

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union –Discipline – Travail

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE  
FELIX HOUPHOUËT-BOIGNY DE YAMOOUSSOUKRO



ECOLE DOCTORALE  
POLYTECHNIQUE

N° 042/2019

## THÈSE UNIQUE DE DOCTORAT

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE FELIX HOUPHOUËT-BOIGNY

Mention : Chimie

Spécialité : Chimie physique-Génie des Procédés Industriels

Thème :

**Optimisation de l'élimination de la pollution organique et  
métallique des eaux usées par lagunage à *Eichhornia crassipes***

Présenté et soutenu publiquement le 28 Août 2019 par

**MAHUNON Sèmandémi Edwige Reine**

**JURY**

M. ADOUBY Kopoin	Professeur, INP – HB Yamoussoukro	<b>Président</b>
M. TROKOUREY Albert	Professeur, Université Félix Houphouet Boigny	<b>Rapporteur</b>
M. YAPO Ossey Bernard	Professeur, Univ Nangui Abrogoua	<b>Rapporteur</b>
M. DROGUI Allali Patrick	Professeur, INRS Canada	<b>Examineur</b>
M. TYAGI Rajeshwar Dayal	Professeur, INRS Canada	<b>Examineur</b>
M. YAO Kouassi Benjamin	Professeur, INP – HB Yamoussoukro	<b>Directeur de thèse</b>
M. AINA Martin Pépin	Professeur, Université d'Abomey-Calavi	<b>Co-Directeur de thèse</b>

**Année Académique : 2016-2017**

# **DEDICACE**

A

Ma fille **LOKOSSOU Gbêkponmi Thérèse Conceptia**

et

Mes grands-parents

## **REMERCIEMENTS**

La fin d'une chose vaut mieux que son commencement dit-on. En écrivant ces quelques lignes, je ne peux m'empêcher d'essayer mes larmes et remercier d'abord du plus profond de mon cœur le Dieu Tout Puissant, créateur de l'univers, pour ses dons de patience, de courage, de persévérance et la tempérance qu'il m'a accordés tout au long de la réalisation de cette thèse. S'il y a une chose merveilleuse qui m'est arrivée durant ces années de thèse, c'est Ta présence, qui m'a permis d'avoir les ressources nécessaires pour arriver au bout de cette épreuve qui m'a tant secouée, quand j'ignorais encore Ta grâce pour moi. Je n'ai pas de mots pour Te rendre grâce pour la confiance que Tu m'as désormais permis de cultiver en Ta personne en moi.

Beaucoup de personnes morales ou physiques ont contribué à la réalisation de ce travail. Je ne saurais citer tous les noms, mais qu'ils sachent que je leur serai toujours reconnaissante.

Je remercie l'Agence Universitaire de la Francophonie et l'Institut National Félix Houphouët Boigny, qui m'ont donné les moyens de réaliser mon rêve de préparer une thèse de doctorat.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN) de l'Institut Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INPHB) de Yamoussoukro et le Laboratoire des Sciences et Techniques (LSTE) de l'Université d'Abomey-Calavi au Bénin. Je tiens à remercier les directeurs et le personnel scientifique de ces laboratoires qui m'ont soutenu pour mener à terme mes travaux.

Je remercie le Professeur Kouassi Benjamin YAO, Directeur du Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN) de INPHB, Directeur de l'Ecole Doctorale Polytechnique de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny à Yamoussoukro et Directeur de cette thèse. Il a, par ses conseils et sa disponibilité, contribué efficacement à ma formation de future chercheuse. Je suis notamment très sensible à sa précieuse aide, son écoute permanente et à l'honneur qu'il m'a fait en accordant un intérêt particulier au travail que j'ai entrepris.

A Martin Pépin AINA, Co-Directeur de cette thèse, Directeur du laboratoire des Sciences et Techniques de l'Eau de l'Institut National de l'Eau / Université d'Abomey-Calavi (LSTE de l'INE / UAC), Directeur Général de l'Environnement et du Climat (DGEC) au Bénin, j'adresse mes remerciements les plus sincères, pour la confiance et la patience qu'il m'a témoignées

toutes ces années durant. Sa rigueur scientifique, ses orientations, la justesse de ses points de vue, sa disponibilité et ses remarques pertinentes m'ont été très utiles et bénéfiques dans la réalisation de cette thèse.

Je remercie le président et les membres du jury qui, malgré leurs multiples occupations, ont accepté de juger ce document pour contribuer à son amélioration du moment où, aucune œuvre humaine n'est parfaite.

Mes vifs remerciements vont à l'endroit du professeur Kopoin ADOUBY, Directeur de l'Unité de Recherche « Groupe des Procédés de l'Environnement » du Laboratoire des Procédés Industriels de Synthèse, de l'Environnement et des Energies Nouvelles de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny à Yamoussoukro (GPE/LAPISEN/INPHB). Il n'a ménagé aucun effort pour contribuer à l'optimisation de ces travaux à travers ses critiques, ses orientations et surtout de m'avoir pris comme sa fille.

A chaque étape de cette thèse, j'ai eu des encadrants de proximité que je voudrais nommer à savoir le Docteur Edmond Konan KOUASSI pour la phase expérimentale, Mademoiselle Nadine Maryse KPONDJO pour la phase rédactionnelle et aux docteurs Clément D. AKMEL, Noglobou et Belfrid Métogbé DJIHOUESSI pour le traitement statistique. Recevez ici ma reconnaissance à travers ces quelques mots de remerciements.

Je remercie les professeurs Emmanuel ASSIDJO, Augustin ADIMA, Sorho SIAKA et Yaya SORO pour leur disponibilité et la gentillesse dont ils ont fait preuve tout au long de nos travaux.

Je remercie mes chers Docteurs Henry BRITON, Didier FANOU, Soumahoro GUEU, Doudjo SORO, YOBOUET, Clément D. AKMEL, Verdié ABOUO et Arsène L. I. NOUGBOU, qui ont toujours répondu favorablement lorsque j'avais besoin d'eux.

J'adresse mes remerciements à ma très chère grande sœur Docteur Marielle AGBAHOUNGBATA pour ses conseils, ses soutiens de tout genre et surtout sa disponibilité pour toutes les fois où j'ai eu besoin d'elle.

J'exprime ma profonde gratitude à mes collègues doctorants de l'Ecole Doctorale Polytechnique de l'INPHB pour les moments forts passés ensemble. Je vais m'exercer à en citer que quelques-uns : Mme Sylvie Affoué KONAN-LOUKOU, Rodrigue ADJOUMANI, Stéphane Alain ASSEMIAN, Esaïe APPIAH, Toussaint Yo GNANHORE, Abiba Monty

CAMARA-COULIBALY que j'appelle affectueusement maman, Antoinette YOBOUE, Jean-Claude YAO.

Mes remerciements vont à l'endroit de certains professeurs tels que : le Professeur Emérite Dominique Koko Codjo SOHOUNHLOUE, le feu Professeur Coffi Eni AZANDEGBE, les Professeurs Taoffic AMINOU, Georges ACCROMBESSI, Jean-Baptiste MENSAH, Joachim GBENOU, Daouda MAMA, Valentin WOTTO, notre modèle scientifique le Professeur Eléonore LADEKAN-YAYI et le Docteur Cokou Pascal AGBANGNAN-DOSSA

J'adresse mes remerciements à tout le plateau technique du Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Eau de l'Institut National de l'Eau de l'Université d'Abomey-Calavi (LSTE / INE / UAC) auquel j'appartiens. Mes remerciements vont à l'endroit de certaines personnes de ce laboratoire que j'aimerais nommer : le Professeur François de Paule CODO, les docteurs Peace HOUNKPE-WENDEOU, Justine H. E. DEGUENON et Onésime A. V. AKOWANOU, et les doctorants Flora ADJAHATODE-AGBOMENOU, Mohamed M. DAOUDA, Berny's ZOUNMENOU-PEDANOU, Nadia N. B. AZON, Jeanne IDOHOU-YABI, Lebland YEBOU DODO. Merci à tout un chacun de vous pour vos différents conseils et soutien moraux.

J'exprime ma profonde gratitude au Docteur Mouhamadou Nourou Dine LIADY pour le temps consacré à la correction du présent document.

Je remercie mes aînés Docteurs Diane BOTTON, Reine Sophie BOSSOU-AGBIDINOUKOUN, Bienvenu GLINMA, Amoussatou SAKIRIGUI, Nonviho GUEVARRA, Pélagie YETE-KPODO, Alda YEMADJE et Christian Tétéde KONFO pour leurs conseils.

Je remercie tous les stagiaires qui m'ont aidé lors des travaux d'expérimentation.

Je remercie mes parents Gbénou MAHOUNON et Pierrette HOUNDALO-MAHOUNON pour tous leurs sacrifices et pour qui le bienfait est un crédo. Merci à vous pour l'éducation, qui m'a beaucoup aidée.

Je remercie mes sœurs et frères Francine MAHOUNON-SOUALI (et son mari Marius), Chantal, Gildas, Vivien, Emma et Fructueux de m'avoir supporté tout au long de ces années durant d'être toujours là, à mes côtés dans mes moments les plus difficiles et heureux.

Je remercie le couple KPODO d'être toujours là, à mes côtés quand j'ai besoin de lui. Leurs conseils m'ont été d'une utilité inestimable.

Je ne saurais terminer sans adresser mes remerciements à Briand Rolland Noukpo LOKOSSOU pour m'avoir soutenue, conseillée, encouragée et aimée.

## RESUME

De nos jours, l'environnement regorge des polluants organiques et métalliques de plus en plus au niveau des eaux usées domestiques et résiduaires traduisant une menace sérieuse due à leur toxicité sur les êtres humains et la faune. Cette thèse porte sur l'optimisation de l'élimination des polluants organiques et métalliques des eaux usées par le lagunage à macrophytes flottants, notamment la jacinthe d'eau (*Eichhornia crassipes*. Mart Solms Laubauch). Différents axes ont ainsi été abordés pour répondre à cet objectif général : (1) étudier à partir d'un plan factoriel complet l'influence de certains paramètres de performance tels que le temps de séjour, la densité de plante et la charge initiale en demande chimique en oxygène (DCO) sur la phytoépuration utilisant *Eichhornia crassipes*; (2) étudier la contribution à l'absorption métallique par *Eichhornia crassipes* et (3) vérifier l'effet de la matière organique biodégradable sur les métabolites secondaires biologiques de la plante étudiée.

Les travaux de laboratoire en mode batch nous ont permis de mettre en exergue l'influence du temps de séjour ( $X_1$ ), de la densité de plante ( $X_2$ ) et de la charge initiale en demande chimique en oxygène DCO ( $X_3$ ) sur la phytoépuration utilisant *Eichhornia crassipes*.

Les résultats obtenus nous ont permis de constater que le temps de séjour et la charge initiale organique en DCO ont une grande influence sur l'élimination de la DCO, de l'ammonium et des orthophosphates. Les caractéristiques des deux bassins à mettre en série sont respectivement de 15 jours en temps de séjour, de 60 Pieds/m<sup>2</sup> en densité de la plante et de 944 mgO<sub>2</sub>/L en charge organique initiale en DCO et de 15 jours en temps de séjour avec une densité de plante de 60 Pieds /m<sup>2</sup>.

La contribution de *E. crassipes* face au cuivre et au cadmium à quatre différentes concentrations (2, 5, 10 et 15 mg/L) en présence de la matière organique biodégradable a été également étudiée à l'échelle pilote. Les résultats montrent une absorption globale de métal par la plante au niveau de la racine (1009,17 ; 1523,07 ; 3209,95 et 5865,83 mg/kg en solution monométallique et 286,55 ; 937,90 ; 2206,39 et 3554,44 mg/kg) quelle que soit la nature de la solution significativement plus élevée que celle de la partie aérienne (58,27 ; 77,01 ; 212,10 et 250,41 mg/kg pour la solution monométallique et de 10,90 ; 47,79 ; 351,57 ; 561,55 mg/kg pour celle bimétallique) qui est fonction de la concentration métallique (2, 5, 10 et 15 mg/L) pour le cuivre. Le même constat est fait au niveau du cadmium (580,45 ; 1527,05 ; 2393,29 et 2628,93 mg / kg en solution monométallique et de 389,02 ; 881,02 ; 1711,96 et 3412,64 mg / kg en solution bimétallique au niveau de la racine 29,10 ; 46,29 ; 165,82 et 224,97 mg / kg pour la solution monométallique et de

15,18 ; 104,01 ; 466,07 et 918,53 mg / kg pour la solution bimétallique et ceci au niveau de la partie aérienne).

La présence des grandes familles chimiques telles que les polyphénols, les flavonoïdes libres, les leucoanthocyanes, les terpènes et stéroïdes et les tanins catéchiques a été identifiée selon les procédures standards sur la matière sèche de *Eichhornia crassipes* (EC) collectée dans des biotopes différents au niveau de deux pays où se sont déroulés les travaux.

**Mots clés :** Phytoépuration ; *Eichhornia crassipes* ; plan factoriel complet et métabolites secondaires.

## ABSTRACT

Nowadays, the environment is bursting with organic and metal pollutants more and more at the level of domestic sewage and wastewater translates a serious threat due to their toxicity on humans and fauna. This thesis deals with the optimization of the elimination of organic and metallic pollutants from wastewater by floating macrophyte lagooning, notably water hyacinth (*Eichhornia crassipes*, Mart Solms Laubauch). Various axes were thus approached to meet this general objective: (1) to study from a complete factorial design the influence of certain performance parameters such as: the residence time, the plant density and the initial load in chemical oxygen demand (COD) on phytopurification using *Eichhornia crassipes*; (2) to study the contribution to metallic uptake by *Eichhornia crassipes* and (3) to verify the effect of biodegradable organic matter on secondary biological metabolites of *Eichhornia crassipes*. The laboratory work in batch mode allowed us to highlight the influence of the residence time ( $X_1$ ), the plant density ( $X_2$ ) and the initial charge in chemical oxygen demand COD ( $X_3$ ) on phytopurification using *Eichhornia crassipes*. The results obtained have shown that the residence time and the initial organic load in COD have a great influence on the removal of COD, ammonium and orthophosphates. The characteristics of the two basins to be put in series are respectively 15 days in residence time, 60 feet / m<sup>2</sup> in density of the plant and 944 mgO<sub>2</sub> / L in initial organic load in COD and 15 days in residence time with a plant density of 60 Feet /m<sup>2</sup>. The contribution of *E. crassipes* to copper and cadmium at four different concentrations (2, 5, 10 and 15 mg / L) in the presence of biodegradable organic matter was also studied on a pilot scale. The results show an overall metal uptake by the plant at the root level (1009.17, 1523.07, 3209.95 and 5865.83 mg / kg in monometallic solution and 286.55, 937.90, 2206.39) and 3554.44 mg / kg) regardless of the nature of the solution significantly higher than that of the aerial part (58.27, 77.01, 212.10 and 250.41 mg / kg for the monometallic solution and of: 10.90, 47.79, 351.57, 561.55 mg / kg for bimetallic) which is a function of the metal concentration (2, 5, 10 and 15 mg / L) for copper. The same is true for cadmium (580.45, 1527.05, 2393.29 and 2628.93 mg / kg in monometallic solution) and 389.02, 881.02, 1711.96 and 3412.64 mg / kg. kg in bimetallic solution at the root level, 29.10, 46.29, 165.82 and 224.97 mg / kg for the monometallic solution and: 15.18, 104.01, 466.07 and 918.53 mg / kg for the bimetallic solution and this at the level of the aerial part). The presence of large chemical families such as: polyphenols, free flavonoids,

leucoanthocyanins, terpenes and steroids and catechin tannins was identified according to standard procedures on the dry matter of *Eichhornia crassipes* (EC) collected in different biotopes at the same time. level of two countries where the work took place.

**Key words:** Phytoepuration; *Eichhornia crassipes*; complete factorial plan and secondary metabolites

# TABLE DES MATIERES

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
RESUME.....	vi
ABSTRACT.....	vii
TABLE DES MATIERES.....	ix
LISTE DES TABLEAUX.....	xv
LISTE DES FIGURES.....	xvi
ACRONYMES ET ABREVIATIONS.....	xx
INTRODUCTION GENERALE.....	1
PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	6
CHAPITRE I : PHYTOEPURATION DES EAUX USEES.....	7
I.    Lagunage à microphytes ou lagunage naturel.....	7
I.1.    Bassins anaérobies.....	9
I.2.    Bassins aérobies.....	9
I.3.    Bassins facultatifs.....	10
II.    Lagunage à macrophytes.....	10
II.1.    Lagunage à macrophytes fixés.....	11
II.1.1.    Filtres Horizontaux à Flux Surfaccique (FHS).....	11
II.1.2.    Filtres Horizontaux à Flux Sous Surfaccique (FHSS).....	12
II.1.3.    Filtres à Flux Vertical (FFV).....	13
II.2.    Lagunage à macrophytes à support libre.....	14
II.2.1.    Décanteur-digesteur ou bassin anaérobie.....	14
II.2.2.    Lagunage à macrophytes flottants.....	14
II.3.    Rôle des éléments entrant dans le traitement par lagunage à macrophytes flottants.....	15
II.3.1.    Rôle des macrophytes.....	15
II.3.2.    Rôle des microorganismes.....	17
II.4.    Avantages et inconvenients des systèmes de lagunage.....	18
II.4.1    Avantages.....	18
II.4.2    Inconvenients.....	19
III.    Jacinthe d'eau : macrophytes flottants fréquemment utilisés dans la phytoépuration.....	20

III.1.	Caractéristique de la jacinthe d'eau.....	20
III.2.	Différentes utilisations de la jacinthe d'eau dans le traitement des eaux usées .....	21
IV.	Etude des éléments traces métalliques.....	24
IV.1.	Origine et sources des éléments traces métalliques (ETM) dans les eaux usées .....	25
IV.2.	Effets généraux des métaux sur les végétaux .....	26
IV.2.1.	Notions d'éléments essentiels et éléments contaminants .....	26
IV.2.2.	Phytotoxicité et teneurs admissibles.....	26
IV.3.	Mécanismes d'absorption des ETM par les plantes .....	27
IV.3.1.	Phytoextraction.....	28
IV.3.2.	Phytovolatilisation .....	30
IV.3.3.	Rhizofiltration ou phytostabilisation .....	31
IV.4.	Influence des différents paramètres sur la mobilité des métaux.....	32
IV.4.1.	Influence du pH .....	32
IV.4.2.	Influence du potentiel rédox .....	33
IV.4.3.	Influence de la quantité de ligands disponibles .....	34
V.	Etude des différents métaux considérés dans la présente étude .....	34
V.1.	Cadmium .....	34
V.1.1.	Cadmium dans l'environnement .....	34
V.1.2.	Bioaccumulation et effets du cadmium sur l'Homme .....	35
V.1.3.	Effets du cadmium sur l'environnement.....	35
V.1.4.	Effets du cadmium sur les plantes .....	36
V.2.	Cuivre .....	36
V.2.1.	Cuivre dans l'environnement.....	36
V.2.2.	Rôle du cuivre dans la plante .....	37
V.2.3.	Phytotoxicité du cuivre apporté sur les feuilles .....	37
CHAPITRE II. METABOLITES SECONDAIRES DES VEGETAUX.....		39
I.	Métabolites primaires .....	39
II.	Métabolites secondaires.....	39
II.1.	Terpénoïdes .....	40
II.1.1.	Définition .....	40
II.1.2.	Classification .....	40
II.2.	Alcaloïdes .....	41

II.2.1. Définition .....	41
II.2.2. Classification des alcaloïdes .....	41
II.3. Composés phénoliques .....	41
II.3.1. Tannins.....	43
II.3.1.1. Tannins hydrolysables.....	44
II.3.1.2. Tannins condensés .....	44
II.3.2. Flavonoïdes .....	45
II.3.2.1. Structure chimique et classification .....	46
II.3.2.2. Localisation et distribution des flavonoïdes.....	47
II.3.2.3. Quelques propriétés des flavonoïdes.....	47
CHAPITRE III : MODELISATION ET OPTIMISATION PAR LA METHODOLOGIE DE RECHERCHE EXPERIMENTALE.....	48
I. Généralités sur les plans d'expérience .....	48
I.1. Clarifications conceptuelles.....	49
I.1.1. Réponse .....	50
I.1.2. Facteurs.....	50
I.1.3. Domaine expérimental.....	50
I.1.4. Matrice d'expérience .....	51
I.1.5. Plan d'expérimentation.....	51
I.2. Criblage de facteurs .....	51
I.2.1. Etude quantitative de facteurs .....	51
I.2.2. Etude quantitative des réponses.....	51
II. Notion de plan d'expérience.....	52
II.1. Méthodologie des plans d'expérience .....	53
II.2. Etude de quelques plans d'expériences .....	54
II.2.1. Plans de degré 1 : Plan Factoriel Complet .....	54
II.2.2. Plans du second degré : Plans composites .....	56
II.3. Traitement des données et outils d'aide à l'interprétation.....	57
II.3.1. Approche de Lenth.....	58
II.3.2. Approche de Normal Plot et Half Plot .....	58
III. Etat de l'art de quelques modèles cinétiques de croissance des plantes.....	59
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	62
DEUXIEME PARTIE II : MATERIEL ET METHODES.....	75
CHAPITRE I : DESCRIPTION DE L'ESPECE ETUDIE ET EXPERIMENTATIONS .....	76

I.	Description morphologique de l'espèce étudiée : <i>Eichhornia crassipes</i> .....	76
I.1.	Caractères morphologiques .....	76
I.2.	Echantillonnage .....	76
I.2.1.	Choix des métaux lourds étudiés .....	77
I.2.2.	Choix des différentes gammes de concentration métalliques.....	78
I.2.3.	Choix du temps de séjour .....	78
II.	Protocoles d'expérimentations .....	78
II.1.	Expérience 1 : évaluation de l'effet de certains facteurs sur la phytoéuration .....	78
II.2.	Expérience 2 : Démarche expérimentale pour l'étude de l'élimination métallique .....	80
II.3.	Etude de l'effet des polluants organiques sur les métabolites secondaires	81
II.3.1.	Caractérisation des végétaux .....	81
II.3.2.	Préparation des extraits des composés phénoliques.....	82
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES ANALYTIQUES .....		83
I.	Principe de fonctionnement du spectrophotomètre (UV-visible).....	83
II.	Méthodes d'analyse des paramètres évalués .....	83
II.1.	Matières organiques.....	83
II.2.	Matières azotées et phosphorées .....	84
II.3.	Calcul des effets relatifs des facteurs sur les réponses .....	85
III.	Evaluation de l'absorption métallique .....	85
III.1.	Dosage des métaux dans les échantillons d'eau .....	85
III.2.	Dosage métallique dans les échantillons issus de la plante .....	85
IV.	Calculs des facteurs montrant la capacité absorbante des métaux par la plante. ....	87
V.	Screening phyto-chimique .....	88
V.1.	Dosage des composés phénoliques.....	89
V.1.1.	Dosage des polyphénoliques totaux (PPT) .....	89
V.1.2.	Dosage des flavonoïdes totaux (FVT) .....	90
V.1.3.	Dosage des tanins condensés .....	91
VI.	Analyse statistique des données .....	92
VI.1.	Validation des modèles.....	92
VI.2.	Boxplots.....	93
VI.3.	ANOVA.....	93

VI.4. Régression linéaire .....	94
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	96
TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION.....	99
CHAPITRE I : PHYTOEPURATION ET INFLUENCE DE CERTAINS FACTEURS SUR L'UTILISATION DE LA JACINTHE D'EAU .....	100
I. Estimations et statistiques des coefficients .....	100
I.1. Analyse des facteurs .....	101
I.2. Identification des facteurs significatifs sur les réponses et élaboration des modèles .....	102
II. Contribution relative des facteurs sur les réponses .....	103
II.1. Analyse de l'influence des facteurs principaux significatifs sur le taux d'abattement des réponses étudiées .....	104
II.2. Analyse de l'interaction entre le temps de séjour et la charge initiale en DCO .....	105
III. Validation des modèles et optimisation du phénomène .....	107
III.1. Validation statistique des modèles .....	108
IV. Optimisation multi-réponses.....	108
CHAPITRE II : ELIMINATION DE LA CHARGE METALLIQUE PAR <i>EICHHORNIA CRASSIPES</i> 111	
I. Elimination de cations métalliques (Cu <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> ).....	111
I.1. Elimination du cuivre et du cadmium à 2 mg/L .....	111
I.2. Elimination du cuivre et du cadmium à 5 mg/L .....	112
I.3. Elimination du cuivre et du cadmium à 10 mg/L .....	113
I.4. Elimination du cuivre et du cadmium à 15 mg/L .....	114
II. Mise en évidence de l'apport de <i>Eichhornia crassipes</i> dans l'élimination du cuivre et du cadmium .....	115
II.1. Apport au cours du temps de <i>Eichhornia crassipes</i> à l'élimination du cuivre et du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L .....	115
II.2. Maximum de contribution de <i>Eichhornia crassipes</i> à l'élimination du cuivre et du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L .....	117
III. Accumulation métallique par <i>Eichhornia crassipes</i> .....	118
III.1. Facteur de bioaccumulation (FBC), facteur de la translocation (FT) et le taux de croissance relatif (RGR).....	120
III.1.1. Facteur de bioaccumulation du cuivre et du cadmium .....	120
III.1.1. Facteur de translocation du cuivre et du cadmium .....	123
III.1.2. Taux de croissance relatif .....	124

IV. Evolution de la DCO, de $\text{NH}_4^+$ et de $\text{PO}_4^{3-}$ en présence de cuivre et de cadmium au cours du temps .....	125
IV.1. Elimination de la DCO en présence du cuivre et du cadmium.....	125
IV.2. Elimination de $\text{NH}_4^+$ au cours du temps en présence du cuivre et du cadmium par <i>Eichhornia crassipes</i> .....	127
IV.3. Elimination de $\text{PO}_4^{3-}$ en présence du cuivre et du cadmium par <i>Eichhornia crassipes</i> .....	129
V. Modélisation statistique de la contribution de <i>Eichhornia crassipes</i> dans l'élimination des polluants métalliques .....	132
V.1. Cuivre .....	132
V.2. Cadmium .....	132
CHAPITRE III : ETUDE DE L'EFFET DE LA MATIERE ORGANIQUE BIODEGRADABLE SUR LES METABOLITES SECONDAIRES DE <i>EICHHORNIA CRASSIPES</i> .....	135
I. Caractérisation de la jacinthe d'eau.....	135
I.1. Matières minérales.....	135
I.2. Métabolites secondaires.....	137
I.2.1. Criblage des métabolites secondaires .....	137
I.2.2. Quantification des métabolites secondaires des espèces .....	138
II. Influence de l'utilisation de <i>E. crassipes</i> dans l'élimination de la matière organique sur les métabolites secondaires de la plante .....	138
II.1. Analyse quantitative des modifications subies par les métabolites de <i>E. crassipes</i> en présence des polluants organiques .....	138
II.2. Etude statistique des effets sur les métabolites de <i>E. crassipes</i> .....	141
II.2.1. Composés phénoliques.....	141
II.2.2. Flavonoïdes totaux .....	143
II.2.3. Tanins condensés .....	145
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	148
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES .....	152
PRODUCTION SCIENTIFIQUE .....	xxii

**LISTE DES TABLEAUX**

Tableau I : Quelques métaux et leur utilisation (Verloo, 2003).....	25
Tableau II : Mobilités relatives des métaux dans les sols en fonction du pH et du potentiel rédox (Förstner, 1985) .....	33
Tableau III : Récapitulatif des caractéristiques des métabolites secondaires évalués.....	43
Tableau IV : Principe de construction du plan composite (Zran, 2015) .....	57
Tableau V : Classification de <i>Eichhornia crassipes</i> (Classification de Cronquist, 1981) .....	76
Tableau VI : Coordonnées géographiques des différents sites de prélèvement et des expérimentations.....	77
Tableau VII : Domaine expérimental.....	79
Tableau VIII : Matrice d'expérience .....	80
Tableau IX : Plan expérimental.....	80
Tableau X : Méthodes normalisées d'évaluations des macroéléments, des oligoéléments et des éléments toxiques évalués .....	86
Tableau XI : Screening phytochimique.....	88
Tableau XII : Récapitulatif des coefficients moyens, principaux et coefficients d'interaction, statistiquement significatifs à zéro des différents essais. ....	102
Tableau XIII : Qualité descriptive des modèles .....	108
Tableau XIV : Résultats de l'optimisation multicritères.....	109
Tableau XV : Coefficients et probabilité d'estimation des modèles de prédiction des paramètres cuivre, et cadmium .....	133
Tableau XVI : Métabolites secondaires de l'espèce récoltée dans les différents pays .....	137
Tableau XVII : Teneurs en composés phénoliques, en flavonoïdes totaux et tanins totaux de la jacinthe d'eau.....	138
Tableau XVIII : ANOVA à trois facteurs des différentes parties de la plante (DP), des différents traitements et des temps de séjour des traitements avec leurs interactions .....	141

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Processus d'épuration ayant lieu dans un bassin de lagunage naturel (Tchobanoglous et al., 1985, cités dans Liady, 2014).....	8
Figure 2 : Marais surfacique à flux horizontal (Headley, 2011) .....	12
Figure 3 : Marais horizontal à flux sous surfacique FHSS (Gagnon, 2012).....	13
Figure 4 : Marais sous surfacique à flux vertical (Lévesque, 2011).....	13
Figure 5 : Traitement primaire ; fonctionnement du décanteur-digesteur (Vasel, 2004).....	14
Figure 6 : Traitement secondaire : fonctionnement du lagunage à macrophytes (Morel et Kane, 1998).....	15
Figure 7 : Différentes applications de la jacinthe d'eau ( <i>Eichhornia crassipes</i> ) (Réalisée sur la base de Shahabaldin et al., 2014) .....	23
Figure 8 : Processus mis en œuvre par les plantes et contribuant à la phytoépuration (Vila, 2006) .....	28
Figure 9 : Principe de la phytoextraction des éléments traces métalliques (Fiche phytotechnologie québécoise, 2016) .....	29
Figure 10 : Transport des éléments minéraux de la sève brute à la sève élaborée dans le xylème et le phloème (Meyer et al., 2008).....	30
Figure 11 : Principe de la phytovolatilisation des éléments traces métalliques (Fiche phytotechnologie québécoise, 2016) .....	31
Figure 12 : Dispositif de rhizofiltration pour accéder aux contaminants en profondeur à Pointe-Saint Charles (Guidi et al., 2014).....	32
Figure 13 : Différentes réactions se produisant au cours des processus d'oxydo-réduction en milieux humides (Barnaud et Fustec, 2007) .....	33
Figure 14 : Structure de la catéchine, de l'épicatéchine et d'un tannin condensé (proantocyanidol) (Gbohaida, 2013).....	45
Figure 15 : Structure chimique de base des flavonoïdes (Krishna et al., 2001) .....	46
Figure 16 : Schéma de la boîte noire.....	52
Figure 17 : Photo de la jacinthe d'eau ( <i>Eichhornia crassipes</i> ) .....	76
Figure 18 : Les différentes étapes de l'extraction des métabolites secondaires étudiés.....	81
Figure 19 : Photo montrant l'aspect des extraits après filtration.....	82
Figure 20 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux .....	90
Figure 21 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes totaux .....	91

Figure 22 : Courbe d'étalonnage des tanins condensés.....	92
Figure 23 : Distribution des réponses relatives aux taux d'élimination de la DCO, de l'azote ammoniacal et de l'orthophosphate.....	100
Figure 24 : Taux d'abattement représentant les réponses des huit essais .....	101
Figure 25 : Contribution des facteurs et des interactions sur les taux d'abattement en DCO, en $\text{NH}_4^+$ et en $\text{PO}_4^{3-}$ .....	103
Figure 26 : Interaction $\alpha_{13}$ entre le temps de séjour et la charge initiale en DCO sur le taux d'abattement en DCO .....	105
Figure 27 : Interaction $\alpha_{13}$ entre le temps de séjour et la charge initiale en DCO sur le taux d'abattement en $\text{NH}_4^+$ .....	106
Figure 28 : Interaction $\alpha_{13}$ entre le temps de séjour et la charge initiale en DCO sur le taux d'abattement en $\text{PO}_4^{3-}$ .....	106
Figure 29 : Cinétique de cations métalliques ( $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ ) à 2 mg/L :.....	111
Figure 30 : Cinétique de cations métalliques ( $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ ) à 5 mg/L :.....	113
Figure 31 : Cinétique de cations métalliques ( $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ ) à 10 mg/L :.....	113
Figure 32 : Cinétique de cations métalliques ( $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ ) à 15 mg/L :.....	114
Figure 33 : Apport de <i>Eichhornia crassipes</i> à l'élimination en solution monométallique du cuivre et du cadmium et en leur solution bimétallique.....	116
Figure 34 : Contribution de <i>Eichhornia crassipes</i> à l'élimination du cuivre, du cadmium en leur solution mono et bimétallique au 9 ème jour, au 12 ème jour et au 20 ème jour. ....	117
Figure 35 : Taux de Cuivre absorbé par la racine, la partie aérienne et les feuilles dans <i>Eichhornia crassipes</i> à différentes concentrations en solution monométallique du cuivre et en solution bimétallique avec le cadmium .....	118
Figure 36 : Taux de Cadmium absorbé par la racine, la partie aérienne et les feuilles dans <i>Eichhornia crassipes</i> à différentes concentrations en solution monométallique du cadmium et en solution bimétallique avec le cuivre .....	119
Figure 37 : Facteur de bioaccumulation des différentes concentrations en solution monométallique et bimétallique du cuivre au niveau des différentes parties de la plante .....	121
Figure 38 : Facteur de bioaccumulation des différentes concentrations en solution monométallique et bimétallique du cadmium au niveau des différentes parties de la plante .....	121

Figure 39 : Facteur de translocation du cuivre et du cadmium en solution monométallique et bimétallique en fonction des différentes concentrations initiales métalliques ...	123
Figure 40 : Effet du cuivre, du cadmium en solution monométallique et bimétallique sur le taux de croissance relatif à différentes concentration initiale métallique .....	124
Figure 41 : Evolution au cours du temps de la DCO en solution monométallique du cuivre à 2, 5, 10 et 15 mg/L.....	125
Figure 42 : Evolution de la DCO en solution monométallique du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L .....	125
Figure 43 : Evolution de la concentration résiduelle de la DCO en solution bimétallique du cuivre et du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L.....	126
Figure 44 : Evolution de la concentration au cours du temps de l'azote ammoniacale en solution monométallique du cuivre à 2, 5, 10 et 15 mg/L.....	127
Figure 45 : Evolution de la concentration au cours du temps de l'azote ammoniacale en solution monométallique du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L.....	128
Figure 46 : Evolution de la concentration au cours du temps de l'azote ammoniacal en solution bimétallique du cuivre et du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L.....	128
Figure 47 : Evolution de la teneur de l'orthophosphate au cours du temps en solution monométallique du cuivre à 2, 5, 10 et 15 mg/L avec ou sans <i>E. crassipes</i> .....	130
Figure 48 : Evolution de la teneur de l'orthophosphate au cours du temps en solution monométallique du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L avec ou sans <i>E. crassipes</i> .	130
Figure 49 : Evolution de la teneur de l'orthophosphate au cours du temps en solution bimétallique du cuivre et du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L avec ou sans <i>E. crassipes</i> .....	131
Figure 50 : Macroéléments de la jacinthe d'eau .....	135
Figure 51 : Oligoéléments de la jacinthe d'eau.....	136
Figure 52 : Teneur en composés polyphénoliques des différentes parties de la jacinthe d'eau après 5 jours de traitement.....	139
Figure 53 : Teneur en composés polyphénoliques des différentes parties de la jacinthe d'eau après 15 jours de traitement.....	139
Figure 54 : Teneur en composés phénoliques totaux entre le type de traitement et les différentes parties de la plante ; entre la durée du traitement et du type de traitement et entre la durée du traitement et des différentes parties de la plante.....	142
Figure 55 : Test de HSD de Tukey de la teneur en composés phénoliques totaux en fonction des différents types de traitement et de la durée du traitement.....	142

Figure 56 : Teneur en flavonoïdes totaux entre le type de traitement et les différentes parties de la plante ; entre la durée du traitement et du type de traitement et entre la durée du traitement et des différentes parties de la plante. .... 144

Figure 57 : Test HSD de Tukey de la teneur en flavonoïdes totaux en fonction des différents types de traitement et de la durée du traitement. .... 144

Figure 58 : Teneur en tanins condensés entre le type de traitement et les différentes parties de la plante ; entre la durée du traitement et du type de traitement et entre la durée du traitement et des différentes parties de la plante. .... 146

Figure 59 : Comparaison multiple (Test HSD de Tukey) de la teneur en tanins condensés en fonction des différents types de traitement et de la durée du traitement ..... 146

## ACRONYMES ET ABREVIATIONS

<b>ADB</b>	: Acides DésoxyriboNucléiques
<b>AlCl<sub>3</sub></b>	: Trichlorure d'aluminium
<b>ARN</b>	: Acides RiboNucléiques
<b>ATP</b>	: Adénosine TriPhosphate
<b>CO<sub>2</sub></b>	: Dioxyde de Carbone
<b>COD</b>	: Carbone Organique Dissous
<b>COT</b>	: Carbone Organique Total
<b>CTPEA</b>	: Centre Technologique Pratique pour l'Eau Potable et l'Assainissement
<b>DBO</b>	: Demande Biochimique en Oxygène
<b>DCO</b>	: Demande Chimique en Oxygène
<b>DHT</b>	: Dose Hebdomadaire Tolérable
<b>DO</b>	: Demande en Oxygène (Oxygène Dissous)
<b>EPAC</b>	: Ecole Polytechnique d'Abomey-calavi
<b>eH</b>	: Potentiel électrique
<b>ETM</b>	: Eléments Traces Métalliques
<b>EU</b>	: Eau Usée
<b>EUD</b>	: Eaux Usées Domestiques
<b>EIER</b>	: Ecole Inter-Etats d'Ingénieurs de l'Equipement Rural
<b>FBC</b>	: Facteur de BioConcentration
<b>FFV</b>	: Filtres à Flux Vertical
<b>FH</b>	: Filtres à écoulement horizontal
<b>FHS</b>	: Filtres Horizontaux à Flux Surfaccique
<b>FHSS</b>	: Filtres Horizontaux à Flux Sous Surfaccique
<b>FSL</b>	: Filtres à surface libre
<b>FT</b>	: Facteur de Translocation
<b>FV</b>	: Filtres à écoulement vertical
<b>GPS</b>	: Global position system
<b>HAP</b>	: Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
<b>HNO<sub>3</sub></b>	: Acide Nitrique
<b>H-S-H</b>	: Sulfure de dihydrogène
<b>Log</b>	: Logarytmnépérien
<b>LSTE</b>	: Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Eau
<b>MES</b>	: Matière En Suspension
<b>MRE</b>	: Méthodologie de la Recherche Expérimentale
<b>MV</b>	: Matière Volatile
<b>NAD<sup>+</sup></b>	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide
<b>NADP<sup>+</sup></b>	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
<b>NADPH</b>	: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate réduit
<b>NaNO<sub>2</sub></b>	: Nitrite de Sodium
<b>NTK</b>	: Azote Total Kjhédal
<b>N<sub>T</sub></b>	: Azote total
<b>NTK</b>	: Azote Total Kajahyidal
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé
<b>PFC</b>	: Plans Factoriels Complets
<b>PCC</b>	: Plan Central Composite
<b>PSE</b>	: Pseudo Ecart-type
<b>PED</b>	: Pays en Développement
<b>PPT</b>	: Polyphénoliques totaux
<b>P<sub>T</sub></b>	: Phosphore total
<b>RGR</b>	: Taux relatif de croissance
<b>SAA</b>	: Spectrométrie d'Absorption Atomique

**TCE** : TriChloroEthylène  
**TDS** : Sels Totaux Dissous  
**US** : United States  
**USEPA** : US Environmental Protection Agency  
**UTM** : Universal Transvers Mercator  
**UV** : Ultra-violet

# **INTRODUCTION GENERALE**

## **INTRODUCTION GENERALE**

L'eau est une ressource indispensable à tous les aspects de la vie des hommes, des animaux et des plantes. L'Homme a développé au fil de l'histoire, de nombreux usages de l'eau : pour ses besoins quotidiens (usage domestique), pour ses activités économiques (usages agricole et industriel), pour ses loisirs, etc. Chacun de ces usages présente ses propres contraintes en matière de quantité et de qualité des eaux utilisées et rejetées. Par ailleurs, les usages peuvent devenir des sources de pollution et créer d'énormes quantités d'eaux usées de toutes sortes. Lorsque ces eaux usées sont mal gérées, elles constituent une source de pollution des eaux (souterraine et de surface) et de l'environnement, en général. Aujourd'hui, sous l'impulsion des pouvoirs publics, un certain nombre de textes réglementaires et législatifs sur les normes de rejets des eaux usées ont été adoptés, même dans les Pays en Développement (PED). Mais la dimension scientifique et technique qui devrait servir de support pour l'application de ces textes n'est pas définie ou maîtrisée, et on assiste à l'inadéquation et / ou à la non application des textes.

La gestion des eaux usées domestiques pose des problèmes considérables partout dans le monde, surtout en milieu urbain dans les PED (Coulibaly et *al.*, 2008). Dans les PED, les difficultés observées sont aussi bien liées à l'évacuation qu'au traitement proprement dit de ces eaux usées (Koné, 2011). Les grandes villes africaines sont soumises aux phénomènes de l'exode rural qui engendre la pression démographique avec un faible taux d'accès à l'assainissement et une saturation des systèmes de traitement des eaux usées (Coulibaly *et al.*, 2004). Cette situation est une menace pour la santé publique en ce sens que les eaux usées domestiques constituent des vecteurs de maladies diarrhéiques, et des gîtes pour les larves de moustiques comme les anophèles qui transmettent le paludisme (OMS, 2006). D'après Koanda (2006), le faible taux d'assainissement constaté dans les PED pourrait s'expliquer par l'écart de priorité qui existe entre l'approvisionnement en eau potable et l'assainissement. En Afrique de l'Ouest, les conditions socio-économiques, généralement défavorables, rendent difficile la mise en place de système d'assainissement collectif. L'assainissement de type individuel, basé sur le stockage intermédiaire des eaux usées dans les ouvrages tels que : les fosses septiques, les puisards, et les latrines, est le type le plus développé. Les procédés les plus appropriés pour ces pays sont les procédés extensifs qui n'imposent pas de consommation importante d'énergie électrique. Parmi ces procédés extensifs, se trouve le lagunage à macrophytes flottants. Le lagunage est un procédé peu onéreux et rustique à cause de l'utilisation de la biomasse végétale produite (Koné, 2002 ; Koné *et al.*, 2011). Ainsi, il constitue une alternative crédible pour le traitement des eaux usées en zones urbaines de l'Afrique de l'Ouest. Plusieurs travaux en

Afrique et dans le monde ont montré la performance épuratoire du lagunage à macrophytes sur la dégradation de la matière organique (Ouattara *et al.*, 2008 ; Koné *et al.*, 2011 ; Shahabaldin *et al.*, 2014).

Au Bénin, l'expérimentation des hydrophytes dans le traitement des eaux usées a démarré en 2011, avec des bassins à jacinthe d'eau, à laitue d'eau et à 3 lentille d'eau mis en parallèle et ensuite en série sur le Centre Technologique Pratique pour l'Eau Potable et l'Assainissement (CTPEA) de l'Institut National de l'Eau (mais anciennement de l'Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi) (Kpondjo, 2011). Cette étude a révélé en point d'essai test, la sensibilité des macrophytes flottants utilisés à la salinité des eaux usées. Mais pour les essais proprement dits, elle a permis de constater que la jacinthe d'eau élimine les pollutions carbonée et azotée à près de 60%, que la laitue d'eau élimine la pollution azotée minérale, oxydée avec la pollution phosphorée et la lentille d'eau, celle microbiologique. Par la suite, en 2012, d'autres études ont procédé à la combinaison en série des trois espèces utilisées (*Eichhornia crassipes Mart. Solms-Laub*, *Pistia stratiotes L* et *Lemna minor L*) en mode continu avec une étude beaucoup plus approfondie de la salinité. Les auteurs Houngpè, (2014) et Déguénon, (2014) ont expérimenté respectivement l'épuration des eaux usées à base des macrophytes flottants en grandeur nature et émergents (*Echinochloa pyramidalis*, *Panicum maximum* et *Typha domingensis*). Il ressort de leur expérimentation que chacune de ces variantes du lagunage à macrophytes est performante pour le traitement des eaux usées domestiques.

De même, avec le développement du secteur industriel, on assiste à une croissance alarmante de la pollution des eaux par les métaux et d'autres substances toxiques (Oussama, 2011). Parmi les polluants rencontrés, on retrouve principalement les hydrocarbures, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les éléments traces métalliques (ETM). Les ETM les plus répandus, en termes d'occurrence sont le plomb (Pb), le chrome (Cr), le cuivre (Cu) et, dans une moindre mesure, l'arsenic (As), le zinc (Zn), le nickel (Ni), le mercure (Hg) et le cadmium (Cd) (Remon, 2006). Parmi ces éléments, il existe des oligo-éléments ou micronutriments essentiels pour le métabolisme des êtres vivants lorsqu'ils sont en faible concentration ; mais ils deviennent extrêmement toxiques à partir de certaines concentrations élevées et les éléments qui sont toxiques même à faible concentration (Williams *et al.*, 2000 ; Lu *et al.*, 2004). Le plomb (Pb), l'arsenic (As), le mercure (Hg) et le cadmium (Cd) sont considérés avec un très vif intérêt. Toutefois, les études toxicologiques prennent rarement en compte cette information. De même, les effets combinés d'une exposition chronique au cadmium (Cd) et à un stress thermique, du

fait des variabilités climatiques sur le métabolisme mitochondrial de certaines espèces animales et végétales, a révélé une diminution des indices hépatosomatiques et de Fulton. L'exposition engendre également la diminution du pourcentage de protéines hépatiques, l'augmentation de l'activité du pyruvate déshydrogénase et de la respiration mitochondriale. De plus, une synergie au niveau de la mortalité a été évoquée par Fournier (2015) au cours de ses travaux. Ces résultats suggèrent qu'une exposition à une faible dose de Cd est un stress que les poissons peuvent gérer en modulant leur production d'énergie, surtout s'il y a absence d'autres sources de stress. Toutefois, lorsque les concentrations de Cd augmentent et qu'il y a addition d'un stress thermique, les poissons font face à une carence énergétique qui les oblige à utiliser leurs réserves et menace leur survie.

De nombreuses techniques physico-chimiques telles que la précipitation, la coagulation-floculation, la flottation, l'échange ionique et la filtration sur membrane ont été développées pour enlever les métaux des effluents synthétiques (Hafidzatul *et al.*, 2010). Ces différentes techniques de dépollution des métaux sont coûteuses et ne permettent pas d'enlever la totalité de ces métaux de l'eau et les sédiments (Rai *et al.*, 2002). Le développement de techniques complémentaires s'avère donc nécessaire, particulièrement pour le traitement des eaux usées. Ainsi, la phytoremédiation d'écosystèmes naturels ou artificiels (eaux usées) contaminés contenant des cations métalliques devient une alternative plus attrayante et constitue un champ émergent. A ce sujet, les travaux de Virendra *et al.* (2008) et de Ladislav (2011) ont montré que certaines plantes des milieux humides ont la capacité d'accumuler les métaux dans leurs tissus. Parmi les macrophytes hyper accumulateurs des métaux, se trouve *E. crassipes* couramment appelée en français, « la jacinthe d'eau » (Swain *et al.*, 2014). Dans l'optique d'évaluer l'effet des oligo-éléments et des métaux toxiques sur la jacinthe d'eau, le présent travail a porté sur le cuivre et le cadmium.

Bien que de nombreux travaux aient été effectués sur cette plante, en Afrique, très peu d'entre eux se sont intéressés aux conditions optimales permettant de mettre en évidence les phénomènes mis en jeu. Pour répondre à cette préoccupation, cette recherche se propose d'étudier ***l'optimisation de l'élimination des polluants organiques et métalliques dans le processus de traitement des eaux usées par le lagunage à macrophytes flottants***. Elle a pour objectif général d'évaluer les différentes interactions qui se développent lors de la phytoépuration et la réactivité de l'espèce étudiée face aux métaux.

Plus spécifiquement, il a été question au cours de cette étude de :

- évaluer l'effet du temps de séjour, du nombre de plantes et de la charge organique initiale exprimée en DCO (Demande Chimique en Oxygène) sur la performance épuratoire de *E. crassipes* dans l'épuration des eaux usées ;
- étudier la contribution à l'absorption métallique par *Eichhornia crassipes* ;
- vérifier l'effet de la matière organique biodégradable sur les métabolites secondaires de *Eichhornia crassipes*.

Ce manuscrit est structuré en trois parties. La première partie présente une revue de la littérature consacrée aux plans d'expérience, aux généralités sur les systèmes extensifs d'épuration des eaux usées, la phyto-dépollution et de quelques notions relatives aux métabolites des végétaux. La deuxième partie présente le matériel et les méthodes ayant permis la réalisation de ce travail. La troisième partie est consacrée à la présentation des résultats et à leur discussion. Des perspectives, précédées d'une conclusion générale, feront germer de nouvelles visions pour la suite.

# **PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **Pemière Partie : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## CHAPITRE I : PHYTOEPURATION DES EAUX USEES

### Introduction

L'expression phyto-épuration constituée du préfixe grec « phyto » qui signifie « plante » et de la radicale « épuration » est la purification des eaux à l'aide des plantes. La phytoépuration est une opération qui consiste à « purifier » l'eau des éléments polluants (JustoBerthe, 2013). Elle repose sur des processus naturels, d'origine biotique et/ou abiotique, mis en œuvre par les plantes et les microorganismes de la rhizosphère (Guittonny-Philippe, 2014). Ces derniers facilitent l'extraction, la transformation ou le stockage des polluants contenus dans les sols, les sédiments, les eaux souterraines ou de surfaces, les eaux usées et même l'atmosphère (Susarla, 2002). Le lagunage qui est une technique extensive de traitement des eaux usées, comprend également de la phytoépuration qui, consiste en la dégradation de la pollution par l'activité bactérienne, l'activité photosynthétique et l'assimilation des substances minérales ; dans cette application, la phytoépuration s'appuie sur le pouvoir épurateur des végétaux aquatiques qui sont de deux sortes les microphytes et les macrophytes. Ces deux sortes de végétaux qui donnent d'ailleurs leurs noms à deux variantes du lagunage : le lagunage à microphytes et le lagunage à macrophytes. Le lagunage à microphytes utilise les algues et le lagunage à macrophytes utilise les hydrophytes (plantes flottantes) et les héliophytes (plantes du bord des eaux). Le lagunage à macrophytes est appelé lagunage à macrophytes flottants quand il utilise les hydrophytes et avec l'utilisation des héliophytes, il est dénommé lagunage à macrophytes fixés.

Après une première décantation, les eaux usées traversent des bassins de lagunage plantés ou non. Le principe général de fonctionnement des lagunages s'effectue par les plantes et par les micro-organismes fixés sur leurs racines et sur des substrats (graviers, sable...), grâce à l'effet filtrant du sol (Abibsi, 2011). La succession ou la coexistence des conditions aérobies et anaérobies favorise dans certains types de lagunes l'élimination des nutriments (azote et phosphore).

#### I. Lagunage à microphytes ou lagunage naturel

Le lagunage est un procédé naturel d'épuration des eaux usées, réalisé grâce à un équilibre biologique, auquel participent les bactéries, le zooplancton, les algues et aussi certains végétaux [Pietrasanta et Bondon (1994) ; Morel *et al.*, (1998)]. Les bassins utilisés dans les procédés du lagunage sont généralement de différents types et sont fonction de leurs caractéristiques physiques (comme la profondeur). Ils sont dimensionnés de sorte à pouvoir recevoir, contenir

et traiter les eaux usées pendant une période prédéterminée qui varie selon le type de bassin. La figure 1 illustre le diagramme simplifié des principaux processus qui ont lieu dans un bassin de lagunage naturel. Ainsi, l'épuration des eaux usées dans un système de lagunage naturel résulterait d'une combinaison complexe de processus physiques, chimiques et biologiques (CNRC, 2004). La configuration des bassins du système prend en compte le type de sol, le terrain disponible, le climat, l'ensoleillement et le type de traitement recherché. On distingue les bassins anaérobies, les bassins aérobies et les bassins facultatifs.

Ces différents bassins peuvent être seuls ou combinés, en fonction des objectifs à atteindre pour l'eau à épurer (Ouano, 1981). Certains de ces bassins peuvent être placés en série ou en parallèle, ou les deux. En effet, deux bassins de petite dimension peuvent s'avérer être plus efficaces qu'une seule lagune de grande dimension. La disposition des lagunes en série favorise la décantation des boues et peut être nécessaire dans l'atteinte du débit fixé par la norme.

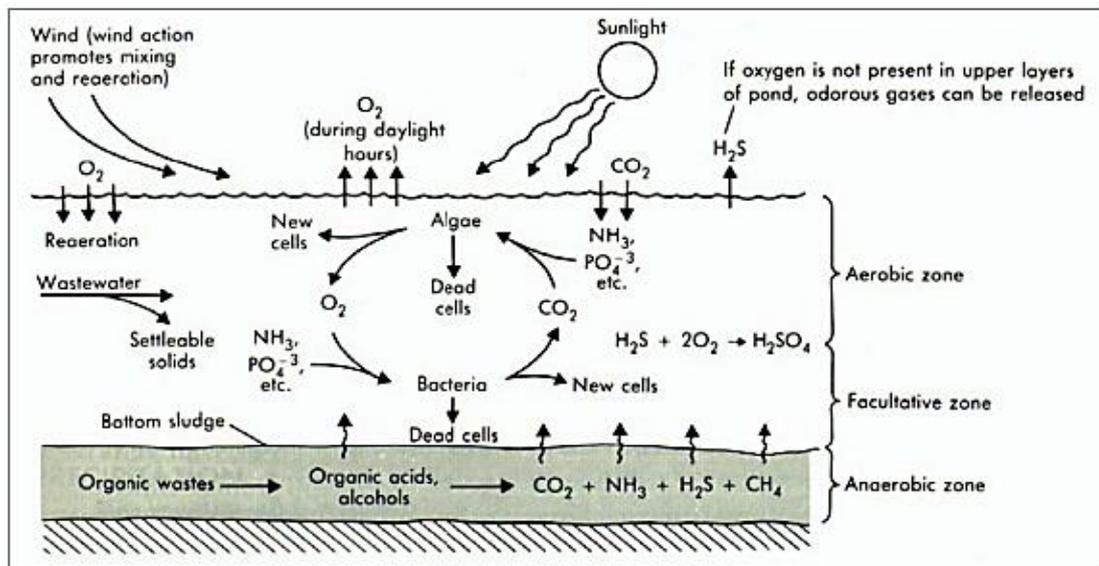


Figure 1 : Processus d'épuration ayant lieu dans un bassin de lagunage naturel (Tchobanoglous et *al.*, 1985, cités dans Liady, 2014)

La classification des bassins de lagunage varie dans la littérature en fonction des auteurs : Pietrasante et Bondon (1994) distinguent :

- le lagunage naturel ;
- le lagunage aéré ;
- le lagunage anaérobie ;
- le chenal algal à haut rendement.

Varion et Mara (2004) distinguent, en plus, le bassin de maturation qui, même si sa fonction principale est l'abattement des germes pathogènes, permet une amélioration de l'abattement de la charge organique.

Ouano (1981) distingue cinq types de bassins de lagunage :

- le bassin aérobie ;
- le bassin facultatif ;
- le bassin anaérobie ;
- le bassin de maturation ;
- le bassin aéré.

### **I.1. Bassins anaérobies**

Ce sont les bassins plus profonds, d'environ 2 à 5 mètres, adaptés pour traiter les effluents dont la charge organique est très élevée avec un temps de séjour relativement court (Ndabigengesere, 1997 ; Chaib, 2004 ; Blais, 2006). Le processus de dégradation de la matière organique au sein de ces bassins est en deux phases anaérobies. Au cours de la première phase, la matière organique est hydrolysée en composés à courte chaîne qui sont transformés en gaz, tels que le méthane, le dioxyde de carbone et le sulfure d'hydrogène lors de la deuxième phase (Blais, 2006).

### **I.2. Bassins aérobies**

Contrairement aux bassins anaérobies, les bassins aérobies sont de très faibles profondeurs (0,2 à 1 m) avec un temps de séjour relativement long afin de permettre à la lumière solaire de pénétrer dans toute la profondeur et d'avoir de l'oxygène dissous dans toute la colonne d'eau (Ndabigengesere, 1997 ; CNRC, 2004 ; Blais, 2006). Ils sont adaptés aux effluents de très faibles charges organiques au point où l'aération par les voies naturelles satisfait l'apport de l'oxygène dissous favorable à la croissance des bactéries aérobies hétérotrophes. Au niveau de ces bassins, ce sont essentiellement les bactéries aérobies et les algues qui contribuent à l'épuration biologique de l'eau.

Deux variantes peuvent être distinguées selon la flore végétale présente : les bassins aérobies à microphytes et ceux à macrophytes. Les micro-organismes qui sont à la base de la dépollution se développent en suspension dans l'eau et dans les sédiments (Morel et Kane, 1998). Les algues développées, assurent la production de l'oxygène du milieu (Aba, 2012). Dans la lagune à macrophytes, en dehors des algues, vivent des hydrophytes. Les plantes aquatiques généralement utilisées sont : iris, roseaux, joncs, phragmites, lentilles d'eau, jacinthe d'eau

(Charbonnel, 1989). Ces plantes aquatiques puisent les sels minéraux indispensables à leur croissance et favorisent les apports en oxygène nécessaire pour le développement des bactéries et du zooplancton.

