les plantes. Publications de la Société Linnéenne de Lyon [Internet] 1876 [cited 2021 Mar 20];4(1):50–84.
17. D. Guillaume, Z. Charrouf, Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (Argania spinosa). Cahiers Agricultures 2005;14(6):509–16.
18. Jean B. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e ed.). Lavoisier; 2009.
19. D. Marinova, F. Ribarova, M. Atanassova, Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. 2005;6.
20. Y. Nyamien , F. Adjé , F. Niamké, E. Koffi , O. Chatigre , A. Adima, et al. Effect of Solvents and Solid-Liquid Ratio on Caffeine Extraction from Côte d'Ivoire Kola Nuts (Cola nitida). 2013;4(1):5.
21. R.Algerieene, D. Et , U. Ziane, A.D.E.Djelfa , F. Des, S. Et, et al. Screening phytochimique de quelques plantes steppiques Artemisia Campestris et Teucrium Polium de la région de El Hamel wilaya de M ' Sila. 2016;
22. V.L.Singleton, J.A. Rossi, Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. Am J Enol Vitic 1965;16(3):144–58.
23. Y.Nyamien, F. Adje, F. Niamké, O. Chatigre, A. Adima, G.H.Biego, Caffeine and Phenolic Compounds in Cola nitida (Vent .) Schott and Endl and Garcinia kola Heckel Grown in Côte d ' Ivoire. 2014;4(35):4846–59.
24. D. Marinova, F. Ribarova, M. Atanassova, Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables. Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy 2005;40(3):255–60.
25. A.H.Facult, Screening phytochimique et identification spectroscopique des flavonoïdes d ' Asteriscusgraveolenssubsp . odorus. 2014;(January).
26. K. Mythili, C.U. Reddy, D. Chamundeeswari, P.K.Manna, Determination of Total Phenol, Alkaloid, Flavonoid and Tannin in Different Extracts of Calanthe Triplicata. Research & Reviews: Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2014;2(2):40–4.
27. H. Gonzalo, F. F.Pilar, G. Javier, R.M.Angel, P. Del, Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. Animal Feed Science and Technology [Internet] 2003 [cited 2021 Jan 29];109(1–4):65–78.
28. P. Raven, R. Evert, S. Eichhorn, and Bouharmont J. Biologie végétale. 2e édition. Bruxelles: De Boeck; 2015.
29. S. Rezania, M. Ponraj, A. Talaiekhozani, S.E.Mohamad , M.F.Md Din, S.M.Taib, et al.

Perspectives of phytoremediation using water hyacinth for removal of heavy metals, organic and inorganic pollutants in wastewater. J Environ Manage 2015; 163:125–33.

30. S.Rezania, M. Ponraj, A.Talaiekhozani, S.E.Mohamad M.F.Md Din, S.M.Taib, et al. Perspectives of phytoremediation using water hyacinth for removal of heavy metals, organic and inorganic pollutants in wastewater. Journal of Environmental Management [Internet] 2015 [cited 2020 Feb 1]; 163:125–33.

***Corresponding Author: Pierre Ntakiyiruta[1,2],**

[1]Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny (Côte d'Ivoire), BP 1313 Yamoussoukro

[2] Centre de Recherche en Sciences Naturelles et de l'Environnement (CRSNE), Université de Burundi, BP 1550 Bujumbura, Burundi

pierre.ntakiyiruta@ub.edu.bi

Online publication Date: 10.09.2021