### **I.3. Bassins facultatifs**

Ce sont des bassins de profondeur intermédiaire comprise entre celle des bassins anaérobies et celle des bassins aérobies d'environ 1 à 2 m afin de préserver les conditions d'aérobioses à la surface avec une charge polluante entrante qui ne doit pas être trop élevée (ENGEES, 2002 ; Chaib, 2004 ; Blais, 2006). De la surface vers le fond du bassin, on peut y retrouver trois zones successivement (aérobie, anoxie et anaérobie) où les matières dissoutes et colloïdales qui sont oxydées par des bactéries aérobies ou facultatives. Ces bactéries utilisent l'oxygène provenant de l'absorption naturelle et de l'oxygène produit par les algues qui se développent dans la couche superficielle (Ndabigengesere, 1997). Quant aux matières décantables, elles sédimentent pour former des boues qui, par la suite, entrent dans la décomposition anaérobie, avec la production de méthane et d'autres composés réduits. Ces derniers migrent vers la couche superficielle où ils sont oxydés (Blais, 2006). Le gaz carbonique résultant de l'oxydation des matières organiques sert de source de carbone pour les algues et les bactéries hétérotrophes (Ndabigengesere, 1997). Ces bassins sont adaptables à la plupart des climats et ne nécessitent pas d'une énergie que celle naturelle. L'épaisseur de la couche superficielle dépend de l'ensoleillement et de la proportion d'algues dans le bassin. Cette zone sert de barrière contre les mauvaises odeurs engendrées par les conditions anaérobies des couches inférieures.

## **II. Lagunage à macrophytes**

Le lagunage à macrophytes est caractérisé par la présence de plantes visibles à l'œil nu qui peuvent être immergées ou émergées, enracinées ou non. Les bassins sont généralement de faible surface et moins profonds 0,6 à 0,8 m où la charge polluante est faible (ARDAM, 2007). L'effet épuratoire est principalement dû à la faculté de ces plantes à extraire les éléments nutritifs de la colonne d'eau et au support que leur racine et feuilles offrent aux microorganismes susceptibles de dégrader les matières organiques et nitrifier l'azote ammoniacal (Aba, 2012). La lentille d'eau, les phragmites, le typha, la laitue d'eau et la jacinthe d'eau constituent les plantes aquatiques rencontrées (Charbonnel, 1989 ; Morel et Kane, 1995).

## **II.1.Lagunage à macrophytes fixés**

L'utilisation des techniques extensives à culture fixée devient de plus en plus répandue dans le monde et permet le traitement aussi bien des eaux résiduaires urbaines (eaux usées domestiques et eaux usées industrielles) que des eaux pluviales (Ladislas, 2011). Elles ont l'avantage d'être accessibles en termes de coûts, de mise en œuvre et d'exploitation d'autant plus que ne nécessitant pas un apport énergétique (Koné, 2011).

Les filtres plantés de macrophytes ou les filtres plantés de roseau ou encore les lits à macrophytes ont été inspirés par les spécialistes tenant compte des marais naturels. En fonction de la nature végétale, du régime d'écoulement de l'eau (écoulement à la surface ou sous la surface) et du type de flux (horizontal, vertical), trois types d'architecture de marais existent (Prigent, 2012). Chacun de ces trois systèmes possède des caractéristiques particulières concernant le traitement des effluents, car ceux-ci n'ont pas la même proportion en eau et/ou en support. Cette proportion influence ainsi la quantité d'oxygène disponible pour les processus physico-chimiques et la diversité des populations microbiennes dans les marais (Vymazal, 2007). Ainsi, on peut distinguer les filtres horizontaux à flux surfacique, les filtres horizontaux à flux sous-surfacique et les filtres verticaux.

### **II.1.1. Filtres Horizontaux à Flux Surfacique (FHS)**

Dans les FHS encore appelés filtres à écoulement horizontal (FH), l'eau est généralement apportée de façon séquentielle et alternée selon un chemin plus ou moins horizontal avec une circulation lente à travers le massif filtrant, sous la surface du lit (Prigent, 2012). Les lits plantés à écoulement superficiel s'apparentent à des lagunes de macrophytes avec une tranche d'eau libre dans laquelle se développent des macrophytes enracinés dans la couche superficielle du support sous-jacent (Figure 2). Bien qu'aux alentours des racines et rhizomes diffusent de l'oxygène dans le substrat, la plus grande partie du lit est en zone saturée, et présente des conditions anaérobies (Kadlec, 2009). Les mécanismes physico-chimiques et biologiques se déroulant dans ces genres de systèmes sont comparables, voire proches de ceux des marais artificiels (Prigent, 2012). Ils utilisent les macrophytes flottants permettant en théorie, une meilleure filtration mécanique des particules en suspension grâce au système racinaire (Lévesque, 2011).

Leur appellation de type surfacique, signifie que l'eau passe au-dessus de la surface du support. Ce système a, comme inconvénient, l'utilisation d'une surface plus élevée que sur d'autres types de marais artificiels à raison des contraintes d'exploitations lourdes occasionnées par le

faucardage nécessaire des végétaux aquatiques variés (typha, scirpes, joncs, roseaux, ...) (Prigent, 2011).

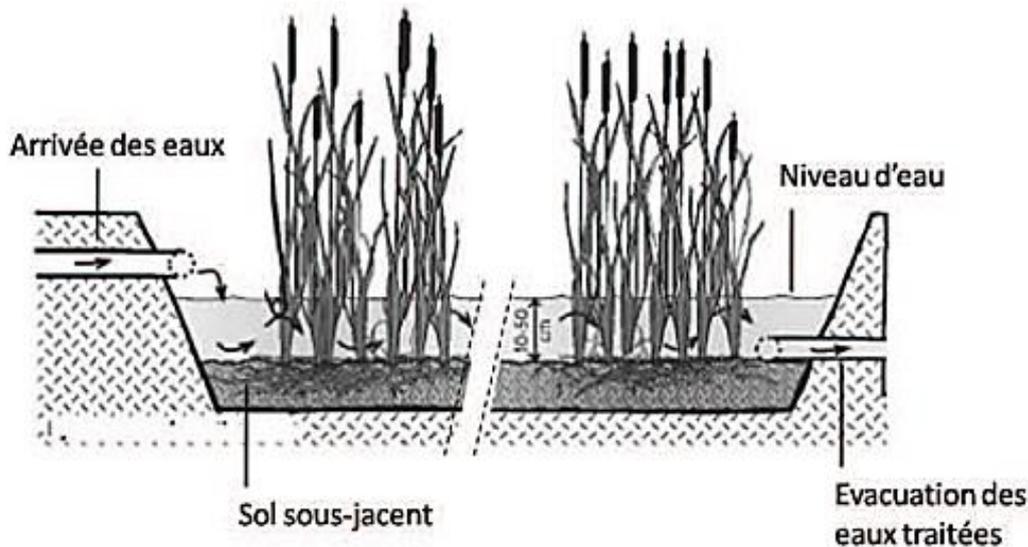


Figure 2 : Marais surfacique à flux horizontal (Headley, 2011)

### II.1.2. Filtres Horizontaux à Flux Sous Surfacique (FHSS)

Les filtres horizontaux à écoulement sous la surface sont des bassins remplis de manière homogène du support (sable, gravier ou du sol en place), dans lequel ont été plantées des macrophytes (Aba, 2012). L'écoulement de l'eau se fait de façon horizontale sous la surface du marais (Figure 3). Ces bassins peuvent être à écoulement sub-surfacique ou à surface libre (Zhang *et al.*, 2010a). Durant le passage de l'effluent dans le marais, celui-ci entre en contact avec différentes zones où la concentration en oxygène n'est pas la même. Il y a la zone aérobie, la zone anoxie et la zone anaérobie (Prigent, 2012). L'évacuation se fait par un drain placé à l'autre extrémité du filtre, au fond, et enterré dans une tranchée drainante garnie de pierres. Ce drain est relié à un tube dont la hauteur de surverse est modifiable permettant de régler la hauteur de l'eau dans le filtre, de façon à ce qu'il soit saturé pendant la période d'alimentation (Koné, 2011). Afin d'éviter les écoulements préférentiels en surface et d'assurer un flux homogène, le niveau d'eau doit être maintenu à environ 5 cm sous la surface du matériau (Aba, 2012). Les différentes espèces de plantes utilisées pour ces catégories de filtres sont : *Phragmite australis*, *Typha latifolia*, *Iris versicolore* Linné, *Juncus effusus*, *Scirpe lacustris* et *Sagittaria sagittifolia* (Vymazal, 2008a).

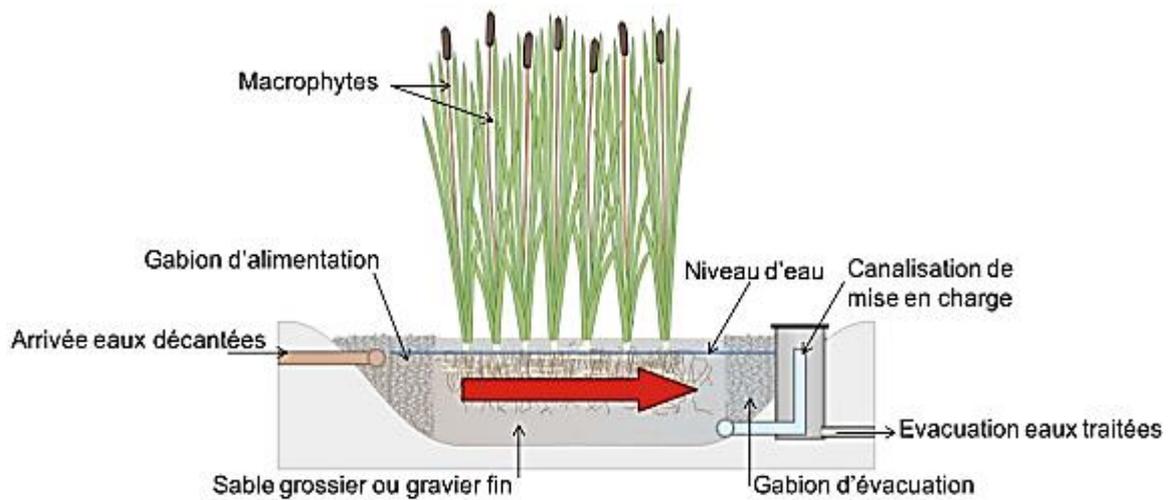


Figure 3 : Marais horizontal à flux sous surfacique FHSS (Gagnon, 2012)

### II.1.3. Filtres à Flux Vertical (FFV)

Les filtres à écoulement vertical (FV) (Figure 4), sont des bassins remplis de couches de graviers de granulométries différentes superposées, et selon leur place dans la filière de traitement recouvertes ou non d'une couche de sable, dans laquelle sont plantés les macrophytes (Koné, 2011). La couche surfacique, constituée de gravier ou de sable, permet la bonne répartition des effluents tandis que le fond du bassin, constitué de gros graviers, assure le drainage des effluents traités. L'eau est en général apportée de façon alternée et séquencée sur toute la surface du lit, et percole rapidement à travers le substrat selon un chemin plus ou moins vertical, instaurant un milieu insaturé et des conditions principalement oxydantes (Yalcuk *et al.*, 2009). L'alimentation a lieu par un système dit de bûchées (discontinu). Dans les filtres à surface libre (FSL), l'eau circule à travers un bassin peu profond (environ 30 cm) planté de macrophytes émergentes, submergées ou flottantes (Kadlec, 2009). Des macrophytes sont généralement plantées en surface des FFV.

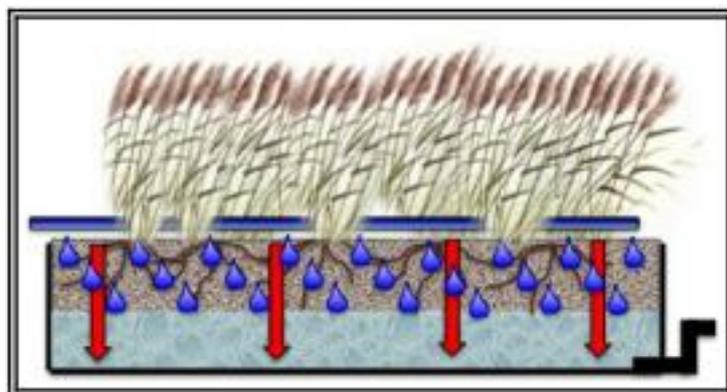


Figure 4 : Marais sous surfacique à flux vertical (Lévesque, 2011)



et les font remonter à la surface où elles sont piégées dans les racines des plantes (Abibsi, 2011). Les plantes libèrent suffisamment d'oxygène par leurs racines, leurs feuilles et ce, en contact avec l'eau et les stolons pour que vivent dans leur environnement des bactéries aérobies et des invertébrés qui se nourrissent de la boue organique pour la transformer en sels minéraux. Les plantes se servent de ces sels minéraux pour leur développement (Morel et Kane, 1995) (Figure 6).

Le séjour prolongé de l'eau au contact des hydrophytes permet une absorption importante des sels minéraux, ce qui évite l'eutrophisation du milieu naturel récepteur. L'oxygène émis par les plantes favorise l'oxydation des ions ammonium résiduels (Abibsi, 2011).

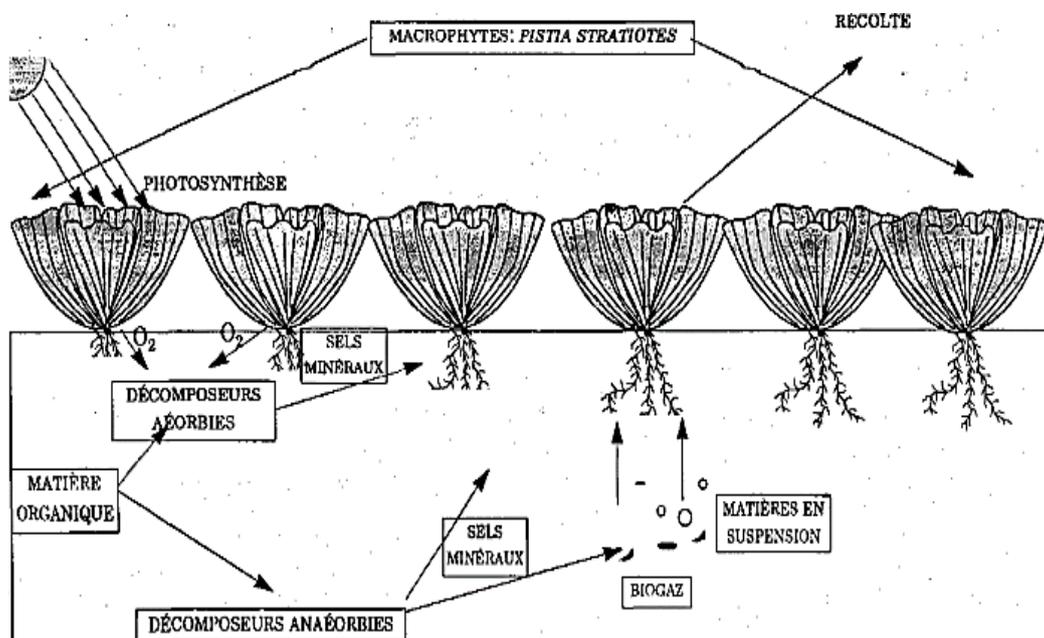


Figure 6 : Traitement secondaire : fonctionnement du lagunage à macrophytes (Morel et Kane, 1998)

## II.3. Rôle des éléments entrant dans le traitement par lagunage à macrophytes flottants

### II.3.1. Rôle des macrophytes

L'action des plantes sur un polluant au cours d'un processus de phyto-dépollution intervient à différents niveaux. Les plantes agissent de façon directe ou indirecte en absorbant ou en activant la dégradation des polluants tout en les séquestrant dans la rhizosphère ou en les rendant volatiles pour leur élimination dans l'air environnant (Vila, 2006). Ces capacités des plantes constituent une technologie émergente et prometteuse qui peut être appliquée au traitement des métaux, des hydrocarbures, des pesticides, des composés nitroaromatiques et des solvants

chlorés (Susarla *et al.*, 2002). Divers mécanismes sont mis en œuvre en fonction de la nature du polluant et de ses caractéristiques physico-chimiques (Vila, 2006). Les plantes, ont la capacité de rétention ou de dégradation des polluants de l'eau par un ensemble de processus. La fonction épuratoire des plantes dépend du climat en particulier de la température, de la nature des contaminants et de la morphologie de leur système racinaire (Ladislas, 2011). Elle tient aussi compte de la production de biomasse, de la capacité d'oxygénation de la rhizosphère.

En fonction du degré d'accessibilité des polluants par les plantes trois méthodes de traitement sont envisageables : les phytoépurations *in situ*, *ex situ* et *in vitro* (Moussavou, 2010). La phytoépuration *in situ* consiste à faire pousser les organes des macrophytes flottants dans les milieux pollués ou sur le matériel contaminé (Ghosh et Singh, 2005). On procède après à la récolte de la plante ou à l'enlèvement des organes en vue de leur confinement ou de l'extraction des polluants lorsqu'ils sont uniquement extraits et accumulés par les plantes. Quant à la phytoépuration *ex situ*, elle est utilisée lorsque les racines des plantes ne peuvent pas atteindre les polluants. Dans ces conditions, les matériaux contaminés sont d'abord extraits mécaniquement du site et peuvent être transférés dans une zone de traitement où ils pourront être mis directement au contact des espèces végétales sélectionnées. Après le traitement, les substrats épurés sont ensuite replacés dans leur environnement d'origine (Moussavou, 2010). Pour ce qui est de la phytoépuration *in vitro*, elle est utilisée essentiellement dans le cas des polluants organiques non biodégradables pour leur transformation. Dans cette dernière approche, ce sont uniquement des organes, des composants de la plante (essentiellement des enzymes) ou des cellules (microalgues) qui sont mis en exergue. Ces fractions végétales peuvent être utilisées directement sur le site pollué ou après extraction des substrats contaminés (Moussavou, 2010). La phytoremédiation ou phytoépuration *in vitro* est plus onéreuse que les techniques précédentes car elle nécessite la préparation de fragments végétaux, de suspensions cellulaires, voir la purification d'enzymes.

Les macrophytes ont principalement deux rôles majeurs tels que le rôle de la fixation des microorganismes et celui d'absorption des minéraux. Ils fixent les colonies de bactéries sur la base de leurs tiges et leurs rhizomes (tiges souterraines), ce qui améliore les performances des organismes épurateurs. Par ailleurs, ils absorbent par leurs racines une partie (10 % environ) des sels minéraux en azote et en phosphore issus de la décomposition de la matière organique présente dans les eaux usées.

### **II.3.2. Rôle des microorganismes**

Dans le processus de phyto-dépollution, il convient de préciser que les microorganismes sont capables de jouer un rôle en amont ou en aval sur la dégradation des polluants. En effet, ils peuvent parfois dégrader certains co-produits toxiques pour les plantes qui pourraient limiter l'implantation de la phyto-dépollution (Sémadi, 2010). Les microorganismes pourraient ainsi diminuer la phytotoxicité des polluants pour les plantes, ce qui permet la mise en place d'un processus de phyto-dépollution. Deux groupes de microorganismes jouent un rôle important dans l'épuration des eaux usées : les bactéries et les champignons. Ils assurent l'assimilation, la transformation et le recyclage des éléments présents dans les eaux usées par divers métabolismes (Kadlec et Wallace, 2009). Selon la nature de ces microorganismes et en fonction du type de polluant, ces microorganismes peuvent être fixés sur les racines et les tiges des végétaux, libres dans la tranche d'eau ou fixées sur le substrat. Ils interviennent directement dans l'épuration des contaminants par différents processus tels que l'absorption ou l'adsorption, le cométabolisme, la solubilisation et la volatilisation (biodégradation).

#### **❖ Biodégradation, rhizodégradation ou minéralisation**

La minéralisation correspond à la conversion d'une molécule organique en ses constituants inorganiques. Lorsque la minéralisation de ces polluants organiques est faite grâce à l'activité des bactéries et des champignons, elle est appelée biodégradation. On parle de rhizodégradation, lorsque cette biodégradation s'effectue par les microorganismes de la rhizosphère sous l'influence de la sécrétion des racines. Pour cette biodégradation, il existe deux types de microorganismes : ceux qui ne requièrent que du CO<sub>2</sub> comme source de carbone et obtiennent leurs énergies en oxydant des substances inorganiques appelées chimioautotrophes. Ceux constitués des bactéries chimiohétérotrophes ont les molécules organiques à la fois comme source d'énergie et source de carbone.

#### **❖ Absorption ou adsorption**

Lorsque les molécules xénobiotiques se trouvent fixées sur les parois des cellules (mortes ou vivantes) ou sur les biofilms bactériens ou fongiques, on parle d'adsorption. Mais, lorsqu'elles sont séquestrées ou minéralisées dans les microorganismes, on parle d'absorption (Gadd, 2010).

#### **❖ Cométabolisme**

C'est l'action de la modification accidentelle ou fortuite d'une molécule par une enzyme qui agit normalement sur une autre molécule. Les réactions du cométabolisme ne profitent pas à

l'organisme responsable. Il profite à d'autres organismes qui peuvent être capables de minéraliser les produits du cométabolisme (Denys, 2004).

#### ❖ **Solubilisation ou dissolution**

On parle du phénomène de la solubilisation ou de la dissolution, lorsque sous l'action de la sécrétion des microorganismes ou de par leur rôle de catalyse, les molécules xénobiotiques peuvent être remises en solution ou inversement (Gadd, 2010). Leur retour en solution est fait à travers les réactions d'oxydo-réduction par les processus de méthylation, de déméthylation ou par la dégradation de complexes organo-métalliques.

#### ❖ **Volatilisation**

Certains microorganismes peuvent changer le degré d'oxydation ou ajouter un groupement méthyl à certaines espèces métalliques ou métalloïdes, les rendant volatiles.

## **II.4. Avantages et inconvénients des systèmes de lagunage**

### **II.4.1 Avantages**

Le manque de capital et d'une main d'œuvre qualifiée dans les pays en développement fait du lagunage une écotecnologie propice dans le domaine de traitement des eaux usées (Tangou Tabou, 2014). Le lagunage en général (à microphytes et/ou à macrophytes) présente les avantages suivants :

- une grande simplicité de fonctionnement à travers un simple réglage du débit permet aux eaux usées de s'écouler gravitairement dans un ou plusieurs bassins ;
- parfois des faibles coûts d'investissement et de fonctionnement par rapport aux coûts requis pour l'entretien d'autres systèmes d'épuration, notamment les systèmes intensifs qui ne nécessitent pas une source d'énergie électrique, simples matériels d'entretiens et disponibles sur le marché (tracteur, brouette, pelle, râteau,...), pas de main d'œuvre qualifiée;
- obtention d'un bon degré de purification de la matière organique ;
- élimination des germes pathogènes plus élevée que dans les autres méthodes de traitement ;
- très bonne intégration paysagère et bonne adaptabilité aux zones tropicales ;
- capacité à supporter relativement bien les fluctuations (pics) de charges et hydrauliques ;
- possibilité de traiter une large gamme d'eaux usées (urbaines, industrielles ou agricoles);
- faible production des boues (évacuation tous les 10 ou 15 ans) ;
- biofiltre des odeurs ( $\text{CH}_4$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{NH}_3$ ,...) par le tapis végétal formé sur le plan d'eau ;

- site de préservation de la biodiversité faunistique et floristique : coexistence de plusieurs groupes d'êtres vivants (micro et macro-invertébrés, reptiles, amphibiens, oiseaux,...).

#### **II.4.2 Inconvénients**

Outre ces avantages, quelques inconvénients liés à cette écotechnologie peuvent être évoqués

Que sont :

- le risque de développement des moustiques en cas de mauvaise gestion des bassins

(Koné, 2002 ; Tangou Tabou, 2014) ;

- l'accès plus ou moins difficile à des bassins lors d'une intervention ;
- l'émanation des odeurs nauséabondes dues à une surcharge organique conduisant à l'anaérobiose (cas de mauvais fonctionnement, ou mauvais dimensionnement) ;
- l'accumulation des boues mixtes fermentescibles d'où la nécessité de curage et / ou récolte (cas d'une densité excessive des macrophytes par exemple) ;
- la variation saisonnière de la qualité de l'effluent ;
- le risque d'infiltration et percolation des eaux usées dans les nappes : l'étanchéité du fond des bassins ne doit pas être remise en question, il est conseillé de recourir à un film en plastique (géomembrane).

Au regard de ces difficultés, plusieurs approches sont préconisées comme mesures préventives, notamment : un bon dimensionnement des systèmes d'épuration, un meilleur prétraitement de l'effluent, une bonne circulation des eaux usées dans les bassins (hydrodynamique), une meilleure aération des bassins, l'éloignement de la station des zones résidentielles, ou encore la culture des poissons larvivores à l'instar des Gambusies.

Les variantes du lagunage comprennent deux grandes catégories de procédé extensif utilisant les plantes aquatiques ; il s'agit du lagunage à microphytes utilisant les algues microscopiques encore appelées le lagunage naturel, et du lagunage à macrophytes dans lequel en plus des algues se trouvent les plantes aquatiques supérieures. Le lagunage à macrophytes comprend deux sous-groupes, à savoir : le groupe de ceux qui utilisent les plantes aquatiques fixés appelés les héliophytes et celui de ceux qui utilisent les plantes aquatiques à support libre appelés les hydrophytes. La jacinthe d'eau est le seul macrophytes qui peut être utilisé par les deux catégories de lagunage à macrophytes. Mais il est plus utilisé dans le lagunage à macrophytes à support libre encore appelé lagunage à macrophytes flottants que dans le lagunage à macrophytes fixés

### III. Jacinthe d'eau : macrophytes flottants fréquemment utilisés dans la phytoépuration

#### Introduction

De nombreuses études réalisées dans l'épuration des eaux usées domestiques dans le monde et dans les Pays en Développement (PED) en particulier, il ressort que le lagunage à macrophytes est une alternative viable. Grâce à leur capacité à éliminer les polluants, les espèces flottantes fréquemment utilisées sont : *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (Valipour et al., 2011 ; Lissy et Madhu, 2010 ; Mahmood et al., 2005), *Pistia stratiotes* L. (Lu et al., 2010 ; Dipu et al., 2011), *Lemna minor* L., *Typha*, *Chrysopogon zizanioides* (Lakshmana et al., 2008 ; Girija et al., 2011) et *Phragmites Australis*. D'après Koné (2002), la jacinthe d'eau est le macrophyte flottant le plus utilisé pour l'épuration des eaux usées domestiques (EUD). Les travaux de Mama (2010), de Kpondjo (2011) et de Akowanou (2012) ont montré l'accessibilité de la jacinthe d'eau dans les écosystèmes naturels du Bénin. Un choix et une hiérarchisation préalables des principaux critères d'évaluation ont permis, sur la base d'une analyse de satisfaction rigoureuse, d'opter pour la jacinthe d'eau, comme étant la meilleure alternative, présentant un grand pouvoir de fixation d'éléments polluants et ayant un potentiel élevé en protéines et agents antioxydants, dans un contexte donné (Ladislas, 2011).

#### III.1. Caractéristique de la jacinthe d'eau

La jacinthe d'eau est une plante monocotylédone herbacée vivace des rivières, canaux et lacs des régions tropicales et tempérées. Elle compte quatre espèces du genre *Eichhornia* (*E. azurea*, *E. crassipes*, *E. diversifolia* et *E. paniculata*) (Verma et al., 2003). Parmi ces espèces, celle la plus répandue en Europe, en Afrique, en Asie et en Amérique du Nord est l'espèce *E. crassipes* (Shanab et al., 2010). Du point de vue morphologique et de l'âge de la plante, la jacinthe peut avoir une variabilité considérable dans la forme et la couleur de ses feuilles, de ses fleurs et de ses racines (Dagno et al., 2007). Ses feuilles sont du vert brillant, épaisses, cireuses, arrondies et lustrées, et se tiennent bien au-dessus de la surface de l'eau sur des tiges. Elles sont grossièrement oviformes circulaires, de 10 à 20 centimètres de diamètre, ourlées sur les bords, qui sont ondulés (Dagno et al., 2007). Les nervures des feuilles sont denses, nombreuses, en amande longitudinale. Les hampes florales sont droites, mesurent environ 50 centimètres de long et portent chacune 8 à 15 fleurs voyantes rassemblées en épi. Les fleurs ont six pétales, bleues violacées à rosâtres, le pétale du sommet montrant une tache jaune. Elles sont également lilas, similaires à celles des orchidées (EPA, 1988). Le fruit forme une capsule qui peut contenir

jusqu'à 450 graines d'une taille de 1 mm de large par 4 mm de long qui peuvent rester viables pendant 5 à 20 ans dans les sédiments (Gopal, 1987). *E. crassipes* dispose d'un rhizome bulbeux et spongieux mesurant jusqu'à 6 centimètres de diamètre et 30 centimètres de longueur. Les racines sont noires violacées et plumeuses (Gopal, 1987). Elles peuvent mesurer jusqu'à 300 centimètres et sont constituées de plus de 50 % de la biomasse d'une population de jacinthes d'eau. La racine de la jacinthe d'eau a une coloration généralement violette foncée, elle contient des pigments solubles, notamment des anthocyanines qui vont la protéger de la prédation par des animaux herbivores et du rayonnement solaire trop intense (Justo Berthe, 2013). La jacinthe d'eau a deux modes de reproduction : la reproduction sexuée ou par les semences et celle non sexuée (asexuée) ou végétative (Gopal, 1987).

### **III.2. Différentes utilisations de la jacinthe d'eau dans le traitement des eaux usées**

Considérée comme une herbe adventice, la jacinthe d'eau (*Eichhornia crassipes*) a attiré l'attention dans le monde entier en raison de sa prolifération rapide et de sa croissance congestionnée qui conduisent à de graves problèmes sur la navigation fluviale, l'irrigation et sur tout l'écosystème aquatique concerné directement ou indirectement (Dagno et al., 2007). D'autre part, vu sous un angle de ressources, elle semble être une ressource précieuse avec plusieurs propriétés uniques. Par conséquent, l'activité de recherche concernant sa valorisation en particulier, son utilisation dans l'épuration des eaux usées, ou la phytoremédiation a connu une forte explosion durant les dernières décennies.

La jacinthe d'eau est utilisée dans plusieurs domaines tels que l'assainissement (à travers le traitement des eaux usées), l'agriculture, l'élevage, l'artisanat, la médecine, l'énergie et l'industrie. Certains auteurs comme Tripathi et al. (2014), Akinbilé et Yusoff (2012) et Saleh et al. (2012) ont montré comment la jacinthe d'eau est utilisée dans le traitement des eaux usées, pour traiter la matière organique biodégradable ou non et pour enlever les polluants métalliques.

Au niveau de l'élevage, de l'agriculture et de l'artisanat, elle a été utilisée dans l'alimentation animale par Gunnarsson et Peterson (2015) ; comme engrais organique par Vidya et Girish (2014) et comme principal matériau pour la confection de meubles en Birmanie, Thaïlande, au Vietnam et au Nigéria. La figure 7 résume les différents domaines de valorisation de la jacinthe d'eau. Parmi les différentes applications de la jacinthe d'eau, celle sur laquelle, un accent sera plus mis est le traitement des eaux usées.

Les informations contenues dans la littérature rapportent que l'utilisation de la jacinthe d'eau 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 synthétiques, des eaux usées domestiques (Jianbo *et al.*, 2007 ; Aina *et al.*, 2012 ; Kumari et Tripathi, 2014 ; Rezanian *et al.*, 2013 ; Rezanian *et al.*, 2014 ; Valipour *et al.*, 2015), des eaux usées de porcherie (Valero *et al.*, 2007 ; Sooknah et Wilkie, 2004), d'effluents d'industrie agroalimentaire, d'effluents issus des minerais et d'effluent d'industrie textile (Priya et Selvan, 2014).

Liao et Cheng (2004) ont rapporté la capacité de la jacinthe d'eau à absorber certains métaux comme le cadmium (Cd), le plomb (Pb), le cuivre (Cu), le zinc (Zn) et le nickel (Ni) dans ses tissus surtout à sa racine. Ainsi, la racine de la jacinthe renferme 3 à 15 fois ces éléments que sa partie aérienne. Wolverton (1989) ; Brix (1993) et Johnston (1993) ont expliqué la réduction de la turbidité par la jacinthe d'eau due aux poils de sa racine. Les différentes charges électriques de la racine participent à l'attraction des charges opposées de particules colloïdales telles que les matières en suspension, ce qui les amène à s'adhérer aux racines où elles sont lentement digérées et assimilées par la plante et les micro-organismes. Brix (1993) a rapporté l'utilisation avec succès de *E. crassipes* dans la réduction de la charge organique et inorganique des eaux usées. Tripathy et Upadhyay (2003) de leur côté, ont expérimenté l'association de la jacinthe et de la lentille d'eau dans le traitement des eaux usées de laiterie où elles ont obtenu un taux d'abattement de 79% pour l'azote total et 69% pour le phosphore total quant à Chen *et al.* (2010), ils ont démontré que 36% d'azote et de phosphore pourraient être enlevés par la jacinthe dans une eau usée de porcherie. Ismail *et al.* (2015) par contre ont étudié l'effet de la jacinthe et de la laitue sur l'élimination de l'azote ammoniacal, du nitrite, du nitrate et de l'orthophosphate. Ils ont constaté que la jacinthe élimine plus l'azote que l'orthophosphate. Liao et Cheng (2004) ont, à travers leurs travaux, montré que la jacinthe d'eau élimine plus le cuivre, le zinc, le nickel, le plomb que le cadmium. Schneider *et al.* (1995) ont étudié la praticabilité des racines et de la partie aérienne sèche de la jacinthe dans l'élimination des cations métalliques  $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  et  $Zn^{2+}$ . Ils ont constaté que ces dernières sont de meilleurs biosorbents que le *mycobactérie phlei* et la levure *candida parapsilosis*

La jacinthe d'eau pourrait ramener le pH alcalin au neutre et cette réduction peut être due à l'absorption des aliments ou par le dégagement simultané des ions de  $H^+$  avec la prise des ions métalliques (Mahmood *et al.* 2005). Selon Reddy (1981), la présence de la jacinthe d'eau dans les eaux usées épuise le dioxyde de carbone de l'eau pendant la période de l'activité photosynthétique et provoque l'augmentation de dioxygène de l'eau, créant ainsi des conditions

aérobies. Dans une étude à échelle de laboratoire, Mahmood *et al.* (2005) ont montré la capacité qu'a la jacinthe de ramener le pH des eaux résiduaires de textile de sa nature alcaline à la neutralité. Avec une réduction de la DCO et de DBO de l'ordre de 40-70% et une réduction maximale des solides totaux de 50,64%. Roy *et al.* (2010) ont au cours de leurs travaux constaté une réduction du pH de 11,2 à 8,6.

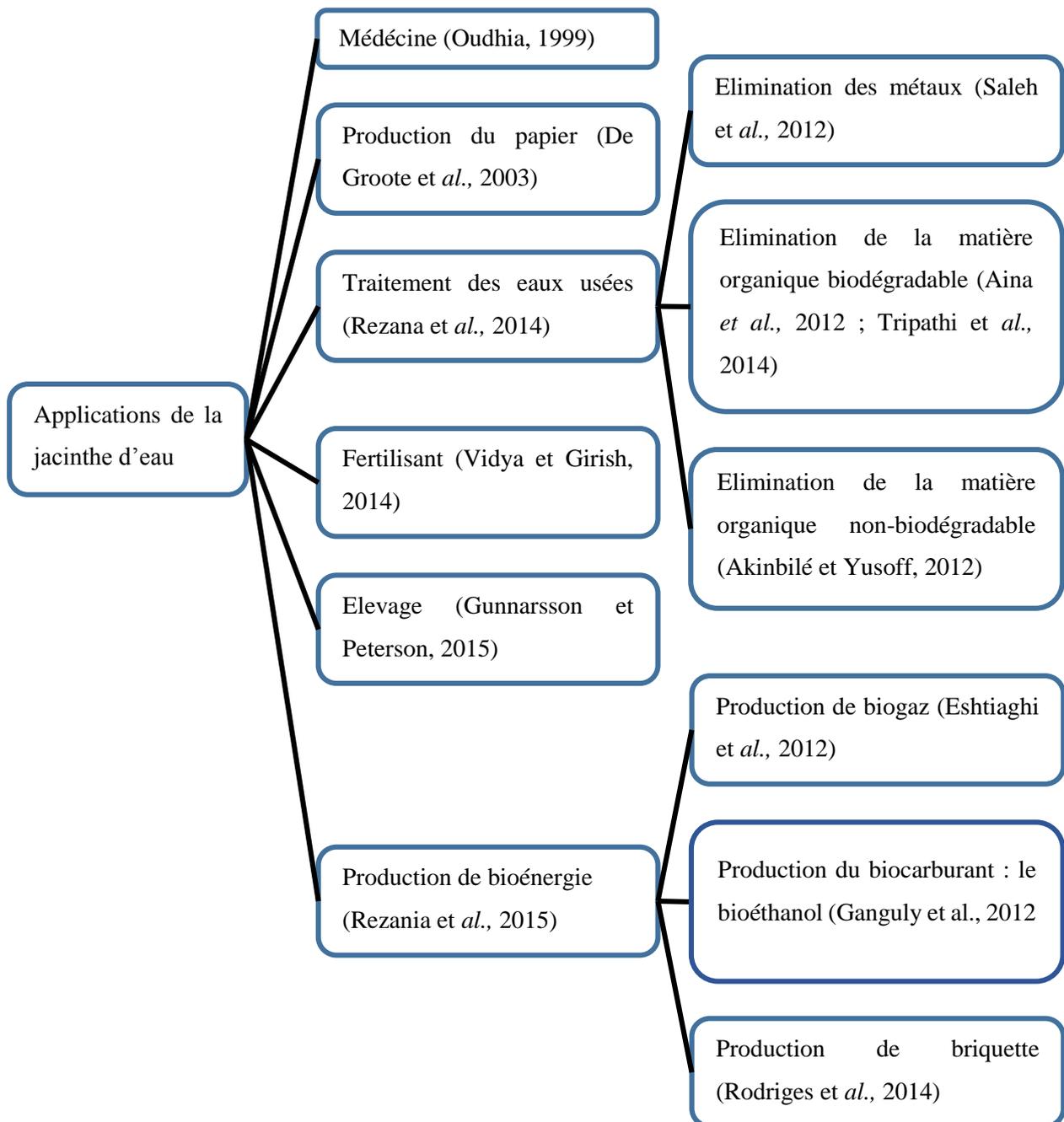


Figure 7 : Différentes applications de la jacinthe d'eau (*Eichhornia crassipes*) (Réalisée sur la base de Shahabaldin *et al.*, 2014)

## Conclusion partielle

Par rapport à la valorisation de la jacinthe d'eau dans le domaine de l'assainissement, elle a été utilisée dans le traitement des eaux synthétiques et des eaux usées. Elle a été utilisée dans le traitement de presque toutes les catégories d'eaux. La jacinthe d'eau a donné de bons résultats sur toutes les catégories de polluants à savoir les polluants organiques et inorganiques. L'élimination des polluants organiques est souvent évaluée à travers certains paramètres tels que la Demande Chimique en Oxygène (DCO) ; la Demande Biochimique en Oxygène (DBO5) dans la catégorie des polluants carbonés, l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), l'azote Kjédal total (NTK), le nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ), le nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ), l'orthophosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) dans la catégorie des nutriments. Elle est aussi utilisée pour éliminer les polluants inorganiques à savoir les métaux.

Outre les polluants organiques, il existe d'autres polluants dont les éléments traces métalliques. Les éléments traces métalliques sont des polluants sur lesquels la jacinthe d'eau a d'effet. Ils seront abordés par la suite, l'étude des éléments traces métalliques.

### IV. Etude des éléments traces métalliques

Le tableau de classification périodique contient 110 éléments naturels identifiés sur le globe terrestre et qui sont classés de l'hydrogène au lawrencium. Du point de vue chimique, 71 éléments sont des métaux dont une soixantaine est considérée comme métaux lourds qui correspondent actuellement au terme générique d'éléments traces métalliques (ETM) (Sémadi, 2010).

L'Encyclopédie de la chimie (1964) définit les métaux lourds comme des métaux ayant une densité supérieure à 4. Lapedes (1974) les définit comme des éléments chimiques ayant approximativement une densité de 5 ou plus. Selon Burell (1974), ils sont constitués des éléments délimités dans le tableau de classification périodique de Mendeleïev, par le titane d'une part, l'arsenic et le bismuth d'autre part, regroupant les métaux dont la densité va de 4,5 pour le Titane à 22,5 pour l'osmium. Ce travail de découpage effectué sur le tableau de Mendeleïev fait apparaître un bloc de 36 cases occupées essentiellement par les métaux, à deux exceptions près, celle de l'arsenic et de l'antimoine (Sémadi, 2010). Pour Migéon (2009), ils sont les éléments chimiques formant des précipités insolubles avec les sulfures et ayant une masse volumique supérieure à  $6 \text{ g.mL}^{-1}$  ou comprise entre 4,5 et  $5,0 \text{ g.mL}^{-1}$  et ayant un numéro atomique supérieur à 20. Selon le *droit Européen à travers la directive 67/548/CEE*, on entend par métal lourd, tout composé d'antimoine, d'arsenic, de cadmium, de chrome (VI), de cuivre, de plomb, de mercure, de nickel, de sélénium, de tellure, de thallium et d'étain, ainsi que des

matériaux sous forme métallique, pour autant qu'ils soient classés comme substance dangereuse. Boudène (1993), quant à lui désigne tous les métaux ayant une connotation toxique comme étant éléments traces métalliques. Dans la suite de ce document, ils seront désignés par les éléments traces métalliques (ETM) dans le présent document.

#### IV.1. Origine et sources des éléments traces métalliques (ETM) dans les eaux usées

Deux voies de pollution par les métaux lourds existent. La première voie est l'apport naturel. Il constitue l'érosion naturelle des sols à cause de leur niveau géochimique et l'érosion des sols agricoles déjà contaminés par les retombées atmosphériques (Aba, 2012). Quant à la seconde voie, elle concerne les apports anthropiques qui proviennent des activités urbaines, industrielles et de l'utilisation des fertilisants dans l'agriculture (Thevenot *et al.*, 2002). Le tableau I présente les différentes activités dans lesquelles certains des ETM sont utilisés.

Tableau I : Quelques métaux et leur utilisation (Verloo, 2003)

Origine	Activités	Eléments traces métalliques (ETM)	Auteurs
Agricole	Impuretés dans les engrais	Chrome (Cr), Molybdène (Mo), Plomb (Pb), Uranium (U), Vanadium (V), Zinc (Zn) et Cuivre (Cu)	Sémadi, 2010
	Pesticides	Cuivre (Cu), Arsénite (As), Mercure (Hg), Plomb (Pb), Manganèse (Mn) et Zinc (Zn)	Sémadi, 2010
	Compostage	Cadmium (Cd), Cuivre (Cu), Nickel (Ni), Plomb (Pb), Zinc (Zn) et Arsénite (As)	Alloway et Ayers, 1997
	Conservation du bois	Arsénite (As), Cuivre (Cu) et Chrome (Cr)	Sémadi, 2010
	Elevage intensif de porcs et de volaille	Cuivre (Cu), Arsénite (As) et Zinc (Zn)	Sémadi, 2010
Industrielle	Engraisage	Cadmium (Cd), Cuivre (Cu), Nickel (Ni), Plomb (Pb), Zinc (Zn) et Arsénite (As)	Rahmoune <i>et al.</i> , 2000
Assainissement	Boues d'épuration	Cadmium (Cd), Nickel (Ni), Cuivre (Cu), Plomb (Pb) et Zinc (Zn)	Sémadi, 2010

## **IV.2. Effets généraux des métaux sur les végétaux**

### **IV.2.1. Notions d'éléments essentiels et éléments contaminants**

Parmi les éléments traces métalliques (ETM), certains sont essentiels à forte concentration, d'autres à faible concentration, d'autres sont essentiels pour une famille de plante. La dernière catégorie est celle de ceux qui ne sont essentiels ni à faible, ni à forte concentration et qui sont qualifiés de toxique. Pour chaque élément nutritif essentiel, il existe un domaine de concentration optimal pour la plante, limité par une valeur critique inférieure et une valeur critique supérieure, respectivement caractéristiques de la carence et de la phytotoxicité (Sémadi, 2010). Dans le cas d'un élément non essentiel, une inhibition de croissance ne se produit qu'en cas de dépassement de la concentration phytotoxique.

Outre les macro-éléments Azote (N), Phosphore (P), Potassium (K), Calcium (Ca), Magnésium (Mg) et Soufre (S), un certain nombre d'oligo-éléments, Fer (Fe), Manganèse (Mn), Zinc (Zn), Cuivre (Cu), Bore (B) et Molybdène (Mo) sont également essentiels pour un développement normal des végétaux supérieurs (Peter *et al.*, 2008). D'autres éléments tels que Silicium (Si), Nickel (Ni), Cobalt (Co) et Vanadium (V) peuvent avoir un effet utile chez certaines plantes, tandis que le Sodium (Na) est important chez les halophytes. Tous les autres éléments sont indifférents, de telle sorte que leur présence dans la plante peut être considérée comme une contamination. Les principaux d'entre eux sont l'Arsenic (As), le Cadmium (Cd), le Plomb (Pb), le Chrome (Cr), le Sélénium (Se), le Mercure (Hg), l'Etain (Sn), le Brome (Br) et le Fluor (F) (Rai *et al.*, 2002). En outre, un élément essentiel peut être également contaminant en cas de dépassement de sa concentration phytotoxique dans la plante (Willaert et Verloo, 1990).

### **IV.2.2. Phytotoxicité et teneurs admissibles**

Un métal est qualifié d'hyperaccumulé par une plante, lorsque la masse de ce dernier est supérieure à 1 g/kg (0,1 %) de la masse sèche de la plante dans les différents tissus de la plante (Baker et Brooks, 1989, cité par Moussavou, 2010). En outre, une plante est qualifiée d'hyperaccumulatrice lorsque cette dernière est capable d'accumuler dans sa partie aérienne une concentration 100 fois plus élevée qu'une plante non accumulatrice (Miler et Kochian, 2008).

Cependant, le cadmium et le plomb (n'ayant pas de rôle biologique par rapport aux plantes) peuvent être qualifiés d'hyperaccumulés à partir d'une quantité de masse supérieure ou égale à 0,1 g/kg (0,01 %) de la masse sèche de la plante. Le fer, le manganèse et le zinc étant des

oligoéléments des plantes, sont hyperaccumulés par une plante lorsque cette dernière contient dans sa masse sèche au moins 10 g/kg (1%) de ces éléments (Ladislav, 2011).

Les espèces hyper-accumulatrices de concentrations extrêmement élevées en métaux lourds ont une croissance relativement lente avec en général une faible biomasse (Zhu, 1999). L'absorption foliaire ou racinaire des ETM par les végétaux, induit la synthèse d'acides organiques, de protéines et de phytochélatines, des dérivées du métabolisme du glutathion qui peuvent stocker certains métaux en excès (Briat et Lebrun, 1999). Les phytochélatines sont une classe de peptides sur lesquels se fixent les métaux lourds. Ce phénomène d'absorption foliaire ou racinaire est considéré comme un mécanisme de tolérance et de détoxification des végétaux (Chardonens et *al.*, 1999 ; Kusaba et *al.*, 1996 ; Schmöger et *al.*, 2000). L'induction de la synthèse des phytochélatines est basée sur l'activation de la phytochélatine synthétase et non sous contrôle transcriptionnel (Hamer, 1986 cité par Kusaba et *al.*, 1996). La synthèse de cette forme de peptides est activée par la présence des ions  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ag}^{2+}$ ,  $\text{Hg}^{2+}$  et  $\text{Pb}^{2+}$  et témoigne de la présence d'un stress métallique (Schmöger et *al.*, 2000, Fournier, 2015).

L'absorption et la translocation des métaux non essentiels, tels que Ni, Cr et Pb, affectent le métabolisme à différents niveaux et deviennent très souvent toxiques pour la plante avec la perturbation du processus physiologique suite à une absorption exagérée par cette dernière (With et *al.*, 1981). Les teneurs dans la plante pour lesquelles une phytotoxicité est observée sont liées à l'espèce et à la variété, mais aussi aux conditions externes de la croissance (Willaert et Verloo, 1990).

### **IV.3. Mécanismes d'absorption des ETM par les plantes**

La phytoremédiation qui n'est rien d'autre que l'élimination des polluants organiques non biodégradables et des polluants inorganiques par les plantes pourrait encore être appelée phytoépuration. Elle 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. Les différentes techniques mises en œuvre par la plante sont basées sur les différents principes d'action tels que la phytoextraction, la phytostabilisation, la phytovolatilisation ou la phytodégradation (Conesa et *al.*, 2012). Ces processus ne sont pas mutuellement exclusifs et peuvent s'opérer simultanément (Pilon-Smits, 2005) ; il convient de bien distinguer leur fonctionnement propre. 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).

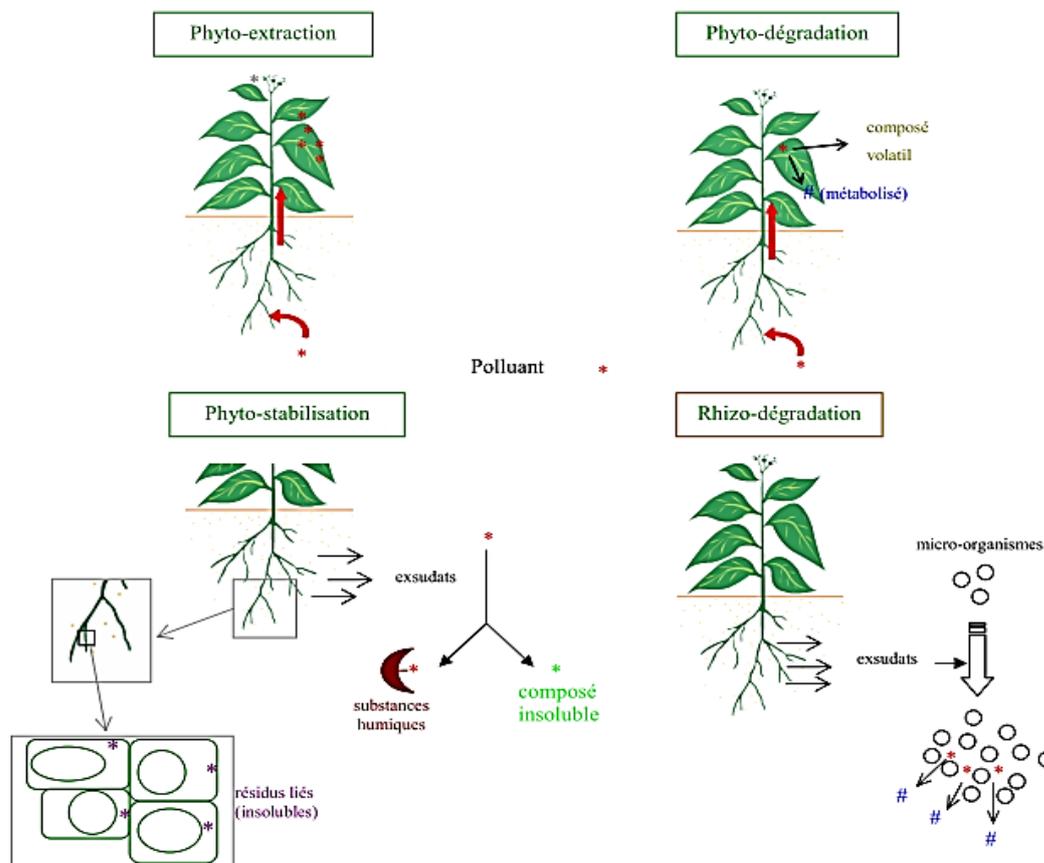


Figure 8 : Processus mis en œuvre par les plantes et contribuant à la phytoépuration (Vila, 2006)

#### IV.3.1. Phytoextraction

La phytoextraction encore appelée phytoaccumulation permet aux plantes de retirer les ETM et les métalloïdes disponibles et de les accumuler dans leurs parties aériennes que l'on peut récolter par la suite (Figure 9). Il en résulte une absorption et une accumulation des polluants dans les tissus aériens sans impliquer leur dégradation (Vila, 2006). Ce phénomène est beaucoup observé chez les ETM et au niveau de la matière organique difficilement biodégradable comme les perchlorates (Susarla *et al.*, 2002).

La phytoextraction est fonction de la capacité physiologique ou génétique des plantes. La plante absorbe les ETM en les solubilisant, en les acidifiant dans la rhizosphère ou en sécrétant des ligands capables de chélater les ions métalliques (Peer *et al.*, 2005). Elles se font souvent aider par les champignons mycorhiziens qui sont en symbiose avec les racines des plantes et aident à l'absorption des métaux quand leurs concentrations deviennent faibles tout en les aidant à la

phytotoxicité (Pilon-Smits, 2005). Certains mycorhizes sont directement impliqués dans la séquestration et l'absorption du zinc et du cadmium par des plantes exposées à des concentrations toxiques, augmentant ainsi leur potentiel de phytoremédiation (Giasson et *al.*, 2005).

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 (Figure 10). 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.

Ensuite on procède de façon régulière à une récolte de la biomasse pour retirer de façon permanente les contaminants du site pour éviter leur relargage dans l'environnement (Fiche phytotechnologie québécoise, 2016). La biomasse récoltée est communément incinérée en milieu contrôlé pour assurer une combustion optimale des gaz et permettre la récupération des cendres toxiques.

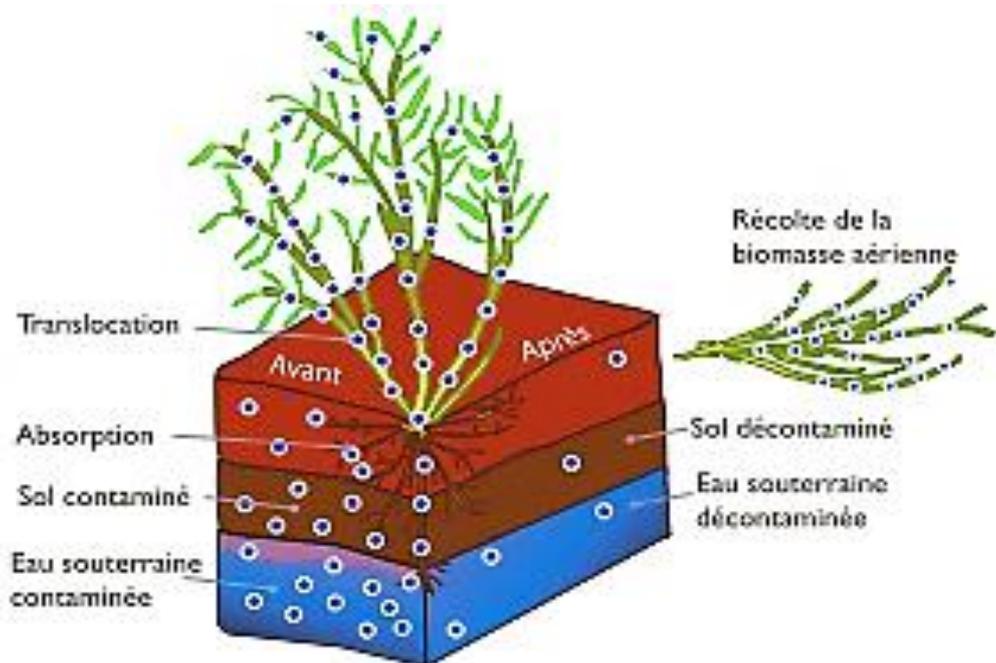


Figure 9 : Principe de la phytoextraction des éléments traces métalliques (Fiche phytotechnologie québécoise, 2016)

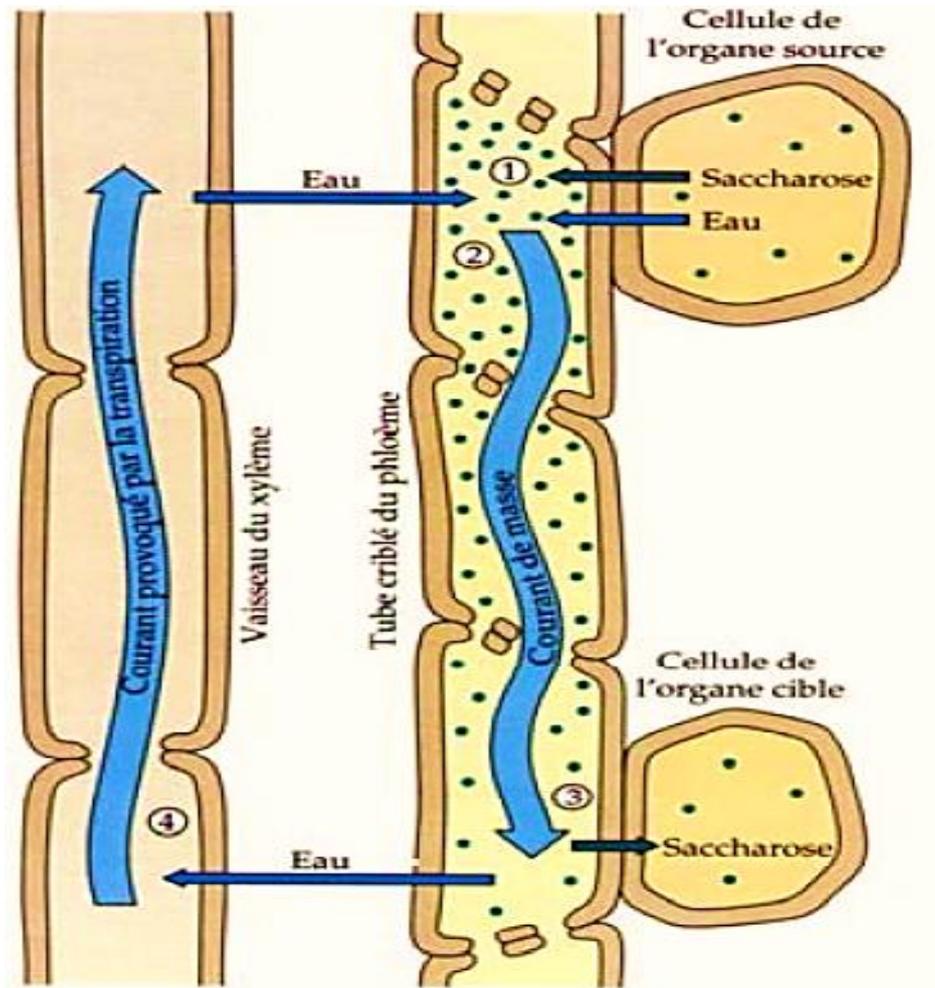


Figure 10 : Transport des éléments minéraux de la sève brute à la sève élaborée dans le xylème et le phloème (Meyer *et al.*, 2008)

#### IV.3.2. 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). Ainsi, dans le cas des solvants chlorés (comme le trichloroéthylène, TCE), les herbicides, les insecticides, les hydrocarbures et certains métalloïdes comme le mercure, l'arsenic et le sélénium, la phytovolatilisation est utilisée (Vishnoi et Srivastava, 2008). Par contre, des composants, comme le sélénium, doivent être transformés dans la plante avant d'être volatilisés (cette transformation diminue en même temps la toxicité des ETM pour la plante) (Pilon-Smits, 2005). 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. Par contre, le risque du transfert des polluants vers l'atmosphère doit être bien caractérisé avant d'entreprendre de la phytovolatilisation.

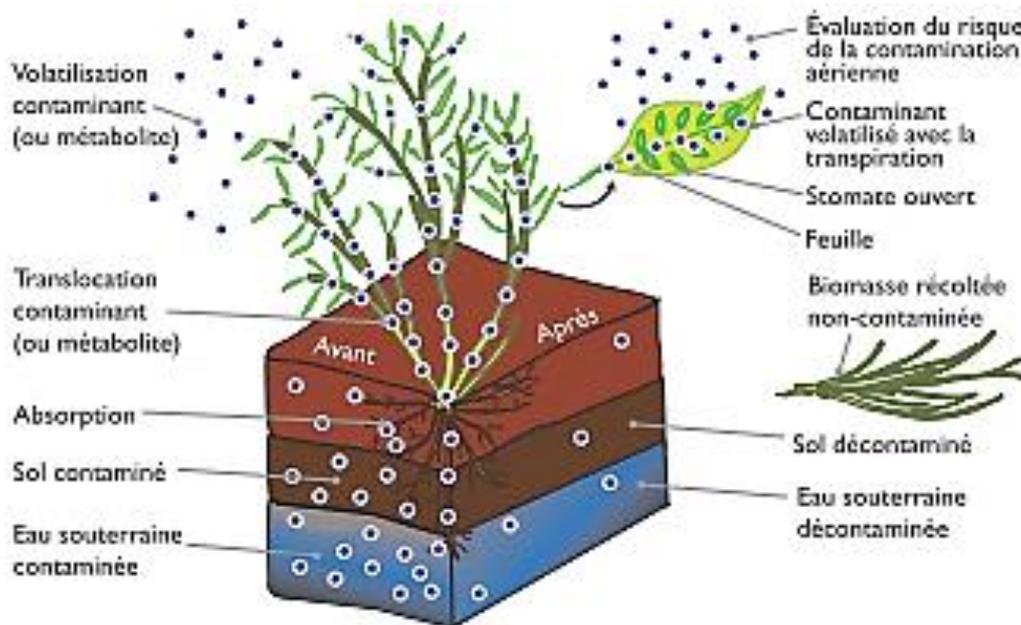


Figure 11 : Principe de la phytovolatilisation des éléments traces métalliques (*Fiche phytotechnologie québécoise, 2016*)

#### IV.3.3. 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. À travers leurs exsudats racinaires, les plantes induisent des changements avec 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 12). Ces exsudats racinaires servent également de source d'énergie pour l'activité des microorganismes (Kirk *et al.*, 2005). 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 (Glass, 1999).

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 (Glass, 1999 ; Pilon-Smits, 2005). La rhizofiltration peut utiliser des plantes aquatiques ou des plantes terrestres, et parfois une combinaison d'espèces ayant des propriétés complémentaires (Peer *et al.*, 2005). 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

(Pilon-Smits, 2005). La rhizofiltration peut prendre la forme d'un étang artificiel ou d'un système hydroponique (Pilon-Smits, 2005).

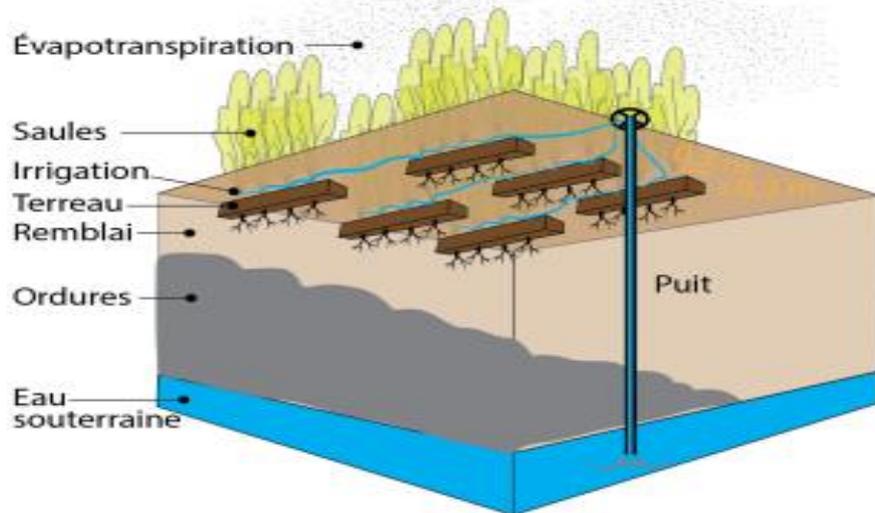


Figure 12 : Dispositif de rhizofiltration pour accéder aux contaminants en profondeur à Pointe-Saint Charles (Guidi *et al.*, 2014)

#### IV.4. Influence des différents paramètres sur la mobilité des métaux

##### IV.4.1. Influence du pH

La variation du pH influence beaucoup la mobilité des métaux (Alloway, 1995). L'augmentation du pH favorise l'adsorption des cations métalliques par échange ionique avec les ions  $H^+$ , sur certains sites de surface et leur précipitation sous forme d'hydroxydes, de carbonates et de sulfures des ions métalliques (Serpaud *et al.*, 1994 ; Lesoin, 1997 ; Blanchard, 2000 ; Sheoran et Sheoran, 2006). La plupart des métaux en condition neutre et alcaline présentent une mobilité respectivement basse et très basse (Tableau II).

De plus, un pH trop élevé ( $> 12$ ) peut favoriser la dissolution des acides humiques et augmenter la concentration dissoute en métal (Wu *et al.*, 2002). Ainsi, à pH acide, la solubilité des métaux est grande, elle diminue lorsque le pH augmente, puis passe par un minimum à pH neutre-alcalin et augmente de nouveau lorsque le métal se trouve sous forme anionique (Blanchard, 2000).

Tableau II : Mobilités relatives des métaux dans les sols en fonction du pH et du potentiel rédox (Förstner, 1985)

Mobilité relative	Potentiel rédox		pH	
	Réducteur	Oxydant	Neutre-alkalin	Acide
Très basse	Al, Cd, Cr, Cu, Pb	Al, Cr, Fe, Mn	Al, Cr, Cu, Ni	
Basse	Ni, Zn, Fe	Pb	Pb, Fe, Zn, Cd	Fe (III)
Moyenne	Mn	Ni, Cu, Cd, Zn	Mn	Al, Pb, Cu, Cr
Haute	-	-	-	Zn, Cd, Ni, Mn

#### IV.4.2. Influence du potentiel rédox

Le potentiel rédox peut influencer la mobilité des métaux de trois manières : par changement du degré d'oxydation du métal, ou changement d'état d'oxydation d'éléments se liant avec le métal ou par la formation ou la dissolution de phases porteuses des métaux (Guittonny-Phillip, 2014). La figure 13 montre les principaux éléments intervenant dans les processus d'oxydo-réduction. Lorsque la valeur du potentiel rédox est supérieure à zéro, le milieu est oxydant avec la formation d'espèces oxydées (accepteurs d'électrons). Par contre, lorsqu'elle est inférieure à zéro, le milieu est réducteur, il se forme des espèces réduites encore appelées donneurs d'électrons. Dans les milieux très réducteurs, on assiste à la formation de sulfures métalliques qui peuvent conduire à l'immobilisation de certains métaux comme le manganèse (Mn), le fer (Fe) et au piégeage des éléments qui ont d'affinité avec le soufre et l'oxygène tels que le zinc (Zn), l'arsenic (As), l'étain (Sn), le plomb (Pb), le cadmium (Cd), le cuivre (Cu) (Blanchard, 2000).

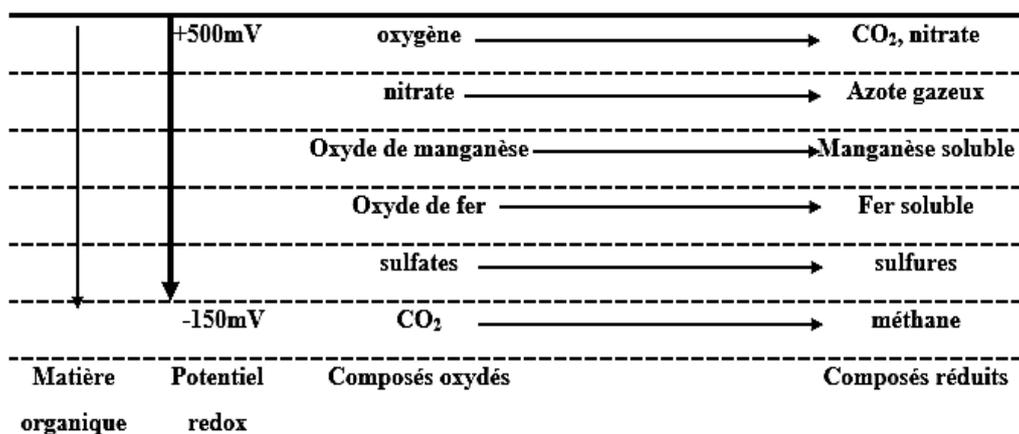


Figure 13 : Différentes réactions se produisant au cours des processus d'oxydo-réduction en milieux humides (Barnaud et Fustec, 2007)

#### **IV.4.3. Influence de la quantité de ligands disponibles**

Les carbonates, les chlorures, les hydroxydes ainsi que la matière organique dissoute dans les milieux aquatiques constituent des ligands capables de complexer les ions métalliques présents (Alloway, 1995 ; Le Goff et Bonnomet, 2004). La quantité de ligands disponibles est fonction de l'activité des microorganismes et des plantes qui relarguent dans la rhizosphère, une grande quantité de composés solubles et insolubles pouvant se lier aux métaux modifiant ainsi leur mobilité (Juste, 1988).

Dans cette partie, nous allons étudier la toxicité de certains métaux qui font l'objet de notre étude expérimentale, ces métaux sont : le cadmium (Cd) et le cuivre (Cu).

### **V. Etude des différents métaux considérés dans la présente étude**

#### **V.1. Cadmium**

Le cadmium est un élément chimique de symbole Cd et de numéro atomique 48 de masse atomique 112,4 g/mol (Walid, 2011). Il est un métal de transition blanc argenté avec des teintes bleues ayant des propriétés physiques proches de celle du zinc, du calcium et du mercure (Aba, 2012). Il fond à 320,9°C et bout à 767°C (Aba, 2012). Lors de l'ébullition du cadmium, il se dégage des vapeurs jaunes toxiques. Sa masse spécifique est de 8650 kg/m<sup>3</sup>. A cause de sa résistance à la corrosion atmosphérique, il est utilisé dans le revêtement des métaux ferreux (Aba, 2012). Il est divalent et se présente souvent sous la forme Cd<sup>2+</sup> dans l'environnement qui est vraisemblablement la seule valence du cadmium dans les systèmes aqueux (McLaughlin et Singh, 1999). En termes d'abondance sur l'écorce terrestre, il occupe la 67<sup>ème</sup> position, sa concentration est, de ce fait, faible dans la plupart des milieux (Burgat et *al.*, 1996).

##### **V.1.1. Cadmium dans l'environnement**

Le cadmium est distribué à la surface de la terre, soit associé au zinc, au plomb ou au cuivre, soit par l'activité volcanique (Clinisearch, 1992). Selon Swaine, 1955 cité par Rahmoune (1992), la lithosphère en contient 0,2 ppm en moyenne, principalement associé au Zn dans les minerais dans un rapport Cd/Zn compris entre 1/100 et 1/1000 (Vallee et Ulmer, 1972). La majeure partie du cadmium sert à la fabrication de piles avec une moindre quantité entrant dans la fabrication de stabilisants du plastique, de placages, de revêtement et de pigment. Un grand nombre d'effets nocifs sur la santé ont été associés à une exposition aiguë ou chronique au cadmium. Il est utilisé dans l'industrie nucléaire et dans la fabrication de semi-conducteurs (Clinisearch, 1992). Son omniprésence dans l'environnement en fait un élément dont les effets

sur les êtres vivants sont innombrables. Bien qu'il soit le plus souvent décrié comme un agent polluant, il peut, à faibles doses, être utilisé pour fractionner et stabiliser certaines protéines, ferretine, insuline, B-galactoglobuline (Vallee et Ulmer, 1972).

Le cadmium contamine l'environnement de diverses manières telles que les sources industrielle, agricole (à travers les retombées de poussières atmosphériques et les engrais minéraux) et du traitement des eaux usées (l'épandage de boues de stations d'épuration).

En terme d'exposition professionnelle, la valeur limite admise est de 50  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (Clinisearch, 1992), tandis que la Dose Hebdomadaire Tolérable (DHT) est de 7  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de poids corporel. Cette teneur s'accroît entre 1 et 4 fois plus dans les régions urbaines et industrialisées (Maxson et Vonkeman, 1992).

### **V.1.2. Bioaccumulation et effets du cadmium sur l'Homme**

Le cadmium n'est pas essentiel au développement des organismes animaux ou végétaux, mais est un élément bioaccumulable (Sémadi, 2010 ; Walid, 2011 ; Aba, 2012). Ses propriétés physique et chimique, proches de celles du zinc et du calcium, lui permettent de traverser les barrières biologiques et de s'accumuler dans les tissus (Walid, 2011). L'absorption du cadmium se fait par ingestion ou inhalation.

Le cadmium perturbe l'absorption du fer et du cuivre en entrant en compétition avec leurs transporteurs. Il se substitue au calcium et modifie la perméabilité membranaire cellulaire et intracellulaire. A l'intérieur de la cellule, du fait de sa forte affinité pour les groupements thiols, il inhibe les enzymes contenant du zinc et perturbe la fonction respiratoire, le cadmium inhibe l'ARN polymérase et perturbe la synthèse protéique au sein des êtres vivants (Leyral, 1998).

### **V.1.3. Effets du cadmium sur l'environnement**

Dans le cas du cadmium, les émissions dans l'air se déposent finalement sur le sol ou dans l'eau. Il peut se former des composés stables de chlorures solubles, pouvant être facilement absorbés par les plantes, qui à leur tour, sont consommées par les autres être vivants de la chaîne alimentaire, y compris l'Homme. A la fin de leur « vie », les organismes vivants sont chargés en Cd et finissent à nouveau dans le sol, l'air ou l'eau (Maxson et Vonkeman, 1992). Le risque de germination et la contamination des légumes est donc à prendre en compte.

#### **V.1.4. Effets du cadmium sur les plantes**

L'accumulation du cadmium ne s'effectue pas sous la forme d'une répartition homogène et est influencée par l'intensité du métabolisme, le stade de croissance et l'organe de stockage. Ainsi, les feuilles en croissance et ayant une forte transpiration contiendront davantage de Cd que les tiges, les organes de stockage, les fruits et les graines (Impens et Avril, 1992).

Lamoreaux et Chaney, 1977 avaient déjà identifié que le cadmium a un effet sur le transfert de l'eau dans la plante et réduit le diamètre des vaisseaux. En 1985, les travaux de Stobart et *al.*, ont montré comment l'ion  $Cd^{2+}$  constitue un inhibiteur de la production de la chlorophylle en affectant la synthèse de l'acide 5-aminolevulinique et le complexe ternaire de la protochlorophyllide réductase.

Le Cd s'accumule ainsi dans les tissus végétaux et provoque des retards de croissance, en inhibant la photosynthèse et en réduisant le transport des sels nutritifs (Piret et Kookan, 1979). La réduction de photosynthèse s'explique de plus par une diminution de l'ouverture des stomates (Rahmoune, 1992). L'excès de Cd induit alors une chlorose et ses symptômes de toxicité se manifestent par une coloration rouge de la nervure principale et apparition de taches rougeâtres et brunâtres répandues à travers le limbe, typiquement indicatrices de cette contamination excessive par le Cd (Parkpian et *al.*, 1998).

### **V.2. Cuivre**

Le Cuivre est l'un des métaux les plus employés à cause de ses propriétés physiques et particulièrement de sa conductibilité électrique et thermique. Il est utilisé dans la fabrication de matériels électriques (fils, enroulements de moteurs, dynamos, transformateurs), dans la plomberie, dans les équipements industriels, dans l'automobile et en chaudronnerie (Verloo, 2003). Sa concentration dans l'écorce terrestre est estimée d'environ 30 à 100 ppm (Bendada et Boulakradeche, 2011).

#### **V.2.1. Cuivre dans l'environnement**

Comme le cadmium, le cuivre est aussi présent dans les rejets industriels et dans les produits agroalimentaires (Jackson et *al.*, 1990). Le Cu entre dans l'environnement comme résultat de nombreuses activités anthropiques actuelles associées à l'utilisation du Cu. L'industrie minière et la transformation du Cu induisent la contamination des sols et des eaux (Sémadi, 2010).

Le transport par le vent des poussières de sol, les éruptions volcaniques, les décompositions végétales, les feux de forêts et les aérosols marins constituent les principales sources naturelles

d'exposition. Dans les eaux, le Cu provient pour la majeure partie de l'érosion des sols par les cours d'eau à hauteur de 68 %, de la contamination par le Sulfate de Cuivre à 13 % ; et des rejets d'eaux usées qui contiennent encore du Cuivre (Bendada et Boulakradeche, 2011).

### **V.2.2. Rôle du cuivre dans la plante**

Le Cuivre est un élément essentiel (oligo-élément) pour les êtres vivants et est impliqué dans de nombreuses voies métaboliques notamment pour la formation d'hémoglobine et la maturation des polynucléaires neutrophiles. Il est un co-facteur spécifique de nombreuses enzymes et métalloprotéines de structure. Cependant, le Cuivre en excès produit des radicaux libres responsables de lésions cellulaires au niveau de l'ADN et d'organites tels que les mitochondries ou les lysosomes (Pichard, 2003).

### **V.2.3. Phytotoxicité du cuivre apporté sur les feuilles**

Comme tous les métaux lourds, le cuivre présent dans l'atmosphère se dépose sur les parties aériennes, particulièrement les feuilles. Bien que le cuivre soit un élément essentiel pour les plantes, son accumulation excessive peut leur être nocif (Chen et Kao, 1999).

Le cuivre intervient dans la formation de réactions libres dans les chloroplastes isolés (Sandmann et Boger, 1984), dans les racines intactes (De Vos et *al.*, 1993), dans les feuilles détachées (Luna et *al.*, 1994) et dans les feuilles intactes (Wecks et Clijsters, 1996 cités par Chen et Kao, 1999). Le radical libre induisant une peroxydation lipidique est considéré comme étant un mécanisme important dans la sénescence des feuilles (Thompson et *al.*, 1987). Il apparaît que le cuivre, induisant la sénescence des feuilles, est associé à la peroxydation lipidique et que son excès dans la plante provoque l'augmentation du degré de peroxydation en réduisant l'activité de la catalase et de la glutathion réductase (Chen et Kao, 1999), ce qui constitue un stress.

## **Conclusion partielle**

La littérature a présenté différentes appellations des métaux parmi lesquelles il y a les « éléments traces métalliques » (ETM), appellation utilisée pour désigner les métaux lourds dans le présent travail. Les ETM existent en quatre catégories. D'abord la catégorie de ceux qui sont essentiels à la plante à faible et à forte concentration appelés respectivement les oligo-éléments et les macroéléments et ceux qui sont nuisibles à n'importe quelle concentration. Ensuite, il y a la catégorie des ETM qui sont essentiels pour un groupe de plantes tel que le sodium. Enfin, ceux qui n'ont aucun intérêt pour la plante appelés éléments toxiques. Les oligo-éléments, les macroéléments et ceux qui sont essentiels

---

pour une catégorie de plante le sont dans un intervalle bien défini. Cet intervalle phytotoxique est caractérisé par une limite inférieure (qui caractérise la carence) et une limite supérieure (qui traduit l'excès). En dehors de ces deux bornes, l'élément considéré est soit en carence, soit devient toxique pour la plante. Les sources de pollution de l'environnement par les ETM sont : les rejets industriels, les boues des stations d'épuration, les activités agricoles, les activités des industries agroalimentaires, papeteries et des activités anthropiques. Les plantes en général et les macrophytes en particulier sont utilisés dans l'élimination des polluants métalliques dont le cuivre et le cadmium. Les plantes utilisent divers mécanismes pour absorber les métaux tels que la phytoextraction, la phytostabilisation, la phytovolatilisation ou phytodégradation, la phytodégradation ou rhizodégradation, la phytoextraction ou rhizofiltration et la phytostabilisation. Les métaux absorbés par ces mécanismes, une fois dans la plante, restent soit au niveau des racines soit se retrouvent au niveau des tiges ou les feuilles par le phénomène de la translocation.

---

## CHAPITRE II. METABOLITES SECONDAIRES DES VEGETAUX

### Introduction

Les réactions biochimiques du métabolisme donnent deux grandes catégories de molécules appelées métabolites. Ces deux groupes de molécules sont : les métabolites primaires et les métabolites secondaires (Trease, 2002).

### I. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Les métabolites primaires sont caractérisés par leur nécessité vitale à la survie de la cellule ou de l'organisme ; ils sont répartis en trois sous-groupes que sont les glucides, les lipides et les amino-acides encore appelés acides aminés (Koné, 2009). Chacune de ces familles de métabolite primaire a un rôle bien défini. Les glucides représentent une source d'énergie surtout au niveau des parois cellulaires (cellulose). Quant aux lipides, ils constituent aussi une source d'énergie et présentent dans les membranes cellulaires. Les amino-acides représentent une source primaire de construction des protéines (Badiaga, 2012). Les acides nucléiques ont un rôle de transport des groupes d'atomes entre différentes réactions et des ARN et de l'ADN (Wimmer *et al.*, 1978). Contrairement aux métabolites primaires, les métabolites secondaires ne représentent pas une nécessité vitale pour la cellule ou l'organisme. Ils sont généralement synthétisés par la plante pour faire face aux diverses agressions extérieures. De ce fait, ils représentent le principe actif de défense de la plante. Ils sont en nombre élevé avec une variété structurale extraordinaire (Gbohaida, 2013).

### II. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils jouent différents rôles, dont celui de moyen de défense contre les agressions externes. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante. Ils ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans les relations avec les stress biotiques, abiotiques ou améliorent l'efficacité de reproduction. Ces métabolites secondaires sont répartis en trois grandes familles chimiques : les composés phénoliques qui sont issus de l'acide shikimique ou des dérivées d'acétate, les terpénoïdes et stéroïdes et la famille des composés azotés, encore appelés alcaloïdes (Djerdane, 2008 ; Badiaga, 2012).

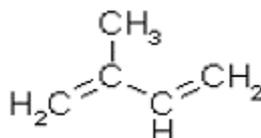
Les produits du métabolisme secondaire sont en très grand nombre (plus de 200.000 structures définies) et sont d'une variété structurale extraordinaire, mais sont produits en de très faibles quantités (Hartmann, 2007). Ces molécules marquent de manière originale, une espèce, une famille ou un genre de plantes et permettent parfois d'établir une taxonomie chimique. Les composés phénoliques, les terpénoïdes, les stéroïdes et les alcaloïdes sont des exemples de métabolites secondaires. Les métabolites secondaires sont encore connus sous l'appellation principes actifs.

## II.1. Terpénoïdes

Le nom terpénoïde est attribué à cette catégorie de métabolites secondaires à cause de leur origine d'isolement qu'est térébenthine qui provient du mot grec « terpentin ». Ils sont constitués par la polymérisation des unités à cinq atomes de carbones.

### II.1.1. Définition

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte : leur formule brute est  $(C_5H_x)_n$  dont le  $x$  est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule, et le  $n$  qui peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes où la valeur de  $n$  peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc) (Allinger, 1975 ; Malecky, 2008). La molécule de base est l'isoprène de formule brute  $C_5H_8$ , et de formule semi-développée



(Malecky, 2008)

Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques telles que les alcools, les aldéhydes, les cétones, les acides, les lactones, etc.

### II.1.2. Classification

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires tout comme les composés phénoliques et les alcaloïdes. Ils sont classés suivant le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène ( $n$ ) (Finar, 1994). On distingue les hémiterpènes ( $C_5$ ), monoterpènes ( $C_{10}$ ), sesquiterpènes ( $C_{15}$ ), diterpènes ( $C_{20}$ ), sesterpènes ( $C_{25}$ ), triterpènes ( $C_{30}$ ), tetraterpènes ( $C_{40}$ ) et polyterpènes (Malecky, 2008).

## **II.2. Alcaloïdes**

Le terme alcaloïde a été introduit par W. Meisner au début du XIX<sup>ème</sup> siècle. Les alcaloïdes sont des composés organiques naturels azotés plus ou moins basiques (Bruneton, 1999 ; Bahaz *et al.*, 2010). Selon leur structure moléculaire, ils sont subdivisés en plusieurs groupes dont : les phénylalanines, les alcaloïdes isoquinoléique et quinoléique (Barka *et al.*, 2009). Ils sont issus de la décarboxylation de certains acides aminés, des stéroïdes et des terpénoïdes et sont actifs dans la défense des plantes (Koné, 2009 ; Badiaga, 2012).

### **II.2.1. Définition**

Il n'existe pas de définition simple et précise des alcaloïdes et il est parfois difficile de situer les frontières qui les séparent des autres métabolites azotés naturels (Badiaga, 2012).

Néanmoins Bruneton les définit comme étant des substances organiques azotées d'origine végétale, à caractère alcalin et qui présentent une structure complexe (Bruneton, 2009). Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique (Waller, 1978 ; Roberts, 1998).

Ainsi, on divise les alcaloïdes en trois genres : les alcaloïdes vrais, les proto-alcaloïdes et les pseudo-alcaloïdes. Les alcaloïdes vrais sont des dérivées d'acides aminés et comportent un système hétérocyclique. Ils représentent le plus grand nombre d'alcaloïdes ; toxiques, ils disposent d'une large gamme d'activités biologiques importantes. Les pseudo-alcaloïdes, contrairement aux alcaloïdes vrais, ne sont pas des dérivées d'acides aminés mais présentent les mêmes caractéristiques que ces derniers. Ils sont des dérivées d'isoprénoïdes et sont qualifiés d'alcaloïdes terpéniques. Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique ; ils ont un caractère basique et sont élaborés *in vivo* à partir d'acides aminés. Ce qui leur confère le nom des amines biologiques (Badiaga, 2012).

### **II.2.2. Classification des alcaloïdes**

A cause de la diversité structurale et du grand nombre connu des alcaloïdes, leur classification devient difficile. Mais en fonction du nombre de cycles, on peut distinguer trois classes à savoir : les alcaloïdes à un cycle contenant l'atome d'azote, les alcaloïdes à deux cycles contenant l'atome d'azote et les hétérocycles aromatiques (Badiaga, 2012).

## **II.3. Composés phénoliques**

Les composés phénoliques ont tous en commun la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles, libres ou engagées dans une autre

fonction : éther, ester, ou hétéroside (Bruneton, 1999). Les composés phénoliques sont des dérivées du phénol ( $C_6H_5OH$ ) avec une vaste classe de substances organiques cycliques très variées, d'origine secondaire (Maamri, 2008). Ils forment un très vaste ensemble de substances qu'il est difficile de définir simplement.

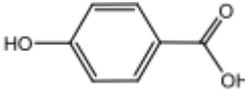
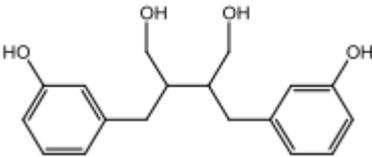
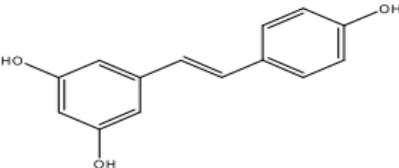
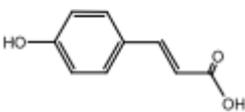
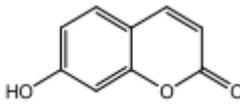
La structure des composés phénoliques naturels varie depuis les molécules simples, les acides phénoliques simples vers les molécules les plus hautement polymérisées et les tanins condensés (Gbohaida, 2013). Les composés phénoliques ont plus de 8000 structures phénoliques identifiées (Urquiaga et Leighton, 2000). Selon le nombre d'unités phénoliques présents, on les classe en composés phénoliques simples et polyphénols qui sont tous appelés, indifféremment, composés phénoliques ou polyphénols. Ils comprennent essentiellement les phénols simples, les acides phénoliques, les stilbènes, les flavonoïdes, les tanins hydrolysables et condensés, les coumarines, les lignanes, les lignines et les xanthones (Stalikas, 2007).

Les composés phénoliques peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes et lui permettre de résister aux diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes (Harrar, 2012). Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux (à des stress variés) et jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel (Macheix et *al.*, 2005). Ces composés résultent biogénétiquement du métabolisme secondaire des plantes par deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et la voie acétate (Lugasi et *al.*, 2003).

### ❖ Classification

Les polyphénols sont répartis en deux familles chimiques qui se différencient par la nature et la position des substituants fixés sur un squelette aromatique commun : les flavonoïdes et les non flavonoïdes. Le terme flavonoïde (ou bioflavonoïde) est attribué aux composés à structure phénylbenzopyrone (3 cycles) parmi lesquels on distingue les classes de polyphénols : les flavones, les flavonols, les isoflavones, les flavanes, les flavanones, les chalcones, les flavanols (flavane-3-ols et flavane-3,4-diols) et les anthocyanidines (partie aglycone des anthocyanes). On peut y ajouter les aures dont la structure diffère légèrement. Les non-flavonoïdes regroupent les phénols simples, les acides phénoliques, les stilbènes, les lignanes, les saponines, les phytostérols et les tanins. Nous allons développer par familles la classe de molécules ayant fait l'objet de notre étude. Ainsi, nous parlerons des tannins et des flavonoïdes respectivement pour la famille des non-flavonoïdes et celle des flavonoïdes. Le tableau III présente le résumé des propriétés des autres classes de cette famille.

Tableau III : Récapitulatif des caractéristiques des métabolites secondaires évalués

Classe	Squelette carboné	Définition	Structure chimique
Phénols simples	C6	Ils sont des composés renfermant une ou plusieurs unités phénoliques sans d'autre fonction particulière impliquant le (s) noyau(x) benzénique (s) (Koné, 2009)	
Acides hydroxybenzoïques	C6-C1	Ils sont des dérivés de l'acide benzoïque et qui existent souvent sous forme d'esters ou de glycosides (Harrar, 2012)	
(C6-C3)2	Lignanes	Présentés à l'origine par Haworth (1936) sont des dimères des unités de phénylpropane (Ayad, 2008)	 (Bahaz, 2007)
	Stilbènes	Les stilbènes sont des composés phénoliques contenant au minimum deux noyaux aromatiques reliés par une double liaison, formant un système conjugué (Bahaz, 2007)	 (Bahaz, 2007)
C6-C3	Acides hydroxycinnamiques	Ils sont des dérivés de l'acide cinnamique et existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques (Harrar, 2012)	
	Coumarines	Les coumarines sont des composés aromatiques dérivant de l'acide O-hydroxy-Z-cinnamique (Djerdane, 2008)	 (Macheix et al., 2005)

### II.3.1. Tannins

Les tannins sont des composés phénoliques très abondants chez les angiospermes, les gymnospermes et les dicotylédones (Harrar, 2012). Ces composés ont la capacité de se combiner et de précipiter les protéines. Ces combinaisons varient d'une protéine à une autre

selon les degrés d'affinités (Harborne, 1997). Le terme tannin vient de la source de tannins utilisée pour le tannage des peaux d'animaux en cuir (Bravo, 1998). Dans ce processus, les molécules de tannins se lient aux protéines par des liaisons résistantes aux attaques fongiques et bactériennes. Le poids moléculaire des tannins varie entre 500 et 2000 KDa (3000 pour les structures les plus complexes) (Hagerman et Butler, 1981).

Selon la structure, on a deux types de tannins : les tannins hydrolysables abondants dans angiospermes et les gymnospermes et les tannins condensés encore appelés proanthocyanidines qui sont abondants chez les plantes dicotylédones. Sous l'action de la lumière solaire et en présence de l'acide carbonique, le tanin 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.3.1.1. Tannins hydrolysables**

Les tannins hydrolysables sont formés de deux manières, soit par la combinaison de plusieurs acides galliques qui sont liés à un carbohydrate qui est généralement du glucose appelé gallotannins. Soit par accouplage des acides galliques voisins pour former les esters d'acide hexahydroxydiphénique qui sont appelés ellagitannins (Harrar, 2012). Ils s'hydrolysent facilement en milieu acide, basique et sous l'action enzymatique et dans de l'eau chaude (Koné, 2009).

Les gallotannins et les ellagitannins s'hydrolysent et peuvent être dégradés en fragments simples (acides phénols et sucres) (Harrar, 2012). L'acide gallique provient de la  $\beta$ -oxydation des composés C6-C3, comme l'acide coumarique ou les acides oxygénés correspondants. Mais, l'acide shikimique est considéré comme le meilleur précurseur (Seigler, 1998).

#### **II.3.1.2. Tannins condensés**

Les tanins condensés, appelés proanthocyanidines ou procyanidines, sont des polyphénols de masse molaire moléculaire élevée. Ils résultent de la polymérisation auto-oxydative ou enzymatique des unités de flavan-3-ol et/ou de flavan-3,4-diol liées majoritairement par les liaisons C4-C8 (parfois C4-C6) des unités adjacentes, et se nomment ainsi proanthocyanidines de type B (Koné, 2009). Lorsque la condensation se produit entre les unités adjacentes par la liaison C4 - C8 et par une liaison d'éther additionnelle entre C2 et C7, les proanthocyanidines sont dits de type A (Wollgast et Anklam, 2000 ; Dykes et Rooney, 2006).

Les deux groupes majeurs des proanthocyanidines (Figure 14) sont les procyanidines et les prodelphinidines. Les monomères constitutifs des procyanidines sont la catéchine et l'épicatéchine qui peuvent être substituées par l'acide gallique ou des sucres, généralement en position 3 ou plus rarement en position 7 (Harrar, 2012). Ainsi, la gallocatéchine et l'épigallocatéchine sont des monomères des prodelphinidines mais on peut également distinguer les monomères de la quercétine et de la myricétine (Andersen et Markham, 2006).

En s'hydrolysant, les tannins condensés ne donnent pas de composés simples comme le glucose ou les acides phénols comparativement aux tannins hydrolysables, mais plutôt des anthocyanidines (Andersen et Markham, 2006).

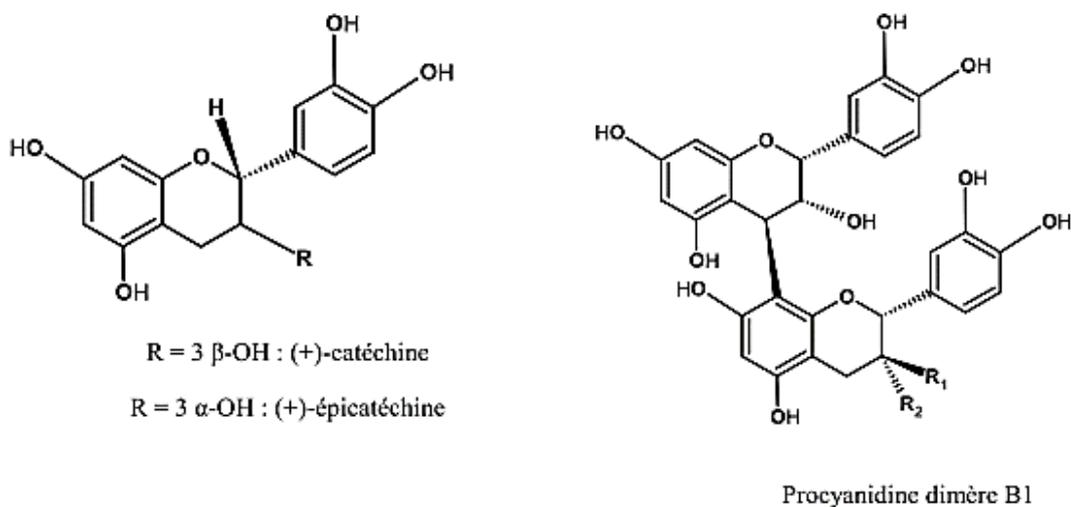


Figure 14 : Structure de la catéchine, de l'épicatéchine et d'un tannin condensé (proanthocyanidol) (Gbohaida, 2013)

### II.3.2. Flavonoïdes

Le nom flavonoïde proviendrait de flavedo, qui signifie la couche externe des écorces d'orange (Piquemal, 2008). Cependant d'autres auteurs tels que Male\_Év et Kunti\_ç, 2007 supposaient que ce dernier a été plutôt prêté au flavus qui veut dire jaune. Les flavonoïdes étaient longtemps confondus à la vitamine P, mais cela a été clarifié par Nijveldt et *al.*, 2001 que ces derniers sont des flavonoïdes et non des vitamines. Ils sont des substances généralement colorées répandues chez les végétaux qui sont dissoutes dans la vacuole à l'état d'hétérosides ou comme constituants de plastes particuliers, les chromoplastes (Guignard, 1996). Ils sont aussi considérés comme des pigments non photosynthétiques responsables de la pigmentation des plantes. Depuis l'avènement du bas taux de mortalité cardiovasculaire observé chez les habitants des régions méditerranéennes avec comme cause la consommation de vin rouge à une prise importante de

graisses saturées qui a connu la découverte du célèbre "french paradox", près de 4000 flavonoïdes ont été décrits (Ghedira, 2005).

Les plantes mettent en place un système de résistance pour combattre les effets de l'environnement et conserver leur forme attribuée aux flavonoïdes. Les flavonoïdes pourraient également permettre aux plantes de survivre sur les milieux riches en métaux toxiques. Ils jouent un rôle important dans la protection contre les UV en absorbant les radiations UV et en protégeant ainsi les tissus internes des tiges et des feuilles. Les flavonoïdes sont de puissants piègeurs des espèces réactives de l'oxygène (ROS) et préviennent ainsi la peroxydation des lipides (Treutter, 2005).

### II.3.2.1. Structure chimique et classification

La structure de base des flavonoïdes est le noyau du flavone (2-phenyl-benzo- $\gamma$ -pyrane), ils peuvent être divisés en plusieurs catégories selon l'hydroxylation du noyau du flavonoïde et aussi bien que du sucre lié (Harrar, 2012).

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune, et de ce fait, possèdent le même élément structural de base, à savoir l'enchaînement phenyl-2 chromane (Krishna *et al.*, 2001). Ils sont des composés polyphénoliques constitués de deux noyaux benzéniques A et B reliés par une chaîne en C3 (de trois atomes de carbone). Ils possèdent tous un squelette de base à quinze atomes de carbone constitué de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne à trois atomes de carbone (Figure 15) (Bamforth, 1999). Leur squelette hydrocarboné en C15 (séquence C6 -C3-C6) est à la base de plusieurs milliers de molécules que l'on regroupe en cinq grandes classes selon leur degré d'oxydation (Bamforth, 1999) à savoir les flavonols, les flavanones, les flavones, les anthocyanidines et les chalcones

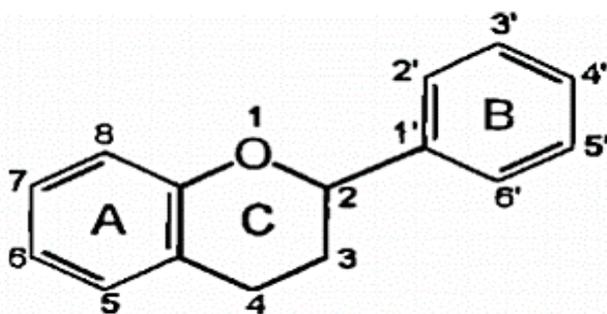


Figure 15 : Structure chimique de base des flavonoïdes (Krishna *et al.*, 2001)

### **II.3.2.2. Localisation et distribution des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal et contiennent environ 2% de la proportion du carbone photosynthétique global incorporé (Harrar, 2012). En effet, les flavonoïdes sont omniprésents dans les organes aériens jeunes où ils sont localisés dans les tissus superficiels (Remy et *al.*, 1996).

Au niveau cellulaire, les flavonoïdes ont été observés sous forme dissoute d'hétérosides dans le suc vacuolaire ou dans les chloroplastes et les membranes des végétaux (Harrar, 2012). Lorsque les flavonoïdes sont présents dans la cuticule foliaire, il s'agit presque toujours de génines libres dont la lipophilie est accrue par la méthylation partielle ou totale des groupes hydroxyles (Bruneton, 1993).

### **II.3.2.3. Quelques propriétés des flavonoïdes**

Les flavonoïdes protègent les plantes contre les radiations UV, elles sont également impliquées dans les processus de défense de la plante contre les infections bactériennes et virales. Ils agissent comme des pigments ou des co-pigments. Les flavonoïdes peuvent moduler la distribution d'auxine, fonctionnent comme des signaux moléculaires de reconnaissance entre les bactéries symbiotiques et les légumineuses. Les flavonoïdes facilitent à la fixation de l'azote moléculaire (Harrar, 2012). Egalement, ils régularisent l'élongation des tiges et interviennent dans la maturité des fruits (Subramanian et *al.*, 2007).

### **Conclusion partielle**

Les plantes regorgent deux types de métabolites, les métabolites primaires et les métabolites secondaires. Les premiers sont indispensables à la survie des plantes alors que les seconds sont secrétés par la plante pour se défendre contre toutes sortes d'agressions. Les métabolites sont constitués de trois grandes familles : la famille des stéroïdes et terpènes, celle des alcaloïdes et la famille des composés phénoliques. Chacune de ces familles a un rôle de défense pour la plante lorsqu'elle est exposée aux agressions extérieures telles que les agressions microbiologiques, la régulation des rayons ultraviolets émises par les rayons solaire, etc.

## **CHAPITRE III : MODELISATION ET OPTIMISATION PAR LA METHODOLOGIE DE RECHERCHE EXPERIMENTALE**

### **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'expérience permet d'optimiser l'organisation des essais afin de résumer les connaissances disponibles sous forme d'équations. Elle met en exergue le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt appelée réponse ou observation ( $y$ ) et des variables appelées facteurs ( $x_i$ ) (Chafik, 2014). Elle permet d'analyser le comportement des systèmes complexes, difficiles à étudier autrement (Martineau, 2005). 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. Selon Chafik (2014), les principaux avantages de la méthode des plans d'expériences sont entre autres :

- la diminution du nombre d'essais ;
- la possibilité d'étudier un grand nombre de facteurs sans multiplier exagérément le nombre des essais ;
- la détection des interactions entre facteurs ;
- la modélisation des réponses étudiées et
- une précision optimale des résultats.

### **I. Généralités sur les plans d'expérience**

Utilisée pour la première fois par le mathématicien britannique Sir Ronald Fisher vers les années 1930, la méthode des plans d'expérience a servi à quantifier l'effet des facteurs contrôlés par l'expérimentateur dans de nombreux domaines (Fisher, 1949). Ce fut par la suite le tour des statisticiens tels que Yates en 1937, Cochran en 1957, Plackett et Burmann en 1946 d'enrichir et de participer à la vulgarisation de cette méthode qu'est le plan d'expérience. En 1978, Box et Hunter, se sont inspirés des travaux de Yates pour mettre en œuvre le plan d'expérience fractionnaires qui est un plan de criblage. Avec comme corollaire dans les années 1960, l'introduction des modèles de surfaces de réponses associés à des plans de degré deux comme les plans composites.

Dans la quête de qualité industrielle, Taguchi et Masuyama ont élaboré des tables qui permettent de construire des plans d'expérience adaptés à la majorité des problèmes dans les industries au Japon (Taguchi, 1986 ; Taguchi et Konishi, 1987). Dès 1985, Taguchi a eu le mérite d'utiliser les plans d'expérience dans le domaine de la recherche fondamentale. A travers ses travaux, les plans d'expérience furent répandus aux Etats Unis. De nos jours, cet outil apparaît comme une technique efficace de référence, pour tout industriel soucieux d'améliorer la qualité de ses produits, et pour tout chercheur soucieux d'améliorer les résultats de ses recherches (Chafik, 2014).

Il existe deux catégories de plans d'expérience : les plans d'optimisation et les plans de criblage. On distingue plusieurs méthodes d'optimisation, notamment la méthode du simplexe, le plan fractionnaire complet, le plan factoriel complet, le plan composite complet, les plans de Doehlert, les plans de Box-Behnken, les plans hybrides, etc (Zran, 2015). Comme plan de criblage, on peut citer entre autres le plan de Hardamard avec certains de ses plans d'optimisation tels que le plan factoriel complet, le plan factoriel fractionnaire et les plans de Doehlert.

La modélisation qui fait partie de l'un des attributs de la méthodologie des plans d'expériences facilite la mise sous forme d'équations des connaissances disponibles et permet d'analyser le comportement de systèmes complexes difficiles à étudier (Martineau et Saugier, 2006). Elle met en relation deux mondes complémentaires à savoir le monde de la théorie et celui réel ou expérimental (Joshua et Dupin, 1984). Il existe plusieurs types de modèles selon le domaine. L'attention sera ici portée sur les modèles mathématiques, qui mettent en relations les entrées et les sorties du processus étudié par des équations. Les modèles mathématiques sont qualifiés de statique, de dynamique à temps continu ou de dynamique à temps discret lorsque les équations qui les constituent sont des équations algébriques, avec respectivement des équations différentielles ou des équations différentielles récurrentes (Martineau et Saugier, 2006). Ils sont classés selon leur mode de conception ou selon leur mode d'utilisation. Trois types de modèles existent selon le mode de conception et deux types selon le mode d'utilisation respectivement les modèles de connaissance, les modèles boîte grise, les modèles boîte noire, les modèles de simulation et ceux de prédiction (Zran, 2015).

### **I.1. Clarifications conceptuelles**

Les plans d'expérience ont un vocabulaire et une terminologie qu'il est nécessaire de définir.

### **I.1.1. Réponse**

La réponse encore appelée grandeur d'intérêt constitue la grandeur à laquelle l'expérimentateur s'intéresse (Goupy, 2006). Elle obéit à des règles mathématiques. Elle est une grandeur toujours numérique ayant à la fois une seule réponse observée. Parfois, l'on peut avoir des techniques de planification multi-réponses (Anizon et *al.*, 2003). La valeur d'une réponse ne peut être modifiée que de manière indirecte en faisant varier les facteurs (Boudissa, 2010). Pour calculer la pente de la droite réponse, il suffit d'avoir deux mesures de la réponse puisqu'une droite est parfaitement définie si on connaît deux de ses points (Feinberg, 1996).

### **I.1.2. Facteurs**

Les facteurs sont les variables contrôlables sur lesquelles l'expérimentateur peut agir et qui sont susceptibles d'influencer la réponse (Tinson, 2010). La différence fondamentale entre la notion classique de variable et celle de facteur tient donc au fait que tout facteur doit pouvoir être modifié sans difficulté (Zran, 2015). Un facteur peut être qualitatif ou quantitatif, continu ou discontinu, contrôlable ou incontrôlable (Walter, 2010). Selon Massart et *al.* (1988), les facteurs contrôlés sont des facteurs pour lesquels on peut imposer des valeurs qui sont les niveaux de variation.

Les facteurs incontrôlables sont des variables perturbatrices difficiles à maîtriser. Ils constituent la source d'une erreur expérimentale aléatoire qui est notée « e », et sont à la base du fait qu'on n'observe pas toujours la même valeur d'une réponse lorsqu'on réalise deux essais parfaitement identiques (Zran, 2015). La M.R.E permet d'atténuer leurs effets ou de carrément s'en affranchir.

Les facteurs quantitatifs ou continus sont ceux naturellement exprimés à l'aide de valeurs numériques (pression, température, durée, etc) et pour lesquels l'on peut définir un domaine expérimental d'intérêt. Quant aux facteurs qualitatifs ou discrets, ils ne sont pas exprimés à l'aide de valeurs numériques (couleur, type de matériau, sexe, etc.).

Lorsqu'un facteur varie on dit qu'il change de niveau. La connaissance de l'ensemble de tous les niveaux utilisés par chaque facteur est nécessaire pour la réalisation des expériences.

### **I.1.3. Domaine expérimental**

Le facteur étudié varie entre une borne inférieure (le niveau bas) et une borne supérieure (le niveau haut). Cette plage de variation autorisée pour le facteur est appelée domaine expérimental et est définie par le spécialiste du phénomène étudié ou l'expérimentateur. Afin

d'avoir une représentation commune pour tous les facteurs, par convention, le niveau bas est noté par -1 et le niveau haut par +1 (Boudissa, 2010). Ces variables sont dites codées, normées ou centrées réduites.

#### **I.1.4. Matrice d'expérience**

La matrice d'expériences ou plan d'expérience représente la forme codée ou normée de l'ensemble des expériences à réaliser. Elle comprend N lignes correspondant à N expériences à réaliser, et k colonnes correspondant à k facteurs à faire varier (Boudissa, 2010).

#### **I.1.5. Plan d'expérimentation**

La matrice d'expérimentation ou plan d'expérimentation correspond au décodage de la matrice d'expériences. Elle prend en compte la valeur réelle de chacun des facteurs et constitue la matrice directement réalisable par l'expérimentateur (Boudissa, 2010).

### **I.2. Criblage de facteurs**

Le criblage (ou screening en anglais) est une technique qui permet d'identifier rapidement les facteurs qui influenceraient sur une réponse donnée et ceux qui le sont réellement (Boudissa, 2010). En d'autres termes, dans un lot de facteurs qui sont sensés influencer un phénomène, ceux dont on ne peut s'en passer.

#### **I.2.1. Etude quantitative de facteurs**

L'étude quantitative de facteurs des plans d'expériences, contrairement à la stratégie classique qui consiste à faire varier un facteur à la fois tout en gardant les autres constants avec un nombre élevé d'essai, permet d'avoir les informations désirées avec un minimum d'essais (Karam, 2004). Elle prend en compte l'étude des interactions entre les facteurs qui sont complètement ignorées par la stratégie classique.

#### **I.2.2. Etude quantitative des réponses**

Encore appelée l'optimisation, l'étude quantitative des réponses utilise une relation empirique qui permet, en tout point du domaine expérimental, de déterminer la valeur de la réponse sans être obligé de faire recours aux essais (Boudissa, 2010). Elle permet à l'expérimentateur d'accéder aux conditions expérimentales correspondant à un optimum (maximum ou minimum) de la réponse étudiée. L'optimisation permet également d'affirmer, avec un risque d'erreur raisonnable, qu'il n'existe pas d'autres conditions qui conduisent à une meilleure valeur de la réponse dans le domaine exploré (Yao et *al.*, 2001).

Dans un mélange, la somme des facteurs qui représente les proportions des divers constituants d'une formule est toujours égale à l'unité. De plus, l'indépendance qui existe entre les facteurs dans les surfaces de réponses n'existe plus au niveau d'un mélange.

## II. Notion de plan d'expérience

Les plans d'expérience sont essentiellement constitués d'une stratégie de planification d'expériences pour obtenir des conclusions adéquates de manière efficace et économique (Karam, 2004). Ils permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Avec les plans d'expérience, on obtient le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences. Pour cela, il faut suivre des règles mathématiques et adopter une démarche rigoureuse (Box et *al.*, 2005). La méthodologie des plans d'expérience se base sur le fait qu'une expérience convenablement organisée, conduit fréquemment à une analyse et à une interprétation statistique relativement simple des résultats (Karam, 2004).

La mise en œuvre des plans d'expérience nécessite deux grandes étapes telles que l'étape de la planification des expériences et celle de l'analyse des données. L'expérimentateur impose aux différents facteurs qui influencent le phénomène à étudier, des variations qu'il estime pertinentes et mesure les variations induites des réponses. Il est basé sur des outils statistiques permettant de mettre en évidence les relations entre les paramètres et leurs effets sur le phénomène étudié. L'expérimentateur établit ainsi une relation de cause à effet entre certains paramètres et les réponses qui caractérisent les résultats du phénomène (Zran, 2015). Les plans d'expérience sont ainsi qualifiés de « boîte noire », dans laquelle, on entre des éléments appelés facteurs et l'on a une ou plusieurs observation (s) appelée (s) réponse (s) "Y" (figure 1).

L'analyse des données (ou l'étape d'identification) des effets principaux et les effets des interactions influence la/les réponse(s) observée(s). Pour cela, certains outils d'aide à l'interprétation sont utilisés tels que l'approche de lenth et la loi Normal Plot et Half Plot (Boudissa, 2010). Ces outils utilisant les différentes propriétés des distributions de la loi normale conduisent aux limites de signification des effets calculés.



Figure 16 : Schéma de la boîte noire

## **II.1.Méthodologie des plans d'expérience**

Toutes les catégories de plan d'expérience utilisent la même méthodologie qui est en cinq étapes, avec la quatrième étape qui comprend quatre sous étapes. Ces cinq étapes sont les suivantes :

### **❖ Etape de la définition de l'objectif**

L'étape de la définition de l'objectif du phénomène à étudier constitue la première étape de la méthodologie des plans d'expérience. Elle est l'étape d'identification de la stratégie à adopter pour apporter des informations permettant de répondre à l'objectif fixé. Cinq classes d'objectifs existent : la recherche exploratoire, le criblage des facteurs, l'étude quantitative des facteurs, l'étude quantitative des réponses et l'étude du mélange des facteurs.

### **❖ Choix des réponses**

L'étape du choix des réponses qui constitue la deuxième étape de la méthodologie des plans d'expérience est l'étape d'identification des différentes observations que l'expérimentateur souhaite évaluer. L'expérimentateur les choisit en tenant compte de ses connaissances du phénomène et en s'inspirant de la littérature.

### **❖ Choix des facteurs et de domaine expérimental d'intérêt.**

Elle constitue la troisième étape de la méthodologie des plans d'expériences. Elle est l'étape d'identification des différents facteurs que l'expérimentateur a désigné comme ceux ayant d'effet sur le phénomène avec leur domaine de validité.

### **❖ Etablissement de la stratégie expérimentale**

Cette quatrième étape est constituée des quatre sous étapes de la construction de la matrice d'expérience, de la construction du plan d'expérimentation, de la réalisation de l'expérimentation et du calcul des estimations des informations recherchées.

### **❖ Interprétation des résultats**

L'étape de l'interprétation des résultats est la dernière étape de la méthodologie. Elle constitue l'étape de la valorisation des résultats issus des différents essais afin d'aboutir au modèle qui régit le phénomène étudié dans le domaine d'étude.

## II.2. Etude de quelques plans d'expériences

### II.2.1. Plans de degré 1 : Plan Factoriel Complet

Les plans d'expériences factoriels complets sont des matrices qui sont constituées de toutes les combinaisons possibles des modalités prises par chaque facteur (Karam, 2004). 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'essais à réaliser où  $k$  représente le nombre de facteur. Dans le cas où la modalité varie d'un facteur à un autre au sein du nombre de facteur  $k$ , le nombre d'essai  $N$  est égal au produit de la combinaison des sous nombres d'essai. Ainsi,  $N = s_1^{k_1} s_2^{k_2} \dots s_i^{k_i}$  (Karam, 2004), avec :

- $k_1$  le nombre de facteur ayant  $s_1$  modalités,
- $k_2 =$  le nombre de facteur ayant  $s_2$  modalités et
- ✓  $k_i =$  le nombre de facteur ayant  $s_i$  modalités ....

Prenons un exemple où le nombre de facteur  $k = 4$  ( $X_1, X_2, X_3, X_4$ ).

$X_1$ est un facteur à 3 modalités ( $s_1 = 3$ )	$k_1 = 2$ (1 facteur à 2 modalités)
$X_2$ est un facteur à 2 modalités ( $s_2 = 2$ )	$k_2 = 3$ (3 facteurs à 3 modalités)
$X_3$ est un facteur à 3 modalités ( $s_3 = 3$ )	$N = 2^1 \times 3^3$
$X_4$ est un facteur à 3 modalités ( $s_4 = 3$ )	$N = 54$ combinaisons

Les plans factoriels complets sont constitués d'une étape dans l'étude quantitative de réponses et sont caractérisés par un nombre de facteurs réduit au maximum avec des possibilités de prendre en compte les diverses interactions (Yao et *al.*, 2001). La justification de cette méthode statistique réside dans sa facilité de mise en œuvre. Les plans factoriels complets utilisent certaines méthodes statistiques qui facilitent leur mise en œuvre avec l'élaboration de modèles mathématiques prévisionnels qui conduisent à l'optimale d'expérimentation (Feinberg, 1996).

Les matrices factorielles complètes utilisent l'algorithme de Yates dans la construction de leur matrice d'expérience et se remplit de la manière suivante :

- le démarrage de remplissage de chaque colonne par (-1) ;
- l'alternance des (-1) et (1) pour toutes les  $2^{j-1}$  lignes de la  $j^{\text{ème}}$  colonne avec l'ajout d'une ou de plusieurs colonne(s) pour le report des résultats expérimentaux ( $Y_i$ ) (Boudissa, 2010).

### ❖ Modèle polynomiale et estimation des effets

Les matrices d'expérience permettent de calculer les effets moyens et principaux des facteurs, leurs interactions 2 à 2, 3 à 3, etc. jusqu'à l'interaction générale entre les k facteurs. Le modèle polynomial du premier degré suivant est utilisé avec la méthode de régression linéaire multiple dite des moindres carrés (Zran, 2015) (Eq.1) :

$$Y = \mathbf{b}_0 + \sum \mathbf{b}_i \mathbf{X}_i + \sum \mathbf{b}_{ij} \mathbf{X}_i \mathbf{X}_j + \sum \mathbf{b}_{ijk} \mathbf{X}_i \mathbf{X}_j \mathbf{X}_k + \dots + \dots \quad \text{Eq. 1}$$

Y représente la réponse mesurée

$X_i$  est le niveau du facteur attribué au facteur i

$X_i X_j$  représente le niveau de l'interaction entre les facteurs i et j

$X_i X_j X_k$  représente le niveau de l'interaction entre les facteurs i, j et k

$b_0, b_i, b_{ij}, b_{ijk}$  sont les coefficients du modèle calculés en utilisant les résultats des expériences

La réponse peut aussi se mettre sous la forme matricielle :  $\mathbf{Y} = \mathbf{X} \cdot \mathbf{b}$  avec

Y : la matrice colonne des réponses ;

X : la matrice du modèle ou des effets ;

b : la matrice colonne des effets qui sont à calculer. Ainsi, la matrice des effets et ou interaction est le produit de la transposé de la matrice du modèle ou des effets par la matrice colonne des réponses ( $\mathbf{b} = \mathbf{X}^{-1} \mathbf{Y}$ ).

Il est à rappeler que les matrices factorielles, tout comme les matrices factorielles fractionnaires, conduisent à des modèles de premier degré et que la matrice de Hardamard constitue également un cas particulier des modèles du premier degré. Cependant, lorsque l'hypothèse de linéarité n'est plus respectée, un modèle de premier degré n'est plus approprié pour étudier un phénomène, d'où l'intérêt des modèles de second degré (Feinberg, 1996).

### II.2.2. Plans du second degré : Plans composites

Les plans composites sont des plans du degré 2 donnant des modèles de second degré. Le plan d'expérience le plus utilisé dans cette catégorie est le plan central composite (PCC) qui est généralement appelé plan composite (Zran, 2015). Il facilite la prévision des qualités optimales de la réponse calculée en tout point du domaine d'étude (Box et Hunter, 1978 ; Britel et *al.*, 2006). Sa matrice d'expérience dénommée matrice composite est constituée de trois parties :

- un plan factoriel à deux niveaux ;
- des points axiaux situés sur les axes de chacun des facteurs, qui sont encore appelés matrice étoile ;
- un ou plusieurs points expérimentaux au centre du domaine.

Pour ce type de plan, chaque facteur est à (5) niveaux : -r, -1, 0, +1 et +r. Contrairement aux plans factoriels complets, le domaine expérimental est ici délimité par le rayon r 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 (tableau I).

Les matrices composites permettent d'estimer les coefficients d'un modèle mathématique polynômial du second degré (Eq.2). Ces coefficients sont en réalité les effets des différents facteurs.

$$Y = b_0 + \sum b_i X_i + \sum b_{ij} X_i X_j + \sum a_{ij} X^2 \quad \text{Eq. 2}$$

Avec :

$b_0$  le coefficient de l'effet moyen ;

$b_i$  le coefficient des effets principaux ;

$b_{ij}$  le coefficient des effets d'interaction d'ordre 2 ;

$a_{ij}$  le coefficient des effets dits quadratiques ;

$X_i$  les variables codées des facteurs.

Le calcul de ces différents coefficients s'effectue de deux manières soit à partir de la méthode de régression linéaire afin de permettre l'estimation de tous ceux-ci, soit à partir de certains logiciels spécifiques aux plans d'expérience.

Tableau IV : Principe de construction du plan composite (Zran, 2015)

Nombre de facteurs	Nombre d'essais factoriels	Nombre d'essais en étoile	Rayon des points en étoile	Nombre d'essais au centre
2	4	4	1,414	3 ou 5
3	8	6	1,682	3 ou 6
3	8	12	1,414	3 ou 7
4	16	8	2,000	2 ou 7
4	16	16	1,682	3 ou 9
5	32	10	2,378	4 ou 10
5	16	10	2,000	2 ou 6
6	64	12	2,828	3 ou 15
6	32	12	2,378	3 ou 9

### II.3. Traitement des données et outils d'aide à l'interprétation

Le traitement des données ou le calcul des coefficients peut se faire soit à partir de logiciels, 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 (Goupy, 1992 ; Morineau et Chatelin, 2005). Mais, l'utilisation du logiciel est plus adaptée pour effectuer non seulement le calcul des coefficients, mais aussi pour avoir certains outils statistiques tels que le coefficient de détermination. Les écarts-types des réponses et des coefficients, p-value, qui permettent d'évaluer la qualité du modèle mathématique et l'interprétation des résultats (Zran, 2015). Certains logiciels existent, facilitent l'exécution des plans d'expérience et permettent d'effectuer les analyses de variance, de tracer des courbes d'isorréponses, la construction des surfaces de réponses et la détermination des zones d'intérêt. A ce titre, ils constituent des outils indispensables pour l'interprétation des résultats du plan (Goupy, 2006). Nous pouvons citer entre autres : JMP, Statistica, Minitab, Statgraphics, Unscrambler, Pirouette, Modde, MATLAB et NEMRODW, etc. (Yao et al., 2001 ; Britel et al., 2006 ; Goupy, 2006 ; Fanou, 2007, Walter et al., 2010, Zran, 2015). Celui qui est uniquement dédié à la construction et à l'analyse des plans d'expérience est NEMRODW.

Les outils d'aide à l'interprétation sont utilisés pour identifier les effets principaux et les effets des interactions qui impactent la (les) réponse (s) observée (s). Ces outils utilisent les différentes

propriétés de distribution de la loi normale pour déduire la significativité des effets calculés. Au niveau de ces outils, l'erreur expérimentale est considérée comme une variable aléatoire qui est distribuée selon une loi normale (Boudissa, 2010). Deux approches sont mises en œuvre par ces outils à savoir : l'approche de Lenth et l'approche de la Normal Plot et Half Plot.

### II.3.1. Approche de Lenth

Lenth a mis au point une méthode qui permet d'estimer le pseudo écart-type des estimations des coefficients calculés (Lenth, 1989). Soit  $b_j$  le coefficient calculé,  $b_j = \beta_j + e_j$  avec  $\beta_j$  la valeur théoriquement vraie du coefficient  $j$ ,  $e_j$  l'erreur expérimentale. Lenth a supposé qu'aucun facteur n'est actif car les  $\beta_j$  sont nuls. Si  $\beta_j$  est nul,  $b_j = e_j$ , avec les  $b_j$  qui sont distribués selon une loi normale autour de zéro comme l'erreur  $e_j$ .

Lenth a utilisé l'approche précédente pour démontrer le lien qui existe entre la médiane des valeurs absolues des coefficients ( $b_j$ ) et l'écart-type :

$S_0 = 1,5 * \text{médiane}|b_j|$  où  $S_0$  représente le pseudo écart-type noté PSE et  $|b_j|$  la valeur absolue des  $b_j$ .

Pour éliminer les effets qui ne respectent pas l'hypothèse de normalité, Lenth choisit de ne considérer que les effets ayant une probabilité inférieure à 0,5%. Avec les effets restants ( $b_j < 2,5 * S_0$ ), il calcule la nouvelle médiane et le nouveau pseudo écart-type et ainsi de suite jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de coefficient à éliminer. Le PSE correspond à la valeur de  $S_0$  trouvée à la dernière itération. Les limites de significativité sont calculées à l'aide de la relation :

**Limites** =  $\pm t_{\alpha,d} * \text{PSE}$  Avec

- $\alpha$  le seuil de significativité qui est généralement de 5% et
- $d$  le nombre d'effets restants/3.

Par ailleurs, le traitement fait avec le logiciel NEMRODW, la valeur  $t$  de Student avec le nombre  $d$  sont générés. La valeur de  $d$  générée par ce dernier est en entier ; or arrondir  $d$  à un entier permet d'accéder aux limites avec une bonne approximation (Boudissa, 2010).

### II.3.2. Approche de Normal Plot et Half Plot

Comme dans l'approche de Lenth, tous les effets sont considérés comme distribués selon une loi normale autour de zéro  $b_j = e_j$ , alors les graphes Normal Plot et Half Plot permettent de tester la répartition des valeurs de ces effets.

La construction du Normal Plot se fait de la manière suivante :

On ordonne les valeurs des effets dans l'ordre croissant en affectant à chaque effet son rang  $j$  ( $j = 1, 2, \dots, k$ ). La valeur des effets constitue l'abscisse du graphe ;

On calcule la fréquence correspondant au rang  $j$  à l'aide de la relation :

$$P = \frac{j-0,5}{k}$$

On obtient l'ordonnée du graphe en déterminant l'inverse de la fonction de répartition de la loi normale centrée réduite  $F^{-1} = \frac{P+1}{2}$

Les effets respectant la normalité se retrouvent alignés sur une droite. Les points qui s'écartent de la droite correspondent aux effets probablement actifs.

Pour la construction du Half Plot, on adopte la même démarche mais le classement se fait avec la valeur absolue des valeurs des effets. Les deux graphes conduisent à la même conclusion d'identification des effets probablement actifs.

Deux sortes de modélisation existent : la modélisation statistique et celle physique. La modélisation statistique qui utilise les plans d'expérience est déjà présentée. Le résumé de quelques modèles empiriques dits physiques se fera à travers l'étude de quelques modèles cinétiques.

### **III. Etat de l'art de quelques modèles cinétiques de croissance des plantes**

La modélisation des processus épuratoires dans les bassins de lagunage est un sujet toujours d'actualité. La plupart des modèles identifiés dans un contexte donné ne peuvent pas prendre en compte de façon exhaustive l'ensemble de paramètres physico-chimiques, écologiques, biologiques et microbiologiques qui influencent les réactions mises en jeu (Koné, 2002). L'abondance et la complexité des processus mis en jeu dans le lagunage rendent ainsi difficile l'élaboration d'un modèle de prédiction de l'abattement des charges polluantes. Les modèles existants de par la littérature (Vincent et *al.*, 1962 ; Marais, 1966 ; McGarry et Pescod, 1970 ; Mara, 1976 ; Arceivala, 1981 ; Eckenfelder, 1982 ; Polprasert et *al.*, 1983 ; Mara, 1987, 1997 ; Mara et Pearson, 1998) ont été établis par ces auteurs sur des bases principalement empiriques et sont peu satisfaisants du point de vue de la compréhension des processus épuratoires dans le lagunage ainsi que des dysfonctionnements qui s'y produisent (Koné, 2002; Harerimana, 2011, Tangou, 2014).

En effet, le modèle (Eq. 3) établi par Vincent et *al.*, 1962 et testé par Guene et Toure (1991) sur les bassins des laitues d'eau de l'Institut International de l'Ingénierie de l'Eau et de l'Environnement (EIER) au Burkina Faso, semblait satisfaire la prédiction du rendement des bassins. Cette satisfaction de rendement a été mise en cause par les travaux de Roduit (1993) qui ont montré comment Vincent et *al.*, 1962 sous-estimait les rendements épuratoires lorsque la charge organique augmente. Dans ce même ordre d'idées, le modèle établi par Eckenfelder en 1982 (Eq. 4) qui estimait le rendement des bassins a été expérimenté avec succès à Niamey par Laouali et *al.*, 1996. Six ans après les expérimentations de Laouali, Koné (2002) a eu du mal à l'appliquer à ses données.

Beaucoup d'autres modèles mathématiques ont été développés basés sur la cinétique de Michaelis-Menten pour décrire la croissance des plantes essayant de corriger les insuffisances constatées. La croissance de la plante est considérée comme étant une fonction de premier ordre de la densité de tapis végétal ( $D = D_0 \cdot e^{\mu t}$ ) (Tabou, 2014). De part cette équation, certains auteurs tels que Boniardi et *al.* (1994), Vatta et *al.* (1995), Takashi et *al.* (2000b) ont eu à corréliser le taux de croissance ( $\mu$ ) à la température (T), l'intensité lumineuse (I), certains composés inhibiteurs, l'âge de la biomasse, les concentrations de substances nutritives N et P, ainsi qu'à la DCO (Eq. 5).

$$\frac{C_e}{C_i} = \frac{1}{1 + K_T \left(\frac{C_e}{C_i}\right)^n \cdot t} \quad (\text{Vincent et al., 1962}) \quad \text{Eq. 3}$$

$$\frac{C_e}{C_i} = \frac{1}{1 + K_T \left(\frac{C_e}{C_i}\right) \cdot t} \quad (\text{Eckenfelder en 1982}) \quad \text{Eq. 4}$$

Avec :

$C_e$  et  $C_i$  : les concentrations de l'influent et de l'effluent en  $\text{mg.L}^{-1}$ ,

$K_T$  : la constante cinétique du premier ordre en  $\text{j}^{-1}$ ,

$T$  : la température en  $^{\circ}\text{C}$  et

$t$  : le temps de séjour en **jour**.

$$\mu = \mu_{\max} \times f(I) \times f(T) \times \left( \frac{N-NH_4^+}{N-NH_4^+ + K_{S,N}} \right) \times \left( \frac{P-PO_4^{3-}}{P-PO_4^{3-} + K_{S,P}} \right) \times \left( \frac{DCO}{DCO + K_{S,DCO}} \right) \quad \text{Eq. 5}$$

(Vatta et *al.*, 1995)

Avec :

$\mu$  et  $\mu_{\max}$  : représentent respectivement le taux de croissance et le taux de croissance maximum de la biomasse végétale ;

$f(I)$  et  $f(T)$  : sont deux fonctions qui prennent en compte les effets respectifs de l'intensité lumineuse et de la température ;

$K_{S,N}$  ,  $K_{S,P}$  et  $K_{S,DCO}$  : représentant respectivement des constantes cinétiques de saturation relatives à l'azote, au phosphore et à la demande chimique en oxygène.

### Conclusion partielle

En conclusion de ce chapitre 1, deux types de modélisation existent : la modélisation physique et la modélisation statistique. La modélisation physique contribue à l'amélioration des modèles existants tout en utilisant les lois physiques, alors que la modélisation statistique utilise les modèles empiriques basés sur des observations expérimentales. Les plans d'expérience appartiennent à la catégorie de la modélisation statistique. Contrairement à la méthodologie expérimentale classique qui consiste à faire varier un facteur tout en fixant les autres et qui ne prend pas en compte l'étude des interactions et qui génère un nombre d'essais grand, la méthodologie de recherche expérimentale encore appelée plan d'expérience prend en compte l'étude des interactions et génère un nombre d'essais limité. La méthodologie de recherche expérimentale permet d'économiser du temps en faisant un minimum d'essais tout en ayant le maximum d'informations sur un phénomène. La méthodologie de recherche expérimentale étudie les interactions et permet d'avoir une vue globale du domaine d'étude.

---

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Aba** A. R. (2012). Elimination des métaux lourds (cadmium, plomb, chrome, zinc et arsenic) dans les eaux usées industrielles et naturelles par le procédé d'infiltration- percolation. Thèse à l'Université Ibnou Zohr. 149p
- Abibsi**, Nadjat. (2011). Réutilisation des eaux usées épurées par filtres plantés (phytoépuration) pour l'irrigation des espaces verts application à un quartier de la ville de Biskra. Mémoire de Magister. Université Mohamed Khider-Biskra. 149 p. Agricontact, 223 :1- 8.
- Aina** M. P, Kpondjo N. M, Adoukpe J. Chougourou D. et Moudachirou (2012) M. Study of the purification efficiencies of three floating macrophytes in wastewater treatment Research Journal of Chemical Sciences ISCA-RJCS, 154.
- Akinbile**, C.O., Yusoff, M.S., (2012). Assessing water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and lettuce (*Pistia stratiotes*) effectiveness in aquaculture waste water treatment. Int. J. Phytorem. 14, 201e211.
- Akowanou** A. V. O., (2012). Phytoepuration des eaux usées domestiques : évaluation des paramètres de performances par combinaison de trois macrophytes flottants. Mémoire d'Ingénieur, Université d'Abomey-Calavi. 133p.
- Alloway** B.J. (1995). Heavy Metals in Soils. Second edition, Blackie Academic & Professional, 368p.
- Andersen** Y.M., et Markham K.R. (2006). Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications. Ed. CRC, Taylor & Francis, Boca Raton, FL. 553-616 pp.
- Arceivala**, S. J. (1981). Wastewater treatment and disposal engineering and ecology pollution control. New York Basel, Dekker. VIII.
- Bahaz** M. et Rachdi H. (2010). Quantification des principes actifs (Les composés phénoliques) de *Rhazinolepis Lonadoides* Coss (*Tichert*). Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur. Université de Ouargla.
- Barka** S. et Attallah B. S. (2010). L'effet de deux plantes médicinales sur quelques Bactéries pathogènes. Mémoire de fin d'étude d'Ingénieur. Université de Ouargla.
- Barnaud** G., Fustec E., (2007). Conserver les milieux humides : pourquoi ? Comment ? Quae editions, coll. Sciences en partage, 296p.
- Blanchard** C. (2000). Caractérisation de la mobilisation potentielle des polluants inorganiques dans les sols pollués. Thèse de Doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 241 p.

- Boudène, C.** (1993). Ces métaux lourds en question. Numéro spécial : les métaux lourds. *Pollution atmosphérique*, 139 : 56-62.
- Box G.E.P., Hunter J.S.,** 1978. *Statistics for experimenters*, Wiley-Intersciences, New-York. 2ed edition, 333p.
- Briat, J-F. et Lebrun M.** (1999). Plant responses to metal toxicity. *C.R. Acad. Sci., Paris*, 322: 43-64.
- Britel O.; Hamad M., Chaair H., Digua K.; Slleck B.; Oudadesse H.,** (2006). Modélisation de la synthèse de l'hydroxyapatite élaborée à partir du carbonate de calcium et l'acide phosphorique, *Phos. Sulf. and Sil.*, 181, 25-336.
- Brix, H.,** (1993). *Waste water treatment in constructed wetlands: system design, remove processes and treatment performance. Constructed wetlands for water quality improvements*, LEWIS publishers USA
- Bruneton J.** (1999). *Pharmacognosie Photochimie Des Plantes Médicinales*. 3éme édition, Technique et Documentation Lavoisier; Paris; France.
- Burell, H.** (1974). Distribution and cycling of major and trace elements in tho centratl European
- Burgat-Sacage, V., Craste L., et Guerre P.** (1996). Le Cd dans les chaînes alimentaires : une revue. *Rev. Med. Vet.*, 10 : 671-680.
- Chafik D.** (2014). Modélisation et optimisation de l'adsorption des métaux lourds sur le phosphogypse. Thèse de Doctorat. Université Mohammed V. 192p.
- 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.
- Charbonnel Y.** (1989). *Manuel de lagunage à macrocytes en régime tropical*, agence de coopération culturelle et technique, 37p.
- Chardonens, A.N., Koevoets P.L.M., Van Zanten A., Schat H. And Verkleij J.A.C.** 1999. Properties of enhanced Tonoplast zinc transport in naturally selected zinc tolerant *Silene vulgaris*. *Plant Physiol.*, 120: 779-785.
- Chen, L.M., et Kao C.H.,** (1999). Effects of excess copper on rice leaves: Evidence for involvement of lipid peroxydation. *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 40 : 283-287.
- Chen, X., Chen, X., Wan, X., Weng, B., Huang, Q.,** (2010). Water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) waste as an adsorbent for phosphorus removal from swine wastewater. *Bioresour. Technol.* 101, 9025e9030.
- Cleanisearch.** (1992). Le cadmium. *Analyse biologique. Supplément à Medisearch*, 61, 5p.

- Conesa**, H. M.; (2012). Evangelou, M. W.; Robinson, B. H.; Schulin, R., A critical view of current state of phytotechnologies to remediate soils: still a promising tool? *The Scientific World Journal*, 10.
- Coulibaly** B., Domana N. S., et Mogbanté D. A., (2004). Situation et perspectives de l'assainissement liquide urbain et péri urbain en Afrique de l'Ouest. In *Info CREPA 2004*. 44: p. 5-11.
- Dagno** K., Lahlali R., Friel D., Bajji M., M. Jijakli H. (2007). Synthèse bibliographique : problématique de la jacinthe d'eau, *Eichhornia crassipes*, dans les régions tropicales et subtropicales du monde, notamment son éradication par la lutte biologique au moyen des phytopathogènes. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2007 11 (4), 299–311
- De Vos**, C.H.R., Ten Bookum W.M., Vooijs H. and De Cok L.J. (1993). Effects of copper on fatty acid composition and peroxidation of lipids in the roots of copper tolerant and sensitive *Silene cucubalus*. *Plant Physiol. Biochem*, 31: 151-158.
- Déguénon** H. E. J. (2014). Traitement des eaux usées par filtres plantés de roseaux : expérimentation, analyse des processus et performances. Thèse de doctorat de l'Université d'Abomey-Calavi. 190p.
- Denys** S. (2004). Biodégradation des solvants chlorés en conditions naturelles mécanismes et caractérisation, Synthèse bibliographique, rapport INERIS, 31p.
- Dipu**, S., Kumar, A.A., Thanga, V.S.G., (2011). Phytoremediation of dairy effluent by constructed wetland technology. *Environmentalist* 31, 263e278.
- Djerdane** A. (2008) Evaluation du pouvoir antioxydant et de l'inhibition d'enzymes (la Carboxylestérase et l'Acylase) par des extraits phénoliques de dix-neuf plantes médicinales locales. Thèse de Doctorat. Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger.
- Eckenfelder**, W. W. (1982). Gestion des eaux usées urbaines et industrielles: caractérisation, techniques d'épuration, aspects économiques. Paris, Technique et Documentation, Lavoisier XVI.
- EPA-US**. (1988). Design manuel-constructed wetlands and aquatic systems for municipal wastewater treatment. Cincinnati, OH: U.S. Environmental Protection Agency. Office of Research and Development, 83. Report n°EPA/625/1-88/022.
- Fanou** D., (2007). Optimisation de la synthèse des deltadécétones et leur utilisation pour l'élimination de métaux lourds en solutions aqueuses. Thèse de Doctorat 3ème cycle.
- Feinberg** M., (1996). La valorisation des méthodes d'analyse, une approche chimométrique de l'assurance qualité au laboratoire, Ed. Masson, Paris, 255-271.

- Fisher** R.A. (1925). Statistical methods for research workers. Oliver and Boyd forest ecosystem. *J. Environ. Qual*, 6:402.
- Förstner** U., (1985). Chemical forms and reactivities of metals in sediments, In: Leschber R., **Davis** R.D., L'Hermite P. (Eds.). Chemical methods for assessing bio-available metals in sludges and soils. Elsevier Applied Science Publishers LTD, 96p. from water using water hyacinth, *Eichhornia Crassipes*. *International Journal of Agricultural Science and Technology*. 2 (1), [www.seipub.org/ijast](http://www.seipub.org/ijast) doi: 10.14355/ijast.2014.0301.01
- Gadd** G. M. (2010). Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology* 156, 609-643. *Gembloux*, 14 (2) : 177-186.
- Ghedira** K., (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytother*. 2005; 3: 162-169.
- Ghosh** M., Singh S.P. (2005). A review on phytoremediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Applied Ecology and Environmental Research* 3: 1-18.
- Giasson**, P.; Jaouich, A.; Gagné, S.; Moutoglis, P., (2005). Phytoremediation of zinc and cadmium: a study of arbuscular mycorrhizal hyphae. *Remediation Journal*. 15, (4), 113-122.
- Glass**, D. J., (1999). Current market trends in phytoremediation. *International Journal of Phytoremediation*, 1, (1), 1-8.
- Gopal**, B., 1987. *Aquatic Plant Studies 1. Water Hyacinth*. Elsevier, Oxford, p. 471.
- Goupy** J., (2006). Les plans d'expériences : *Revue MODULAD n°34*, 74-116.
- Goupy** Jacques, (1992). Plans d'expériences. *Techniques de l'ingénieur. Traité Analyse Chimique et caractérisation*, 230, 1-20.
- Guidi Nissim** W.; Voicu, A.; Labrecque, M., (2014). Willow shortrotation coppice for treatment of polluted groundwater. *Ecological Engineering*, 62, 102-114.
- Guittony-Philippe** A. (2014). Phytoépuration de mélanges de polluants organiques et métalliques pour la préservation des zones humides méditerranéennes. Thèse de Doctorat, Université d'Aix-Marseille. 346 p.
- Hafidzatul** H. M. et Puziah A. L. (2010). Uptake of Cadmium and Zinc from Synthetic Effluent by Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *EnvironmentAsia* 3(special issue): 36-42 pp.
- Hagerman** A. E. et Butler L. G. (1981). The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *J. Biol. Chem.* 256: 4494-4497.
- Harborne** J. B. (1997). Recent advances in chemical ecology. *Nat Prod Rep*. 14: 83-98.
- Harerimana**, C. (2011). Modélisation de l'activité des bactéries du soufre en lagunage Thèse de Doctorat, Université de Liège, 217p.

- Harrar A. El N.** (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Mémoire Magister. Université Ferhat Abbas-Sétif. 95 pages.
- Headley T. R., Tanner C.C.**, (2012). Constructed wetlands with floating emergent macrophytes: an innovative stormwater treatment technology. *Crit Rev Env Sci Tec* 42, 2261-2310.
- Houknpè S. P.** (2014). Mise au point d'un système d'épuration des eaux usées à base des lentilles d'eau: analyse des processus et performances. Thèse de doctorat de l'Université d'Abomey-Calavi. 201p.
- Impens, R. et Avril C.** (1992). Code de bonne pratique pour l'utilisation en agriculture de fertilisants et amendements riches en cadmium. Note de synthèse. UERBV. Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux, Belgique, 76p.
- Jianbo, L.U., F.U. Zihui, Y.I.N. Zhaozheng.** 2008. Performance of a water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) system in the treatment of wastewater from a duck farm and the effects of using water hyacinth as duck feed. *Journal of Environmental Sciences*; 20; 513-519.
- Johua, S., Dupin, J.J.**, (1984). Schematic diagrams, representations and types of reasoning in basic electricity. In R. Duit, W. Jung et C. Rhöneck (Eds). *Aspects of understanding electricity*, I.P.N Kiel, Germany, 129 – 139.
- Juste C.**, (1988). Appréciation de la mobilité et de la biodisponibilité des éléments en traces du sol. *Science du sol* 26, 103-112.
- K.R. Reddy, M. Agami, E.M.D. D'Angelo, J.C.** (1991). Tucker, Influence of potassium supply on growth and nutrient storage by water hyacinth, *Bioresour. Technol.* 37 (1991) 79–84.
- Kadlec R. H., Wallace S.** (2009). *Treatment wetlands* CRC Press/Taylor & Francis Group: Boca Raton, Florida, United States. 2nd edition. 120pp.
- Koanda H.** (2006). Vers un assainissement durable en Afrique subsaharienne : Approche innovante de planification de la gestion des boues de vidange in Faculté Environnement Naturel, Architectural Et Construit., École Polytechnique Fédérale de Lausanne. 309p.
- Koné D. M.** (2011). Infiltration-percolation sur sable et sur fibre de coco, filtres plantés et épuration d'eaux usées domestiques à dominance agroalimentaire sous climat tropical sec : cas des eaux résiduaires urbaines de Ouagadougou, Burkina Faso. Thèse de Doctorat. Université de Ouagadougou et Université Claude Bernard Lyon 1. 233p.
- Koné M., Zongo I., Bonou L., Koulidiati J., Joly P., Bouvet Y., et Sodre S.** (2011). Traitement d'eaux résiduaires urbaines par filtres plantés à flux vertical sous climat Soudano-Sahélien. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. ISSN 1991-8631. 5(1): 217-231.

- 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, 164p.
- Kpondjo N. M.,** (2011). Phytoépuration des eaux usées domestiques (2011). Evaluation du traitement par combinaison de trois meilleures macrophytes flottantes identifiées. Mémoire d'Ingénieur, Université d'Abomey-Calavi. 99p.
- Krishna D., Chaluvadi M., Raj N. et Sripal R.** (2001). Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *Indian J. Pharmacol.* 33: 2-16 pp.
- Kumari, M., Tripathi, B.D.,** (2014). Effect of aeration and mixed culture of *Eichhornia crassipes* and *Salvinia natans* on removal of wastewater pollutants. *Ecol. Eng.* 62, 48e53.
- Kunnert, K.J. and Edder M.** (1985). Leaf aging and lipid peroxidation: the role of antioxidants vitamine C and E. *Physiol. Plant.*, 65: 85-88.
- Kusaba, M., Takahashi Y. and Nagata T.** (1996). A multiple-Stimuli-Responsive as -1- Related Element of par A Gene Confer Responsiveness to Cadmium but Not to Copper. *Plant Physiol.*, 111 : 1161-1167.
- Ladislav S.** (2011). Transfert de polluants au sein d'un ouvrage de traitement des eaux issues du ruissellement urbain – Mise au point d'un procédé de traitement complémentaire. Thèse de doctorat, Université Nantes Angers Le Mans, 207p.
- Laouali, G., Delisle, C. E., Vincent, G., Couillard, D. and Laouali, S.** (1996). "Experimental study of wastewater treatment by facultative ponds and free hydrophytes in Niger." *Water Quality Research Journal of Canada* 31(1): 37-50.
- Lapedes, D.N.,** (1974). Dictionary of scientific and technological terms, Eds. Mc Graw Hill, New York, 674p.
- Le Goff F., Bonnomet V.,** (2004). Devenir et comportement des métaux dans l'eau: biodisponibilité et modèles BLM. Rapport technique. INERIS Direction des Risques Chroniques, Unité « Evaluation des risques écotoxicologiques ». 85pp.
- Lesoin S.** (1997). Migration cationique et anionique des métaux toxiques (Plomb, Chrome et Zinc) dans les sols sous l'effet d'un champ électrique. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale des Ponts et Chaussées, 217p.
- Lévesque V.** (2011). Potentiel des marais filtrants à traiter les effluents de serre issus d'une culture de tomate. Mémoire M. Sc. L'Université de Laval Québec. 197p.
- Leyral, G., Vierling, E.** (1998). Microbiologie et toxicologie des aliments, hygiène et sécurité alimentaire. Book, p 267-268.

- Liady M. N. D.** (2015). Production des Cladoceres dans les bassins de lagunage : Modélisation et analyse de rentabilité de leur valorisation. Thèse de Doctorat. Université de Liège. 298 pages.
- Mahmood Q.**, Zheng P., Siddiqi M.R., Islam E., Azim M.R., et Hayat Y. (2005). Anatomical studies on water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) under the influence of textile wastewater. *Journal of Zhejiang University Science*. 6(10): 991-998 pp.
- Liao, S.**, Chang, W., (2004). Heavy metal phytoremediation by water hyacinth at constructed wetlands in Taiwan. *Photogramm. Eng. Remote. Sens.* 54, 177e185.
- Lissy, P.N.M.**, Madhu, G., (2011). Removal of heavy metals from waste water using water hyacinth. *ACEEE Int. J. Trans. Urban. Develop. (IJTUD)* 1, 48e52.
- Lu X.**, Kruatrachue M., Pokethitiyook P., et Homyok K. (2004). Removal of Cadmium and Zinc by Water Hyacinth *Eichhornia crassipes*. *Research Article*, 30: 93-103 pp.
- Lu, Q.**, He, Z.L., Graetz, D.A., Stoffella, P.J., Yang, X., (2010). Phytoremediation to remove nutrients and improve eutrophic stormwaters using water lettuce (*Pistia stratiotes* L.). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 17, 84e96.
- Luna, C.M.**, Gonzalez C.A. and Trippi V.S. (1994). Oxidative damage caused by an excess of copper in oat leaves. *Plant Cell Physiol.*, 35 : 11-15.
- Maamri S.** (2008). Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Thèse de Doctorat. Université M'hamed Bougara Boumerdes.
- Macheix J.J.**, Fleuriet A et Jay-Allemand C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne. p. 4-5.
- Male\_Éev D. É.** Et Kunti\_ç V. (2007) Investigation of metal--flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal--flavonoid complexing reactions. *J. Serb. Chem. Soc.* 2007; 72: 921-939.
- Mara D.** (2004). Domestic Wastewater Treatment in Developing Countries. First published by Earthscan in the UK and USA. Books. 310pp.
- Mara, D. D.** (1976). Sewage treatment in hot climates. London a.o., Wiley XV.
- Mara, D. D.** (1987). "Waste stabilization ponds: problems and controversies." *Water Quality International* 1: 20-22.
- Mara, D. D.** (1997). Design manual for waste stabilization ponds in India. Leeds, Lagoon International Technology Ltd.
- Mara, D. D.** et Pearson, H. W. (1998). Design manual for waste stabilization ponds in mediterranean countries. Leeds, Lagoon International Technology Ltd.

- Marais**, G. V. (1966). "New factors in the design, operation and performance of waste-stabilization ponds." *Bull World Health Organ* 34(5): 737-763.
- Martineau** Y., Saugier B., (2005). Comportement contre-intuitif d'un modèle mécaniste de succession végétale. *Ascad Sciences, Biologies*, 329, 21-30.  
<http://france.elsevier.com/direct/CRASS3/>.
- Massart D.L, Vandeginste, B.G.M., Deming S.N., Michote Y., et Kaufman L., (1988). *Chemometrics: A Textbook*. Elsevier: Amsterdam, Holland, 37 – 139.
- Maxson**, P.A., et Vonkeman G.H., (1992). Les métaux lourds dans les phosphates. Risques pour l'environnement et implications stratégiques. Rapport final. C.C.E. et Imphos. 83p.
- McGarry**, M. G. and Pescod, M. B. (1970). Stabilization ponds design criteria for tropical Asia Proceedings of the second International Symposium on Waste treatment Lagoons, Kansas City, University of Kansas.
- McLaughlin** M. J, Singh B. R. (1999). Cadmium in soils and plants, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, pp 273.
- Migéon** A., (2009). Etude de la variabilité naturelle dans la réponse du peuplier aux métaux : bases physiologiques et exploitation en phytoremédiation. Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré, Nancy-Université. 358 p.
- Morel** M., Rumeau M., Pontié M., Mar C. (1994). Nouveaux procédés économiques de désinfection et de dessalement des eaux. 8p. *Tribune de l'eau* vol. 47- n°571 sep/oct 1994 p. 31 à 38 Liège.
- Morineau** A., et Chatelin Y.M., (2005). L'analyse statistique des données. Apprendre, comprendre et réaliser avec Excel. Ed. Ellipses, 413p.
- Moussavou** M. C. F. (2010). Etude des mécanismes d'accumulation du cadmium chez *Arabidopsis thaliana* (écotype Wassilewskija) et chez un mélèze hybride (*Larix x eurolepis*) par des approches moléculaire et développementale. Thèse de Doctorat. Université de Limoge. 251p.
- Nijveldt** R. J., van Nood E., van Hoorn D. E., Boelens P. G., van Norren K. et van Leeuwen P. A. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American J. Clinic. Nutr.* 2001; 74: 418-425.
- O.M.S.** (2006). Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and grey water. Vol II.
- Ouano** E., A., R. (1981). Principles of wastewater treatment. Publication of this book was made possible by a grant from the National Science Development Board of the Philippines. 322pp.
- Ouattara** J-M. P., Coulibaly L., Manizan P. N., et Gourene G. (2008). Traitement des Eaux Résiduaires Urbaines par un Marais Artificiel à Drainage Vertical Planté Avec *Panicum*

Maximum sous Climat Tropical. European Journal of Scientific Research. ISSN 1450-216X Vol.23 No.1, pp.25-40.

**Parkpian**, P., Thananusornt V., Rentergardh L. et Eiumnoh A. 1998. Micronutrients and cadmium uptake of soybean plants in solution culture. Proc. Symp. Foliar fertilization: a technique to improve production and decrease pollution, 10 th – 14 th Dec. 1995, Eds. M.M. El Foully et al. Publ. NRC, Cairo, Egypt., pp : 189-194.

**Peer**, W. A.; Baxter, I. R.; Richards, E. L.; Freeman, J. L.; Murphy, A. S., (2005). Phytoremediation and hyperaccumulator plants. In Molecular biology of metal homeostasis and detoxification, Springer; pp 299-340.

**Peter** D., von Ballmoos C. et Meier T. (2006). Catalytic and mechanical cycles in F-ATP synthases. EMBO reports, vol. 7, p. 276-282.

**Picot** A. (2003). Intoxication de l'organisme par les métaux lourds et autre toxiques, thèse novembre, Paris

**Piétrasanta** Y., Bondon D. (1994). Le Lagunage écologique, Economica, Paris, 1994, (ISBN 2-7178-2636-X)

**Pilon-Smits**, E., (2005). Phytoremediation. Annu. Rev. Plant Biol., 56, 15-39.

**Piret** T. et Kooken G. (1979). Etude du transfert air-plante du Cd et du Zn. Bull. Rech. Agron.

**Plackett** , (1946). Design of Optimum multifactorial experiments. Biometrika, 33, 305 – 325.

**Polprasert**, C., Dissanayake, M. G. and Thanh, N. C. (1983). "Bacterial Die-Off Kinetics in Waste Stabilization Ponds." Journal Water Pollution Control Federation 55(3): 285-296.

**Prigent** S. (2012). Optimisation du traitement de l'azote et du phosphore des eaux usées domestiques adapté aux filtres plantés de roseaux. Thèse de Doctorat. Université Nantes Angers Le Mans. 229p.

**Priya**, E.S., Selvan, P.S., (2014). Water hyacinth (Eichhornia crassipes)-An efficient and economic adsorbent for textile effluent treatment A review. Arab. J. Chem.

**Rahmoune**, C., (1992). Interactions entre le cadmium et le zinc chez les pois (Pisum sativum L.) en culture hydroponique. Thèse de Doctorat en Sciences Agroomiques. Fac.Sci.Agr. Gembloux, Belgique, 152p.

**Rai**, U.N, Tripathi, R.D, Vajpayee P, Vidyanath Jha, et Ali, M.B. (2002). Bioaccumulation of toxic metals (Cr, Cd, Pb and Cu) by seeds of Euryale ferox Salisb (Makhana). Chemosphere, F) 46: 267-272 pp.

**Remon** E. (2006). Tolérance et accumulation des métaux lourds par la végétation spontanée des friches métallurgiques : vers de nouvelles méthodes de bio-dépollution. Thèse de Doctorat. Université Jean Monnet. 167p. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00362527>.

- Remsy C., Manach C., Texier O. et Regerat F. (1996).** Intérêt nutritionnel des flavonoïdes. *Med. Nutr.* 32: 17-27.
- Rezania, S., Din, M.F.M., Ponraj, M., Sairan, F.M., binti Kamaruddin, S.F., (2013).** Nutrient uptake and wastewater purification with water Hyacinth and its effect on plant growth in batch system. *J. Environ. Treat. Tech. (JETT)* 1, 81e85.
- Saleh, H.M., (2012).** Water hyacinth for phytoremediation of radioactive waste simulate contaminated with cesium and cobalt radionuclides. *Nucl. Eng. Des.* 242, 425e432.
- Sandmann, G., et Boger P. (1984).** Copper-mediated lipid peroxydation process in photosynthetic membranes. *Plant Physiol.*, 66: 797- 800.
- Schmöger, M.E.V., Oven M. and Grill E. (2000).** Detoxification of arsenic by phytochelatin in plants. *Plant Physiol.*, 122: 793-801.
- Seidl M., Laouali S., Idder T. et Mouchel J-M. (2002).** Lentille d'eau et Tilapia: une solution écologique pour le traitement des eaux usées dans les pays en voie de développement. Conférence Internationale Envirowater Ouagadougou – Burkina-Faso.
- Seigler DS. (1998).** Plant secondary metabolism. Ed. Kluwer Academic, Boston, p. 193-205.
- Sémadi F. (2010).** Faisabilité du traitement des eaux usées d'un Oued chargé en éléments traces métalliques (ETM) par filtres plantés de macrophytes (*Phragmites australis*) : cas de l'Oued **Méboudja**-Annaba-Algérie. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar Anna. 230 pages.
- Serpaud B., Al-Shukry R., Casteignau M., Matejka G. (1994).** Adsorption des métaux lourds (Cu, Zn, Cd et Pb) par les sédiments superficiels d'un cours d'eau : rôle du pH, de la température et de la composition du sédiment. *Revue des Sciences de l'Eau* 7, 343-365.
- 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*. Pp.1–6.
- Shanab, S.M.M., Shalaby, E.A., Lightfoot, D.A., El-Shemy, H.A., (2010).** Allelopathic effects of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *PLoS. One* 5, e13200.
- Sheoran A.S., Sheoran V. (2006).** Heavy metal removal mechanism of acid mine drainage in wetlands: A critical review. *Miner Eng* 19, 105-116.
- Sooknah, R.D., Wilkie, A.C., (2004).** Nutrient removal by floating aquatic macrophytes cultured in anaerobically digested flushed dairy manure wastewater. *Ecol. Eng.* 22, 27e42.
- Strother, S., (1988).** The role of free radicals in leaf senescence. *Gerontology*, 34: 151-156.
- Subramanian S., Stacey G. et Yu O. (2007).** Distinct, crucial roles of flavonoids during legume nodulation. *Trends Plant Sci.* 12: 282-285.

- Susarla S.**, Victor F. Medina V. F, McCutcheon S.C. (2002). Phytoremediation: an ecological solution to organic chemical contamination. *Ecological Engineering* 18: 647-658.
- Swain G.**, Adhikari S., et Mohanty P. (2014). Phytoremediation of Copper and Cadmium
- Taguchi G.** et WU Y. (1985). Introduction to offline quality control. Central Japan Quality Control Association.
- Takashi, A.**, Trung, V. K. and Manatunge, J. (2000b). "Modeling the effects of macrophyte growth and decomposition on the nutrient budget in Shallow Lakes." *Aquatic Botany* 68(3): 217-237.
- Tangou Tabou T.** (2015). Etude et modélisation de la contribution des macrophytes flottants (*Lemna minor*) dans le fonctionnement des lagunes naturelles. Thèse de Doctorat. Université de Liège. 347 pages.
- Tchobanoglous, G.**, Maitski, F., Thompson, K. and Chadwick, T. H. (1989). "Evolution and performance of San Diego pilot scale aquatic wastewater treatment system using hyacinths." *Journal Water Pollution Control Federation* 61(11/12): 1625-1635.
- Thevenot Daniel R.**, Meybeck Michel et Lestel Laurence (2002) Bilans métaux lourds, CNRS, février, Paris
- Thomson, J.E.**, Legge R.L. and Barber R.F. (1987). The role of free radicals in senescence and wounding. *New Phytol.*, 105: 317-344.
- Tripathy, B.D.**, Upadhyay, A.R., (2003). Dairy effluent polishing by aquatic macrophytes. *Water. Air. Soil. Pollut.* 9, 377e385.
- Truu M., Juhanson J., Truu J. (2009). Microbial biomass, activity and community composition in constructed wetlands. *Sci Total Environ* 407, 3958-3971.
- Urquiaga I. N. E. S.** et Leighton F. E. D. E. (2000). Plant Polyphenol Antioxidants and Oxidative Stress. *Biol. Res.* 33: 55-64.
- Valero, M.A.C.**, Johnson, M., Mara, D.D., (2007). Enhanced phosphorus removal in a waste stabilization pond system with blast furnace slag filters. In: Second International Conference Small Wat, Seville, Spain.
- Valipour A.**, Raman V. K. et Young-Ho Ahn. (2015). Effectiveness of Domestic Wastewater Treatment Using a Bio-Hedge Water Hyacinth Wetland System. *Water* 2015, 7, 329-347; doi:10.3390/w7010329.
- Valipour, A.**, Raman, V.K. et Ghole, V.S., (2011). Phytoremediation of domestic wastewater using *Eichhornia crassipes*, *J. Environ. Sci. Eng.*, 53(2), 183-190pp.
- Vallee, B.L.**, et Ulmer D.D. (1972). Biochemical effects of mercury, cadmium and lead. *Anal. Rev. Biochem.* 41: 91-128.

- Vasel**, J. L. (2004). Epuration biologique des eaux usées. Campus d'Arlon, Université de Liège.
- Vatta**, G., Rota, R., Boniardi, N. and Nano, G. (1995). "Dynamic modelling of waste-water treatment plants based on *Lemna gibba*." *The Chemical Engineering Journal and the Biochemical Engineering Journal* 57(3): B37-B48.
- Verloo** M. (2003). les métaux lourds dans les denrées alimentaires, origines et évolution des teneurs, *Bioresource technology*.
- Verma**, R., Singh, S.P., Ganesh Raj, K., (2003). Assessment of changes in water hyacinth coverage of water bodies in northern part of Bangalore city using temporal remote sensing data. *Curr. Sci.* 84, 795e804.
- Vidya**, S., Girish, L., (2014). Water Hyacinth as a green manure for organic farming. *Int.J. Res. Appl. Nat. Soc. Sci. (IRJNAS)* 2, 65e72.
- Vila** M. (2006). Utilisation de plantes agronomiques et lacustres dans la dépollution des sols contaminés par le RDX et le TNT: approches en laboratoire. Le titre de docteur de l'Institut National Polytechnique de Toulouse.
- Vincent**, L. J., Algie, W. E. and Marais, G. R. (1962). System of sanitation for low cost high density housing, *Fonte Rhodesia*, WHO.
- Virendra** K. M. et Tripathi B. D. (2008). Concurrent removal and accumulation of heavy metals by the three aquatic macrophytes. *Bioresource Technology* 99, 7091–7097.
- Vymazal** J. (2007). Removal of nutrients in various types of constructed wetland. *Sci. Total Environ.* 380, p.48–65.
- Walter** T., (2010). *Plans d'expériences : constructions et analyses statistiques: Mathématiques et Application*, Springer 67, 24-37.
- Walter**, T., (2010). *Plans d'expériences : constructions et analyses statistiques : Mathématiques et Application*, Springer 67, 24-37.
- Willaert**, G. et Verloo M. (1990). Pollution de l'environnement et contamination des légumes.
- Williams**, L.E., Pittman, J.K. et Hall, J.L. (2000). Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1465: 104-126 pp.
- With, M.C., Decker A.M. et Chaney R.L. (1981). Metal complexation in xylem fluid. I. Chemical composition of tomato and soybean stem exudate. *Plant Physiol.*, 67: 292-300.
- Wu** J., West L.J., Stewart D.I., (2002). Effect of humic substances on Cu (II) solubility in kaolin-sand soil. *Journal of Hazardous Materials* 94, 223-238.
- Yalcuk** A., Ugurlu A. (2009). Comparison of horizontal and vertical constructed wetland systems for landfill leachate treatment. *Bioresource Technology* 100, 2521-2526.

- Yao B.**, Bassus, J., Lamartine, R., Lantéri P., et Longeray R., (2001). Stratégie expérimentale pour l'optimisation de la réaction de synthèse du thymol en phase gazeuse, *Journal de la Société Ouest-Africaine de la Chimie*, 11, 61-74 pp.
- Zhang B.Y.**, Zheng J.S., Sharp, R.G. (2010a). Phytoremediation in engineered wetlands: mechanisms and applications. *Procedia Environmental Sciences* 2, 1315-1325.
- Zhu, L.Y.**, Pilon-smith E.A.H., Tarun A.S., Weber S.U., Jouanin L., et Terry N. (1999). Cadmium tolerance and accumulation in Indian Mustard is enhanced by overexpressing  $\gamma$ -Glutamylcysteine synthetase. *Plant Physiol.*, 121: 1169-1182.
- Zorrig W.** (2011). Recherche et caractérisation de déterminants contrôlant l'accumulation de cadmium chez la laitue " *Lactuca sativa* ". Thèse de Doctorat. Université Tunis El Manar et Montpellier SupAgro. 276p.
- Zran E.** (2015). Modélisation du phénomène d'élimination des ions phosphate en solution aqueuse par la méthode de la co-précipitation. Thèse de Doctorat. Université Félix Houphouët-Boigny Abidjan.

## **DEUXIEME PARTIE II : MATERIEL ET METHODES**

### **DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES**

# CHAPITRE I : DESCRIPTION DE L'ESPECE ETUDIE ET EXPERIMENTATIONS

## I. Description morphologique de l'espèce étudiée : *Eichhornia crassipes*

### I.1. Caractères morphologiques

La jacinthe d'eau (ou Buchon de agua en Espagnol ou Wasserhyazinthe en Allemand et Water Hacinth (Water-hyacinth) en Anglais) est une plante monocotylédone herbacée vivace des rivières, canaux et lacs des régions tropicales et tempérées (Julve, 2015) (Figure 17). Le tableau V, ci-dessous, présente la description botanique de *E. crassipes* selon la classification de Cronquist (1981).

Tableau V : Classification de *Eichhornia crassipes* (Classification de Cronquist, 1981)

<i>Classification botanique</i>	
<b>Règne</b>	<i>Plantae</i>
<b>Sous-règne</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>Division</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Classe</b>	<i>Liliopsida</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Liliidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Liliales</i>
<b>Famille</b>	<i>Pontederaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Eichhornia</i>
<b>Espèce</b>	<i>Crassipes</i>
<b>Nom binominal</b>	<i>Eichhornia crassipes</i> (Mart.) Solms



Figure 17 : Photo de la jacinthe d'eau (*Eichhornia crassipes*)

### I.2. Echantillonnage

L'échantillonnage des eaux usées et des macrophytes utilisés a été effectué dans la ville de Yamoussoukro, capitale politique de la Côte d'Ivoire, située à environ 240 km d'Abidjan. Les eaux usées ont été prélevées à la grande ferme de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny et les macrophytes au lac n°8 situé entre N'Zuessy et le quartier Habitat. Le lieu de prélèvement des eaux usées est le site d'élevage expérimental des porcs de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny (INP-HB). Ainsi, les eaux usées sont un mélange des eaux des abreuvoirs et des excréments des porcs.

Deux échantillonnages ont été effectués pour l'essai sur les facteurs qui influencent la phytoépuration et celui de l'absorption des métaux par *E. crassipes*. L'échantillonnage des eaux usées est fait pour l'étude des facteurs qui influencent la phytoépuration en août 2015 et en avril 2016. Pour l'essai de l'absorption métallique, le prélèvement des eaux usées est fait en novembre 2015 et en mars 2016. Pour étudier les facteurs qui influencent l'absorption des métaux par *E. crassipes*, des plants de la jacinthe ont été collectés au niveau du lac et sont immédiatement introduits à notre arrivée sur le site d'expérimentation, dans des grands bacs contenant 20 litres d'eau de robinet.

Les coordonnées géographiques des sites de prélèvement de l'eau usée, des macrophytes et de l'expérimentation ont été référencées grâce au GPS de marque SUMMIT HC GARMIN (Tableau VI).

Tableau VI : Coordonnées géographiques des différents sites de prélèvement et des expérimentations

Points	Longitude	Latitude
Lac (macrophytes)	6° 49' 01,0''	5° 16' 27,1''
Porcherie (Eaux usées)	6° 53' 05,5''	5° 13' 18,8''
Essais	6° 53' 19,0''	5° 13' 31,1''

### I.2.1. Choix des métaux lourds étudiés

Avec la problématique de la présence des polluants métalliques dans les eaux usées, même parfois dans les eaux usées domestiques, il a été judicieux d'envisager leur traitement. Ces polluants métalliques sont de deux sortes. Il y a la catégorie des éléments essentiels dont la plante a besoin pour son métabolisme. Ils deviennent extrêmement toxiques à la plante à concentration élevée (Williams et al., 2000). Parmi ces éléments essentiels, il existe les macroéléments et les microéléments. Le cuivre fait partir des éléments essentiels à faible concentration et a le même comportement que le nickel (Ni) en présence de la matière organique (Aina et al., 2012). En milieu aquatique, le cuivre entre en compétition avec le fer pour se retrouver dans les organismes (Fortin, 1999). La deuxième catégorie de polluants inorganiques est constituée des métaux toxiques à tout être vivant, même à faible concentration (Ogamba et al., 2015). Le cadmium fait partir de cette catégorie et constitue ainsi, un élément toxique pour

le biote. Afin d'étudier leur effet séparée et combinée en présence de la matière organique d'un élément de chaque catégorie, le cuivre et le cadmium ont été choisis.

### **I.2.2. Choix des différentes gammes de concentration métalliques**

Les différentes gammes de concentration utilisées pour les métaux sont : 2 mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L et 15 mg/l. Ces gammes de concentration ont été choisies en tenant compte non seulement des travaux antérieurs à travers la littérature (Fawzy et *al.*, 2011 ; Hafidzatul and Puziah, 2010; Zhan et *al.*, 2010 ; Zanaty et *al.*, 2012), mais aussi des valeurs couramment retrouvées dans les eaux usées.

### **I.2.3. Choix du temps de séjour**

Pour les essais sur l'étude de l'effet du temps de séjour, de la densité de la plante et de la charge organique initiale en DCO sur la phytoépuration utilisant la jacinthe d'eau, le temps de séjour est de 5 à 15 jours. Quant aux essais de l'absorption métallique du cuivre et du cadmium, le temps de séjour est de 20 jours. Ces temps de séjour ont été choisis en se référant non seulement aux études indiquant le temps de séjour nécessaire pour l'épuration de la pollution organique des eaux usées (Koné, 2002 ; Effebi, 2009 ; Aïna et *al.*, 2012) mais aussi celles abordant l'élimination des métaux lourds par la jacinthe d'eau (Gakwavu et *al.*, 2006 ; Jayaweera et *al.*, 2007; Virendra et *al.*, 2008).

## **II. Protocoles d'expérimentations**

### **II.1. Expérience 1 : évaluation de l'effet de certains facteurs sur la phytoépuration**

Pour cette étude, le plan factoriel complet a été utilisé afin d'étudier l'effet des trois facteurs que sont le temps de séjour, la densité de plante et la charge organique initiale exprimée en DCO. Le tableau VII présente le domaine d'étude et les deux niveaux de variations attribués à chaque facteur : un niveau inférieur ou bas noté niveau (-), et un niveau supérieur ou haut noté niveau (+).

Le dispositif expérimental du type mésocosme a été mis en place sous les galeries expérimentales du site nord de l'INPHB de Yamoussoukro. Il est constitué de vingt-quatre petits bacs de dimensions respectivement longueur, largeur et hauteur 0,34 x 0,24 x 0,19 m à raison de trois répétitions par objet et est disposé de façon aléatoire. Le plan factoriel complet mis en œuvre a consisté en une combinaison de tous les deux niveaux de chacun des trois facteurs, et a donc comporté  $2^3$  objets en triplicatas, correspondant ainsi à un total de 24.

Tableau VII : Domaine expérimental

Variables	Facteurs	Niveau -1	Niveau +1
U <sub>1</sub>	Temps de séjour (Jours)	5	15
U <sub>2</sub>	Densité de plantes (Pieds/m <sup>2</sup> )	30	60
U <sub>3</sub>	Charge initiale en DCO (mgO <sub>2</sub> /L)	192	944

### ❖ Mode opératoire

Le mode opératoire général des essais consiste à mettre 10 litres d'eau usée de la porcherie à des concentrations connues en DCO, dans les petits bacs dont les dimensions ont été indiquées précédemment. Après un temps de séjour indiqué (Tableau VII), les concentrations résiduelles en DCO, ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) et orthophosphate (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) sont évaluées respectivement selon les normes NFT 90-101, NFT 90-015 et NFT 90-023. Leur taux d'abattement est calculé selon la formule (Eq.6) :

$$\text{Taux d'abattement} = \frac{\text{Conc. initiale} - \text{Conc. finale}}{\text{Conc. initiale}} * 100 \quad \text{Eq. 6}$$

Avec :

Conc.<sub>initiale</sub> : la concentration initiale de chaque paramètre

Conc.<sub>finale</sub> : la concentration finale, à la fin du traitement

Ces taux d'abattement représentent les trois réponses (Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub> et Y<sub>3</sub>) du phénomène. Les différents coefficients a<sub>i</sub> ainsi que les écarts-types et les réponses calculées (Y<sub>calc.</sub>) sont générés à l'aide du logiciel NEMROD-W, version 9901. Pour arrêter les coefficients des facteurs qui ont d'influences sur le phénomène étudié, le test de significativité est utilisé. Ainsi, un coefficient est statistiquement significatif si sa valeur absolue est supérieure ou égale à deux fois l'écart-type (2σ) (test de significativité). La matrice d'expérience obtenue à partir de la combinaison des trois facteurs est donnée par le tableau VIII. Le plan d'expérience est obtenu en remplaçant dans la matrice d'expérience, 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 IX).

Tableau VIII : Matrice d'expérience

Expérience	Temps de séjour (X <sub>1</sub> )	Densité de plante (X <sub>2</sub> )	Charge initiale en DCO (X <sub>3</sub> )
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+

- : la plus petite valeur que peut prendre le facteur dans le domaine d'étude

+ : la plus grande valeur que peut prendre le facteur dans le domaine d'étude

Tableau IX : Plan expérimental

Expérience	U <sub>1</sub>	U <sub>2</sub>	U <sub>3</sub>
1	5	2	192
2	15	2	192
3	5	5	192
4	15	5	192
5	5	2	944
6	15	2	944
7	5	5	944
8	15	5	944

## II.2. Expérience 2 : Démarche expérimentale pour l'étude de l'élimination métallique

Les conditions optimales issues des essais sur l'étude de l'effet du temps de séjour, de la densité de plante et de la charge initiale en DCO ont été utilisées pour la suite des travaux. La démarche méthodologique utilisée au cours de cette phase expérimentale se résume en deux étapes. La première étape est celle de la préparation des milieux de croissance des macrophytes en mettant dans chaque bac de l'eau usée conformément aux conditions optimales obtenues en matière de la DCO. La deuxième étape est l'étape de la pollution des eaux usées des bacs par différentes

concentrations métalliques. Quant à la deuxième étape, elle consiste à l'introduction des macrophytes prélevés suivant les conditions optimales des essais précédents.

Tous les réactifs utilisés sont de type analytique. Des concentrations de 100 mg/L de la solution de cuivre et de cadmium ont été préparées séparément avec le sulfate de cuivre pentahydraté ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) et de sulfate de cadmium octahydraté ( $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ).

Les conditions optimales de l'expérience précédente (944  $\text{mgO}_2/\text{L}$  en DCO et 60 Pieds/ $\text{m}^2$  en densité surfacique de plantes) ont été utilisées. Ainsi, 10 litres d'eau usée de porcherie à 944  $\text{mgO}_2/\text{L}$  en DCO sont mises dans chacun des bacs décrits précédemment. Afin d'obtenir les différentes solutions filles (2 ; 5 ; 10 et 15 mg/L), une certaine quantité de la solution mère de chaque catégorie de solution métallique (100 mg/L) a été diluée dans l'eau usée. Cette opération est faite quelle que soit la nature de la solution métallique (monométallique et bimétallique). Selon les dimensions de chaque bac et la densité surfacique des conditions optimales des essais précédents, 60 pieds /  $\text{m}^2$  de la jacinthe d'eau ont été introduites dans chacune de ces solutions filles pendant 20 jours. Chaque essai est répété trois fois.

### II.3. Etude de l'effet des polluants organiques sur les métabolites secondaires

#### II.3.1. Caractérisation des végétaux

La figure 18, ci-dessous présente les différentes étapes qui ont conduit à la caractérisation des végétaux

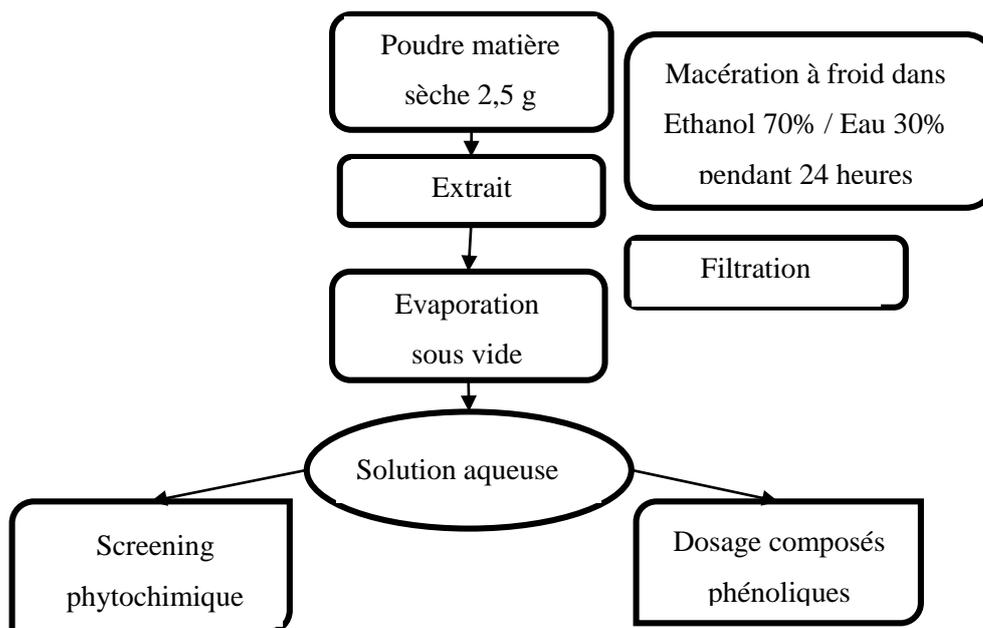


Figure 18 : Les différentes étapes de l'extraction des métabolites secondaires étudiés

### II.3.2. Préparation des extraits des composés phénoliques

Pour l'analyse quantitative des polyphénols, l'extraction liquide-solide a été réalisée par macération ; le solvant utilisé est le mélange hydro alcoolique dans la proportion 70 et 30 (EtOH/Eau : 70/30) avec un ratio de 2,5%. 2,5 g du matériel végétal sec ont été pesés puis mélangés avec un volume de 100 mL du solvant. Le mélange est maintenu sous agitation magnétique pendant 24 heures à température ambiante. La solution obtenue est ensuite filtrée sur papier filtre (Wattman N°1 de diamètre 0,16 mm) sous vide. Le filtrat a été ensuite récupéré. La figure 19 présente l'aspect des différents extraits après leur filtration.



Figure 19 : Photo montrant l'aspect des extraits après filtration

#### Conclusion partielle

Ce chapitre présente la plante étudiée qui est la jacinthe d'eau de son nom scientifique *Eichhornia crassipes*. La jacinthe d'eau est plante aquatique supérieure flottante. Pour l'étude de l'effet du temps de séjour, de la densité de plante et de la charge initiale organique en demande chimique en oxygène sur la phytoépuration utilisant la jacinthe d'eau, le plan factoriel complet a été utilisé. Concernant l'étude de l'élimination métallique, le cuivre, le cadmium en leur solution monométallique et bimétallique ont été mise en exergue pendant 20 jours. L'extraction hydroéthanolique par macération a permis de réaliser l'effet des polluants organiques sur les métabolites secondaires de la jacinthe d'eau utilisée dans l'élimination de ces polluants.

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES ANALYTIQUES

### I. Principe de fonctionnement du spectrophotomètre (UV-visible)

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette substance est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de Beer-Lambert. La densité optique des solutions est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption maximale de l'espèce chimique à étudier. Lorsqu'une lumière d'intensité  $I_0$  passe à travers une solution, une partie de celle-ci est absorbée par le(s) soluté(s). Il en résulte que l'intensité  $I$  de la lumière transmise devient inférieure à  $I_0$ . L'absorbance de la solution est définie comme indiqué dans les équations 7 et 8 (Di Benedetto et Breuil, 2007) :

$$A = \text{Log}_{10} \left( \frac{I_0}{I} \right) \quad \text{Eq.7}$$

$$A = -\text{Log } T \quad \text{Eq.8}$$

Avec T la transmittance :

$$T = \frac{I}{I_0}$$

L'absorbance est d'autant plus grande que l'intensité transmise est faible, cette relation reste linéaire dans un intervalle donné de concentration de la solution.

### II. Méthodes d'analyse des paramètres évalués

#### II.1. Matières organiques

En se basant sur la décomposition des matières organiques en milieu ouvert ou fermé (présence ou absence d'oxygène), la présence des matières organiques est contrôlée en faisant recours généralement aux paramètres suivants : la Demande Chimique en Oxygène (DCO); la Demande Biochimique en oxygène après 5 jours d'incubation (DBO<sub>5</sub>); le Carbone Organique Total (COT); le Carbone Organique Dissout (COD).

La DCO équivaut à la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder les matières organiques biodégradables et non biodégradables tandis que la demande biochimique en oxygène pendant 5 jours d'incubation à 25°C (DBO<sub>5</sub>) est relative à la partie accessible par les bactéries et ne prend en compte que les matières organiques biodégradables. A partir des valeurs de la DCO et de la DBO<sub>5</sub>, on peut évaluer le taux de biodégradabilité d'un effluent. Pour une eau usée

biodégradable, ce rapport ( $\frac{DCO}{DBO_5}$ ) est généralement compris entre 2 et 3. Lorsqu'il est supérieur à 3, l'effluent est qualifié de difficilement biodégradable (Degrémont, 2005). Le carbone organique total (COT) permet de mesurer la fraction carbonée des matières organiques. Une grande partie de la DCO se retrouve sous forme de COT. Enfin, le carbone organique dissout (COD) exprime la totalité des fractions solubles des matières organiques qu'elles soient biodégradables ou inertes.

Ainsi, dans le cadre des présents travaux, il a été évalué :

- la DCO pour connaître l'importance de la pollution carbonée dans le milieu étudié,
- la DBO<sub>5</sub> pour voir la part biodégradable de cette pollution carbonée dans ces eaux usées et, pour identifier le procédé de traitement à utiliser. La DCO et la DBO<sub>5</sub> s'expriment en mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>

La DCO 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<sub>5</sub> a été évaluée selon la méthode manométrique avec des manomètres Oxytop WTW, selon la norme NF 90-103.

## II.2. Matières azotées et phosphorées

### ❖ Dosage des ions phosphate (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)

Selon la méthode définie par la norme NFT90-923, les ions orthophosphates forment un complexe avec le paramolybdate d'ammonium ((NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>, 4H<sub>2</sub>O) et tartrate d'antimoine et de potassium (K(SbO)C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>). Ce complexe est réduit par l'acide ascorbique en complexe coloré en bleu qui présente deux valeurs maximales d'absorption, l'une vers 700 nm et l'autre vers 880 nm. La lecture de l'intensité de coloration est effectuée à l'aide du spectrophotomètre UV/VIS de marque JASCO V-530 à 770 nm, muni de capsules de 10 mL et couplé à un micro-ordinateur fonctionnant avec le logiciel SPECTRA MANAGER. Les résultats obtenus sont rapportés à une courbe d'étalonnage réalisée avec une solution standard de dihydrogénophosphate de potassium (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). Les poly-phosphates et le phosphore organique ne sont pas dosés par cette méthode.

Les valeurs obtenues avant et après le traitement des eaux usées permettent de calculer le taux d'abattement des ions phosphates suivant l'équation 3. Ces valeurs, constituent l'une des trois réponses du phénomène étudié.

Pour cette étude, l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) et les orthophosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) ont été évalués selon la méthode colorimétrique basée sur l'utilisation du spectrophotomètre UV-visible utilisant le réactif de Nessler selon la norme NFT 90-015.

### II.3. Calcul des effets relatifs des facteurs sur les réponses

La contribution relative des facteurs sur le phénomène étudié a été calculée à l'aide de l'éq.9. Encore appelée diagramme de Paréto, elle facilite la mise en évidence de l'apport de chacun des facteurs sur le phénomène étudié.

$$P_i = \left( \frac{a_i^2}{\sum a_i^2} \right) * 100 \quad (i \neq 0) \quad \text{Eq.9}$$

Avec :

$P_i$  représente la contribution de chacun des facteurs ;

$a_i^2$  qui représente le carré de la valeur du coefficient dont on veut évaluer la contribution et

$\sum a_i^2$  qui représente la somme du carré des coefficients.

## III. Evaluation de l'absorption métallique

### III.1. Dosage des métaux dans les échantillons d'eau

L'expérimentation a duré 20 jours et des prélèvements ont été effectués respectivement après 3 ; 6 ; 9 ; 12 ; 15 et 20 jours de traitement. Une partie de ces échantillon a été conservée à 4°C après acidification avec de l'acide nitrique ( $\text{HNO}_3$ ) à 50% selon le protocole (1 mL de  $\text{HNO}_3$  à 50% dans 125 mL d'échantillon) pour le dosage de cuivre et/ou de cadmium par spectrométrie d'absorption atomique (SAA) à flamme air-acétylène, type Varian AA20 selon la norme Afnor NFT 90-112 (522). La seconde partie a servi à évaluer la DCO, du  $\text{NH}_4^+$  et du  $\text{PO}_4^{3-}$  selon la méthodologie décrite plus haut pour l'évaluation de ces différents paramètres.

### III.2. Dosage métallique dans les échantillons issus de la plante

Les échantillons de plantes ont été rincés à l'aide d'eau de robinet puis à l'eau déminéralisée pour éliminer tout résidu de terre fixé à la surface des plantes. L'ensemble de ces échantillons de plantes a été pesé avant et après les expérimentations pour chaque type de concentration. Ensuite, les pieds de la jacinthe d'eau ont été séparés en leurs différentes parties : racines, tige et feuilles et mises dans du papier aluminium et laissées à l'étuve à 50°C pendant 48 heures afin d'éviter l'évaporation métallique à température élevée. Après ces 48 heures à 50°C, elles ont

été séchées à nouveau à l'étuve à 105 °C pendant 24 heures. 250 mg de la poudre de la biomasse végétale séchée et broyée ont été minéralisés à 600 °C durant 5 heures dans un four à moufle afin d'obtenir des cendres blanches. 6 mL d'eau régale constituée d'acide chlorhydrique et d'acide nitrique (HCl 20% – HNO<sub>3</sub>, ratio 5 : 1) ont servi à faire une digestion à chaud à 100°C pendant une heure des résidus de cendres issus de la minéralisation au four (Kularatne et de Freitas, 2013). Cette opération de digestion de la matière minérale a conduit à une solubilisation quasi-complète de la matière végétale. Le résidu solide obtenu après digestion acide des échantillons de plante peut être considéré négligeable devant la masse de matière sèche minéralisée (250 mg). La solution de minéralisation obtenue a ensuite été refroidie à température ambiante, filtrée (filtres en microfibrilles de verre – 0,45 µm) et diluée dans une fiole de 25 mL avec de l'eau déminéralisée. Les solutions obtenues sont conservées à 4°C et sont dosées à la SAA.

Certains oligoéléments (magnésium, fer, cuivre, manganèse et zinc), macroéléments (soufre, calcium, potassium, sodium et phosphore), éléments toxiques (cadmium et plomb) et la teneur en eau ont été aussi évalués sur *Eichhornia crassipes* récoltés au Bénin et en Côte-d'Ivoire. Le tableau X présente la norme et la méthodologie utilisées pour évaluer chacun de ces paramètres. La matière sèche (MS) qui est constituée de la partie d'un produit végétal qui reste une fois que l'eau en a été totalement extraite, a été déterminée par séchage à l'étuve ventilée de l'échantillon. Dans un creuset en porcelaine préalablement séché et taré (tare t), une masse (m) d'échantillon est pesée. La masse pesée de l'échantillon est ensuite mise à l'étuve à 105°C jusqu'à obtenir une masse constante d'échantillon. Après l'obtention de la masse constante, elle a été refroidie dans un dessiccateur puis l'ensemble a été pesé (M<sub>0</sub>). La teneur en matière sèche a été calculée suivant la formule : %MS = 100 × (M<sub>0</sub> – t) / m. La teneur en eau revient à la différence entre 100 et la teneur de la matière sèche : %TE = 100 - %ME.

Tableau X : Méthodes normalisées d'évaluations des macroéléments, des oligoéléments et des éléments toxiques évalués

Paramètres	Normes	Méthodologies
Calcium (Ca)	NF T90-016(338)	Titrimétrie
Cadmium (Cd)	NFT 90-112 (522)	Spectrométrie Atomique dans la flamme (SAA)
Cuivre (Cu)		
Fer (Fe)		
Manganèse (Mn)		
Plomb (Pb)		
Magnésium (Mg)	NF T90-005(294)	

Potassium (K)	NF T90-020(351)	
---------------	-----------------	--

#### IV. Calculs des facteurs montrant la capacité absorbante des métaux par la plante

La capacité d'une plante à accumuler des polluants à partir de son environnement est évaluée grâce à la teneur métallique totale (équation 10). Le taux relatif de croissance (RGR) a été évalué suivant la formule de Coombs et *al.* (1985) (équation 11). La localisation de la quantité métallique absorbée par la plante est faite par calcul de certains facteurs spécifiques tels que le Facteur de BioConcentration (FBC), le Facteur de Translocation (FT) et le Taux de l'Efficacité de la translocation (TE).

Le facteur de bioconcentration traduit la capacité d'une espèce végétale à accumuler dans ses tissus (généralement les racines) un polluant à partir de son environnement (le sol ou dans l'eau) et est calculé suivant l'équation 13 (Zayed et *al.*, 1998). Le facteur de translocation traduit la capacité d'une espèce végétale à transférer un polluant de ses racines vers ses parties aériennes (tige, feuilles, fleurs...). Il est calculé en utilisant l'équation 12 (Luo et *al.*, 2005). Le taux d'efficacité de la translocation (%) permet d'exprimer la capacité d'une plante à transférer un métal des racines aux feuilles à différentes concentrations et est évalué selon l'équation 14 (Das et *al.*, 2014).

$$TM_{totale} \left( \frac{mg}{kg} \right) = \frac{(TMP)(\frac{mg}{L}) - (TMPt)(\frac{mg}{L})}{MS (g)} * V (mL) \quad \text{Eq. 10}$$

Avec :

$TM_{totale}$  : la teneur métallique totale

$TMP$  : la teneur métallique de plante (racine, tige et feuille) ayant subi les différents traitements,

$TMPt$  : la teneur métallique de la plante témoin (racine, tige et feuille),

$V$  : le volume,

$MS$  : la masse de la matière sèche.

$$RGR \left( \frac{g}{kg} \right) = \frac{MF_{finale} (g)}{MF_{initiale} (kg) \times TS (jours)} \quad \text{Eq.11}$$

Où :

$MF_{finale}$  : représente la matière fraîche à la fin des essais ;

$MF_{initiale}$  : représente la matière fraîche au début des essais ;

$TS$  : représente le temps de séjour.

$$FT = \frac{TM_{\text{Partie Aérienne}} (\text{tige et feuille}) (\text{mg/kg})}{TM_{\text{Racine}} (\text{mg/kg})} \quad \text{Eq 12}$$

Avec :

$TM_{\text{Partie Aérienne}}$  : représente la teneur métallique totale accumulée dans la partie aérienne de la plante ;

$TM_{\text{Racine}}$  : représente la teneur métallique totale accumulée par la racine de la plante.

$$FBC = \frac{TM_{\text{Racine}} (\text{mg/kg})}{C_{\text{initiale}} (\text{mg/L})} \quad \text{Eq.13}$$

Où :

$TM_{\text{Racine}}$  : représente la teneur métallique totale accumulée par la racine de la plante,

$C_{\text{initiale}}$  : représente la concentration métallique initiale de la solution.

$$\%TE = \frac{TM_{\text{feuilles}} (\text{mg/kg})}{TM_{\text{Racine}} (\text{mg/kg})} * 100 \quad \text{Eq.14}$$

Avec :

$TM_{\text{feuilles}}$  : représente la teneur métallique accumulée par les feuilles de la plante,

$TM_{\text{Racine}}$  : représente la teneur métallique accumulée par la racine de la plante.

Poudre matière sèche 2,5 g

## V. Screening phyto-chimique

Le screening phytochimique est une technique d'identification du potentiel chimique des plantes à travers la recherche des grandes familles de composés chimiques par des réactions de coloration et de précipitation en tube (Tableau XI). Les groupes phyto-chimiques recherchés sont entre autres : les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tanins...) et les alcaloïdes.

Tableau XI : Screening phytochimique

Paramètres	Méthodologie	Références
Stérols	Réaction de Lieberman et Burchard	Wagner, 1983
Terpènes		
Tanins galliques	Réaction à la Stiany	Ethel, 1922
Tanins catéchiques	Réaction à la Stiany acido-alcoolique	
Leucoanthocyanes	Réaction à la cyanidine sans ajout de copeaux de magnésium	Wagner, 1983
Anthocyanes	Réaction acido-basique selon la coloration	Ethel, 1922

Composés phénoliques	Test au trichlorure de fer III	Wagner, 1983
Alcaloïdes	Test de Mayer et de Dragendorff	Harbon, 1998 ; Wagner, 1983
Flavonoïdes	Réaction à la cyanidine	Wagner, 1983

## V.1. Dosage des composés phénoliques

La méthode colorimétrique basée sur l'utilisation du spectrophotomètre UV-visible a été utilisée pour la quantification à partir de la matière végétale. L'acide gallique, la Kercétine et la Catéchine constituent les différentes solutions étalons utilisées pour le tracé des courbes d'étalonnage des composés phénoliques totaux, des flavonoïdes totaux et des tannins condensés.

### V.1.1. Dosage des polyphénoliques totaux (PPT)

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents extraits est réalisé par la méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu de Singleton et *al.*, (1999). Il utilise principalement le réactif de « Folin-Ciocalteu » qui est un mélange de complexes des acides phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) de couleur jaune.

#### ❖ Principe

Il est basé sur l'oxydation en milieu basique des fonctions oxydables des polyphénoliques par le réactif de Folin-Ciocalteu avec la formation d'un nouveau complexe molybdène-tungstène ( $Mo_8O_{23}-W_8O_{23}$ ). Ces complexes molybdènes-tungstènes (oxydes métalliques  $W_8O_{23}/Mo_8O_{23}$ ) de couleur bleue formés, présentent un maximum d'absorption à 765 nm avec la formation d'un ion phénolate dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans l'échantillon. 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 (Wong et *al.*, 2006).

#### ❖ Mode opératoire

Pour le dosage des composés phénoliques totaux, 0,4 mL d'extrait est mélangé dans un tube à essai avec 2 mL du réactif de Folin-Ciocalteu (1/10). Après 4min de temps de réaction au repos, il est ajouté 1,6 mL d'une solution de  $Na_2CO_3$  (20 ou 7,5%). Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante et à l'obscurité pendant environ 2 heures. La lecture de l'absorbance est faite au spectrophotomètre à 765 nm contre un blanc réalisé dans les mêmes conditions sauf le remplacement de l'extrait par le solvant d'extraction (Agbangnan et *al.*, 2012).

La figure 20 présente la droite d'étalonnage préalablement tracée avec l'acide gallique dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser. Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EGa/g Ms).

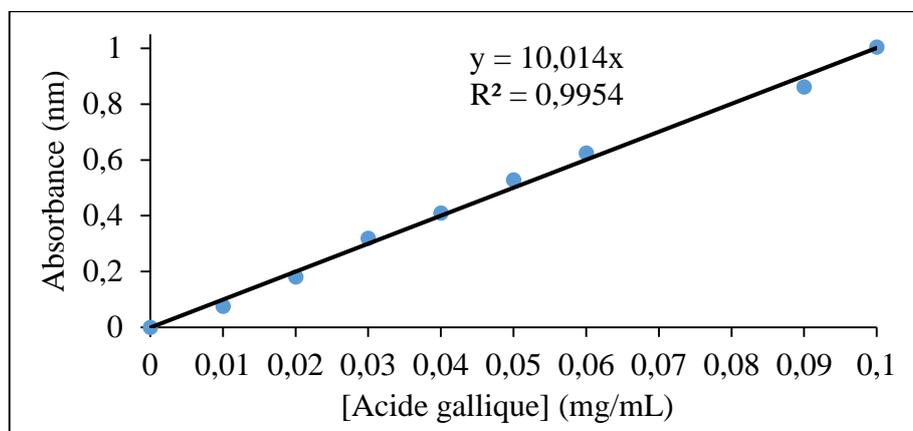


Figure 20 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

### V.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

La méthodologie utilisée est la méthode colorimétrique de trichlorure d'Aluminium (Agbangnan et *al.*, 2012). Elle utilise les réactifs comme les solutions incolores de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ , 5%), de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ , 10%) et d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ , 1 N).

#### ❖ Principe

Le principe est basé sur l'oxydation du groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 des flavonoïdes par le chlorure d'aluminium avec la formation d'un complexe jaunâtre par chélation des métaux (fer et aluminium) qui absorbe à 510 nm. Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons (Ribéreau-Gayon et *al.*, 1972).

#### ❖ Mode opératoire

Dans un tube à essai de 10 mL ont été introduits successivement 500  $\mu\text{L}$  de l'extrait, 2,5 mL d'eau distillée et 300  $\mu\text{L}$  d'une solution de  $\text{NaNO}_2$  (5%). Après 6 minutes de réactions, 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{AlCl}_3$  (10%) sont ajoutés puis après 5 minutes, 1 mL de  $\text{NaOH}$  (1 N) et 400  $\mu\text{L}$  d'eau distillée ont été ajoutés successivement au mélange. L'absorbance du mélange obtenu a été directement mesurée au spectrophotomètre UV-visible à 510 nm contre un blanc.

La concentration des flavonoïdes contenus dans les différents extraits est calculée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la kercétine comme solution étalon (figure 21).

Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent de kercétine par gramme de matière sèche (mg EK/g Ms).

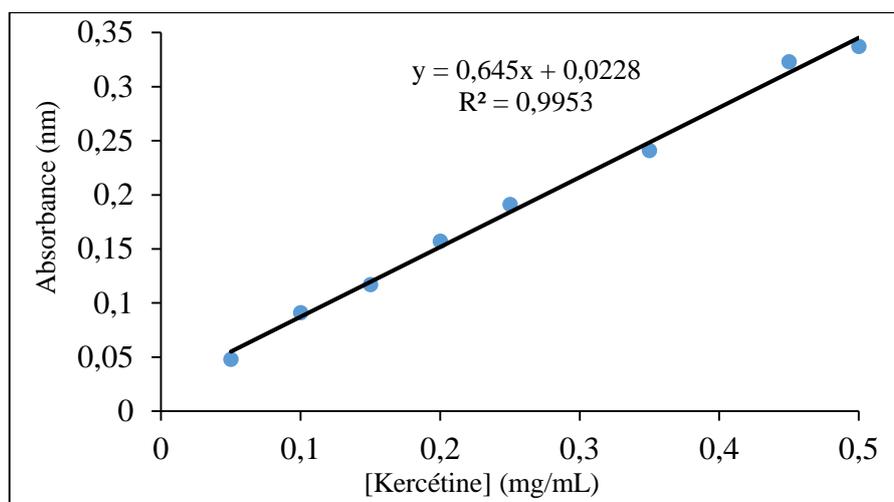


Figure 21 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes totaux

### V.1.3. Dosage des tanins condensés

Le dosage est fait selon la méthode à la vanilline utilisant la vanilline et l'acide chlorhydrique concentré.

#### ❖ Principe

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 (Agbangnan et *al.*, 2012).

#### ❖ Mode opératoire

Dans un tube à essai 50  $\mu$ L de l'extrait, 3 mL de Vanilline/MeOH (4%) et 1,5 mL d'acide chlorhydrique fumant sont introduits. Après 15 minutes, l'absorbance du mélange obtenu est mesurée au spectrophotomètre UV-visible à 500 nm contre un blanc. La courbe d'étalonnage (figure 22) est élaborée avec la solution étalon de la catéchine préparée à des concentrations différentes. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g Ms).

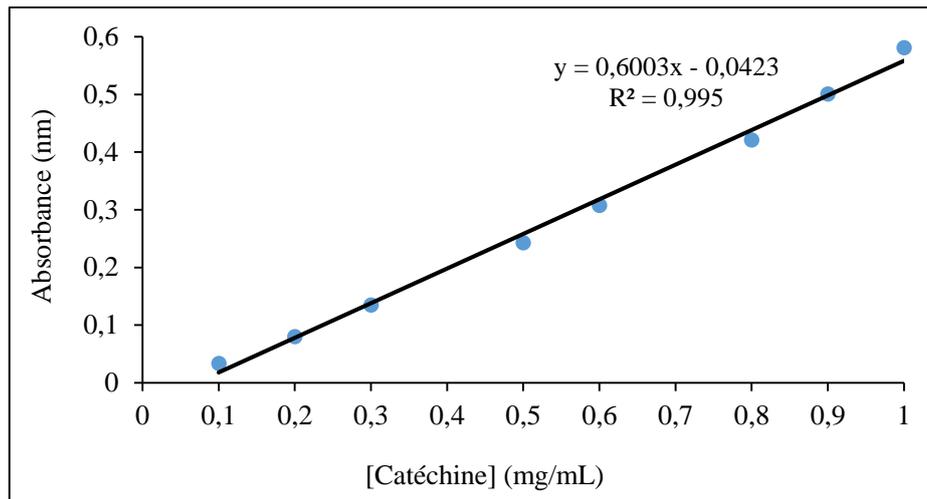


Figure 22 : Courbe d'étalonnage des tanins condensés

## VI. Analyse statistique des données

Les différentes variations observées par base de données ont été appréciées à l'aide de diverses méthodes statistiques. Pour l'étude de l'influence du temps de séjour, de la densité de plante et de la charge organique initiale en DCO sur la phytoépuration, le Boxplot a servi à évaluer la distribution de chacune des réponses. Ensuite, les modèles obtenus ont été validés de deux manières, à savoir : la validation statistique et celle expérimentale. Pour ce qui concerne l'étude de l'absorption métallique par la jacinthe d'eau (*Eichhornia crassipes*), le Boxplot a été utilisé d'une part, suivi d'une étude d'analyse de variance (ANOVA) à un facteur, à deux et parfois à trois facteurs. La régression linéaire a été aussi mise à profit d'autre part pour évaluer la contribution de la plante dans les différents traitements. Au niveau de l'étude de l'effet des polluants organiques sur les métabolites secondaires de *Eichhornia crassipes*, le Boxplot et l'analyse de variance (ANOVA) à trois facteurs ont permis d'évaluer la dispersion et la distribution des facteurs sur les métabolites secondaires.

### VI.1. Validation des modèles

La méthode de validation expérimentale consiste à s'intéresser au coefficient de corrélation et / ou à la variation qui existe entre la réponse expérimentale et la réponse théorique (Feinberg, 1996). Si le coefficient de corrélation ( $R$ ) tend vers -1 ou 1, il y a donc une bonne corrélation entre ces deux réponses. Si le coefficient de détermination ( $R^2$ ) tend vers 1, le modèle peut être validé. La validation statistique a consisté à apprécier l'écart entre les réponses mesurées et celles calculées à l'aide du modèle ( $Y_{exp.}$  et  $Y_{calc.}$ ).

## VI.2. Boxplots

Le Boxplot, encore appelé boîte à moustaches, est une représentation graphique qui permet de dessiner le profil d'une série statistique favorisant la visualisation de sa distribution. La boîte donne un résumé numérique simple et pratique d'une distribution par les mesures de cinq valeurs : minimum, premier quartile  $Q_1$  (25%), médiane  $Q_2$  (50%), troisième quartile  $Q_3$  (75%) et maximum. Le Boxplot est délimité par le premier et le troisième quartile et contient de ce fait 50% de l'échantillon étudié. Les moustaches inférieure et supérieure représentent respectivement le minimum et le maximum. Le Boxplot a l'avantage de favoriser la détection d'une asymétrie de la distribution, d'une inégalité dans les variances, la présence des points aberrants, des points à l'extérieur des moustaches qui sont définis comme des observations en dehors de l'intervalle appelé écart interquartile I. Ce dernier est encadré par  $Q_1$  et  $Q_3$  de la manière suivante :  $I = \{Q_1 (25\%) - 1,5, Q_3 (75\%) + 1,5\} [Q_3 - Q_1]$ . Les points à l'extérieur des moustaches sont définis comme des observations suspectes. Il permet d'analyser les relations entre les variables qualitatives et quantitatives. Les graphiques ont été réalisés à l'aide du logiciel XLSTAT version d'essai d'une part et du logiciel R d'autre part.

## VI.3. ANOVA

L'analyse de la variance (Analysis Of Variance) en anglais, en abrégé ANOVA, est un test statistique permettant de vérifier que plusieurs échantillons sont issus d'une même population. Ce test s'applique lorsque l'on mesure une ou plusieurs variables explicatives catégorielles (appelées alors facteurs de variabilité, leurs différentes modalités étant parfois appelées : niveaux) qui ont de l'influence sur la distribution d'une variable continue à expliquer. On parle d'analyse à un facteur lorsque l'analyse porte sur un modèle décrit par un seul facteur de variabilité, d'analyse à deux facteurs ou d'analyse multifactorielle sinon.

L'analyse de la variance met en exergue le comportement d'une variable quantitative à expliquer en fonction d'une ou de plusieurs variables nominales catégorielles. Lorsque l'on souhaite étudier le comportement de plusieurs variables à expliquer en même temps, on utilisera une analyse de la variance multiple (MANOVA). Si un modèle contient des variables explicatives catégorielles et continues et que l'on souhaite étudier les lois liant les variables explicatives continues avec la variable à expliquer en fonction de chaque modalité des variables catégorielles, on utilisera alors une analyse de la covariance (ANCOVA). L'analyse de variance permet simplement de répondre à la question de savoir si tous les échantillons suivent une même loi normale qui n'est rien d'autre qu'une hypothèse normée hypothèse nulle ( $H_0$ ). Dans le cas

où l'on rejette l'hypothèse nulle, cette analyse ne permet pas de savoir quels sont les échantillons qui s'écartent de cette loi. Ainsi, pour identifier les échantillons qui induisent la différence, on utilise les différents tests post-hoc (ou tests de comparaisons multiples, MCP pour Multiple Comparison Test). Ces tests obligent en général à augmenter les risques de l'analyse qui ne sont rien d'autres que des risques statistiques. Les tests post-hoc utilisés sont : les tests LSD de Fisher et les tests HSD de Tukey.

#### **VI.4. Régression linéaire**

La régression linéaire a permis l'évaluation graphique et l'obtention des différents modèles. Ces modèles ont permis d'apprécier dans le temps la contribution de la plante. Le logiciel R version Rx64 3.3.2 a été utilisé. Les différentes fonctions de R utilisées dans ce cadre sont : la fonction linear model (`lm ()`), la fonction general least « squared » (`gls ()`) et la fonction linear model extension (`lme ()`). Chacune de ces différentes fonctions permet d'obtenir des modèles linéaires de différentes catégories. La fonction `lm ()` conduit à un modèle linéaire simple alors que les autres fonctions `gls ()` et `lme ()` permettent d'avoir des modèles aux effets mixtes avec la prise en compte de la dépendance des mesures. Comme c'est le cas dans la présente étude où chacun des paramètres mesurés dans le temps dépend de sa mesure précédente. Les modèles aux effets mixtes tiennent compte de la dépendance des mesures et améliorent la variabilité du modèle issu des fonctions linéaires simples comme `lm ()`. La variabilité est évaluée au niveau des fonctions linéaires par le coefficient de détermination  $R^2$  alors qu'au niveau des modèles aux effets mixtes, elle est évaluée par le coefficient AIC. AIC qui désigne le Critère d'Information d'Akaike, (en anglais Akaike Information Criterion) est une mesure de la qualité d'un modèle statistique proposée par Hirotugu Akaike en 1973. De deux modèles mixtes, celui qui explique au mieux le phénomène est celui qui a le critère d'information d'Akaike le plus faible (Cameron et Trivedi, 2005).

Mais, il est quand même difficile de déterminer le pourcentage de variabilité de la base de données expliquée lorsque les fonctions aux effets mixtes sont utilisées. Toutefois ces fonctions améliorent le modèle de prédiction avec une variabilité explicative automatiquement supérieure à celle du coefficient de détermination  $R^2$  qui est obtenu lorsque l'on utilise la fonction `lm ()` dans R.

### Conclusion partielle

Des méthodes analytiques normalisées et des appareils spécifiques ont été utilisés pour mesurer les paramètres physico-chimiques, les paramètres globaux de pollution et métalliques. Certains traitements statistiques sont faits sur la base de données. Ainsi, le box flot, les regressions linéaires et les analyses de variantes à trois facteurs (ANOVA à trois facteurs) sont réalisés. Le logiciel R a été utilisé pour ces différents types de traitement statistique

---

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agbangnan** D. C. Pascal, Christine Tachon, Célène Bonin, Anna Chrostowka, Eric Fouquet, Dominique c. k. Sohounhloué, (2012). Phytochemical study of a tinctorial plant of benin traditional pharmacopoeia: The red sorghum (*sorghum caudatum*) of Benin. Scientific Study & Research.
- Aïna** M. P, Kpondjo N. M, Adoukpe J. Chougourou D. et Moudachirou (2012) M. Study of the purification efficiencies of three floating macrophytes in wastewater treatment Research Journal of Chemical Sciences ISCA-RJCS, 154.
- Coombs**, J., Hall, D. O., Long, S. P., et Scurlock, J. M. O. (1985). Techniques in bioproductivity and photosynthesis. Oxford: Pergamon. 298.
- Cronquist**, A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press, New York.
- Das** S, Goswami S, Das Talukdar A (2014). A study on cadmium phytoremediation potential of water lettuce, *Pistia stratiotes* L. B Environ Contam Tox 92: 169–174.
- Degrémont**, 2005. Memento technique de l'eau, 10<sup>e</sup> Edition.
- Di Benedetto** Dominique, Breuil Philippe (2007). Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible. Techniques de l'ingénieur, Réf. : P2795 V2. 24p.
- Effebi**, K. R. (2009). Lagunage anaérobie : Modélisation combinant la décantation primaire et la dégradation anaérobie. Thèse de Doctorat, Université de Liège, 162p
- Ethel** Athinson (1922) Edith Olive Hazleton, A quantitative Tannin test, Biochem J. 16(4):516-517
- Fawzy** Manal Ahmed, Badr Nadia El-sayed, El-Khatib Ahmed, Abo-El-Kassem Amany (2011). Heavy metal biomonitoring and phytoremediation potentialities of aquatic macrophytes in River Nile. Environment Monitory Assess; 184:1753–1771pp ; DOI 10.1007/s10661-011-2076-9.
- Gakwavu**. R. J., Sekomo B. C. & Nhapi I. (2007). Zinc and Chromium removal mechanisms from wastewater by Water hyacinth, *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms.
- Hafidzatul** Husna Mohamad and Puziah Abdul Latif (2010). Uptake of Cadmium and Zinc from Synthetic Effluent by Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*). International journal of EnvironmentAsia 3(1) ; 36-42pp.
- Harbone** J.B. (1998) Phytochemical Methods, A guide to modern techniques of plant analysis; New York, ISBN: (1998)0-412-57260-5

- Jayaweera** M.W., Kasturiarachchi C. J., Kularatne K.A.J. & Wijeyekoon L.J.S. (2007). Contribution of water hyacinth (*Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms) grown under different nutrient conditions to Fe-removal mechanisms in constructed wetlands. *Journal of Environmental Management* 87, 450–460.
- Koné** 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. Thèse de doctorat, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, 168p.
- Kularatne** K. I. A., de Freitas C. R. (2013). Epiphytic lichens as biomonitors of airborne heavy metal pollution. *Journal of Environmental and Experimental Botany*, 88(2013) 24-32pp.
- Lu**, Q., He, Z.L., Graetz, D.A., Stoffella, P.J. et Yang, X., (2010). Phytoremediation to remove nutrients and improve eutrophic stormwaters using water lettuce (*Pistia stratiotes* L.), *Environ. Sci. Poll. Res.*, 17, 84-96pp.
- Luo** C, Shen Z, Li X (2005). Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS. *Chemosphere* 59: 1–11.
- Mahmood**, Q., Zheng, P., Islam, E., Hayat, Y., Hassan, M.J., Jilani, G. et Jin, R.C., (2005). Lab scale studies on water hyacinth (*Eichhornia crassipes* marts solms) for biotreatment of textile wastewater, *Caspian J. Env. Sci.*, 3(2), 83-88pp.
- Ogamba** E. N., Izah C., S., et Ogbogu M. J., (2015). Cadmium and Lead level in *Eichhornia crassipes* from River Nun, Niger Delta, Nigeria. *Journal of Advances in Biological and Basic Research*. e-ISSN-2454-6097
- Ribéreau-Gayon** J, Peynaud m, Ribéreau-Gayon P and Sudraud P. (1972). *Sciences et techniques du vin. Tome 1, analyse et controle des vins*. Ed. Dunod, Paris, 671p.
- Singleton** V. L., Orthofer R. et Lamuela-Raventos R. M. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol*; 152-177pp.
- Virendra** K.M. & Tripathi B.D. (2008) Concurrent removal and accumulation of heavy metals by the three aquatic macrophytes. *Bioresource Technology* 99, 7091–7097pp.
- Wagner** H., (1983) *Drogen analyse, Dünnschicht chromatographische Analyse von Arzneidrogen*. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York. 522 pp.
- Williams**, L.E., Pittman, J.K. et Hall, J.L. (2000) Emerging mechanisms for heavy metal transport in plants. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1465 : 104-126.
- Wong** C.C., Li. H, B., Cheng K. W., Chen F., (2006). A systematic survey of antioxidantactivity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry*

- Yao B.**, Assidjo E., Gueu S. Ado G. (2005). Study of hibiscus esculentus mucilage coagulation-flocculation activity. *J. Appl. Sci. Environn. Mgt*, 9 (1): 173-176.
- Zanaty R.** Komy, Wael H. Abdelraheem, Nabawia M. Ismail (2012). Biosorption of  $\text{Cu}^{2+}$  by *Eichhornia crassipes*: Physicochemical characterization, biosorption modeling and mechanism. *Journal of King Saud University – Science*, (25), 47-56pp.
- Zayed A,** Gowthaman S, Terry N (1998). Phytoremediation of trace elements by wetland plants: I. Duckweed. *J Environ Qual* 27: 715–721.
- Zhang Zhenhua;** Rengel Zed and Meney Kathy (2010). Cadmium Accumulation and Translocation in Four Emergent Wetland Species. *Water Air Soil Pollut* ; DOI 10.1007/s11270-010-0339-7.

# **TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION**

## **TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION**

## CHAPITRE I : PHYTOEPURATION ET INFLUENCE DE CERTAINS FACTEURS SUR L'UTILISATION DE LA JACINTHE D'EAU

Les trois facteurs choisis pour l'étude sur le plan factoriel complet sont : le temps de séjour, la densité de la plante et la charge initiale organique en DCO. Ce chapitre présente les résultats relatifs à l'estimation et aux statistiques des coefficients, à la contribution des facteurs sur les réponses. Il montre également la validation du plan d'expérience utilisé, l'optimisation du phénomène et l'optimisation multi-réponses de la phytoépuration à partir de la méthodologie des plans d'expérience.

### I. Estimations et statistiques des coefficients

#### ❖ Analyse globale des résultats d'essais

Le graphique de Boxplot nous a permis d'étudier la distribution des réponses

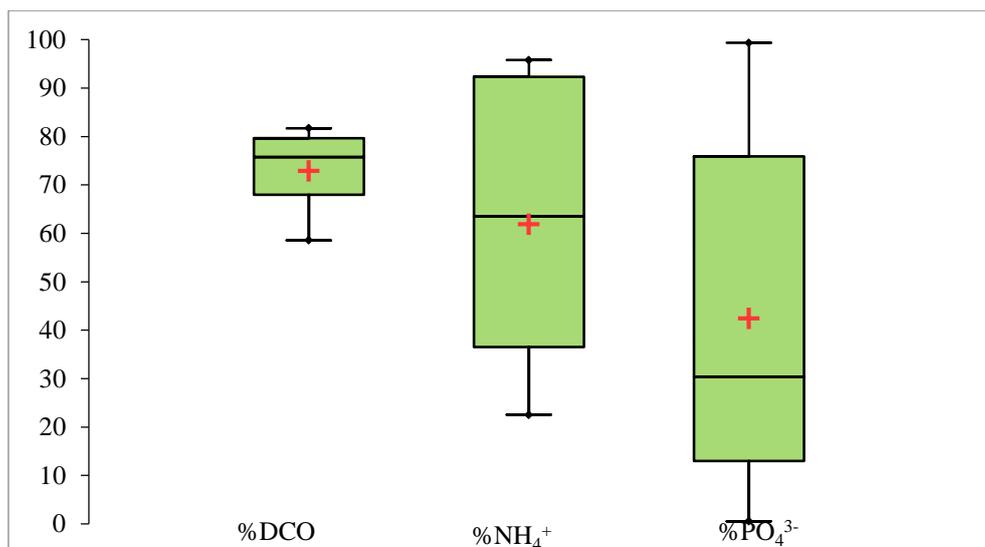


Figure 23 : Distribution des réponses relatives aux taux d'élimination de la DCO, de l'azote ammoniacal et de l'orthophosphate

L'analyse de la Figure 23 fait ressortir que seules les valeurs liées au taux d'élimination de l'azote ammoniacal (% NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) présentent une distribution relativement symétrique autour de la moyenne dans le domaine expérimental. En effet, leur médiane est presque confondue à leur moyenne. Les valeurs des réponses relatives aux taux d'élimination de la DCO (% DCO) et à celui des orthophosphates (% PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>), présentent des distributions asymétriques par rapport à leurs moyennes respectives.

Pour le taux d'élimination de la DCO (% DCO), une séparation de la médiane (trait noir de la figure 23) et de la moyenne (croix en rouge de la figure 23) est notée. Cette séparation montre que près de la moitié des essais présentent un taux d'élimination en DCO inférieure au taux d'élimination de la DCO médiane. Concernant les orthophosphates, environ 70 % des expériences présentent plutôt un taux d'élimination supérieure à la valeur médiane.

### I.1. Analyse des facteurs

Les résultats des expériences du plan factoriel complet (PFC), représentés par la figure 24 montrent les combinaisons statistiques des variables indépendantes  $x_1$ (temps de séjour),  $x_2$  (densité de plante) et  $x_3$  (charge initiale en DCO).

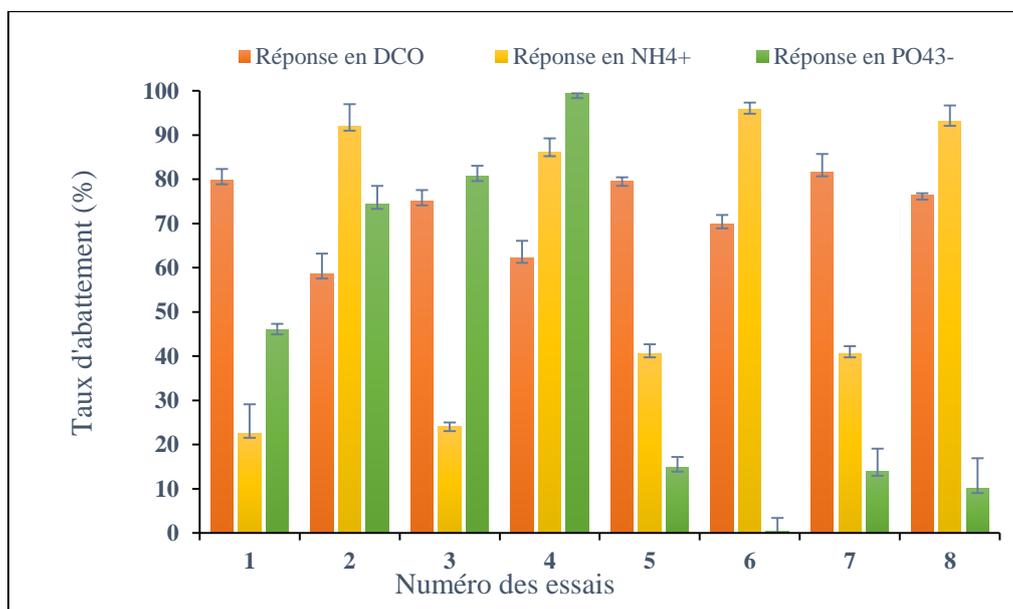


Figure 24 : Taux d'abattement représentant les réponses des huit essais

La figure 24 présente une grande variation des réponses étudiées (Tableau VII, annexe). La variation des réponses est notée de 58,59% à 81,71% pour le taux d'abattement en DCO ; de 22,53% à 95,81 pour le taux d'abattement en  $\text{NH}_4^+$  et de 0,54% à 95,35% pour celui en  $\text{PO}_4^{3-}$ . Cette variation des trois réponses montre qu'un ou plusieurs facteur (s) a (ont) de l'influence sur les réponses dans le domaine d'étude et la pertinence du domaine d'étude. L'écart-type sur la variation de chaque catégorie de réponse indique une valeur de 8,60 pour  $Y_1$ , de 32,74 pour  $Y_2$  et de 37,99 pour  $Y_3$ . Ces valeurs de l'écart-type plus ou moins élevées viennent confirmer l'influence des facteurs sur les réponses (Yobou et al., 2016). Les forts taux d'élimination des orthosphates observés seraient dûs à l'effet synergique entre la jacinthe d'eau et les microorganismes. En outre, les plantes et les microorganismes utilisent tous le phosphore (P) comme nutriment essentiel. La réduction du phosphore peut être due à l'absorption de ce dernier et de sa filtration à travers les racines (Shah et al., 2014).

Les performances épuratoires obtenues dans la présente étude corroborent celles obtenues par Jianbo *et al.* (2008) et Aina *et al.* (2012) au cours de leurs travaux sur la jacinthe d'eau. Ces performances dans l'ensemble, sont restées dans la gamme des performances généralement obtenues dans les autres systèmes naturels d'épuration exploitant la jacinthe d'eau (Ghaly *et al.*, 2005 ; Loan *et al.*, 2014, Akinbilé *et al.*, 2015, Rezania *et al.*, 2015). Cependant, elles sont relativement plus faibles, respectivement pour la DCO, le  $\text{NH}_4^+$  et le  $\text{PO}_4^{3-}$  que celles obtenues par Shahabaldin *et al.* (2014) avec les mêmes macrophytes flottants (98,52% pour la DCO ; 95,08% pour le  $\text{NH}_4^+$  et 69,81% pour le  $\text{PO}_4^{3-}$ ).

## I.2. Identification des facteurs significatifs sur les réponses et élaboration des modèles

L'exécution des différentes réponses de la figure 24 à l'aide du logiciel NEMROD-W a permis de générer les coefficients consignés dans le tableau XII.

Tableau XII : Récapitulatif des coefficients moyens, principaux et coefficients d'interaction, statistiquement significatifs à zéro des différents essais.

Taux d'élimination de DCO (Y <sub>1</sub> )		Taux d'élimination de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (Y <sub>2</sub> )		Taux d'élimination de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> (Y <sub>3</sub> )	
Coefficients	Valeurs	Coefficients	Valeurs	Coefficients	Valeurs
<b>b<sub>0</sub></b>	<b>72,92</b>	<b>b'<sub>0</sub></b>	<b>61,90</b>	<b>b''<sub>0</sub></b>	<b>42,46</b>
<b>b<sub>1</sub></b>	<b>-6,15</b>	<b>b'<sub>1</sub></b>	<b>29,89</b>	b'' <sub>1</sub>	3,62
b <sub>2</sub>	0,92	b' <sub>2</sub>	-0,86	<b>b''<sub>2</sub></b>	<b>8,55</b>
<b>b<sub>3</sub></b>	<b>3,99</b>	<b>b'<sub>3</sub></b>	<b>5,69</b>	<b>b''<sub>3</sub></b>	<b>-32,60</b>
<b>b<sub>12</sub></b>	<b>1,58</b>	<b>b'<sub>12</sub></b>	<b>-1,25</b>	b'' <sub>12</sub>	0,09
<b>b<sub>13</sub></b>	<b>2,43</b>	<b>b'<sub>13</sub></b>	<b>-3,02</b>	<b>b''<sub>13</sub></b>	<b>-8,17</b>
<b>b<sub>23</sub></b>	<b>1,23</b>	b' <sub>23</sub>	0,19	<b>b''<sub>23</sub></b>	<b>-6,39</b>
2σ	0,99	2σ	1,15	2σ	5,04

L'effet moyen est estimé par b<sub>0</sub>. L'influence d'un facteur sur le phénomène est appelée effet principal du facteur. Il est estimé par le coefficient b<sub>i</sub> et les effets d'interactions par b<sub>ij</sub>. Ces coefficients varient entre -6,15 et 72,92 pour la réponse en DCO (Y<sub>1</sub>) ; entre -0,86 et 61,90 pour la réponse en NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (Y<sub>2</sub>) et entre -32,60 et 42,46 pour la réponse en PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (Y<sub>3</sub>).

Le test de significativité des coefficients stipule qu'un coefficient est statistiquement significatif lorsqu'en valeur absolue, il est supérieur ou égale au double de l'erreur expérimentale (Feinberg, 1996). Sur cette base, il ressort qu'en dehors de la densité de la plante, tous les autres

coefficients et interactions sont statistiquement significatifs pour la réponse  $Y_1$  qui est le taux d'élimination de la DCO. En ce qui concerne  $Y_2$  (taux d'élimination en  $\text{NH}_4^+$ ), tous les autres facteurs et leurs interactions ont des effets significatifs à part la densité de plante, et son interaction avec la charge organique initiale (exprimée en DCO). Enfin, seule la densité de plante, la charge organique initiale (exprimée en DCO), les interactions entre le temps de séjour et la charge initiale en DCO, d'une part, et de la densité de plante et la charge initiale en DCO, d'autre part, sont statistiquement significatifs pour  $Y_3$  (Taux d'abattement de  $\text{PO}_4^{3-}$ ).

En vue d'une optimisation globale pour déterminer les conditions optimales d'élimination de la DCO, du  $\text{NH}_4^+$  et du  $\text{PO}_4^{3-}$ , il est important de s'assurer de la validité des modèles obtenus sur la base du test de significativité des coefficients.

Les modèles statistiques illustrés par l'équation (1) deviennent, les équations 15, 16 et 17, respectivement, pour le taux d'élimination de la DCO, du  $\text{NH}_4^+$  et du  $\text{PO}_4^{3-}$  :

$$Y_1 = 72,92 - 6,15X_1 + 0,92X_2 + 3,99X_3 + 1,58X_1X_2 + 2,43X_1X_3 + 1,23X_2X_3 \quad \text{Eq.15}$$

$$Y_2 = 61,90 + 29,89X_1 - 0,86X_2 + 5,69X_3 - 1,25X_1X_2 - 3,02X_1X_3 \quad \text{Eq.16}$$

$$Y_3 = 42,46 + 3,62X_1 + 8,55X_2 - 32,60X_3 - 8,17X_1X_3 - 6,40X_2X_3 \quad \text{Eq.17}$$

Avec  $X_i$  désignant les variables en valeurs codées.

## II. Contribution relative des facteurs sur les réponses

La contribution des facteurs et de leur interaction sur les modèles obtenus est illustrée par la figure 25.

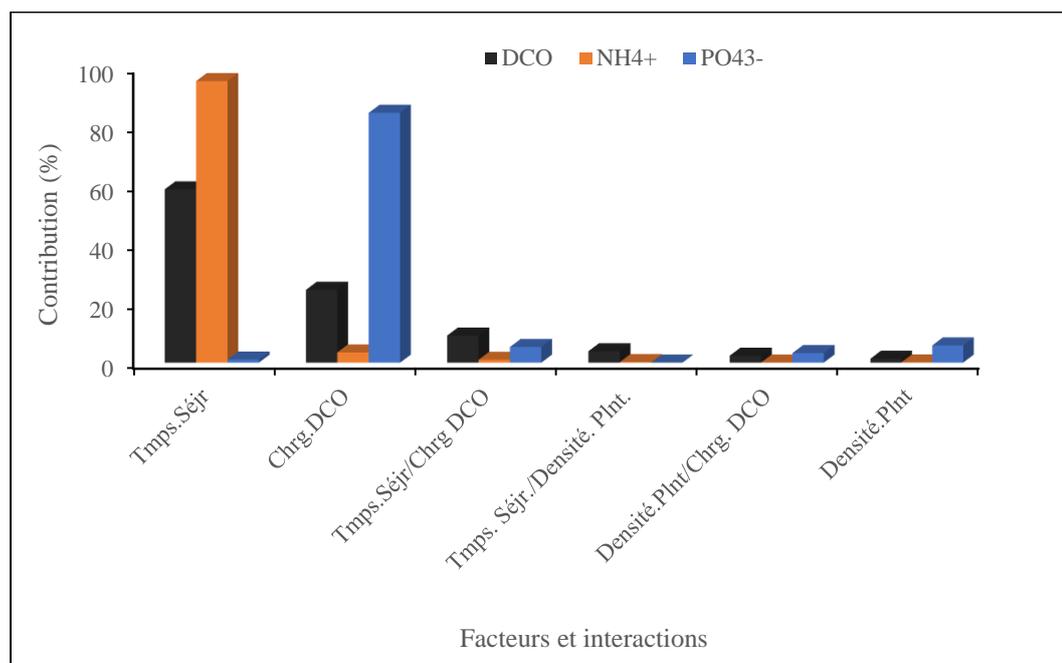


Figure 25 : Contribution des facteurs et des interactions sur les taux d'abattement en DCO, en  $\text{NH}_4^+$  et en  $\text{PO}_4^{3-}$

L'analyse de la figure 25, révèle les facteurs et les interactions : le temps de séjour ( $X_1$ ), la charge organique initiale exprimée en DCO ( $X_3$ ) et l'interaction entre ces deux facteurs ( $X_1X_3$ ) et la densité de plante contribuent plus aux différents modèles. Concernant le taux d'élimination de la DCO (réponse  $Y_1$ ), la valeur de la contribution est respectivement de 58,66%, 24,66% et 9,16% pour le temps de séjour, la charge organique initiale en DCO et leur interaction. Ces mêmes facteurs et leur interaction contribuent à hauteur de 95,33% ; de 3,45% et de 0,97% pour ce qui est de la réponse  $Y_2$  (l'élimination de  $NH_4^+$ ). Par contre, la Charge organique initiale exprimée en DCO ( $X_3$ ), la densité de plante ( $X_2$ ) et l'interaction entre le temps de séjour et la charge organique initiale exprimée en DCO ( $X_1X_3$ ) contribuent plus à l'élimination de  $PO_4^{3-}$  (réponse  $Y_3$ ).

Eu égard à ces constats, il a été question pour la suite, d'évaluer l'influence :

- du temps de séjour et de la charge organique initiale exprimée en DCO sur l'élimination de la DCO et de l'azote ammoniacal ( $NH_4^+$ ) ;
- de la densité de la plante et de la charge organique initiale en DCO sur l'élimination de  $PO_4^{3-}$  ;
- de l'interaction entre le temps de séjour et la charge initiale en DCO sur les trois réponses.

## **II.1. Analyse de l'influence des facteurs principaux significatifs sur le taux d'abattement des réponses étudiées**

Les effets principaux les plus importants dans l'élimination de la charge organique initiale (exprimée en DCO) et de l'azote ammoniacale ( $NH_4^+$ ) sont dus au temps de séjour ayant son coefficient noté  $a_1$  et à la charge organique initiale exprimée en DCO de coefficient noté  $a_3$  (équations 22 et 23). Ils sont de :  $a_1 = -6,51$  ;  $a_3 = 3,99$  et  $a_1 = 29,90$  ;  $a_3 = 5,69$  respectivement pour le taux d'élimination de la DCO et de l'azote ammoniacal ( $NH_4^+$ ). La réponse du taux d'élimination de la DCO ( $Y_1$ ) décroît en moyenne de 13,02% soit  $2 \times 6,51$  ( $2 \times a_1$ ) avec une croissance de la réponse du taux d'élimination de l'azote ammoniacale ( $Y_2$ ) en moyenne de 59,79% soit  $2 \times 29,90$  ( $2 \times a_1$ ) lorsque le temps de séjour passe de 5 à 15 jours. Les essais étant effectués en batch et en une période où il y a le soleil qui a favorisé l'apparition des algues, celles-ci (les algues) seraient à la base de la diminution du taux d'élimination de la matière organique (DCO). Shah et *al.* (2014) ont fait le même constat au cours de leurs travaux. Contrairement au coefficient  $a_1$  pour  $a_3$ , les réponses du taux d'élimination de la DCO ( $Y_1$ ) et de celui de l'azote ammoniacal ( $Y_2$ ) augmentent d'environ 7,97% soit  $2 \times 3,99$  ( $2 \times a_3$ ) et 11,38% soit  $2 \times 5,69$  ( $2 \times a_3$ ) quand la concentration initiale en DCO augmente de 192 à 944

mg O<sub>2</sub>/L. Concernant l'élimination de PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (Y<sub>3</sub>), les effets principaux les plus importants sont la densité de plante et la charge initiale en DCO. La valeur de chacun de ces coefficients dans le modèle est a<sub>2</sub> = 32,60 et a<sub>3</sub> = 8,54. Le taux d'élimination en PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> (Y<sub>3</sub>) diminue de 65,20%, soit 2 x 32,60 (2 x a<sub>2</sub>) et augmente de 17,10%, soit 2 x 8,54 (2 x a<sub>3</sub>) quand la charge organique initiale en DCO passe respectivement de 192 à 944 mg O<sub>2</sub>/L, et de 30 à 60 plantes/m<sup>2</sup>. Cela pourrait s'expliquer par le fait que l'élimination des phosphates est maximale lorsque la matière organique (DCO) est faible.

## II.2. Analyse de l'interaction entre le temps de séjour et la charge initiale en DCO

L'étude des effets d'interaction permet une meilleure interprétation des interactions entre les différents facteurs choisis. L'étude de la contribution des facteurs ayant montré que l'interaction entre le temps de séjour et la charge initiale en DCO est la seule à contribuer sur les différents modèles ; cette étude s'est donc limitée à l'effet de cette interaction sur les trois réponses

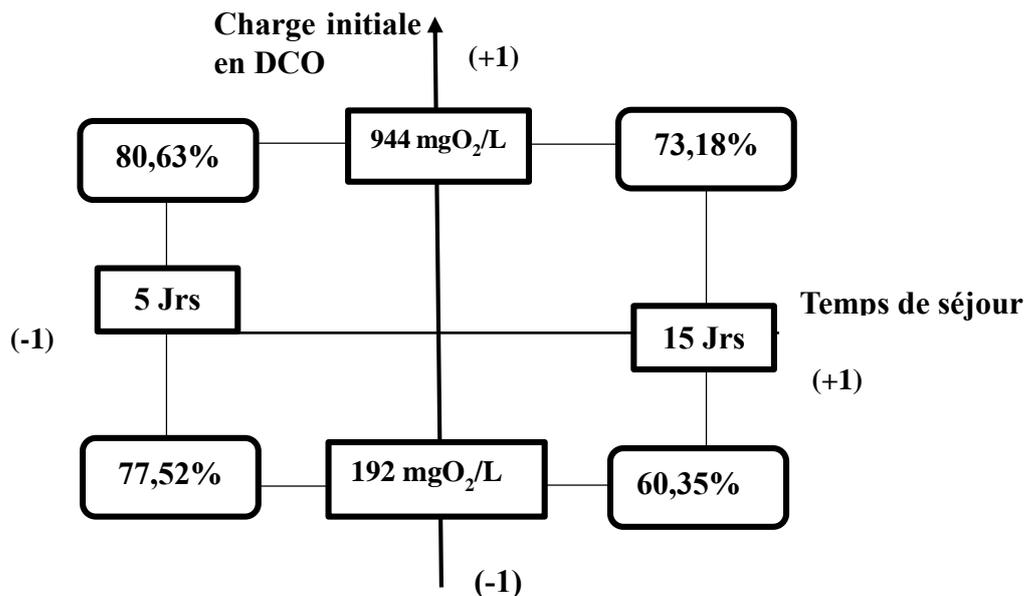


Figure 26 : Interaction a<sub>13</sub> entre le temps de séjour et la charge initiale en DCO sur le taux d'abattement en DCO

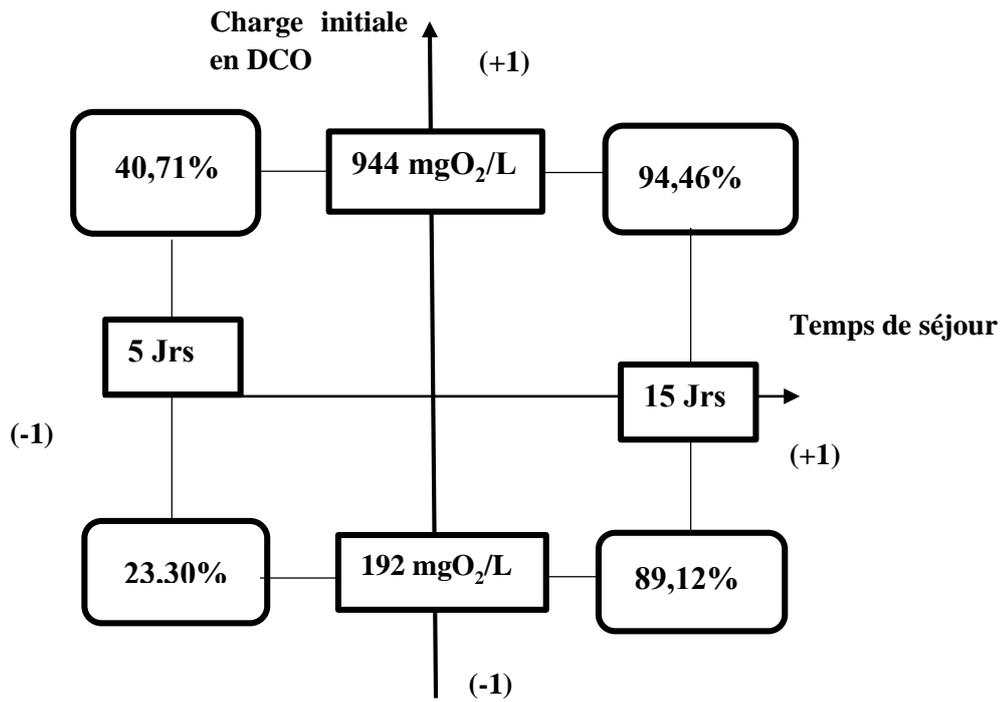


Figure 27 : Interaction  $a_{13}$  entre le temps de séjour et la charge initiale en DCO sur le taux d'abattement en  $\text{NH}_4^+$

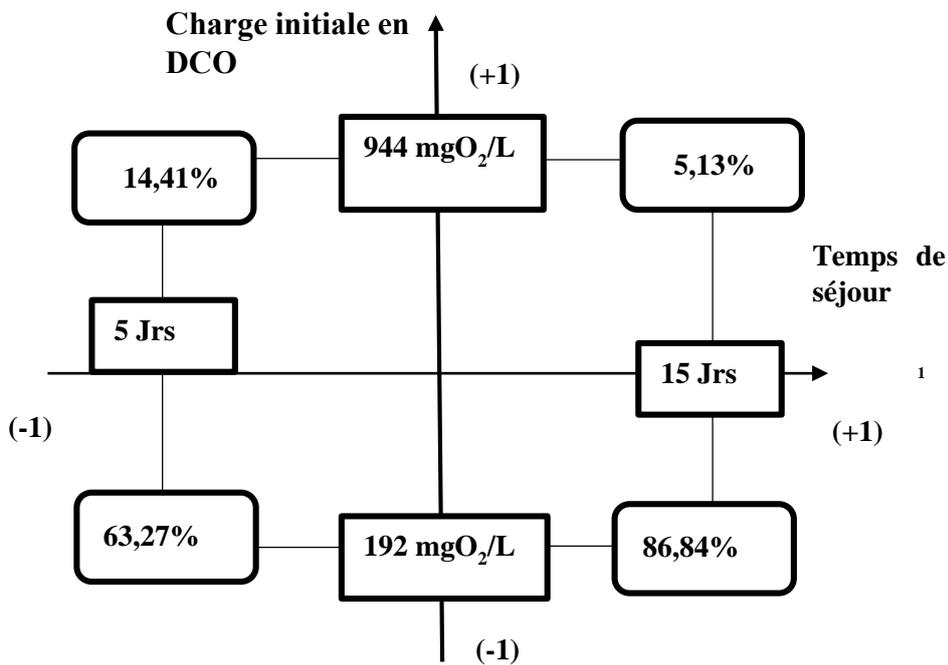


Figure 28 : Interaction  $a_{13}$  entre le temps de séjour et la charge initiale en DCO sur le taux d'abattement en  $\text{PO}_4^{3-}$

Les effets d'interaction entre les différents facteurs sont illustrés par les figures 26, 27 et 28. Quand le temps de séjour est au niveau bas (5 jours), la charge initiale organique en DCO a une forte influence sur les réponses qui passent, respectivement de 80,63 à 77,51%, de 40,71 à

23,30% et de 14,41 à 63,27%. Lorsque le temps de séjour est élevé (15 jours), la charge initiale organique en DCO n'a presque plus d'effet sur les réponses en DCO et en  $\text{NH}_4^+$  mais continue toujours d'avoir un effet sur celle en  $\text{PO}_4^{3-}$ . Le coefficient de variation (CV) des réponses est de 2,79 %, de 38,46% et de 88,95 %, pour les taux d'abattement en DCO, en  $\text{NH}_4^+$  et en  $\text{PO}_4^{3-}$ . La phytoépuration étant un phénomène biologique, la différence entre les valeurs n'est significative que si le CV est supérieur ou égal à 15% (Feinberg, 1996). L'effet de la charge initiale organique en DCO n'est donc pas constant et reste étroitement lié au temps de séjour pour le taux d'élimination en DCO. Par contre, pour les taux d'élimination en  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{PO}_4^{3-}$ , l'effet de la charge initiale organique en DCO est constant et est indépendant du temps de séjour. Quand la charge initiale organique en DCO est de 192  $\text{mgO}_2/\text{L}$ , le temps de séjour influence significativement le taux d'abattement de la DCO, du  $\text{NH}_4^+$  et des  $\text{PO}_4^{3-}$ . Ces taux passent respectivement de 77,52 à 60,35 % ; de 23,30 à 89,12 % et de 63,27 à 86,94 %, avec un CV de 17,61% ; 82,80 % et 22,30%. L'augmentation de la charge initiale organique en DCO entraîne une augmentation des taux d'abattement en DCO et en  $\text{NH}_4^+$  mais une diminution de celui en  $\text{PO}_4^{3-}$  lorsque le temps de séjour est au niveau élevé (15 jours). L'effet du temps de séjour n'est pas constant, mais dépend de la charge initiale en DCO. Les variations des taux d'abattement en DCO, en  $\text{NH}_4^+$  et en  $\text{PO}_4^{3-}$  obtenues pourraient s'expliquer par l'assimilation par les microorganismes de la rhizosphère (Rezania et *al.*, 2015). En effet, les bactéries aérobies naturellement présentes dans le système racinaire des plantes consomment les matières organiques. Elles les transforment en matière minérale assimilable par les plantes. En retour, la plante fournit de l'oxygène aux bactéries par leurs racines. Ce résultat est confirmé par la croissance des macrophytes qui a montré des performances élevées pour éliminer la DCO, principalement en raison du système racinaire bien développé. De même, il a été observé qu'une grande partie de la dégradation de la DCO dans les eaux usées est attribuée aux microorganismes qui pourraient établir une relation symbiotique avec les plantes.

### III. Validation des modèles et optimisation du phénomène

Les différents modèles obtenus étant des modèles empiriques, ils ne constitueraient qu'une approximation de la réalité. Les différentes étapes de leur validation (validation statistique et celle théorique et expérimentale) seraient nécessaires pour une bonne appréciation de la qualité descriptive et expérimentale de ces derniers dans le domaine d'étude.

### III.1. Validation statistique des modèles

Les  $R^2$  et  $R^2_{ajuste}$  représentent les coefficients de détermination. En présence de plusieurs variables explicatives, le coefficient qui est le mieux indiqué serait le  $R^2_{ajuste}$ .

Tableau XIII : Qualité descriptive des modèles

Coefficients	%DCO	% NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	% PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>
$R^2$	99,6%	100%	99,5%
$R^2_{ajuste}$	97,3%	99,8%	96,5%

L'analyse de la variance (ANOVA) du modèle de régression montre que les modèles sont significatifs au seuil de 5 %. Ceci est justifié par le fait que la valeur des coefficients de détermination et de détermination ajusté  $R^2$  et  $R^2_{ajuste}$  respectivement (tableau XIII) soit élevées et proches de 100 % (Karam, 2004).

### IV. Optimisation multi-réponses

Les analyses effectuées dans les paragraphes précédents n'ont pas permis de tirer des conclusions précises sur les conditions maximisant les trois réponses étudiées. Aussi est-il apparu important de rechercher ses conditions globales d'optimisation via une méthode de résolutions mathématiques des modèles validés. Pour ce faire, le logiciel STATGRAPHICS Centurion XIV a été utilisé et a permis d'avoir les différentes conditions optimales de la résolution des trois réponses (optimisation ternaire), d'une part, et d'autre part, de leur résolution deux à deux (optimisation binaire).

Avec une désirabilité de 0, les conditions optimales issues de la résolution du système d'équation ternaire sont de : 15 jours pour le temps de séjour  $X_1$ , 60 Pieds / m<sup>2</sup> pour la densité de plante et de 192 mgO<sub>2</sub>/L de la charge initiale en DCO pour des taux d'élimination maximum de 62,12 % ; 86,25 % et 99,35 % respectivement pour les réponses en DCO, en NH<sub>4</sub><sup>+</sup> et en PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>

$$\begin{cases} Y_1 = 72,92 - 6,15X_1 + 0,92X_2 + 3,98X_3 + 1,57X_1X_2 + 2,43X_1X_3 + 1,23X_2X_3 & (15) \\ Y_2 = 61,90 + 29,89X_1 - 0,86X_2 + 5,69X_3 - 1,25X_1X_2 - 3,02X_1X_3 & (16) \\ Y_3 = 42,46 + 3,62X_1 + 8,55X_2 - 32,60X_3 - 8,17X_1X_3 - 6,40X_2X_3 & (17) \end{cases}$$

La résolution du système constitué des deux équations  $Y_1$  et  $Y_2$ , avec la désirabilité de 0,86. Le taux d'abattement maximum de la DCO est de 76,42% et celui du NH<sub>4</sub><sup>+</sup> est de 93,12% à condition de travailler avec un temps de séjour de 15 jours, une densité de plante de 60 Pieds /m<sup>2</sup> et une charge initiale DCO de 944 mgO<sub>2</sub>/L

$$\begin{cases} Y_1 = 72,92 - 6,15X_1 + 0,92X_2 + 3,98X_3 + 1,57X_1X_2 + 2,43X_1X_3 + 1,23X_2X_3 & (15) \\ Y_2 = 61,90 + 29,89X_1 - 0,86X_2 + 5,69X_3 - 1,25X_1X_2 - 3,02X_1X_3 & (16) \end{cases}$$

La résolution du système constitué des deux équations  $Y_1$  et  $Y_3$ , à la désirabilité de 0,76. Le taux d'abattement maximum de la DCO est de 75,13 % pour la DCO et de 80,63 % pour  $PO_4^{3-}$  et nécessite un temps de séjour de 5 jours, une densité de plante de 60 Pieds /m<sup>2</sup> et une charge initiale de 192 mgO<sub>2</sub>/L

$$\begin{cases} Y_1 = 72,92 - 6,15X_1 + 0,92X_2 + 3,98X_3 + 1,57X_1X_2 + 2,43X_1X_3 + 1,23X_2X_3 & (15) \\ Y_3 = 42,46 + 3,62X_1 + 8,55X_2 - 32,60X_3 - 8,17X_1X_3 - 6,40X_2X_3 & (17) \end{cases}$$

Enfin, la résolution du système constitué des deux équations  $Y_2$  et  $Y_3$  indique une désirabilité de 0,93 et a permis de montrer que pour obtenir un taux d'abattement maximum de 86,25 % de la  $NH_4^+$  et 99,25 % de  $PO_4^{3-}$ , il faudrait un temps de séjour de 15 jours, une densité de plante de 60 Pieds /m<sup>2</sup> et une charge initiale de 192 mgO<sub>2</sub>/L.

$$\begin{cases} Y_2 = 61,90 + 29,89X_1 - 0,86X_2 + 5,69X_3 - 1,25X_1X_2 - 3,02X_1X_3 & (16) \\ Y_3 = 42,46 + 3,62X_1 + 8,55X_2 - 32,60X_3 - 8,17X_1X_3 - 6,40X_2X_3 & (17) \end{cases}$$

Le tableau XIV présente la synthèse des conditions optimales.

Tableau XIV : Résultats de l'optimisation multicritères

N° Scénario	Modèle	Conditions optimales
Scénario 1	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Min } \frac{1}{Y_1 + Y_2 + Y_3} \text{ avec} \\ -1 \leq X_1 \leq +1; -1 \leq X_2 \leq +1 \text{ et} \\ -1 \leq X_3 \leq +1 \end{array} \right.$	Durée = 15 jours Densité de plantes = 60 Pieds/m <sup>2</sup> DCO initiale = 192 mgO <sub>2</sub> /L. Taux d'abattement dans les cas ci-dessous : DCO = 62,12% ; NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> = 86,25% PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> = 99,35
Scénario 2	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Min } \frac{1}{Y_1 + Y_2} \text{ avec} \\ -1 \leq X_1 \leq +1; -1 \leq X_2 \leq +1 \text{ et} \\ -1 \leq X_3 \leq +1 \end{array} \right.$	Durée = 15 jours Densité de plantes = 60 Pieds /m <sup>2</sup> DCO initiale = 944 mgO <sub>2</sub> /L Taux d'abattement dans les cas ci-dessous : DCO = 76,42 % et NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> = 93,12 %
Scénario 3	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Min } \frac{1}{Y_1 + Y_3} \text{ avec} \\ -1 \leq X_1 \leq +1; -1 \leq X_2 \leq +1 \text{ et} \\ -1 \leq X_3 \leq +1 \end{array} \right.$	Durée = 5 jours Densité de plantes = 60 Pieds /m <sup>2</sup> DCO initiale = 192 mgO <sub>2</sub> /L Taux d'abattement dans les cas ci-dessous : DCO = 75,13 % PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> = 80,63 %
Scénario 4	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Min } \frac{1}{Y_2 + Y_3} \text{ avec} \\ -1 \leq X_1 \leq +1; -1 \leq X_2 \leq +1 \text{ et} \\ -1 \leq X_3 \leq +1 \end{array} \right.$	Durée = 15 jours Densité de plantes = 60 Pieds /m <sup>2</sup> DCO initiale = 192 mgO <sub>2</sub> /L Taux d'abattement dans les cas ci-dessous : NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> = 86,25 % PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> = 99,25 %

Par ailleurs, la valeur des différentes conditions optimales présenterait l'ordre d'élimination des polluants sur une station d'épuration. En effet, sur une station d'épuration à macrophytes flottants, la catégorie de polluant éliminée en premier serait le polluant carboné suivi des nutriments (pollution azotée et phosphorée respectivement) (Aina *et al.*, 2012). Aussi, pour une bonne élimination des nutriments en l'occurrence le paramètre orthophosphate, faudrait-il un temps de séjour relativement long avec une charge en DCO relativement faible (Métahri, 2012 et Casella, 2002).

En tenant compte de l'ordre d'élimination des polluants étudiés sur une station d'épuration, il serait préférable de réaliser la mise en série de deux bassins à jacinthe d'eau. Les caractéristiques de ces deux bassins sont :

- un temps de séjour de 15 jours, une densité de la plante de 60 Pieds /m<sup>2</sup> et une charge initiale de 944 mgO<sub>2</sub>/L pour le premier bassin et,
- un temps de séjour de 15 jours, une densité de la plante de 60 Pieds /m<sup>2</sup> et une charge initiale de 192 mgO<sub>2</sub>/L, pour le second bassin.

### Conclusion partielle

Cette étude a examiné l'efficacité de la phytoépuration sur les taux d'élimination de la DCO, de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> et de PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>. Le plan factoriel a montré que le temps de séjour, la charge initiale en DCO et leur interaction sont les paramètres qui ont le plus influencé la phytoépuration. A l'issue de l'optimisation ternaire et binaire, il a été montré que pour un meilleur taux d'abattement des trois réponses, il faudra la mise en série du procédé ayant les caractéristiques suivantes : un temps de séjour de 15 jours, une densité de plante de 60 Pieds /m<sup>2</sup> et une charge initiale de 944 mgO<sub>2</sub>/L pour le premier bassin ; et pour le second bassin, un temps de séjour de 15 jours, d'une densité de plante de 60 Pieds /m<sup>2</sup> et d'une charge initiale de 192 mgO<sub>2</sub>/L.

## CHAPITRE II : ELIMINATION DE LA CHARGE METALLIQUE PAR *EICHHORNIA CRASSIPES*

Ce chapitre présente la réaction de *E. crassipes* face aux polluants métalliques (cuivre et cadmium) dans une eau usée de la porcherie polluée en solution monométallique et bimétallique du cuivre et du cadmium. Il met en exergue le lieu de localisation des métaux absorbés par la plante. Il rend compte des différents modèles à travers lesquels chacun des polluants métalliques étudiés est éliminé et montre la part d'élimination métallique due à la plante.

### I. Elimination de cations métalliques ( $\text{Cu}^{2+}$ , $\text{Cd}^{2+}$ )

Les figures 29, 30, 31 et 32 présentent la cinétique d'élimination du cuivre et du cadmium dans leur solution mono et bimétallique en présence ou non de la plante.

#### I.1. Elimination du cuivre et du cadmium à 2 mg/L

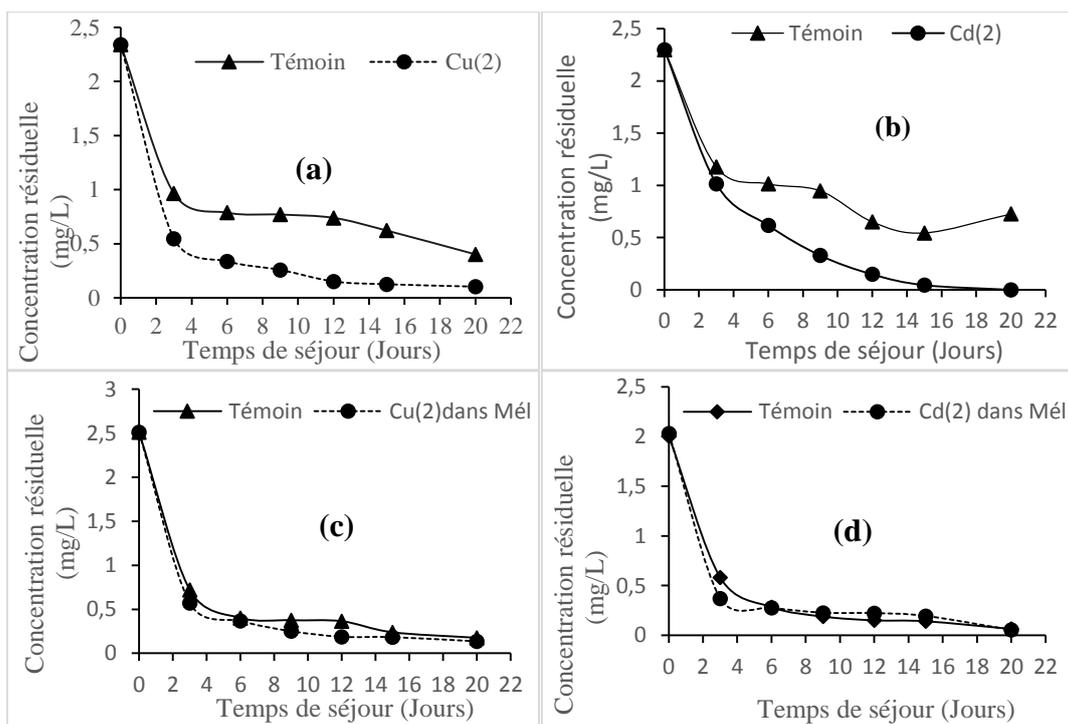


Figure 29 : Cinétique de cations métalliques ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ) à 2 mg/L :

(a) monométallique de cuivre, (b) monométallique de cadmium, (c) et (d) bimétallique de Cuivre et Cadmium

La figure 29 présente la cinétique d'élimination du cuivre et du cadmium en leur solution mono et bimétallique à 2 mg/L. Une diminution des concentrations résiduelles est constatée dans le temps. Cette diminution est nettement plus forte en solution monométallique (Figures 29a et 29b) qu'en solution bimétallique (Figures 29c et 29d) et en présence de la plante qu'en son

absence. En solution bimétallique, l'élimination du cadmium (Figure 29d) par la plante est faible comparativement à celle sans la plante. Cela pourrait être dû au fait qu'en présence du cuivre et du cadmium à faible concentration, la plante absorbe plus le microélément qui lui est essentiel que le cadmium qui lui est toxique. Les concentrations résiduelles du cuivre obtenues 0,10 et 0,14 mg/L respectivement en sa solution monométallique et bimétallique et en présence des plantes sont faibles par rapport à celles obtenues par Saddique et *al.* (2013) qui est de 0,32 mg/L. Cette différence de résultats obtenue pourrait être due à l'activité microbienne plus intense dans notre cas que dans celui de Saddique et *al.* (2013) qui ont utilisé une eau synthétique. Mais, ces résultats sont comparables à celles obtenues par Swain et *al.* (2014). Ce qui confirmerait l'hypothèse d'activité microbienne plus intense dans notre cas. De plus, la concentration résiduelle métallique au 20<sup>ème</sup> jour de traitement respecte les différentes normes de rejet des métaux étudiés quelle que soit la nature de la solution. Pour le cuivre, les valeurs en concentrations résiduelles de 0,10 et 0,14 mg/L sont obtenues pour les solutions monométallique et bimétallique, inférieures à 0,2 mg/L représentant la valeur limite exigée par la norme OMS. Le même constat du respect de la norme OMS de rejet est fait au niveau du cadmium avec comme concentration résiduelle inférieure à la limite de détection de l'appareil de mesure, en solution monométallique et 0,05 mg/L pour celle bimétallique qui sont respectivement inférieure et égale à la valeur de la norme qui est de 0,05 mg/L.

### I.2. Elimination du cuivre et du cadmium à 5 mg/L

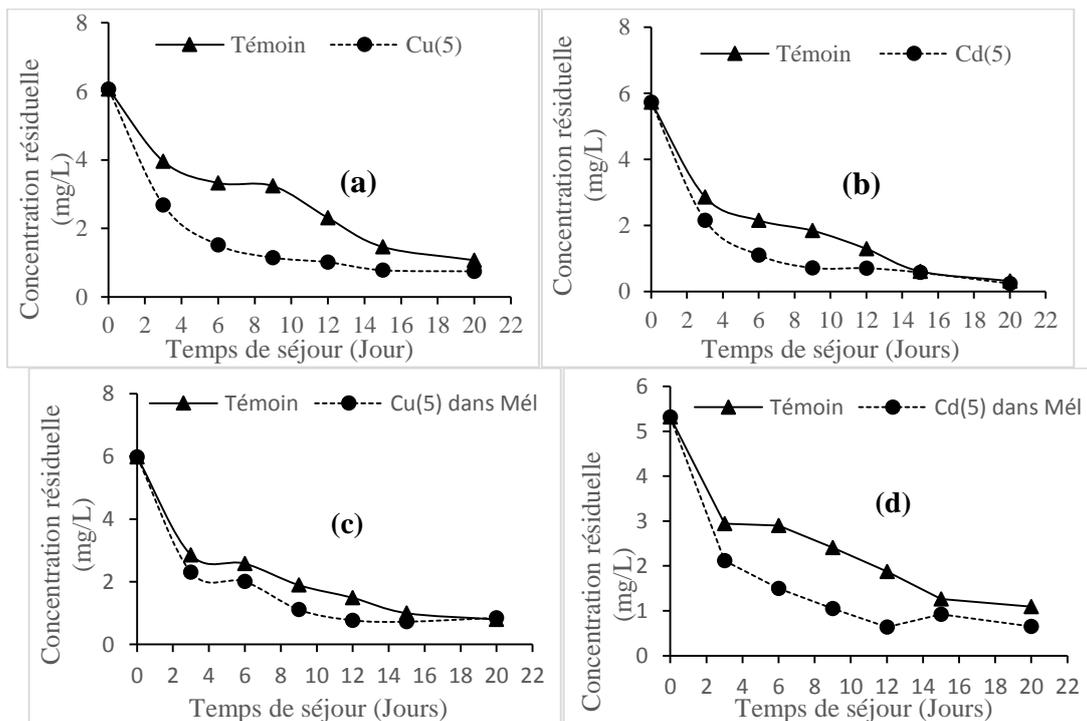


Figure 30 : Cinétique de cations métalliques ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ) à 5 mg/L :

(a) monométallique de cuivre, (b) monométallique de cadmium, (c) et (d) bimétallique de Cuivre et Cadmium

La figure 30 qui présente l'évolution de la concentration métallique du cuivre et du cadmium à 5 mg/L. Elle indique une diminution dans le temps des différentes concentrations résiduelles de ces métaux, quelle que soit la nature de la solution métallique (monométallique ou bimétallique). De plus, la concentration résiduelle en cadmium au 20<sup>ème</sup> jour (0,25 mg/L, figure 30a et 0,65 mg/L, figure 30c) est plus faible que celle du cuivre (0,75 mg/L, figure 30b et 0,85 mg/L, figure 30d) en solution monométallique et bimétallique. La concentration finale en cadmium est encore plus faible en solution monométallique (Figure 30b) qu'en sa solution bimétallique (Figure 30d). Ce qui montre que la toxicité du cuivre à forte concentration serait beaucoup plus élevée que celle du cadmium pour la plante (Mateos-Naranjo et *al.*, 2015 ; Wu et *al.*, 2015). Ces concentrations résiduelles sont faibles par rapport à celles obtenues par Saddique et *al.* (2013) mais ne respectent plus la norme de rejet.

### I.3. Elimination du cuivre et du cadmium à 10 mg/L

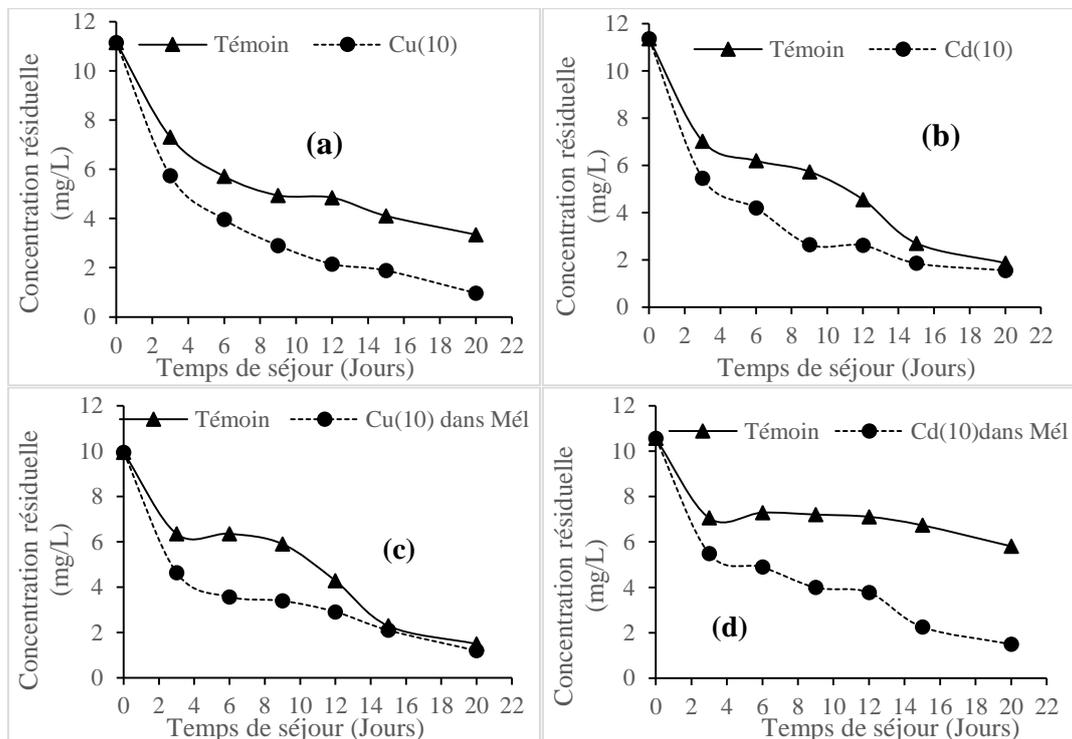


Figure 31 : Cinétique de cations métalliques ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ) à 10 mg/L :

(a) monométallique de cuivre, (b) monométallique de cadmium, (c) et (d) bimétallique de Cuivre et Cadmium

Le même constat de diminution de la concentration initiale métallique dans le temps en solution monométallique et bimétallique de cuivre et de cadmium est fait au niveau de la figure 31. La concentration résiduelle au 20<sup>ème</sup> jour d'exposition en solution monométallique (Figure 31a) est de 0,97 mg/L pour le cuivre et de 1,56 mg/L pour le cadmium (Figure 31b) et sont plus faibles que celles en solution bimétallique (Figure 31c) (1,19 mg/L pour le cuivre et 1,50 mg/L pour le cadmium) (Figure 31d), quelle que soit la nature métallique (cuivre ou cadmium). Ce qui pourrait justifier l'interférence de la présence du cuivre sur le cadmium et réciproquement. La présence du cadmium aurait moins d'effet que celle du cuivre car la concentration résiduelle du cuivre de 1,19 mg/L (Figure 31c) est plus faible que celle du cadmium de 1,50 mg/L (Figure 31d), tous deux en solution bimétallique. De plus, l'effet des microorganismes dans l'élimination du cadmium devient de plus en plus faible. Ce que témoigne le constat de la concentration résiduelle du cadmium en solution bimétallique et en présence de la plante (1,50 mg/L) qui est beaucoup plus faible que celle en absence de la plante (5,81 mg/L) (Figure 31d).

#### I.4. Elimination du cuivre et du cadmium à 15 mg/L

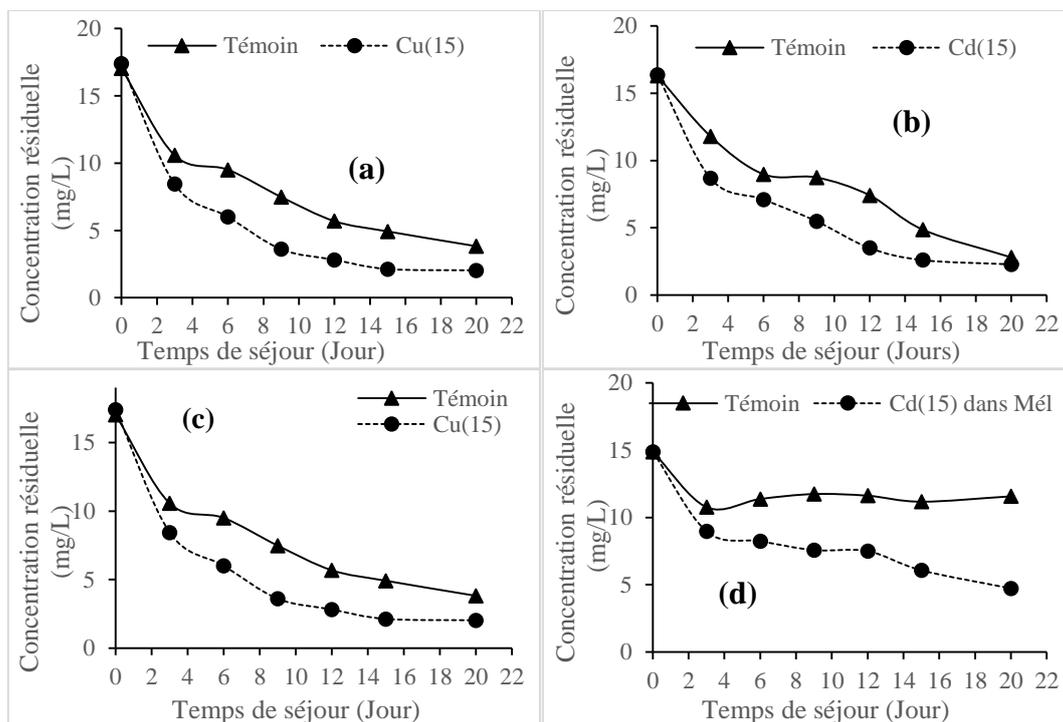


Figure 32 : Cinétique de cations métalliques ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ) à 15 mg/L :

(a) monométallique de cuivre, (b) monométallique de cadmium, (c) et (d) bimétallique de Cuivre et Cadmium

Une diminution de la concentration initiale métallique avec l'augmentation du temps d'exposition est observée en solution monométallique et bimétallique de cuivre (Figures 32a et

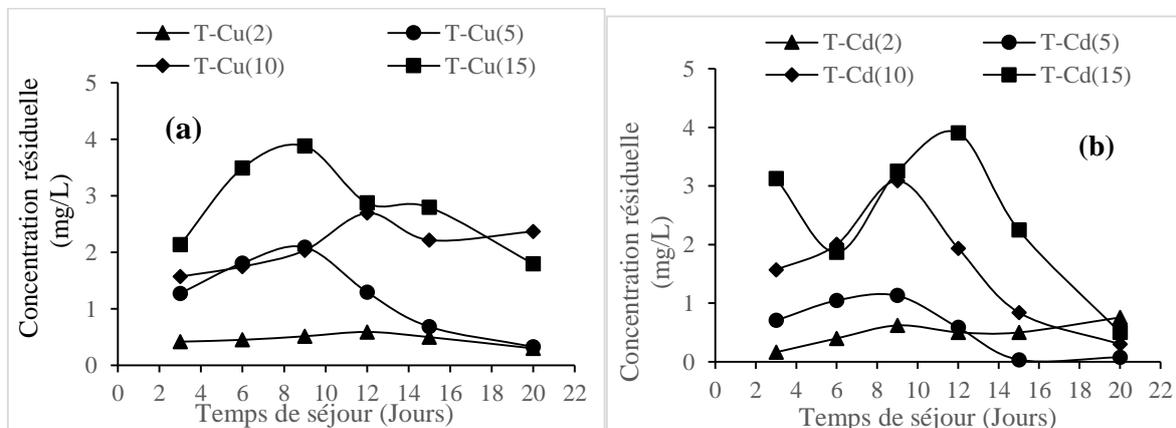
32c) et de cadmium (Figures 32b et 32d). Les concentrations résiduelles au 20<sup>ème</sup> jour d'exposition en solution monométallique 2,03 mg/L pour le cuivre (Figure 32a) et 2,30 mg/L pour le cadmium (Figure 32b) sont plus faibles que celle bimétallique 2,03 mg/L pour le cuivre (Figure 32c) et 4,73 mg/L pour le cadmium (Figure 32d). Ce qui pourrait se justifier par l'interférence de la présence du cuivre sur le cadmium. La présence du cadmium aurait moins d'effet que celle du cuivre car la concentration résiduelle du cuivre 2,03 mg/L (Figure 32c) est plus faible que celle du cadmium 4,73 mg/L (Figure 32d) tous deux en solution bimétallique. De plus, l'effet des microorganismes dans l'élimination du cadmium devient de plus en plus faible. Cet effet devient davantage faible en solution bimétallique et surtout en absence de la plante qui s'est fait ressentir au niveau des concentrations résiduelles élevées (présence de plante : 4,73 mg/L et en absence de plante : 11,57 mg/L) (Figure 32d).

## II. Mise en évidence de l'apport de *Eichhornia crassipes* dans l'élimination du cuivre et du cadmium

Dans le paragraphe précédent, il a été montré que l'élimination de la charge métallique est due concomitamment à l'action microbienne et à celle de *E. crassipes*. Afin de faire la part des choses, il a été entrepris une étude de la contribution. Pour ce faire, la différence de valeur est faite entre la concentration résiduelle de l'essai sans la plante et celle avec la présence de plante. Les valeurs des différences sont tracées en fonction du temps et qui fait l'objet de cette partie.

### II.1. Apport au cours du temps de *Eichhornia crassipes* à l'élimination du cuivre et du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L

Les figures 33 et 34 évaluent la contribution de *E. crassipes* à différentes concentrations métalliques au cours du temps et la valeur maximale de cette contribution en fonction de la concentration métallique.



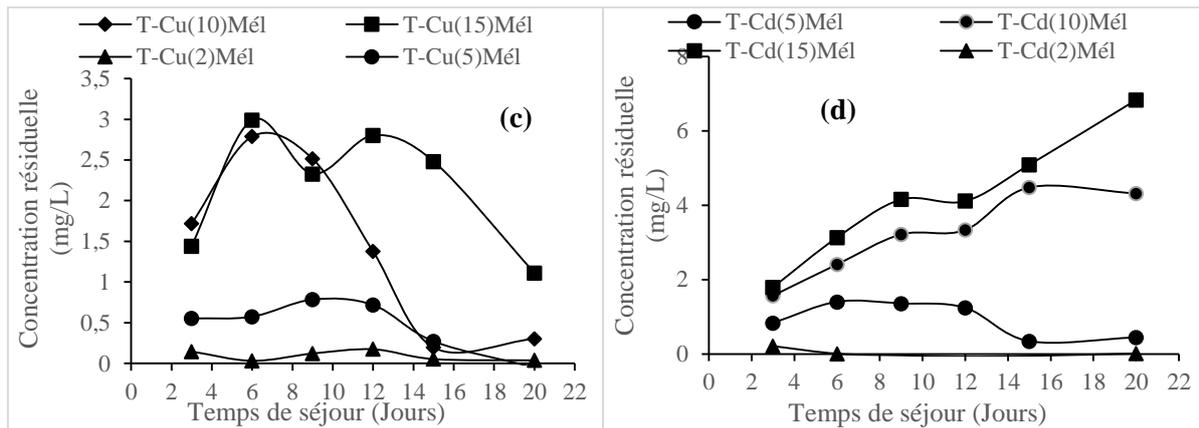


Figure 33 : Apport de *Eichhornia crassipes* à l'élimination en solution monométallique du cuivre et du cadmium et en leur solution bimétallique

- (a) : solution monométallique du cuivre,
- (b) : solution monométallique du cadmium,
- (c) et (d) : solution bimétallique de Cuivre et Cadmium

Les courbes de contribution présentent trois grandes parties (figure 33). Une première phase de contribution rapide suivie de la phase où il y a le maximum de contribution et la troisième phase qui est celle dont la contribution de la plante diminue. Chacune de ces phases varie selon la concentration métallique et la nature du métal. Le point maximal de contribution de la plante varie selon le métal, la concentration initiale métallique et la nature de la solution métallique (monométallique et bimétallique). Cependant, au 6<sup>ème</sup> jour, les solutions monométalliques de cuivre à 10, 15 mg/L et de cadmium à 5 mg/L atteignent leur maximum. Quant aux solutions monométalliques, bimétalliques de cuivre à 5 mg/L, les solutions monométalliques de cuivre à 15 mg/L, de cadmium à 2, 5 et 10 mg/L et celles bimétalliques de cadmium à 10, 15 mg/L, elles atteignent leur maximum au 9<sup>ème</sup> jour. En solution monométallique et bimétallique, le cuivre à 2 mg/L et le cadmium à 10 et à 15 mg/L atteignent leur maximum de contribution au 12<sup>ème</sup> jour de traitement. Les 9<sup>ème</sup> et 12<sup>ème</sup> jours ont connus la majorité des maxima de contribution, le tracé des différentes contributions en ces deux jours avec celle du 20<sup>ème</sup> jour qui constitue le dernier jour du traitement est réalisé (figure 33).

Le tracé des courbes en ces trois temps de séjour identifiés a permis d'étudier l'effet de la concentration résiduelle métallique en fonction des différentes concentrations initiales métalliques.

## II.2. Maximum de contribution de *Eichhornia crassipes* à l'élimination du cuivre et du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L

Les figures 34a, 34b et 34c présentent la contribution de *E. crassipes* à l'élimination du cuivre, du cadmium en leur solution mono et bimétallique au 9<sup>ème</sup>, 12<sup>ème</sup> et au 20<sup>ème</sup> jour.

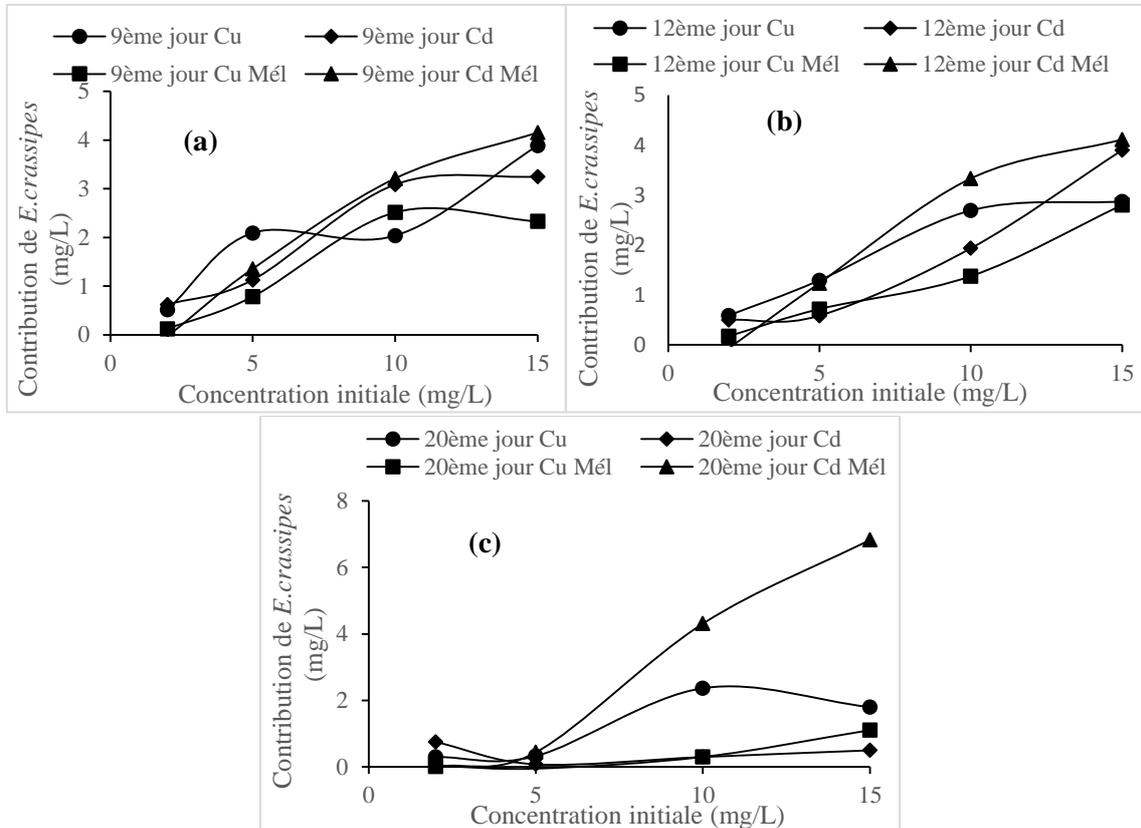


Figure 34 : Contribution de *Eichhornia crassipes* à l'élimination du cuivre, du cadmium en leur solution mono et bimétallique au 9<sup>ème</sup> jour, au 12<sup>ème</sup> jour et au 20<sup>ème</sup> jour.

- (a) : contribution au 9<sup>ème</sup> jour
- (b) : contribution au 12<sup>ème</sup> jour
- (c) : contribution au 20<sup>ème</sup> jour

Une augmentation de la contribution de *E. crassipes* avec l'augmentation de la concentration initiale métallique est obtenue au 9<sup>ème</sup>, 12<sup>ème</sup> et au 20<sup>ème</sup> jour quelle que soit la nature de la solution métallique (monométallique ou bimétallique). Aussi, quelle que soit la nature du métal (cuivre ou cadmium), la contribution de la plante en solution monométallique du cuivre est beaucoup plus élevée que celle en solution bimétallique. Alors qu'en solution monométallique de cadmium, la contribution de la plante est moins importante que celle de la solution bimétallique. De 2 à 5 mg/L, la contribution de la plante pour le cadmium en solution bimétallique est relativement plus faible que les autres contributions. Par contre, elle devient nettement plus élevée que les autres à partir de 10 mg/L. Cela pourrait se justifier par la

préférence du cuivre par rapport au cadmium, par la plante à faible concentration. A forte concentration métallique, le cuivre devient relativement plus toxique que le cadmium avec une mobilité beaucoup plus lente que celle du cadmium.

Afin d’apprécier la réelle contribution de *E. crassipes*, nous allons nous référer aux différentes concentrations résiduelles et voir celles qui respectent la norme de rejet de chacun de ces métaux. A 2 mg/L les concentrations résiduelles sont inférieures (0,2 mg/L pour le cuivre et 0,05 pour le cadmium) à la norme de rejet pour chaque catégorie métallique (OMS).

### III. Accumulation métallique par *Eichhornia crassipes*

Les figures 35 et 36 présentent les concentrations du cuivre et du cadmium au niveau des différentes parties de *E. crassipes* (racines, partie aérienne et feuilles) après leur exposition à différentes concentrations en solution monométallique et bimétallique de chacun des métaux.

#### ❖ Accumulation de cuivre par *Eichhornia crassipes*

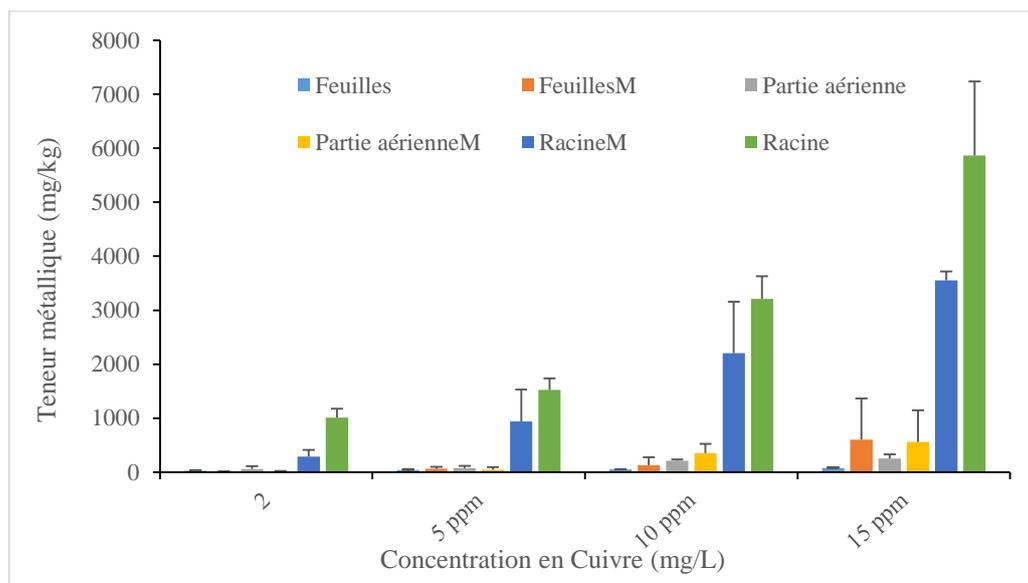


Figure 35 : Taux de Cuivre absorbé par la racine, la partie aérienne et les feuilles dans *Eichhornia crassipes* à différentes concentrations en solution monométallique du cuivre et en solution bimétallique avec le cadmium

L’analyse de la figure 35 révèle que le cuivre est plus accumulé dans les racines que dans les autres parties de la plante. L’accumulation au niveau de la racine croît avec l’augmentation de la concentration métallique initiale de cuivre. Le constat est le même pour le cuivre en solution monométallique qu’en solution bimétallique. Mais l’augmentation de la concentration métallique reste beaucoup plus prononcée en solution monométallique qu’en solution bimétallique. Par conséquent, à 2, 5, 10 et 15 mg/L, les teneurs accumulées par les racines sont respectivement de : 1009,17 ; 1523,07 ; 3209,95 et 5865,83 mg/kg de matière sèche en solution

monométallique du cuivre et de : 286,55 ; 937,90 ; 2206,39 et de 3554,44 mg/kg en solution bimétallique. L'accumulation du cuivre à la racine par *E. crassipes* obtenue confirme les résultats des travaux de certains auteurs tels que Mishra et al. (2008) ; Zhan et al. (2010) et Swain et al. (2014). En tant que cofacteur pour les enzymes impliquées dans la respiration et la photosynthèse, le Cu est un nutriment vital pour les plantes. Il joue également des rôles importants dans la croissance et le développement des plantes. Cependant, à des concentrations excessives du cuivre, il devient hautement toxique pour la plante (Mateos-Naranjo et al., 2015 ; Wu et al., 2015). Rosenzweig (2002) a montré comment les plantes et d'autres organismes régulent l'absorption de cuivre intracellulaire en réduisant les concentrations intracellulaires de cuivre libre par métallochaperones qui sont des protéines solubles de Cu. En se référant à la valeur indiquée par Baker et Brooks (1989) (1000 mg/kg de matière sèche), *E. crassipes* pourrait être considéré comme hyper-accumulateur de cuivre.

❖ **Accumulation de cadmium par *Eichhornia crassipes***

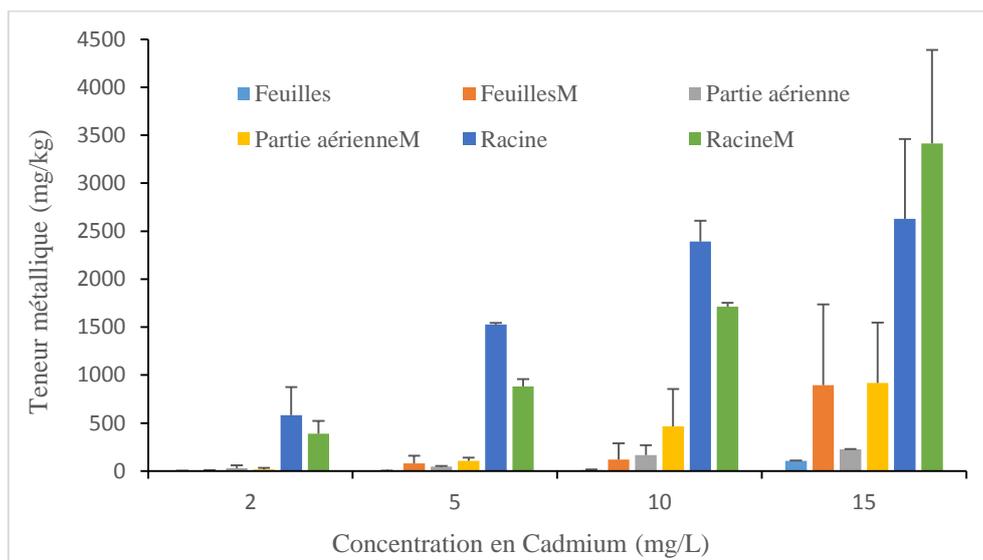


Figure 36 : Taux de Cadmium absorbé par la racine, la partie aérienne et les feuilles dans *Eichhornia crassipes* à différentes concentrations en solution monométallique du cadmium et en solution bimétallique avec le cuivre

La teneur de cadmium accumulée dans les racines, la partie aérienne et les feuilles de *E. crassipes* soumis à différentes concentrations initiales en cadmium pendant 20 jours est illustrée par la figure 36. De façon générale, une augmentation de la teneur en cadmium accumulée dans la partie aérienne et les racines avec l'augmentation de la concentration initiale en cadmium dans la solution monométallique de cadmium qu'en solution bimétallique est constatée. Les teneurs les plus élevées accumulées par *E. crassipes* au niveau de sa partie aérienne et de ses racines sont respectivement de : 918,53 et 3412,64 mg/kg. Lu et al. (2004) avaient fait le même

constat de l'accumulation du cadmium dans les racines et la partie aérienne de *E. crassipes*. Par ailleurs, Fritioff et Greger (2007) ont montré comment l'accumulation du cadmium dans les racines et la partie aérienne est corrélée avec l'augmentation de la concentration.

Quelle que soit la nature de la solution initiale (monométallique ou bimétallique), l'accumulation du cadmium dans les tissus de *E. crassipes* va des feuilles aux racines en passant par la partie aérienne (feuilles < partie aérienne < racines). Cette accumulation est beaucoup plus prononcée en solution bimétallique qu'en solution monométallique du cadmium, ce qui signifierait que la présence du cuivre favoriserait l'accumulation du cadmium. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Hasan *et al.* (2007) et Hafidzatul *et al.* (2010).

L'une des raisons d'une grande accumulation du cadmium au niveau de la racine de *E. crassipes* peut être due à la disponibilité de la surface des tissus racinaires qui offre une mobilité à ces derniers afin de favoriser davantage leur absorption (Hafidzatul *et al.*, 2010). Quelles que soient la concentration et la nature de la solution initiale, la racine accumule plus le cadmium que la partie aérienne et les feuilles. Ce qui impliquerait le transport du cadmium à travers la membrane plasmique des cellules de la racine de par les tissus du xylème par la translocation qui induit sa séquestration aux niveaux cellulaires (Lombi *et al.*, 2002). En entrant dans la racine, le Cd se déplace par apoplaste jusqu'à atteindre l'endoderme. Les plantes possèdent plusieurs barrières qui freinent l'absorption de Cd dans le cytoplasme. À ce niveau tissulaire, les principaux obstacles sont l'endoderme et les parois cellulaires du cylindre central qui limitent l'absorption des métaux lourds dans les cellules stellaires et dans les racines latérales (Das *et al.*, 2015). Au niveau cellulaire, la barrière majeure est le plasmalemma qui restreint le Cd dans le protoplaste (Seregin et Ivanov, 2001). Dans la présente étude, les teneurs de Cd accumulées par *E. crassipes* sont de :  $2628,93 \pm 830,84$  et  $3412,64 \pm 976,96$  mg/kg de matière sèche respectivement en solution monométallique et bimétallique (concentration initiale en cadmium à 15 mg/L). Ces résultats permettent de dire que *E. crassipes* a un potentiel d'hyperaccumulation (Cd > 100 mg/kg) (Baker *et al.*, 1994 et Zhan *et al.*, 2010).

### **III.1. Facteur de bioaccumulation (FBC), facteur de la translocation (FT) et le taux de croissance relatif (RGR)**

#### **III.1.1. Facteur de bioaccumulation du cuivre et du cadmium**

Les figures 37 et 38 présentent les facteurs de bioaccumulation des différentes concentrations en solution monométallique et bimétallique de cuivre et de cadmium dans les différentes parties de la plante.

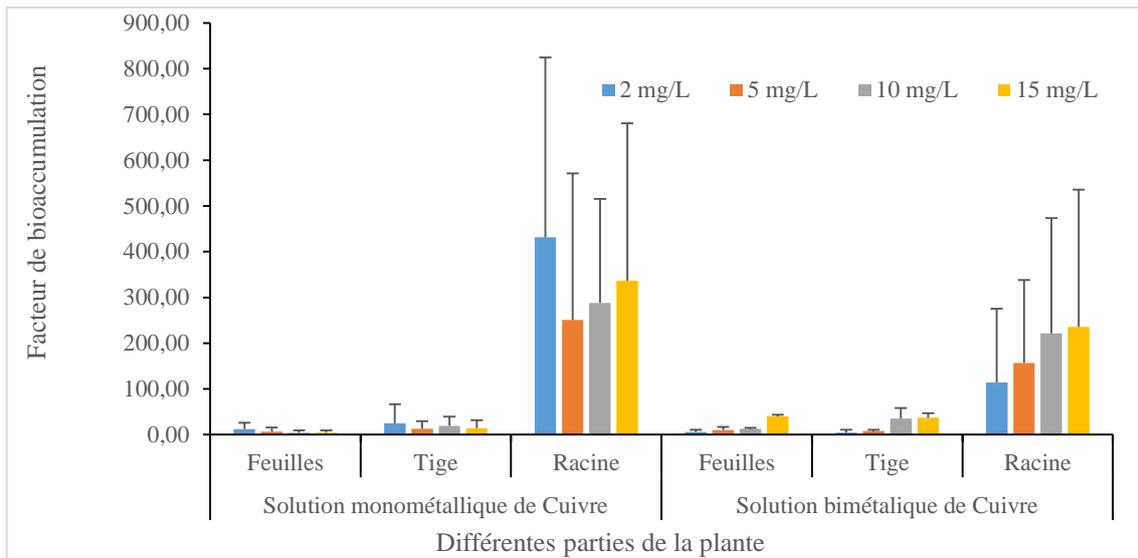


Figure 37 : Facteur de bioaccumulation des différentes concentrations en solution monométallique et bimétallique du cuivre au niveau des différentes parties de la plante

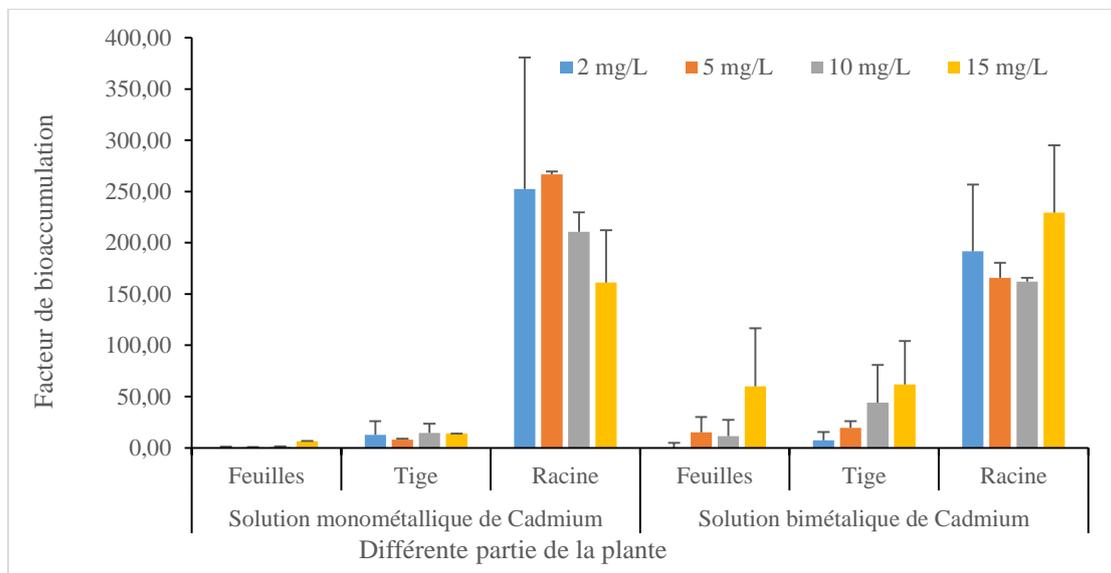


Figure 38 : Facteur de bioaccumulation des différentes concentrations en solution monométallique et bimétallique du cadmium au niveau des différentes parties de la plante

Les figures 37 et 38 indiquent que le facteur de bioaccumulation (FBC) est plus important dans la racine, la tige et au niveau des feuilles quelle que soit la concentration métallique (2, 5, 10 et 15 mg/L), la nature métallique (Cuivre ou Cadmium) et la nature de la solution initiale (monométallique ou bimétallique). De plus, le FBC de la solution monométallique est plus élevé au niveau des différentes parties de la plante dans les solutions monométalliques que celle bimétallique et est fonction la nature du métal (cuivre et cadmium). Cette différence d'accumulation métallique obtenue entre les solutions monométallique et bimétallique serait due à l'effet de compétition qui existerait entre les deux métaux en solution.

Par ailleurs, au niveau de la racine, une augmentation du FBC a été notée avec l'augmentation de la concentration métallique en solution monométallique : 431,36 ; 251,11 ; 287,76 et 336,93, respectivement pour les concentrations métalliques de 2, 5, 10 et 15 mg/L pour le cuivre. Une croissance du FBC est également constatée avec l'augmentation de la concentration métallique en solution bimétallique : 114,10 ; 156,62 ; 221,84 et de 235,73 pour 2, 5, 10 et 15 mg/L respectivement. Par contre, quelle que soit la nature métallique en cadmium, le FBC décroît avec l'augmentation de la concentration métallique initiale. Ainsi, les valeurs de FBC sont de : 252,37 ; 266,64 ; 210,58 et 161,22 pour la solution monométallique et de : 191,64 ; 165,76 ; 162,01 et 229,39 pour celle bimétallique de cadmium respectivement pour 2, 5, 10 et 15 mg/L. Ce constat de l'augmentation et de la diminution du facteur de bioaccumulation avec l'augmentation de la concentration initiale métallique pour le cuivre et le cadmium est en accord avec les résultats obtenus par Swain et *al.* (2014).

En effet, le facteur de bioconcentration est un paramètre qui permet d'évaluer le potentiel des plantes à accumuler les métaux et est évalué sur la base de la matière sèche. Dans la présente étude, les valeurs de BCF de *E. crassipes* pour le cuivre sont sensiblement plus élevées que celles du cadmium et indiquent que l'accumulation du cuivre est meilleure qu'à celle du cadmium, avec une diminution progressive de l'accumulation du Cd lorsque la concentration initiale augmente. L'augmentation des valeurs de FBC avec l'évolution de la concentration initiale en solution du Cu, serait due à l'accessibilité du Cu pour les plantes. Ainsi, la concentration initiale métallique en solution serait le facteur principal qui influence l'accumulation métallique des plantes (Rai et Chandra, 1992 ; Swain et *al.*, 2014). Généralement, l'augmentation de la concentration métallique initiale favorise l'accumulation métallique dans les plantes avec comme conséquence l'accroissement ou la décroissance du facteur de bioconcentration selon la nature métallique (Wang et Lewis, 1997).

Les valeurs maximales de FBC en cuivre et en cadmium étant de 431,36 et de 266,64. *E. crassipes* est qualifiée de bon accumulateur du cuivre et d'accumulateur modéré du cadmium en tenant compte de la valeur limite qu'a fixée Zayed et *al.* (1998) repris par Zhu et *al.* (1999) (supérieure à 1000, l'espèce accumulatrice serait qualifiée d'hyper-accumulatrice).

### III.1.1. Facteur de translocation du cuivre et du cadmium

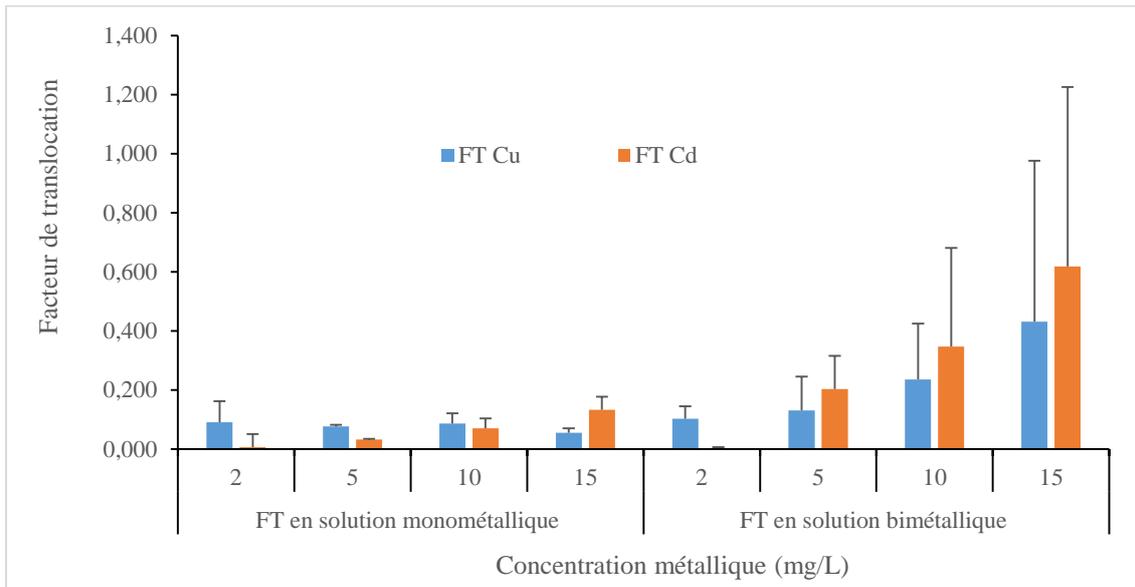


Figure 39 : Facteur de translocation du cuivre et du cadmium en solution monométallique et bimétallique en fonction des différentes concentrations initiales métalliques

Le facteur de translocation (FT) indique la manière dont un métal est distribuée de la racine vers la partie aérienne d'une plante. Il a été évalué afin d'apprécier davantage la façon dont les métaux étudiés sont localisés entre la racine et la partie aérienne. La figure 39 montre une décroissance de FT avec l'augmentation de la concentration initiale métallique en solution monométallique. Cette décroissance du facteur de translocation indique que l'accumulation du cuivre est faite plus au niveau de la racine qu'à la partie aérienne de la plante et confirmerait l'hyper accumulation observée précédemment. Elle indiquerait la rhizofiltration comme le mécanisme prédominant mis en œuvre par *E. crassipes* pour l'accumulation du cuivre (Mishra et al., 2008). De façon générale, l'accumulation métallique des plantes se produit dans la racine et serait due à la mobilité lente du transporteur métallique de la racine vers la partie aérienne (Qian et al., 1999 ; Chandra et Kulshreshtha, 2004).

En solution bimétallique, le FT est resté croissant avec l'augmentation de la concentration initiale métallique (Figure 39). Cela pourrait s'expliquer par la présence du cadmium qui favoriserait plus le transport du cuivre de la racine vers la partie aérienne de *E. crassipes*. Au niveau du cadmium, que ce soit en solution mono ou bimétallique, on assiste à une croissance du facteur de translocation avec l'augmentation de la concentration métallique initiale. On pourrait donc dire qu'au fur et à mesure que la concentration initiale augmente, l'accumulation du Cd diminue au niveau de la racine au profit de la partie aérienne. Le transport du cadmium de la racine vers la partie aérienne confirmerait le fait que ce dernier se serait comporté comme

le calcium en jouant le rôle de transporteur de certains messages au niveau du métabolisme de la plante (Leyral, 1998 ; Walid, 2011). A concentration égale, le facteur de translocation du cuivre est plus élevé que celui du cadmium à faible concentration métallique initiale avec l'effet contraire à forte concentration métallique initiale. Pour le transport métallique de la racine vers la partie aérienne, les plantes font plus recours au phénomène de la photosynthèse (Kamal et al., 2004).

### III.1.2. Taux de croissance relatif

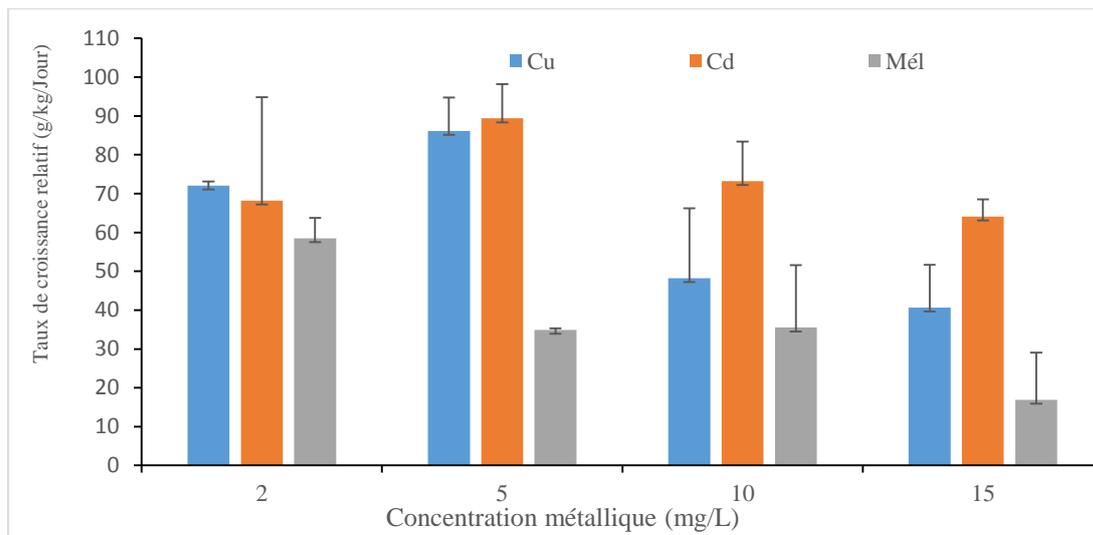


Figure 40 : Effet du cuivre, du cadmium en solution monométallique et bimétallique sur le taux de croissance relatif à différentes concentration initiale métallique

Une diminution de la croissance relative (RGR) quelle que soit le métal (cuivre ou cadmium) et la nature de leur solution (monométallique ou bimétallique) (figure 40) avec l'augmentation de la concentration métallique initiale a été observée. Le RGR varie de : 72,07 ; 86,10 ; 48,19 à 40,63 pour le cuivre (monométallique de cuivre), de : 68,17 ; 89,36 ; 73,20 à 64,05 pour le cadmium (solution monométallique de cadmium) et de : 58,52 ; 34,89 ; 35,52 à 16,90 (bimétallique de cuivre et de cadmium) avec les concentrations initiales métalliques de 2, 5, 10 et 15 mg/L. Ainsi, à concentration égale le taux de croissance relatif est plus élevé pour le cadmium que pour le cuivre et est plus grand en solution bimétallique. Ce RGR élevé au niveau du cadmium serait dû à la stimulation de la croissance des plantes par le cadmium à certaines concentrations données bien qu'il ne soit pas un élément essentiel aux plantes (Dou, 1988). Cette diminution de taux de croissance relatif observée dans nos travaux pour le *E. crassipes* est en accord avec les résultats des travaux de Xiaomei et al. (2004). Le faible taux de croissance obtenu au niveau de la solution bimétallique serait dû à l'inhibition de ce dernier par le cadmium en présence du cuivre (Hafidzatul et al., 2010).

#### IV. Evolution de la DCO, de $\text{NH}_4^+$ et de $\text{PO}_4^{3-}$ en présence de cuivre et de cadmium au cours du temps

##### IV.1. Elimination de la DCO en présence du cuivre et du cadmium

Les figures 41, 42 et 43 présentent l'évolution de la Demande Chimique en Oxygène (DCO) au cours du temps, en présence de solutions monométallique et bimétallique du cuivre et du cadmium à : 2, 5, 10 et 15 mg/L

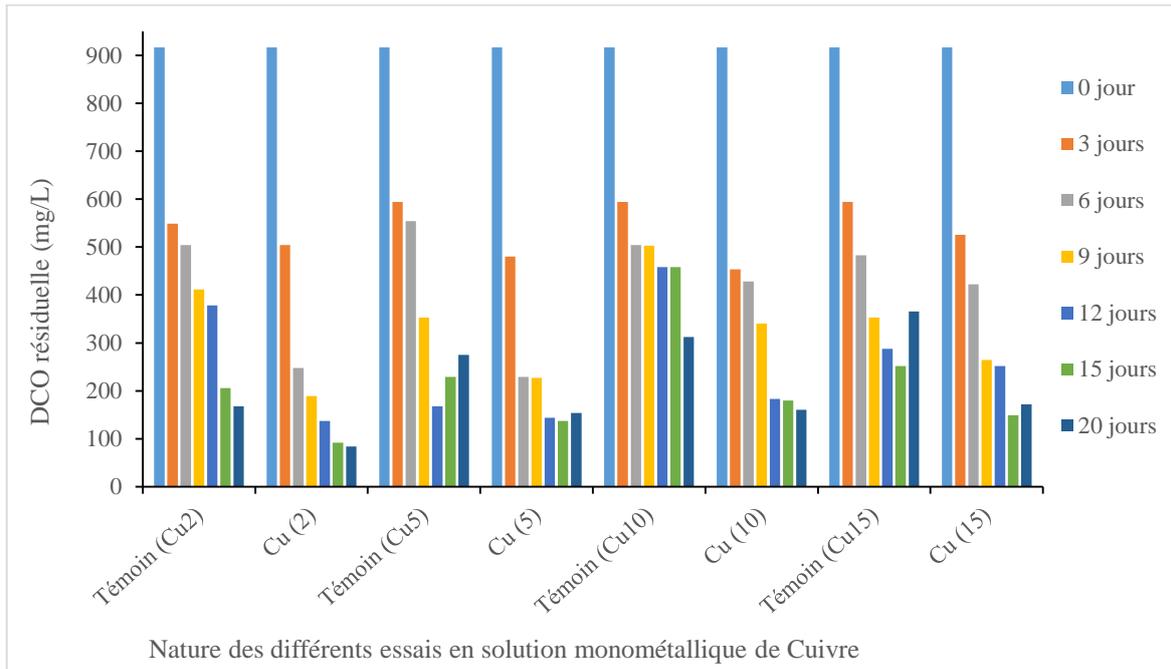


Figure 41 : Evolution au cours du temps de la DCO en solution monométallique du cuivre à 2, 5, 10 et 15 mg/L

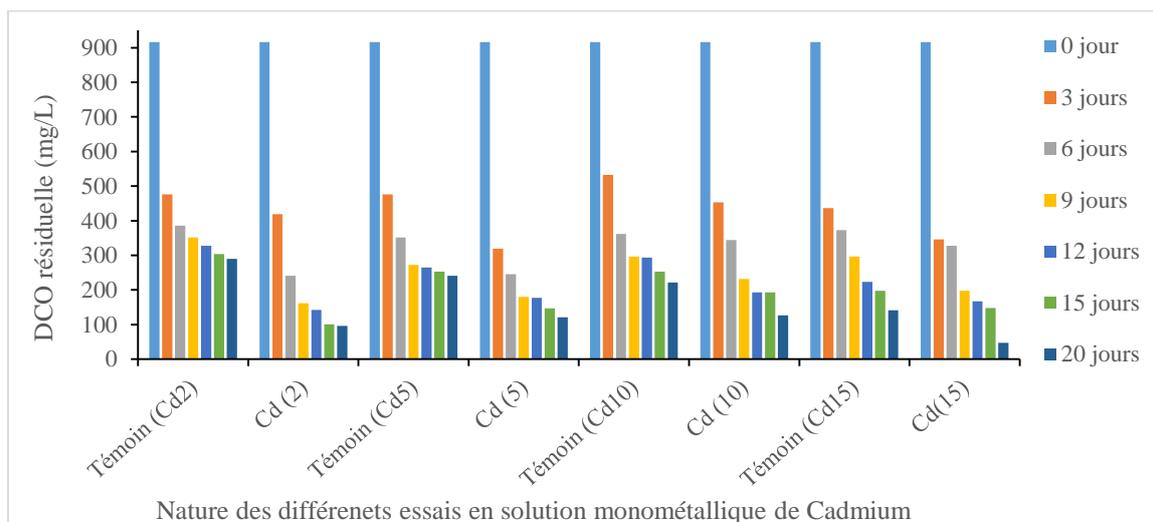


Figure 42 : Evolution de la DCO en solution monométallique du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L

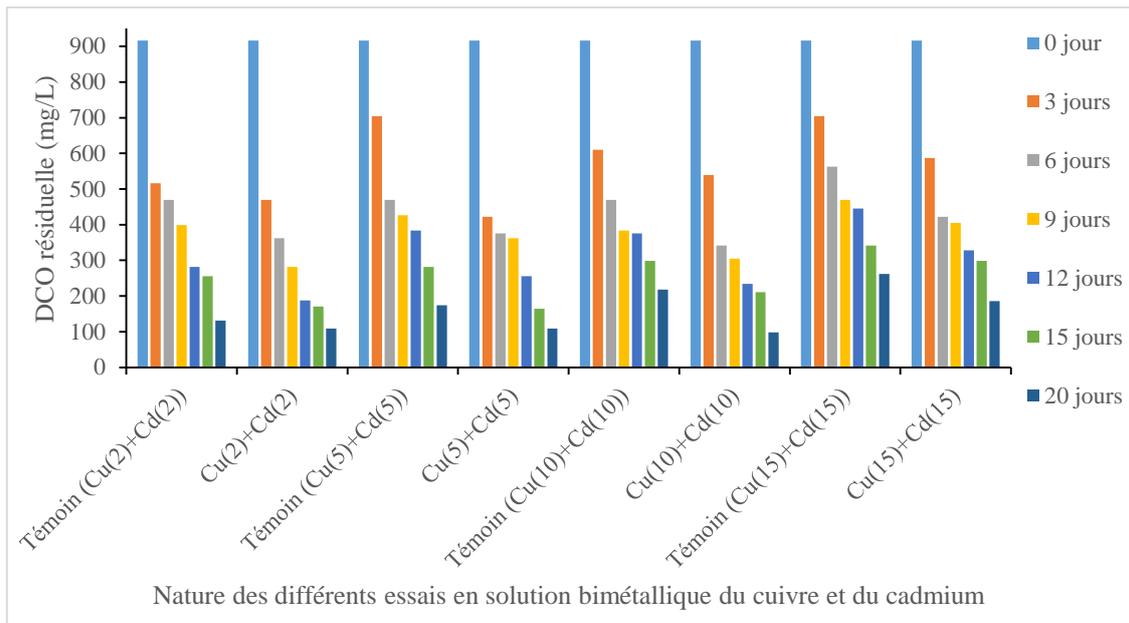


Figure 43 : Evolution de la concentration résiduelle de la DCO en solution bimétallique du cuivre et du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L

Les figures 41, 42 et 43 montrent une DCO plus élevée au niveau des essais témoins que celle des essais qui ont eu lieu en présence de la plante et cela quelle que soient les conditions opératoires. Cela prouve que la plante joue un rôle important dans l'élimination de la DCO. La présence de la plante créerait certaines conditions favorables telles que l'aération du milieu par leur racine après la photosynthèse qui permet aux microorganismes de la rhizosphère de minéraliser la DCO organique. Les produits issus de la minéralisation sont absorbés par la plantes pour sa survie.

Plus précisément, la DCO du milieu croît avec l'augmentation de la concentration initiale métallique du milieu. A faible concentration métallique, la DCO est plus faible que celle obtenue dans les mêmes conditions mais sans la présence métallique. Le constat contraire est fait avec la présence métallique à forte concentration. Ce qui pourrait s'expliquer par le phénomène d'interférence qui aurait lieu à forte concentration métallique avec la matière organique carbonée. Cependant, il convient de noter que contrairement aux polluants métalliques (Cd et Cu), les DCO finales obtenus au bout de 20 jours respectent la norme ivoirienne et celle de la FAO de rejet de la DCO (500 mg/L pour la norme ivoirienne et 300 mg/L pour celle de la FAO).

A faible concentration de la solution monométallique du cuivre et en présence de la plante, le taux d'abattement de la demande chimique en oxygène (% DCO) devient comparable à ceux notés dans la littérature à partir du 6<sup>ème</sup> jour de traitement. Le même constat est fait lorsque la concentration monométallique du cuivre devient plus élevée (Tableau I en annexe) à partir du

9<sup>ème</sup> jour de traitement. Par contre, en solution monométallique du cadmium, quelle que soit la concentration métallique initiale, le taux d'abattement de la DCO est comparable à ceux de la littérature déjà à partir du 6<sup>ème</sup> jour de traitement (Tableau II annexe). En solution bimétallique, au fur et à mesure que la concentration métallique initiale et le temps de séjour augmentent, le taux d'abattement devient comparable à ceux de la littérature.

Ainsi, en solution bimétallique à 2 mg/L, le maxima d'élimination est au 6<sup>ème</sup> jour, à 5, 10 mg/L il se trouve au 9<sup>ème</sup> jour et au 12<sup>ème</sup> jour à 15 mg/L (Tableau III, annexe). En solution monométallique du cuivre et du cadmium ou en leur solution bimétallique, le taux d'abattement de la DCO au 20<sup>ème</sup> jour reste supérieur ou du même ordre de grandeur que ceux obtenus par certains auteurs (Jianbo et al., 2007 ; Ajayi et Ogunboyo, 2012 ; Idder et al., 2011 ; Kouamé Kouamé et al., 2016).

#### IV.2. Élimination de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> au cours du temps en présence du cuivre et du cadmium par *Eichhornia crassipes*

Les figures 44, 45 et 46 présentent l'évolution de la concentration de l'azote ammoniacal (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) en présence de la solution monométallique et bimétallique du cuivre et du cadmium à : 2, 5, 10 et 15 mg/L

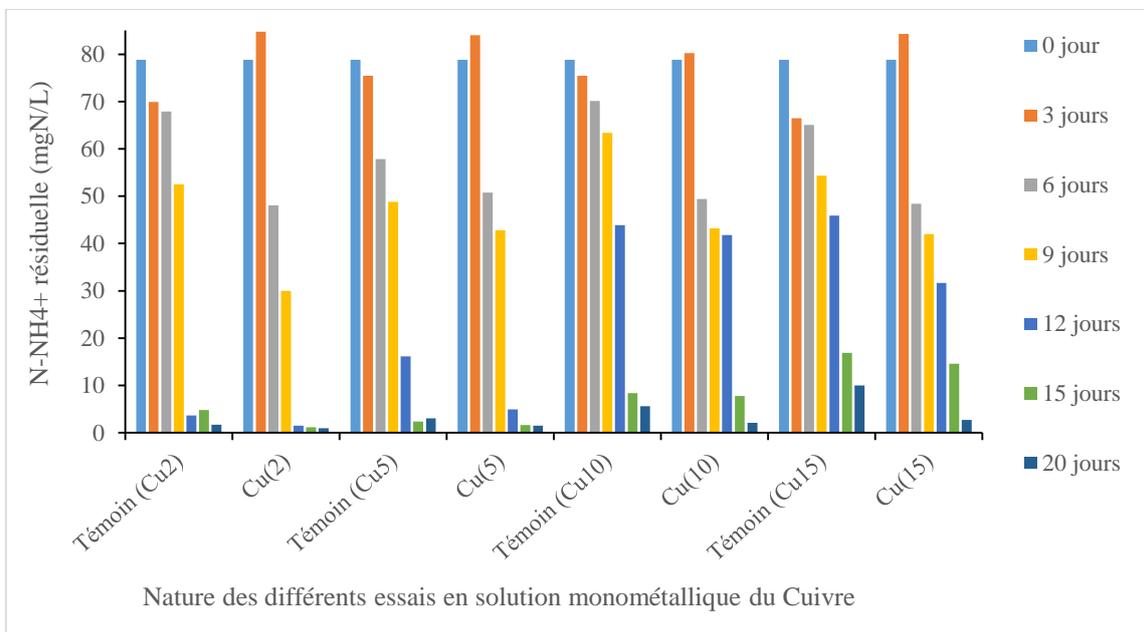


Figure 44 : Evolution de la concentration au cours du temps de l'azote ammoniacale en solution monométallique du cuivre à 2, 5, 10 et 15 mg/L

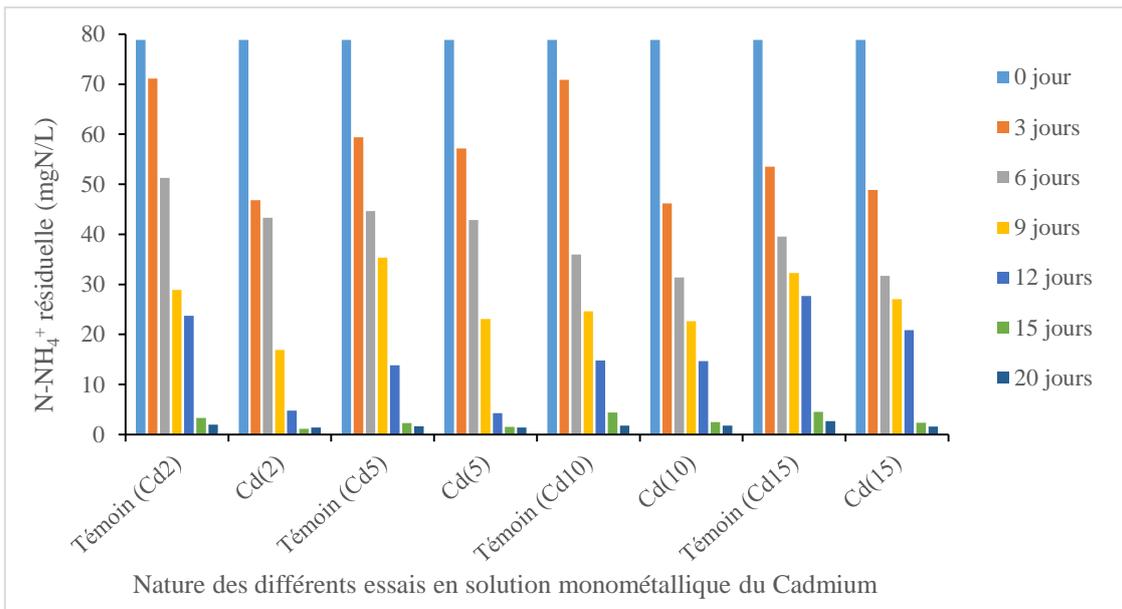


Figure 45 : Evolution de la concentration au cours du temps de l'azote ammoniacale en solution monométallique du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L

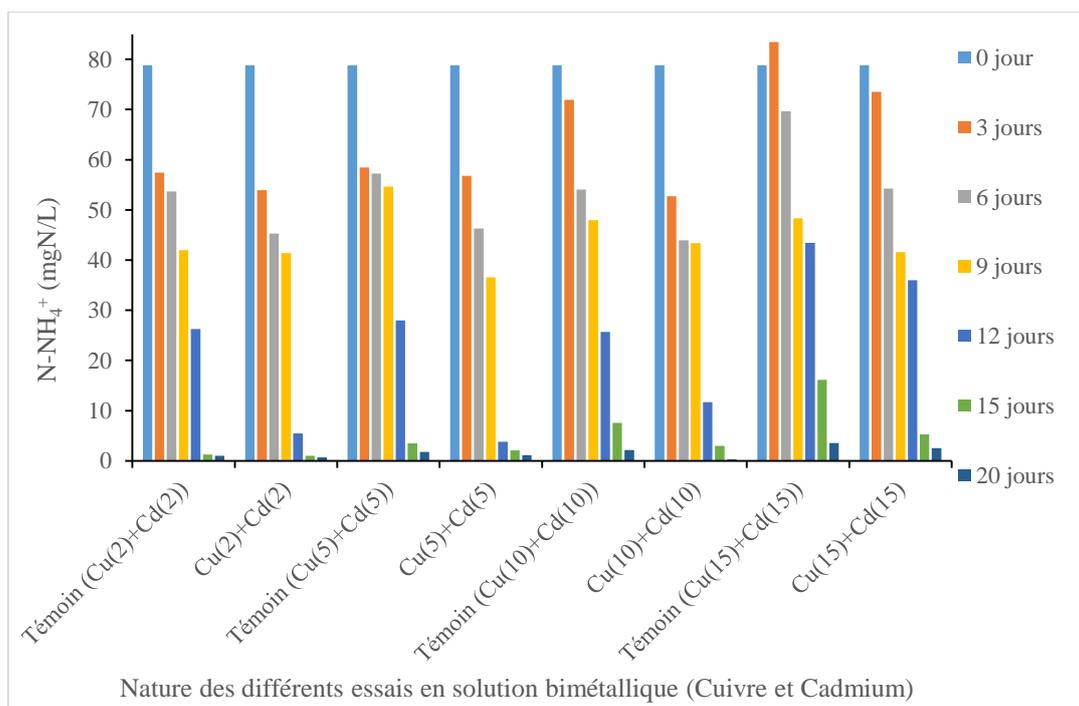


Figure 46 : Evolution de la concentration au cours du temps de l'azote ammoniacal en solution bimétallique du cuivre et du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L

Une diminution au cours du temps de la concentration en azote ammoniacal a été constatée quelle que soit la nature métallique (cuivre ou cadmium), la catégorie de la solution métallique (monométallique ou bimétallique) en présence ou non de la plante (figures 44, 45 et 46). Cette diminution est plus remarquable en présence de la plante quelle que soit la concentration initiale

métallique (2, 5, 10 et 15 mg/L). La plante assimile plus l'azote ammoniacal que les microorganismes (Brisso et Chazarenc, 2009).

En solution monométallique du cuivre et en présence de la plante, la diminution est beaucoup plus prononcée à faible. L'augmentation de la teneur en azote ammoniacal plus élevée que celle initiale au 3<sup>ème</sup> jour s'expliquerait par le phénomène d'adaptation de la plante qui aurait provoqué la réduction de l'azote lié aux nitrates du milieu en azote ammoniacal. La variation de la concentration en azote ammoniacale devient très faible voire constante aux 12<sup>ème</sup> et 15<sup>ème</sup> jours à 2 et 5 mg/L en solution monométallique du cuivre. Plus la concentration métallique est élevée moins la plante aurait besoin de l'azote ammoniacale. En présence du cadmium, la concentration résiduelle de l'azote ammoniacal devient faible et invariant au 15<sup>ème</sup> jour du traitement, quelle que soit la concentration métallique (2, 5, 10 et 15 mg/L) et en présence de la plante. Signalons qu'en solution bimétallique et avec la présence de la plante, la teneur résiduelle en azote ammoniacal du 20<sup>ème</sup> jour (0,66 ; 1,13 ; 0,33 et 2,55 mgN/L) est plus faible que celle en solution monométallique de cuivre (1,00 ; 1,53 ; 2,14 et 2,74 mgN/L) et de cadmium (1,39 ; 1,38 ; 1,81 et 1,57 mgN/L). En solution bimétallique, la plante aurait plus besoin de l'azote ammoniacal qu'en solution monométallique du cuivre et du cadmium. A 2 et 5 mg/L de polluant métallique (cuivre et cadmium), la teneur en azote ne diminue plus au 12<sup>ème</sup> jour. Avec le même constat fait à 10 et 15 mg/L mais pour cette fois si au 15<sup>ème</sup> jour.

En solution monométallique de cuivre et de cadmium, le taux d'élimination de l'azote ammoniacal est supérieur à ceux obtenus par Loan et *al.* (2014) à partir déjà du 6<sup>ème</sup> jour du traitement quelle que soit la concentration (Annexe tableaux IV, V et VI). Tous les taux d'élimination de l'azote ammoniacal au 20<sup>ème</sup> jour sont restés plus élevés que ceux obtenus par certains auteurs tels que Jianbo et *al.* (2008), Idder et *al.* (2011), Chibueze et *al.* (2014), Shahabaldin et *al.* (2014) et Valipour et *al.* (2015). Cette différence de résultats serait due aux conditions expérimentales ou à la présence des polluants métalliques dans notre cas.

### **IV.3. Elimination de $PO_4^{3-}$ en présence du cuivre et du cadmium par *Eichhornia crassipes***

Les figures 47, 48 et 49 présentent l'évolution de la concentration du phosphore minéral ( $P-PO_4^{3-}$ ) en solution monométallique et bimétallique du cuivre et du cadmium à : 2, 5, 10 et 15 mg/L.

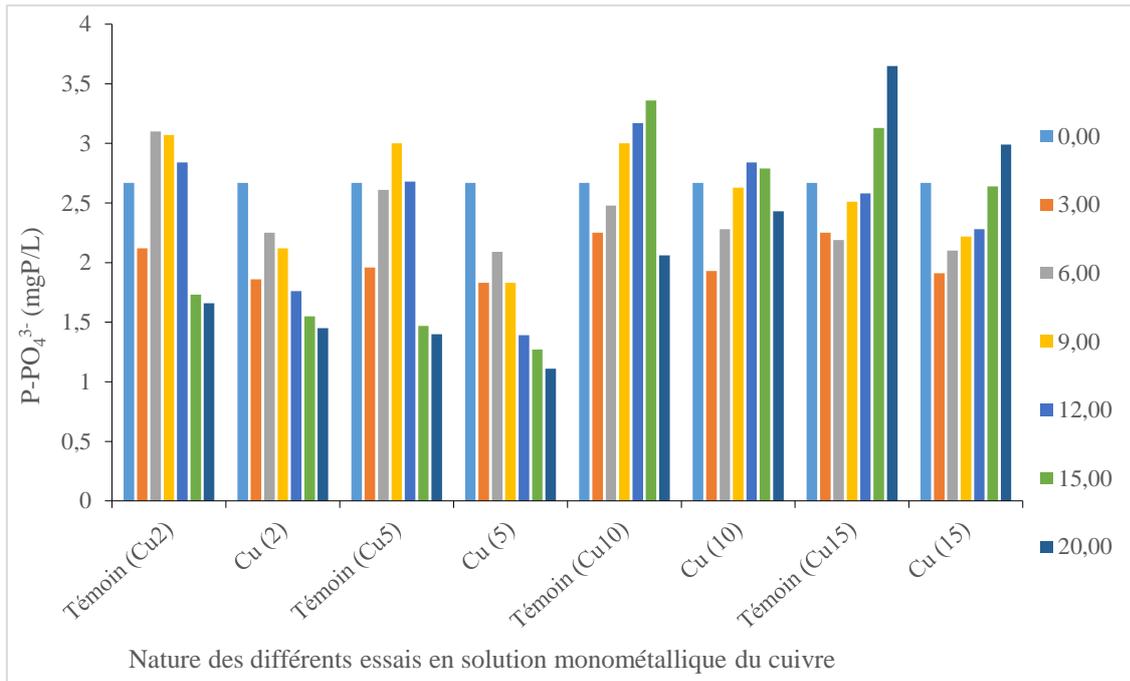


Figure 47 : Evolution de la teneur de l'orthophosphate au cours du temps en solution monométallique du cuivre à 2, 5, 10 et 15 mg/L avec ou sans *E. crassipes*

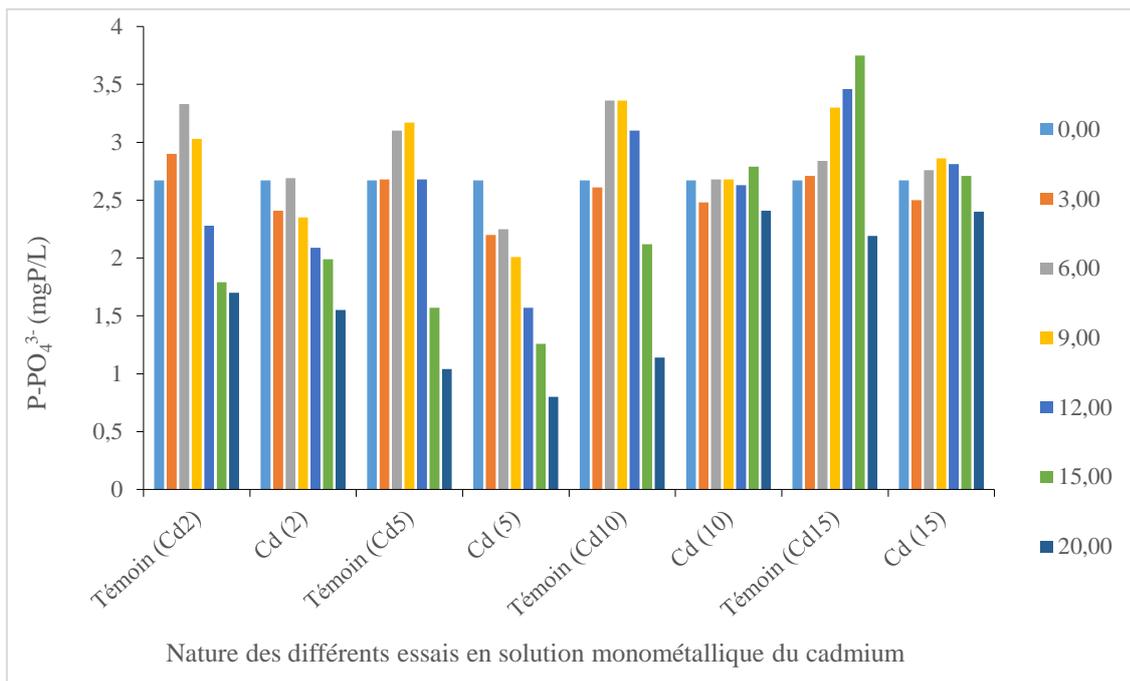


Figure 48 : Evolution de la teneur de l'orthophosphate au cours du temps en solution monométallique du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L avec ou sans *E. crassipes*

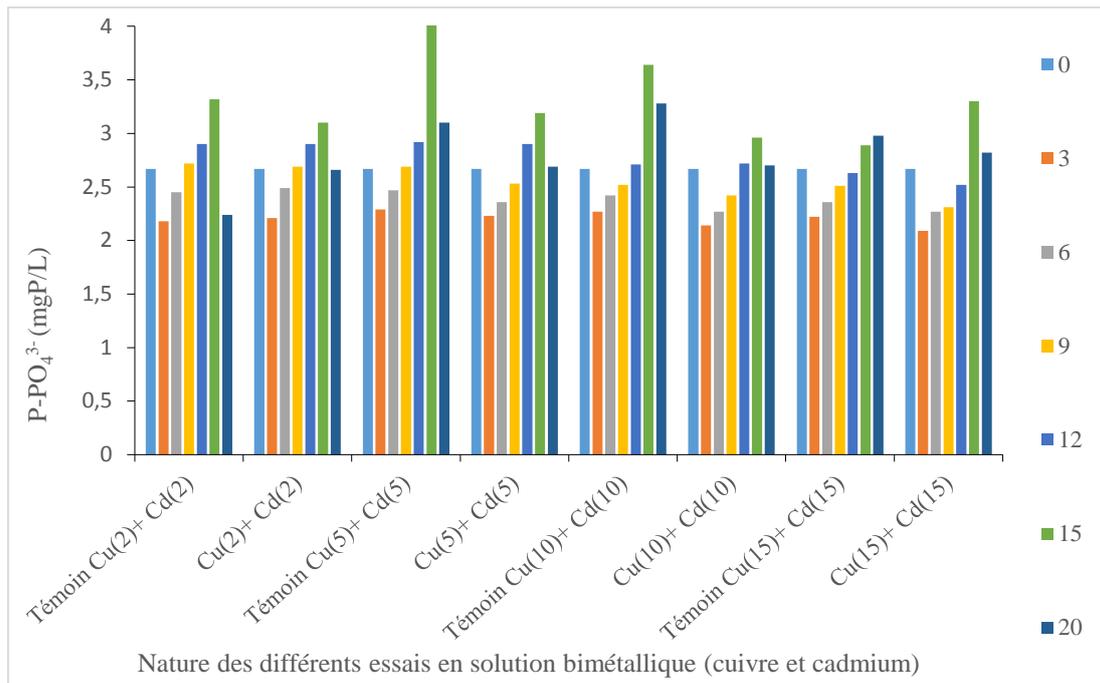


Figure 49 : Evolution de la teneur de l'orthophosphate au cours du temps en solution bimétallique du cuivre et du cadmium à 2, 5, 10 et 15 mg/L avec ou sans *E. crassipes*

Les figures 47, 48 et 49 présentent l'évolution de la concentration résiduelle du phosphore au cours du temps en solution monométallique et bimétallique du cuivre et du cadmium. Les concentrations résiduelles des essais en présence de *E. crassipes* est plus faible que celle des essais sans *E. crassipes*, quelle que soit la nature de la solution métallique. Cette différence est due à l'assimilation du phosphore par *E. crassipes*. Le phosphore est un élément essentiel qui participe aux réactions de maintien de la vie, au transfert d'énergie, à l'activation des protéines et à la régulation des processus métaboliques (Richardson et al., 2009 ; Kouamé Kouamé et al., 2016). A faible concentration métallique, une diminution de la concentration résiduelle quelle que soit la nature métallique est notée. Alors qu'à forte concentration métallique, la concentration résiduelle en orthophosphates diminue jusqu'au 3<sup>ème</sup> jour puis augmente jusqu'à la fin ; avec par moments une augmentation de cette dernière qui dépasse la concentration initiale. A faible teneur métallique, la concentration résiduelle du phosphore est plus faible en solution monométallique du cuivre que celle du cadmium, tandis qu'à des concentrations métalliques élevées celle du phosphore résiduel en solution monométallique du cadmium devient plus faible que celle de cuivre. Le phosphore est utilisé par la plante comme régulateur des processus métaboliques et que le cadmium se serait un élément toxique pour la plante, il serait mis à profit par la plante pour faire face aux effets nocifs (dommages) que pourrait engendrer la présence du cadmium à forte concentration métallique. L'augmentation avec dépassement par endroits de la concentration résiduelle à la concentration initiale, pourrait

s'expliquer par le relargage des orthophosphates par les microorganismes présents. Cette hypothèse est confirmée par les différentes valeurs du pH et du potentiel rédox qui montrent la présence d'un milieu anaérobie. Or en milieu anaérobie, les microorganismes relarguent du phosphore au profit d'absorption des acides gras volatils (Casellas, 2004).

## **V. Modélisation statistique de la contribution de *Eichhornia crassipes* dans l'élimination des polluants métalliques**

### **V.1. Cuivre**

Plusieurs modèles à effet mixte (Tableau XVIII) ont été utilisés pour évaluer la contribution de la jacinthe d'eau dans le traitement du cuivre et du cadmium, en fonction du temps de séjour et de la concentration métallique initiale.

La relation entre la concentration en cuivre et le temps de séjour (modèle 1) est significative au seuil de 0,1% ( $p < 0,0001$ ) et explique seulement à 19,35% la variabilité de la concentration en cuivre (en fin de traitement) par le modèle. On observe une diminution journalière additionnelle de 0,26 mg/L de Cu dans le traitement due à l'effet de la jacinthe. La présence de la plante améliore à 87,25 % l'élimination du cuivre. Une régression multiple effectuée en intégrant dans le modèle la concentration initiale de cuivre améliore significativement le taux de variabilité qui passe à 41,78%. La connaissance de la concentration initiale permet de mieux prédire l'effet de la jacinthe sur le traitement. Cet effet sur le traitement du cuivre est illustré par l'équation suivante :

$$[\text{Cu}]_{\text{final}} = -0,26 * T_{\text{séjour}} + 0,35 * [\text{Cu}]_{\text{initial}} + 2,27.$$

Le signe (-) du coefficient qui accompagne le temps de séjour indique que la jacinthe épure le milieu au cours du temps. Le signe (+) du coefficient de  $[\text{Cu}]_{\text{initial}}$  montre que plus la concentration initiale augmente moins la jacinthe a d'effet sur l'élimination du cuivre. Le tableau IV (l'annexe) présente les caractéristiques des modèles 3, 4, 5 et 6. Cependant, le modèle 4 expliquerait plus la variabilité des données au niveau du cuivre (Tableau VIII, annexe).

### **V.2. Cadmium**

Concernant la relation qui existe entre la concentration en cadmium et le temps de séjour (modèle 7), elle est significative au seuil de 1% ( $p < 0,001$ ) avec seulement 25,77% de la variabilité de la concentration en cadmium (en fin de traitement) expliquée par le modèle. On observe une diminution journalière additionnelle de 0,28 mg/L de Cd dans le traitement due à

l'effet de la jacinthe. La présence de la plante améliore à 84,34 % l'élimination du cadmium. Une régression linéaire multiple effectuée en intégrant dans le modèle la concentration initiale de cadmium améliore significativement le pourcentage de variabilité expliquée, qui passe de 25,77% à 40,13%. La connaissance de la concentration initiale permet de mieux prédire l'effet de la jacinthe sur le traitement. Cet effet sur le traitement du cadmium est illustré par l'équation suivante :

$$[\text{Cd}]_{\text{final}} = -0,28 * T_{\text{séjour}} + 0,28*[\text{Cd}]_{\text{initial}} + 2,69.$$

Le signe (-) du coefficient du temps de séjour indique que la jacinthe épure le milieu au cours du temps. Le signe (+) du coefficient de  $[\text{Cd}]_{\text{initial}}$  indique que plus la concentration initiale augmente, moins la jacinthe a d'effet sur l'élimination du cadmium. Le tableau 4 en l'annexe présente respectivement les caractéristiques des modèles 9, 10, 11 et 12. Le modèle 10 expliquerait plus la variabilité des données au niveau du cadmium (Tableau VIII, annexe).

Tableau XV : Coefficients et probabilité d'estimation des modèles de prédiction des paramètres cuivre, et cadmium

Paramètres prédits	Cu		Cd	
	Cu (Modèle 5)		Cd (Modèle 11)	
	A	p-value	a	p-value
Cu	-0,258	0,0001	–	–
Cd	–	–	-0,285	0,00001
Ordonnée à l'origine (b)				
Cu(2)	3,119	0,018	–	–
Cu(5)	3,889	0,089	–	–
Cu(10)	5,763	0,0001	–	–
Cu(15)	7,657	0,086	–	–
Cd(2)	–	–	3,386	0,071
Cd(5)	–	–	3,968	0,201
Cd(10)	–	–	5,340	0,00001
Cd(15)	–	–	6,961	0,132

### Conclusion partielle

Aux termes de ce chapitre, il convient de retenir qu'à faible concentration métallique (2 mg/L), la plante absorbe plus l'oligoélément (Cu) que l'élément toxique (Cd). De plus, toutes les concentrations résiduelles obtenues au bout de 20 jours, à cette concentration métallique respectent la norme OMS de rejet. Cependant, cela n'est pas le cas à partir de la concentration métallique 5 mg/L. Le cuivre et le cadmium sont plus éliminés en solution monométallique qu'en solution bimétallique. La toxicité du cuivre à concentration élevée devient plus importante que celle du cadmium. La présence du cadmium interfère plus sur l'absorption du cuivre.

Trois niveaux de contribution de *E. crassipes* se dégagent : la contribution rapide suivie du maximum de contribution et à la fin, la phase de déclin. Le maximum de contribution serait aux 9<sup>ème</sup> et 12<sup>ème</sup> quelle que soit la nature du métal et la concentration métallique initiale. La contribution du cuivre en solution monométallique est plus élevée que celle observée en solution bimétallique. Par contre, au niveau du cadmium la contribution en solution bimétallique est plus élevée que celle en solution monométallique de cadmium. Alors qu'au niveau du cuivre, la contribution de *E. crassipes* est plus élevée en solution monométallique et à faible concentration initiale

---

### CHAPITRE III : ETUDE DE L'EFFET DE LA MATIERE ORGANIQUE BIODEGRADABLE SUR LES METABOLITES SECONDAIRES DE *EICHHORNIA CRASSIPES*

Cette étude fait suite à l'étude menée sur l'effet des trois facteurs que sont : le temps de séjour, la densité de la plante et la charge initiale organique en DCO en utilisant le plan factoriel complet. Ce chapitre expose l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus lors de l'évaluation de l'effet de la matière organique sur les métabolites secondaires qui interviennent dans la défense de *E. crassipes* contre les agressions extérieures.

## I. Caractérisation de la jacinthe d'eau

### I.1. Matières minérales

Les figures 50 et 51 présentent les teneurs en matières minérales (macroéléments et oligoéléments) de *Eichhornia crassipes* du Bénin et de la Côte-d'Ivoire.

#### ❖ Macroéléments

Le Soufre (S) ; le Calcium (Ca) ; le Potassium (K) ; le Sodium (Na) et le Phosphore. (P) constituent les macroéléments évalués pour les deux espèces.

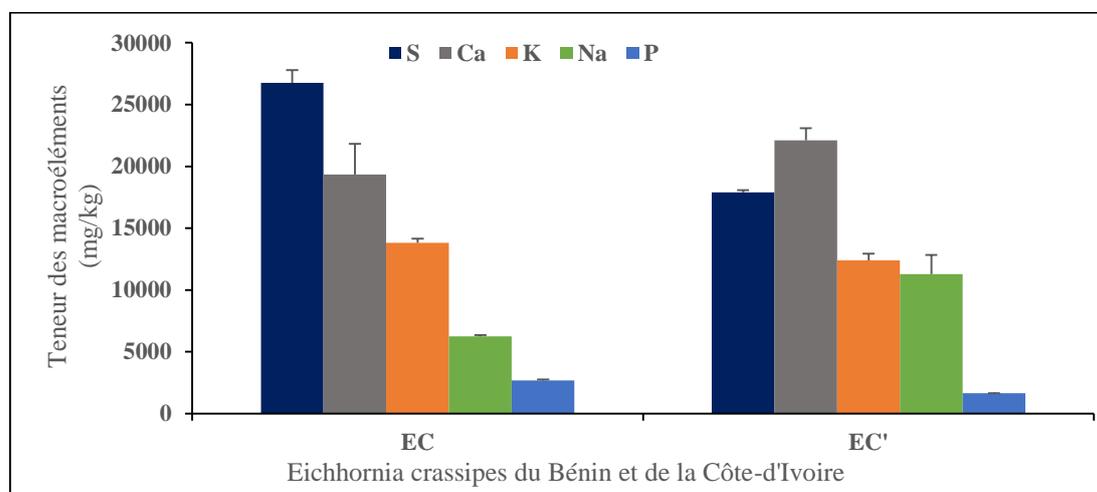


Figure 50 : Macroéléments de la jacinthe d'eau

EC : *Eichhornia crassipes* de la Côte d'Ivoire

EC' : *Eichhornia crassipes* du Bénin

Il ressort de l'analyse des résultats de la figure 50 que *E. crassipes* de la Côte-d'Ivoire contient plus de soufre (26,76 g/kg de matière sèche) et de calcium (19,35 g/kg de matière sèche) que de potassium (13,82 g/kg de matière sèche) et de sodium (6,26 g/kg de matière sèche), avec une faible teneur en phosphore (26,79 g/kg de matière sèche). Par contre, l'espèce du Bénin, est

plus riche en calcium (22,09 g/kg de matière sèche) qu'en soufre (17,89 g/kg de matière sèche), et des teneurs proches en potassium (12,40 g/kg de matière sèche) et sodium (11,28 g/kg de matière sèche) et phosphore (1,64 g/kg de matière sèche). Il faut noter que l'espèce récoltée en Côte-d'Ivoire est beaucoup plus riche en ces différents macroéléments évalués que celle prélevée au Bénin. Cette variation de teneur observée serait due aux caractéristiques édaphiques des écosystèmes naturels, où ont été collectés les plants de la jacinthe d'eau.

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Peter *et al.* (2008) qui ont montré dans leurs travaux sur les plantes monocotylédones que la teneur en macroéléments de cette famille de plante devrait être supérieure ou égale à 1000 mg/kg de matière sèche. Ces résultats sont également du même ordre de grandeur que ceux obtenus par Ho thanh Tham (2015) sur *E. crassipes*. Cependant, la teneur en soufre de l'espèce récoltée dans les deux pays est plus élevée que celle obtenue par Loïc (2012).

### ❖ Oligoéléments

Les oligoéléments ayant fait l'objet de l'étude sont le Magnésium (Mg), le Fer (Fe), le Zinc (Zn) et le Cuivre (Cu). Le Plomb (Pb) et le Cadmium (Cd) sont les éléments toxiques de la plante. La teneur en eau (%TE) et la teneur en matière sèche (%MS) ont également été évaluées.

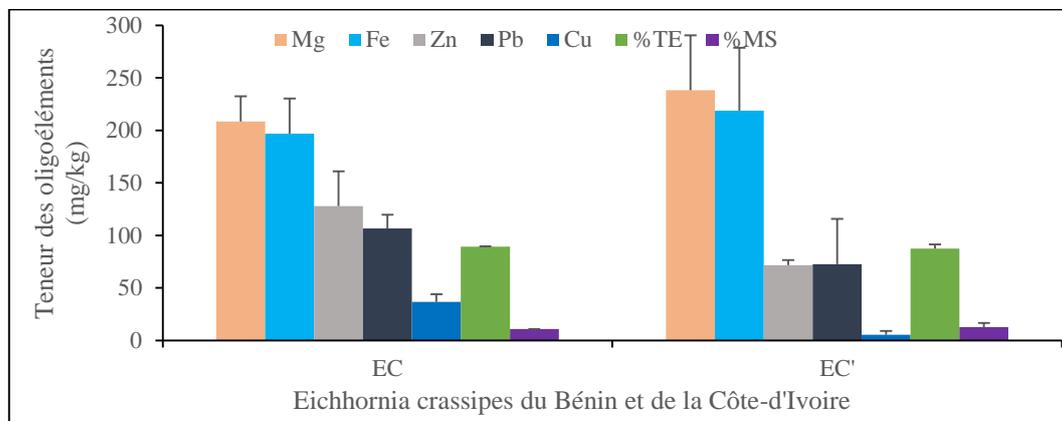


Figure 51 : Oligoéléments de la jacinthe d'eau

EC : *Eichhornia crassipes* de la Côte d'Ivoire

EC' : *Eichhornia crassipes* du Bénin

La teneur en eau et en matières sèches sont du même ordre de grandeur pour l'espèce des deux pays (TE : 89,31 % et 87,31 % ; MS : 10,69 et 12,69, respectivement pour l'espèce récoltée en Côte-d'Ivoire et au Bénin). Le plomb n'étant pas un élément essentiel ni un oligoélément pour les matières vivantes dont la plante, sa présence serait due à une contamination de son milieu édaphique. Il est présent au niveau des espèces récoltées dans les deux pays. Mais sa teneur

reste plus élevée au niveau de l'espèce récoltée en Côte-d'Ivoire (0,106 g/kg de matière sèche) que celle récoltée au Bénin (0,072 g/kg de matière sèche). La teneur en magnésium et en fer est du même ordre de grandeur pour l'espèce récoltée en Côte-d'Ivoire (Mg : 0,208 g/kg de matière sèche et Fe : 0,196 g/kg de matière sèche) que pour celle récoltée au Bénin (Mg : 0,238 g/kg de matière sèche et Fe : 0,218 g/kg de matière sèche). La teneur en ces oligoéléments évaluée de l'espèce récoltée en Côte-d'Ivoire et au Bénin est du même ordre de grandeur que celle obtenue par Ho Thanh Tham (2015). A part l'élément fer dont sa teneur est plus élevée, la teneur du reste des éléments est en accord avec celle obtenue par Peter *et al.* (2008). Ils avaient montré que les plantes monocotylédones devraient avoir des teneurs en oligoéléments inférieure ou égale à 100 mg/kg de matière sèche.

Sous réserve de l'évaluation de ces paramètres au niveau des milieux de vie des espèces étudiées, et sur la base des valeurs obtenues, l'espèce récoltée au Bénin serait plus riche en ces différents éléments comparativement à celle récoltée en Côte-d'Ivoire.

## I.2. Métabolites secondaires

Les tableaux XVI et XVII présentent l'identification et la quantification des métabolites secondaires de *E. crassipes* évaluée à l'état frais (ECF) et séché (ECS) au niveau des espèces récoltées en Côte-d'Ivoire et au Bénin.

### I.2.1. Criblage des métabolites secondaires

Tableau XVI : Métabolites secondaires de l'espèce récoltée dans les différents pays

		<i>Eichhornia crassipes</i>			
		Côte-d'Ivoire		Bénin	
		Frais	Sec	Frais	Sec
<b>Stérols et terpènes</b>		±	±	±	+
<b>Polyphénols</b>		-	+	±	+
<b>Flavonoïdes</b>	<b>Anthocyanes</b>	-	-	±	+
	<b>Flavonoïdes libres</b>	±	+	±	+
	<b>Leucoanthocyanes</b>	-	±	±	+
<b>Tanins</b>	<b>Catéchiques</b>	-	±	-	±
	<b>Galliques</b>	-	-	±	+
		-	-	-	-
<b>Alcaloïdes</b>		-	-	-	-

- : *absent*, ± : *traces*, + : *présence*.

Le criblage phytochimique de *E. crassipes* récolté en Côte-d'Ivoire indique majoritairement la présence des composés chimiques tels que : les polyphénols, les flavonoïdes libres, les leucoanthocyanes, les terpènes et stéroïdes et les tanins catéchiques. L'espèce récoltée au Bénin regorge majoritairement des métabolites tels que : les terpènes et stéroïdes, les polyphénols, les

anthocyanes, les flavonoïdes libres, les leucoanthocyanes, les tanins galliques et les tanins catéchiques (Tableau XVI). A part l'absence des alcaloïdes constatés dans les espèces, les résultats obtenus sont conformes à ceux obtenus par Thamaraiselvi *et al.* (2012) qui ont révélé dans les extraits éthanoliques de la plante fraîche de *E. crassipes* la présence de flavonoïdes, de stéroïdes, de terpènes d'anthocyanes et d'alcaloïdes. Ces résultats sont également conformes à ceux obtenus par Kandukuri *et al.* (2009) puis Lalitha *et al.* (2012), avec la présence de certains métabolites dans la plante à l'état sec et leur absence à l'état frais.

### I.2.2. Quantification des métabolites secondaires des espèces

Tableau XVII : Teneurs en composés phénoliques, en flavonoïdes totaux et tanins totaux de la jacinthe d'eau

	<i>Eichhornia crassipes</i>			
	Récolté en Côte d'Ivoire		Récolté au Bénin	
	Frais	Sec	Frais	Sec
<b>Tanins Totaux (g/L)</b>	<b>0,078</b>	<b>0,274</b>	<b>0,054</b>	<b>0,110</b>
<b>Polyphénols Totaux (g/L)</b>	-	<b>0,12</b>	-	<b>0,03</b>
<b>Flavonoïdes Totaux (g/L)</b>	<b>0,24</b>	<b>1,05</b>	<b>0,12</b>	<b>0,35</b>

Les résultats de l'analyse quantitative (Tableau XVII) confirment les observations faites au cours du screening phytochimique. Les trois familles de métabolites quantifiés sont plus concentrées dans la plante à l'état sec qu'à l'état frais, confirmant l'hypothèse selon laquelle les molécules seraient diluées dans le matériel végétal à l'état frais. Quel que soit le métabolite secondaire considéré, *E. crassipes* de la Côte d'Ivoire est plus riche que celui du Bénin.

## II. Influence de l'utilisation de *E. crassipes* dans l'élimination de la matière organique sur les métabolites secondaires de la plante

### II.1. Analyse quantitative des modifications subies par les métabolites de *E. crassipes* en présence des polluants organiques

Les figures 52 et 53 mettent en évidence, la variation de la teneur en composés phénoliques totaux, en flavonoïdes totaux et en tanins condensés au niveau de *E. crassipes* après son utilisation dans le traitement des eaux usées à 192 et 944 mgO<sub>2</sub>/L et aux temps de séjour de 5 et 15 jours. Sur cette figure :

- R, PA et EN désignent respectivement la Racine, la Partie Aérienne (tige) et leur Ensemble (plante entière),
- B, F et Fo représentent respectivement, la plante récoltée dans son milieu de vie naturel ayant joué le rôle de témoin, celle ayant été utilisée dans le traitement à faible, puis à forte concentration en matière organique DCO (192 et 944 mgO<sub>2</sub>/L) et
- 1 et 2 qui indiquent la durée des essais (temps de séjour) respectivement 5 et 15 jours

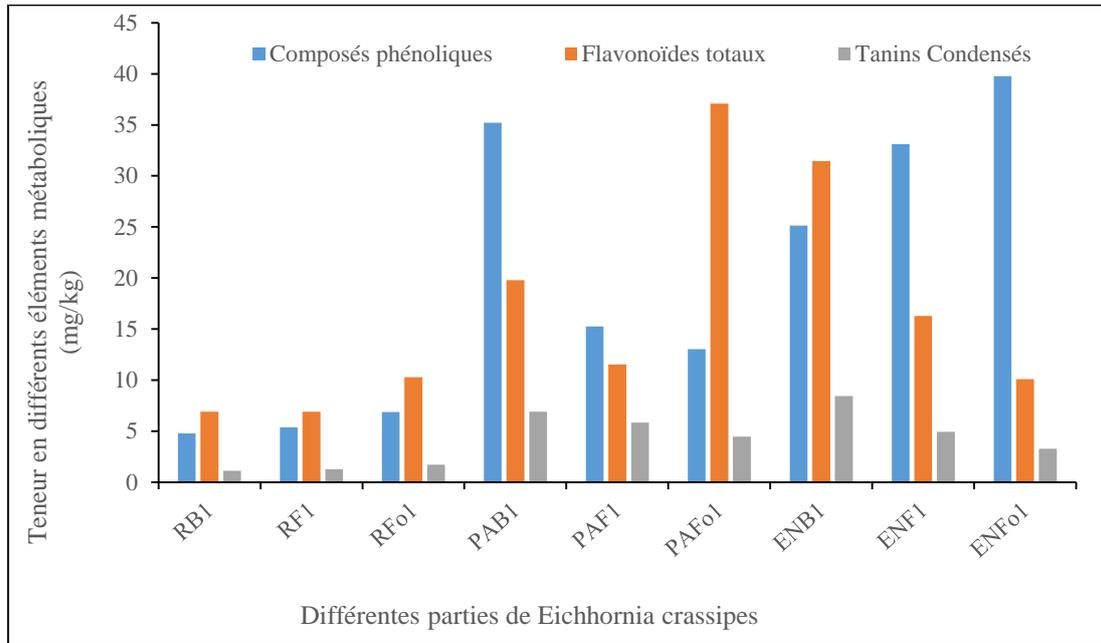


Figure 52 : Teneur en composés polyphénoliques des différentes parties de la jacinthe d'eau après 5 jours de traitement

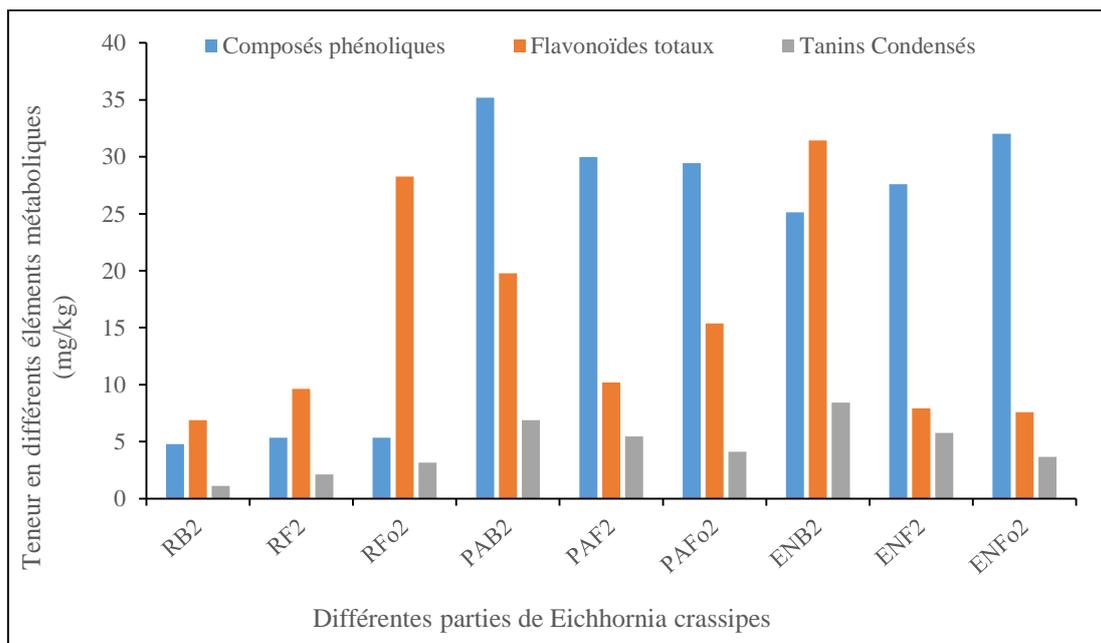


Figure 53 : Teneur en composés polyphénoliques des différentes parties de la jacinthe d'eau après 15 jours de traitement

La teneur en composés phénoliques totaux (CPT) varie très peu au niveau de la plante utilisée dans le traitement à faible concentration (RF1), à forte concentration (RFo1) et de celle récoltée dans son milieu de vie naturel (RB1), après 5 jours de traitement au niveau de la racine. Par contre, une diminution de la teneur en composés phénoliques totaux a été constatée au niveau de la partie aérienne de la plante témoin (PAB1) et au niveau de la PA de la plante utilisée dans un traitement à forte concentration de polluant (PAFo). Par ailleurs, au niveau de la plante entière utilisée dans le traitement à faible concentration (ENF), une augmentation de la teneur en composés phénoliques totaux a été observée. Au bout de 15 jours de traitement un réajustement de la teneur en CPT a été remarquée au niveau de la racine (RB2, RF2 et RFo2), de la partie aérienne (PAB2, PAF2 et PAFo2) et au niveau de la plante entière (ENB2, ENF2 et ENFo2), quelle que soit la concentration du polluant. Ce réajustement de la teneur en CPT constaté serait dû à la baisse de l'effet de l'agression après 15 jours de traitement. La faible variation de la teneur en CPT remarquée au niveau de la plante ayant été utilisée dans le traitement des polluants à faible concentration comparativement à la plante utilisée dans le traitement des polluants à forte concentration confirmerait l'hypothèse selon laquelle les composés phénoliques totaux seraient le métabolite principal de défense biologique de la plante. Lorsque la durée du traitement passe de 5 à 15 jours, la teneur en CPT se réajuste tandis que celles en Tanin condensé (TC) et en flavonoïde totaux (FVT) se voient multiplier par trois voire par quatre. Mais à faible concentration de polluant, on observe une augmentation moins sensible de la teneur de ces métabolites secondaires que celle obtenue à concentration élevée. Les CPT seraient donc le métabolite secondaire principalement sécrété par *E. crassipes* pour faire face à l'agression que constituent les polluants organiques.

## II.2. Etude statistique des effets sur les métabolites de *E. crassipes*

Tableau XVIII : ANOVA à trois facteurs des différentes parties de la plante (DP), des différents traitements et des temps de séjour des traitements avec leurs interactions

Variables	Classes	p-value
Composés phénoliques totaux	DP	8,97E-14***
	Traitement	1,08E-08***
	Séjour	1,61E-05***
	DP : Traitement	1,20E-10***
	DP : Séjour	0,109
	Traitement : Séjour	6,50E-10***
	DP : Traitement : Séjour	3,95E-09***
Flavonoïdes totaux	DP	3,47E-08***
	Traitement	0,0023939**
	Séjour	0,0084086**
	DP : Traitement	6.56E-06***
	DP : Séjour	0,0001404***
	Traitement : Séjour	0,1150213
	DP : Traitement : Séjour	0,0010251**
Tanins condensés	DP	2,20E-16***
	Traitement	1,56E-06***
	Séjour	0,2329
	DP : Traitement	4,00E-09***
	DP : Séjour	7,26E-06***
	Traitement : Séjour	0,0164*
	DP : Traitement : Séjour	4,65E-11***

### II.2.1. Composés phénoliques

Les résultats de l'ANOVA de la teneur en composés phénoliques totaux (Tableau XVIII) montrent une différence significative entre les différentes parties de la plante (DP), les différents types de traitements subis par la plante (Traitement) et la durée du traitement (Séjour) au seuil de 0,1% ( $p < 0,001$ ). Le croisement entre les différents types de traitement et les différentes parties de la plante (Traitement : DP) d'une part, et entre la durée du traitement et le type de traitement (Séjour : Traitement) ont une influence significative sur les composés phénoliques totaux au seuil de 0,1%. D'autre part, l'interaction entre la durée du traitement et les différentes

parties de la plante (Traitement : DP) n'a pas un effet significatif sur la teneur en composés phénoliques totaux de la plante ( $p>0,05$ ).

L'étude descriptive des interactions qui ont un effet sur la teneur en composés phénoliques totaux est faite à la figure 54.

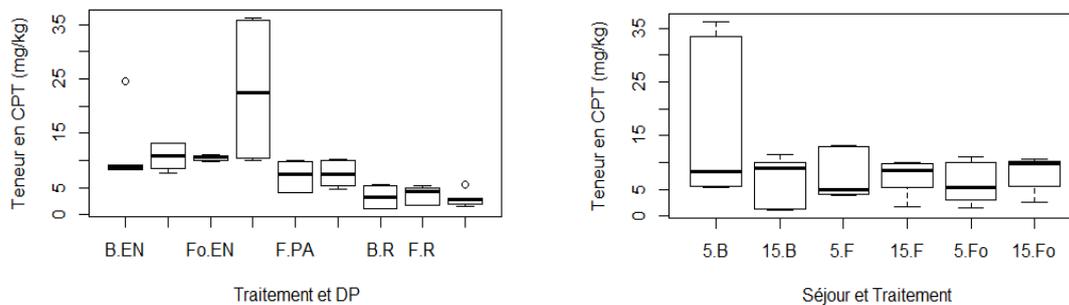


Figure 54 : Teneur en composés phénoliques totaux entre le type de traitement et les différentes parties de la plante ; entre la durée du traitement et du type de traitement et entre la durée du traitement et des différentes parties de la plante.

- (a), (Traitement et DP) : type de traitement et différentes parties de la plante,
- (b), (Séjour et Traitement) : durée du traitement et type de traitement.

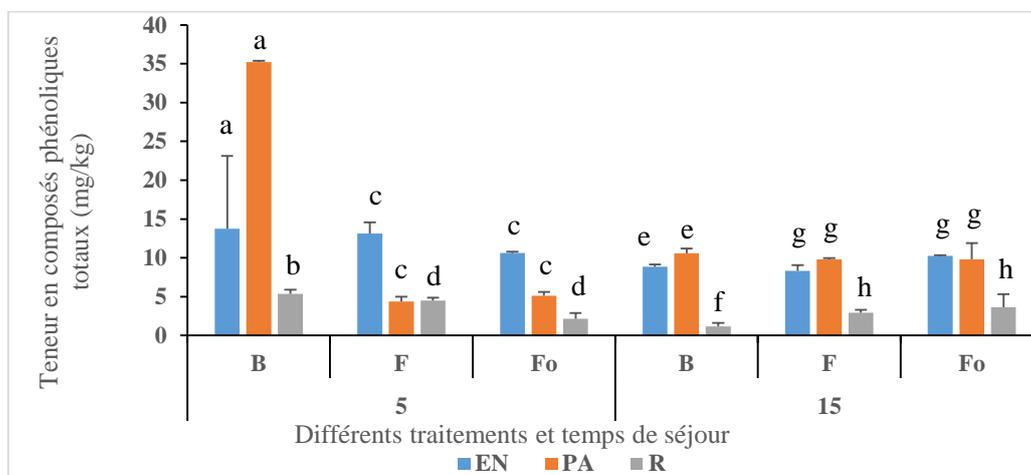


Figure 55 : Test de HSD de Tukey de la teneur en composés phénoliques totaux en fonction des différents types de traitement et de la durée du traitement.

- B : la plante prise dans son milieu de vie (témoin)
- F : la plante ayant subi un traitement à faible concentration de polluant
- Fo celle ayant subi un traitement à forte concentration de polluant, pour les différents types de traitement.
- 5 et 15 jours : les temps de séjour du traitement pour la durée du traitement.
- EN : la plante entière,
- PA : la partie aérienne de la plante et
- R : la racine de la plante pour les différentes parties de la plante

L'étude de l'effet de l'interaction des différents types de traitement et les différentes parties de la plante sur la teneur en composés phénoliques de la plante (Figure 54a) indique que la teneur en composés phénoliques totaux de la plante entière récoltée dans son milieu (B.EN) et de sa racine utilisée dans le traitement des polluants à forte concentration (Fo.EN et Fo.R) serait invariante. Avec une valeur atypique qui est observée au niveau de la plante entière récoltée dans son milieu de vie (B.EN) et de sa racine utilisée dans le traitement à forte concentration de polluant (Fo.R). A part, la racine de la plante utilisée dans le traitement à faible concentration polluante (F.R) qui a une distribution asymétrique, tout le reste (F.EN, B.PA, F.PA, Fo.PA et B.R) a une distribution symétrique.

Quant à l'étude de l'effet de l'interaction entre la durée du traitement et les différents types de traitement dans lesquels la plante a été utilisée, la teneur en composés phénoliques totaux (Figure 54b) présente une distribution asymétrique dans l'ensemble (5.B, 15.B, 5.F, 15.F, 5.Fo et 15.Fo).

Quant au test HSD de Tukey (Figure 55), il montre au niveau des différentes parties de la plante, qu'il n'y a pas de différence significative entre la teneur en CPT de la partie aérienne (PA) et la plante entière (EN). Aussi, la teneur dans la racine est-elle différente de celle dans la PA et EN avec deux groupes au sein des différentes parties de la plante (DP). En outre, pour le type de traitement dans lequel la plante a été utilisée, une différence significative de la teneur en CPT de la plante récoltée dans son milieu de vie (B) est notée par rapport aux plantes utilisées dans le traitement à faible et à forte concentration polluante. Cependant, il n'y a pas de différence entre la teneur en CPT de la plante utilisée à forte (Fo) et à faible (F) concentration polluante. La durée de traitement serait sans effet sur la teneur en CPT dans les différentes parties de la plante et des différents types de traitement.

### **II.2.2. Flavonoïdes totaux**

La comparaison des teneurs en flavonoïdes totaux (Tableau XVIII) présente une différence significative entre les différentes parties de la plante (DP), entre les différents types de traitement dans lesquels la plante a été utilisée (Traitement) et la durée du traitement (temps de séjour) au seuil respectivement de 0,1% et 1%. L'interaction des différents types de traitement et des différentes parties de la plante (Traitement et DP) et celle de la durée du traitement et les différentes parties de la plante (Séjour et DP) ont une influence significative sur la teneur en flavonoïdes totaux (FVT) de la plante au seuil de 0,1%. Par contre, le croisement de la durée de traitement et des différents types de traitement (Séjour et Traitement) n'a pas d'effet sur la teneur en flavonoïdes totaux. L'étude descriptive des différentes interactions sur la teneur en

flavonoïdes totaux (FVT) est faite sur les interactions entre les différents types de traitement et les différentes parties de la plante (Traitement et DP), d'une part, et, entre la durée du traitement et les différentes parties de la plante (Séjour et DP) d'autre part (Figure 56).

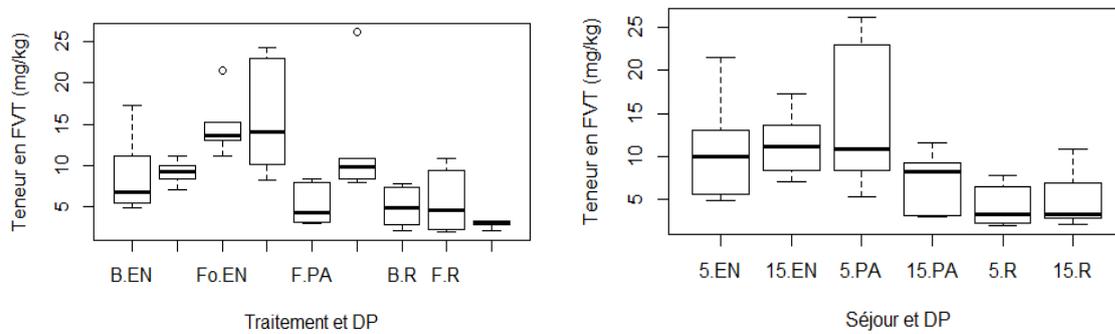


Figure 56 : Teneur en flavonoïdes totaux entre le type de traitement et les différentes parties de la plante ; entre la durée du traitement et du type de traitement et entre la durée du traitement et des différentes parties de la plante.

(a), (Traitement et DP) : type de traitement et différentes parties de la plante et

(b), (Séjour et DP) : durée du traitement et des différentes parties de la plante

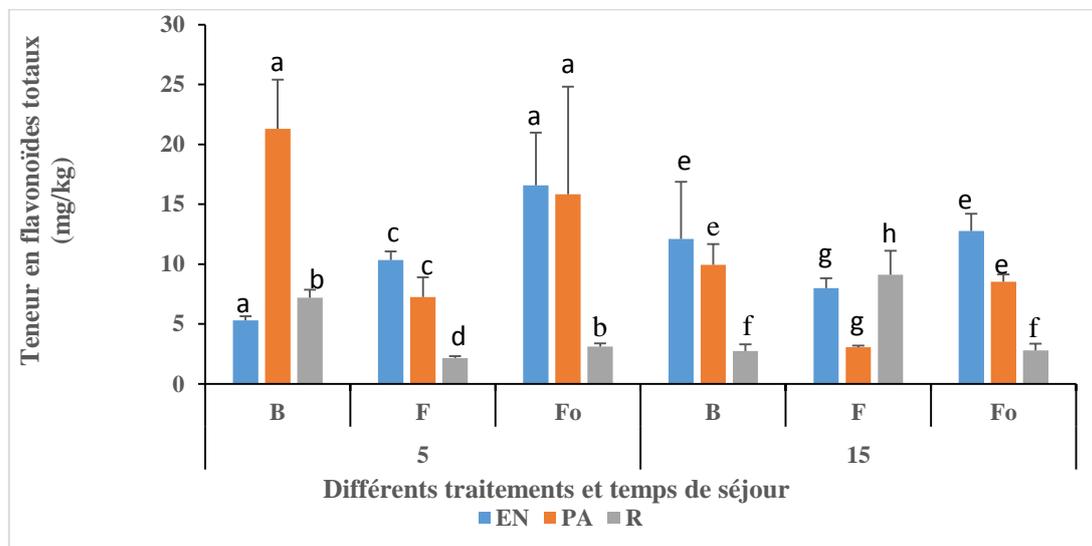


Figure 57 : Test HSD de Tukey de la teneur en flavonoïdes totaux en fonction des différents types de traitement et de la durée du traitement.

B : la plante prise dans son milieu de vie (témoin)

F : la plante ayant subi un traitement à faible concentration de polluant

Fo : la plante ayant subi un traitement à forte concentration de polluant, pour les différents types de traitement.

5 et 15 : les temps de séjour du traitement pour la durée du traitement.

EN : la plante entière,

PA : la partie aérienne de la plante et

R : la racine de la plante pour les différentes parties de la plante

La figure 56a présente deux valeurs atypiques respectivement au niveau de la plante entière et à la partie aérienne utilisée dans le traitement des polluants à forte concentration (Fo.EN) et (Fo.PA). A part la plante entière utilisée dans le traitement à faible concentration polluante (F.EN) et la racine de la plante récoltée dans son milieu de vie prise comme témoin (B.R) qui ont présenté une distribution symétrique de la teneur en flavonoïdes totaux (FVT), tout le reste a une distribution asymétrique de cette dernière (FVT) (B.EN, F.EN, Fo.EN, B.PA, F.PA et F.R). L'étude de l'interaction entre la durée du traitement et les différentes parties de la plante (Figure 56b), révèle une distribution symétrique de la teneur en flavonoïdes totaux au niveau de la plante entière, quelle que soit la durée du traitement (5.EN et 15.EN). Par contre, le reste de la distribution est asymétrique au niveau de la partie aérienne et de la racine de la plante, quelle que soit la durée du traitement (5.PA, 15.PA, 5.R et 15.R).

Le test HSD de Tukey (Figure 57) montre qu'entre les parties de la plante, il n'y a pas de différence significative de la teneur en FVT de la partie aérienne (PA) et de la plante entière (EN). Aussi, la teneur en FVT dans la racine est-elle différente de celle dans la PA et l'EN avec deux groupes au sein des différentes parties de la plante (DP). Il n'y a également pas de différence significative entre la plante témoin et celle utilisée dans le traitement à forte concentration polluante. Par contre, entre la plante récoltée dans son milieu de vie (plante témoin) et celle utilisée dans le traitement à la charge polluante à faible concentration, il apparaît une différence significative de la teneur en FVT au seuil de 5%.

### II.2.3. Tanins condensés

La comparaison (par l'ANOVA) des teneurs en tanins condensés (Tableau X) montrent une différence significative entre les parties de la plante et les traitements au seuil de 0,1%. Cela n'est pas le cas pour les temps de traitement qui sont restés sans différence sur la teneur en tannins condensés au seuil de 5%. Toutes les combinaisons binaires entre les parties de la plante et les traitements, entre les parties et les séjours des traitements au seuil de 0,1%, et entre les traitements et les séjours de traitement au seuil de 5%, ont un effet sur la teneur en tanins condensés. La statistique descriptive des trois interactions binaires est étudiée (Figure 58).

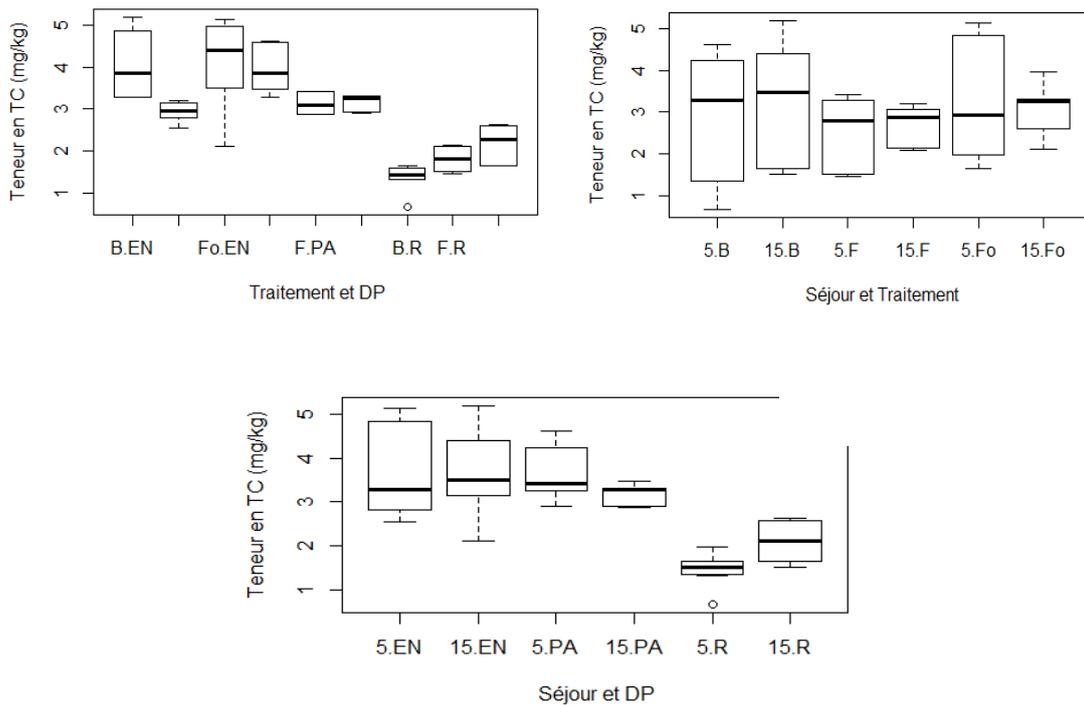


Figure 58 : Teneur en tanins condensés entre le type de traitement et les différentes parties de la plante ; entre la durée du traitement et du type de traitement et entre la durée du traitement et des différentes parties de la plante.

- (a), (Traitement et DP) : type de traitement et différentes parties de la plante
- (b), (Séjour et Traitement) : durée du traitement et type de traitement
- (c), (Séjour et DP) : durée du traitement et différentes parties de la plante

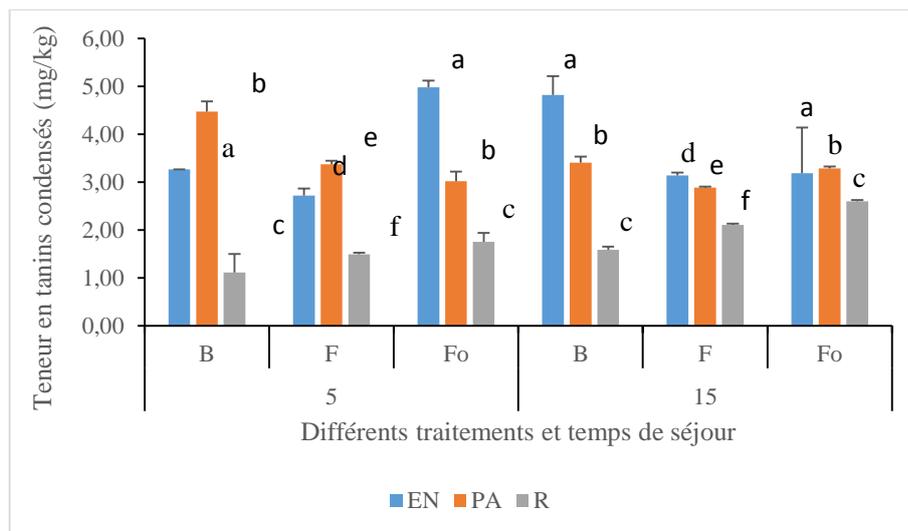


Figure 59 : Comparaison multiple (Test HSD de Tukey) de la teneur en tanins condensés en fonction des différents types de traitement et de la durée du traitement

B : la plante témoin, prise dans son milieu de vie ;

F : la plante ayant subie un traitement à faible concentration de polluant et

Fo celle ayant subie un traitement à forte concentration de polluant, pour les différents types de traitement.

5 et 15 : les temps de séjour du traitement pour la durée du traitement.

EN : la plante entière,

PA : la partie aérienne de la plante

R : la racine de la plante pour les différentes parties de la plante

Une distribution asymétrique de la teneur en tanins condensés est remarquée entre les différents types de traitement et les différentes parties de la plante (Traitement et DP), entre la durée de traitement et les différents types de traitement (Séjour et Traitement) et entre la durée de traitement et les différentes parties de la plante (séjour et DP). Elle se révèle oscillante dans la plante entière et le traitement, diminue et augmente au niveau de la partie aérienne de la plante et de sa racine avec les différents traitements. Ainsi, le traitement pourrait avoir un effet significatif sur la teneur en tanins condensés des différentes parties de la plante.

La comparaison multiple à l'aide du test HSD de Tukey (Figure 59) confirme l'absence de différence significative des temps de séjours et montre que la teneur en TC des constituants des parties de la plante est différente au seuil de 0,1%. La teneur en TC du traitement à forte concentration et celle de la plante prise à son milieu de vie sont les mêmes. Par contre, on note une différence entre la teneur en TC du traitement à faible et à forte concentration.

### Conclusion partielle

Le criblage phytochimique effectué sur *E. crassipes* a indiqué la présence de beaucoup de métabolites dont la teneur varie d'un pays à un autre. Les composés phénoliques totaux seraient le métabolite secondaire de défense de la jacinthe d'eau face aux agressions que constituent les polluants organiques.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aina** M. P, Kpondjo N. M, Adoukpe J. Chougourou D. et Moudachirou (2012) M. Study of the purification efficiencies of three floating macrophytes in wastewater treatment Research Journal of Chemical Sciences ISCA-RJCS, 154.
- Ajayi** T.O, Ogunbayo A.O. (2012). Achieving Environmental Sustainability in Wastewater Treatment by Phytoremediation with Water Hyacinth (*Eichhornia Crassipes*). J. Sust. Dev. 5(7):80-90.
- Akinbile** CO, Yusoff MS. (2012). Assessing water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and lettuce (*Pistia stratiotes*) effectiveness in aquaculture waste water treatment. Int J Phytoremediat ;14:201–11.
- Casellas** M., (2008). Mise en œuvre, modélisation, optimisation et contrôle d'un procédé discontinu séquentiel (SBR) : Application au traitement du carbone, de l'azote, du phosphore et des matières en suspension d'eaux résiduaires urbaines. Thèse. Université de Limoges. 388 pages.
- Chandra**, P., et Kulshreshtha, K. (2004). Chromium accumulation and toxicity in aquatic vascular plants. Botanical Review, 70(3), 313–327.
- Chibueze** G. A., Mynepalli K. C. S. et Akinwale O. C., (2014). Performance Evaluation of a Water Hyacinth Based Institutional Wastewater Treatment Plant to Mitigate Aquatic Macrophyte Growths at Ibadan, Nigeria. International Journal of Applied Science and Technology. Vol. 4, No. 3; May 2014
- Das** S, Goswami S, DasTalukdar A (2014). A study on cadmium phytoremediation potential of water lettuce, *Pistia stratiotes* L. B Environ Contam Tox 92: 169–174.
- Dou**, Z.X. (1988). Lead pollution in soil and its effect on plants. Agro-Environmental Protection, 7 (1988): 38-39.
- Feinberg** M., (1996). La valorisation des méthodes d'analyse, une approche chimométrique de l'assurance qualité au laboratoire, Ed. Masson, Paris, 255-271.
- Fritioff** A, Greger M. (2007). Fate of cadmium in *Elodea Canadensis*. Chemosphere, 67: 365-75.
- Ghaly** AE, Kamal M, Mahmoud NS. (2005). Phytoremediation of aquaculture wastewater for water recycling and production of fish feed. Environ Int. 31: 1–13.
- Hafidzatul** Husna Mohamad and Puziah Abdul Latif (2010). Uptake of Cadmium and Zinc from Synthetic Effluent by Water Hyacinth (*Eichhornia crassipes*). International journal of EnvironmentAsia 3(1) ; 36-42pp.

- Hasan S.H**, Talat M, Rai S. (2007). Sorption of cadmium and zinc from aqueous solutions by water hyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Bioresource Technology*, 2007; 98: 918-28.
- Ho Thanh Tham** (2015) Utilisation of Water Hyacinth as Animal Feed. *Nova Journal of Engineering and Applied Sciences*. Vol. 4(1), 1-6.
- Idder T.**, Laouali M.S., Idder A., Seidl M., (2011). Expérience d'épuration des eaux usées urbaines par lagunage sous climat sahélien (Niamey, Niger) et quelques données récentes sur la mise en place de cette technique de traitement sous climat Saharien (cuvette de Ouargla, Sahara septentrional Est algérien). *Algerian journal of arid environment*. volume 1, n°2: 32-39 pp. ISSN 2170-1318
- Jianbo, L.U.**, F.U. Zhihui, Y.I.N. Zhaozheng. 2008. Performance of a water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) system in the treatment of wastewater from a duck farm and the effects of using water hyacinth as duck feed. *Journal of Environmental Sciences*; 20; 513-519.
- Kamal, M.**, A. E. Ghaly, N. Mahmoud et R. Cote, (2004). Phytoaccumulation of heavy metals by aquatic plants. *Environment International* 29: 1029–1039.
- 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 de l'Université de Limoges. 234 pages.
- Kouamé Kouamé V.**, Yapoga S., Kouadio K. N., Tidou A. S. et Atsé B. C., (2016). Phytoremediation of wastewaters toxicity using water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) and water lettuce (*Pistia Stratiotes*). *International Journal of Phytoremediation*. ISSN: 1522-6514 (Print) 1549-7879 (Online) Journal homepage: <http://www.tandfonline.com/loi/bijp20>
- Leyral, G.**, Vierling, E. (1998). *Microbiologie et toxicologie des aliments, hygiène et sécurité alimentaire*. Book, p 267-268.
- Loan, N.T.**, Phuong, N.M., Anh, N.T.N., 2014. The role of aquatic plants and microorganisms in domestic wastewater treatment. *Environ. Eng. Manage. J.* 13,2031e2038.
- Lombi E**, Tearall K.L, Howarth J.R, Zhao F.J, Hawkesford M.J, McGrath S.P (2002). Influence of iron status on calcium and zinc uptake by different ecotypes of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiol* 128: 1359–1367.
- Lu X**, Kruatrachue M, Pokethitiyook P, Homyok K (2004). Removal of cadmium and zinc by water hyacinth, *Eichhornia crassipes*. *Sci Asia* 30: 93–103.
- Majid A.** et Siddique N., (2013). Phytoremediation using *Eichhornia crassipes* aquatic plant. *The Nucleus* 50, No. 3 (2013) 267-272

- Mateos-Naranjo**, E.; Gallé, A.; Florez-Sarasa, I.; Perdomo, J.A.; Galmés, J.; Ribas-Carbó, M.; Flexas, J. (2015). Assessment of the Role of Silicon in the Cu-Tolerance of the C4 Grass *Spartina Densiflora*. *J. Plant Physiol.* 178, 74–83. [CrossRef] [PubMed]
- Mishra** V.K, Tripathi B.D (2008). Concurrent removal and accumulation of heavy metals by the three aquatic macrophytes. *Bioresource Technol* 99: 7091–7097.
- Peter** H. Raven, Ray F. Evert et Susan E. Eichhorn (2008) *Biologie végétale*. Traduction de la 6ème édition américaine par Jules Bouharmont Avec la collaboration scientifique de Charles Marie Evrard.
- Pottail Lalitha**, Shubashini.K.Sripathi and Ponnusamy Jayanthi (2012) Secondary Metabolites of *Eichhornia crassipes* (Waterhyacinth): A Review (1949 to 2011). *Natural Product Communications* Vol. 7 (9), 1249-1256.
- Qian**, J.H. Zayed, A. Zhu, M.L. Yu M. et Terry, N. J. *Environ. Qual.* 28, No. 5 (199) 1448.
- Rai**, U. N and Chandra, P. Accumulation of copper, lead, manganese and Iron by field population of *Hydrodictyon reticulatum* Lagerheino. *The Science of the Total Environment* 116 (1992): 203-211.
- Rezania** S, Ponraj M, Talaiekhosani A, Mohamad SE, Din M.F.M, Taib SM, Sabbagh F, Sairan FM. (2015). Perspectives of phytoremediation using water hyacinth for removal of heavy metals, organic and inorganic pollutants in wastewater. *J Environ Manage* 163: 125-133
- Richardson** A. E., Barea J.-M., McNeill A.M., Prigent-Combaret C., (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil* 321, 305-339.
- Rosenzweig**, A.C. (2002). Metallochaperones: Bind and Deliver. *Chem. Biol.* 9, 673–677. [CrossRef]
- Seregin** I.V, Ivanov V.B (2001). Physiological aspects of cadmium and lead toxic effects on higher plants. *Russ J Plant Physiol* 48: 523–544.
- Shah** Mumtaz, Hashim Nisar Hashmi, Arshad Ali et Abdul Razzaq Ghumman. (2014). Performance assessment of aquatic macrophytes for treatment of municipal wastewater. *Journal of Environmental Health Science and Engineering* 12:106. <http://www.ijehse.com/content/12/1/106>
- 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*. Pp.1–6.

- Swain G.**, Adhikari S., et Mohanty P. (2014). Phytoremediation of Copper and Cadmium from water using water hyacinth, *Eichhornia Crassipes*. *International Journal of Agricultural Science and Technology*. 2 (1), [www.seipub.org/ijast](http://www.seipub.org/ijast) doi: 10.14355/ijast.2014.0301.01
- Thamaraiselvi P**, Lalitha and 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.
- Valipour A.**, Raman V. K. et Young-Ho Ahn. (2015). Effectiveness of Domestic Wastewater Treatment Using a Bio-Hedge Water Hyacinth Wetland System. *Water* 2015, 7, 329-347; doi:10.3390/w7010329
- Wang, W.C.** and Lewis, M.A. Metal accumulation by aquatic macrophytes. In: *Plants for Environment Studies* (Eds. Wang, W.C., Gorsuch, J.W. and Hughes, J.S.) pp. 367-416, 1997. Lewis Publishers, New York.
- Wu, M.**; Jiang, X.; Lv, Y.; Zhou, J.; Yuan, L.; Jia, Y.; Wang, Y. Long-Term Effect of Cu (II) On the Phosphorous Removal Performance in Enhanced Biological Phosphorous Removal Systems. *Chem. Eng. J.* 2015, 281, 164–173. [CrossRef]
- Xiaomei, L.**, Maleeya, K., Prayad, P. and Kunaporn, H. Removal of cadmium and zinc by water hyacinth, *Eichhornia crassipes*. *Science Asia* 30(2004): 93-103.
- Yobouet, Y. A.**, K. Adouby, and P. Drogui. 2016. Experimental Methodology to Assess Retention of Heavy Metals Using Soils from Municipal Waste Landfills. *Water, Air & Soil Pollution*, (2016) 227:37.
- Zayed A**, Gowthaman S, Terry N (1998). Phytoremediation of trace elements by wetland plants: I. Duckweed. *J Environ Qual* 27: 715–721.
- Zhang Z.**, Rengel Z., et Meney K., (2010). Cadmium Accumulation and Translocation in Four Emergent Wetland Species. *Water Air Soil Pollut.* DOI 10.1007/s11270-010-0339-7
- Zhu, L.Y.**, Pilon-smith E.A.H., Tarun A.S., Weber S.U., Jouanin L., et Terry N. (1999). Cadmium tolerance and accumulation in Indian Mustard is enhanced by overexpressing  $\gamma$ -Glutamylcysteine synthetase. *Plant Physiol.*, 121: 1169-1182.
- Zorrig W.** (2011). Recherche et caractérisation de déterminants contrôlant l'accumulation de cadmium chez la laitue "*Lactuca sativa*". Thèse de Doctorat. Université Tunis El Manar et Montpellier SupAgro. 276p.

**CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

**CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES**

L'étude avait pour but de mettre en évidence, les différentes interactions qui ont lieu au cours de la phytoépuration utilisant *Eichhornia crassipes* (jacinthe d'eau) entre la plante et les polluants métalliques et organiques d'une part, et entre la plante et les microorganismes d'autre part.

La première étape a consisté à l'optimisation de certains paramètres physico-chimiques qui influencent la phytoépuration utilisant *Eichhornia crassipes* à partir de la méthodologie des plans d'expériences. Cette étude a montré que le temps de séjour, la Demande Chimique en Oxygène (DCO) initiale et leur interaction ont une influence certaine sur le taux d'abattement de la DCO, de l'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) et de l'orthophosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). L'optimisation multi-réponses a permis de constater que pour un taux d'abattement maximal de 62,12 % en DCO, de 86,25 % en  $\text{NH}_4^+$  et de 99,35 % en  $\text{PO}_4^{3-}$ , il faut un temps de séjour de 15 jours, une densité de plante de 60 Pieds/m<sup>2</sup> et une charge initiale organique en DCO de 192 mgO<sub>2</sub>/L avec une désirabilité de 0,51. Pour ce qui est de l'optimisation binaire des réponses, il ressort que pour un taux d'abattement maximal de 76,42 % en DCO et 93,12 % en  $\text{NH}_4^+$  avec une désirabilité de 0,86, il faut un temps de séjour de 15 jours, une densité de plante de 60 Pieds/m<sup>2</sup> et une charge initiale organique en DCO de 944 mgO<sub>2</sub>/L. En outre, pour un taux d'abattement de 75,13 % en DCO et 80,63 % en  $\text{PO}_4^{3-}$ , il faut un temps de séjour de 5 jours, une densité de plante de 60 Pieds/m<sup>2</sup> et une DCO initiale de 192 mgO<sub>2</sub>/L pour une désirabilité de 0,76. De même, pour un taux d'abattement maximal de 86,25 % en  $\text{NH}_4^+$  et 99,35 % en  $\text{PO}_4^{3-}$ , il faut un temps de séjour de 15 jours, une densité de plante de 60 Pieds/m<sup>2</sup> et une charge organique initiale en DCO de 192 mgO<sub>2</sub>/L avec une désirabilité de 0,93.

Ainsi en tenant compte des différentes valeurs de la désirabilité et de l'ordre d'élimination des paramètres, il faudra dans le domaine d'étude utilisé, envisager la mise en série du procédé avec comme caractéristiques du premier bassin : un temps de séjour de 15 jours, une densité de plante de 60 Pieds/m<sup>2</sup> et une charge organique initiale en DCO de 944 mgO<sub>2</sub>/L, et pour le second bassin, un temps de séjour de 15 jours, une densité de plante de 60 Pieds /m<sup>2</sup>.

La deuxième partie qui a été consacrée à l'étude de l'absorption métallique par *Eichhornia crassipes* en présence de la matière organique, a permis de montrer que *Eichhornia crassipes* est un hyperaccumulateur de cuivre et un accumulateur modéré de cadmium en solution monométallique. En solution bimétallique de ces deux métaux, *Eichhornia crassipes* accumule plus le cadmium. En solution mono et bimétallique à 2 mg/L, au bout de 20 jours de traitement, la concentration résiduelle du cuivre et cadmium respecte la norme OMS de rejet de ces

polluants. Au niveau des polluants organiques, leurs différentes concentrations résiduelles respectent la norme FAO, Ivoirienne et Béninoise de rejet principalement pour le paramètre DCO. Trois niveaux de contribution par *Eichhornia crassipes* se dégagent : la contribution rapide suivie du maximum de contribution et de la phase de déclin. Le maximum de contribution serait aux 9<sup>ème</sup> et 12<sup>ème</sup> jours quelle que soit la nature du métal et la concentration initiale. La contribution du cuivre en solution monométallique est plus élevée que celle observée en solution bimétallique. Par contre au niveau du cadmium, la contribution en solution bimétallique est plus élevée que celle en solution monométallique de cadmium. La connaissance de la concentration initiale permet de prédire au mieux l'effet de la jacinthe sur le traitement des polluants métalliques avec des modèles multi-paramètres qui indiquent que la jacinthe absorbe les polluants métalliques au cours du temps avec une concentration journalière accumulée de 0,26 et 0,28 respectivement pour le cuivre et le cadmium. Ces modèles montrent que plus la concentration initiale métallique augmente moins la plante contribue.

La troisième partie de l'étude qui a été consacrée à l'identification de l'influence des polluants organiques sur les métabolites secondaires de *Eichhornia crassipes*, a révélé à travers le criblage phytochimique, la présence de nombreux métabolites dont les teneurs varient d'un pays à un autre. La concentration d'exposition de la plante, les différentes parties, la durée du traitement et leur interaction (sauf l'interaction entre les différentes parties et la durée du traitement) influencent significativement la teneur en composés phénoliques totaux de la jacinthe d'eau. Pour les flavonoïdes totaux, à part l'interaction entre le type de traitement et le temps de séjour, toutes les autres interactions ont des effets significatifs sur ces derniers. Alors qu'au niveau des tanins condensés, la durée du traitement n'influence pas la teneur en tanins condensé. Les composés phénoliques totaux seraient mis à profit par *Eichhornia crassipes* pour faire face à l'agression que constituent les polluants organiques.

### **Perspectives de l'étude**

En guise de perspectives à l'issue de ce travail, il serait intéressant :

- ✓ d'approfondir l'étude sur l'utilisation des plans d'expériences par l'utilisation du plan du second degré en utilisant les facteurs qui contribuent plus à la phytoépuration afin d'avoir un domaine beaucoup plus large d'optimisation.
- ✓ de modéliser les phénomènes qui ont lieu dans les bassins à macrophytes flottants avec l'étude de la cinétique et de la stœchiométrie de *Eichhornia crassipes* (jacinthe d'eau).
- ✓ de réaliser l'étude comparative entre le lagunage à macrophytes flottants et celui à macrophytes fixés dans l'élimination des polluants métallique.

- ✓ d'étudier l'enlèvement des métaux qui prend en compte les phénomènes d'adsorption et d'absorption par la jacinthe d'eau d'une part et par les microorganismes d'autre part.

## PRODUCTION SCIENTIFIQUE

### Publications dans une revue internationale avec comité de lecture

Sènanémi E. R. Mahunon, Akuemaho V. O. Akowanou, Martin P. Aina, Benjamin K. Yao, Dominique K. C. Sohounhloué. (2015). Elimination of Carbon, Nitrogen and Phosphorus in Domestic Wastewater through a Series of Anaerobic and Aerobic Reactors for a Developing Country like Benin. *American Journal of Analytical Chemistry*, DOI: <http://dx.doi.org/10.4236/ajac.2015.67056>

Sènanémi Edwige Reine MAHUNON, Martin Pépin AINA, Edmond Konan KOUASSI, Cokou Pascal AGBANGNAN-DOSSA, Benjamin Kouassi YAO, Kopoin ADOUBY. (2017). Study of the variation in the chemical composition of *Eichhornia crassipes* exposed to external aggressions. *International Journal of Green and Herbal Chemistry*, DOI: 10.24214/IJGHC/HC/6/3/748.

Sènanémi Edwige Reine MAHUNON, Martin Pépin AINA, Akuemaho Virgile Onésime AKOWANOU, Edmond Konan KOUASSI, Benjamin Kouassi YAO, Kopoin ADOUBY, Patrick DROGUI. (2018). Optimization process of organic matter removal from wastewater by using *Eichhornia crassipes*. *Environmental Science and Pollution Research*, <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2771-y>

### Communications avec actes dans un congrès international ou national

Sènanémi Edwige Reine MAHUNON, Onésime Virgile Akouémaho AKOWANOU, Martin Pépin AINA, Edmond Konan KOUASSI, Benjamin Kouassi YAO, Kopoin ADOUBY, Absorption de *Eichhornia crassipes* dans un milieu contenant des métaux (cuivre et cadmium) et de la matière organique, 17<sup>èmes</sup> Journées Scientifiques Annuelles de la Société Ouest Africaine de Chimie S.O.A.CHIM, 02 – 05 Août 2016, Cotonou – Bénin.

S. Edwige Reine MAHUNON, Pépin Martin AINA, Edmond Konan KOUASSI, Benjamin Kouassi YAO, Kopoin ADOUBY, Utilisation des plans d'expérience pour l'optimisation de la phytoépuration à partir de *Eichhornia crassipes*, Journées Scientifiques Internationales de Lomé, (JSIL 2016) XVII<sup>e</sup> édition, 03 – 08 Octobre 2016, Lomé – Togo.

### Communication par affiche dans un congrès international

Sènanémi Edwige Reine MAHUNON, Edmond Konan KOUASSI, Martin Pépin AINA, Benjamin Kouassi YAO, Kopoin ADOUBY, Elimination de la matière organique par la phytoépuration utilisant *Eichhornia crassipes* : modélisation et optimisation à partir d'un plan factoriel complet, 2<sup>ème</sup> Doctoriales thématiques de l'EDP, 10 – 13 Mai 2016, INP-HB Yamoussoukro – Côte-d'Ivoire.

Sènanémi Edwige Reine MAHUNON, Martin Pépin AINA, Edmond Konan KOUASSI, Cokou Pascal AGBANGNAN-DOSSA, Benjamin Kouassi YAO, Kopoin ADOUBY, Etude des modifications subies par les métabolites secondaires de *E. crassipes* utilisés dans le traitement des eaux usées, 3<sup>ème</sup> édition des Doctoriales conjointes INPHB 2017 Côte-d'Ivoire, Bénin, Togo, 29 – 02 Juin 2017, INP-HB Yamoussoukro – Côte-d'Ivoire.

**Tableau I :** Evolution de l'élimination de la demande chimique en oxygène en présence du cuivre

		Témoin (Cu2)	Cu (2)	Témoin (Cu5)	Cu (5)	Témoin (Cu10)	Cu (10)	Témoin (Cu15)	Cu (15)
%DCO	3 jours	40,14	45,00	35,15	47,62	35,15	50,50	35,15	42,63
	6 jours	45,00	72,96	39,50	74,97	45,00	53,25	47,30	53,95
	9 jours	55,10	79,37	61,50	75,25	45,13	62,87	61,50	71,12
	12 jours	58,75	85,00	81,67	84,29	50,00	80,00	68,57	72,50
	15 jours	77,54	90,00	75,00	85,00	50,00	80,36	72,50	83,75
	20 jours	81,67	90,83	70,00	83,25	65,95	82,50	60,11	81,25

**Tableau II :** Evolution de l'élimination de la demande chimique en oxygène en présence du cadmium

		Témoin (Cd2)	Cd (2)	Témoin (Cd5)	Cd (5)	Témoin (Cd10)	Cd (10)	Témoin (Cd15)	Cd(15)
%DCO	3 jours	48,00	54,33	48,00	65,13	41,88	50,59	52,40	62,22
	6 jours	57,89	73,71	61,62	73,23	60,56	62,43	59,31	64,30
	9 jours	61,62	82,41	70,26	80,34	67,69	74,72	67,69	78,46
	12 jours	64,30	84,47	71,05	80,70	68,02	78,95	75,63	81,73
	15 jours	66,92	88,97	72,43	84,01	72,43	79,00	78,46	83,84
	20 jours	68,42	89,47	73,68	86,84	75,88	86,22	84,56	94,85

**Tableau III :** Evolution de l'élimination de la demande chimique en oxygène en présence du cuivre et du cadmium

		Témoin (Cu(2)+ Cd(2))	Cu(2)+ Cd(2)	Témoin (Cu(5)+ Cd(5))	Cu(5)+ Cd(5)	Témoin (Cu(10)+ Cd(10))	Cu(10)+ Cd(10)	Témoin (Cu(15)+ Cd(15))	Cu(15)+ Cd(15)
%DCO	3 jours	43,68	48,81	23,21	53,93	33,45	41,13	23,21	36,01
	6 jours	48,80	60,46	48,81	59,05	48,81	62,77	38,57	53,93
	9 jours	56,48	69,28	53,46	60,44	58,11	66,72	48,81	55,79
	12 jours	69,28	79,52	58,12	72,08	59,05	74,40	51,37	64,16
	15 jours	72,08	81,38	69,28	82,08	67,42	76,96	62,77	67,43
	20 jours	85,71	88,09	80,95	88,09	76,19	89,29	71,43	79,76

**Tableau IV** : Evolution de l'élimination de l'ammonium en présence du cuivre

		Témoïn (Cu2)	Cu(2)	Témoïn (Cu5)	Cu(5)	Témoïn (Cu10)	Cu(10)	Témoïn (Cu15)	Cu(15)
%NH4+	3 jours	11,31	-7,56	4,28	-6,57	4,28	-1,76	15,63	-6,94
	6 jours	13,90	39,07	26,61	35,61	11,07	37,34	17,48	38,57
	9 jours	33,39	62,01	38,08	45,73	19,58	45,23	31,07	46,71
	12 jours	95,31	98,11	79,52	93,71	44,37	46,96	41,78	59,79
	15 jours	93,86	98,48	96,98	97,95	89,34	90,17	78,54	81,52
	20 jours	97,83	98,74	96,11	98,06	92,90	97,29	87,32	96,52

**Tableau V** : Evolution de l'élimination de l'ammonium en présence du cadmium

		Témoïn (Cd2)	Cd(2)	Témoïn (Cd5)	Cd(5)	Témoïn (Cd10)	Cd(10)	Témoïn (Cd15)	Cd(15)
%NH4+	3 jours	9,79	40,60	24,64	27,47	10,09	41,41	32,12	37,97
	6 jours	34,94	45,05	43,33	45,65	54,34	60,20	49,79	59,79
	9 jours	63,33	78,58	55,15	70,70	68,79	71,31	59,09	65,65
	12 jours	69,90	93,94	82,42	94,55	81,21	81,41	64,85	73,53
	15 jours	95,81	98,55	97,11	98,07	94,42	96,81	94,29	96,97
	20 jours	97,48	98,23	97,88	98,25	97,70	97,70	96,61	98,00

**Tableau VI** : Evolution de l'élimination de l'ammonium en présence du cuivre et du cadmium

		Témoïn (Cu(2)+ Cd(2))	Cu(2)+ Cd(2)	Témoïn (Cu(5)+ Cd(5))	Cu(5)+ Cd(5)	Témoïn (Cu(10)+ Cd(10))	Cu(10)+ Cd(10)	Témoïn (Cu(15)+ Cd(15))	Cu(15)+ Cd(15)
%NH4+	3 jours	27,10	31,54	25,87	27,97	8,72	33,15	-5,83	6,75
	6 jours	31,91	42,52	27,35	41,29	31,42	44,25	11,68	31,17
	9 jours	46,71	47,45	30,68	53,62	39,19	44,99	38,70	47,21
	12 jours	66,70	93,09	64,48	95,16	67,44	85,20	44,86	54,36
	15 jours	98,42	98,72	95,56	97,34	90,38	96,25	79,52	93,34
	20 jours	98,72	99,16	97,72	98,57	97,29	99,58	95,51	96,77

**Tableau VII** : Plan expérimentale et les réponses

Numéro des essais	Variables réelles			Réponses (%)		
	U <sub>1</sub> (Jours)	U <sub>2</sub> (Pieds/m <sup>2</sup> )	U <sub>3</sub> (mgO <sub>2</sub> /L)	Y <sub>1</sub> (DCO)	Y <sub>2</sub> (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	Y <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> )
1	5	30	192	79,90	22,53	45,92
2	15	30	192	58,59	92,00	74,33
3	5	60	192	75,13	24,07	80,63
4	15	60	192	*62,12	86,25	99,35

5	5	30	944	79,55	40,71	14,86
6	15	30	944	69,95	95,81	0,54
7	5	60	944	81,71	40,71	13,96
8	15	60	944	76,42	93,12	10,09

**Tableau VIII:** Modèles linéaires de prédiction des paramètres cuivre et cadmium

		Méthode	AIC	Adj.R <sup>2</sup>
Cu	Modèle 3	gls ()SéjrNum	300,278	0,209
	Modèle 4	gls ()SéjrNum+Met	282,366	0,442
	Modèle 5	gls ()SéjrNum+ConNum	286,995	0,441
	Modèle 6	lme ()SéjrNum+ConNum	288,995	0,441
Cd	Modèle 9	gls ()SéjrNum	291,958	0,273
	Modèle 10	gls ()SéjrNum+Met	280,154	0,426
	Modèle 11	gls ()SéjrNum+ConNum		
	Modèle 12	lme ()SéjrNum+ConNum	288,844	0,323

**PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES**