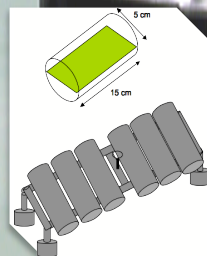
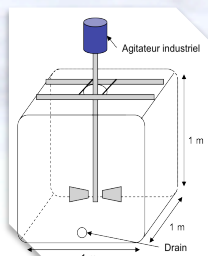
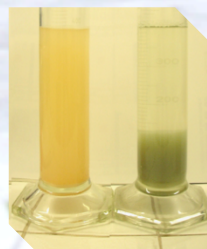




DÉVELOPPEMENT ET ÉVALUATION ENVIRONNEMENTALE D'UN PROCÉDÉ INNOVANT DE DÉCONTAMINATION CHIMIQUE DES EAUX PAPETIÈRES



FRANÇOIS RENAULT
THÈSE



THÈSE

Présentée à

L'UFR DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DE L'UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTÉ

Pour obtenir le grade de :

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTÉ
Spécialité : Sciences de la Vie et de l'Environnement
École Doctorale Homme – Environnement – Santé

DÉVELOPPEMENT ET ÉVALUATION ENVIRONNEMENTALE D'UN PROCÉDÉ INNOVANT DE DÉCONTAMINATION CHIMIQUE DES EAUX PAPETIÈRES

par

François RENAULT

Chrono-Environnement ; UMR 6249 CNRS/UFC

Soutenue le 17/12/2010 devant la commission d'Examen :

Directeurs de Thèse	G. Crini P.-M. Badot	HDR, Université de Franche-Comté Professeur, Université de Franche-Comté
Rapporteurs	M. Bacquet J.-C. Amiard	Professeur, Université Lille 1 Directeur de Recherche, CNRS, Nantes
Examineurs	E. Vismara F. Degiorgi	Professeur, <i>Politecnico di Milano</i> , CNR, Italie Docteur, Université de Franche-Comté
Invités	E. Gravier S. Gavaille	Directeur adjoint, Papeterie du Doubs Chargée d'affaire, Agence de l'eau RMC

A un enfant

“Omnia sunt venena, nihil est sine veneno, sola dosis facit venenum”

- Tout est poison, rien n'est poison, seule la dose fait le poison –

(Paracelse, 1493-1541)

Remerciements

Que mes plus chaleureux remerciements soient ici adressés ;

Au Dr. Grégorio Crini, pour m'avoir accepté en master, m'avoir aidé à rentrer en doctorat, pour le partage de son savoir et de son expérience, pour son dynamisme, son amour de l'innovation et nos nombreux échanges, merci ;

Au Pr. Pierre-Marie Badot, pour m'avoir accepté en master, pour m'avoir aidé à rentrer en doctorat, pour la transmission de son savoir, le partage de son expérience et son amour de la science, merci ;

Aux rapporteurs du jury, je suis très touché de l'honneur que vous me faites en ayant accepté d'évaluer ce travail de recherche, vos conseils m'aideront à progresser, merci ;

Aux membres du jury, pour m'avoir fait l'honneur de juger ce travail de recherche, merci ;

Au Dr. François Degiorgi, pour la relecture de ce manuscrit et ses conseils en hydrobiologie, merci ;

A la papeterie du Doubs, à l'ensemble de son personnel, en particulier Eric Gravier, Ludovic Kali, Gilbert Arbey et Louis-Fabien Lucas, pour leur appui technique, leur esprit d'entreprise, leur démarche environnementale et la liberté que vous m'avez laissée, vous êtes le deuxième ingrédient de cette thèse, merci ;

A l'ensemble des financeurs de ce travail de recherche, Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, OSEO Anvar, INRA transfert et Agence de l'Eau RMC, l'argent est le nerf de la guerre dans la recherche et vous avez fait en sorte que nous n'en manquions pas, merci ;

Aux stagiaires qui ont participé à ce programme de recherche, dans les bons comme dans les mauvais moments, j'espère vous avoir fait partager ma passion et mon expérience, puissiez vous faire le métier de votre vocation, dans l'ordre chronologique, Jérémie Charles, Alice Labourier, Julien Cornu et François Mann, merci ;

Aux doctorants de l'UMR Chrono-Environnement, notamment, par ordre alphabétique, Benjamin Pauget, Bertrand Sancey, Caroline Meyer, Clémentine Fritsch, Jérémie Charles et Marc Briot, une thèse est une aventure et n'a pas de sens sans compagnons ; pour m'avoir aidé à traverser les mauvais comme les bons moments, pour nos discussions, parfois café du commerce, sur nos recherches, et nos petites pauses, merci ;

A l'ensemble du personnel de l'UMR Chrono-Environnement, notamment Dr. Nadia Crini, Dominique Rieffel et Dr. Giuseppe Trunfio pour votre appui technique, vos compétences, votre bonne humeur et votre patience, merci ;

A mes plus proches amis, par ordre alphabétique, Angélique, Claire, Christophe et Virginie pour l'amour que vous me portez, pour votre soutien indéfectible depuis tant d'années, dans les mauvais comme dans les bons moments, merci ;

A ma famille, les morts et les vivants, j'espère que cette thèse sera un remerciement suffisant pour votre soutien et leur amour, merci ;

Aux camarades des Francas du Territoire de Belfort et de Franche-Comté, pour la confiance que vous m'avez accordé dans les instances, pour l'expérience locale, nationale et internationale que vous m'avez apporté, merci ;

Aux musiques qui m'ont accompagné dans la rédaction du manuscrit, dans les moments de doute et dans les moments de joie, tout particulièrement les chansons *La Station* de Jeanne Cherhal et le *Festin de Juliette* de Juliette Noureddine, merci ;

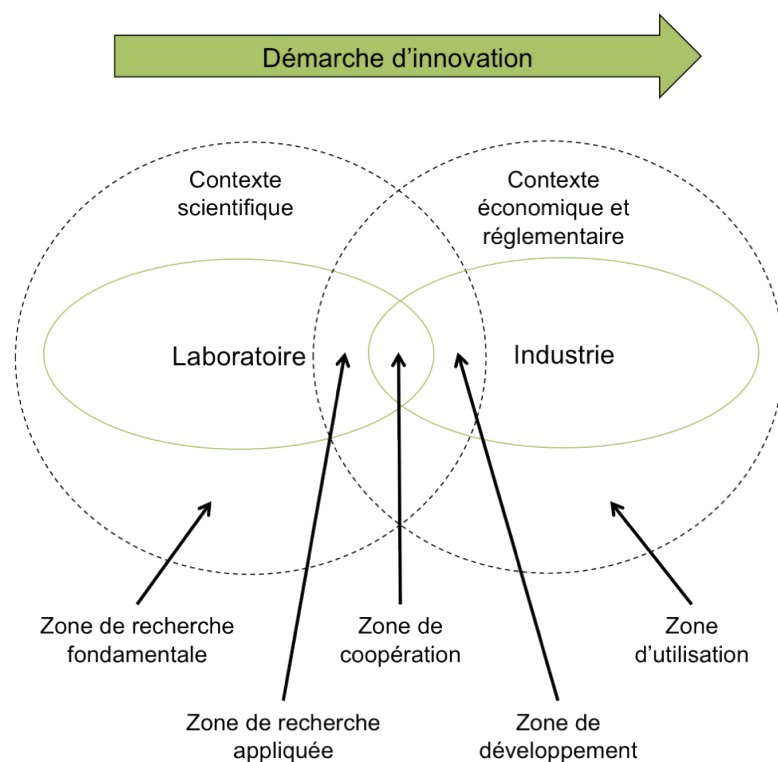
A tout ceux qui ne sont pas cités, mes pensées vous sont adressées, merci.

Enfin, un remerciement spécial à Mme la députée de la première circonscription du Doubs François Branget et à son assistante parlementaire Marie-Hélène Tournier, vous m'avez soutenu dans un moment difficile et ce dans la plus belle tradition républicaine, merci.

Avant propos

Ce travail s'inscrit dans la recherche finalisée, c'est-à-dire une recherche débouchant sur une innovation utilisable rapidement. En ce sens, le partenariat avec un industriel était une approche pertinente. Les relations avec l'industriel ont été conduites dans une démarche d'intérêt général. Ainsi, nous avons profité d'un terrain d'étude et de l'ensemble de son savoir-faire. L'industriel, quand à lui, a bénéficié d'une partie de nos résultats et des avancements issus de ce travail de recherche.

D'après cette expérience et les réflexions recueillies auprès de la communauté des chercheurs et de la communauté des industriels, un schéma de progression d'une démarche d'innovation a été réalisé (ci-dessous). Ce travail de recherche se positionne dans ce que nous avons appelé la zone de coopération. Cette zone est un lieu d'interactions importantes entre les deux mondes et doit permettre un passage de relais du laboratoire vers l'industrie.



Publications, communications orales et affichées

Ce travail de thèse a fait l'objet de plusieurs articles et de communications dans des congrès nationaux, européens et internationaux.

Articles



2009 "Chitosan flocculation of cardboard-mill secondary biological wastewater"

Renault F., Charles J., Sancey B., Badot P.-M., Crini G
Chemical Engineering Journal, 155, 775-783 (IF=2,8)

2009 "Chitosan for flocculation/coagulation processes - An eco-friendly approach"

Renault F., Sancey B., Badot P.-M., Crini G
European Polymer Journal, 45, 1337-1348 (IF=2,3)

Communications orales



2010 "Linking locomotor activity to bioaccumulation of aluminum in a freshwater amphipod (*Gammarus pulex*): *in situ* case study of a paper mill sewage"

Renault F., Crini G., Charles J., Sancey B., Degiorgi F., Badot P.-M.
Journées Internationales de Limnologie, Thonon-les-Bains, France
5-8 octobre



2010 "Réponse sub-léthale *in situ* de *Gammarus pulex* (Amphipoda, Crustacea) entre l'amont et l'aval du rejet d'une papeterie"

Renault F., Degiorgi F., Crini G., Badot P.-M.
colloque de la SEFA, Versailles, France, 31 mars et 1er avril



2009 "Toxicité de l'aluminium vis à vis de *Gammarus pulex* (Amphipoda, Crustacea) - Essai sur solutions préparées en laboratoire et sur effluents de station d'épuration"

Renault F., Cornu J., Badot P.-M., Crini G
15^{ème} Forum des Jeunes Chercheurs, Dijon, France, 25-26 Juin



2009 "Chitosan for flocculation processes - An eco-friendly approach"

Renault F., Badot P.-M., Crini G
9th International conference of the European Chitin Society, Venice, Italy, May 23-27. [avec actes]

Communications affichées



2010 "Élimination de la turbidité des eaux de rivière par du chitosane : une manière éco-compatible de produire de l'eau potable"

Renault F., Mann F., Badot P.-M., Crini G.

16e Forum des Jeunes Chercheurs, Besançon, France, 7-8 Juin

SETAC Europe



2010 "*In situ* sublethal response of *Gammarus pulex* (Amphipoda, Crustacea) upstream and downstream of the discharge of cardboard mill effluents"

Renault F., Degiorgi F., Crini G., Badot P.-M.

20th SETAC, Sevilla, Spain, may 23-27



2009 "Use of chitosan as a bioflocculant to treat biological wastewater from pulp and paper plant"

Renault F., Sancey B., Badot P.-M., Crini G

9th International conference of the European Chitin Society, Venice, Italy, May 23-27. [avec actes]

Liste des titres

Remerciements	ii
Avant propos	iii
Publications, communications orales et affichées	iv
Liste des titres	vi
Liste des figures	x
Liste des tableaux	xv
Introduction générale	1
Première partie : État de l'art	6
Chapitre 1 : Filière papetière	7
1. Les papeteries.....	8
1.1. Production du papier.....	8
1.1.1. Production de la pâte à papier.....	8
1.1.2. Fabrication de la feuille de papier.....	8
1.2. Principaux polluants.....	9
1.2.1. Circuit général des eaux.....	10
1.2.2. Caractéristiques des effluents papetiers.....	11
1.2.3. Grands types de pollution.....	13
1.3. La papeterie du Doubs.....	13
2. Méthodes de traitement utilisées par la filière papetière.....	14
2.1. Choix du couplage physicochimique et biologique.....	15
2.1.1. Prétraitement.....	16
2.1.2. Traitement primaire physicochimique.....	16
2.1.3. Traitement secondaire biologique.....	16
2.2. L'exemple de la papeterie du Doubs : procédés de décontamination utilisés.....	17
2.2.1. Décantation primaire.....	19
2.2.2. Lagunage aéré.....	19
2.2.3. Décanteurs secondaires.....	20
2.2.4. Rhizosphère.....	21
2.3. Limites du procédé.....	23
2.3.1. Production et traitement des boues.....	23
2.3.2. La question de la DCO dite dure.....	23
2.3.3. Impact de la température.....	23
2.3.4. Suivi des installations et de leur fonctionnement.....	24
3. Autres méthodes de traitement envisageables.....	24
3.1. Adsorption.....	24
3.2. Techniques membranaires.....	25
3.3. Autres méthodes.....	25
Chapitre 2 : Procédés de traitement des eaux par floculation	28
1 Principe et applications de la floculation.....	29
1.1. Généralités.....	29
1.2. Coagulants et floculants.....	30
1.3. Mécanismes de coagulation/floculation.....	32
2. Biofloculation.....	33
3. Le chitosane.....	33
3.1. Généralités.....	34
3.1.1. Préparation de la chitine et du chitosane.....	34
3.1.2. Degré de désacétylation et masse moléculaire.....	36
3.1.3. Propriétés.....	37
3.1.4. Applications.....	41
3.2. Le chitosane dans le traitement des eaux.....	43

3.2.1. Généralités	43
3.2.2. Pourquoi utiliser du chitosane dans les procédés de floculation ?	45
3.2.3. Mécanisme de coagulation/floculation	46
3.2.4. Exemples d'utilisations.....	47
Chapitre 3 : Évaluation environnementale de l'impact des effluents papetiers : état de l'art.....	54
1. Impact et toxicité des effluents papetiers.....	55
1.1. Production de carton à partir de papiers usagés.....	55
1.2.1. Matière organique	55
1.2.2. Colorants et pigments	55
1.2.3. Paramètres et substances à suivre et à contrôler par la papeterie du Doubs	56
1.2. Le cas de l'aluminium	56
1.2.1 Effets sur l'Homme	58
1.2.2. Effet sur les organismes aquatiques	58
1.3. Écotoxicité des boues papetières	60
2. Méthodes d'évaluation de la qualité des cours d'eau	61
2.1. Niveaux d'organisation biologique concernés.....	61
2.1.1. Réponses à l'échelle moléculaire.....	61
2.1.2. Réponses à l'échelle de l'individu	62
2.1.3. Réponses à l'échelle de la population.....	64
2.1.4. Réponses à l'échelle de la communauté.....	65
2.2. Importance du milieu physicochimique	65
2.2.1. Sédiments	65
2.2.2. Milieu hyporhéique	66
2.2.3. Masse d'eau.....	66
2.3. Tests écotoxicologiques.....	66
2.3.1. Essais réalisés en conditions contrôlées.....	66
2.3.2. Essais réalisés en conditions semi-contrôlées	67
2.3.3. Essais réalisés en conditions naturelles.....	68
3. <i>Gammarus pulex</i> (Amphipoda, Crustacea).....	68
3.1. Présentation et aire de répartition	68
3.2. Comportement de reproduction	69
3.3. Cycle de vie.....	70
3.4. Dynamique des populations	71
3.5. Exigences vis-à-vis des paramètres physicochimiques de l'eau	72
3.6. Nutrition	72
3.7. Micro-distribution.....	73
3.8. Mouvement migratoire	74
Deuxième Partie : Étude expérimentale de la biofloculation dans le but de traiter des eaux « biologiques » papetières	77
Chapitre 1 : Matériels et méthodes	78
1. Paramètres analytiques de l'eau	78
1.1. Demande chimique en oxygène.....	78
1.1.1. Principe, définition et valeurs usuelles	78
1.1.2. Protocole expérimental.....	79
1.2. Demande biochimique en oxygène	80
1.2.1. Principes définition et valeurs usuelles	80
1.2.2. Protocole expérimental.....	81
1.3. MES et turbidité.....	82
1.3.1. Principe	82
1.3.2. Protocole expérimental.....	82
1.4. Conductivité.....	83
1.5. pH	84
1.6. Éléments en traces métalliques.....	84
1.6.1. Principes et généralités	84
1.6.2. Protocole expérimental	86
1.7. Oxygène dissous.....	87
1.8. Température.....	87

1.9. Indice de Mohlman.....	88
2. Réactifs chimiques et préparation du chitosane	88
2.1. Réactifs.....	88
2.2. Préparation du chitosane.....	89
3. Procédure dite du jar-test.....	89
3.1. Protocole de laboratoire.....	89
3.2. Protocole semi-industriel	89
Chapitre 2 : Caractérisation physico-chimique des eaux de la papeterie du Doubs	92
1. Variations pluriannuelles des eaux traitées et rejetées dans le Doubs.....	93
2. Caractéristiques des effluents provenant de la machine à papier	95
3. Caractéristiques des effluents issus du traitement primaire physico-chimique	97
3.1. Effluents provenant du décanteur primaire	97
3.2. Efficacité de l'aide flocculant	99
4. Caractéristique des effluents issus du traitement secondaire biologique.....	100
4.1. Effluents provenant de la lagune aérée.....	100
4.2. Effluents provenant des décanteurs finaux.....	103
4.3. Rôle du PAC comme aide flocculant	105
4.4. Influence de la température sur l'aide flocculant	108
5. Caractéristique des effluents issus du traitement tertiaire biologique	109
5.1. Effluent provenant de la rhizosphère.....	110
5.2. Rôles des lits filtrants plantés de <i>Phragmites australis</i>	112
6. Variations des paramètres au cours du traitement.....	113
Chapitre 3 : Le chitosane pour épurer les eaux	116
1. Limites de la floculation par le PAC	116
1.1. Variation de la DCO et de la turbidité en fonction de la dose de PAC	116
1.2. Variation du pH en fonction de la dose de PAC	118
1.3. Variation de la concentration en aluminium en fonction de la dose de PAC.....	119
2. Effluents biologiques traités par du chitosane	119
2.1. Étude préliminaire du comportement du chitosane lors de la floculation d'effluent biologique	120
2.2. Variation de DCO et de turbidité en fonction de la dose de chitosane	122
2.2. Variation du pH en fonction de la dose de CHITO	124
2.3. Variation de la concentration en aluminium en fonction de la dose de CHITO.....	125
3. Comparaison entre la biofloculation par le CHITO et la floculation par le PAC	125
4. Essais de biofloculation à l'échelle semi-industrielle	127
4.1. Essais en jar-test géant.....	127
5. Comparatif des essais semi-industriels	130
5.1. Comparaison des modes de traitement.....	130
5.2. Intérêt du protocole semi-industriel.....	131
Troisième Partie : Impact écotoxicologique des procédés de traitement des eaux	133
Chapitre 1 : Matériels et méthodes pour l'expérimentation en écotoxicologie.....	134
1. Tests écotoxicologiques.....	135
1.1. Principe	135
1.2. Choix de la réponse suivie	136
2. Protocole expérimental.....	136
2.1. Récolte de <i>Gammarus pulex</i>	136
2.2. Mesure du taux de locomotion	137
2.3. Expériences en laboratoire	138
2.4. Expériences <i>in situ</i>	139
2.5. Mesure de la concentration interne d'aluminium chez <i>G. pulex</i>	140
Chapitre 2 : Étude de l'impact environnemental des procédés conventionnels de décontamination	141
1. Résultats des expériences en laboratoire	141
1.1. Écotoxicité du nitrate d'aluminium	141
1.1.1. Effets sur le taux de survie.....	141

1.1.2. Effets sur le taux de locomotion	142
1.1.3. Concentration interne d'aluminium chez <i>Gammarus pulex</i>	142
1.2. Effet de l'effluent biologique non traité	144
1.2.1. Réponses de <i>G. pulex</i> à une exposition à un effluent biologique non traité.....	145
1.2.2. Concentration interne d'aluminium chez <i>G. pulex</i> après exposition à un effluent biologique non traité	146
2. Intérêt du traitement classique	148
2.1. Effet du traitement par PAC	148
2.1.1. Réponses de <i>G. pulex</i> à une exposition à un effluent de rejet.....	148
2.1.2. Effet du traitement par PAC en laboratoire.....	150
2.2. Effets de l'effluent biologique enrichi en aluminium	153
3. Effets <i>in situ</i>	155
3.1. Composition physicochimique des eaux du Doubs.....	156
3.2. Effet des rejets de la papeterie du Doubs sur du taux de survie des individus engagés.....	157
3.3. Effet des rejets de la papeterie du Doubs sur le taux de locomotion des individus engagés..	158
3.4. Concentration interne d'aluminium chez les gammares engagés	160
Chapitre 3 : Étude de l'impact environnemental du procédé innovant de décontamination	164
1. Intérêt de la biofloculation	165
1.1. Effets de l'effluent biologique traité par CHITO	165
1.1.1. Réponses de <i>G. pulex</i> à une exposition à un effluent biologique traité par CHITO	165
1.1.2. Effet du traitement de l'effluent biologique par CHITO sur la concentration interne d'aluminium chez <i>G. pulex</i>	166
1.2. Effets de l'effluent de rejet traité par CHITO	167
1.2.1. Effet du traitement du rejet par CHITO sur le taux de locomotion de <i>G. pulex</i>	167
1.2.2. Effet du traitement du rejet par CHITO sur la concentration interne d'aluminium chez <i>G.</i> <i>pulex</i>	168
2. Comparaison du procédé innovant aux procédés classiques de traitement	169
2.1. Traitement par le chitosane vs traitement par le PAC	170
2.2. Effets des traitements sur la concentration interne d'aluminium chez <i>G. pulex</i>	171
Discussion générale et perspectives.....	174
1. Discussion générale	175
1.1. Efficacité chimique.....	175
1.2. Intérêt environnemental	178
1.3. Impact environnemental.....	180
1.4. Viabilité économique potentielle.....	182
2. Perspectives	184
2.1. La biofloculation par du chitosane.....	184
2.2. Le bioindicateur <i>Gammarus pulex</i>	185
2.3. La production d'eau potable	185
Conclusion Générale	186
Bibliographie	189
Annexes	212
Glossaire.....	221

Liste des figures

Introduction

Figure 0.1 : Prélèvements, consommation et rejets d'eau par les différents secteurs usagers pour l'année 2007 en France métropolitaine (en milliard de m ³ , Gm ³). Source : Agence de l'Eau - SoeS.	3
---	---

Première partie

Figure 1.1 : Photographies de la machine à papier de la papeterie du Doubs (Novillars, 25) ; a : pompe à vide, b : rouleaux de séchage ; c : vue générale.	9
Figure 1.2 : Circuit général des eaux dans une papeterie théorique fonctionnant uniquement en circuit fermé, d'après Charles (2009).	10
Figure 1.3 : Principaux flux de matières observés lors du process de fabrication du papier, d'après Lacorte et al. (2003).	11
Figure 1.4 : Photo aérienne de situation du site industriel de la papeterie du Doubs (Novillars, 25), source : <i>geoportail.fr</i>	14
Figure 1.5 : Schéma général du traitement des effluents papetiers.	15
Figure 1.6 : Schéma synoptique de la station d'épuration de la papeterie du Doubs (TdS : temps de séjour).	18
Figure 1.7 : Photographie de la lagune aérée de la Papeterie du Doubs (Novillars, 25).	19
Figure 1.8 : Schéma de fonctionnement des deux décanteurs secondaires.	21
Figure 1.9 : Schéma de la rhizosphère utilisée à la papeterie ([1] : 15 cm de graviers fins ; [2] : 50 cm de graviers grossiers, planté de <i>Phragmites australis</i>).	22
Figure 1.10 : Photographie de la rhizosphère de la papeterie du Doubs (Novillars, 25) au début du développement (a) et en plein été (b).	22
Figure 1.11 : Double couche d'une particule colloïdale, d'après Crini et Badot (2007).	30
Figure 1.12 : Structures chimiques « théoriques » de la cellulose, de la chitine [poly(<i>N</i> -acétyl- β -D-glucosamine)], du chitosane [poly(D-glucosamine)] et du chitosane commercial (un copolymère caractérisé par son degré d'acétylation DA), d'après Crini et Badot (2009).	34
Figure 1.13 : Les différentes étapes de la synthèse de chitosane à partir de coproduits issus de l'industrie de la pêche, d'après Crini et Badot (2009).	35
Figure 1.14 : État d'ionisation du chitosane (Crini et Badot, 2009).	38
Figure 1.15 : Mécanisme général de la coagulation-floculation par le chitosane, d'après Bratby (2007).	47
Figure 1.16 : Spéciation à l'équilibre de l'aluminium dans les eaux douces (Gardner et Comber, 2003).	57
Figure 1.17 : Représentation schématique de l'ordre séquentiel des réponses à un stress polluant en relation avec le système biologique considéré, d'après van der Oost et al. (2003).	61
Figure 1.18 : Relation entre un stimulus environnemental et une réponse comportementale, d'après Scott et Sloman (2004).	64
Figure 1.19 : Schéma phylogénique de l'espèce <i>Gammarus pulex</i> , d'après Tachet et al. (2006).	68
Figure 1.20 : Illustration de <i>Gammarus pulex</i>	69

Deuxième partie

Figure 2.1 : Schéma de principe des mesures en néphélométrie.....	83
Figure 2.2 : Cônes de sédimentation d'Imhoff.....	88
Figure 2.3 : Schéma général du protocole en jar-test.....	90
Figure 2.4 : a) Schéma général du prototype de jar-test géant et b) photo des containers et de l'agitateur utilisés.....	90
Figure 2.5 : Parcours des eaux usées dans le système de traitement de la papeterie du Doubs : en vert sont représentés les différents points de prélèvements.....	92
Figure 2.6 : Variations pluriannuelles saisonnières de la DCO (a), de l'aluminium (b), du plomb (c), du zinc (d) et du nickel (e) de 2006 à 2008 dans les rejets de la papeterie.....	93
Figure 2.7 : Variation de la DCO en fonction du temps de décantation de l'effluent brut - en rouge : décantation physique et en bleu : décantation après floculation par le PAC.	100
Figure 2.8 : Corrélations entre (a) la DCO et la température, entre (b) la DCO et le taux d'oxygène dissout, entre (c) les MES et la température et entre (d) les MES et l'oxygène dissout.....	102
Figure 2.9 : Variations de la DCO en fonction du temps de décantation entre un effluent non traité (en rouge) et un effluent traité par PAC (en bleu), a : hiver, b : printemps, c : été, d : automne - en rouge : témoin et en bleu PAC.....	106
Figure 2.10 : Variations de la DCO et des MES sur une période de 14 jours lors de l'essai d'arrêt de coagulant sur la station avant les décanteur finaux.....	107
Figure 2.11 : Variations de l'abattement de MES en fonction de la température des effluents issus de la lagune aérée.....	108
Figure 2.12 : Variations de DCO (a) et de la turbidité (b) après un traitement de l'effluent biologique par PAC en fonction de la température d'expérimentation.....	109
Figure 2.13 : Variations des concentrations internes d'aluminium dans les feuilles de <i>Phragmites australis</i> planté sur les lits filtrants verticaux en fonction du mois de prélèvement.....	112
Figure 2.14 : Évolution de la DCO, de la DBO, de la conductivité, du pH, des MES et de l'aluminium au cours de l'année 2009 après chaque étape du traitement de décontamination des eaux de la papeterie du Doubs.....	114
Figure 2.15 : Variation de DCO (en haut) et de turbidité (en bas) en fonction de la dose de PAC ajoutée et après 2 h de décantation.....	117
Figure 2.16 : Variation du pH en fonction de la dose de PAC utilisée pour traiter l'effluent biologique.....	118
Figure 2.17 : Effet de l'ajout de CHITO sur la DCO de l'effluent « biologique » en hiver (a) et en été (b).....	120
Figure 2.18 : Effet du temps d'homogénéisation rapide sur la DCO de l'effluent « biologique » lors d'un traitement par CHITO en hiver (a) et en été (b).....	121
Figure 2.19 : Effet de la vitesse d'agitation secondaire sur la DCO de l'effluent « biologique » lors d'un traitement par CHITO en hiver (a) et en été (b).....	121
Figure 2.20 : Effet du pH initial sur la DCO de l'effluent « biologique » lors d'un traitement par CHITO en hiver (a) et en été (b).....	121
Figure 2.21 : Variation de DCO (en haut) et de turbidité (en bas) en fonction de la dose de CHITO ajoutée et après 2 h de décantation.....	123
Figure 2.22 : Variations de DCO (a) et de la turbidité (b) après un traitement de l'effluent biologique par CHITO en fonction de la température. L'échelle est la même qu'à la figure 2.12 pour faciliter les comparaisons.....	124
Figure 2.23 : Variations de pH en fonction de la dose de CHITO utilisée pour traiter l'effluent biologique.....	124

Figure 2.24 : Photographie avant (à gauche) et après (à droite) traitement de l'effluent biologique par le CHITO.....	127
Figure 2.25 : Concentrations en DCO après décantation de volumes croissants d'un même effluent biologique.....	128
Figure 2.26 : Comparaison des performances du chitosane en fonction du volume (en orange : essais en jar-test géant et en bleu : essais en jar-test conventionnel).	129
Figure 2.27 : Comparaison des performances de turbidité (en haut) et de DCO (en bas) du CHITO et du PAC a leur dose optimale (5 mL L ⁻¹ et 0,3 mL L ⁻¹ respectivement).....	130

Troisième partie

Figure 3.1 : Schéma synoptique de choix des réponses toxiques et écotoxiques.	135
Figure 3.2 : Bassin versant du ruisseau de la fontaine des Dames (X : 880771, Y : 2274714, Lambert II étendu).	136
Figure 3.3 : Schéma d'un piège à gammare.	137
Figure 3.4 : Photographie d'un individu dans un tube de mesure.	138
Figure 3.5 : Signification des <i>boxplots</i> utilisés.....	138
Figure 3.6 : Photos des cages à Gammares sur leur support	139
Figure 3.7 : Disposition des dispositifs de mesure en amont (bleu) et en aval (rouge) du rejet de la papeterie du Doubs (Novillars, 25). <i>Image geoportail.fr</i>	140
Figure 3.8 : <i>Boxplots</i> du taux de locomotion de <i>Gammarus pulex</i> mesuré dans chaque réplicat en fonction de la concentration en nitrate d'aluminium (a : jour 3, b : jour 6).	142
Figure 3.9 : Variations de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 6 jours d'exposition en fonction de la concentration externe de nitrate d'aluminium.	143
Figure 3.10 : Variations du facteur de bioaccumulation d'aluminium mesuré chez <i>Gammarus pulex</i> en fonction de la concentration externe de nitrate d'aluminium.....	143
Figure 3.11 : Variations du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 6 jours d'exposition à une solution de nitrate d'aluminium de concentration différente.	144
Figure 3.12 : <i>Boxplots</i> du taux de locomotion de <i>G. pulex</i> de chaque réplicat en fonction de la concentration en effluent biologique non traité prélevé en décembre (T _{lagune} = 10 °C) et en mars (T _{lagune} = 13 °C).	146
Figure 3.13 : Variations de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 6 jours d'exposition en fonction de la concentration externe d'aluminium dans l'effluent biologique non traité (a : décembre, b : mars).	147
Figure 3.14 : Variation du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 6 jours d'exposition à effluent biologique non traité (a : décembre, b : mars).	147
Figure 3.15 : <i>Boxplots</i> du taux de locomotion de chaque réplicat en fonction de la concentration en effluent de rejet (a : jour 3, b : jour 6).	149
Figure 3.16 : Variations de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 6 jours d'exposition en fonction de la concentration externe d'aluminium dans l'effluent de rejet.	149
Figure 3.17 : Variation du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 6 jours d'exposition à effluent de rejet.....	150
Figure 3.18 : <i>Boxplots</i> du taux de locomotion de <i>G. pulex</i> de chaque réplicat en fonction de la concentration en effluent biologique traité par PAC (a : jour 3, b : jour 6).	151
Figure 3.19 : Variations de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 6 jours d'exposition en fonction de la concentration externe d'aluminium dans l'effluent biologique traité par PAC.	152

Figure 3.20 : Variations du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 6 jours d'exposition à l'effluent biologique traité par PAC.....	152
Figure 3.21 : <i>Boxplots</i> du taux de locomotion de <i>G. pulex</i> de chaque réplicat en fonction de la concentration en effluent biologique non traité enrichi en aluminium (a : jour 3, b : jour 6).....	154
Figure 3.22 : Variations de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 6 jours d'exposition en fonction de la concentration externe d'aluminium dans l'effluent biologique non traité enrichi en aluminium.....	154
Figure 3.23 : Variations du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 6 jours d'exposition à effluent biologique non traité enrichi en aluminium.....	155
Figure 3.24 : Taux de survie moyen à l'amont et à l'aval du rejet de la papeterie du Doubs après 3, 6, 9, 14 et 28 jours d'exposition.....	157
Figure 3.25 : Taux de locomotion moyen à l'amont et à l'aval du rejet de la papeterie du Doubs après 3, 6, 9, 14 et 28 jours d'exposition.....	158
Figure 3.26 : <i>Boxplots</i> représentant les variations du taux de locomotions des cages de l'aval proche et de l'aval lointain.....	159
Figure 3.27 : Représentation graphique des variations du rapport des écarts types des cages aval et des cages amont.....	160
Figure 3.28 : Concentration interne d'aluminium chez <i>G. pulex</i> après 28 jours d'exposition en amont et en aval du rejet de la papeterie du Doubs.....	161
Figure 3.29 : Variations du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 28 jours d'exposition aux eaux de la rivière le Doubs.....	162
Figure 3.30 : <i>Boxplots</i> du taux de locomotion de <i>G. pulex</i> de chaque réplicat en fonction de la concentration en effluent biologique traité par CHITO (a : jour 3, b : jour 6).....	166
Figure 3.31 : Variations de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 6 jours d'exposition en fonction de la concentration externe d'aluminium dans l'effluent biologique traité par CHITO.....	166
Figure 3.32 : Variations du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 6 jours d'exposition à un effluent biologique traité par CHITO.....	167
Figure 3.33 : <i>Boxplot</i> du taux de locomotion de chaque réplicat en fonction de la concentration en effluent de rejet traité par CHITO (a : jour 3, b : jour 6).....	168
Figure 3.34 : Variations de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 6 jours d'exposition en fonction de la concentration externe d'aluminium dans un effluent de rejet traité par CHITO.....	169
Figure 3.35 : Variations du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de <i>Gammarus pulex</i> après 6 jours d'exposition à un effluent de rejet traité par CHITO.....	169
Figure 3.36 : Effets des 3 types de traitements sur le taux de locomotion de <i>G. pulex</i> en fonction de la concentration en effluent biologique traité après 3 (a) et 6 (b) jours d'exposition (○ : CHITO ○ : PAC ○ : Non traité).....	171
Figure 3.37 : Récapitulatif des valeurs de p concernant les différences de concentration interne d'aluminium chez <i>G. pulex</i> en fonction du traitement.....	172
Figure 3.38 : Variations du facteur de bioaccumulation de l'aluminium chez <i>G. pulex</i> pour les différents types de traitement appliqués sur l'effluent biologique.....	172

Discussion générale et perspectives

Figure 4.1 : Évolution du prix au litre et du prix journalier en fonction du coût des matières premières (chitosane et acide acétique)..... 183

Figure 4.2 : Courbe en U de l'évolution du coût unitaire avec l'accroissement de la quantité produite. On parle de rendement décroissant (sous-dimensionnement à moyens de production identique) dans la deuxième partie de la courbe 184

Liste des tableaux

Introduction

Tableau 0.1 : Rejet liquide de certaines entreprises franc-comtoises dans l'eau (DRIRE 2007). Les chiffres entre parenthèses sont exprimés en 10^3 Kg an^{-1}	3
--	---

Première partie

Tableau 1.1 : Caractéristiques des eaux usées issues de plusieurs process de production des pulpes et papiers, d'après Pokhrel et Viraraghavan (2004).....	12
Tableau 1.2 : Concentrations maximales et flux moyens mensuels des principaux paramètres de l'eau tels que notés dans l'arrêté préfectoral du 14 août 2006 (2006/DCLE/4B) auquel doit se conformer la papeterie du Doubs.	18
Tableau 1.3 : Mécanismes d'élimination des polluants dans un lit filtrant planté de roseaux, d'après Grison (1999).....	22
Tableau 1.4 : Caractéristiques intrinsèques du chitosane, d'après Crini et Badot (2008).....	37
Tableau 1.5 : Applications du chitosane dans différents domaines, d'après Crini et Badot (2009).	42
Tableau 1.6 : Applications du chitosane dans le domaine de l'environnement, d'après Crini et Badot (2009).....	44
Tableau 1.7 : Quelques exemples d'utilisations du chitosane dans le traitement des eaux de différentes filières industrielles.	45
Tableau 1.8 : Effet du chitosane soluble sur l'abatement de DCO et de la turbidité sur différents types d'eau.	48
Tableau 1.9 : Liste des 18 substances et de leurs limites réglementaire à suivre et à contrôler par la papeterie du Doubs	56
Tableau 1.10 : Écotoxicité aiguë de l'aluminium sur des organismes d'ordre différent, d'après Pichard et al. (2005).....	59
Tableau 1.11 : Écotoxicité chronique de l'aluminium sur des invertébrés et des poissons, d'après Pichard et al. (2005).....	60
Tableau 1.12 : Exemples de réponses comportementales étudiées en écotoxicologie aquatique.....	63

Deuxième partie

Tableau 2.1 : Protocole de mesure de la ST-DCO.	79
Tableau 2.2 : DBO caractéristiques pour différents types d'eau.....	80
Tableau 2.3 : Protocole de mesure de la DBO ₅ (température de l'échantillon au démarrage de la mesure : 15-21 °C ; température d'incubation : 20 °C).....	81
Tableau 2.4 : Protocoles de mesure des MES et de la turbidité	83
Tableau 2.5 : Limites de détection et de quantification des éléments mesurés.....	85
Tableau 2.6 : Programmes électrothermiques utilisés pour les mesures spectroscopiques en four pour les métaux Al, Pb et Ni (Zn a été mesuré en flamme).....	86
Tableau 2.7 : méthode de minéralisation (digestion) pour les effluents papetiers, <i>Phragmites australis</i> et <i>Gammarus pulex</i>	87
Tableau 2.8 : Valeurs seuil de l'indice de boue (Cemagref, FNDAE n° 33).....	88
Tableau 2.9 : Concentrations usuelles observées dans les eaux de surfaces françaises pour l'aluminium, le nickel, le plomb et le zinc (Ghestem et al., 2008).....	95
Tableau 2.10 : Caractéristiques physico-chimiques des eaux sortant de la machine à papier (la température des effluents est pratiquement constante, ~ 45 °C).	96

Tableau 2.11 : Variations mensuelles des concentrations en métaux présents dans les effluents provenant de la machine à papier (la température et le pH des effluents sont pratiquement constants, respectivement ~ 45 °C ~ 6,2).	97
Tableau 2.12 : Caractéristiques physico-chimiques des effluents provenant du décanteur primaire (la température est pratiquement constante, ~30 °C).	98
Tableau 2.13 : Variations mensuelles des concentrations en métaux présents dans les effluents provenant du décanteur primaire (la température et le pH des effluents sont pratiquement constants, respectivement ~ 30 °C ~ 6,2).	99
Tableau 2.14 : Variations mensuelles des paramètres physico-chimiques des effluents provenant de la lagune aérée.	101
Tableau 2.15 : Variations mensuelles des concentrations en métaux présents dans les effluents biologiques (effluent provenant de la lagune aérée).	103
Tableau 2.16 : Caractéristiques physicochimiques des eaux provenant des décanteurs finaux (la température ne varie pas entre la lagune et les décanteurs finaux).	104
Tableau 2.17 : Variations mensuelles des concentrations en métaux présents dans les eaux provenant des décanteurs secondaires.	105
Tableau 2.18 : Caractéristiques physicochimiques des eaux épurées (rejetées dans le milieu, la température ne varie pas entre les décanteurs finaux et le rejet dans le milieu).	110
Tableau 2.19 : Variations mensuelles des concentrations en métaux présents dans les effluents de rejets.	111
Tableau 2.20 : Concentration et flux moyens des principaux polluants présents dans les rejets exprimés en concentration et en flux.	112
Tableau 2.21 : Concentrations moyennes des métaux Al, Pb, Ni et Zn dans le surnageant après traitement de l'effluent biologique par le PAC (0,3 mL L ⁻¹) en fonction de la saison.	119
Tableau 2.22 : Concentrations moyennes des métaux Al, Pb, Ni et Zn présents dans le surnageant après traitement par le chitosane de l'effluent biologique en fonction de la saison.	125
Tableau 2.23 : Récapitulatif des performances des deux systèmes de floculation des effluents pour l'abattement de DCO et de turbidité, et pour les concentrations minimales et maximales d'aluminium, de plomb, de nickel et de zinc.	126
Tableau 2.24 : Comparaison des mesures analytiques entre un effluent biologique non traité et traité par le CHITO.	129
Tableau 2.25 : Comparaison des performances du CHITO et du PAC sur les paramètres influençant l'opérationnalité des procédés dans le process.	131

Troisième partie

Tableau 3.1 : Variations du taux moyens de survie en fonction de la concentration de nitrate d'aluminium (6 réplicats de 10 <i>Gammarus pulex</i> après 3 et 6 jours d'exposition).	142
Tableau 3.2 : Variations du taux moyen de survie en fonction de la concentration en effluent biologique non traité (6 réplicats de 10 <i>Gammarus pulex</i> après 3 et 6 jours d'exposition).	145
Tableau 3.3 : Variations du taux moyens de survie en fonction de la concentration en effluent de rejet (6 réplicats de 10 <i>Gammarus pulex</i> après 3 et 6 jours d'exposition).	148
Tableau 3.4 : Variations du taux moyens de survie en fonction de la concentration en effluent biologique traité par le PAC (6 réplicats de 10 <i>Gammarus pulex</i> après 3 et 6 jours d'exposition).	150
Tableau 3.5 : Variations du taux moyens de survie en fonction de la concentration en effluent biologique non traité et enrichi en aluminium (6 réplicats de 10 <i>Gammarus pulex</i> après 3 et 6 jours d'exposition).	153

Tableau 3.6 : Récapitulatif des différentes études ayant utilisé la famille des crustacés amphipodes dans des essais <i>in situ</i> en fonction des caractéristiques hydromorphologique des sites d'études.	156
Tableau 3.7 : Composition physicochimique des eaux du Doubs prélevées après chaque mesure d'écotoxicité (4 mesures pour chaque station) au moment de la période d'étude (septembre 2009).	156
Tableau 3.8 : Récapitulatif des valeurs de <i>p</i> obtenues en comparant les taux de survies amont et aval.	157
Tableau 3.9 : Récapitulatif des valeurs de <i>p</i> obtenue en comparant les taux de locomotion entre amont et amont, aval et aval, et, amont et aval.	159
Tableau 3.10 : Variations du taux moyens de survie en fonction de la concentration en effluent biologique traité par le CHITO (6 réplicats de 10 <i>Gammarus pulex</i> après 3 et 6 jours d'exposition).	165
Tableau 3.11 : Variations du taux moyens de survie en fonction de la concentration en effluent de rejet traité le CHITO (6 réplicats de 10 <i>Gammarus pulex</i> après 3 et 6 jours d'exposition).	167
Tableau 3.12 : Récapitulatif des performances environnementales des différents traitements.	170
Tableau 3.13 : Récapitulatif des accumulations moyennes d'aluminium chez <i>Gammarus pulex</i> en fonction du traitement.	171

Discussion générale et perspectives

Tableau 4.1 : Catégories couramment utilisés dans l'évaluation de l'impact environnemental d'un système de traitement des eaux.	180
Tableau 4.2 : Comparaison des principales caractéristiques des effluents papetiers avant et après traitement par le PAC et le chitosane.	181
Tableau 4.3 : Synthèse des catégories non mesurés par ce travail dans les autres catégories.	181
Tableau 4.4 : Estimation du coût de traitement par du chitosane soluble des effluents de la papeterie du Doubs, pour la concentration optimum et la concentration permettant d'atteindre les limites réglementaires (prix d'achat laboratoire chitosane : 17 € Kg ⁻¹ , acide acétique 4,5 € L ⁻¹).	182

Introduction générale

Une des grandes difficultés du monde moderne est de parvenir à concilier consommation et respect de l'environnement. En effet, toute activité humaine produit une pollution par ses déchets et ses co-produits. Aujourd'hui, la question environnementale n'est plus ignorée, mais l'approche « durable » des entreprises (responsabilités environnementales, sociales et sociétales) commence à peine à être source d'intérêt (Le Monde, 2010). D'ailleurs, on assiste à la prise de conscience du corps social et des autorités publiques qui cherchent à rétablir, à maintenir et à gérer des écosystèmes en bon état. En effet, la bonne qualité des milieux naturels contribue de façon significative au bien être et à la progression de la société aussi bien du point de vue de la santé et des besoins de base comme l'alimentation et la boisson que des activités de loisirs et de culture (Burger, 2008). Ce principe a été réaffirmé lors du Grenelle de l'environnement où les tables rondes ont estimé que « *la réduction des impacts sanitaires de l'environnement constituait à la fois une assurance santé et une assurance compétitivité pour les entreprises notamment lorsqu'elles deviennent leader dans le domaine* ».

Les rejets dans l'environnement, qu'ils soient d'origine domestique, agricole ou industrielle, génèrent des pollutions plus ou moins diffuses et plus ou moins délétères. Ces contaminants sont drainés jusqu'au compartiment eau, dans les lacs, dans les ruisseaux, dans les rivières ... Or « *utiliser l'eau c'est accepter de la polluer* » (Crini et Badot, 2007). En France, en 2007, le secteur industriel (hors production d'énergie) a prélevé 3,1 Gm³ d'eau pour ses activités, dont 0,25 Gm³ qui n'ont pas été restitués dans le milieu aquatique (consommation, évaporation). Ainsi, on peut considérer que 2,85 Gm³ d'eaux polluées ont été rejetées dans le milieu cette année là (Figure 0.1).

Parmi les industries les plus consommatrices d'eau, on trouve la métallurgie, le textile, l'agroalimentaire et les papeteries (Ravenga, 2000). Ces industries sont bien représentées en Franche-Comté, notamment par le secteur papetier qui possède des eaux très difficiles à décontaminer (Thompson et al., 2001). Trois sites exercent une activité papetière en

Franche-Comté et leurs rejets sont constitués principalement de matière organique et de matières en suspension.

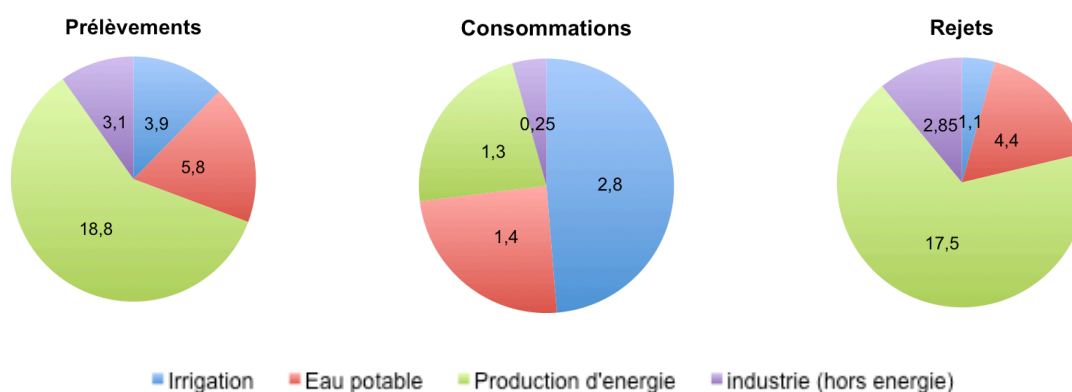


Figure 0.1 : Prélèvements, consommation et rejets d'eau par les différents secteurs usagers pour l'année 2007 en France métropolitaine (en milliard de m³, Gm³). Source : Agence de l'Eau - SoeS.

En effet, au regard de la liste établie par la DRIRE (2007) concernant l'autocontrôle des paramètres généraux de l'eau (Tableau 0.1), les trois papeteries franc-comtoises se classent parmi les principaux émetteurs de Demande Chimique en Oxygène (DCO), de Demande Biochimique en Oxygène (DBO₅) et de Matières en Suspensions (MES) dans les eaux de surfaces.

Tableau 0.1 : Rejet liquide de certaines entreprises franc-comtoises dans l'eau (DRIRE 2007). Les chiffres entre parenthèses sont exprimés en 10³ Kg an⁻¹.

DCO	Solvay (480)	Papeterie du Doubs (180)	Papeterie de Mandeuve (131)
DBO₅	Solvay (240)	Papeterie de Mandeuve (66)	Papeterie Zuber-Rieder (32)
MES	Solvay (1021)	Papeterie du Doubs (62)	Euroserum (55)
Azote	Euroserum (71)	Solvay (57)	Peugeot (38)
Phosphore	Euroserum (4)	Peugeot (1,8)	Fromagerie Milleret (1,7)

Pour traiter leurs eaux, les industriels utilisent principalement des produits à base de sels métalliques. Les procédés de traitement utilisant ces composés sont certes simples, faciles à mettre en œuvre et peu coûteux, mais posent un problème environnemental important. En effet, les formulations commerciales à base d'aluminium, par exemple, sont potentiellement toxiques pour le milieu aquatique (Wauer et al., 2004). De plus, un durcissement de la législation (Directive Cadre sur l'Eau, Campagne Substances Dangereuses) et des renforcements des exigences de sécurité (Programme REACH,

Installations Classées) rendent certaines formulations commerciales inutilisables à long terme. Les industriels sont donc à la recherche de modes de traitement plus respectueux de l'environnement. De nouveaux procédés d'épuration existent déjà à l'échelle laboratoire mais ils peinent à trouver des applications à l'échelle industrielle, en raison de contraintes économiques et techniques. Il y a donc un besoin d'innovation dans ce domaine qui soit à la fois efficace chimiquement, environnementalement intéressant et économiquement viable.

L'objectif principal de cette thèse est de développer un système innovant de traitement des eaux usées industrielles pour répondre à ces impératifs.

Pour atteindre notre objectif, nous avons développé et étudié d'une part le comportement d'un nouveau procédé de décontamination des eaux biologiques de la filière papetière basé sur l'utilisation d'une substance naturelle, et d'autre part, caractérisé l'impact environnemental de ce nouveau procédé en le comparant à celui du procédé conventionnel utilisé par l'industriel. L'approche suivante a été mise en place :

- (i) Analyser et suivre les paramètres analytiques de caractérisation des eaux industrielles afin de mieux comprendre le fonctionnement de la station de décontamination ;
- (ii) Étudier et valider à l'échelle laboratoire un nouveau procédé de traitement des eaux par biofloculation en utilisant du chitosane
- (iii) Transposer sur le site industriel les résultats obtenus en laboratoire ;
- (iv) Valider d'un point de vue écotoxicologique le procédé proposé ;
- (v) Mettre en évidence une éventuelle relation entre l'abattement chimique et le gain écotoxicologique obtenus, pour ainsi évaluer l'impact environnemental des différents procédés de traitement des eaux.

Le mémoire s'articule autour de trois grandes parties.

La première partie traite, dans un premier chapitre, du métier papetier et de ses principales problématiques. Nous évoquerons, notamment, les problèmes industriels et environnementaux de la filière papetière. Puis, nous décrirons les systèmes de décontamination utilisés par la filière et nous détaillerons en particulier celui de la papeterie du Doubs. Les deuxième et troisième chapitres dresseront un état de l'art sur le traitement des eaux par floculation, sur l'écotoxicité des eaux industrielles et sur la bioindication utilisant *Gammarus pulex* comme biomoniteur. L'intérêt de développer une méthode innovante de décontamination sera ainsi dégagé.

Dans la deuxième partie, nous présenterons les études expérimentales de biofloculation que nous avons réalisées. Le premier chapitre décrit tous les paramètres analytiques de l'eau ainsi que les méthodes expérimentales utilisées. Le deuxième chapitre décrira la caractérisation physicochimique des différentes eaux issues de la station de décontamination de la papeterie du Doubs. Les résultats concernant l'utilisation du chitosane pour épurer les eaux seront présentés dans le troisième chapitre.

La dernière partie du manuscrit sera consacrée à l'étude de l'intérêt environnemental des différents procédés de traitement des eaux. Le premier chapitre présentera les méthodologies utilisées pour caractériser l'écotoxicité des effluents. Les deux autres chapitres présenteront les différents impacts écologiques des procédés. Dans cette partie, nous décrirons tout particulièrement le test de bioindication active utilisé pour atteindre notre objectif.

Les points essentiels des résultats, tant d'un point de vue chimique que écotoxicologique, seront commentés dans la discussion générale de ce mémoire. Il s'agit de discuter d'une part la pertinence scientifique de l'utilisation de *Gammarus pulex* comme biomoniteur, et d'autre part, l'efficacité chimique qui sera évaluée objectivement à l'aune de la diminution de l'impact environnemental sur le milieu, elle-même appréciée à partir de la quantification du gain écotoxicologique.

Première partie :
État de l'art

Chapitre 1 : Filière papetière

L'industrie des pâtes à papier constitue un secteur important, de l'économie européenne, mais aussi de l'économie française. En France, la région Est fait partie des premières régions en ce qui concerne les activités papetières. La filière papetière est, en effet, un secteur d'excellence franc-comtois, caractérisé par trois importantes structures industrielles. C'est un secteur industriel qui a beaucoup évolué au cours de ces trente dernières années, notamment dans le domaine de l'environnement.

La filière papetière est l'une des industries les plus consommatrices d'eau avec la filière agroalimentaire (Thompson et al., 2001). Elle consomme également des quantités importantes de produits chimiques et par conséquent rejette de grandes quantités d'eau polluée dans les milieux aquatiques. Les activités de production les plus polluantes, comme la fabrication de la pâte à papier à partir du bois, ont été déplacées vers des pays à faibles réglementations environnementales, alors que les activités ayant une valeur ajoutée plus forte, comme la fabrication de la feuille, ont été conservées dans les pays industrialisés.

Ce premier chapitre a pour principal objectif de présenter le métier de la filière papetière et les différentes voies de décontamination utilisées pour traiter les eaux usées ainsi que les problématiques de cette industrie. Nous commencerons d'abord par présenter les différentes étapes du process industriel pour fabriquer la pâte à partir de l'arbre, puis la production de papier à partir de cartons usagés et de vieux papiers. Les différents systèmes de traitements des effluents papetiers seront ensuite présentés et discutés. En particulier, le mode de traitement existant à la papeterie du Doubs fera l'objet d'une description détaillée.

1. Les papeteries

1.1. Production du papier

Le papier est une matière fabriquée à partir de fibres cellulosiques végétales. Son apparition remonte à la Chine antique d'où émane le premier document connu écrit sur du papier. Le procédé de fabrication n'a pas beaucoup évolué depuis. Il consiste toujours en deux phases : la production de la pâte à papier suivi de la fabrication de la feuille de papier.

1.1.1. Production de la pâte à papier

Pour produire du papier, la matière première peut être constituée soit de bois, soit de vieux cartons ou de vieux papiers. La fabrication de pâte à papier à partir du bois est la plus génératrice de polluants (Ali et Sreekrishnan, 2001). En effet, il s'agit de décomposer le bois en fibres par des procédés mécanique, chimique, et/ou thermique (Valette et de Choudens, 1992). L'étape de décomposition rejette un effluent nommé « liqueur noire » contenant de nombreux composés chimiques toxiques (Thompson et al., 2001). Les fibres obtenues sont ensuite dispersées dans l'eau et travaillées avec des adjuvants (éclaircissant, colorant, craie, dioxyde de titane, etc.) afin d'obtenir les caractéristiques papetières désirées. Actuellement, la fabrication de la pâte est déconnectée de la fabrication de la feuille. Ainsi, des industries se sont spécialisées dans la fabrication de la pâte qu'elles revendent à des industries spécialisées dans la fabrication de la feuille. Les entreprises fabriquant la feuille reçoivent une pâte sèche qu'elles traitent de la même manière que dans la fabrication du papier recyclé. Dans le cas de la fabrication de papier ou de papier pour carton recyclé, le procédé est nettement plus simple à mettre en œuvre. Les papiers et cartons usagés sont mis en suspension dans l'eau. Cette étape, dite de trituration, est assistée par un hydropulseur qui broie l'ensemble de la matière (cartons et papiers) et met les fibres en suspension. On ajoute ensuite les charges et les colorants. Le procédé se termine par des étapes d'épuration (élimination des impuretés) et de raffinage (filtration et gonflement des fibres), avant envoi vers la « pieuvre » qui permet un dépôt uniforme de la pulpe fortement hydratée sur la toile de la machine à papier.

1.1.2. Fabrication de la feuille de papier

La fabrication de la feuille suit toujours les trois mêmes étapes, quel que soit le mode de fabrication de la pâte (Valette et de Choudens, 1992). Ces étapes sont les suivantes :

- 1) **formation du matelas fibreux** : la suspension fibreuse est d'abord déposée sur une toile ; les fibres vont alors constituer un réseau ;

l'évacuation de l'eau libre à travers la toile est facilitée par des pompes à vide ; en fin d'étape, la siccité est de l'ordre de 20 à 25 % ;

2) **pressage du matelas fibreux** : la nappe passe entre des rouleaux afin de retirer un maximum d'eau par une action mécanique ; c'est à ce moment que se créent les liaisons interfibres, cette étape est favorisée par l'ajout de chlorure de polyaluminium (PAC) ; en fin d'étape, la siccité est de l'ordre de 40 à 50 % ;

3) **séchage de la feuille** : il permet d'évaporer l'eau par passage de la feuille sur des cylindres chauffés à la vapeur ; en fin d'étape, la siccité est de 92 à 98 %.

A la papeterie de Novillars par exemple, l'ensemble de ces étapes se fait sur une machine à papier d'une centaine de mètres de longueur (Figure 1.1).

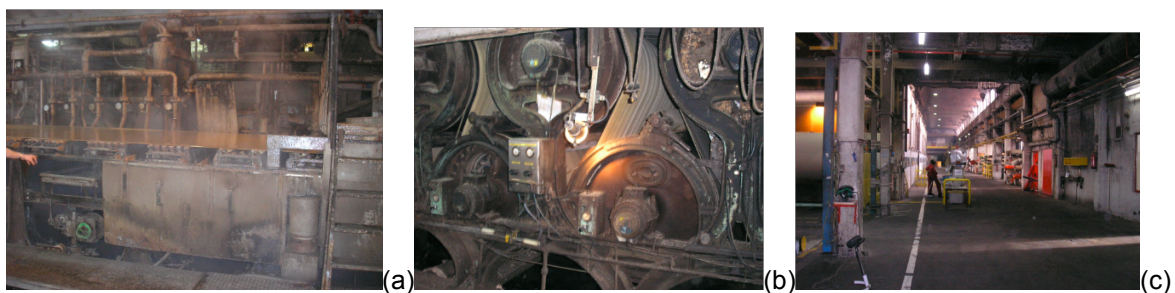


Figure 1.1 : Photographies de la machine à papier de la papeterie du Doubs (Novillars, 25) ; a : pompe à vide, b : rouleaux de séchage ; c : vue générale.

1.2. Principaux polluants

Le process industriel de fabrication du papier et de la feuille nécessite de l'eau à toutes les étapes de la production (fabrication de la pâte, préparation de la pulpe, formation de la feuille, séchage). La fabrication du papier demande aussi l'ajout de produits chimiques à différentes étapes de la production. Il existe deux grands types de substances : le premier type correspond aux adjuvants modifiant les propriétés du papier, notamment les charges minérales (talc, silicates, carbonates) pour améliorer l'état de surface du papier, les pigments minéraux pour apporter une plus grande pureté, les produits de collage (sulfate d'alumine, polymères) pour hydrophobiser le papier, les agents de résistance (amidons cationiques) pour augmenter la cohésion du papier, et les colorants. Les adjuvants facilitant le procédé papetier forme la seconde catégorie de substances utilisées : on peut citer les agents de rétention (silice colloïdale, amidon cationique) pour favoriser l'égouttage, les agents anti-

mousse, les agents anti-bactériens, ou encore des agents de clarification comme le chlorure de polyaluminium (PAC).

1.2.1. Circuit général des eaux

La Figure 1.2 retrace le circuit général des eaux dans la production du papier. Pour des raisons économiques et environnementales, de nombreux industriels recyclent au maximum leurs eaux usées traitées (eaux de chauffage, eaux collées, eaux clarifiées, etc.), ce recyclage étant fonction du process et de la qualité du papier désirée.

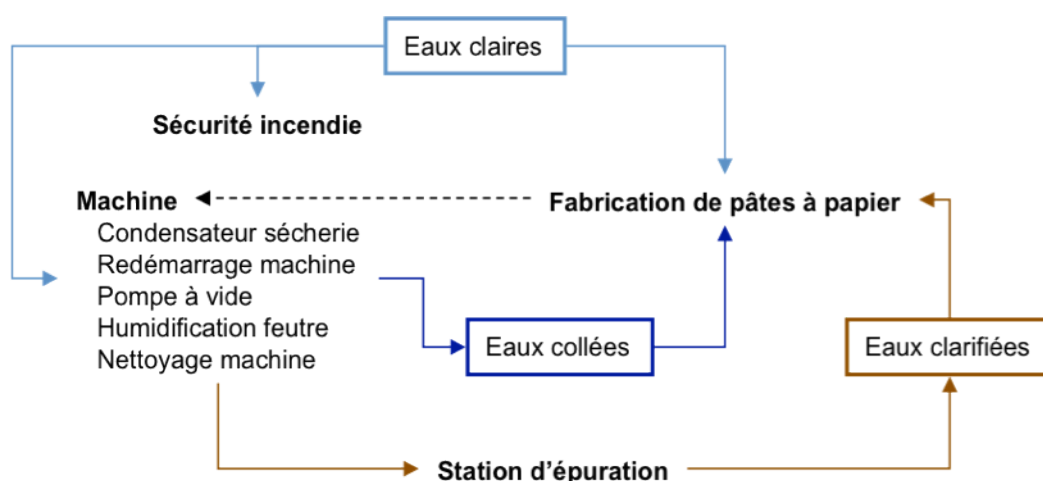


Figure 1.2 : Circuit général des eaux dans une papeterie théorique fonctionnant uniquement en circuit fermé, d'après Charles (2009).

Ce schéma met en évidence 3 types d'eau :

- 1) les **eaux dites claires** sont soit puisées dans une nappe, soit pompées dans la rivière ; dans ce dernier cas, l'eau est traitée par filtration pour retirer les impuretés qui pourraient diminuer la qualité mécanique du papier ou la couleur et l'éclat de la feuille produite ; ces eaux sont également utilisées pour la sécurité incendie, le fonctionnement des pompes à vide, l'épuration de la pâte, l'humidification des feutres de la machine à papier, ou encore le nettoyage des machines ;
- 2) les **eaux dites clarifiées** sont issues de la décantation primaire provenant du traitement physicochimique des rejets ; leur concentration faible en matière en suspension (MES) permet de les utiliser lors de la fabrication de la pâte si cela ne détériore pas la qualité finale de la feuille ;
- 3) les **eaux collées** sont fortement chargées en amidon et en fibres ; elles proviennent directement du processus industriel de fabrication du papier ; elles alimentent divers systèmes de production du papier.

1.2.2. Caractéristiques des effluents papetiers

De nombreuses substances chimiques sont impliquées dans la fabrication du papier, ce qui a pour conséquence un relargage de différents types de matières dans les eaux de process d'origine à la fois organique et minérale. Leur quantité et leur toxicité sont variables et dépendent de leurs origines. Il faut noter la grande variabilité de ces différents flux polluant qui dépendent de la matière première utilisée, mais aussi du process et de la qualité de papier recherchée (Figure 1.3).

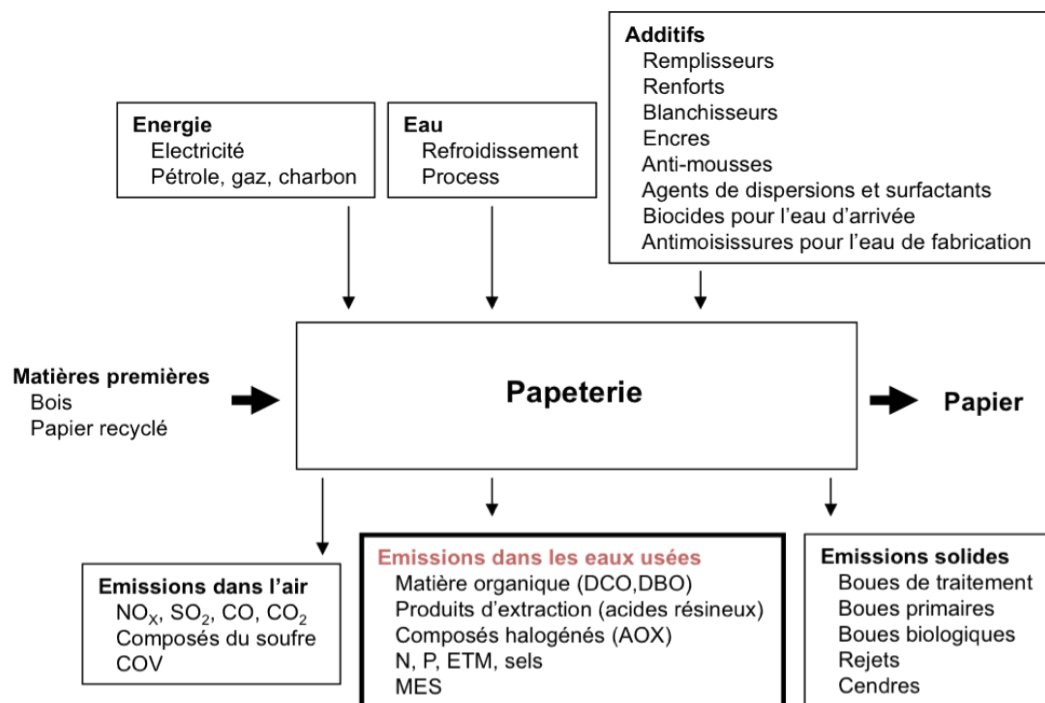


Figure 1.3 : Principaux flux de matières observés lors du process de fabrication du papier, d'après Lacorte et al. (2003).

En général, l'effluent d'entrée station est un mélange complexe constitué de nombreux polluants issus des différentes étapes de la fabrication (US EPA, 1995 ; Ali et Sreerishnan, 2001). Les principaux polluants rencontrés sont des matières en suspension (MES), des matières colloïdales, des matières minérales et organiques en suspension (particules, fibres) ou dissoutes. Le Tableau 1.1 résume et compare les caractéristiques principales de plusieurs types d'effluents. En général, un effluent papetier est caractérisé par une charge élevée en MES et en matières organiques due aux particules insolubles et solubles. La charge organique est caractérisée, notamment, par le paramètre demande chimique en oxygène ou DCO. La DCO des effluents papetiers peut être beaucoup plus élevée que les effluents industriels ou urbains. La fabrication de différents types de papier influence grandement ces charges.

Tableau 1.1 : Caractéristiques des eaux usées issues de plusieurs process de production des pulpes et papiers, d'après Pokhrel et Viraraghavan (2004).

Process	Paramètres						Références
	pH	Solides totaux (mg L ⁻¹)	MES (mg L ⁻¹)	DBO ₅ (mg O ₂ L ⁻¹)	DCO (mg L ⁻¹)	Couleur (Pt-Co)	
Grande usine (Inde)	11	5250	1233	983	2530	Noir	Srivastava et al., 1990
Petite usine (Inde)	12,3	15120	4890	2628	6145	Brun foncé	Srivastava et al., 1990
Chambre de digestion	11,6	51589	23319	13088	38588	16,6	Singh et al., 1996
Effluent combiné	7,6	3318	2053	103	675	1,0	Singh et al., 1996
TMP* eau blanche	4,7	-	91	1090	2440	-	Jahren et al., 1999
TMP* eau blanche	4,7	-	105	1125	2475	-	Jahren et al., 2002
Usine de kraft	8,2	8260	3620	-	4112	4667,5	Rohella et al., 2001
Pulpage	10	1810	256	360	-	-	Dilek et Gokcay, 1994
Usine de pulpe blanchie	7,5	-	1133	1566	2572	4033	Yen et al., 1996
Blanchissage	2,5	2285	216	140	-	-	Dilek et Gokcay, 1994
Pulpe et papier	7,8	4200	1400	1050	4870	Brun foncé	Mandal et Bandana, 1996
Fabrication de papier	7,8	1844	760	561	953	Noir	Gupta, 1997
Usine de papier	8,7	2415	935	425	845	Brun foncé	Dutta, 1999
Machine à papier	4,5	-	503	170	723	243	Yen et al., 1996
Machine à papier	8,3	-	1032	240	-	-	Dilek et Gokcay, 1994

*TMP : ThermoMechanical Pulp

Le papetier a deux types principaux de pollution à éliminer, à savoir :

- 1) des **pollutions particulaires** constituées par les fines et les fibres qui n'ont pas accrochées à la feuille, appelées généralement MES ;
- 2) des **pollutions colloïdale et dissoutes** constituées d'amidon et de divers produits utilisés dans la fabrication du papier ; ces pollutions peuvent être subdivisées entre la part DCO dite biodégradable et la part DCO dite dure ou non biodégradable.

Pour ces deux raisons, de nombreux industriels ont aujourd'hui opté pour un mode de traitement qui couple un traitement physico-chimique et un traitement biologique. Le poids

occupé par chacun des procédés de traitement est dépendant du type d'effluent à traiter et du coût entraîné par le traitement (maintenance, fonctionnement).

1.2.3. Grands types de pollution

On distingue quatre grands types de pollution, à savoir

- 1) les matières en suspension (MES et turbidité) ;
- 2) la matière organique (DCO et DBO) ;
- 3) les colorants et la couleur ;
- 4) les métaux (notamment Al et Ni).

Le détail des polluants rencontrés dans les effluents papetiers est fourni au chapitre 3 de cette partie.

1.3. La papeterie du Doubs

L'entreprise *Papeterie du Doubs* est située sur la commune de Novillars dans le département Doubs (25), à 10 km au nord-est de Besançon. L'entreprise couvre une superficie totale de 136 000 m², et emploie actuellement 70 personnes (Figure 4). Elle a été créée en 1883 par Jean-Baptiste Weibel. Elle fût la première fabrique de cellulose au bisulfite de calcium en France, papier destiné à l'utilisation alimentaire (emballage de boucherie, papier de cuisson anti-adhérent, etc.). Par la suite, elle a été reprise plusieurs fois : CENPA en 1952 devenue en 1960 « la Rochette CENPA », SIPN (Société Industrielle et Papetière de Novillars) en 1982, NOVIPAP en 1987 puis OTOR en 1989 (papeterie du Doubs). Elle fusionnera durant l'année 1993, avec la société OTOR Velin (Vosges). En 2009, elle a été vendue à la société Soenen GolfKarton.

La principale activité consiste à produire du papier recyclé uniquement à partir de papiers et cartons usagés provenant des déchets de cartonneries et du tri sélectif des industriels, des commerçants et des collectivités locales. Le papier produit est destiné à alimenter les cartonneries du monde entier pour la fabrication de carton ondulé. La production de l'usine est actuellement de 210 tonnes de papier par jour (75 000 tonnes en 2007, 100 000 tonnes pour 2010).

L'entreprise est pleinement engagée vers une démarche de qualité et de protection de l'environnement. En effet, elle possède la Certification Qualité ISO 9001 et la Certification Environnement ISO 14001 depuis l'année 2003. La papeterie a également remporté deux prix régionaux en 2004, qui lui ont été attribués par le Mouvement Français de la Qualité.

Enfin, depuis 2005, elle est classée comme refuge des oiseaux (Ligue pour la Protection des Oiseaux) conformément à sa politique de préservation de l'environnement. L'entreprise a mis en place un système d'autocontrôle et d'analyses effectuées par un laboratoire de prestations analytiques. La papeterie du Doubs s'est engagée à diviser par deux les charges polluantes des effluents épurés par rapport aux normes fixées par l'arrêté préfectoral de 2006. De plus, depuis plus d'une dizaine d'année, l'entreprise développe une collaboration avec des laboratoires universitaires et notamment avec le Dr G. Crini de l'UMR Chrono-Environnement afin d'améliorer les systèmes physicochimiques et biologiques utilisés dans la station de traitement eaux usées.



Figure 1.4 : Photo aérienne de situation du site industriel de la papeterie du Doubs (Novillars, 25),
source : geoportail.fr

2. Méthodes de traitement utilisées par la filière papetière

Le traitement des effluents papetiers doit répondre à un double objectif :

- 1) éliminer les pollutions solides et colloïdales ;
- 2) éliminer la pollution dissoute qui est en partie biodégradable.

Ce constat permet de comprendre le choix général des entreprises de la filière de coupler les traitements physicochimiques avec un traitement biologique. Il faut remarquer, toutefois, que de plus en plus, la filière complète ces traitements par un système tertiaire

(Thompson et al., 2001) pour répondre aux exigences de la directive cadre sur l'eau (2000/60/CE).

2.1. Choix du couplage physicochimique et biologique

La Figure 1.5 résume le process général de traitement des effluents papetiers.

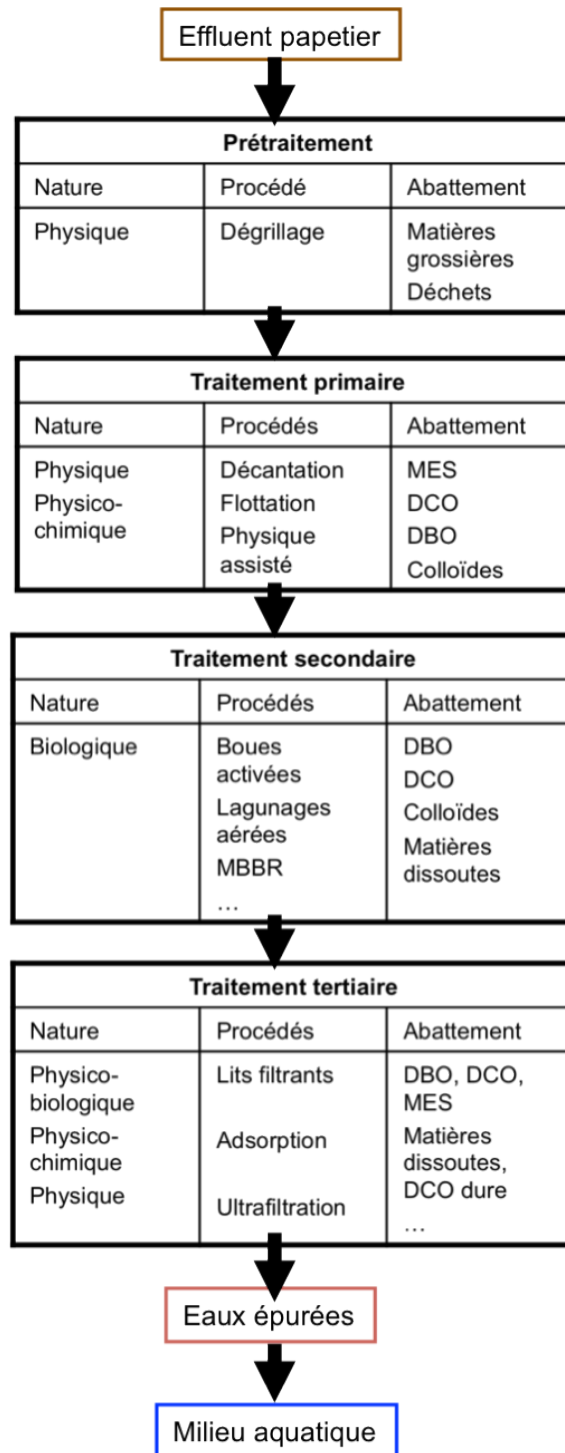


Figure 1.5 : Schéma général du traitement des effluents papetiers.

2.1.1 Prétraitement

Le prétraitement dans une station de traitement des eaux permet d'éliminer l'ensemble des éléments grossiers susceptibles de gêner le bon déroulement des opérations de décontamination proprement dites. Cette étape est constituée le plus souvent d'un simple dégrillage qui retient les déchets volumineux présents dans le cas de la fabrication de papier à partir de papiers et cartons usagés.

2.1.2. Traitement primaire physicochimique

Le traitement primaire physicochimique vise à éliminer l'ensemble des matières facilement décantables. Il existe trois voies de traitement primaire :

- 1) la **décantation** (physique) qui permet une séparation des phases solides/liquides par l'effet de la pesanteur ou par sédimentation ;
- 2) la **flottation** (physique) qui consiste à injecter un mélange d'eau et d'air pressurisé pour former des microbulles qui, en remontant, emmèneront les MES et une partie des colloïdes (Rubio et al., 2002) ;
- 3) le **traitement physique assisté par physico-chimie** à l'aide de substances chimiques (coagulant et/ou flocculant) qui permet la formation de floccs plus denses pour la décantation, ou plus gros et moins denses pour la flottation (Thompson et al., 2001).

La combinaison d'un prétraitement et d'un traitement primaire physico-chimique permet des abattements importants, supérieurs à 90 % pour les MES et à 60 % pour la DCO.

2.1.3. Traitement secondaire biologique

Le principe du traitement secondaire biologique est basé sur la dégradation biologique de la matière organique biodégradable en matières inorganiques (CO₂, composés minéraux nitrés ou phosphorés). Pour ce faire, on utilise différents microorganismes comme des bactéries (Shokrollahzadeh et al., 2008), des levures (Watanabe et al., 2009), des champignons (Justino et al., 2009) ou des algues (Tarlan et al., 2002).

De façon pratique, la matière organique soluble et biodégradable est mise au contact d'une communauté bactérienne. Celle-ci assimile cette matière et l'oxyde par des processus respiratoires. L'efficacité et la stabilité du système sont dépendantes de facteurs intrinsèques et extrinsèques ; intrinsèques, car c'est un écosystème simple, constitué de bactéries, de protistes et d'animaux prédateurs en équilibre avec les nutriments disponibles (Daims et al.,

2006), qui s'installe dans les systèmes de traitement biologique ; extrinsèques, car c'est un écosystème fortement influencé par le paramètre température qui induit des variations saisonnières (Escalas-Cañellas et al., 2008) ou de qualité de l'influent (Crini et Badot, 2007).

Plusieurs types de systèmes biologiques sont utilisés par la filière papetière. Les distinctions sont faites en fonction du mode de respiration choisi (anaérobie ou aérobie) et du mode de culture (libre ou fixée). Les différents systèmes susceptibles d'être utilisés sont :

- les **boues activées** (libre, aérobie) : l'effluent est mis en contact avec un mélange riche en bactéries, l'ensemble est aéré pour satisfaire au besoin important en O₂ nécessaire à la dégradation de la matière organique biodégradable ; cette phase d'aération est ensuite suivie d'une phase de séparation par sédimentation (cas général) ; une parties des boues éliminées sont réintégrées au bassin d'aération ; cette opération permet de réensemencer le bassin en microorganismes ;
- le **lagunage** (libre, aérobie) : la concentration en micro-organismes épurateurs est faible ; cette faible teneur est compensée par une emprise au sol importante, ce qui permet d'augmenter la surface de traitement et les temps de séjour des eaux ; ce système est efficace, facile à mettre en œuvre et s'intègre très bien à l'environnement ;
- les **réacteurs biologiques** (fixes, aérobies) : les microorganismes se développent en biofilm sur un support ; ce support, quel que soit son type, est ensuite immergé dans l'effluent ; dans des conditions normales de fonctionnement, ce type de système produit très peu de boues ; son avantage principal est sa faible emprise au sol ;
- les **systèmes anaérobies** : la dégradation métabolique qui a lieu dans ce cas se fait sans oxygène ; ce type de procédé est capable d'éliminer de très fortes charges organiques et a été longtemps plébiscité par la filière.

2.2. L'exemple de la papeterie du Doubs : procédés de décontamination utilisés

La Figure 1.6 présente un schéma général de la station de traitement des eaux usées de la papeterie de Novillars.

Les eaux provenant de la station de traitement doivent respecter les conditions préfectorales résumées au Tableau 1.2.

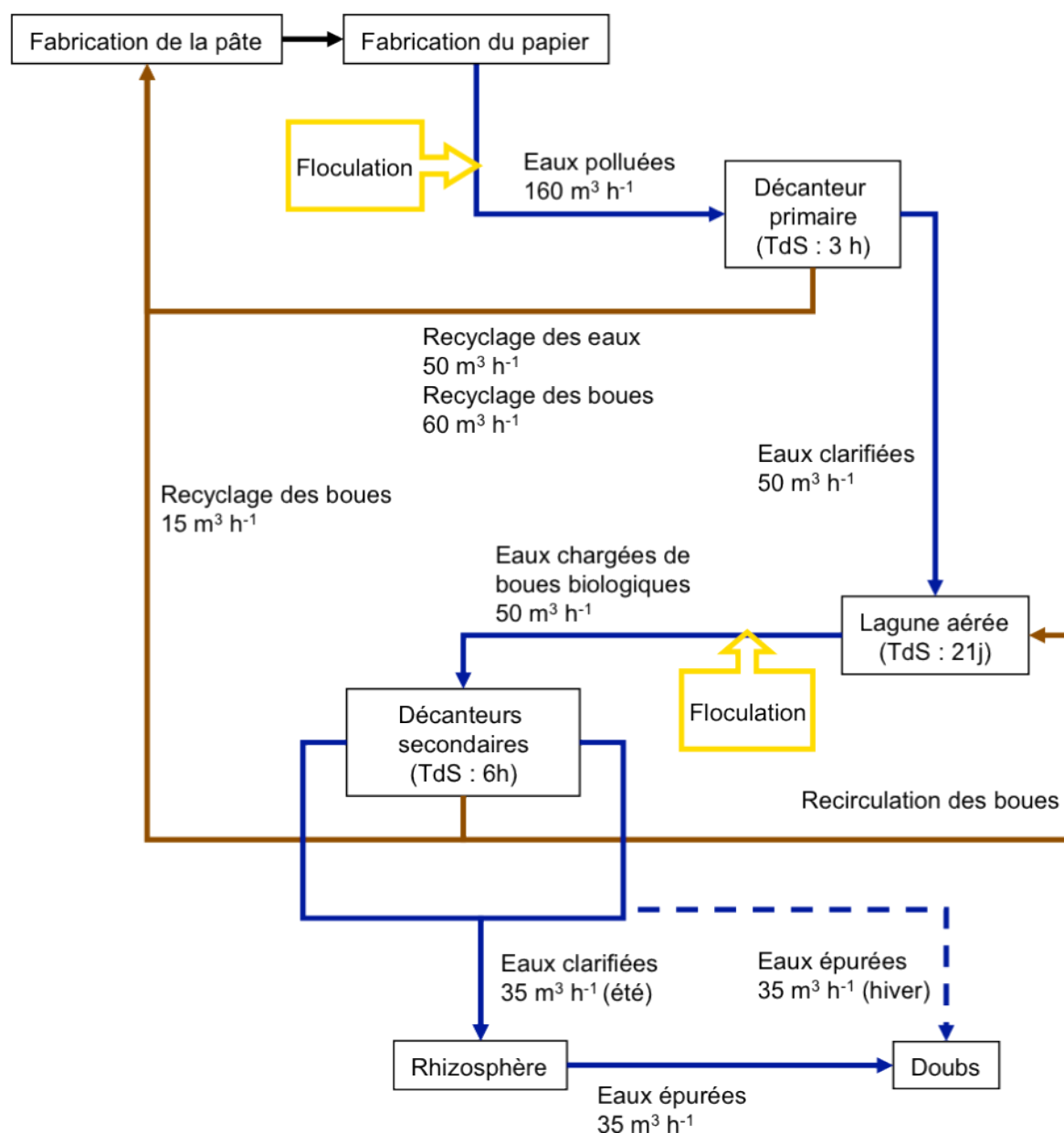


Figure 1.6 : Schéma synoptique de la station d'épuration de la papeterie du Doubs (TdS : temps de séjour).

Tableau 1.2 : Concentrations maximales et flux moyens mensuels des principaux paramètres de l'eau tels que notés dans l'arrêté préfectoral du 14 août 2006 (2006/DCLE/4B) auquel doit se conformer la papeterie du Doubs.

Paramètres	Concentration maximale sur 24 h en mg L ⁻¹	Flux moyen en Kg j ⁻¹
DBO ₅	400	250
MES	400	250
DCO	1320	1040
Azote global		50
Phosphore total		50
Indice phénols		0,003
AOX		0,03
Hydrocarbures		0,1
Débit maximum autorisé : 1680 m ³ j ⁻¹		
Moyenne mensuelle maximum du débit journalier : 1200 m ³ j ⁻¹		
Débit instantané maximum : 70 m ³ h ⁻¹		

2.2.1. Décantation primaire

Sur proposition de l'UMR Chrono-Environnement, la papeterie du Doubs est passée depuis peu à un système primaire purement physique, sans ajout de produits chimiques de traitement des eaux. Ce système permet un abattement de 60 à 70 % des MES et de 10 à 20 % de la DCO.

2.2.2. Lagunage aéré

D'une manière générale, le lagunage aéré (Figure 1.7) est souvent choisi pour sa bonne intégration dans l'environnement, ses faibles coûts de maintenance et son efficacité en termes d'abattement chimique. Néanmoins, son emprise au sol peut constituer un frein au choix d'une telle méthode. De plus, les cinétiques de dégradation sont longues. Pour les industriels, les techniques de lagunage sont intéressantes car elles permettent une biodégradation des matières organiques à moindre coût financier. Cependant, les échanges gazeux (O_2) entre la lagune et l'atmosphère ne sont pas suffisants pour assurer la dégradation aérobie de fortes charges organiques. Une aération mécanique est donc nécessaire dans le cas des effluents chargés, ce qui entraîne des coûts de fonctionnement plus important.



Figure 1.7 : Photographie de la lagune aérée de la Papeterie du Doubs (Novillars, 25).

La lagune aérée de Novillars s'étend sur une surface de 4000 m^2 pour une profondeur de 4 m, et un volume de 18000 m^3 . Pas moins de 56 aérateurs de puissance variables assurent l'oxygénation et la mise en suspension des floccs bactériens. Les aérateurs ont été placés de façon adéquate pour assurer une aération homogène car l'existence de zones anoxiques favorise le développement de bactéries sulfo-réductrices qui produisent du H_2S et

provoquent des phénomènes de dissipation des floes. En outre, les effluents papetiers étant très peu chargés en matières nitrées et phosphorées, il est nécessaire d'assurer ces apports par des ajouts d'urée et d'acide phosphorique (à la sortie du décanteur primaire). La concentration est choisie de façon à ce que le rapport DCO/N_{tot}/P_{tot} corresponde à 200/5/1 (Ratsak et al., 1996). Il s'agit en fait d'apporter, en quantité suffisante, les 3 composés nécessaires aux processus biologiques, à savoir le carbone, l'azote et le phosphore. Un dérèglement dans ce rapport peut entraîner des phénomènes de dissipation des floes et des changements dans la communauté bactérienne (Yu et Mohn, 2001).

L'abattement de ce type d'installation est de 70 à 90 % pour la DCO et de 40 à 50 % pour la DBO. La lagune aérée fonctionne en série avec deux décanteurs/minéralisateurs dans lesquels les effluents se déversent avec un débit de 50 m³ h⁻¹.

2.2.3. Décanteurs secondaires

Les eaux en sortie de lagune sont floculées pour permettre la séparation des boues biologiques et de la partie liquide des effluents à l'aide du PAC. Les décanteurs secondaires sont deux bassins de minéralisation qui fonctionnent en alternance. Leur fonctionnement n'est pas celui de décanteurs classiques. Il existe 2 phases dans leur fonctionnement (Figure 1.8) :

- **phase 1** : le décanteur est dit en « remplissage » ; les effluents, après floculation, arrivent de la lagune et se déversent dans le bassin ; la séparation solide/liquide se fait simplement par sédimentation ; l'eau est évacuée vers la rhizosphère ou le Doubs, suivant la période de l'année ; comme les boues ne sont pas évacuées, elles remplissent le bassin ;
- **phase 2** : l'arrivée des effluents de la lagune est arrêtée ; un aérateur est mis en route pour permettre la mise en suspension de la boue stockée au fond du bassin et d'aérer celle-ci pour continuer la dégradation aérobie de la matière organique (minéralisation) ; la boue se retrouvant en suspension, on peut ainsi l'évacuer vers le pulpeur pour la fabrication de la pâte ; de temps en temps la lagune est réensemencée ; lorsque le bassin est suffisamment vidé, il est remis en remplissage (phase 1).

De façon à assurer la continuité de l'épuration, deux bassins de 850 m³ ont été installés. Lorsque l'un est en phase 1, l'autre est en phase 2. Chaque phase dure environ 48 heures. Le temps de séjour de l'eau est de 6 heures dans un bassin en décantation.

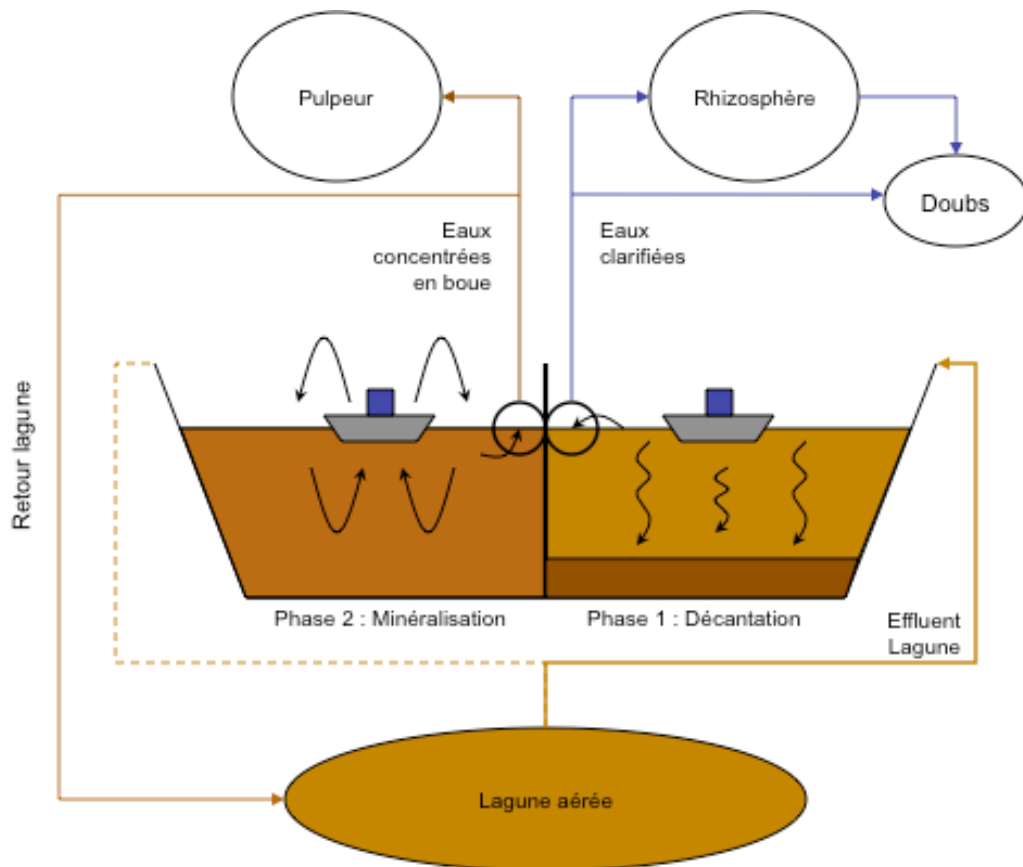


Figure 1.8 : Schéma de fonctionnement des deux décanteurs secondaires.

2.2.4. Rhizosphère

La rhizosphère, appelée encore lits filtrants verticaux plantés de roseaux (*Phragmites australis*) est un traitement tertiaire dit de finition qui joue à la fois un rôle de filtre physique et un rôle de système d'épuration biologique. Les différentes couches de graviers qu'elle contient retiennent physiquement les MES encore contenues dans l'effluent (Figures 1.9 et 1.10). Dans les pores de ces matériaux granulaires, se développe une communauté de microorganismes qui participent à la dégradation de la matière organique. Leur développement est favorisé par les rhizomes de *Phragmites australis*. Les plantes absorbent les matières minérales issues de la biodégradation, en particulier les nitrates et les composés phosphorés. Les différents mécanismes d'élimination des polluants dans une rhizosphère sont résumés dans le Tableau 1.3. La rhizosphère de la papeterie du Doubs est séparée en deux bassins immergés par alternance pendant des durées de 33 heures.

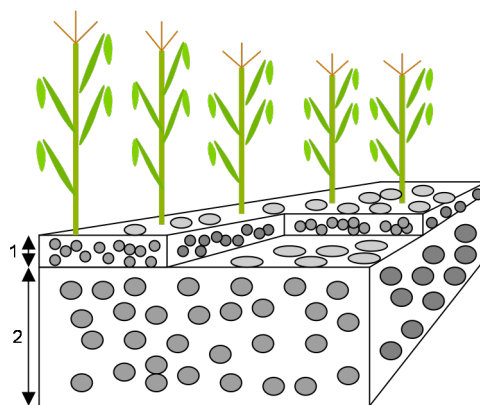


Figure 1.9 : Schéma de la rhizosphère utilisée à la papeterie ([1] : 15 cm de graviers fins ; [2] : 50 cm de graviers grossiers, planté de *Phragmites australis*).



a



b

Figure 1.10 : Photographie de la rhizosphère de la papeterie du Doubs (Novillars, 25) au début du développement (a) et en plein été (b).

Tableau 1.3 : Mécanismes d'élimination des polluants dans un lit filtrant planté de roseaux, d'après Grison (1999).

Polluants	Principaux mécanismes d'élimination
MES	Filtration
Matière organique biodégradable	Dégradation microbienne aérobie Dégradation microbienne anaérobie
Composés azotés	Ammonification suivie d'une nitrification et d'une dénitrification microbienne Volatilisation de l'ammoniac Assimilation végétale Adsorption sur la matrice
Phosphore	Adsorption sur la matrice Assimilation végétale
Métaux	Adsorption et échange de cations Complexation Précipitation/co-précipitation Assimilation végétale Oxydo-réduction microbienne
Micro-organismes	Filtration Mort naturelle Prédation et compétition Sécrétion d'antibiotiques par les racines des macrophytes

2.3. Limites du procédé

Le procédé de traitement des effluents par couplage physico-chimique/biologique qui vient d'être décrit donne des résultats en termes d'abattement chimique. Cependant, les limites liées à ce type de décontamination sont nombreuses. On peut citer, notamment, une utilisation de produits chimiques (en particulier des sels métalliques pour favoriser la floculation des boues), une production relativement élevée de boues contaminées, un fort impact de la température et un suivi très régulier des installations.

2.3.1. Production et traitement des boues

Le couplage physico-chimique/biologique produit deux types de boues. La décantation primaire produit une boue dite « chimique » et la décantation secondaire une boue dite « biologique ». Plus le rejet de sortie d'installation est propre, plus la quantité de boues produites sera importante. Les procédés biologiques de traitement sont donc de grands producteurs de boues dont la quantité dépend de l'entretien et de l'efficacité des installations. Un tel couplage a besoin d'être optimisé, notamment en séparant les flux de polluants, en effet, la voie physico-chimique doit éliminer l'ensemble des solides et la grande majorité des colloïdes ainsi que des polluants non biodégradables, alors que la voie biologique doit dégrader la matière organique dissoute et biodégradable, afin de produire des boues de bonne qualité susceptibles d'être réutilisées (Crini et Badot, 2007). Il faut noter que les boues biologiques de la papeterie sont, pour l'instant, réutilisées dans le process industriel de fabrication du carton.

2.3.2. La question de la DCO dite dure

Aucun des traitements, ni la physico-chimie, ni la voie biologique, tels qu'ils sont conçus dans leur mode classique, ne sont en mesure d'éliminer la part de DCO dissoute et non biodégradable. Cette DCO est très difficile à abattre, c'est la raison pour laquelle de nombreuses structures industrielles s'intéressent aux traitements tertiaires, soit par l'utilisation de l'adsorption, soit par des techniques membranaires, soit par des méthodes d'oxydation.

2.3.3. Impact de la température

La température agit principalement sur l'efficacité biochimique du traitement biologique. Il existe une gamme de températures entre 13 et 28 °C où l'activité enzymatique est optimale (Campbell et Reece, 1995). Toute variation de la température dans cette gamme limite l'activité de certaines bactéries pour en favoriser d'autres, ce qui peut conduire à des

communautés microbiennes différentes dans la lagune. Il est connu également que les basses températures défavorisent les processus de floculation chimique (Jörnstrom et al., 1995), surtout lorsqu'on utilise des coagulants ou floculants organiques de type polymères (polyacrylamides, polyacryliques).

2.3.4. Suivi des installations et de leur fonctionnement

L'entretien mécanique, chimique et/ou biologique est nécessaire pour ce type de décontamination :

- un **entretien mécanique** : il s'agit du suivi de l'ensemble des pompes, des aérateurs et des moteurs par des mécaniciens ; ce type d'entretien peut nécessiter l'intervention de plusieurs personnes sur plusieurs jours, deux à trois fois par an ;
- un **entretien chimique** : le dosage du produit de traitement varie en fonction de la charge entrante, de sa composition, de son pH, etc ; une ré-optimisation régulière ou la construction d'abaque est toujours conseillée et souvent nécessaire ainsi que la présence d'un technicien de traitement des eaux ;
- un **entretien biologique** : c'est de loin celui qui réclame le plus de compétences, particulièrement en écologie microbienne et en biologie environnementale, pour permettre une observation rigoureuse du fonctionnement biologique du système de traitement ou des réponses à apporter en cas de défaut de fonctionnement ; c'est généralement le point faible des industriels.

3. Autres méthodes de traitement envisageables

La question qui se pose aujourd'hui sur de nombreuses installations est celle des méthodes dites tertiaires ou de finitions susceptibles d'être utilisées par la filière afin d'abattre davantage de DCO, et en particulier la DCO dite dure, non biodégradable. Il existe différentes méthodes comme l'adsorption sur charbons actifs, la filtration membranaire ou encore l'oxydation avancée.

3.1. Adsorption

L'adsorption est un phénomène de surface, qui résulte de l'existence de forces attractives non compensées à la surface. Une substance (soluté ou adsorbat) présente dans

une solution est extraite de la phase liquide et concentrée à la surface d'un matériau solide (adsorbant). Deux mécanismes interviennent dans l'adsorption : la physisorption (forces de Van der Waals) et la chimisorption (formation de liaisons chimiques). Les techniques d'adsorption sur charbons actifs ou sur résines synthétiques sont utilisées pour complexer et retenir de nombreux polluants comme les composés phénoliques ou aromatiques, les colorants ou les métaux. Les charbons actifs sont également largement utilisés dans le milieu industriel (textile, encres, etc.) pour retenir la DCO. Cependant, les coûts d'investissement et de fonctionnement (régénération ou incinération) sont élevés (Crini et Badot, 2007). Ce type de traitement est donc peu utilisé par la filière papetière malgré son efficacité.

3.2. Techniques membranaires

Les procédés membranaires occupent une place privilégiée dans le traitement des eaux, surtout pour produire des eaux potables, en raison de leurs performances énergétiques et technico-économiques. Une membrane peut être définie comme une barrière séparant deux compartiments et permettant le passage d'au moins une espèce chimique parmi celles présentes sous l'action d'une force de transfert. Il existe différents types de membranes qui se distinguent par leur nature organique ou minérale, leur structure poreuse ou dense, et leur géométrie tubulaire ou sous forme de plaques par exemple. Cependant, le choix initial d'une membrane est difficile (Szymczyk et Fievet, 2007). Même avec un choix judicieux, les systèmes membranaires restent soumis à deux limites importantes. La première est le colmatage qui diminue le flux volumique de perméat dans le temps (ce phénomène entraîne une modification des propriétés de filtration notamment en terme de sélectivité). La seconde limite est la polarisation de concentration qui engendre un flux de diffusion à la surface de la membrane vers la solution, entraînant un phénomène de rétrodiffusion. Bien que des résultats intéressants aient été décrits dans la littérature (Karakulski et al., 1995 ; Abdessamed et al., 2000 ; Ravazzini et al., 2005 ; Adjalle et al., 2007), les techniques membranaires demeurent peu utilisées par la filière papetière, en raison, notamment, des coûts d'exploitation et des contraintes techniques.

3.3. Autres méthodes

D'autres méthodes existent pour traiter les eaux papetières. On trouve par exemple les méthodes d'électrocoagulation et d'oxydation avancée. Cependant, ces méthodes sont soit économiquement peu rentables, soit encore au stade de développement dans les laboratoires. Parmi les nouvelles méthodes décrites dans la littérature, on trouve également

les méthodes dites de biofloculation. Ces méthodes ne font pas encore l'objet d'estimation économique pertinente et sont en cours de développement. Néanmoins, ces techniques paraissent prometteuses de par leur efficacité chimique et leur intérêt environnemental, et pourraient être utilisées en substitution des produits conventionnels de traitement. Ces méthodes seront détaillées au chapitre suivant.

La mise en place d'un système de traitement des eaux usées dans une industrie correspond à une exigence réglementaire et à une nécessité environnementale. C'est par ce seul moyen que le milieu naturel peut être préservé des effets liés à la présence de polluants. La mise en place d'un système de traitement est conditionnée par plusieurs contraintes d'ordre économique, réglementaire, environnementale, sociale et médiatique. En effet, le coût d'installation et de maintenance, l'intégration dans l'environnement, l'acceptation des contraintes engendrées, sont autant de paramètres qui participent à la décision.

Dans un contexte de durcissement des réglementations environnementales, les industriels doivent sans cesse améliorer la qualité de leurs rejets. Mais quelles sont les méthodes de finition économiquement viables, chimiquement efficaces et écologiquement innovantes ? Il est difficile pour l'instant d'y répondre malgré les nombreuses recherches décrites dans la littérature. Dans la majorité des cas, les industriels choisissent pour l'instant d'optimiser les stations existantes pour des raisons essentiellement économiques. C'est le choix de la papeterie de Novillars qui, dans le cadre d'un partenariat avec l'UMR Chrono-Environnement, travaille depuis plus de 11 ans sur un programme de recherche pluridisciplinaire, axé sur l'optimisation physicochimique de la station de décontamination, sur l'utilisation de substances naturelles en remplacement des formulations commerciales à base d'aluminium utilisées par la papeterie et sur la mesure des impacts environnementaux dus aux rejets industriels.

Les réglementations de plus en plus strictes, les récentes campagnes environnementales sur les substances dangereuses et une opinion publique de plus en plus attentive et informée obligeront les industriels à se tourner vers des technologies innovantes à la fois plus efficaces chimiquement et plus respectueuses de l'environnement.

Chapitre 2 : Procédés de traitement des eaux par floculation

La grande majorité des systèmes de traitement des eaux se base sur le couplage coagulation/floculation. Cette méthode permet l'élimination des polluants particuliers (MES et colloïdes) et des polluants dissous dont les colorants. Ce traitement reste cependant relativement polluant car il utilise des produits à base de sels métalliques (aluminium et fer principalement) et des polymères de synthèse (polyacrylamides, etc.). Le manque de connaissances sur la toxicité chronique de ces coagulants et floculants amène à s'interroger sur le bien fondé de leur utilisation. Leur utilisation est d'ailleurs croissante car la législation conduit les industriels à diminuer de plus en plus leurs rejets polluants. De plus, leurs performances moyennes dans des conditions extrêmes en font des produits difficiles à manipuler (toxicité, corrosivité, etc.) et demandent une très bonne connaissance et une maîtrise des effluents (pH, charge, etc.). Des alternatives existent et sont décrites dans la littérature, notamment la biofloculation par le chitosane. Dans ce chapitre, le principe de la floculation et de la biofloculation seront d'abord décrits. Nous insisterons tout particulièrement sur les mécanismes mis en jeu dans les procédés de coagulation/floculation et nous décrirons les principaux coagulants/floculants utilisés par les industriels. Enfin, nous présenterons les principales propriétés et applications du chitosane, en détaillant son utilisation dans la floculation des eaux contaminées/polluées.

1 Principe et applications de la floculation

1.1. Généralités

La coagulation/floculation est un procédé de décontamination des eaux par déstabilisation des colloïdes et pontages des agrégats formés. Ce procédé est toujours couplé à un système de décantation, de flottation ou de filtration pour assurer la séparation liquide/solide. La coagulation sert à vaincre et à annuler les forces répulsives entre particules présentes dans une solution (pour commencer à faire des floes) et la floculation sert à faire croître les floes.

Le principe du procédé de coagulation est le suivant : les particules colloïdales dans l'eau possèdent une charge électrique qui est généralement négative (Divakaran et Pillai, 2002). Comme elles ont toutes la même charge, elles se repoussent et n'ont pas tendance à former des agrégats plus gros, et donc plus faciles à éliminer. Les ions positifs présents dans l'eau neutralisent la charge à la surface de la particule et forment une couche « liée » qui se déplace avec la particule (théorie de Helmholtz). Cette couche attire à son tour des ions négatifs inégalement répartis et formant la couche « diffuse » (théorie de Gouy-Chapman). Cette dernière ne se déplace pas avec la particule, d'où l'inégalité dans la densité et la répartition des ions la composant. Le but de la coagulation est alors de déstabiliser les particules colloïdales en annulant leur potentiel zêta. Ce potentiel zêta définit le comportement électrocinétique des particules, et par voie de conséquence leur stabilité dans la solution. En annulant ce potentiel, on déstabilise les particules et on favorise leur agrégation. Le procédé consiste à introduire dans l'effluent à traiter une substance chimique capable de décharger les colloïdes pour supprimer les forces répulsives entre les particules (répulsions inter-colloïdales) par des mécanismes de déstabilisation et de neutralisation de leur charge, et donc de déstabiliser l'équilibre électrocinétique des particules en suspension. Ainsi, elles peuvent commencer à s'agréger et à former des floes qui vont plus facilement croître lors de l'étape de floculation. Les produits utilisés, principalement des sels métalliques, sont appelés coagulants. Les théories de Helmholtz et de Gouy-Chapman sont rassemblées en une seule, dite théorie de la double couche ou théorie de Stern (Figure 1.11 ; Aamirtharajha et O'Mellia, 1990).

Le processus de coagulation n'est pas toujours optimal. Il produit, parfois, de petits floes fragiles qui se désagrègent facilement (Yukselen et Gregory, 2004). Cet inconvénient peut être compensé par une augmentation de la vitesse de sédimentation, par ajout d'aides-coagulants, d'aides-floculants ou de floculants qui rendront les floes plus résistants et plus denses (Stechemesser et Dobias, 2005; Bratby, 2007). En effet, la floculation permet

l'agglomération des particules colloïdales déstabilisées qui se sont formés lors de l'étape de coagulation : ceci permet aux particules de s'agglutiner entre-elles (i.e. leur masse augmente) pour former un agglomérat de colloïdes (le floc) qu'on pourra plus facilement décanter. La floculation nécessite également l'ajout d'un réactif chimique, principalement des polymères, appelé le floculant.

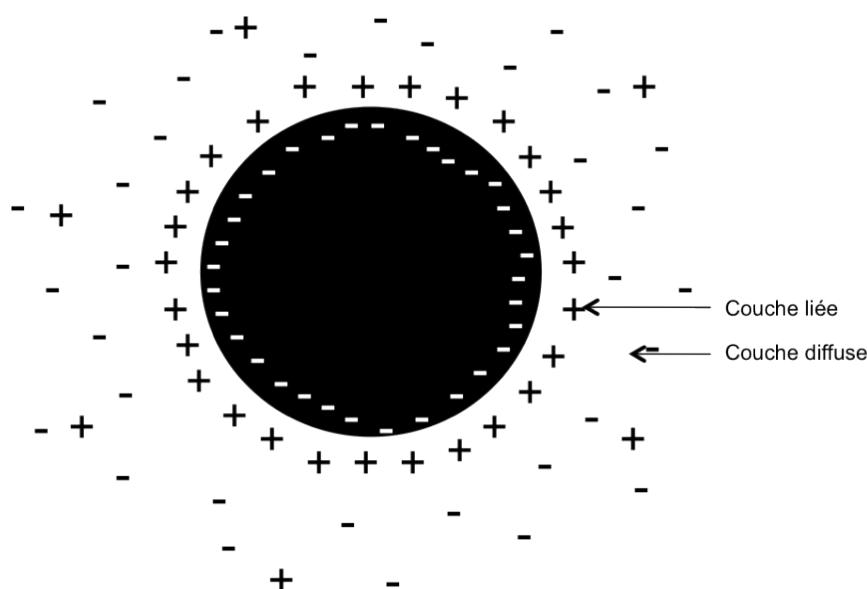


Figure 1.11 : Double couche d'une particule colloïdale, d'après Crini et Badot (2007).

1.2. Coagulants et floculants

Deux types de produits sont utilisés en tant que coagulant et/ou floculant :

- des **substances inorganiques** : additifs minéraux (chaux), sels métalliques hydrolysés (alun, sulfate de fer, chlorure ferrique, etc.), des sels métalliques pré-hydrolysés (chlorure de polyaluminium, silicate de polyaluminium, etc.), et des polyélectrolytes (aides coagulants), (Aguilar et al., 2005 ; Ahmad et al., 2008 ; Zouboulis et Moussas, 2008 ; Zouboulis et Tzoupanos, 2009) ;
- des **substances organiques** : polyélectrolytes anioniques ou cationiques, polymères non-ioniques, amphotères ou hydrophobes (Wong et al., 2006 ; Zhang et Wang, 2009).

Les principaux coagulants utilisés sont principalement des produits inorganiques comme le sulfate de fer ou d'aluminium, et le chlorure de polyaluminium, qui existe sous les

dénominations commerciales suivantes : PAC13, PAC18, COS90, WAC, etc. La performance des formulations à base d'aluminium a été maintes fois prouvée, de même que d'autres avantages comme leur faible coût, leur facilité à être manipulé et leur disponibilité. Cependant, l'utilisation de ces produits est une source de préoccupation et de débats quant à leur toxicité (Flaten, 2001 ; Bondy, 2010). Ils produisent des quantités considérables de boue dont la déshydratation et la gestion est souvent difficile. De plus, leur efficacité repose entièrement sur le pH et les flocs obtenus ne sont pas très résistants lors de la floculation en eaux froides. Malgré ces inconvénients, les produits à base d'aluminium sont les plus utilisés à l'échelle industrielle, soit en tant que coagulant, soit en tant que floculant.

Il existe plusieurs catégories de floculants : les produits inorganiques (essentiellement des sels métalliques), les polymères métalliques et les polymères organiques (Meysami et Kasaeian, 2005 ; Bolto et Gregory, 2007 ; Ahmad et al., 2008). Parmi ces derniers, les plus utilisés sont les polyacrylamides et les polyacryliques. La distinction est faite entre les floculants inorganiques et les floculants polymériques (Stechemesser et Dobias, 2005 ; Bratby, 2007). Les floculants inorganiques ont été abandonnés à cause de leurs nombreux désavantages (Bratby, 2007) comme les doses importantes à utiliser, le volume important de boues produites, la sensibilité au pH et leur inefficacité sur les petites particules. L'emploi des polymères organiques comme agents floculants a conduit à la remise en cause des formulations à dominante minérale et métallique. Ceci a permis de diminuer les teneurs en métaux et de réduire également la contamination des rejets. Enfin, ils permettent de produire des flocs de tailles plus importantes ce qui permet d'utiliser des décanteurs à vitesse plus élevée.

Les progrès technologiques ont permis la mise au point de polyélectrolytes et de systèmes mixtes organique-minérale plus efficaces (Takashi et Tomonori, 2007 ; Wu et al., 2007). Néanmoins, ces substances chimiques coagulantes et floculantes présentent également un danger en raison de leur caractère toxique ou écotoxique. En effet, les substances à base d'acrylamide suscitent, par exemple, de nombreuses interrogations (Crini et Badot, 2008), et la présence d'aluminium dans les composés mixtes, sel le plus utilisé dans le traitement des eaux, peut aussi constituer un danger (Kádár et al., 2001).

Il existe néanmoins quelques formulations commerciales à base de produits naturels (produits amyloïdes et algues) pouvant être utilisés à l'échelle industrielle. Il faut noter également l'abondante littérature sur le sujet, bien que le transfert industriel ne soit pas encore réalisé. En effet, les coagulants et floculants naturels (chitine, fungi, etc.) peuvent être utilisés efficacement dans les procédés de coagulation et de floculation bien qu'ils présentent un certain coût d'utilisation à prendre en considération.

1.3. Mécanismes de coagulation/floculation

Le processus de coagulation est complexe et il existe quatre différents types de mécanismes pour expliquer ce phénomène. Ces mécanismes sont les suivants :

- 1) la **compression de la double couche** : l'augmentation de la force ionique de l'eau réduit le volume et l'épaisseur de la couche diffuse ; ainsi, les forces de répulsion entre les particules sont réduites, ce qui facilite l'agglomération des colloïdes ;
- 2) l'**adsorption et la neutralisation des charges** : la charge négative des particules est neutralisée par l'ajout de cations et par adsorption de ceux-ci à la surface des particules ;
- 3) l'**emprisonnement des particules** dans le précipité : lorsqu'une quantité suffisante de coagulant est ajoutée, il se forme un précipité chargé positivement capable d'entraîner les particules chargées négativement ;
- 4) l'**adsorption et le pontage** entre les particules.

Le processus de coagulation et donc son mécanisme peut être influencé par plusieurs facteurs : concentration du coagulant, concentration des particules colloïdales, présence d'ions, potentiel zêta, température, pH, alcalinité et couleur. En général, les performances de la coagulation dépendent essentiellement du pH et de l'alcalinité de la solution.

La floculation est un processus qui favorise les contacts entre les particules colloïdales déstabilisées et leur agglomération, sachant que les deux mécanismes assurant la mobilité des particules sont le mouvement brownien (floculation péricinétique) et le brassage mécanique (floculation orthocinétique). L'utilisation d'un polyélectrolyte (polymère chargé ou non) en tant que floculant permet une adsorption des particules sur une macromolécule ce qui favorise la formation de floes plus denses. Il faut également noter que les macromolécules peuvent interagir entre elles jusqu'à former des ponts inter-macromoléculaires : on parle essentiellement alors d'un mécanisme de pontage. Les facteurs qui peuvent améliorer la (coagulation)-floculation sont le pH (pour l'élimination des colloïdes), le temps et le gradient de vitesse (pour la probabilité de chocs entre les particules). Les limites du procédé de floculation sont : La nécessité d'un prétraitement pour certains effluents (cas du Cr(VI) ou en présence d'une DCO trop élevée), le réajustement nécessaire du pH, la présence de plusieurs espèces métalliques, et la formation d'importantes quantités de boues chimique à traiter.

2. Biofloculation

On désigne par le terme biofloculant un floculant d'origine biologique. On peut citer les polysaccharides ou biopolymères, les algues ou les biomasses fongiques. Les biopolymères rassemblent des macromolécules naturelles comme l'amidon, la chitine, la cellulose, et leurs dérivés (chitosane, cyclodextrines).

L'idée d'utiliser des polymères naturels dans le traitement des eaux n'est pas neuve, ils étaient utilisés en Inde et en Chine il y a 2000 ans. Les biofloculants sont non toxiques, naturels et biodégradables. Ils sont issus des coproduits de l'industrie agroalimentaire ou marine. Ils peuvent être également produits, synthétisés ou transformés par « chimie verte » (chimie douce) ou génie biologique (biomasse, biosynthèse).

Les biofloculants utilisés dans le traitement des eaux sont généralement des polyélectrolytes cationiques. Cette nature cationique leur donne la capacité d'interagir avec les particules colloïdales et la matière organique, de charge en général négative. En effet, dans les conditions habituelles de pH (5~9), l'ensemble des particules porte une charge négative (Sharp et al., 2006) et sont souvent des colloïdes résistants à l'agrégation. La déstabilisation des colloïdes peut alors se faire soit par augmentation de la force ionique, soit par une diminution du potentiel zêta, soit par adsorption spécifique.

Les biofloculants ont les capacités intrinsèques nécessaires pour permettre la réalisation de ces phénomènes (neutralisation notamment). Enfin, ils possèdent une structure macromoléculaire porteuse de nombreux groupes chimiques. La diversité de ces groupes sur les biopolymères entraîne une diversité de fonctions et de mécanismes possibles.

Les trois biopolymères les plus abondants sur Terre sont par ordre d'importance : la cellulose, la chitine et l'amidon. Ces deux derniers biopolymères produisent des substances capables de jouer un rôle important dans le traitement des eaux. La chitine issue des exosquelettes de crustacés est un coproduit à haute valeur ajoutée, car elle permet d'obtenir, le chitosane, un biopolymère possédant un nombre exceptionnel d'applications industrielles. Les connaissances relatives à la chitine et au chitosane ont été passées en revue dans un ouvrage récent (Crini et Badot, 2009).

3. Le chitosane

La chitine ou poly(*N*-acétyl- β -D-glucosamine) est un polysaccharide d'origine marine (Figure 1.12), extrait essentiellement de la carapace des crustacés (principalement crevettes

et crabes). Sa structure chimique est composée d'unités de *N*-acétyl-*D*-glucosamine liées par des liaisons de type $\beta(1\rightarrow4)$. Le principal dérivé de la chitine est le chitosane ou poly(*D*-glucosamine), obtenu par désacétylation partielle en milieu basique. Le chitosane est un aminopolysaccharide soluble en milieu acide et possède un fort potentiel en raison de son caractère polycationique qui le distingue des autres polysaccharides et polymères naturels (qui sont en général anioniques). Les chaînes macromoléculaires de la chitine et du chitosane sont essentiellement caractérisées par leur masse moléculaire (MM) et leur degré d'acétylation (DA) ou de désacétylation (DD). La chitine et le chitosane suscitent un intérêt de plus en plus grand en raison de leurs nombreuses propriétés intrinsèques, et de leur large domaine d'application (domaine pharmaceutique, ingénierie biomédicale, cosmétique, etc.). Leurs propriétés physico-chimiques et biologiques, ainsi que leurs principales applications sont présentées et discutées dans ce paragraphe.

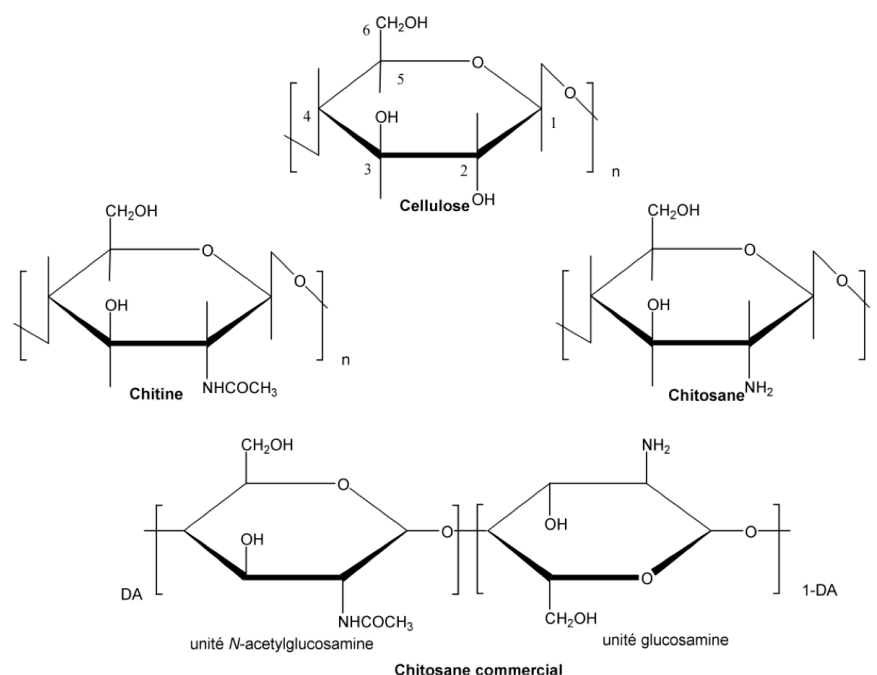


Figure 1.12 : Structures chimiques « théoriques » de la cellulose, de la chitine [poly(*N*-acétyl- β -*D*-glucosamine)], du chitosane [poly(*D*-glucosamine)] et du chitosane commercial (un copolymère caractérisé par son degré d'acétylation DA), d'après Crini et Badot (2009).

3.1. Généralités

3.1.1. Préparation de la chitine et du chitosane

Le procédé de fabrication de la chitine et du chitosane est résumé dans la Figure 1.13. Pour obtenir la chitine, les déchets sont d'abord broyés, puis les protéines, ainsi qu'une partie des molécules pigmentaires, sont extraites par une solution d'hydroxyde de sodium de concentration variable (en général 0,1-5 M) ; la température et la durée du traitement alcalin

peuvent également varier. Cette étape de déprotéinisation peut se faire également par voie enzymatique. Le carbonate de calcium présent dans la carapace est ensuite extrait par dissolution dans une solution d'acide chlorhydrique (concentration 1-10 M) à température ambiante (la durée du traitement acide est variable). Le résidu, une fois séché, constitue la chitine brute (faiblement désacétylée, DD ~ 20-30 %) qui peut être stockée comme un intermédiaire stable. A la fin de ces deux traitements (déprotéinisation et déminéralisation), il peut subsister une coloration due à des pigments incomplètement éliminés : on effectue alors une étape de décoloration par un agent oxydant (KMnO_4 , NaOCl ou H_2O_2) avec un risque de dépolymérisation et/ou d'oxydation des unités situées aux extrémités de la chaîne polymérique.

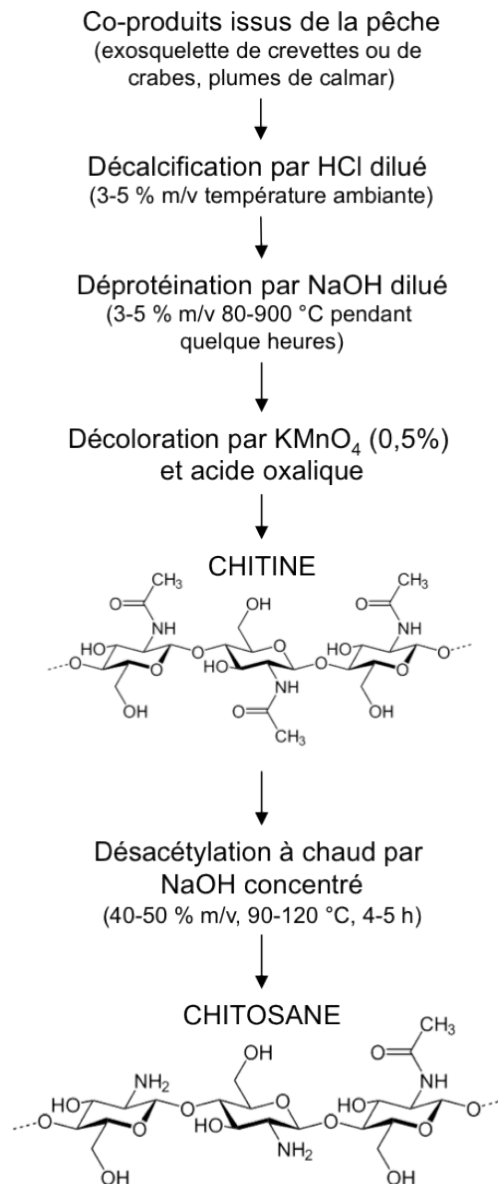


Figure 1.13 : Les différentes étapes de la synthèse de chitosane à partir de coproduits issus de l'industrie de la pêche, d'après Crini et Badot (2009).

La désacétylation en milieu basique de la chitine permet ensuite d'obtenir le chitosane, qui est son principal dérivé (Crini et Badot, 2009). A ce stade, les caractéristiques de différents lots de chitine (notamment en termes de DD et de MM) peuvent varier considérablement, en raison des conditions expérimentales choisies, qui peuvent être sensiblement différentes. Le choix de ces conditions opératoires est un véritable enjeu, en particulier pour la synthèse de polymères de haut poids moléculaire.

3.1.2. Degré de désacétylation et masse moléculaire

Le traitement alcalin conduit généralement à une désacétylation partielle. En effet, pour obtenir une désacétylation totale, il conviendrait de procéder à une série de traitements successifs avec le risque de voir diminuer de manière dramatique la MM du polymère. Ceci restreint l'utilisation à la synthèse de chitosane pour des applications très spécifiques à forte valeur ajoutée dans les domaines biomédical, pharmaceutique ou cosmétique. Hors de ces applications spécifiques, l'utilisateur recherche du chitosane à moindre coût avec comme corollaire une désacétylation incomplète, ce qui est le cas pour des applications en traitement des eaux.

En pratique, le chitosane et la chitine sont considérés comme des copolymères de même structure chimique globale constituée d'unités *N*-acétyl-D-glucosamine et D-glucosamine, dont la répartition fixe le DD. En réalité, la distinction entre ces deux biopolymères est fondée indirectement sur le taux de désacétylation (Crini et Badot, 2009). Une autre définition considère que c'est la solubilité du matériau dans une solution d'acide acétique qui permet de définir le copolymère comme de la chitine ou du chitosane. Une importante conséquence des propriétés acido-basiques du chitosane, résultant de la protonation des fonctions aminées porte, en effet, sur la solubilité du chitosane en milieu acide. Le paramètre DD (ou DA) est extrêmement important car il influence les propriétés des chaînes macromoléculaires des polymères et leur comportement en solution, à savoir : la solubilité du chitosane, la flexibilité des chaînes macromoléculaires, la conformation du polymère et donc la viscosité des solutions.

La seconde caractéristique importante est la masse moléculaire (MM), ou mieux encore la distribution des masses moléculaires. La valeur de la MM d'un chitosane dépend intimement du procédé de fabrication car celui-ci peut induire une dépolymérisation des chaînes macromoléculaires et/ou une dégradation lors de sa production (Crini et Badot, 2009). Les chaînes de chitosane ont des masses très élevées (jusqu'à 1-3 MDa dans le cas de produits extraits par des processus contrôlés d'extraction et de désacétylation mais en général, elles sont plus faibles, de l'ordre de 100 à 1500 kDa ; pour la chitine native, les masses peuvent atteindre plusieurs millions de Daltons). Les masses moléculaires des

produits commerciaux dépendent, en fait, du type d'application désirée : par exemple, dans le cas des applications dans le domaine du traitement des eaux, la MM est généralement comprise entre 100 et 500 kDa (Crini et Badot, 2009). En effet, il n'est pas nécessaire d'utiliser des chitosanes avec des MM élevées pour avoir des résultats intéressants. La MM affecte la solubilité du chitosane et ses propriétés rhéologiques, notamment sa viscosité. Elle peut également influencer significativement sur les propriétés des polymères en solution. La viscosité élevée de la solution peut, par exemple, limiter la possibilité de manipuler des solutions concentrées et d'obtenir des matériaux à forte densité en chitosane. Il s'agit alors de réaliser un compromis entre la rigidité du système (favorisée par des chitosanes de haute masse) et les propriétés rhéologiques de la solution (manipulation plus aisée pour des polymères de faible masse).

3.1.3. Propriétés

Le chitosane présente de nombreuses propriétés intrinsèques physiques, chimiques et biologiques, qui sont résumées dans le Tableau 1.4.

Tableau 1.4 : Caractéristiques intrinsèques du chitosane, d'après Crini et Badot (2008).

Propriétés chimiques et physiques	<ul style="list-style-type: none"> • Structure D-glucosamine rigide et cristalline • Aminopolysaccharide linéaire et hydrophile • % azote élevé • Capacité à former des liaisons hydrogènes (pouvoir viscosifiant) • Réactivité des groupements amino (chitosane) et hydroxyle (chitine et chitosane) • Base faible (pKa ~ 6,3) (caractère nucléophile de la fonction amine) • Insoluble dans l'eau et les solvants organiques • Soluble dans les solutions acides diluées (chitosane) • De nombreux groupements réactifs (activation chimique) • Conductivité ionique
Polyélectrolytes (à pH acide)	<ul style="list-style-type: none"> • Polyamine cationique (interactions avec des molécules anioniques) • Forte densité de charge • Excellent floculant • Propriétés chélatantes et complexantes • Propriétés d'encapsulation • Matériaux pour l'isolation de biomolécules
Propriétés biologiques	<ul style="list-style-type: none"> • Non-toxique • Biodégradable • Biocompatible (hémobiocompatible, absorbable, non fermentable) • Bioadhésif (muco-adhésivité, formation de films biologiques) • Bioactif (activités antimicrobienne et antifongique, agents antiacide, antiulcère et antitumorale, propriétés anticoagulantes et anticholestérol)
Autres	<ul style="list-style-type: none"> • Propriétés de rétention d'eau • Propriété d'adhésion à des surfaces chargées négativement (chitosane) • Propriétés filmogènes

Le chitosane est une substance (semi)-cristalline soluble dans la plupart des solutions organiques acides. L'acide le plus couramment utilisé pour préparer une solution de chitosane est l'acide acétique dilué. En général, le chitosane est parfaitement soluble à pH 3-4. Il est également soluble dans des solutions diluées (0,1-1 %) d'acides nitrique et chlorhydrique. En effet, les groupes aminés du chitosane sont protonés à partir de pH 3-4 et le polymère chargé positivement devient soluble. En revanche, le chitosane est insoluble dans les solvants purs et les acides concentrés, en raison de l'impossibilité d'hydrater le matériau (Divakaran et Pillai, 2002 ; Guibal et Roussy, 2007). Il est donc relativement stable en milieu acide concentré, même s'il se dégrade après une longue exposition. En revanche, en présence d'une faible quantité d'acide, il est soluble dans les mélanges aqueux contenant par exemple, 60 % de méthanol ou 40 % d'acétone.

Cependant, la solubilité du chitosane est un paramètre très difficile à contrôler car la valeur de DD influence fortement sa solubilité. Lorsque le DD est peu élevé, c'est-à-dire lorsque les groupements amines sont en faible quantité, le chitosane est peu soluble. En général, on utilise du chitosane avec un DD supérieur à 70 % pour augmenter sa solubilité (Crini et Badot, 2009). Celle-ci dépend également de la force ionique, du pH, de la nature de l'acide utilisé et de la distribution des groupes acétyles le long de la chaîne macromoléculaire. Le chitosane se décompose par chauffage à partir de 185 °C sans fondre.

Le chitosane est l'un des rares polyélectrolytes naturels cationiques. En milieu acide, il se comporte comme un polycation, à forte densité de charge, et dont l'état d'ionisation est décrit par l'équilibre suivant (Figure 1.14) :

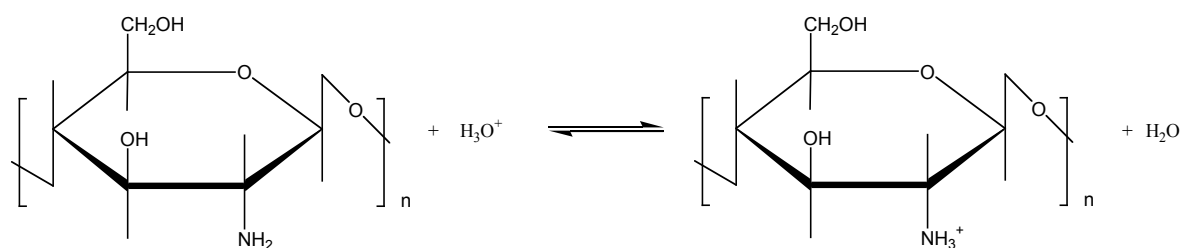


Figure 1.14 : État d'ionisation du chitosane (Crini et Badot, 2009).

Le chitosane est une base faible de pK_a compris entre 6,3-6,7, valeurs moyennes des échantillons commerciaux. Il se dissout donc en milieu acide par protonation des fonctions amines présentes sur la macromolécule. Pour un polymère faiblement acétylé (c'est-à-dire proche de 10-15 %, représentatif des échantillons commerciaux, de pK_a voisin de 6,3), la plupart des groupes aminés sont protonés en milieu acide ($pH < 5.5$). Lorsque le pH devient inférieur au pK_a , le chitosane devient cationique et par conséquent soluble (Guibal et al., 2006). Le chitosane se distingue de la cellulose par sa structure moléculaire chargée

positivement. Comme pour tout polyélectrolyte, le pK_a du chitosane dépend plus particulièrement du degré de neutralisation des groupes NH_3^+ , et donc du DD. En effet, mesuré à un même degré de neutralisation des groupes NH_3^+ , la densité de charges varie d'un DA à l'autre, et la charge électrostatique s'en trouve alors modifiée. Toutefois, quelle que soit la valeur du DA (comprise entre 0 et 25 %), pour les MM suffisamment élevées, on montre que la valeur limite du pK_a obtenue à un degré de neutralisation égal à 1 (c'est à dire pour un site supposé totalement isolé et non chargé) est d'environ 6,3 (c'est le pK_a intrinsèque du chitosane, noté pK_0). En général, la valeur du pK_a augmente quand le DD diminue.

Une autre caractéristique importante du chitosane concerne son comportement en solution, et en particulier sa viscosité. La viscosité des solutions de chitosane est liée à la conformation des chaînes macromoléculaires en solution. Ce paramètre est déterminé par viscosimétrie. La viscosité dépend non seulement du DD, mais aussi du pH car ces deux paramètres déterminent la densité de charge sur la chaîne de polymère. Lorsque celle-ci est élevée, la conformation des macromolécules est très étendue en raison des phénomènes de répulsion des charges et la viscosité des solutions est alors importante. En revanche, lorsque le polymère est peu chargé, les chaînes macromoléculaires sont sous forme de pelotes statistiques, caractérisées par une faible viscosité (phénomènes d'interactions entre les chaînes). Plus le pH est bas, plus la viscosité est forte. La viscosité augmente également avec le DD car plus le polymère est désacétylé, plus la proportion de groupements amines libres est importante et plus il est soluble. La viscosité augmente également avec la concentration et elle est fonction de la MM des chaînes macromoléculaires (Crini et Badot, 2009). Comme pour les autres polysaccharides, la viscosité chute lorsque la température augmente.

Une caractéristique générale des polysaccharides est la flexibilité limitée de la chaîne macromoléculaire due à l'empêchement stérique imposée par les liaisons glycosidiques. De plus, pour les polysaccharides ioniques, l'apparition d'interactions électrostatiques répulsives peut augmenter leur rigidité. Le chitosane est souvent considéré comme un copolymère cationique, linéaire et flexible. Cependant, la rigidité dépend également du DD et elle diminue avec le DD. Le DD n'est pas le seul paramètre à influencer sur les propriétés du polymère. La répartition des différents constituants le long de la chaîne est également importante car, suivant la distribution aléatoire ou par blocs des unités glucosamines, le chitosane présente des propriétés différentes. La présence de blocs d'unités *N*-acétylées modifie la solubilité du chitosane et confère également au polymère un caractère plus hydrophobe, et donc des propriétés auto-associatives telle que des propriétés gélifiantes (Crini et Badot, 2009). De plus, si le DD fixe la fraction de groupements aminés dans le

nombre total d'unités sur la chaîne du polymère, il ne permet pas de connaître le nombre de groupes aminés réellement accessibles et disponibles. En effet, l'établissement de liaisons inter- et intra-chaînes et la cristallinité intrinsèque du polymère limitent respectivement la disponibilité et l'accessibilité des groupes aminés pour l'eau, et aussi pour d'autres substrats (protéines, ions métalliques, colorants, etc.).

Le chitosane est un matériau non-poreux ayant des surfaces spécifiques de l'ordre de quelques $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ à quelques centaines de $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$ sous des formes physiquement modifiées. C'est un matériau très stable en phase solide (sèche) et il a une conservation quasi infinie. En solution, il est relativement fragile et dégradé. Il possède un degré élevé de réactivité chimique dû à son groupe amine primaire libre qui lui confère une forte densité de charges positives (transformation de NH_2 en NH_3^+ en milieu acide). De plus, la présence de la fonction amine le long de la chaîne macromoléculaire, permet, comparativement à la cellulose, de réaliser des réactions chimiques spécifiques à cette fonction telles que la *N*-alkylation ou la *N*-carboxylation (Crini et Badot, 2009).

Une autre propriété intéressante du chitosane (et également de la chitine) concerne son aptitude à interagir avec d'autres substances chimiques (ions, molécules, macromolécules) grâce à une structure chimique particulière, qui lui confère des capacités à interagir, complexer ou adsorber. Ce comportement est essentiellement attribué (Crini et Badot) :

- aux **propriétés hydrophiles** des chaînes macromoléculaires dues à la présence de nombreux groupes hydroxyles des unités glucose (possibilité de ponts hydrogène et de liaisons intra et/ou inter-macromoléculaires) ;
- à la **présence de groupes fonctionnels** (hydroxyle, acétamide et amine) et à leur grande réactivité ;
- et à la **structure flexible des chaînes de polymères** (fonction du pH et de la température).

Le chitosane et la chitine possèdent ainsi des propriétés de rétention d'eau, de chélation d'ions, de complexation et d'adsorption de molécules ou de polymères. Le chitosane montre de plus des propriétés d'adhésion à des surfaces chargées négativement. Son caractère cationique en milieu acide permet l'adsorption de cations comme les colorants anioniques ou les anions métalliques. Cette association sélective avec les espèces anioniques fait du chitosane un excellent agent de floculation dans le traitement des eaux polluées. Il peut aussi former des complexes polyanion-polycation menant à la préparation de membranes. La polycationicité est d'un grand intérêt puisque les chaînes macromoléculaires de la polyamine sont dotées d'une forte densité de charges positives à

l'inverse de la plupart des autres polymères naturels chargés négativement. Cependant, les propriétés du chitosane dépendent fortement du pH. Au-delà d'un pH de 6,5, il précipite et la chaîne macromoléculaire ne comporte plus de groupements ionisés. Il possède alors de bonnes propriétés chélatantes dues, en particulier, au doublet électronique de l'atome d'azote qui devient disponible (Crini et Badot, 2008).

Comme la plupart des polysaccharides, le chitosane, en raison de la liaison glycosidique β -(1→4), est un polymère semi-rigide et, à ce titre, un bon agent épaississant c'est-à-dire qu'il augmente fortement la viscosité de la solution. En particulier, la possibilité de formation de ponts hydrogènes inter-chaînes augmente ses performances, allant jusqu'à lui conférer un comportement de type gel physique faible. En plus de ces interactions, les liaisons glycosidiques sont responsables des excellentes propriétés filmogènes de la chitine et du chitosane. Ces biopolymères possèdent également des propriétés biologiques, propriétés qui sont à la fois variées et complémentaires. Bien que l'intérêt porté à la chitine et au chitosane ne date réellement que d'une trentaine d'années, les études sur ces applications dans le domaine biomédical ne cessent actuellement de se développer (Ananthanarayanan et Natarajan, 2009 ; Ueno et al., 2001 ; Senel et McClure, 2004 ; George et Abraham, 2006 ; Shi et al., 2006 ; Jayakumar et al., 2010a, 2010b ; Kim et al., 2010a). La dose létale pour 50 % de la population étudiée (LD_{50}) du chitosane est la même que pour le sel ou le saccharose (Crini et Badot, 2009).

Pour résumer, il faut retenir que la chitine est un polysaccharide abondant, le plus important sur terre après la cellulose, provenant d'une ressource biologique et bon marché car extraite des carapaces des crustacés. Son principal dérivé, le chitosane, a un fort intérêt scientifique, technique et économique à cause de son fort pourcentage d'azote comparé aux celluloses synthétiques substituées et de ses nombreuses propriétés physico-chimiques et biologiques. Les propriétés originales de cet amino-polysaccharide sont essentiellement liées aux groupements aminés des chaînes macromoléculaires. De plus, le chitosane se distingue de la cellulose et de la chitine non seulement par sa structure moléculaire chargée positivement, mais aussi par sa versatilité chimique en termes de mise en œuvre et de mise en forme. Les nombreuses propriétés physico-chimiques et biologiques du chitosane ont donné lieu à de nombreuses applications qui sont passées en revue dans le paragraphe suivant.

3.1.4. Applications

La chitine et surtout le chitosane trouvent des applications importantes dans différents domaines en raison de leurs nombreuses et diverses propriétés que nous venons d'énumérer. En pratique, toutes les applications du chitosane sont intimement liées à son

caractère polycationique qui est unique parmi les polymères naturels. De nombreux brevets internationaux sur l'utilisation de la chitine et du chitosane ont été ainsi déposés ces dernières années dans des secteurs variés comme les industries cosmétiques, biomédicales ou alimentaires (Crini et Badot, 2008). On dénombre actuellement plus de 2 000 applications concrètes (Tableau 1.5).

Tableau 1.5: Applications du chitosane dans différents domaines, d'après Crini et Badot (2009).

Domaine d'application	Application
Médecine humaine et vétérinaire, Pharmacie	Régénération tissulaire (peau, organe, os, etc.) Stimulation du système immunitaire Vaisseaux sanguins artificiels Pansements Fils de sutures chirurgicaux bio-résorbables Agent anticoagulant, hémostatique, bactériostatique, spermicide, anti-infectieux, anti-bactérien, anti-fongique, anti-tumeur Transfection (introduction d'ADN exogène dans des cellules) Rétention d'eau ou d'ions, membrane de dialyse (ingénierie biomédicale) Matériel absorbable avec possibilité de contrôle de libération de principes actifs (relargage de médicaments) Excipients Formation de gels et microcapsules avec des polymères anioniques Produits diététiques, amaigrissant Crèmes de soins, produits dermatologiques (traitement de l'acné) Lentilles de contacts Fixateur de graisses Dentisterie (implant, gel)
Cosmétique	Rétention (humidité) Agent hydratant (humidifiant), anti-électrostatique (propriétés de gainage), épaississant (gélifiant), démêlant, de liaison, stabilisant (émulsion), anti-allergique Lotions, shampoings, produits de rinçage Produits déodorants Laques, aérosols Filtres solaires Coloration (colorants)
Agroalimentaire	Additifs (liant, émulsifiant, stabilisant, épaississant, de conservation) Restructuration des purées de fruits, de légumes ou de viandes Stabilisation de la couleur et des arômes Clarification, désacidification et détoxifiant des boissons et des liquides alimentaires Effet antioxydant (prévention de l'oxydation) Extraction du fer (mauvaise odeur dans les viandes) Alimentation diététique (fixation du cholestérol, acides gras, mono-glycérides) Bioconversion pour la production de produits à haute valeur ajoutée alimentation animale Formation de films (emballage)
Agriculture	Enrobage de semences (encapsulation) Immobilisation cellulaire (horticulture) Fongicide (« bio-pesticide ») Fertilisant Protection des cultures Traitement des sols

Tableau 1.5 (suite).

Domaine d'application	Application	
Autres	Industrie chimique	Super-absorbants
		Séparations membranaires (filtration)
		Osmose inverse
		Chromatographie (liquide, gazeuse)
		Cristaux liquides
	Biotechnologie	Immobilisation des cellules et des enzymes Matrice pour culture et régénération cellulaire Membranes
Papeterie textile	Rétention d'eau (filières papetière et textile) Additifs pour pâtes à papiers (augmentation de la résistance du papier à la déchirure) Agent anti-bactérien et imperméabilisant dans la filière textile Nanomatériaux « intelligents »	
Œnologie	Clarification, désacidification et stabilisation des vins Traitement préventif ou curatif des vignes	
Photographie	Films photographiques, extraction de l'argent	
Autres	Acoustique (membrane des haut-parleurs)	

C'est le domaine de la diététique qui utilise le plus de chitosane avec 1000 tonnes consommées en 2000 dans le monde. Il existe actuellement un marché industriel en expansion autour de la production de biopolymères à base de chitosane d'origine fongale de haute pureté, reproductibles, hypoallergéniques, particulièrement utilisés dans le domaine médical : ingénierie cellulaire, cicatrisation des plaies, support de culture, thérapie génique, cancérologie, ophtalmologie etc. Au niveau fondamental, ce sont les membranes et les nanomatériaux à base de chitosane qui suscitent actuellement de nombreuses recherches.

3.2. Le chitosane dans le traitement des eaux

3.2.1. Généralités

Les propriétés polyélectrolytes, chélatantes et complexantes du chitosane en font un bon matériau pour des applications environnementales dans le domaine du traitement des eaux usées (Tableaux 1.6 et 1.7). Le chitosane peut être utilisé aussi bien à l'état solide qu'en solution. Cette application étant basée sur le caractère polycationique du polymère en milieu acide, son efficacité varie selon la concentration en polymère et le pH du milieu. Néanmoins, la solubilité du chitosane en milieu acide ouvre la porte, en traitement des eaux, à de nombreuses applications dans le domaine de la coagulation-floculation, de la chélation, de l'adsorption ou de l'ultrafiltration assistée par complexation (par exemple dans le cas de la

complexation d'ions métalliques et séparation par membrane). Dans le domaine des eaux industrielles usées, il peut être utilisé comme agent coagulant (ou floculant), chélatant ou adsorbant pour séparer et complexer une large gamme de polluants comme le montrent les nombreuses études faites en laboratoire (Divakaran et Pillai, 2002 ; Eikebrokk et Saltnes, 2002 ; Strand et al., 2002 ; Bratskaya et al., 2004 ; Guibal, 2004 ; Meysami et Kasaeian, 2005 ; Laus et al., 2007 ; Annadurai et al., 2008 ; Rizzo et al., 2008b ; Renault et al., 2009b). Son fort pouvoir chélatant et adsorbant lui permet, par exemple, d'éliminer au sein des effluents industriels les métaux, les molécules aromatiques et phénoliques, et les colorants, même à l'état de traces (Safarík, 1995 ; Varma et al., 2004 ; Cheung et al., 2009 ; Spagna et al., 2010). Ses excellentes propriétés floculantes peuvent permettre l'élimination des matières minérales (colloïdes, acides humiques) et organiques (effluents agroalimentaires, papetiers et textiles), mais aussi des microorganismes, et en font un matériau de choix pour le traitement des eaux usées utilisant des procédés physico-chimiques en traitement primaire.

Tableau 1.6 : Applications du chitosane dans le domaine de l'environnement, d'après Crini et Badot (2009).

Champ d'application	Applications	Caractéristique principale
Traitement de l'eau (eaux potables, eaux usées, eaux de piscines, eaux de process)	Ingénierie de l'eau Clarification des eaux Réduction de la turbidité dans les eaux de production alimentaire Coagulation des MES, des particules minérales et organiques Floculation de populations bactériennes Adsorption Interactions avec les molécules chargées négativement Chélation de cations Réduction des odeurs	Toxicité très faible Biodégradable Ressource renouvelable Environnementalement acceptable Bactériostatique, virucide, fongicide
Chélation de métaux	Enlèvement du fer et du manganèse des piscines Réduction des métaux toxiques et radio-isotopes Récupération de métaux réutilisables ou précieux	Élimination de polluants par chélation
Décoloration des eaux	Élimination de la couleur	Capacité à l'encapsulation Élimination de polluants par complexation/chélation
Filtration membranaire	Filtration et séparation	Formation des sels avec les acides organiques et inorganiques
Traitement des boues	Déshydratation	Capacité à former des ponts hydrogène intermoléculaires

Une autre application récente consiste à immobiliser des microorganismes ou des boues dans des matrices polymères à base de chitosane pour traiter des eaux contaminées sur le principe de l'encapsulation (Crini et Badot, 2009). Cette immobilisation permet une utilisation dans des conditions environnementales extrêmes (pH extrêmes, présence de solvants organiques, etc.). Elles favorisent aussi la réutilisation des microorganismes et permet ainsi la mise en œuvre de procédés en continu. Le chitosane est également utilisé dans le traitement des boues, notamment comme agent de déshydratation.

Tableau 1.7 : Quelques exemples d'utilisations du chitosane dans le traitement des eaux de différentes filières industrielles.

Industries	Forme de chitosane utilisée	Références
Production d'huile d'olive	Dissous	Meysami et Kasaeian, 2005
Production d'huile de palme	Dissous	Ahmad et al., 2006
Batterie	Réticulée	Chauhan et Sankararamakrishnan, 2008
Batterie	Solide	Paulino et al., 2008
Imprimerie	Solide	Chen, 2008
Laiterie	Dissous	Chi et Cheng, 2006a
Extraction de charbon	Solide	Laus et al., 2007
Aquaculture	Dissous	Lertsutthiwong et al., 2009
Papeterie	Dissous	Renault et al., 2009b
Textile	Solide	Sakkayawong et al., 2005
Fabrication de surimi	Dissous	Wibowo et al., 2005

3.2.2. Pourquoi utiliser du chitosane dans les procédés de floculation ?

Dans un contexte mondial de réduction de la masse des déchets, la réutilisation de coproduits de fabrication fait partie aujourd'hui des priorités en matière de développement durable. Or, le chitosane est obtenu à partir de la chitine qui est trop souvent considéré comme un déchet issu de l'exploitation de la mer. C'est donc une substance bon marché et environnementalement intéressante.

Les deux principaux avantages souvent mis en avant concernant l'utilisation du chitosane en tant qu'agent flocculant sont d'une part, l'excellente capacité de chélation et de complexation des chaînes de polymère vis-à-vis de nombreux polluants dont les métaux et les colorants (due à sa polycationicité et à sa forte densité de charges), et d'autre part, sa

biodégradabilité. Le chitosane est, en effet, plus facile d'utilisation que les sels métalliques : il est non toxique, non-corrosif, fonctionne également à basses températures, et réduit la quantité de boues produites (Crini et Badot, 2008). Ces boues sont biodégradables et moins toxiques que les boues formées par des sels métalliques. Le législateur a encadré l'épandage de boues issues de station d'épuration pour en assurer l'innocuité sur l'homme et l'environnement (AFNOR, 1985 ; Parlement européen, 1986; Loi sur l'eau, 1992 ; Loi sur les déchets, 1975). Il pourrait être plus facile d'atteindre les critères d'épandage des boues lors d'un traitement par le chitosane plutôt que par un traitement par les sels métalliques.

La coagulation/floculation par du chitosane produit des floccs plus larges et de meilleure qualité. Ces floccs sédimentent plus rapidement que ceux formés par du PAC. De plus, certaines analyses économiques montrent que la substitution du PAC par du chitosane pourrait être économiquement plus avantageuse (Zeng et al., 2008).

Néanmoins, le chitosane fonctionne dans une gamme de pH limitée (entre 5 et 9). Il a un effet négatif s'il est apporté en excès et ses performances sont dépendantes de la qualité de la matière première utilisée pour sa production (Crini et Badot, 2008). Le chitosane doit être également caractérisé à chaque utilisation : un changement dans sa structure, dans les groupes chimiques qu'il possède ou dans son degré de désacétylation, peut en effet modifier de façon importante ses capacités de floculation (Bhatnagar et Sillanpää, 2009). Enfin, le chitosane a un prix très supérieur au PAC. Ces désavantages et le manque de recul sur l'utilisation du chitosane dans des conditions réelles sont autant d'arguments avancés par les industriels contre son utilisation en routine. Pourtant, le chitosane fait déjà l'objet de nombreuses études et essais de décontamination au niveau laboratoire.

3.2.3. Mécanisme de coagulation/floculation

Comme indiqué au paragraphe 1.1 de ce chapitre, plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer la floculation par des biopolymères. Parmi les plus courants, on trouve : le pontage, la neutralisation des charges et l'adsorption. La co-précipitation et le patch électrostatique sont également cités. Beaucoup de travaux affirment que le chitosane utilisé dans sa forme soluble interagit essentiellement par un double mécanisme de coagulation et de floculation. Ce mécanisme serait à la fois de la neutralisation de charges (coagulation) et du pontage entre les agrégats (floculation). La plus grande différence entre le chitosane et les sels métalliques réside dans le phénomène d'hydrolyse des sels d'aluminium au contact de l'eau ce qui entraîne une réaction d'adsorption rapide. Le chitosane, quant à lui, ne s'hydrolyse pas (Bratby, 2007).

On peut résumer le mode d'action du chitosane soluble par le schéma de la Figure 1.15 : la coagulation par neutralisation des charges déstabilise les contaminants colloïdaux et agglomère les petites particules néo-formées en agrégats de plus grande taille (pontage). Les substances organiques dissoutes sont adsorbées sur ces agrégats, et peuvent ensuite être facilement éliminées par une séparation solide/liquide (filtration, flottation ou sédimentation).

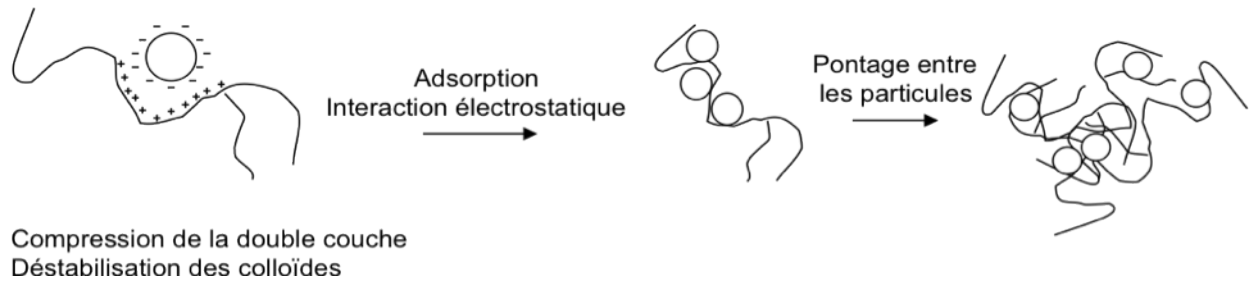


Figure 1.15 : Mécanisme général de la coagulation-floculation par le chitosane, d'après Bratby (2007).

La déstabilisation des colloïdes par neutralisation des charges implique la présence d'un apport optimum qui, s'il est dépassé, entraîne la re-stabilisation des colloïdes (Ruhsing Pan et al., 1999) et donc une perte d'efficacité dans le processus de décontamination. En effet, comme l'ont observé, entre autre Chi et Cheng (2006b), une concentration trop importante de chitosane provoque une inversion de charges conduisant à une re-stabilisation des colloïdes et donc à une diminution de l'efficacité épuratoire.

3.2.4. Exemples d'utilisations

De nombreuses références sur l'utilisation de chitosane en tant que coagulant et/ou floculant se trouvent dans la littérature. Le chitosane montre une grande affinité envers plusieurs contaminants/polluants. Il permet de faire coaguler ou floculer :

- de la matière organique naturelle ;
- des substances humiques ;
- des suspensions inorganiques ;
- des cations métalliques ;
- des molécules de colorants ;
- des composés phénoliques et aromatiques ;
- des protéines ;
- des huiles et des graisses ;
- ou encore des suspensions bactériennes et algales.

Néanmoins, ces études se concentrent presque exclusivement sur des résultats portant sur la mise en évidence de l'élimination de particules par des mesures de matières en suspension (MES) et de turbidité. En effet, peu d'études utilisent la Demande Chimique en Oxygène (DCO) comme paramètre de mesure de l'efficacité (Tableau 1.8). Ceci peut s'expliquer par l'apport éventuel de DCO par la solution de chitosane utilisée. En outre, la majorité des essais est réalisée sur des solutions préparées en laboratoire ou des effluents peu complexes c'est-à-dire variant peu dans le temps ou ne contenant qu'un nombre limité de polluants.

Tableau 1.8 : Effet du chitosane soluble sur l'abattement de DCO et de la turbidité sur différents types d'eau.

Type d'eau	Abattement de turbidité	Abattement de DCO	Références
Papeterie	85 %	60 %	Rodrigues et al., 2008
Papeterie	85 %	80 %	Renault et al., 2009b
Laiterie		70 %	Chi et Cheng, 2006b
Imprimerie	97 %	80 %	Chen, 2008
Eau résiduaire urbaine		52,5 % ^a	Zeng et al., 2008
Huile	90 %		Meysami et Kasaeian, 2005
Huilerie	85 % ^b	93 % ^b	Rizzo et al., 2008a
Décharges		45 %	Zouboulis et al., 2004
Kaolinite	90 %		Divakaran et Pillai, 2001
Bentonite	90 %		Chen et al., 2003
Eaux de rivières	95 %		Divakaran et Pillai, 2002

^a avec PAC

^b avec oxydation avancée

Les premières études ont été publiées dans les années 1975-1978 par Bough et ses collaborateurs (Bough, 1975b, 1975a, 1976 ; Bough et Landes, 1976, 1978 ; Bough et al., 1975, 1978a, 1978b). Ces auteurs ont montré l'efficacité du chitosane pour abattre les MES d'effluents issus de l'agroalimentaire (poulaillers, œufs, fromages, viandes, gâteaux, pêche et légumes). Leurs études ont montré que l'abattement des MES variait entre 65 % et 99 %. De bons résultats ont aussi été obtenus pour la turbidité et la demande biochimique en oxygène (DBO). Dans certain cas, le chitosane est utilisé comme aide coagulant et est alors le complément des polyélectrolytes ou des sels métalliques. Les capacités intrinsèques du chitosane à se comporter comme un coagulant/floculant ont été depuis démontrées dans de

nombreux travaux (Bratskaya et al., 2004 ; Wibowo et al., 2005 ; Guibal et Roussy, 2007 ; Rodrigues et al., 2008 ; Lertsutthiwong et al., 2009). Les capacités coagulantes et floculantes du chitosane ont permis une réduction significative des MES, de la turbidité, de la DCO, et de polluants dissous. Cette capacité s'exprime par des mécanismes de neutralisation des charges et la formation de ponts entre les agrégats. Guibal et ses collaborateurs (Roussy et al., 2004, 2005 ; Guibal et Roussy, 2007) ont montré que le chitosane possède à la fois les caractéristiques d'un coagulant et d'un floculant. Ahmad et al. (2006) ont floculé un effluent gras issu de la production d'huile de palme et ont obtenu de meilleurs résultats en comparaison du PAC et de l'alun. D'autres recherches ont montré que le chitosane avait également des performances appréciables dans la coagulation de suspensions solides contenues dans des déchets alimentaires d'origines animale et végétale. Grâce à sa grande capacité de coagulation, le chitosane parvient à éliminer plus de 90 % des déchets organiques, et à réduire ainsi la DCO de rejets agroalimentaires.

Nous avons réalisé un état de l'art (Renault et al., 2009a) sur l'utilisation du chitosane comme biofloculant dans le traitement des eaux qui a montré que les performances du chitosane sont dépendantes des facteurs suivants :

- l'origine et la nature du chitosane, en particulier les caractéristiques intrinsèques comme le DD ou la MM et les conditions d'activation du polymère brut (modification chimique du biopolymère par exemple) ;
- l'influence du process : les équipements, l'addition de réactifs, le dosage, le type d'acide utilisé pour la solubilisation du chitosane, le temps de réaction, le taux d'agitation et la vitesse ;
- la chimie des polluants (type de polluants et leurs propriétés physico-chimiques comme leur polarité et leur hydrophobicité) ;
- les conditions physico-chimiques de la solution (pH, force ionique, potentiel zéta, couleur, concentration en particule colloïdale, présence d'impuretés, etc.).

La solubilité est le premier facteur important rapporté dans la littérature. Le chitosane peut être dissous dans les acides carboxyliques ou inorganiques. Le solvant le plus utilisé pour dissoudre les chaînes biomacromoléculaires est l'acide acétique. Cependant, Huang et al. (2000) propose d'utiliser un acide minéral (HCl) plutôt qu'un acide organique (CH₃COOH) pour éviter de rajouter du carbone organique à la solution et donc de la DCO. La viscosité de la solution finale de chitosane dépendra de la concentration initiale en acide. La dissolution peut être facilitée par chauffage (Meysami et Kasaeian, 2005) ou par hydratation préalable du biopolymère (Guibal et al., 2006). Divakaran and Pillai (2004) ont montré que l'eau de

dilution avait une importance dans la préparation des solutions. Le chitosane est plus efficace lorsque l'eau employée est de l'eau du robinet plutôt que de l'eau distillée, et ceci est à mettre en relation avec la modification de la force ionique de la solution. Nous avons utilisé des solutions commerciales de chitosane prêtes à l'emploi ou préparées en laboratoire à partir d'acide acétique.

Le second facteur important est le pH car il influence la déprotonation des groupes amines ce qui peut entraîner une modification de la conformation du biopolymère et donc une modification de la structure des floccs. En effet, dans une solution acide ($\text{pH} < \text{pK}_a$), on considère que la majorité des groupes amine du chitosane est protonée ($\text{NH}_2 \rightarrow \text{NH}_3^+$), ce qui peut entraîner des phénomènes de répulsion entre les groupes. Le biopolymère présente alors une conformation plus étendue de sa chaîne. La macromolécule, globalement cationique, peut déstabiliser les colloïdes à éliminer par une neutralisation des charges négatives, ce qui permet alors leur agglomération par un mécanisme de pontage (Roussy et al., 2004). D'une manière générale, plus on diminue le pH, moins la concentration de chitosane devra être importante pour obtenir un même effet. Cependant, dans ces conditions, le chitosane produit des floccs plus petits et plus légers alors que dans une solution neutre, les floccs seront plus larges et denses en raison de la conformation des macromolécules repliées sur elles-même (Roussy et al., 2004). Cependant, les mêmes auteurs ont observé, pour des pH élevés ($\text{pH} \sim 9$), une augmentation de l'efficacité du procédé pour des concentrations élevées de chitosane. À ce pH, la plupart des groupes amines sont déprotonés et ne sont donc pas disponibles pour la neutralisation des charges. Le chitosane agirait alors par piégeage des colloïdes dans son réseau macromoléculaire. De plus, la précipitation du chitosane favoriserait ce mécanisme de piégeage dans le réseau (encapsulation).

Roussy et al. (2004) ont également montré que l'efficacité du chitosane est plus importante lorsque le pH de la solution est inférieur au pK_a (6,3) de la macromolécule. Ces résultats ont été confirmés par la suite par Chung (2006) suite à des travaux sur l'élimination des MES, de la DCO, des composés organiques et de la turbidité présents dans des effluents piscicoles. L'efficacité du procédé est liée à un DD élevé et un pH bas. Huang et al (2000) ont montré que la densité des charges et l'efficacité du chitosane était directement proportionnelle au DD. En réalité, les paramètres DD, MM et pH sont intimement liés bien que les résultats soient parfois contradictoires. Guibal et ses collaborateurs (Guibal et al., 2005 ; Guibal et Roussy, 2007) ont montré que la MM du chitosane n'avait pas d'effet sur le dosage pour la floculation d'acides humiques. En effet, la nature complexe et flexible des acides humiques pourrait limiter l'influence de la MM. En revanche, dans le cas de la bentonite, Roussy et al. (2005) ont observé une diminution des performances lorsque la MM

diminuait. Cet effet est moins marqué pour des suspensions de kaolinite (Roussy et al., 2004). Enfin, l'augmentation de la concentration en biopolymère diminue l'effet de la MM. Les auteurs ont conclu que le chitosane pourrait être une alternative aux sels métalliques dans les procédés de traitements des eaux.

Les caractéristiques physico-chimiques des polluants jouent également un rôle important pour expliquer les différences en matière de performances épuratoires. Les systèmes de coagulation/floculation ont été beaucoup utilisés comme prétraitement pour éliminer les MES et les colorants. Cependant, un certain nombre de colorants, particulièrement les colorants réactifs, sont difficiles à éliminer. Guibal et ses collaborateurs (Guibal 2004, Guibal et al. 2005, Guibal et Roussy 2007, Roussy et al. 2004, 2005) ont démontré la bonne capacité du chitosane à coaguler/floculer les particules en suspension mais aussi les polluants dissous. L'élimination de la couleur a été réalisée en utilisant du chitosane soluble ou des billes insolubles. Les auteurs ont montré que la solubilisation du chitosane augmente l'accessibilité des sites réactifs par rapport à l'état solide. D'autres études se sont concentrées sur les interactions entre le chitosane et les colorants. Sanghi and Bhattacharya (2005) ont montré que le chitosane utilisé comme aide coagulant est très efficace dans la décoloration des colorants acides (anioniques) et directs (anioniques avec une structure plane). Ils ont aussi montré que les colorants réactifs contenant des groupes anthraquinone sont très difficiles à éliminer. Ganjidoust et al. (1997) avaient précédemment montré que le chitosane dans les procédés de biofloculation éliminait plus de couleur et de carbone organique total que les polymères synthétiques (polyacrylamide, polyéthylèneimine) ou les sels métalliques (alun). Des résultats similaires ont été par la suite observés par Rodrigues et al. (2008) et Wang et al. (2007) pour le traitement d'effluents issus des industries papetières. Dans ces études, le mécanisme mis en jeu est essentiellement de l'adsorption par pontage. Les interactions entre les colloïdes inorganiques et le chitosane ont été détaillées par Roussy et al. (2004). Ils ont montré que la floculation de bentonite ne demande pas de grandes quantités de chitosane (0,2 - 0,5 mg L⁻¹). Après optimisation des caractéristiques du polymère, la dose s'abaisse à 0,1 mg L⁻¹. Ces recherches ont montré que le chitosane possède une intéressante affinité pour les colloïdes inorganiques. Cependant, le chitosane n'a pas donné d'aussi bons résultats avec la kaolinite ce qui contredit les travaux publiés par Divakaran and Pillai (2001, 2004).

Des études sur la complexation d'algues ont été également publiées. Divakaran and Pillai (2002) ont réduit la concentration algale présente dans un effluent par floculation suivie d'une simple sédimentation. Dans ce cas, ce n'est pas seulement le caractère coagulant du chitosane qui est utilisé, mais également son caractère bactériostatique. Chung (2006) a montré que le biopolymère n'abattait pas seulement la DCO, la turbidité, les MES et les

composés inorganiques, mais aussi les agents bactériens pathogènes. De plus des microalgues, considérées comme très nocives dans les eaux usées ont pu être éliminées par utilisation de chitosane. Lors de traitements tertiaires biologiques d'eaux contenant ces algues, le chitosane s'est avéré plus performant que certains coagulants ou floculants inorganiques tels que $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, permettant une récupération de 95 % des algues à une dose de 30 mg L^{-1} et à un pH de 7,0. Cette performance semble néanmoins dépendre de l'état physiologique des algues.

Un avantage important doit être signalé : les boues de traitement obtenues par le chitosane peuvent potentiellement être utilisées dans l'épandage agricole. La biodégradabilité du chitosane et sa teneur en azote en font un bon engrais (Guo et al., 2009 ; El-Sawy et al., 2010. Chi and Cheng 2006b) ont utilisé des boues issues de la coagulation de kaolinite par le chitosane comme un supplément nutritif. Divakaran and Pillai (2002) ont suggéré qu'on pouvait épandre ces boues dans les champs. Cependant, la qualité et l'innocuité de la boue doivent être démontrées avant son utilisation. En effet, plus l'eau sera débarrassée de ses contaminants, plus la boue en sera chargée.

De nombreuses études récentes suggèrent de modifier le chitosane pour le rendre plus efficace (Mishra et al., 2008 ; Wang et al., 2009b ; Srivastava et al., 2010). Mishra et al. (2008) ont montré, par exemple, que le chitosane-*g-N*-vinyl formamide était plus efficace pour l'adsorption d'ions métalliques et la floculation que le chitosane brut non modifié. En général, le polymère greffé possède les propriétés principales des deux composantes, à savoir celles de la chaîne macromoléculaire et du greffon. Cependant, ce type de modification entraîne un coût supplémentaire. Nous avons choisi d'utiliser pour nos essais un polymère commercial brut sans modification préalable.

Les propriétés exceptionnelles de la chitine et du chitosane expliquent l'engouement pour ces macromolécules naturelles, extraites de carapaces de crustacés, considérées il y a encore peu comme des déchets. Il s'est avéré que ces coproduits d'origine marine peuvent participer à l'élaboration de nombreux produits commerciaux à haute valeur ajoutée. De nombreux secteurs industriels sont concernés, notamment celui du traitement des eaux usées. Le chitosane est connu comme matériau complexant pouvant être considéré comme un produit « 3 en 1 ». Il présente à la fois des propriétés de coagulation, de floculation et d'adsorption. Les données de la littérature ont démontré qu'il peut se comporter comme un coagulant (mécanisme de neutralisation des charges), comme un floculant (mécanisme de pontage), mais aussi comme un adsorbant (mécanisme d'adsorption par chimisorption sur des matériaux insolubles ou sur les floccs néoformés). D'un point de vue abatement chimique, le chitosane donne d'excellents résultats en tant que biofloculant, surtout sur des solutions préparées en laboratoire. Même si le chitosane a été utilisé efficacement en conditions de laboratoire semi-contrôlées sur des effluents réels, il subsiste néanmoins un manque d'informations sur son comportement dans des conditions semi-industrielles ou industrielles directement sur site. Ces lacunes rebutent les industriels pour une utilisation en routine. Son prix est également un inconvénient. Cependant, vu les futures évolutions réglementaires, le chitosane pourrait trouver un nouveau débouché. L'avantage principal qui peut être mis en avant concerne sa non-toxicité et sa biodégradabilité, contrairement aux produits conventionnels utilisés actuellement comme le PAC. Il pourrait se substituer aux produits classiques tout en étant plus respectueux du milieu aquatique. Les questions de toxicité liées aux effluents traités et aux produits classiques de traitement seront traitées au chapitre suivant.

Chapitre 3 : Évaluation environnementale de l'impact des effluents papetiers : état de l'art

Le choix d'un procédé de traitement à l'échelle industrielle se fait en général en fonction de l'abattement chimique désiré pour respecter les normes environnementales, tout en tenant compte de contraintes économiques et techniques. Il est difficile actuellement pour de nombreuses filières industrielles d'atteindre le rejet « zéro » liquide et/ou pollution en raison notamment des coûts engendrés. Ainsi, il est nécessaire de mesurer et de maîtriser l'impact des rejets sur le milieu aquatique. De nombreux tests écotoxicologiques sont disponibles, mais tous ne possèdent pas le même intérêt écologique. Il est donc important de choisir soigneusement le test à utiliser pour qu'il fournisse des informations représentatives du milieu récepteur. Il faut également que l'organisme vivant soit sensible aux contaminants présents et que la réponse soit simple à mettre en œuvre. Dans ce chapitre, nous décrivons les différents polluants présents dans les effluents papetiers. La toxicité des produits et leurs impacts sur le milieu aquatique seront ensuite présentés. Enfin, les différentes méthodes de bioindication seront décrites ainsi que les caractéristiques biologique et écologique du bioindicateur qui sera utilisé dans l'évaluation environnementale du procédé proposé dans ce travail de recherche.

1. Impact et toxicité des effluents papetiers

1.1. Production de carton à partir de papiers usagés

Pour produire du carton, la papeterie de Novillars utilise de vieux papiers recyclés. Ceux-ci sont mélangés en phase aqueuse avec des boues chimiques et biologiques, un mélange de charges minérales et organiques, des colorants et de l'amidon. Par conséquent, les principales substances susceptibles de se retrouver dans les eaux usées sont de la matière organique (cellulose, amidon, substances diverses), des colorants, des pigments, et des métaux.

1.2.1. Matière organique

La matière organique présente dans ce type d'effluent provient des fibres de cellulose et des fibres d'amidon (Pizzichini et al., 2005 ; Sutcu et Akkurt, 2009). Parce qu'elle est biodégradable, la matière organique issue essentiellement de l'amidon peut avoir un effet néfaste sur le milieu aquatique. Lorsque la matière organique est présente en trop grandes quantités, l'activité de biodégradation peut entraîner une diminution de l'oxygène dissous dans la masse d'eau (Giorgio et al., 2003). De plus, la présence de composés azotés et phosphorés peut conduire (après leur minéralisation) à favoriser des développements algaux et bactériens conduisant à une dystrophie du milieu (de Jonge et al., 2001).

1.2.2. Colorants et pigments

Les colorants et pigments utilisés en papeterie sont des molécules organiques de synthèse ayant une structure complexe. Ils peuvent également provenir de la matière recyclée brute utilisée dans le pulpeur. Leur action sur l'environnement aquatique est double, à la fois physiologique et physique. L'effet physique est lié à l'absorption d'une partie de la lumière par les colorants qui diminue la production primaire (Bae et Freeman, 2007a). Leur toxicité a été démontrée dans de nombreux cas et de façon récente. Bae et Freeman (2007b, 2007a) ont montré que la toxicité de certains colorants sur *Daphnia magna* est liée à la présence de métaux dans la molécule. Wang et al. (2009a) ont également montré que la toxicité des colorants vis-à-vis de *Daphnia magna* est photoinduite. La toxicité est d'ailleurs plus importante en présence du spectre complet de lumière. Les colorants ont un effet toxique sur la microflore et la microfaune aquatique (Novotny et al., 2006) et l'effet est mutagène.

Aucun niveau trophique n'est épargné par cet effet toxique (Sponza, 2006) :

- décomposeurs (bactéries *Zoogloea ramigera* et *Escherichia coli*) ;
- producteurs (algue *Chlorella vulgaris*) ;
- consommateurs (poissons *Poecilia reticulata*, protozoaires *Vorticella campanula*).

Skrzydowska et al. (2003) ont mis en évidence le rôle important des métaux liés aux colorants métalliques présents dans les cartons usagés.

1.2.3. Paramètres et substances à suivre et à contrôler par la papeterie du Doubs

Par arrêté préfectoral du 11 mai 2010 (DDD/5B/2010), la papeterie du Doubs doit suivre les 18 paramètres et substances suivantes, susceptibles de se retrouver dans leurs effluents (Tableau 1.9).

Tableau 1.9 : Liste des 18 substances et de leurs limites réglementaire à suivre et à contrôler par la papeterie du Doubs

Substance	Limite réglementaire	Origine du règlement
DCO	< 1320 mg L ⁻¹	2006/DCLE/4B, Préfecture du Doubs
COT	Non spécifié	
MES	< 180 mg L ⁻¹	2006/DCLE/4B, Préfecture du Doubs
Cu et composés	< 0,5 mg L ⁻¹ (si > 5 g j ⁻¹)	MATE, 1998
Ni et composés	< 0,5 mg L ⁻¹ (si > 5 g j ⁻¹)	MATE, 1998
Pb et composés	< 0,5 mg L ⁻¹ (si > 5 g j ⁻¹)	MATE, 1998
Zn et composés	< 2 mg L ⁻¹ (si > 20 g j ⁻¹)	MATE, 1998
Cd et composés	< 0,2 mg L ⁻¹	MATE, 1998
Hg et composés	< 0,05 mg L ⁻¹	MATE, 1998
Sn et composés	< 0,5 mg L ⁻¹ (si > 5 g j ⁻¹)	MATE, 1998
Chlorure et composés	Non spécifié	
Nonylphénol	Non spécifié	
Pentachlorophénol	<1 mg L ⁻¹	MATE, 1998
Fluoranthène	Non spécifié	
Naphtalène	Non spécifié	
Tributyl phosphate	Non spécifié	
Toluène	Non spécifié	
Acide chloroacétique	Non spécifié	

MATE : Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement

1.2. Le cas de l'aluminium

L'aluminium est un élément ubiquiste qui n'est pas indispensable pour les cellules vivantes. C'est l'élément le plus présent dans la croûte terrestre (8 %), généralement sous la forme d'un complexe hydraté $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$.

Lorsqu'il est présent en milieu aqueux, l'aluminium existe sous plusieurs formes en fonction du pH (Pichard et al., 2005) :

- $5 < \text{pH} < 6$: $\text{Al}_2(\text{OH})_2^{4+}$ et $\text{Al}(\text{OH})_5^{2-}$ solubles
- $5,5 < \text{pH} < 8,8$: $\text{Al}(\text{OH})_3$ insoluble
- $9 < \text{pH}$: $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ soluble

Gardner and Comber (2003) ont proposé la spéciation à l'équilibre de l'aluminium dans les eaux douces décrites dans la Figure 1.16. Plusieurs formes ont été mises en évidence : deux formes réactives, l'une cationique (Al^{3+} , $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Al}(\text{OH})_2^+$) et l'autre anionique ($\text{Al}(\text{OH})_4^-$), et une forme non réactive car insoluble ($\text{Al}(\text{OH})_3$).

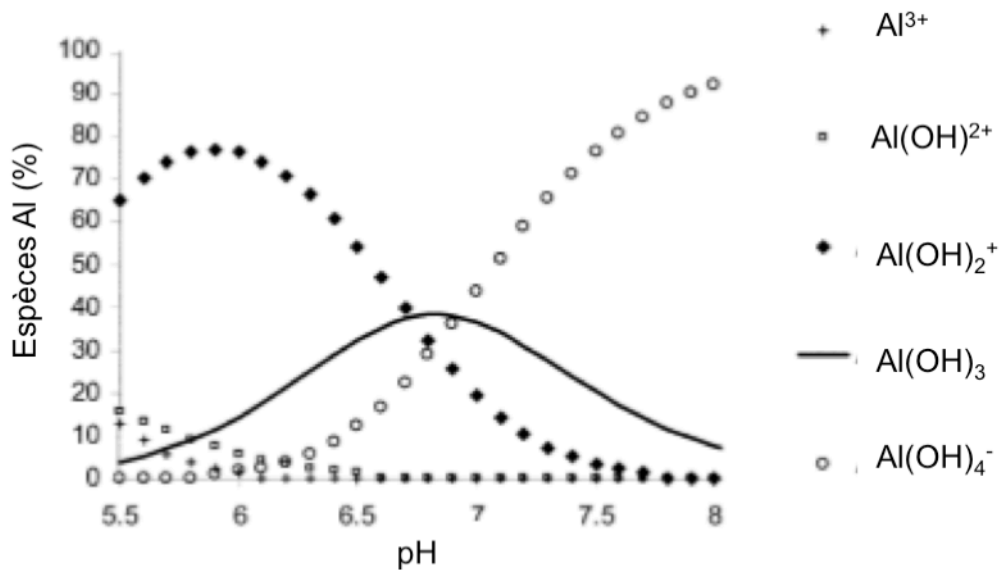


Figure 1.16 : Spéciation à l'équilibre de l'aluminium dans les eaux douces (Gardner et Comber, 2003).

L'aluminium a longtemps été considéré comme peu biodisponible au regard du pH naturel des eaux de surface, le plus souvent neutre. Cependant, Elangovan et al. (1997) ont montré sur *Lymnaea stagnalis* que, même à pH neutre, la forme insoluble de l'aluminium pouvait entrer dans le compartiment biologique et que les organismes vivants pouvaient alors le bioaccumuler. La mortalité des limnées induite par l'aluminium reste néanmoins faible pour des concentrations dans le milieu allant de 38 à $285 \mu\text{g L}^{-1}$ (13 % pour la plus forte dose contre 5 % dans le contrôle).

1.2.1 Effets sur l'Homme

L'absorption d'aluminium par voie intestinale chez les êtres humains est faible, en moyenne (1 %), mais est sujette à de fortes variations (0,001-24 % chez l'humain) qui sont suffisantes pour présenter un risque toxique, soit chronique soit aiguë (Berthon, 2002). La toxicité de l'aluminium a fait l'objet de controverses dans les années 90 suite à des rapports épidémiologiques contradictoires concernant son implication dans la maladie d'Alzheimer. Ces contradictions étaient souvent liées à la faiblesse des données disponibles (par exemple cause du décès). Cependant, Flaten (2001) souligne que la faiblesse statistique de ces données conduit en réalité à une sous-évaluation du risque lié à l'aluminium notamment en ce qui concerne les eaux de boisson. De récentes études ont montré que l'aluminium n'agissait pas directement sur les neurones, mais sur les cellules gliales, ce qui a pour effet d'asphyxier les neurones et de les rendre vulnérables à d'autres toxiques (Aremu et Meshitsuka, 2006). De plus, l'aluminium a été de nouveau mis en cause comme co-facteur de certaines maladies neuro-dégénératives comme Alzheimer (Bondy, 2010). Sharma and Mishra (2006) ont aussi montré que le chlorure d'aluminium pouvait passer la barrière gastro-intestinale ce qui a pour effet d'élever le taux d'Al dans le plasma sanguin. Il peut alors être transmis aux nourrissons lors l'allaitement et entraîner de l'ostéomalacie.

1.2.2. Effet sur les organismes aquatiques

Différentes études sont disponibles dans la littérature sur les effets de l'aluminium sur les organismes aquatiques. Cependant, ces études n'ont pas nécessairement mis en évidence des critères d'effets de type concentration d'effet ou concentration létale. Elles donnent néanmoins des informations sur le mode d'action de l'aluminium, sa biodisponibilité ou encore sa bioaccumulation.

Les toxicités aiguë et chronique de l'aluminium (Tableaux 1.10 et 1.11) ont été passées en revue par Pichard et al. (2005). L'écotoxicité aiguë de l'aluminium est connue et particulièrement bien documentée pour les poissons. Les autres taxons sont peu documentés et les informations disponibles concernent principalement des organismes normalisés comme *Daphnia magna*, ayant peu de pertinence écologique. Les effets de toxicité chronique se limitent à des calculs de NOEC (*No Observed Effect Concentration*) ou de LOEC (*Lowest Observed Effect Concentration*) sur des organismes normalisés. Il y a peu de littérature concernant d'autres réponses ou des taxons écologiquement plus réalistes.

Ward et al. (2006) ont suivi l'effet de l'aluminium sur le système immunitaire d'une écrevisse d'eau douce (*Pacifasticus leniusculus*, Decapoda, Astacidae). L'exposition d'une durée de 0-16 jours a eu pour effet de diminuer le nombre d'hémocytes circulant dans

l'hémolymphe de ce crustacé. Ainsi, sa capacité immunitaire s'en trouvait réduite. Cependant, une exposition prolongée à l'aluminium entraîne un phénomène d'adaptation au contaminant qui contribue à un rétablissement du taux d'hémocytes circulant. L'étude de Pettersen et al. (2006) a montré que l'exposition de poissons à l'Al permet d'éliminer leurs ectoparasites.

Il a été démontré que l'aluminium est un métal susceptible d'être bioaccumulé par divers organismes. Cette démonstration a été faite chez les mollusques, organismes prédisposés à la bioaccumulation. Les principaux organes d'accumulation sont les reins et les glandes digestives (Elangovan et al., 1997 ; Kádár et al., 2001 ; Dobranskyte et al., 2004). Chez les unicellulaires, Sauvart et al. (2000) ont montré que l'aluminium inhibe le taux de croissance et la mobilité de *Tetrahymena pyriformis* qui l'accumule dans ses vacuoles digestives.

Tableau 1.10 : Écotoxicité aiguë de l'aluminium sur des organismes d'ordre différent, d'après Pichard et al. (2005).

	Organisme	Critère d'effet	Valeur en mg L ⁻¹	Référence
Poissons	<i>Salmo trutta</i>	LC50	0,313	Rosseland et Skogheim, 1984
	Truite de rivière	(96h)		
	<i>Fundulus heteroclitus</i>	LC50	3,6-31,2	Dorfman, 1977
	Vairon de mer	(96h)		
	<i>Gambusia affinis</i>	LC50 (6j)	133	Wallen et al., 1957
	Gambusie			
	<i>Pimephales promelas</i>	LC50	4,25	OMS IPCS, 1997
	Vairon américain	(96h)		
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LC50 (6j)	91	Hickie et al., 1993
	Truite arc-en-ciel			
	<i>Jordanella floridae</i>	LC50	0,095	Hutchinson et Sprague, 1986
	Etendard américain	(96h)		
	<i>Ctenopharyngodon idella</i>	LC50	0,26	Li et Zhang, 1992
	Carpe chinoise, amour blanc	(96h)		
<i>Salmo salar</i>	LC50	78-108*	Roy et al., 1991	
Saumon atlantique	(96h)			
<i>Ochonrynychus mykiss</i>	LC50	2,8	Soucek et al., 2001	
Truite arc-en-ciel				
Polychètes	<i>Ctenodrilus serratus</i>	LC50	0,48-2	Petrich et Reish, 1979
		(96h)		
Microcrustacés	<i>Nitocra spinipes</i>	LC50	10	Bengtsson, 1978
		(96h)		
	<i>Daphnia magna</i>	LC50	3,5	Wakabayashi et al., 1988
		(24h)		
	<i>Daphnia magna</i>	LC50	3,9	Biesinger et Christensen, 1972
		(48h)		
	<i>Daphnia pulex</i>	LC50	2,6	Wakabayashi et al., 1988
	(24h)			
	<i>Daphnia magna</i>	LC50	219,6	Kim et al., 2010b
	(nanoparticule)	(24h)		
	<i>Daphnia magna</i>	LC50	107,6	Kim et al., 2010b
	(nanoparticule)	(48h)		

* en µg L⁻¹

Tableau 1.11 : Écotoxicité chronique de l'aluminium sur des invertébrés et des poissons, d'après Pichard et al. (2005).

	Organisme	Critère d'effet	Valeur en mg L ⁻¹	Référence
Invertébrés	<i>Daphnia magna</i>	NOEC (21j)	160	Biesinger et Christensen, 1972
	<i>Lymnaea stagnalis</i>	NOEC (60j)	100	Truscott et al., 1995
Poissons	<i>Salmo salar</i> Saumon atlantique	NOEC (60j)	33	Buckler et al., 1995
	<i>Oncorhynchus mykiss</i> Truite arc-en-ciel	LOEC (32j)	29,6	Wilson et al., 1996
	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	LOEC (34j)	38,1	Wilson et al., 1994

1.3. Écotoxicité des boues papetières

De nombreuses recherches se sont focalisées sur de possibles voies de valorisation des boues et des déchets organiques issus des stations d'épuration, la principale étant une utilisation agricole (Alvarenga et al., 2007). Cependant, Mantis et al. (2005) ont montré que l'évaluation de la toxicité des boues ne peut se faire sur le seul critère de leur composition chimique. En effet, même si une analyse chimique peut classer une boue dans la catégorie non toxique selon les normes européennes en vigueur, une étude écotoxicologique peut montrer l'existence d'un risque toxique. Cette position est partagée par Wilke et al. (2008) qui soulignent l'importance d'utiliser des tests chroniques ou sub-chroniques pour intégrer et préciser un effet à moyen terme.

Les boues de stations d'épuration issues des papeteries contiennent généralement une forte proportion de matières carbonées, mais peu de matières phosphorée ou azotée. Elles contiennent également des polluants organiques (colorants) ainsi que des ETM (Éléments Traces Métalliques) issus du processus de fabrication ou du procédé de traitement des eaux. Une mauvaise gestion de ces boues peut contaminer les sols par épandage ou les ressources en eau par lessivage ou lixiviation. Pour cette raison, Rosa et al. (2007) a proposé un processus de maturation des boues pour engraisser les sols pauvres. Ce processus de stabilisation s'est avéré être moins toxique que l'utilisation des boues fraîches (Fuentes et al., 2006).

Les boues produites à la station du Doubs qui ne sont pas renvoyées en lagune aérée sont directement utilisées dans le pulpeur de production.

2. Méthodes d'évaluation de la qualité des cours d'eau

2.1. Niveaux d'organisation biologique concernés

Des réponses à différents niveaux d'organisations biologiques peuvent être utilisées pour l'évaluation de la qualité d'un cours d'eau. Ces différents niveaux d'organisation n'apportent pas les mêmes informations et n'intègrent pas les mêmes échelles de temps et d'espace. En effet, le choix d'un niveau d'organisation conditionne la précocité de l'effet. (Figure 1.17). Ainsi, l'étude d'un niveau d'organisation élevé permet généralement la mesure d'un effet retardé ou cumulé, alors que l'analyse d'un niveau d'organisation bas autorise dans certain cas une mesure précoce de l'effet. En fait, la rapidité de la réponse dépend de l'intensité et de la durée de l'effet étudié (aiguë, sub-chronique ou chronique) ainsi que de l'échelle de temps et d'espace de l'aire d'étude.

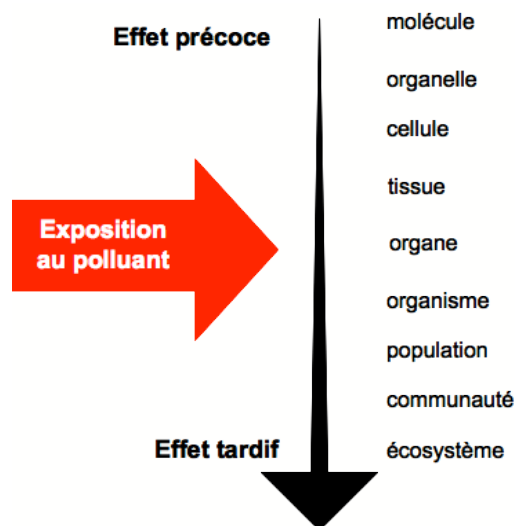


Figure 1.17 : Représentation schématique de l'ordre séquentiel des réponses à un stress polluant en relation avec le système biologique considéré, d'après van der Oost et al. (2003).

2.1.1. Réponses à l'échelle moléculaire

Des mesures effectuées dans les fluides corporels, les cellules ou les tissus, indiquent les modifications biochimiques ou cellulaires liées à la présence d'un polluant (Amiard et al., 1998 ; van der Oost et al., 2003). Ces altérations constituent des biomarqueurs qui peuvent permettre de déceler un effet à des concentrations inférieures à celles engendrant un effet physiologique à l'échelle de l'individu. L'usage de biomarqueurs permet une détection précoce de la présence de polluants environnementaux (Palace et al., 2006). Ils ont

l'avantage d'être des paramètres d'effet à court terme. En revanche, leur significativité écologique est faible (Adams et al., 1989).

Par exemple, la mesure de métallothionéine a été utilisée par Geffard et al. (2007) pour distinguer la sensibilité de *Gammarus pulex* à un stress métallique en fonction de facteurs biotique et abiotique. D'autres biomarqueurs ont été utilisés chez *G. pulex* comme l'ultra structure des caecums hepatopancréatiques en réponse à une exposition au plomb (Kultu et al., 2002).

2.1.2. Réponses à l'échelle de l'individu

Certains effets peuvent se produire à l'échelle de l'individu. Ces modifications physiologiques globales sont liées à des effets mesurables au niveau individuel (Felten et al., 2008a). Les réponses à l'échelle de l'individu sont généralement les plus utilisées en laboratoire. Elles regroupent des réponses létales et des réponses sublétales. Le temps d'intégration est donc variable. D'une manière générale, une réponse létale sera utilisée pour mesurer une toxicité aiguë. Une réponse sublétale mesurera l'effet d'une toxicité moins intense, intermittente ou chronique et sera donc plus précoce dans la détection d'une pollution. Chez *Gammarus pulex*, les effets les plus communément mesurés à l'échelle individuelle sont la mortalité, le taux de nutrition, le taux de désappariement des amplexus précopulatoires, la vitesse de battement des pléopodes et le taux de locomotion (Maltby et al., 1990 ; Crane et al., 1995 ; Cole et al., 2001 ; Park et al., 2005 ; Felten et al., 2006).

Les réponses létales sont de moins en moins étudiées dans les travaux de recherche car elles ne sont pas suffisamment précoces et sont destructives pour l'organisme. De nouvelles méthodes n'impliquant pas le sacrifice des individus sont développées parmi lesquelles l'analyse de l'hémolymphe ou du sang, la mesure de l'asymétrie fluctuante et l'étude d'effets comportementaux (Ward et al., 2006 ; Osswald et al., 2009).

De nombreuses réponses comportementales ont été utilisées sur plusieurs organismes (Tableau 1.12). Tiersley et McCrohan (1987) ont défini un indice pour *Lymnea stagnalis* : le *Behaviourial State Score* (BSS) mesure le niveau maximum d'activité de chaque individu. Cole et al. (2001) ont mesuré le taux de nutrition chez *Pteronarcys proteus* (Plecoptera) en réponse à un effluent minier. Felten et al. (2008b) ont utilisé le taux de locomotion et les battements de pléopodes de *Gammarus pulex* en réponse à une exposition au cadmium et en réponse à un stress toxique. Dans les deux cas, les études ont montré l'existence d'un lien entre ces réponses et l'état physiologique de l'organisme. Elles ont mis en évidence des modifications de la balance ionique de l'hémolymphe entre un individu non exposé et un individu exposé.

Tableau 1.12 : Exemples de réponses comportementales étudiées en écotoxicologie aquatique.

Organisme	Polluant(s)	Réponse comportementale	Références
<i>Serranus scribo</i> (poisson téléostéen)	Armin (inhibiteur de la choline estérase)	Comportement de fuite	Rosic et al., 1974
<i>Oryzia latipes</i> (poisson téléostéen)	Diazinon	Mouvement	Park et al., 2005
<i>Pteronarcys proteus</i> (insecte plécoptère)	Effluent minier	Nutrition	Cole et al., 2001
<i>Chironomus samoensis</i> (insecte diptère)	Insecticide	Mouvement	Kim et al., 2006
<i>Gammarus pulex</i> (crustacé)	Stress acide	Locomotion, nutrition, oxygénation	Felten et al., 2008a
<i>Gammarus pulex</i> (crustacé)	Cadmium	Locomotion	Felten et al., 2008b
<i>Gammarus roeseli</i> (crustacé)	Salinité	Locomotion, ventilation	Sornom et al., 2010
<i>Daphnia magna</i> (microcrustacé)	Cuivre	Nage	Untersteiner et al., 2003
<i>Daphnia magna</i> (microcrustacé)	Organophosphate	Nage, filtration	Duquesne et Küster, 2010
<i>Anodonta cygnea</i> (mollusque lamellibranche)	Aluminium	Fermeture de la coquille	Kádár et al., 2001
<i>Lymnea stagnalis</i> (mollusque gastéropode)	Aluminium	État d'activité	Dobranskyte et al., 2004
<i>Hirudo medicinalis</i> (achètes sangsue)	Métaux	Mouvement, forme, évitement, nutrition	Petrauskiene, 2003
<i>Brachionus calyciflorus</i> (rotifère)	Cuivre et PCP	Nage	Charoy et Janssen, 1999

La mesure des réponses comportementales fait souvent appel à des dispositifs complexes. La nage de *Brachionus calyciflorus* (Rotifère) a été mesurée, par exemple, selon une composante spatiale (sinuosité) et selon une composante temporelle (temps de nage) par analyse vidéo (Charoy et Janssen, 1999). Ces techniques sophistiquées sont difficiles à mettre en œuvre sur le terrain.

Un comportement inapproprié en réponse à un stimulus environnemental peut avoir une implication importante dans la survie (Figure 1.18). En outre, les perturbations physiologiques induites par des polluants peuvent induire secondairement des réponses comportementales qui peuvent à leur tour s'avérer délétères pour l'organisme. Par exemple, un perturbateur endocrinien a des effets sur les comportements de reproduction car il agit sur les hormones sexuelles impliquées dans l'acte de reproduction.

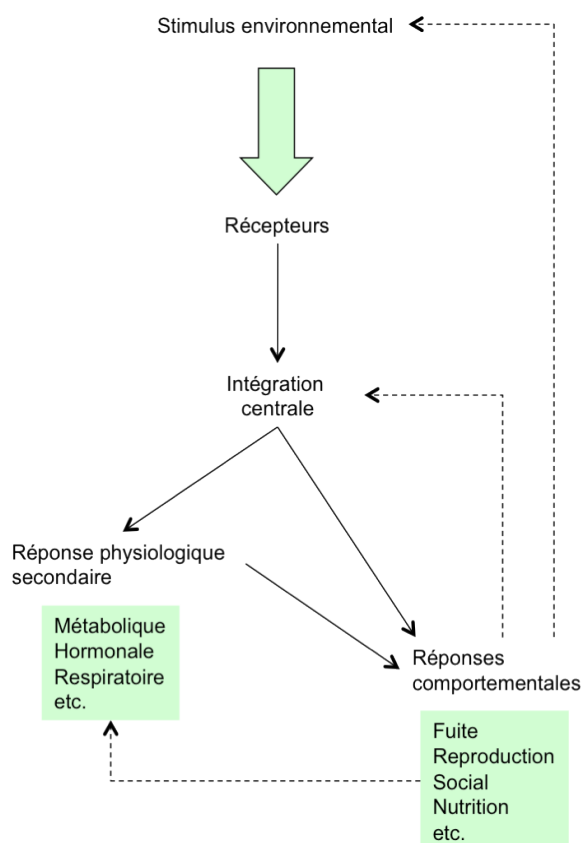


Figure 1.18 : Relation entre un stimulus environnemental et une réponse comportementale, d'après Scott et Sloman (2004).

Les réponses comportementales sont parfois le reflet de stratégie d'évitement : *Anodonta cygnea* (bivalves) filtre, par exemple, moins d'eau lorsqu'elle est exposée à l'aluminium. Kádár et al. (2001) ont expliqué cette diminution comme un mécanisme servant à limiter le flux de polluants entrant. Ce comportement de fermeture partielle de la coquille diminue alors de façon significative l'accumulation d'aluminium dans les reins et l'hépatopancréas. Les réponses comportementales interagissent également avec les réponses à l'échelle de la population et de la communauté.

2.1.3. Réponses à l'échelle de la population

Lorsqu'un grand nombre d'individus est affecté, les effets de substances toxiques sont décelables au sein des populations, et peuvent en affecter l'équilibre ou la dynamique. L'effet le plus évident et le plus visible d'une contamination du milieu aquatique est l'élimination d'une partie des organismes au niveau de la zone d'impact (Ramade, 2007). Par conséquent, une analyse comparative entre la densité et la structure d'une population d'un site contaminé et celle d'un site témoin offre une information sur l'impact démographique direct d'un contaminant lorsque les autres facteurs, comme la quantité de nourriture disponible, ont été éliminés.

2.1.4. Réponses à l'échelle de la communauté

A terme, les déséquilibres trophiques ou fonctionnels engendrés par les effets populationnels modifient l'écosystème dans son ensemble (Aubertot et al., 2005). L'altération du milieu aquatique par un polluant peut se traduire par une diminution de la densité et de la diversité spécifique du peuplement. Différentes méthodes ont été proposées pour mettre en évidence les réponses des communautés. Verneaux (1980), distingue deux principaux groupes de méthodes utilisées à l'échelle de la communauté :

- i) les méthodes fondées sur la présence et l'abondance d'organismes considérés comme indicateurs d'un type de contaminants (systèmes des saprobies par exemple (Sparagano et Grolière, 1991)) ;
- ii) les méthodes globales fondées sur l'examen de la structure de tout ou partie des peuplements aquatiques et où l'absence de certaines espèces est aussi importante que leur présence.

L'impact d'une pollution sur les taxons peut être, cependant, biaisé par son cycle de développement (Gray, 1980). Cette échelle intègre généralement le milieu de vie des espèces bioindicatrices. En effet, au sein de ces écosystèmes, la mobilité, le devenir et les effets des polluants sont différents suivant les conditions physicochimiques qu'ils traversent dans le système.

2.2. Importance du milieu physicochimique

Les conditions qui règnent dans le milieu, sa composition physicochimique et son histoire constituent des paramètres extrêmement importants à considérer pour comprendre les réponses des organismes aux substances toxiques.

2.2.1. Sédiments

Les sédiments sont la mémoire des perturbations naturelles ou anthropiques (période de sédimentation accrue, pollution organique ou métallique, etc.). Les sédiments stockent certains polluants organiques et métalliques (Lin et Chen, 1998 ; Neto, 2007). Lors de perturbations des conditions physico-chimiques du milieu (pH, température, conductivité, etc.) ou lors d'événements de bioturbation, la plupart des polluants stockés dans les sédiments peuvent être remobilisés dans la masse d'eau et devenir plus biodisponibles (Calmano et al., 1993 ; Caetano et al., 2003 ; Neto, 2007).

2.2.2. Milieu hyporhéique

Le milieu hyporhéique est la zone saturée en eau sous le lit du cours d'eau et sous les berges (White, 1993). Les organismes vivant dans ce milieu tolèrent mal le colmatage des interstices dans lesquels ils vivent. Ce milieu constitue une zone de refuge lors des épisodes de crues, d'étiage voire même d'assec ou encore en cas de pollution aiguë (Lafont et al., 1996).

2.2.3. Masse d'eau

La masse d'eau est le réceptacle primaire des pollutions aquatiques. C'est aussi un compartiment où les polluants résident le moins longtemps. En effet, les polluants présents dans la masse d'eau auront tendance à sédimenter, à être adsorbés ou tout simplement à être évacués plus en aval par le courant. La masse d'eau peut temporairement présenter des concentrations en polluants très élevées (Neto, 2007).

2.3. Tests écotoxicologiques

2.3.1. Essais réalisés en conditions contrôlées

Les tests écotoxicologiques réalisés en conditions contrôlées doivent être à la fois simples et reproductibles. Cependant, les résultats issus de ces tests sont difficilement extrapolables car ils obéissent à une approche réductionniste et utilisent parfois des organismes qui n'ont pas un grand réalisme écologique dans les cours d'eau européen, comme *Daphnia magna*, espèce d'eau stagnante, ou *Danio rerio*, poisson amazonien. De plus, la complexité des interactions existant au sein d'un écosystème ne peut pas se réduire à la réponse d'une espèce à un polluant donné (Wogram et Liess, 2001 ; Fränzle, 2006 ; Ramade, 2007). Ce type d'approche permet une première évaluation de l'impact d'un polluant à l'échelle sub-individuelle ou individuelle mais n'est pas suffisant. Les tests sont basés sur la détermination de plusieurs paramètres d'écotoxicité comme la NOEC, la LOEC, la EC50 (*Effect Concentration on 50 % of individuals*) et leurs dérivés (EC10, EC20, etc.).

Les organismes traditionnellement utilisés dans les tests sont *Daphnia magna*, *Daphnia pulex* et *Ceriodaphnia dubia*. Ces tests sont d'ailleurs normalisés (AFNOR, 1996) et *Daphnia magna* est utilisé dans le calcul des redevances de l'Agence de l'Eau. Ces tests évaluent la toxicité de la masse d'eau. L'amphipode *Hyallela azteca* et les chironomes *Chironomus tentans* et *Chironomus riparius* sont utilisés dans l'évaluation de la toxicité des sédiments. D'autres organismes ont été employés pour construire des tests de toxicité aiguë et chronique. Par exemple, l'US EPA (1996) a proposé un test utilisant *Gammarus sp.*

Cependant, la difficulté de maintenir une population pérenne en laboratoire pendant une longue période entrave souvent la standardisation de ces tests (Calow, 1989) tout comme l'absence d'encouragement réglementaire d'utiliser des organismes écologiquement significatifs.

2.3.2. Essais réalisés en conditions semi-contrôlées

En intégrant davantage de complexité, les tests écotoxicologiques réalisés en conditions semi-contrôlées permettent de gagner en représentativité écologique. L'inconvénient de ce type de dispositifs est qu'ils perdent en reproductibilité. Ce type d'expérimentation permet de faire le lien entre des approches réductionnistes et holistiques (Ramade, 2007). Deux types de techniques sont utilisés dans ces tests : une technique *in situ* et une technique de test de toxicité ambiante.

Les tests de toxicité ambiante sont une application des tests en conditions contrôlés à des cas concrets. Ce type de test a été réalisé chez plusieurs espèces de genre *Gammarus* (Lawrence et Poulter, 1998 ; Roman et al., 2007 ; Dedourge-Geffard et al., 2009). Les eaux à tester doivent être fraîches au moment de leur utilisation dans les tests pour que l'ensemble des substances présentes soit intégré. Dans ces tests, un certains nombres de paramètres sont contrôlés, tels que la photopériode et la température.

Les techniques *in situ* font appel à des dispositifs d'encagement des individus. Les microcosmes et les mésocosmes ont pour objectif de pallier à la déficience de représentativité des conditions de mise en œuvre du test par rapport aux conditions réelles du milieu naturel. Simultanément cela permet de conserver un lien de causalité entre la présence d'une substance toxique et l'effet mesuré. L'utilisation de tels tests permet de répliquer les mesures ainsi que des comparaisons du type amont/aval ou avant/après. Il faut remarquer tout de même que certaines expériences de transplantation se font sans dispositifs d'encagement (Hebb et al., 2010).

Les essais *in situ* ne concernent généralement qu'une seule espèce dont le nombre et l'état physiologique initial sont contrôlés. Cette action d'implantation ou de transplantation est définie comme une méthode de bioindication active. La pertinence de la bioindication active dépend directement du choix de l'organisme test et de la variable mesurée : l'effet observé ou mesuré doit avoir un lien direct avec l'état de perturbation de l'écosystème (Calow, 1989). *Gammarus pulex* a été largement utilisé dans ce type de test (Crane et al., 1995). D'autres espèces, notamment des amphipodes (*Gammarus minus*, *Gammarus pseudolimnaeus*, *Hyallela azteca*), des isopodes (*Asellus aquaticus*), des insectes (*Limnephilus lunatus*, *Chironomus riparius*, *Chironomus tentans*, *Aedes aegypti*), ou encore des mollusques

(*Anodota cygnaea*, *Lymnea stagnalis*) ont été utilisées lors d'essai *in situ* (Helson et al., 1986 ; Crane et al., 1995 ; Tucker et Burton, 1999 ; Schulz et Liess, 1999 ; Lieb et Carline, 2000 ; Schulz, 2003 ; Bloor et Banks, 2006).

2.3.3. Essais réalisés en conditions naturelles

Les études *in natura* sont les plus pertinentes pour évaluer la qualité biologique du cours d'eau. La bioindication passive repose sur l'utilisation d'organismes naturellement présents qui renseignent sur l'état du milieu. Il convient de prendre en considération les caractéristiques biologiques de l'espèce ou du taxon choisi, mais aussi la structure physique du milieu. La complexité et les spécificités de chaque écosystème aquatique ne permettent pas la mise en place d'une méthode unique standardisée applicable partout.

3. *Gammarus pulex* (Amphipoda, Crustacea)

3.1. Présentation et aire de répartition

Les Gammaridae sont des crustacés amphipodes (Figure 1.19). Il existe environ 1000 genres dans cette famille, dont le genre *Gammarus*. Les espèces de ce genre ont colonisé la plupart des milieux aquatiques (eau douce, saumâtre ou salée) de la planète (Adam, 2008). On retrouve des espèces de ce genre des zones tropicales aux zones polaires, des ruisseaux de têtes de bassins aux estuaires, des zones littorales aux fosses océaniques en passant par les lacs, les fossés et les rivières souterraines (Karaman et Pinkster, 1977).

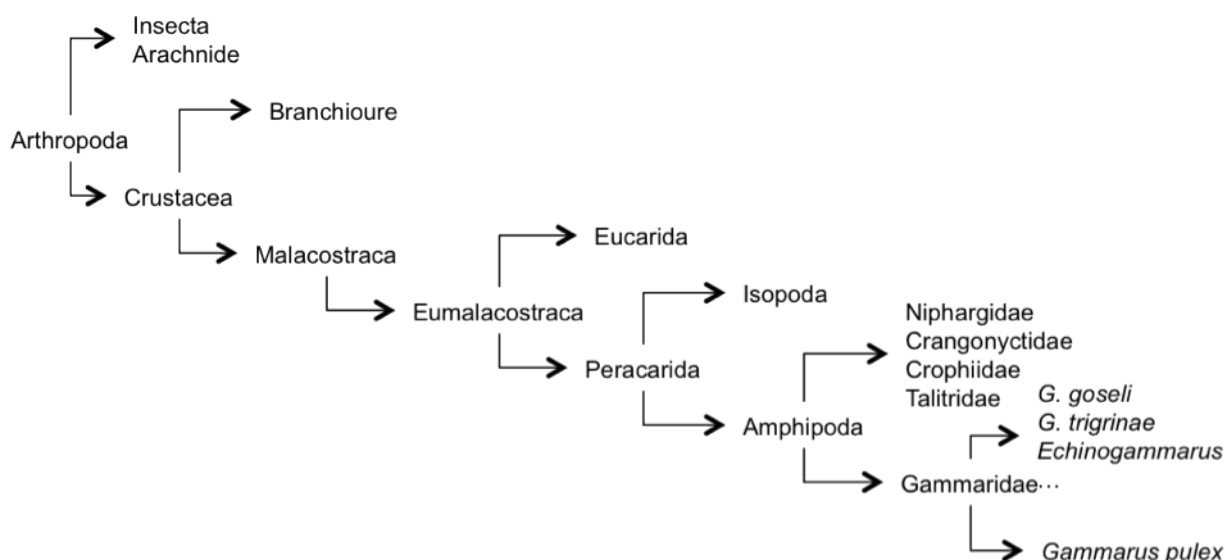


Figure 1.19 : Schéma phylogénique de l'espèce *Gammarus pulex*, d'après Tachet et al. (2006).

Gammarus pulex (Figure 1.20) a été décrit en 1758 par Linné. Cette espèce est autochtone sur le territoire français. Elle est abondante et présente dans toute l'Europe, en Asie Mineure et Orientale et en Afrique du Nord. *G. pulex* possède une préférence pour les systèmes lotiques. Cependant, il est capable de coloniser des systèmes lenti-ques (lacs, étangs, canaux, etc.). Au sein des systèmes lotiques, *G. pulex* trouve des conditions optimales dans la partie apicale des bassins (généralement des ruisseaux). Sa capacité adaptative lui permet aussi de coloniser des cours d'eau de grande taille (type fleuve) si les conditions le permettent (Maitland, 1966).

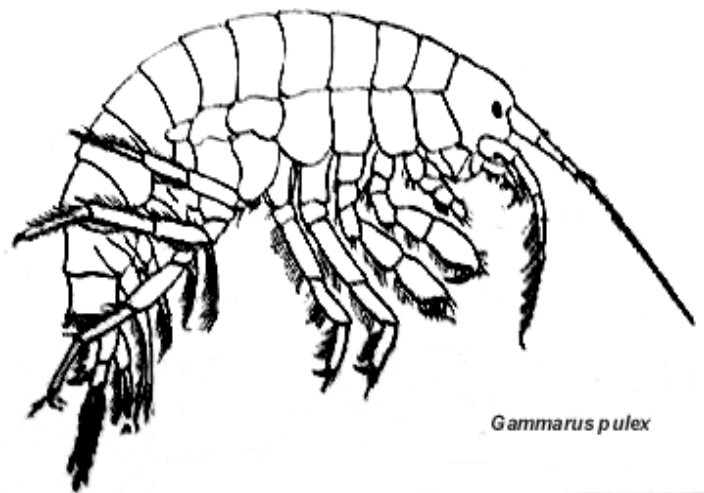


Figure 1.20 : Illustration de *Gammarus pulex*.

3.2. Comportement de reproduction

La particularité des amphipodes est la présence d'une poche d'incubation ventrale chez la femelle (Adam, 2008). Cette poche sert à la protection et au développement des œufs fécondés. Cette poche est constituée de 4 paires d'oostéogites. Les oostéogites sont des petites plaques translucides situées sous les branchies. Ils permettent la formation de la poche et montrent que la femelle est arrivée à maturité. Leur développement est régulé par l'hormone ovarienne permanente (Sutcliffe, 1992). L'hormone ovarienne temporaire, quant à elle, régule le développement des caractères sexuels secondaires (par exemple des soies sur les oostéogites). Enfin, les mâles repèrent les femelles sexuellement matures grâce à une phéromone de l'urine de la femelle présente plusieurs jours ou plusieurs semaines (Sutcliffe, 1992).

Les mâles détectent cette substance soit par contact soit par des récepteurs spécialisés situés sur la deuxième paire d'antenne. Mâle et femelle vont former une figure appelée amplexus précopulatoire (*precopula*) : le mâle maintient la femelle sous son ventre

en insérant la griffe de ses gnathopodes entre deux tergites de la femelle. Cette figure permet au mâle de continuer à nager et à la femelle de muer (Sutcliffe, 1992). L'ovulation n'est possible qu'après la mue. Les ovocytes sont conduits vers la poche ventrale via un oviducte relativement flexible. Une fois les ovocytes présents dans la poche ventrale, plusieurs fertilisations vont être effectuées par le mâle en quelques heures. Après la fertilisation, le couple se sépare (Sutcliffe, 1992).

La femelle secrète une gélatine protectrice à l'intérieur de la poche ventrale pour protéger les œufs fécondés. L'ensemble gélatine et poche ventrale, le sac gélatineux, est retenue par les 4 paires d'oostéogites prolongés par leurs soies. D'une façon générale, le nombre d'œufs dépend de la taille de la femelle : en moyenne 16 œufs par femelle avec une variation de 1 à 43 (Hynes, 1955 ; Welton, 1979). Le développement embryonnaire s'effectue en 7 étapes. À mesure de leur développement, les œufs grossissent et s'obscurcissent pour arriver à une taille de 1,5-2 mm à l'éclosion. La mère protège les nouveaux-nés dans sa poche ventrale pendant un temps équivalent à 10 % du temps d'incubation. Les nouveaux-nés sont ensuite libérés dans le milieu.

Il n'y a pas de période de reproduction à proprement parler chez *Gammarus pulex*, plusieurs observations font état de femelles ovigères tout au long de l'année. Néanmoins, on peut observer une période où les individus cessent de s'accoupler. Cette période de diapause se situe entre la mi-été et le début de l'hiver, mais ne touche pas la totalité de la population (Hynes, 1955 ; Welton, 1979). Le stimulus serait la modification de la photopériode plus qu'une modification de la température.

Enfin, le sexe-ratio est de 1:1 chez *G. pulex* (Crane et al., 1995). Ce ratio fluctue en fonction de la saison (vitesse d'arrivée à maturité, production de mâles ou de femelles température-dépendante, période de mortalité maximale différente, etc.).

3.3. Cycle de vie

Les individus sont matures après un nombre déterminé de mues (10 mues). La rapidité de succession des mues dépend de la température et du sexe. Les femelles ont des phases intermues plus courtes que celle des mâles (Hynes, 1955 ; Welton et Clarke, 1980). La durée des phases du cycle de vie semble très dépendante de la température de l'eau. Cependant, l'ensemble des données disponibles sur ce sujet est issu d'expériences menées en conditions contrôlées au laboratoire. Or, des décalages dans la durée du déroulement des différentes phases peuvent être observés *in situ* (Hynes, 1955 ; Welton et Clarke, 1980). En effet, certains facteurs biologiques et environnementaux peuvent jouer un rôle dans cette vitesse de développement des gammarus.

On peut déterminer deux phases dans la reproduction de *G. pulex*. La première commence en décembre et atteint son maximum entre avril et mai lors de la fin de la phase de diapause. Une première génération de nouveaux-nés voit le jour de mars à juin et une partie de la cohorte atteint la maturité en fin d'été. Les adultes qui avaient survécu à l'hiver précédent et qui ont donné naissance à la première génération meurent progressivement. La seconde génération voit le jour en début d'automne grâce aux individus nés pendant l'été et arrivés à maturité. Les adultes survivants passent l'hiver en diapause pendant que la seconde génération croît lentement (température basse). Le cycle reprend à partir de décembre (Welton, 1979).

D'après Maitland (1966) et Welton et Clarke (1980), *Gammarus pulex* peut vivre 2,5 années en moyenne pour les mâles (~16 mm) et 17 à 23 mois pour les femelles (~13 mm). Une femelle peut avoir jusqu'à 10 portées par an mais le maximum atteint en laboratoire est de 5 portées (les individus meurt après 3 ou 4 portées). Hynes (1955) estime que les femelles peuvent avoir 5 à 6 portées par an dans certains ruisseaux. Ainsi, une femelle se reproduisant deux fois en début d'année et qui produit en moyenne 16 œufs, c'est-à-dire 6 ou 7 femelles, aura engendré, si il y a absence d'échec de maturation, une descendance de 100 à 200 individus en fin d'année.

3.4. Dynamique des populations

Dans des conditions optimales d'habitat, d'abondance de nourriture, de conditions physico-chimiques et de qualité de l'eau, certaines populations de *Gammarus pulex* peuvent atteindre des densités très élevées, parfois supérieures à 8500 individus par mètre carré entre juillet et septembre (Welton, 1979 ; Gee, 1988). Les densités de ces mêmes populations chutent entre 800 et 4000 individus par mètre carré de janvier à avril. La diminution hivernale des densités (c'est-à-dire diminution du rapport mortalité/natalité) peut s'expliquer par une limitation de l'abondance de nourriture par rapport à l'été (Gee, 1988) et par des variations physico-chimiques de l'eau (diminution de la teneur en magnésium) plutôt que par une variation organoleptique de la nourriture (Minshall et Minshall, 1978). Enfin, la disparition saisonnière de substrats (litière, bryophytes) peut être un facteur important de la variation de densité (Gee, 1988). D'une manière générale, la simple présence d'interstices dans le sédiment est néanmoins souvent suffisante pour permettre le développement d'une population (Crane, 1994).

L'importance de la prédation détermine la dynamique des populations de *G. pulex*. En effet, les gammarus sont la proie de nombreuses espèces macrobenthiques comme les plécoptères (*Perla bipunctata*, *Perlodes microphala* et *Isoperla gammatica*). Cependant, les

prédateurs principaux restent les poissons comme *Salmo trutta* (la truite) et *Cottus cobio* (le chabot) mais aussi *Anguilla anguilla*, (l'anguille), *Phoxinus phoxinus* (le vairon), *Salmo Salar* (le saumon), *Barbatula barbatula* (la loche franche), etc. (Maitland, 1966). La dynamique de population est également liée à de nombreux autres facteurs environnementaux comme le régime hydraulique, le type de ripisylve, les caractéristiques des substrats ou encore la teneur en phosphore total (Schleiter et al., 1999).

3.5. Exigences vis-à-vis des paramètres physicochimiques de l'eau

Gammarus pulex est peu exigeant vis-à-vis de la qualité physicochimique de l'eau. Ceci pourrait expliquer sa large aire de répartition. La température de l'eau doit être comprise entre 0 et 25°C pour une température critique létale comprise entre 28 et 32 °C (Wijnhoven et al., 2003). Néanmoins, *Gammarus pulex* n'est pas un oxy-conformeur (contrairement aux isopodes de genres *Asellus*) et donc ne possède pas de voie métabolique anaérobie. Par conséquent, une concentration minimum en oxygène est nécessaire à sa survie (Maltby, 1995).

Ce crustacé a aussi besoin de calcium pour effectuer sa mue (reconstitution de l'exosquelette). Il préfère les eaux calcicoles à pH neutre voire légèrement alcalin mais fuit les eaux acides (Meijering, 1991). La concentration idéale en calcium varie selon les auteurs. Maitland (1966) propose une valeur critique minimale située entre 2 et 3 mg L⁻¹ alors que Schumann (1928) propose 5,2 mg L⁻¹. Schrimppff et Foeckler, 1985 n'ont trouvé aucune population dans des eaux contenant moins de 20 mg L⁻¹. Il semblerait néanmoins que le développement de *G. pulex* soit plus lié à une interaction entre le pH, la concentration en calcium et la concentration en magnésium. Le pH n'a qu'un second rôle, mais doit être compris entre 7 et 9 de préférence. Le magnésium joue un rôle prépondérant dans la distribution des espèces du genre *Gammarus* en étant souvent le facteur limitant. Pour *G. pulex* sa valeur critique serait de 10 mg L⁻¹ (Schrimppff et Foeckler, 1985). Enfin, *G. pulex* est peu sensible aux pollutions organiques naturelles (Dedecker et al., 2005).

3.6. Nutrition

La forte plasticité alimentaire de *Gammarus pulex* lui confère une forte capacité recolonisatrice (McNeil et al., 1997). *G. pulex* est considéré comme un détritivore qui rend les débris végétaux plus comestibles et assimilables pour d'autres invertébrés aquatiques (Rawer-Jost et al., 2000). Cependant, cette classification simpliste ne rend pas compte du régime alimentaire complexe de *G. pulex*. En effet, les espèces du genre *Gammarus* sont omnivores opportunistes. *G. pulex* peut, par exemple, consommer d'autres espèces

macrobenthiques en cas d'absence de nourriture végétale. Le genre *Gammarus* peut se nourrir, aussi, de chironomes, d'éphéméroptères, de plécoptère, de trichoptères, d'annélides, de cladocères et d'*Asellus sp.* De façon occasionnelle, *G. pulex* peut devenir un prédateur de poissons en se nourrissant de leurs œufs riches en éléments énergétiques (McNeil et al., 1997 ; Kelly et al., 2002). Enfin, *G. pulex* est aussi cannibale car il peut se nourrir des juvéniles ou des individus affaiblis comme une femelle venant de muer (Dick, 1996 ; McNeil et al., 1997).

Concernant la part végétale de sa nutrition, *Gammarus pulex* ne se nourrit pas exclusivement de débris de végétaux. Occasionnellement il peut aussi prélever des végétaux vivants. Mais sa préférence reste pour les débris végétaux grossiers (litière de feuille) provenant d'essence de bois tendre (*Alnus glutinosa*, *Acer pseudoplatanus*, etc.) plutôt que d'essence de bois dur (*Fagus sylvatica*, *Quercus robur*, etc.) probablement du fait de leur composition biochimique moins riche en lignine et en tannins et donc plus digeste (McNeil et al., 1997 ; Kelly et al., 2002). Plusieurs études ont montré l'importance cruciale des champignons associés à la matière végétale morte dans la sélection des éléments consommés. Graça et al. (1994) ont montré que *Gammarus pulex* a une nette préférence pour les feuilles colonisées par *Anguillospora longissima* et *Heliscus lugdunensis*. Néanmoins, il y a une forte disparité entre individus d'une même population. Ces champignons modifient la matière végétale ce qui en facilite la digestion par *G. pulex*.

La proportion de la part prédatrice et de la part détritivore du régime alimentaire est déterminée par la qualité nutritionnelle de la ressource, sa disponibilité et la dépense énergétique nécessaire à son utilisation (McNeil et al., 1997 ; Kelly et al., 2002). Dans le cas de ce crustacé, l'importance de l'énergie utilisée pour la respiration requiert une nourriture à haut rendement calorique.

3.7. Micro-distribution

De la même façon que pour les paramètres physico-chimiques, *Gammarus pulex* est ubiquiste en ce qui concerne son habitat. Il peut s'établir dans des habitats à dominante minérale (avec des veines de courant plus ou moins prononcées) aussi bien que dans des habitats à dominantes organiques (courant faible et plutôt uniforme). Cependant, *Gammarus pulex* est plutôt rhéophile même s'il évite les zones de très fort courant. *G. pulex* s'installe généralement sur des pierres recouvertes de bryophytes ce qui offrent plus de point d'accroches (Maitland, 1966 ; Janetzky, 1994 ; Dahl et Greenberg, 1996 ; Elliott, 2002). En ce sens, *Gammarus pulex* est plus abondant dans les prélèvements effectués dans les zones à *Callitriche* que dans les prélèvements de zones à *Ranunculus*. Welton, 1979 a

observé les densités les plus faibles dans les zones sans macrophyte. Cette préférence pour les zones envégétées pourrait être liée d'avantage à un comportement d'évitement plus qu'à une inaptitude à nager contre le courant. Certains spécimens ont d'ailleurs été observés nageant contre des courants de 30 cm s^{-1} (Dahl et Greenberg, 1996).

Gammarus pulex est un animal nocturne voire lucifuge comme beaucoup de macroinvertébré. Son habitat change de façon significative entre le jour et la nuit (Elliott, 2005). Sa distribution dans un habitat donné dépend aussi de la taille et de l'âge des individus. Par exemple, dans un cours d'eau à dominante minérale, la population de *Gammarus pulex* sera agrégée dans un habitat refuge. La distribution des individus au sein de cet habitat s'explique surtout par la taille des particules et de leurs interstices (Graça et al., 1994 ; Elliott, 2005).

- de 0,5 à 8 mm, on trouvera les juvéniles ;
- de 8 à 256 mm, on trouvera les individus âgés.

Durant la nuit, la distribution des gammares n'est plus corrélée à la taille des individus. Les gammares étant plus actifs, leur distribution est plutôt liée aux conditions hydrauliques. On retrouvera les juvéniles dans les bordures aux faibles courants, les femelles dans les zones de courant modéré alors que les mâles n'ont pas de micro-distribution préférentielle (Elliott, 2005). Cependant, les plus gros individus sont retrouvés dans les zones d'accumulation de feuilles mortes. Cet habitat est plus utilisé comme un refuge que comme une nourriture (Gee, 1988 ; Dahl et Greenberg, 1996). Cette répartition spatiale à l'échelle de la mosaïque d'habitat est une tendance et ses causes sont multifactorielles : intensité du courant, taux de parasitisme, présence de prédateurs, densité des populations, présence d'autres espèces macrobenthiques, etc. (Maitland, 1966 ; Dahl et Greenberg, 1996 ; Elliott, 2005).

3.8. Mouvement migratoire

La capacité à migrer est très importante chez *Gammarus pulex*. Sa capacité à effectuer des déplacements vers l'amont (rhéotaxie positive) est l'une des plus importantes parmi les invertébrés d'eau douce. La rhéotaxie positive est d'abord fortement liée à la luminosité, à la température de l'eau, aux précipitations et au niveau de la masse d'eau (Hultin, 1971). Les variations saisonnières de lumière sont modulées par la variation saisonnière de la température : une température faible (2-3 °C) réduit l'activité de *Gammarus pulex* à son minimum, alors qu'une hausse de quelques degrés peut augmenter significativement cette activité. D'autres activités migratoires, plus localisées et moins dépendantes de la saison sont liées aux précipitations et à une variation du niveau de l'eau.

Une augmentation, même légère, du courant se traduit par une augmentation des mouvements vers l'amont (Hultin, 1971). Le maximum de rhéotaxie positive est observé vers juin-juillet, pour un minimum en mars. Les mouvements migratoires affectent l'ensemble des classes d'âges. L'activité rhéotaxique est généralement nocturne et lente. Elle s'opère en bordure de cours d'eau où le courant est plus faible et lorsque les individus sont en quête de nourriture (Elliott, 2002 ; Elliott, 2005).

La rhéotaxie négative (dérive vers l'aval) concerne 4 à 10 % des individus d'une population. La rhéotaxie positive est prédominante sur la rhéotaxie négative (Williams et Williams, 1993). Cette dérive se fait sur quelques mètres et advient principalement la nuit. Les principaux facteurs influençant cette dérive nocturne sont d'abord les variations d'intensité du courant et ensuite la densité du macrobenthos, en particulier la densité des gammares. Ces deux facteurs n'expliquent que 40 % de la dérive nocturne. La distance vers l'aval est surtout influencée par le type de substrat parcouru. La dérive est plus rapide lorsqu'il faut franchir des roches dénudées que lorsqu'il faut traverser des macrophytes ou des bryophytes.

En l'absence de perturbations majeures, les mouvements migratoires, qu'ils soient amont ou aval, ne sont pas nécessaires pour maintenir les populations. La pérennité des populations est déjà assurée par le taux de reproduction des gammares (Elliott, 2002). L'activité migratrice des gammares permet surtout une colonisation ou une recolonisation des habitats. Elle peut aussi constituer une fuite ou une stratégie d'évitement lorsque les conditions sont défavorables

Les papeteries rejettent des mélanges complexes de pollution constitués principalement de matières en suspension et de charge organique. La présence de polluants métalliques est également possible du fait de l'utilisation de colorants et/ou de substances métalliques utilisées pour traiter les eaux usées. Un système de traitement des eaux ne peut avoir un intérêt environnemental que s'il démontre à la fois un intérêt physico-chimique en terme d'abattement de l'ensemble des polluants, et un gain écotoxicologique. L'intérêt écotoxicologique est généralement caractérisé par des tests ambiants utilisant des organismes ayant peu de signification écologique comme *Daphnia magna* ou *Danio rerio*. En effet, le bioindicateur *Daphnia magna* est loin de coloniser tous les milieux tandis que *Danio rerio* est un poisson amazonien. Dans ce travail, nous avons choisi d'utiliser *Gammarus pulex* comme bioindicateur. C'est un organisme ubiquiste doté d'une large aire de répartition, sensible à une large gamme de stress. De plus, de nombreuses réponses sont mesurables (tests de mortalité, de locomotion). *Gammarus pulex* est d'un intérêt écologique certain de par sa position dans les réseaux trophiques et sa capacité à utiliser des habitats différents. Enfin, sa tolérance relative aux excès de matière organique et de nutriment permet de s'affranchir de leurs effets pour n'intégrer que ceux des autres contaminants (ETM, micropolluants organiques persistants, etc.).

Deuxième Partie :

**Étude expérimentale de la
biofloculation dans le but de
traiter des eaux « biologiques »
papetières**

Chapitre 1 : Matériels et méthodes

Il existe de nombreux paramètres pour mettre en évidence et quantifier la pollution des eaux. Parmi les analyses disponibles, quatre sont couramment effectuées : la demande chimique en oxygène (DCO), la demande biochimique en oxygène sur 5 jours (DBO_5), le pH et les matières en suspension (MES). Pour une caractérisation complète d'une eau de rejet industriel, il faut également mesurer d'autres paramètres comme les éléments traces métalliques (ETM), la turbidité ou encore la conductivité. Dans ce chapitre, nous allons décrire tous les paramètres ainsi que les réactifs et les techniques que nous avons utilisés pour mener nos expérimentations. La préparation du biofloculant sera également décrite.

1. Paramètres analytiques de l'eau

1.1. Demande chimique en oxygène

1.1.1. Principe, définition et valeurs usuelles

Les matières organiques sont des matières oxydables qui nécessitent pour leur décomposition une certaine quantité d'oxygène. Lors de leur dégradation, le milieu naturel s'appauvrit en oxygène, c'est pourquoi elles sont considérées comme des matières polluantes. Deux paramètres permettent d'évaluer la teneur en matière organique : la demande chimique en oxygène (DCO) et la demande biochimique en oxygène sur 5 jours (DBO_5).

La DCO correspond à la consommation en oxygène de l'effluent au cours d'une réaction d'oxydation permettant ainsi d'estimer sa charge polluante. La DCO s'exprime en $mg\ d'O_2\ L^{-1}$ et est égale à la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder dans des conditions

opératoires définies les matières organiques présentes dans un échantillon donné. L'oxydation est réalisée par le bichromate de potassium à chaud en milieu acide, un réactif ayant un fort pouvoir d'oxydation. La DCO se définit comme la concentration d'O₂ équivalente à la quantité de bichromate consommée pour oxyder les éléments dissous et en suspensions (substances organiques et minérales) lorsqu'on traite la solution avec cet oxydant dans des conditions définies par la norme NF T90-101 (AFNOR, 2001) ou la norme ISO 6060 (ISO, 1989).

Cet méthode est opérationnelle pour des échantillons dont la DCO varie entre 30 mg L⁻¹ et 700 mg L⁻¹ pour la norme ISO ou inférieure à 2000 mg L⁻¹ pour la norme AFNOR avec un taux de chlorures (considérés comme des interférents importants) ne dépassant pas 1000 mg L⁻¹. Si les échantillons dépassent la limite supérieure, il faut alors les diluer. Cette méthode est, cependant, lourde à mettre en œuvre, ce qui constitue un frein à la mise en place des réplicats en routine.

Il existe une autre méthode appelée ST-DCO décrit par la norme ISO 15705 (ISO, 2002), encore appelée micro-méthode ou méthode dite en tubes. Le principe de la réaction chimique est le même que dans la méthode ISO 6060 ou AFNOR NF T90-101. Pour les échantillons à faible DCO, la fidélité de la mesure et la limite de détection sont altérées.

1.1.2. Protocole expérimental

La valeur limite définie en milligrammes d'oxygène par litre d'effluents rejetés et contrôlée sur l'effluent brut décanté de lagune aérée est de 500 à 1300 mg L⁻¹ pour la papeterie du Doubs. Par conséquent, nous avons préférentiellement utilisé la micro-méthode avec des tubes kits de 0 à 150 mg L⁻¹, de 0 à 1500 mg L⁻¹ ou de 0 à 15000 mg L⁻¹ (Tableau 2.1) de façon à assurer la réplication des expériences. Le matériel utilisé est le système de mesure de la DCO *COD Vario* d'Aqualytic (Dortmund, Allemagne) avec les réacteurs *Eco8* de Velp Scientifica (Milan, Italie).

Tableau 2.1 : Protocole de mesure de la ST-DCO.

Domaine de travail	Volume d'échantillon	Incubation	Détection
0-150 mg L ⁻¹	2 mL	2 h à 150 °C	photométrie
0-1500 mg L ⁻¹	2 mL	2 h à 150 °C	photométrie
0-15000 mg L ⁻¹	0,2 mL	2 h à 150 °C	photométrie

1.2. Demande biochimique en oxygène

1.2.1. Principes définition et valeurs usuelles

Les phénomènes d'autoépuration dans les eaux superficielles résultent de la dégradation des charges organiques polluantes par les microorganismes. L'activité de ces derniers s'accompagne de la consommation d'oxygène dans la masse d'eau. La demande biochimique en oxygène ou DBO représente la quantité d'oxygène nécessaire aux microorganismes pour oxyder 1 g de matière organique biodégradable (MOB) présente dans l'eau. Cette mesure est réalisée après 5 jours d'incubation à l'obscurité et à 20°C. La DBO s'exprime en mg d'O₂ L⁻¹. Les DBO₅ usuelles de différents types d'eau sont données dans le Tableau 2.2. Les eaux destinées à la consommation humaine doivent avoir une DBO₅ de 0.

Tableau 2.2 : DBO caractéristiques pour différents types d'eau.

Type d'eau	Valeur(s) de DBO ₅ caractéristique
Eaux destinées à la consommation humaine	0 mg L ⁻¹
Eaux superficielles de bonne qualité	quelques mg L ⁻¹
Eaux résiduaires urbaines	entre 20 et 50 mg L ⁻¹
Eaux industrielles usées	entre 20 et 100 mg L ⁻¹

On considère que la DCO représente l'ensemble des matières oxydables et la DBO₅ la part des matières organiques biodégradables. La différence entre ces deux paramètres représente ainsi la charge en matières organiques peu ou pas biodégradables. Ainsi, la DCO est toujours supérieure à la DBO. La mesure de DBO₅ permet de quantifier l'appauvrissement du milieu en O₂ par le rejet (Hynes, 1978).

De la même manière, dans des systèmes de traitement biologique comme le lagunage ou les boues activées, plus la DBO₅ est élevée, plus la consommation d'O₂ par les microorganismes est importante. Il est alors indispensable d'augmenter le taux d'oxygène dans le traitement, ce qui engendre alors un coût énergétique non négligeable.

Le rapport DCO/DBO₅ peut fournir une indication sur la biodégradabilité de l'effluent. On considère que (Rodrigues et al., 2008 ; Degremont, 2005) :

- pour un rapport de DCO/DBO₅ < 2, l'effluent est facilement biodégradable ;
- pour un rapport compris entre 2 < DCO/DBO₅ < 3, l'effluent est biodégradable avec des souches sélectionnées ;
- et pour un rapport de 3 < DCO/DBO₅, l'effluent est non biodégradable.

Le rapport DCO/DBO₅ et le taux de DBO₅ sont des valeurs importantes pour connaître le devenir et les effets de la matière organique dans le milieu. Cela fournit des informations

sur les conséquences d'un rejet et permet d'évaluer si, pour un effluent biodégradable, on ne risque pas, par exemple, d'inhiber voire d'annihiler les capacités d'autoépuration naturelle du milieu.

1.2.2. Protocole expérimental

Le protocole expérimental utilisé est simple et parfaitement reproductible. Il consiste en la mesure de concentration initiale C_0 en O_2 dissous dans l'échantillon au moment du prélèvement et en la concentration C_5 en O_2 dissous après 5 jours d'incubation à l'obscurité et à 20°C. La DBO_5 est alors égale à $C_0 - C_5$ et s'exprime en $mg_{O_2} L^{-1}$. L'incubation se fait en présence éventuelle d'une solution de phosphate et d'allylthiol urée pour que l'azote et le phosphore ne soient pas des facteurs limitant du développement microbien. Une dilution peut s'avérer nécessaire dans le cas d'effluents à fortes DBO , car si celle-ci est trop élevée, l'oxygène dissous est consommé avant la fin de la période d'incubation. La dilution s'effectue en utilisant une solution saline saturée en oxygène. Il existe deux méthodes de mesure de la DBO : i) la méthode dite des dilutions (norme NF EN 1899-1 ; AFNOR, 1998a) et ii) la méthode par mesure de la respiration (Tableau 2.3, norme NF EN 1899-2 ; AFNOR, 1998b).

La première méthode mesure directement la consommation d' O_2 à l'aide d'une sonde oxymétrique. La deuxième méthode mesure la consommation d' O_2 par chute de pression dans les fioles à l'aide d'un manomètre et en présence de KOH pour capter le CO_2 émis par la respiration. Pour les mêmes raisons que précédemment, nous avons choisi la méthode par mesure de la respiration car elle est simple, reproductible et plus fiable (pas de dilution). La mesure de DBO_5 présente comme principale inconvénient le temps d'incubation long (5 jours). Pour nos mesures, nous avons utilisé le système *OxiDirect* de chez Aqualytic (Dortmund, Allemagne) et une étuve thermostatée ET 618-4.

Tableau 2.3 : Protocole de mesure de la DBO_5 (température de l'échantillon au démarrage de la mesure : 15-21 °C ; température d'incubation : 20 °C).

Domaine de mesure	Volume d'échantillon	Ajout de KOH dans le réservoir
4-40 $mg_{O_2} L^{-1}$	428 mL	1 goutte
40-80 $mg_{O_2} L^{-1}$	360 mL	2 gouttes
80-200 $mg_{O_2} L^{-1}$	244 mL	2 gouttes
200-400 $mg_{O_2} L^{-1}$	157 mL	4 gouttes
400-800 $mg_{O_2} L^{-1}$	94 mL	4 gouttes
800-2000 $mg_{O_2} L^{-1}$	56 mL	4 gouttes
2000-4000 $mg_{O_2} L^{-1}$	21,7 mL	5 gouttes

1.3. MES et turbidité

1.3.1. Principe

La teneur et la composition minérale ou organique des matières en suspension (MES) dans les eaux sont très variables. Des teneurs élevées en MES diminuent la pénétration de la lumière et entraîne des lésions des systèmes respiratoires de la faune aquatique. Les MES sont systématiquement prises en compte dans l'évaluation des pollutions. Les analyses de MES permettent de connaître la quantité de matières particulaires, quelles soient organiques ou minérales, présentes dans une solution (NF EN 872 ; AFNOR, 2005). C'est une analyse simple mais longue qui consiste à mesurer la quantité de matière solide dans une solution (Tableau 2.4). Cette mesure est faite par filtration de la solution à mesurer sur une membrane de masse initiale connue (M_i). Après filtration, la membrane est séchée à l'étuve pendant 2 h à 100 °C puis la membrane est à nouveau pesée (masse finale M_f). La différence des masses ($M_f - M_i$) donne alors le taux de MES exprimé en mg L^{-1} .

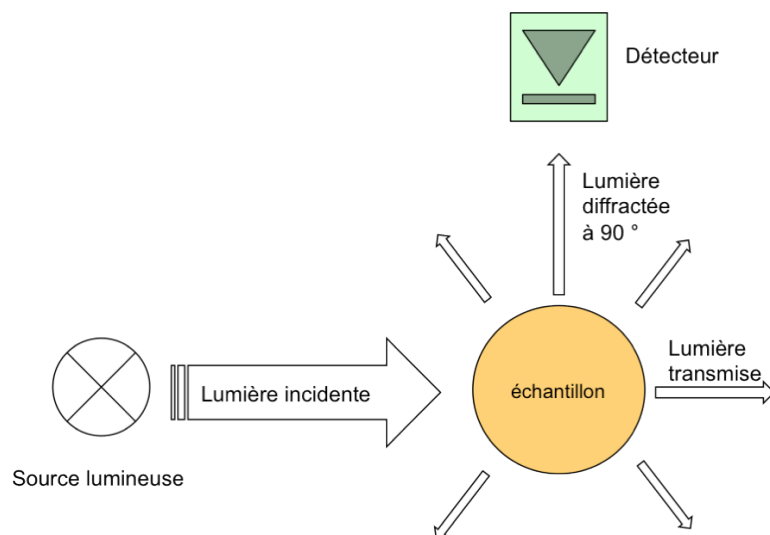
Il existe une autre méthode de mesure de plus en plus utilisée et plus simple à mettre en œuvre : c'est la turbidité. Des particules en suspension (limon, argile, plancton, etc.) existent naturellement dans l'eau. La turbidité est la mesure de l'effet de diffusion de la lumière produit par ces particules, et non pas une mesure de la quantité de ces particules. Plus l'eau est trouble, plus elle diffuse la lumière et plus la turbidité est élevée. La turbidité est un facteur écologique important qui peut être indicateur d'efflorescence planctonique et de dystrophie. Une turbidité élevée diminuera la quantité d'énergie lumineuse arrivant dans la masse d'eau. Cette diminution d'énergie dans la masse d'eau peut mener à une diminution de la production primaire et donc à une fragilisation des réseaux trophiques. Mesurer la turbidité est facile et surtout peu coûteux. La turbidité est non seulement un indicateur de la salubrité de l'eau potable, mais également un outil utile d'évaluation du rendement des procédés de traitement de l'eau.

1.3.2. Protocole expérimental

La turbidité est mesurée par néphélométrie (Tableau 2.4) en utilisant un appareil appelé turbidimètre. Elle se mesure en unités de turbidité néphélométriques ou uTN (généralement on utilise NTU pour *Nephelometric Turbidity Unit*). La néphélométrie mesure la lumière diffusée à 90° d'angle par rapport à la lumière incidente (Figure 2.2). La mesure est faite soit avec la lumière blanche soit avec un spectre infrarouge. Les turbidimètres récents peuvent atteindre des mesures de 0,1 NTU ou inférieures. Nous avons utilisé le turbidimètre *Turb 430 IR* de chez WTW (Weilheim, Allemagne).

Tableau 2.4 : Protocoles de mesure des MES et de la turbidité

	MES	Turbidité
Prise d'essai	50 mL	20 mL
Séchage	2 h	-
Principe de mesure	Pesée avant/après	Néphélométrie
Filtration	Sur fibre de verre	-
Temps total de mesure	Temps de filtration + temps de séchage	Quelques secondes

**Figure 2.1** : Schéma de principe des mesures en néphélométrie.

1.4. Conductivité

L'ensemble des électrolytes présents dans une solution conditionne sa conductivité électrique et traduit ainsi la minéralisation totale de l'eau. La conductivité électrique traduit la capacité d'une solution aqueuse à conduire le courant électrique. Par exemple, une eau douce (faiblement calcaire) accusera une conductivité basse ; au contraire, une eau dite dure (fortement calcaire) affichera une conductivité élevée. La conductivité donne une information sur la quantité des ions contenus dans une solution : on distingue i) les cations comme le calcium, le magnésium ou le potassium et ii) les anions comme les bicarbonates, les chlorures, les sulfates, les nitrates, ou encore les phosphates. La conductivité est mesurée en $\mu\text{S cm}^{-1}$. La conductivité à 20 °C d'une eau destinée à la consommation humaine est proche de $400 \mu\text{S cm}^{-1}$ alors que des valeurs supérieures à $1500 \mu\text{S cm}^{-1}$ indiquent une minéralisation excessive (concentration en sels importante).

La conductivité électrique est une grandeur inversement proportionnelle à celle de résistivité électrique mais directement proportionnelle à la quantité de solides dissous dans l'eau (les sels minéraux). Ainsi, plus la concentration en solides dissous sera importante, plus la conductivité sera élevée. On admet que la conductivité ($\mu\text{S cm}^{-1}$) correspond approximativement à la salinité (en mg L^{-1}). Le rapport entre conductivité et concentration

ionique s'exprime par approximation sachant que $2 \mu\text{S cm}^{-1} = 1 \text{ mg L}^{-1}$. La mesure de conductivité est dépendante de la température. Pour des conductimètres ne possédant pas de correction automatique, on utilise une table de correction exprimée par des coefficients de température. Le matériel utilisé est le conductimètre C561 de Consort (Turnhout, Belgique) qui possède un système de correction de température automatique (précision $\pm 1 \mu\text{S cm}^{-1}$). Les mesures ont été faites sous agitation lorsque c'était possible, à 20 °C et après un étalonnage systématique de l'appareil.

1.5. pH

Le potentiel d'hydrogène ou pH est un paramètre important de l'eau qui dépend de la température, et qui joue un rôle prépondérant dans les procédés de coagulation/floculation. En effet, il peut favoriser des réactions de complexations ou de précipitations sélectives. En hydrobiologie, un pH trop faible ou trop fort peut avoir un effet néfaste sur les organismes aquatiques. Nos mesures de pH ont été réalisées en utilisant le matériel de chez Eutech Instrument (Singapour, Chine) : le pHmètre *CyberScan pH/Ion 510*. Les mesures ont été faites sous agitation lorsque c'était possible, à 20 °C et après un étalonnage systématique de l'appareil (précision $\pm 0,01$).

1.6. Éléments en traces métalliques

1.6.1. Principes et généralités

Les teneurs en éléments traces métalliques ou ETM ont été mesurées par spectrométrie d'absorption atomique (SAA). Le principe de la spectrométrie d'absorption atomique est le suivant :

- (i) une population d'atomes, engendrée par un atomiseur est éclairée par une source lumineuse (lampe à cathode creuse) qui produit une radiation de longueur d'onde λ et d'intensité I_0 , caractéristique de l'élément à doser (raie d'émission) ;
- (ii) les photons émis à cette longueur d'onde sont absorbés par les atomes à l'état fondamental présent dans l'atomiseur ; cette absorption s'effectue à des longueurs d'ondes caractéristiques des éléments présents ; on distingue ainsi des raies d'absorption ;
- (iii) les atomes passent alors à l'état excité E_1 , moins stables et reviennent ensuite à l'état E_0 en émettant des photons de même énergie que ceux absorbés.

A une concentration donnée correspond donc une absorption donnée. La relation entre les deux grandeurs est donnée par la loi de Beer-Lambert (Equation 2.1). Des limites de détections et de quantification sont définies (Tableau 2.5). La limite de détection est la plus petite concentration pouvant être détectée avec une incertitude acceptable mais non quantifiée. La limite de quantification est la plus petite concentration pouvant être quantifiée avec une incertitude acceptable.

Equation 2.1 : Loi de Beer-Lambert

$$DO = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) = \epsilon lc$$

I_0 : Intensité incidente
 I : Intensité transmise
 ϵ : coefficient d'extinction moléculaire
 l : longueur du trajet optique
 c : concentration
 DO : densité optique ou absorbance

Tableau 2.5 : Limites de détection et de quantification des éléments mesurés.

Élément	Limite de détection	Limite de quantification
Aluminium ($\mu\text{g L}^{-1}$)	16	22
Plomb ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,6	0,9
Nickel ($\mu\text{g L}^{-1}$)	2,5	3,6
Zinc ($\mu\text{g L}^{-1}$)	25	34

Il existe deux principaux types d'atomiseurs en SAA: la flamme ou le four. En flamme, la solution à analyser est aspirée puis nébulisée (production d'un aérosol liquide-gaz) avant de subir différentes étapes jusqu'à l'atomisation. En four, l'échantillon est déposé dans une cuvette en graphite pyrolytique chauffée par effet Joule. La température du four est programmée pour réaliser plusieurs étapes successives :

- la désolvation (complète évaporation du solvant) ;
- la décomposition ou pyrolyse (simplification de la matrice de l'échantillon) ;
- l'atomisation ;
- le nettoyage.

En SAA, plusieurs types d'interférences existent :

- (i) des **interférences chimiques** ou effets de matrice, liées à une altération de la densité de vapeur atomique ou de sa vitesse de formation. En flamme des tampons spectroscopiques sont ajoutés en grande quantité pour niveler l'interférence, en four, un agent en excès, le modificateur, est introduit pour amener l'analyte dans une phase de stabilité thermique plus élevée (modificateur d'analyte) et/ou augmenter la volatilité des interférents (modificateur de matrice) ;

(ii) des **interférences spectrales** qui peuvent se rencontrer lors de la superposition de raies d'absorption moléculaire ou la diffusion de lumière incidente (fumées non évacuées) ; on utilise des correcteurs d'absorbance non spécifiques pour correction : le correcteur au deutérium (atomiseur éclairé alternativement par le rayonnement du deutérium ou le rayonnement de la source primaire) et le correcteur par effet Zeeman qui concerne les niveaux énergétiques d'un atome ; en flamme, nous avons eu recours à la correction deutérium, et à la correction Zeeman en four.

(iii) des **interférences physiques** liées aux propriétés physiques des solutions utilisées (viscosité principalement)

1.6.2. Protocole expérimental

L'ensemble des mesures se fait en milieu acide sur des échantillons liquides parfaitement limpides. Les échantillons (effluents, végétaux, crustacés) sont préalablement minéralisés. La minéralisation (digestion) consiste en une attaque avec un acide fort (HNO_3 à 65 %). Un oxydant (H_2O_2) a été ajouté dans le cas de macromolécules complexes (cellulose, chitine, etc).

Les programmes électrothermiques ainsi que les méthodes de minéralisation sont présentés aux Tableaux 2.6 et 2.7. Les spectromètres d'absorption atomique sur lesquels ont été effectuées les mesures sont les AA240Z (four) et AA240FS (flamme) de Varian (Sydney, Australie).

Tableau 2.6 : Programmes électrothermiques utilisés pour les mesures spectroscopiques en four pour les métaux Al, Pb et Ni (Zn a été mesuré en flamme).

Étapes	Al			Pb			Ni		
	Temp* (°C)	Durée (s)	Débit Ar (L min ⁻¹)	Temp* (°C)	Durée (s)	Débit Ar (L min ⁻¹)	Temp* (°C)	Durée (s)	Débit Ar (L min ⁻¹)
1	200	40,0	0,3	160	60,0	0,3	100	45,0	3,0
2	200	10,0	0,3	180	25,0	0,3	200	20,0	3,0
3	1400	25,0	0,3	900	25,0	0,3	1200	25,0	3,0
4	1400	10,0	0,3	900	15,0	0,3	1200	10,0	3,0
5	1400	1,0	0,3	900	1,0	0,0	1200	1,0	0,0
6	2600	0,7	0,0	1700	0,4	0,0	2600	0,7	0,0
7	2600	2,5	0,0	1700	3,0	0,0	2600	2,5	0,0
8	2700	1,0	0,3	2500	2,0	0,3	2600	1,0	0,5
9	40	21,7	0,3	40	21,3	0,3	40	21,5	3,0
10	40	10,0	0,3	40	10,0	0,3	40	10,0	3,0

*Température

Tableau 2.7 : méthode de minéralisation (digestion) pour les effluents papetiers, *Phragmites australis* et *Gammarus pulex*.

	Effluents papetiers	<i>Phragmites australis</i>	<i>Gammarus pulex</i>
Échantillon	3 mL	~ 300 mg	~ 30 mg
HNO ₃	3 mL	6 mL	1 mL
H ₂ O ₂	2mL	2 mL	0,2 mL
Méthode	Four micro-onde	Four micro-onde	Étuve
Programme	130 °C 8 min 80 %	160 °C 5 min 80 %	70 °C 12 h
	155 °C 5 min 80 %	200 °C 5 min 80 %	
	200 °C 15 min 90 %	100 °C 10 min 80 %	

Le matériel utilisé (verrerie, tube plastique, etc.) était nettoyé à l'eau acidifié sans aluminium avant chaque prélèvement. Les échantillons ont été conservés à -20 °C et ont été mesurés juste après minéralisation. La manipulation des échantillons se fait en portant des gants non poudré.

1.7. Oxygène dissous

La solubilité de l'O₂ dans l'eau est fonction de la pression atmosphérique, de la température et de la minéralisation de l'eau. La saturation en O₂ diminue lorsque l'altitude et la température augmentent. On mesure l'oxygène dissous à l'aide d'une sonde munie d'une membrane qui contient un électrolyte. L'O₂ diffuse à travers cette membrane. C'est le courant électrique, proportionnel à la quantité d'O₂ traversant la membrane et l'électrolyte, qui est alors mesuré. L'oxygène présent autour de la sonde est consommé au fur et à mesure de la mesure. Il est donc important de réaliser cette mesure sous agitation de la solution ou en agitant la sonde. La sonde utilisée possède une correction automatique de la température car celle-ci influence la saturation en O₂ et la capacité de l'O₂ à traverser la membrane. L'oxygène est un paramètre très important pour évaluer la capacité biogène du milieu. Le matériel utilisé est l'oxymètre *DO 110* de chez Eutech Instrument (Singapour). Les mesures ont été faites sous agitation lorsque c'était possible, à 20 °C et après un étalonnage systématique de l'appareil (précision ± 1,5 % de la valeur).

1.8. Température

La température influence non seulement les grandeurs telles que le pH, la conductivité ou l'oxygène qui caractérise l'état de la masse d'eau, mais elle module également les processus mis en jeu dans les techniques de décontamination. Pour mesurer la température, nous avons utilisé le thermomètre *EcoScan 6* de chez Eutech Instrument (Singapour). Les

mesures ont été faites sous agitation lorsque c'était possible et après un étalonnage systématique de l'appareil (précision $\pm 0,2$ °C).

1.9. Indice de Mohlman

L'indice de Mohlman est l'indice de décantation des boues (NF EN 14702-1 ; AFNOR, 2006) et est déterminé dans un cône de sédimentation d'Imhoff de 1 L (Figure 2.2). Après avoir homogénéisé l'effluent, celui-ci est versé dans le cône. L'indice est déterminé après une demi-heure de décantation en relevant la valeur de la graduation où s'arrête l'interface boue/eau. A partir de l'indice de Mohlman (IM), on détermine l'indice de boues (IB) exprimé en mL g^{-1} . Pour obtenir cet indice, il suffit de diviser le volume de boues décantées (mL L^{-1}) par la concentration en MES (g L^{-1}) de l'effluent. Cet indice représente le volume occupé par un gramme de boue et renseigne sur la capacité des boues à décanter. Le Tableau 2.3 présente les valeurs seuils de l'indice de boue.



Figure 2.2 : Cônes de sédimentation d'Imhoff.

Tableau 2.8 : Valeurs seuil de l'indice de boue (Cemagref, FNDAE n° 33).

Valeur de IB en mL g^{-1}	Conditions	Commentaire
IB < 100	Idéales	Les boues sédimentent facilement et sont le plus souvent bien minéralisées
100 < IB < 150	Acceptables	Conditions acceptables pour des installations fonctionnant dans le domaine de la faible charge
IB > 150	Difficiles	Difficultés possibles de décantation liées au développement de bactéries filamenteuses

2. Réactifs chimiques et préparation du chitosane

2.1. Réactifs

Tous les réactifs chimiques utilisés sont des produits commerciaux et proviennent de différents fournisseurs. Ils ont été utilisés sans purification préalable. La poudre de chitosane a été fournie par France Chitine (Orange, France). Ce biopolymère a été livré soit sous

forme de poudre (flocons), soit sous forme liquide prête à l'emploi (dans une solution d'acide acétique). Le choix s'est porté sur un produit sous forme de flocons à faible coût, et donc avec un faible degré de désacétylation (80-85 %) et une masse moléculaire ($1,8 \cdot 10^5 \text{ g mol}^{-1}$) moyennement élevée.

2.2. Préparation du chitosane

La préparation de la solution de chitosane à partir de la forme en flocons a été effectuée en deux étapes : i) la poudre de chitosane a d'abord été mise en suspension dans 95 mL d'eau distillée et hydratée pendant 24 h sous forte agitation ; ii) on ajoute ensuite 5 mL d'acide acétique à 99,7 % et on agite pendant 3 h. On obtient une solution légèrement colorée en jaune-orangée et visqueuse. Pour éviter tout risque de dégradation, la solution de biofloculant est conservée à 4°C et utilisée au maximum dans les 48 h.

3. Procédure dite du jar-test

3.1. Protocole de laboratoire

La floculation est une étape importante dans le traitement des effluents chargés en MES et en particules colloïdales. L'étude de la floculation est réalisée dans un appareil appelé jar-test (Figure 2.3) qui permet d'optimiser les conditions opératoires de la manipulation.

En effet, les protocoles en jar-test permettent une modification des paramètres comme la vitesse d'agitation, le temps d'agitation, la dose de floculant, le pH, etc. Le matériel utilisé est le jar-test *FC6S* de Velp Scientifica (Milan, Italie). Sauf précision contraire, les essais se sont déroulés avec des volumes de 400 mL un temps de contact de 2 à 5 min pour une agitation de 300 rpm suivi d'un temps de décantation de 2 h. L'ensemble de l'échantillonnage a été fait sur le premier centimètre du surnageant.

3.2. Protocole semi-industriel

Les flux traités dans une papeterie sont très importants, de l'ordre de $35 \text{ à } 50 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$. Ces flux ne permettent pas la réplique des expériences de biofloculation sur site industriel. Ceci nous a contraint à réaliser des essais semi-industriels en concevant un jar-test géant. Le schéma général du prototype est présenté dans la Figure 2.4. L'ensemble des manipulations réalisées avec cet appareil suit le même protocole que celui en jar-test

conventionnel. Nous avons utilisé une cuve de stockage de 1 m³ muni d'un agitateur industriel (ECO MIX SL075-4-100).

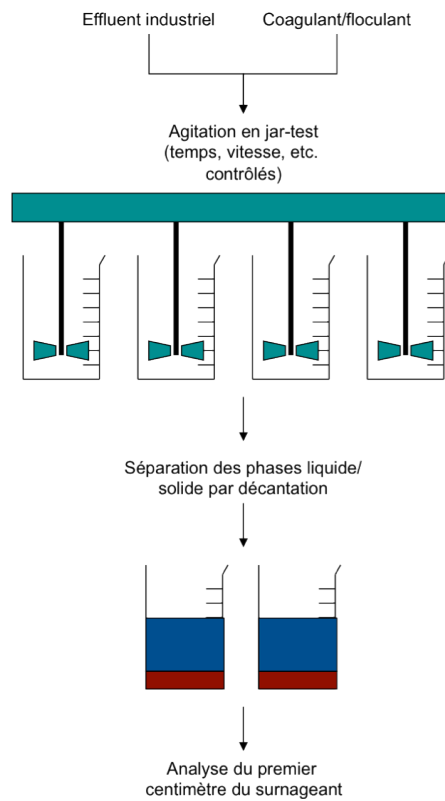


Figure 2.3 : Schéma général du protocole en jar-test.

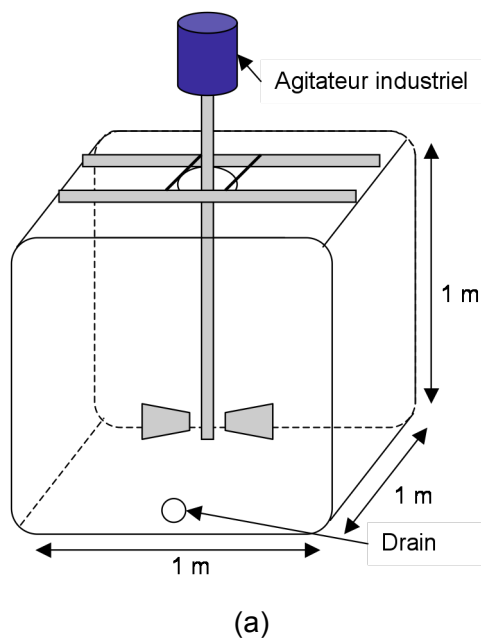


Figure 2.4 : a) Schéma général du prototype de jar-test géant et b) photo des containers et de l'agitateur utilisés.

Les méthodes décrites dans ce chapitre ont été choisies de manière à permettre une parfaite caractérisation physicochimique des effluents provenant d'une station de traitement d'effluents papetiers. Les pollutions organique et minérale des effluents seront déterminées par un suivi analytique des mesures afin de prendre en compte la variabilité intrinsèque des effluents. Le choix de la technique dite du jar-test permettra de transférer les expérimentations effectuées en laboratoire vers des tests semi-industriels.

Chapitre 2 : Caractérisation physico-chimique des eaux de la papeterie du Doubs

La Figure 2.5 montre le parcours des eaux usées provenant de l'usine papetière. Les premières eaux produites sont appelées eaux brutes de machine à papier ou encore effluents MAP. Ces eaux brutes subissent ensuite différents traitements physico-chimiques et biologiques.

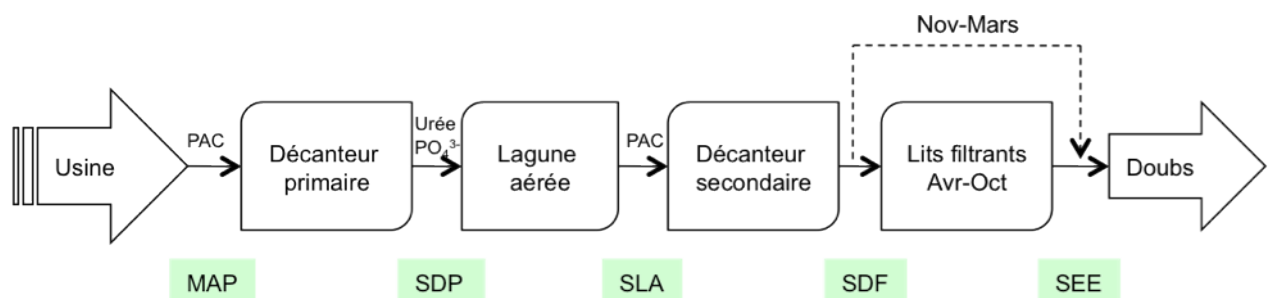


Figure 2.5 : Parcours des eaux usées dans le système de traitement de la papeterie du Doubs : en vert sont représentés les différents points de prélèvements.

Il existe quatre types d'eaux dans la station de traitement : (i) les eaux de sortie décantateur primaire ou effluents SDP, (ii) les eaux de sortie lagune aérée ou effluents SLA, (iii) les eaux de sortie décantateurs secondaires ou effluents SDF (iv) et les eaux de sortie eaux épurées ou effluents SEE.

Nous avons gardé la nomenclature utilisée à la papeterie du Doubs pour décrire les différents types eaux. Ceux-ci présentant des caractéristiques analytiques différentes, il est donc indispensable d'analyser chaque effluent pour mieux caractériser le fonctionnement de

chaque étape, et de suivre ainsi d'éventuelles variations saisonnières. L'échantillonnage est réalisé sur les effluents issus des différentes étapes de traitement.

1. Variations pluriannuelles des eaux traitées et rejetées dans le Doubs

De 2006 à 2008, un suivi des eaux de sortie (SEE) de la papeterie a été réalisé. Une campagne de 10 mesures consécutives par saison (hiver, printemps, été, automne) a permis de rassembler les résultats présentés dans la Figure 2.6. Pour mettre en évidence d'éventuelles variations pluriannuelles, nous avons choisi de suivre et de mesurer les paramètres suivants : DCO et teneurs en aluminium, plomb, zinc et nickel.

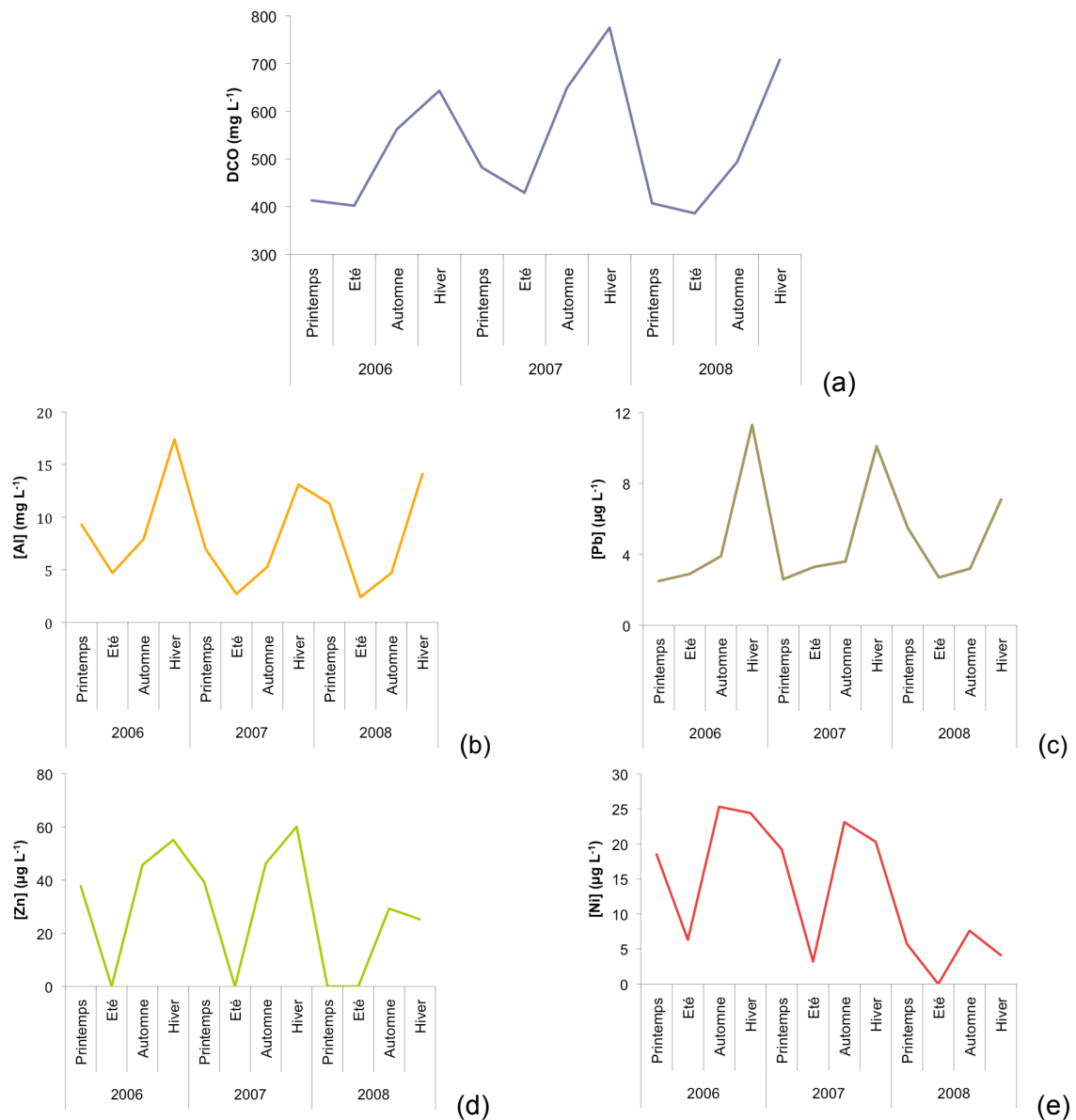


Figure 2.6 : Variations pluriannuelles saisonnières de la DCO (a), de l'aluminium (b), du plomb (c), du zinc (d) et du nickel (e) de 2006 à 2008 dans les rejets de la papeterie.

Sur la Figure 2.6, on remarque l'existence d'un motif périodique dans les variations des paramètres mesurés. D'une façon générale, les valeurs les plus basses ont été observées en été et les plus hautes en hiver, ce qui traduit une plus grande efficacité du traitement en été. Par exemple, les valeurs de DCO en hiver sont respectivement de 673, 788 et 775 mg L⁻¹ en 2006, 2007 et 2008, valeurs beaucoup plus élevées que celles mesurées en été (418, 429 et 386 mg L⁻¹). Une variation saisonnière similaire a été mise en évidence également pour les concentrations en métaux dans les eaux de rejet. Les plus fortes concentrations en aluminium sont observées en hiver (17,4, 13,1 et 14,1 mg L⁻¹ valeurs respectives pour 2006, 2007 et 2008) et les plus faibles en été (4,7, 2,7 et 2,4 mg L⁻¹). Le plomb, le zinc et le nickel varient de manière analogue à l'aluminium. Ces valeurs sont généralement supérieures aux valeurs usuelles des eaux superficielles (Tableau 2.9).

Pendant les trois années de suivi, les concentrations métalliques sont plus importantes en période froide. Plusieurs hypothèses non exclusives peuvent rendre compte des concentrations en métaux plus élevées en hiver :

- la rhizosphère (traitement tertiaire), ne fonctionnant pas en hiver, ne joue pas son rôle de filtre et d'accumulateur ;
- la lagune aérée connaît de fortes variations de température, et par conséquent, les processus biologiques et chimiques s'en trouvent affectés ;
- une variation des valeurs de pH peut entraîner une solubilisation plus importante des métaux ;
- une variation dans la production du papier (fonction de la matière première utilisée) peut également entraîner une variation de la charge métallique.

De plus, les plus fortes valeurs de DCO sont observées en période froide quelle que soit l'année et ceci a été également constaté depuis 10 ans par l'industriel. Les données de la littérature montrent qu'il est possible de relier la DCO à la température des eaux du traitement biologique : plus la température est froide, plus l'activité biologique est faible, plus la dissipation du carbone organique est faible, et plus la DCO est donc grande (Escalas-Cañellas et al., 2008).

L'interprétation de ces résultats nous a conduit à étudier en détail l'ensemble du processus de traitement des eaux. Pour ce faire, nous avons effectué 12 « photos » physico-chimique de la station de traitement sur l'année 2009 (de mars 2009 à février 2010) en mesurant les paramètres décrits au chapitre précédent. Les paramètres mesurés sont : le pH, la température, la conductivité, l'oxygène, la DCO, la DBO, la turbidité, les MES, et les teneurs en aluminium, plomb, zinc et nickel.

Tableau 2.9 : Concentrations usuelles observées dans les eaux de surfaces françaises pour l'aluminium, le nickel, le plomb et le zinc (Ghestem et al., 2008).

	Concentration usuelle ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Concentration maximale observée ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Aluminium	4,1-120	3400
Nickel	0,24-6,37	24,6
Plomb	0,029-0,652	10,6
Zinc	0,67-18	29

2. Caractéristiques des effluents provenant de la machine à papier

Les eaux brutes provenant de la machine à papier, effluents MAP, sont issues principalement du séchage du papier. Ces eaux sont très chargées en matière organique avec une DCO moyenne pour la période de prélèvement de $6231 \pm 919 \text{ mg L}^{-1}$ (Tableau 2.10). La composition des eaux est relativement constante. Précédemment, la charge de DCO pouvait fortement varier de 3000 à 9000 mg L^{-1} . L'effluent MAP présente également une turbidité importante (1362 NTU), en lien avec des valeurs de MES également élevées ($2739 \pm 467 \text{ mg L}^{-1}$). Ces MES sont principalement dues à la présence de particules de taille différente, des fibrilles et des fines de papier, composées majoritairement de cellulose. Ceci explique les valeurs plutôt faibles de la DBO_5 ($1434 \pm 177 \text{ mg}_{\text{O}_2} \text{ L}^{-1}$) car la cellulose est difficile à biodégrader. Ceci a également pour conséquence un rapport DCO/ DBO_5 assez élevé ($4,36 \pm 0,65$) caractéristique d'un effluent contenant de la matière organique peu biodégradable.

Les variations observées dans les paramètres DCO et MES des effluents bruts s'expliquent par des changements liés à la production du papier, comme par exemple son épaisseur, sa qualité ou encore sa densité. Ceci explique que la DCO varie entre 4620 et 7370 mg L^{-1} à quelques semaines d'intervalles. Pour les effluents MAP, le pH est proche de $6,2 \pm 0,2$ et donc relativement constant. Des valeurs de conductivité élevées ($3693 \pm 351 \mu\text{S cm}^{-1}$) ont également été enregistrées et sont caractéristiques de la présence de nombreux éléments chargés.

En ce qui concerne les ETM, nous avons choisi de suivre tout particulièrement l'aluminium, le zinc, le plomb et le nickel car ces ETM sont présents en quantité importante par rapport aux valeurs usuellement observées (Tableau 2.9). Pour informations, les normes de rejet sont respectivement de 500, 2000 et 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ pour le Pb, le Zn et le Ni, et de 5 mg L^{-1} pour l'ensemble Al et Fe et leurs dérivés.

Tableau 2.10 : Caractéristiques physico-chimiques des eaux sortant de la machine à papier (la température des effluents est pratiquement constante, ~ 45 °C).

Mois	pH _{MAP} (20 °C)	DCO (mg L ⁻¹)	DBO (mg _{O2} L ⁻¹)	Biodég [*]	Turbidité (NTU)	MES (mg L ⁻¹)	Conductivité (20°C, µS cm ⁻¹)
Mars	6,0	6880	1253	5,49	1575	2760	4100
Avril	6,2	7220	1374	5,25	1663	2800	3530
Mai	6,4	6340	1520	4,17	1551	3920	3270
Juin	6,0	5960	1412	4,22	1171	2480	4080
Juillet	6,2	6730	1624	4,14	1356	3000	3520
Août	6,2	7220	1374	5,25	1663	2680	3720
Septembre	6,0	4620	1241	3,72	941	2770	3710
Octobre	6,1	5830	1264	4,61	1134	2830	4020
Novembre	6,5	5170	1458	3,55	1054	2260	3180
Décembre	6,3	7370	1870	3,94	1636	1980	4090
Janvier	6,2	6380	1457	4,37	1510	2840	3890
Février	6,1	5060	1364	3,71	1091	2550	3210

*biodégradabilité

Le Tableau 2.11 montre que les concentrations en métaux sont élevées et très variables au cours de l'année. On observe des moyennes de $18,6 \pm 7,6$ mg L⁻¹ pour l'Al, $51,6 \pm 21,9$ µg L⁻¹ pour le Pb, 741 ± 96 µg L⁻¹ pour le Zn et $27,2 \pm 19,7$ µg L⁻¹ pour le Ni. Il existe donc une grande variabilité dans les concentrations des ETM présents dans l'effluent MAP. Pour le Al, Zn et Pb les concentrations sont largement au dessus des maximums observées dans les eaux de surface (3400, 10,6 et 29 µg L⁻¹ respectivement). Le nickel est au dessous du maximum observé (29 µg L⁻¹), mais au dessus des concentrations usuelles (0,67-18 µg L⁻¹). Les valeurs importantes d'aluminium proviennent notamment de son utilisation comme additif de fabrication du papier, ajouté directement dans la pulpe à papier. Les variations d'Al ne suivent pas de motifs particuliers au cours de l'année mais sont le fait de son utilisation variable en production. Le zinc est un élément couramment utilisé dans les formulations commerciales des charges et additifs utilisés ainsi que dans la fabrication de papier blanc (Lenntech, 2009 ; Sponza, 2006).

Tableau 2.11 : Variations mensuelles des concentrations en métaux présents dans les effluents provenant de la machine à papier (la température et le pH des effluents sont pratiquement constants, respectivement ~ 45 °C ~ 6,2).

Mois	Al _{total} (mg L ⁻¹)	Pb (µg L ⁻¹)	Zn (µg L ⁻¹)	Ni (µg L ⁻¹)
Mars	26,1	65,9	737	1,8
Avril	15,4	82,6	726	85,8
Mai	40,3	21,7	605	21,9
Juin	14,3	27,0	539	20,1
Juillet	14,5	43,0	793	20,9
Août	17,3	55,6	803	29,6
Septembre	16,2	83,2	653	24,4
Octobre	15,2	58,2	794	26,5
Novembre	19,0	43,6	828	27,5
Décembre	16,1	32,8	782	22,5
Janvier	12,5	29,7	771	21,5
Février	15,7	75,6	861	23,7

3. Caractéristiques des effluents issus du traitement primaire physico-chimique

Les effluents MAP provenant de la machine à papier subissent une première étape de décontamination dite traitement primaire par voie physico-chimique. Celle-ci consiste à éliminer le maximum de matières particulaires et colloïdales, avant l'envoi vers le traitement biologique, grâce à l'utilisation d'un décanteur et d'un aide flocculant, le PAC. Après traitement primaire, les boues physicochimiques sont envoyées en production ainsi qu'une partie des eaux dites clarifiées. L'autre partie des effluents sera envoyée vers la lagune aérée.

3.1. Effluents provenant du décanteur primaire

Les effluents provenant du décanteur primaire, appelés effluents SDP, sont relativement stables tout au long de l'année. Le Tableau 2.12 montre que les principaux

paramètres sont relativement constants. Le décanteur joue son rôle quel que soit l'effluent d'entrée. La température dans le décanteur est elle-même constante (~ 30 °C). L'efficacité du décanteur dépendra surtout de la qualité de l'effluent MAP entrant. La DCO varie de 3020 à 5330 mg L⁻¹ pour une moyenne de 4480 ± 853 mg L⁻¹. La DBO₅ moyenne est de 1252 ± 220 mg_{O₂} L⁻¹. La biodégradabilité des effluents SDP est de $3,6 \pm 0,5$, biodégradabilité, ce qui est légèrement moins important que celle des effluents MAP ($4,4 \pm 0,7$). En effet, la décantation élimine les fibrilles et les fines de papier composées principalement de cellulose, matière difficilement biodégradable. Les valeurs moyennes de turbidité et de MES sont respectivement de 512 ± 118 NTU et 1338 ± 224 mg L⁻¹.

Tableau 2.12 : Caractéristiques physico-chimiques des effluents provenant du décanteur primaire (la température est pratiquement constante, ~ 30 °C).

Mois	pH _{SDP} (20 °C)	DCO (mg L ⁻¹)	DBO (mg _{O₂} L ⁻¹)	Biodég*	Turbidité (NTU)	MES (mg L ⁻¹)	Conductivité (20 °C, $\mu\text{S cm}^{-1}$)
Mars	6,2	3420	1274	2,68	357	1310	3620
Avril	6,2	5330	1296	4,11	614	1430	3400
Mai	6,1	3700	1418	2,61	486	1910	3360
Juin	6	4000	1062	3,76	304	1230	3580
Juillet	6,3	4120	1192	3,46	429	1480	3310
Août	6,2	5330	1296	4,11	614	1350	3240
Septembre	6,1	5220	1415	3,69	650	1190	3560
Octobre	6,0	5190	1331	3,40	544	1430	3400
Novembre	6,1	5320	1522	3,50	654	1190	3130
Décembre	6,1	5090	1454	3,50	606	990	3470
Janvier	6,2	4020	1030	3,90	426	1250	3220
Février	6,3	3020	736	4,10	464	1290	3010

*biodégradabilité

La décantation primaire n'a pas d'effet sur le pH dont les valeurs restent relativement constantes ($\text{pH} = 6,2 \pm 0,1$). La conductivité des effluents est également constante mais reste très élevée (moyenne de 3358 ± 186 $\mu\text{S cm}^{-1}$). Cependant, il faut remarquer que la conductivité diminue entre les effluents bruts d'entrée station et les effluents bruts décantés SDP. L'hypothèse d'une décantation d'une partie des sels minéraux avec les fibrilles et fines de papier peut être envisagée pour expliquer cette observation.

Concernant les ETM, les valeurs pour le Pb et le Zn sont, encore une fois, au dessus des valeurs usuelles dans les eaux de surface (Tableau 2.13). Les variations d'Al restent très préoccupantes puisqu'on observe une concentration moyenne en Al de $8,75 \pm 4,1 \text{ mg L}^{-1}$, largement supérieure aux concentrations usuelles. Le niveau minimum observé est de $4,5 \text{ mg L}^{-1}$ pour un maximum de $18,2 \text{ mg L}^{-1}$. Les fortes concentrations d'aluminium pourraient être liée à un surdosage du PAC lorsque les effluents décantent difficilement.

Tableau 2.13 : Variations mensuelles des concentrations en métaux présents dans les effluents provenant du décanteur primaire (la température et le pH des effluents sont pratiquement constants, respectivement $\sim 30 \text{ }^\circ\text{C}$ $\sim 6,2$)

Mois	Al _{total} (mg L ⁻¹)	Pb (µg L ⁻¹)	Zn (µg L ⁻¹)	Ni (µg L ⁻¹)
Mars	15,6	19,9	495	32,1
Avril	7,6	29,8	616	54,1
Mai	7,1	< ldd	341	27,1
Juin	4,5	50,1	242	14,0
Juillet	7,4	17,0	343	20,0
Août	18,2	14,3	462	19,0
Septembre	9,1	17,3	592	11,7
Octobre	6,1	28,6	276	17,0
Novembre	7,6	16,7	614	18,2
Décembre	9,8	19,4	591	25,0
Janvier	5,8	14,6	266	17,8
Février	6,7	9,4	382	16,0

2.2. Efficacité de l'aide flocculant

La décantation des eaux brutes (MAP) est aidée par l'ajout de PAC en entrée décanteur et ceci quel que soit la saison. Afin de déterminer son utilité, nous avons réalisé des essais de décantation en laboratoire. Nous avons comparé 400 mL d'effluent MAP traité par une simple décantation physique (témoin) et 400 mL traité par du PAC dans les conditions utilisées par l'industriel ($0,1 \text{ mL L}^{-1}$). Les mesures ont été réalisées en triplicats sur le premier centimètre de la solution au temps 0, 5, 10, 15, 20 et 30 minutes. Les résultats sont reportés dans la Figure 2.7. L'utilisation du PAC comme flocculant ne permet qu'un gain

de 9,5 % (Wilcoxon, $p = 0,004$) par rapport à une simple décantation physique. L'ajout de PAC dans ces conditions engendre un coût économique supplémentaire, et un impact environnemental potentiellement important, pour un gain de décontamination relativement faible. Des résultats et des conclusions similaires ont été obtenus sur différents effluents. Depuis deux ans, suite à nos analyses des rejets, la papeterie a décidé de ne plus utiliser de PAC en traitement primaire.

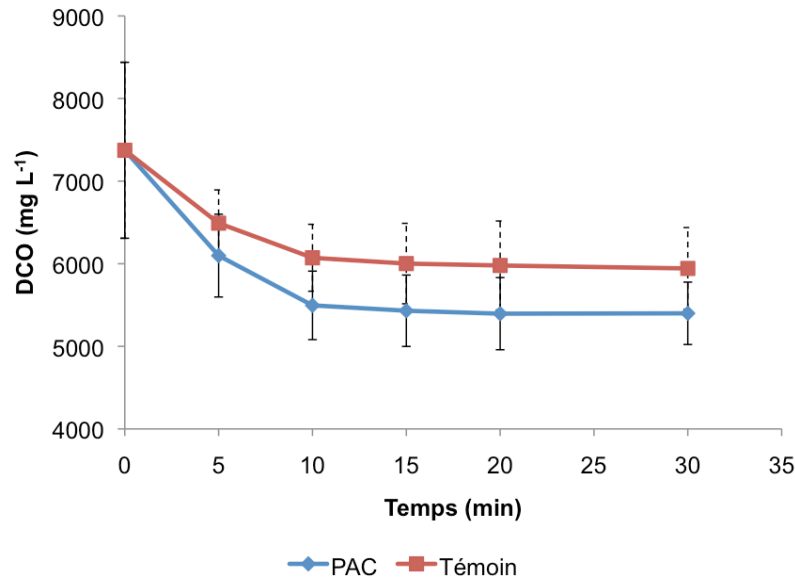


Figure 2.7 : Variation de la DCO en fonction du temps de décantation de l'effluent brut - en rouge : décantation physique et en bleu : décantation après floculation par le PAC.

4. Caractéristique des effluents issus du traitement secondaire biologique

Les effluents provenant du décanteur primaire (SDP) subissent une étape secondaire de décontamination appelée traitement biologique par lagunage aéré. Après ajout d'urée et de phosphore en sortie de décanteur, les effluents SDP vont directement dans une lagune aérée pour y séjourner pendant 21 jours. En sortie de celle-ci, les effluents appelés effluents SLA subissent une floculation par du PAC et sont ensuite envoyés dans des bassins de minéralisation/décantation.

4.1. Effluents provenant de la lagune aérée

La charge organique des effluents SLA varie fortement au cours de l'année comme le montre les résultats du Tableau 2.14. La DCO varie de 704 mg L⁻¹ en juin à 2876 mg L⁻¹ en

décembre pour une moyenne de $1698 \pm 727 \text{ mg L}^{-1}$. Les valeurs de DBO_5 varient de 134 à $1027 \text{ mg}_{\text{O}_2} \text{ L}^{-1}$ pour une moyenne de $576 \pm 277 \text{ mg}_{\text{O}_2} \text{ L}^{-1}$. La biodégradabilité reste relativement constante au cours de l'année ($3,1 \pm 0,7$). Une forte variation a également été constatée pour la turbidité et les MES. La turbidité varie 465 à 1952 NTU pour une moyenne de $1132 \pm 396 \text{ NTU}$, et les MES de 1080 à 2520 mg L^{-1} pour une moyenne de $1532 \pm 475 \text{ mg L}^{-1}$. La forte variation saisonnière est due à l'activité bactérienne qui est fonction de la température. Ce point sera abordé ultérieurement. Quant aux valeurs de pH et de conductivité, elles sont pratiquement constantes (Tableau 2.9). L'effluent est légèrement basique ($7,8 \pm 0,2$) et la conductivité a diminué mais reste élevée ($2528 \pm 114 \mu\text{S cm}^{-1}$).

Tableau 2.14 : Variations mensuelles des paramètres physico-chimiques des effluents provenant de la lagune aérée.

Mois	pH _{SLA} (20 °C)	DCO (mg L ⁻¹)	DCBO (mg _{O₂} L ⁻¹)	Biodég*	Turbidité (NTU)	MES (mg L ⁻¹)	Conductivité (20°C, μS cm ⁻¹)	Température de la lagune (°C)
Mars	7,6	1642	513	3,20	1131	1120	2580	12
Avril	7,6	1330	433	3,07	953	1300	2310	14
Mai	8,0	860	306	2,81	1024	1210	2320	18
Juin	7,9	704	134	5,25	465	1080	2550	24
Juillet	7,8	1051	389	2,70	844	1280	2610	23
Août	7,6	1330	433	3,07	953	1200	2570	22
Septembre	7,8	1257	483	2,60	928	1180	2710	21
Octobre	7,7	1983	639	3,10	1001	1530	2540	18
Novembre	8,0	2246	701	3,2	1235	1860	2560	12
Décembre	8,2	2876	1027	2,80	1952	2520	2590	10
Janvier	7,8	2641	1015	2,60	1673	2180	2510	9
Février	7,8	2457	847	2,90	1433	1920	2490	10

*biodégradabilité

Les variations importantes de DCO et de turbidité ne sont pas dues aux faibles variations de pH et de conductivité mais plutôt aux variations de la température et de teneur en oxygène (Campbell et Reece, 1995 ; Escalas-Cañellas et al., 2008). La température agit sur les réactions biochimiques de biodégradation et l'oxygène sur les réactifs disponibles pour la respiration. La Figure 2.8 présente les corrélations entre d'une part la DCO et la

température (a) et d'autre part la DCO et le taux d'oxygène (b). La corrélation entre la DCO et la température est très élevée ($r^2 = 0,71$, $p = 4,85 \cdot 10^{-7}$). En revanche, la corrélation entre la DCO et le taux d'oxygène est faible ($r^2 = 0,10$). La DCO augmente légèrement mais significativement avec l'oxygène ($p = 0,006$). De la même manière, l'augmentation des MES est corrélée à la diminution des températures ($r^2 = 0,27$), mais cette diminution n'est pas très significative. Enfin, les MES sont peu corrélées avec le taux d'oxygène dissous et la pente n'est pas significative ($r^2 = 0,11$, $p = 0,294$). Ces résultats montrent que plus la température est importante plus la DCO dans la lagune diminue ce qui démontre un meilleur fonctionnement biologique à température plus élevée, lié à une dissipation plus importante du carbone organique lors des phénomènes respiratoires (Escalas-Cañellas et al., 2008). On peut donc conclure à une forte influence de la saison sur le fonctionnement de la lagune et donc de son efficacité.

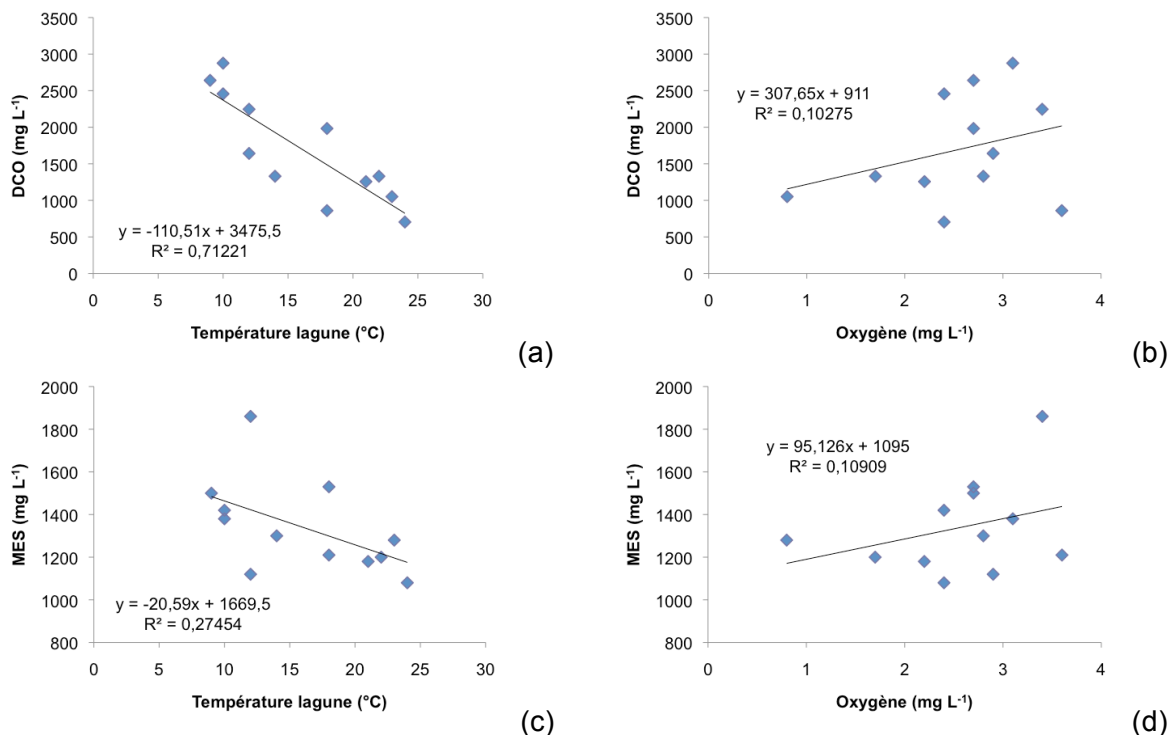


Figure 2.8 : Corrélations entre (a) la DCO et la température, entre (b) la DCO et le taux d'oxygène dissout, entre (c) les MES et la température et entre (d) les MES et l'oxygène dissout.

Les concentrations des différents ETM varient au cours de l'année (Tableau 2.15). Les métaux Pb, Zn, et Ni ont respectivement des concentrations moyennes de $14,4 \pm 17,2$, 392 ± 309 et $37,3 \pm 26,3 \mu\text{g L}^{-1}$. L'aluminium a une concentration moyenne de $9,7 \pm 5,0 \text{ mg L}^{-1}$ pour une concentration minimale de $4,9 \text{ mg L}^{-1}$ et une concentration maximale de $20,5 \text{ mg L}^{-1}$. Les concentrations en ETM sont plus importantes dans les périodes hivernales que dans les périodes estivales. Ces écarts de concentration pourraient s'expliquer par l'effet combiné de

la période hivernale (températures basses, fortes précipitations, etc.), de métaux moins solubles (température basse), d'une biologie moins actives (moins d'accumulation) avec une recirculation des boues (réensemencement) qui ferme une partie du circuit (Chanpiwat et al., 2010).

Tableau 2.15 : Variations mensuelles des concentrations en métaux présents dans les effluents biologiques (effluent provenant de la lagune aérée).

Mois	pH _{lagune} (20 °C)	T _{lagune} (°C)	Al _{total} (mg L ⁻¹)	Pb (µg L ⁻¹)	Zn (µg L ⁻¹)	Ni (µg L ⁻¹)
Mars	7,6	12	5,3	58,9	1144	79,0
Avril	7,6	14	8,2	28,9	572	93,4
Mai	8,0	18	4,9	< ldd	253	16,6
Juin	7,9	24	5,2	5,7	121	23,8
Juillet	7,8	23	7,4	7,6	185	17,8
Août	7,6	22	7,6	< ldd	176	14,4
Septembre	7,8	21	6,0	2,0	127	19,2
Octobre	7,7	18	7,7	5,7	135	16,1
Novembre	8,0	12	9,7	7,7	270	27,8
Décembre	8,2	10	17,7	9,7	469	39,6
Janvier	7,8	9	20,5	8,4	672	47,9
Février	7,8	10	11,0	9,5	582	51,5

4.2. Effluents provenant des décanteurs finaux

Après traitement secondaire, les effluents biologiques SLA de la lagune, traités par l'aide flocculant PAC, sont envoyés dans deux bassins de décantation/minéralisation. Ils subissent alors une phase de minéralisation et une phase de décantation (eaux appelées effluent SDF). Les boues biologiques repartent en production et les eaux décantées sont soit envoyées dans le milieu aquatique (en périodes froides) soit envoyées dans la rhizosphère (en périodes chaudes) pour y subir une étape de décontamination tertiaire.

Les effluents SDF ont également été analysés et leur composition a été suivie en fonction de la saison (Tableau 2.16). Nous retrouvons les mêmes variations que celles observées précédemment pour les autres types d'effluents dans des niveaux équivalents. La

DCO moyenne est de $801 \pm 360 \text{ mg L}^{-1}$ avec des extremums à 222 et 1343 mg L^{-1} . La DBO varie de 96 à $419 \text{ mg}_{\text{O}_2} \text{ L}^{-1}$ pour une valeur moyenne de $232 \pm 104 \text{ mg}_{\text{O}_2} \text{ L}^{-1}$, avec un indice de biodégradabilité assez variable également ($3,4 \pm 0,8$). La turbidité et les MES ont respectivement des valeurs moyennes de $376 \pm 192 \text{ NTU}$ et de $252 \pm 44 \text{ mg L}^{-1}$. Le pH et la conductivité varient peu au cours de l'année, respectivement de $7,8 \pm 0,4$ et de $2377 \pm 221 \mu\text{S cm}^{-1}$.

Tableau 2.16 : Caractéristiques physicochimiques des eaux provenant des décanteurs finaux (la température ne varie pas entre la lagune et les décanteurs finaux).

Mois	pH _{SDF} (20 °C)	DCO (mg L ⁻¹)	DBO (mg _{O₂} L ⁻¹)	Biodégra- dabilité	Turbidité (NTU)	MES (mg L ⁻¹)	Conductivité (20 °C, μS cm ⁻¹)
Mars	8,2	982	347	2,8	471	240	2030
Avril	7,5	976	252	3,9	481	240	2140
Mai	8,2	222	97	2,3	111	250	1940
Juin	7,8	252	108	2,3	30	180	2530
Juillet	7,4	267	96	2,8	93	180	2560
Août	7,5	976	242	4,0	481	260	2430
Septembre	7,8	843	210	4,0	381	260	2630
Octobre	8,3	795	199	4,0	354	260	2520
Novembre	8,2	951	271	3,5	474	240	2410
Décembre	7,2	1343	345	3,9	629	270	2530
Janvier	7,1	1027	419	2,5	507	300	2420
Février	8,0	988	202	4,9	498	340	2390

Les concentrations en ETM des effluents SDF sont plus faibles que celles observés précédemment (Tableau 2.17). Les valeurs moyennes en Pb et Ni restent dans des niveaux relativement acceptables en raison de l'effet de dilution prévue dans le Doubs: $13,9 \pm 20,2 \mu\text{g L}^{-1}$ pour le plomb et $18,2 \pm 3,6 \mu\text{g L}^{-1}$ pour le nickel. Les concentrations rejetées dans le milieu aquatique sont supérieures aux concentrations usuelles des eaux de surface et les quantités rejetées sont importantes. En effet, si on exprime la concentration en flux, les quantités de métaux rejetées, par exemple, pour le mois de novembre sont de $9,7 \text{ kg j}^{-1}$ pour l'Al, $11,6 \text{ g j}^{-1}$ pour le Pb, 151 g j^{-1} pour le Zn et 3 g j^{-1} pour le Ni. Les concentrations en Al

fluctuent fortement au cours de l'année, passant de 3,6 mg L⁻¹ à 15,6 mg L⁻¹, avec une moyenne annuelle de 7,1 mg L⁻¹.

Tableau 2.17 : Variations mensuelles des concentrations en métaux présents dans les eaux provenant des décanteurs secondaires.

Mois	pH _{SDF}	T _{lagune} (°C)	Al _{total} (mg L ⁻¹)	Pb (µg L ⁻¹)	Zn (µg L ⁻¹)	Ni (µg L ⁻¹)
Mars	8,2	12	3,6	1,76	154	15,1
Avril	7,5	14	5,0	4,73	154	28,6
Mai	8,2	18	5,2	< ldd	< ldd	18,8
Juin	7,8	24	6,9	< ldd	231	14,4
Juillet	7,4	23	5,7	2,6	191	17,3
Août	7,5	22	6,0	53,9	110	16,2
Septembre	7,8	21	15,6	10,3	124	17,6
Octobre	8,3	18	5,6	50	171	16,4
Novembre	8,2	12	8,2	2,7	176	18,0
Décembre	7,2	10	7,8	4,4	240	18,5
Janvier	7,1	9	6,8	3,7	226	19,1
Février	8,0	10	9,3	4,9	201	17,9

4.3. Rôle du PAC comme aide flocculant

Afin d'améliorer la décantation des floccs bactériens, l'industriel utilise du PAC comme aide-flocculant. Le PAC améliore, en effet, la formation et le grossissement des floccs et favorise ainsi leur décantation. Nous avons voulu, comme dans le cas des effluents primaires en entrée de décanteur, étudier le rôle et l'utilité du PAC en sortie de lagune en tenant surtout compte de la température. Nous avons ainsi comparé les valeurs de DCO obtenues avec ou sans utilisation de PAC lors de différentes campagnes de prélèvements en fonction de la saison. Les mesures ont été faites en triplicats sur le premier centimètre du surnageant au temps 0, 5, 10, 15, 20, 30 et 40 minutes de décantation. Les résultats sont présentés dans la Figure 2.9.

L'utilisation de PAC provoque respectivement un abattement significatif en DCO de 28,6 %, 41,5 %, 50,1 % et 27,4 % en hiver, printemps, été, automne par rapport à une

décantation naturelle (Wilcoxon $p < 0,01$ pour les quatre saisons). Ainsi, un choix est à effectuer entre abattre plus de DCO et rejeter de l'aluminium (cas du PAC) ou abattre moins de DCO et rejeter moins d'aluminium (cas de la décantation physique).

Du strict point de vue des normes en vigueur à la papeterie du Doubs (DCO < 1320 mg L⁻¹), la décantation aidée par du PAC n'est utile qu'en hiver (~ 1350 mg L⁻¹) et en automne (1250 mg L⁻¹), où le traitement tertiaire ne fonctionne pas et où la DCO rejetée est proche des normes. Ainsi, la simple décantation physique en été et en automne permet, d'une part, un abattement de DCO respectant les normes, et d'autre part, évite l'ajout d'aluminium à l'effluent.

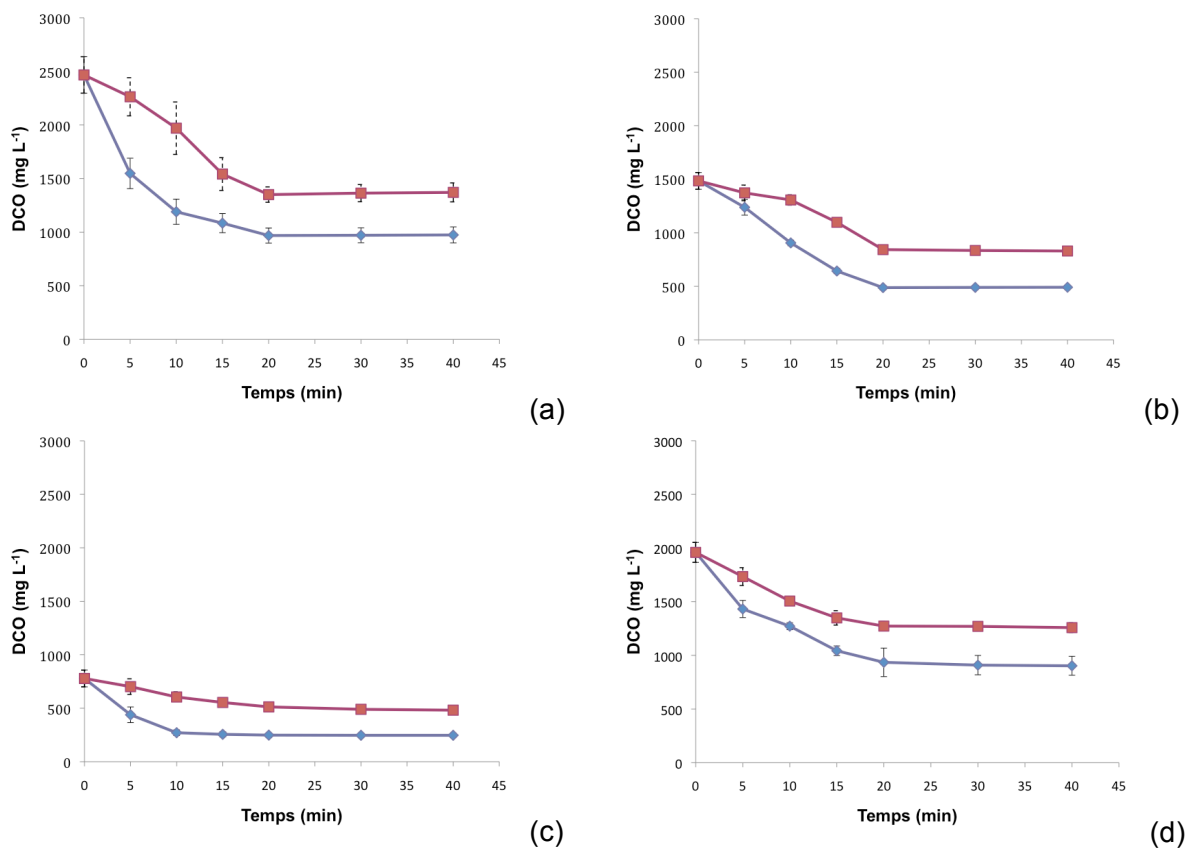


Figure 2.9 : Variations de la DCO en fonction du temps de décantation entre un effluent non traité (en rouge) et un effluent traité par PAC (en bleu), a : hiver, b : printemps, c : été, d : automne - en rouge : témoin et en bleu PAC.

À la suite de ces résultats de laboratoire, un essai d'arrêt de l'apport de PAC à la période la plus favorable, c'est-à-dire en été, a été effectué pendant 12 jours consécutifs et ces conséquences ont été étudiées *in situ*, la référence fixée pour cette expérience était la norme de l'arrêté préfectoral de 2006 (2006/DCLE/4B). La Figure 2.10 montre les résultats obtenus. Du 1^{er} au 5^{ème} jour, nous avons observé une augmentation faible de la DCO, alors que du 6^{ème} au 12^{ème} jour, nous avons obtenu une forte augmentation de celle-ci. En effet,

dans la première partie de l'essai, la DCO moyenne sortant de la station est de 393 mg L⁻¹. Ainsi, dans la première partie de l'essai, un abattement de 33 % a été observé, ce qui est inférieur aux valeurs mesurées en laboratoire à cette période (50,1 %). L'action de brassage qui a lieu dans les décanteurs/minéralisateurs casse les floccs bactériens fragilisés par l'absence d'aide flocculant.

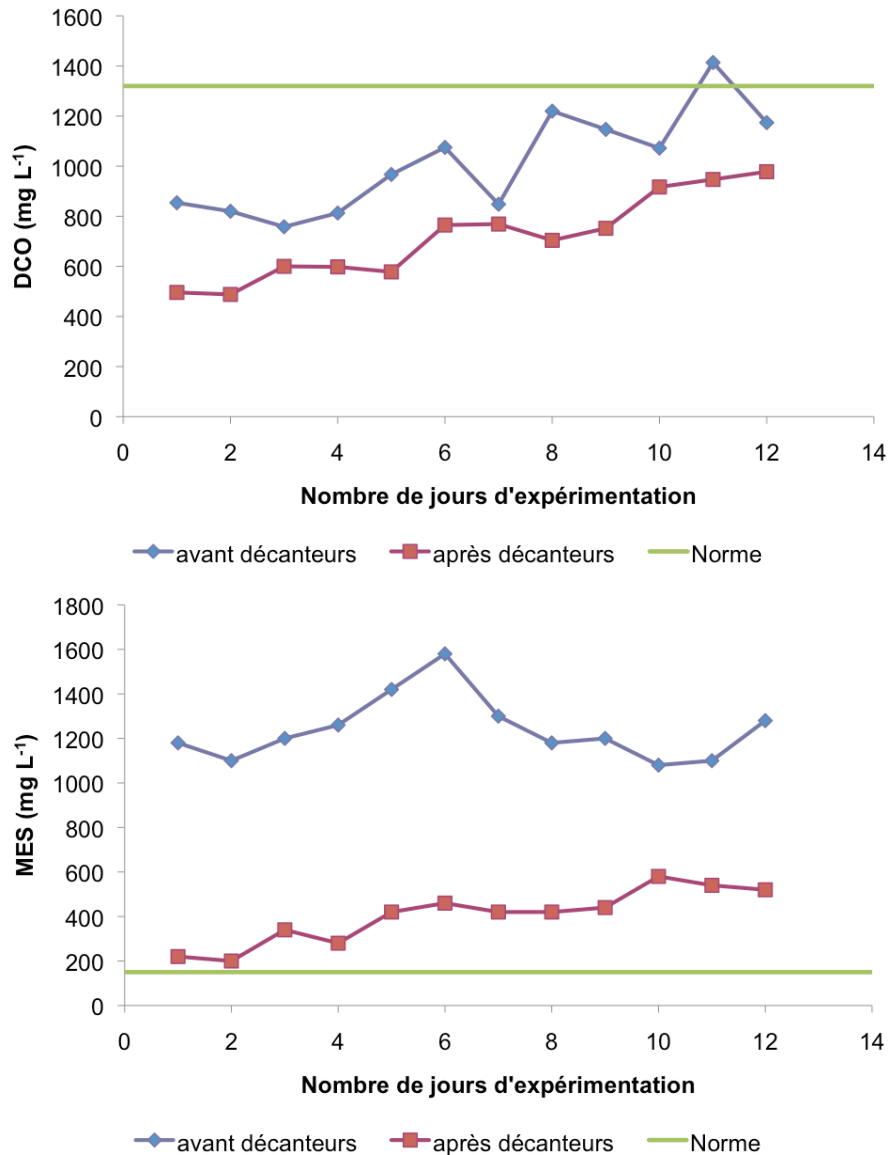


Figure 2.10 : Variations de la DCO et des MES sur une période de 14 jours lors de l'essai d'arrêt de coagulant sur la station avant les décanteur finaux.

Durant cette période, les MES restent à une concentration moyenne de 180 mg L⁻¹, valeur légèrement supérieure à la norme qui est de 150 mg L⁻¹. A partir du 6^{ème} jour, la DCO en entrée de décanteur est supérieure à 1000 mg L⁻¹. Néanmoins, malgré cette augmentation, liée à un dysfonctionnement mécanique de la station, la valeur moyenne de DCO mesurée après décanteurs (833 mg L⁻¹) reste en dessous de la norme. Dans cette deuxième partie, la valeur moyenne des MES (493 mg L⁻¹) est bien au-dessus des normes

après les décanteurs. De plus, la présence de lits filtrants verticaux en traitement tertiaire permet d'abattre davantage de MES.

Les rôles du PAC sont ici mis en évidence : en favorisant l'agrégation des floccs bactériens, il accélère leur décantation et les rend plus résistant aux phénomènes de déstructuration mécanique (Yukselen et Gregory, 2004). Depuis deux ans, la papeterie a diminué les quantités de PAC utilisées et son utilisation en période estivale a été abandonnée.

4.4. Influence de la température sur l'aide flocculant

Nous avons vu que la température de l'effluent de la lagune, et la température en général, joue un rôle important dans le fonctionnement de la station. En effet, les essais précédents ont montré que le PAC n'est pas efficace en hiver. Ceci s'explique par le fait que l'activité biologique de la lagune est moins active en période froide et que l'utilisation de PAC dans ces conditions procure un abattement moins important sur la DCO. Les résultats obtenus pour une même température (essais effectués au laboratoire) montrent que le PAC procure un abattement significatif de la DCO de 28,6 % en hiver, 41,5 % au printemps, 50,1 % en été et 27,4 % en automne par rapport à une décantation naturelle (Wilcoxon $p < 0,01$ pour les quatre saisons). Nous avons voulu vérifier, d'après les données obtenues à partir des 12 « photos » physico-chimiques, que d'une part le PAC remplissait bien son rôle de flocculant, et d'autre part mettre en évidence une éventuelle relation entre la température de l'effluent et l'abattement en MES. La Figure 2.11 montre effectivement l'existence d'une corrélation ($r^2 = 0,47$) entre ces deux paramètres. L'abattement des MES augmente significativement avec la température ($p = 0,014$). Cette diminution d'efficacité du PAC est connu des acteurs du traitement de l'eau et à fait l'objet d'études récentes (Zouboulis et Tzoupanos, 2010 ; Sinha et al., 2004)

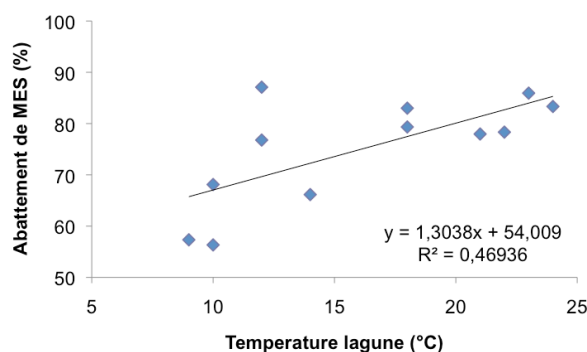


Figure 2.11 : Variations de l'abattement de MES en fonction de la température des effluents issus de la lagune aérée.

Une étude en laboratoire a été réalisée pour vérifier notre hypothèse selon laquelle l'efficacité du PAC est bien dépendante de la température. Un même échantillon d'effluent biologique a été soumis à des températures différentes (10, 12, 15 et 19 °C) et une même dose de PAC a été ajoutée (soit 0,3-0,4 mL L⁻¹, dose utilisée par l'industriel). Chaque effluent a subi la même agitation et la mesure a été effectuée après 2 heures de décantation. Ces conditions d'agitation et de décantation sont les mêmes que celles utilisées à la papeterie. La Figure 2.12 montre que plus la température de floculation est élevée, plus la DCO après traitement PAC est basse : la DCO à 19 °C est de 206 mg L⁻¹, alors que celle à 10 °C est de 398 mg L⁻¹). Les mêmes variations sont observées avec la turbidité (turbidité_{19°C} = 103 NTU et turbidité_{10°C} = 234 NTU). D'après les résultats observés sur la station et les manipulations effectuées en laboratoire, on peut conclure que le PAC perd en efficacité lorsque la température diminue.

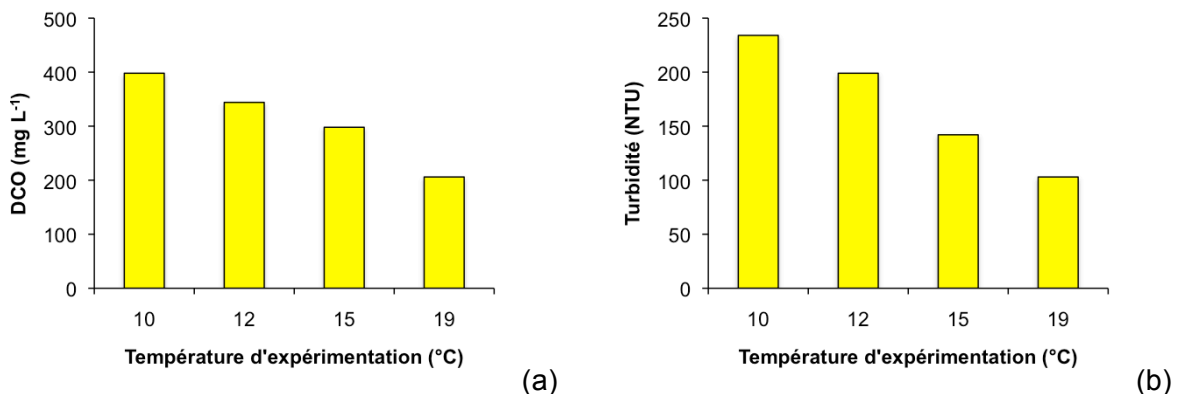


Figure 2.12 : Variations de DCO (a) et de la turbidité (b) après un traitement de l'effluent biologique par PAC en fonction de la température d'expérimentation.

5. Caractéristique des effluents issus du traitement tertiaire biologique

En période « chaude » c'est-à-dire de mars à octobre, les effluents des bassins de minéralisation/décantation passent à travers des lits filtrants verticaux plantés de roseaux (*Phragmites australis*) et un chenal horizontal, également planté de roseaux, avant leur rejet dans le milieu aquatique. Ce traitement tertiaire biologique, dit de finition, a pour objectifs :

- d'éliminer les matières en suspension par filtration ;
- de biodégrader la matière organique par la microflore hébergée dans la rhizosphère des rhizomes ;

- et d'absorber les composés minéraux (azote et phosphore) produits et autres polluants biodisponibles dont les métaux.

5.1. Effluent provenant de la rhizosphère

La qualité des effluents de rejet ou sortie eaux épurées (SEE) est fortement variable dans l'année. La DCO et la DBO varient respectivement de 111 à 1274 mg L⁻¹ et de 23 à 445 mg_{O₂} L⁻¹, pour des moyennes respectivement de 660 ± 372 mg L⁻¹ et de 182 ± 130 mg_{O₂} L⁻¹. La biodégradabilité est donc très variable (Tableau 2.18). Une forte variation a été constatée pour la turbidité (de 26 à 480 NTU) alors que cette variation est moins flagrante pour les MES (140 à 310 mg L⁻¹). Le pH (7,6 ± 0,3) et la conductivité (2324 ± 181 μS cm⁻¹) sont relativement stables.

Tableau 2.18 : Caractéristiques physicochimiques des eaux épurées (rejetées dans le milieu, la température ne varie pas entre les décanteurs finaux et le rejet dans le milieu).

	pH _{SEE} (20 °C)	DCO (mg L ⁻¹)	DBO (mg _{O₂} L ⁻¹)	Biodég*	Turbidité (NTU)	MES (mg L ⁻¹)	Conductivité (20°C, μS cm ⁻¹)
Mars	7,6	952	312	3,1	446	240	2090
Avril	7,4	861	249	3,5	404	200	2370
Mai	8,0	111	62	1,8	60	200	2390
Juin	7,7	193	40	4,8	26	140	2400
Juillet	7,6	451	23	19,6	206	160	2430
Août	7,4	861	249	3,5	404	200	2120
Septembre	7,4	311	34	9,5	156	180	2340
Octobre	8,2	440	162	2,7	194	190	2440
Novembre	7,6	488	219	2,2	219	220	2430
Décembre	7,5	1274	135	9,4	480	280	2670
Janvier	7,6	983	445	2,2	463	310	2120
Février	8,0	996	254	3,9	461	280	2090

*biodégradabilité

En ce qui concerne les métaux, les résultats sont décrits dans le Tableau 2.19. Exprimées en flux, les quantités rejetées dans le milieu sont élevées. Les quantités d'aluminium sont en moyenne de 6,3 ± 3,7 mg L⁻¹. Cette valeur est au dessus du maximum

observé dans les eaux de surface ($3,4 \text{ mg L}^{-1}$). On observe cependant une importante variation saisonnière pour cet élément, comme le montre le Tableau 2.20. En général, les périodes chaudes montrent des concentrations inférieures à $3,4 \text{ mg L}^{-1}$ alors que les concentrations sont supérieures à $3,4 \text{ mg L}^{-1}$ pendant les périodes froides, tout au long de l'année les concentrations d'aluminium sont supérieures aux concentrations usuelles dans les eaux de surface ($\sim 100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) Cette variabilité liée à la température est également visible pour les autres métaux. Nous avons estimé les rejets totaux d'Al de la station à $1,9 \cdot 10^3 \text{ kg an}^{-1}$. En comparaison, les quantités de DCO sont de 554 kg j^{-1} soit $202 \cdot 10^3 \text{ kg an}^{-1}$. Le débit moyen de la papeterie est de $35 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$, soit $840 \text{ m}^3 \text{ j}^{-1}$, soit $306 \cdot 10^3 \text{ m}^3 \text{ j}^{-1}$ ce qui explique les niveaux extrêmement élevés de ces flux polluants. Dans les deux cas, les limites administratives sont respectées.

Tableau 2.19 : Variations mensuelles des concentrations en métaux présents dans les effluents de rejets.

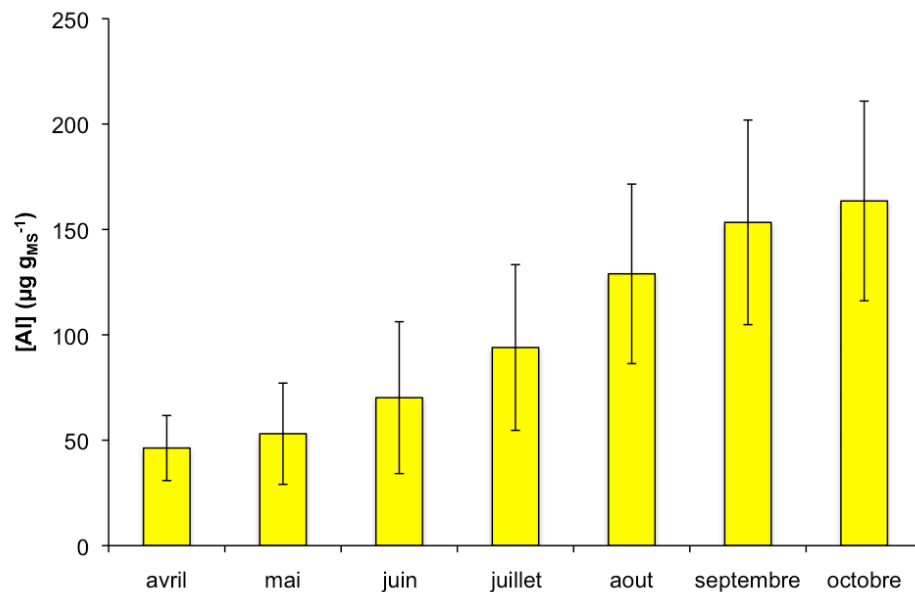
Mois	pH _{SEE} (20 °C)	T _{lagune} (°C)	Al _{total} (mg L ⁻¹)	Pb (µg L ⁻¹)	Zn (µg L ⁻¹)	Ni (µg L ⁻¹)
Mars	7,6	12	4,6	7,37	275	16,7
Avril	7,4	14	6,8	10,8	330	40,2
Mai	8,0	18	1,8	5,6	11	28,7
Juin	7,7	24	1,3	9,5	22	9,9
Juillet	7,6	23	1,4	4,8	12	10,1
Août	7,4	22	12,6	1,5	88	31,5
Septembre	7,4	21	6,2	2,3	18	9,8
Octobre	8,2	18	4,7	5,2	21	7,3
Novembre	7,6	12	7,4	3,8	39	10,9
Décembre	7,5	10	6,8	6,3	43	20,3
Janvier	7,6	9	10,4	5,8	83	29,1
Février	8,0	10	11,0	5,1	126	25,8

Tableau 2.20 : Concentration et flux moyens des principaux polluants présents dans les rejets exprimés en concentration et en flux.

Pollution / Polluant	Concentration moyenne par L d'effluent	Flux moyen journalier	Flux estimé annuel	DRIRE 2007
DCO	660 ± 372 mg L ⁻¹	554 kg j ⁻¹	202 10 ³ kg an ⁻¹	180 10 ³ kg an ⁻¹
MES	217 ± 52 mg L ⁻¹	182 kg j ⁻¹	66 10 ³ kg an ⁻¹	6110 ³ kg an ⁻¹
Zn	89 ± 106 µg L ⁻¹	75 g j ⁻¹	27 kg an ⁻¹	
Pb	7 ± 2,6 µg L ⁻¹	5,9 g j ⁻¹	2,1 kg an ⁻¹	
Ni	20 ± 10,8 µg L ⁻¹	17 g j ⁻¹	6,1 kg an ⁻¹	
Al	6,3 ± 3,7 mg L ⁻¹	5,2 kg j ⁻¹	1,9 10 ³ kg an ⁻¹	

5.2. Rôles des lits filtrants plantés de *Phragmites australis*

Nous avons émis l'hypothèse que les lits filtrants plantés de roseaux pouvaient aussi bioaccumuler une partie de l'aluminium présent dans les effluents. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons effectué un prélèvement mensuel en 20 points du lit filtrant vertical. Les dernières feuilles des phragmites ont été prélevées, minéralisées puis analysées en SAA. Les résultats sont donnés dans la Figure 2.13. Le concentration interne d'aluminium exprimée en microgrammes par gramme de masse sèche varie fortement au cours du temps : ce niveau passe de 40 à plus de 160 µg g_{MS}⁻¹.

**Figure 2.13** : Variations des concentrations internes d'aluminium dans les feuilles de *Phragmites australis* planté sur les lits filtrants verticaux en fonction du mois de prélèvement.

La biomasse sèche des parties aériennes de *Phragmites australis* sur des lits filtrants verticaux varie entre 800 et 5000 g m⁻² (Vymazal, 2005). A partir de ces données, il est possible d'estimer la quantité d'aluminium présente sur les lits filtrants de la papeterie, en prenant en considération que la surface de la rhizosphère est de 1200 m². Ainsi, la quantité d'aluminium est comprise entre 120 et 830 mg m⁻² soit entre 150 et 980 g d'aluminium sur la partie aérienne des phragmites des lits filtrants.

6. Variations des paramètres au cours du traitement

La Figure 2.14 est un récapitulatif de l'évolution saisonnière de chaque effluent pour 6 paramètres mesurés (DCO, DBO, conductivité, pH, MES et aluminium). Les paramètres DCO, DBO, conductivité, MES et aluminium diminuent après chaque étape du traitement sauf cas particulier. En effet, les MES ont tendance à augmenter en SLA (sortie de lagune) par rapport à SDP (sortie décanteur primaire) en raison notamment du développement bactérien. L'aluminium augmente en sortie de lagune pendant les périodes froides pour les raisons évoquées précédemment. Enfin, il existe deux gammes de pH : l'une avant la lagune (~ 6,2) et l'autre après la lagune (~ 7,8).

Les performances de floculation du chitosane soluble sont meilleures pour un pH bas et une conductivité relativement faible (Roussy et al., 2005). Le pH le plus bas est mesuré avant la lagune, mais les plus basses conductivités sont mesurées après. Cependant, le chitosane est connu pour sa capacité à interagir avec les polymères des parois bactériennes (Strand et al., 2002). Par conséquent, l'ensemble des essais se déroulera sur l'effluent sorti de lagune aéré (SLA) dit effluent « biologique ».

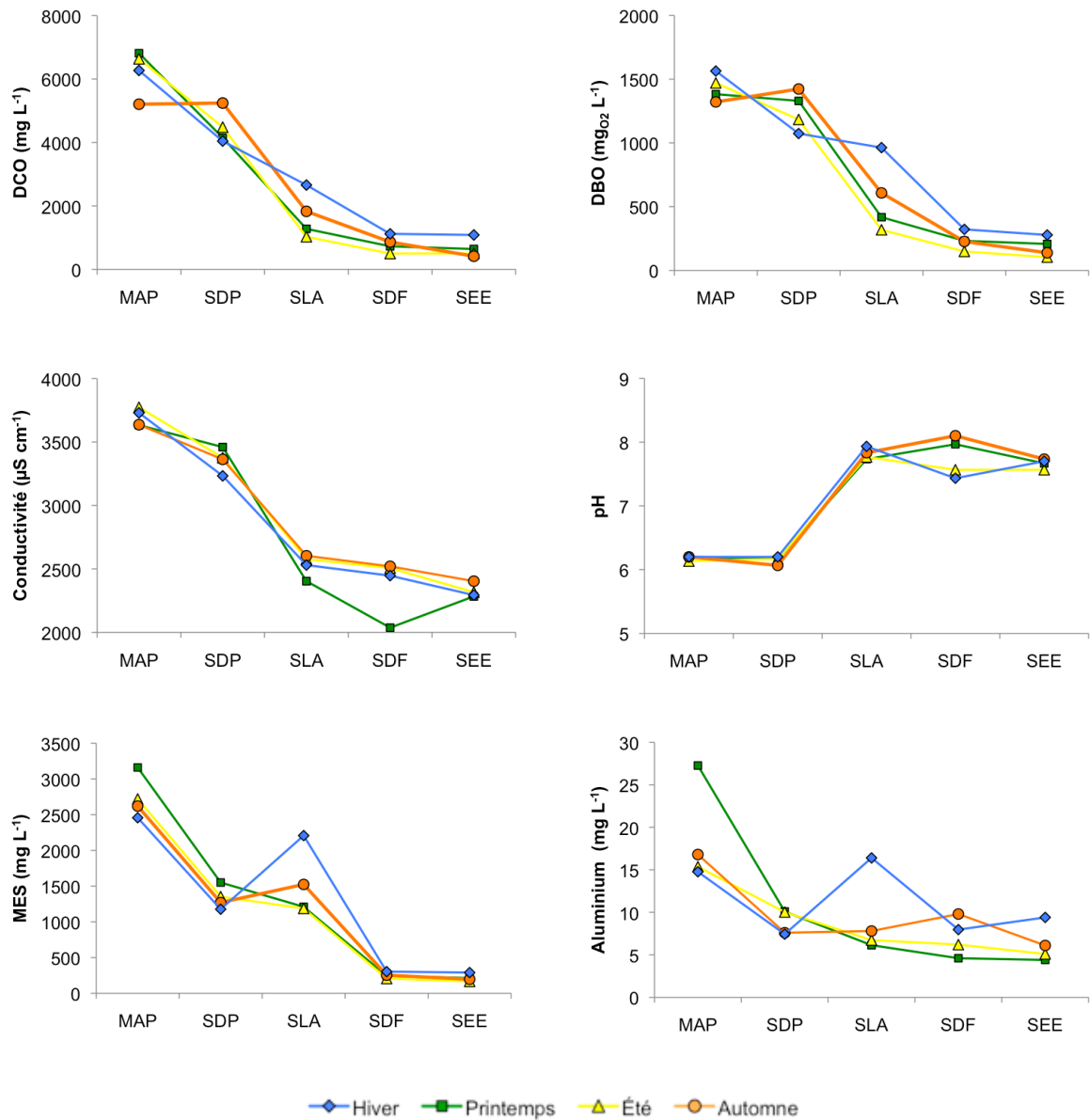


Figure 2.14 : Évolution de la DCO, de la DBO, de la conductivité, du pH, des MES et de l'aluminium au cours de l'année 2009 après chaque étape du traitement de décontamination des eaux de la papeterie du Doubs.

Les mesures effectuées sur les effluents de la papeterie du Doubs pendant une année font apparaître des variations liées à la production de papier, visibles sur les effluents MAP et SDP, et des variations liées aux conditions climatiques, constatées sur les effluents SLA, SDF et SEE. Les valeurs de DCO et de MES sont plus élevées en périodes froides, lorsque la température de la lagune est inférieure à 10 °C. Le fonctionnement biologique de la lagune est nettement diminué en dessous de cette température.

Les deux principaux problèmes identifiés sont, d'une part, la forte influence de la température sur les performances de la station et, d'autre part, l'utilisation d'un sel métallique pour faire flocculer les eaux. Les quantités de DCO (202 T an⁻¹) et d'aluminium (1,9 T an⁻¹) rejetées dans le milieu sont élevées. A titre de comparaison, la rhizosphère immobilise 980 g d'aluminium maximum chaque année. En outre, des questions sur le rôle et l'intérêt du PAC se posent, tant en terme d'efficacité chimique, qu'en terme d'intérêt environnemental. En période froide, nous avons démontré que le PAC est moins efficace. De plus, en période chaude, un arrêt du PAC permet une diminution des quantités d'aluminium rejetées.

Nous proposons d'utiliser le chitosane comme biofloculant à la place du PAC après la lagune aérée. Les nombreuses études publiées dans la littérature montrent, en effet, que ce biopolymère peut à la fois abattre la charge organique et la turbidité présentes dans une solution aqueuse, tout en chélatant les ETM.

Chapitre 3 : Le chitosane pour épurer les eaux

Les effluents rejetés varient de façon saisonnière : la DCO est plus basse en période chaude qu'en période froide. Ceci s'explique, d'une part, par un mauvais fonctionnement biologique de la lagune aérée en hiver qui entraîne une augmentation de la DCO, et d'autre part, par un manque d'efficacité du PAC en période froide. La réponse apportée à ce déficit d'efficacité est généralement une augmentation de l'ajout de PAC. Or, nous avons démontré qu'un surdosage n'entraîne pas forcément un meilleur abattement chimique, d'autant que le PAC est moins efficace dans les eaux froides (Gidas, 1998). Pour répondre à cette limitation, nous avons optimisé l'utilisation du PAC puis étudié l'utilisation de chitosane dans la floculation des effluents biologiques. Nous avons ainsi comparé les performances du chitosane avec celles du PAC et réalisé des essais semi-industriels directement sur site.

1. Limites de la floculation par le PAC

Nous avons montré au chapitre 2 que l'efficacité du PAC est intimement liée à la température de l'effluent à traiter car celle-ci joue un rôle important sur son mode d'action. De plus, la température intervient également sur le fonctionnement de la lagune. Comme tout autre flocculant, l'efficacité du PAC dépend de la dose utilisée et du pH. Le temps de contact et l'agitation, ayant déjà été étudié *in extenso* dans la littérature, n'a pas refait l'objet d'une étude particulière dans ce travail de recherche.

1.1. Variation de la DCO et de la turbidité en fonction de la dose de PAC

Lors du suivi de la station, les différences d'abattement observées nous ont amené à réaliser une optimisation des apports de PAC en fonction de la période de l'année. Cette

optimisation a pour principal objectif de simuler les conditions industrielles, à savoir un dosage du PAC de 10-12 L h⁻¹ soit 0,3-0,4 mL L⁻¹, une agitation estimée à 30 secondes et une décantation de 2 heures. A chaque saison, 5 échantillons ont été prélevés et traités par ajout de quantités variables de PAC (0, 0,15, 0,3, 0,6, 0,8, 1 et 1,2 mL L⁻¹). Les mesures ont été réalisées sur le premier centimètre du surnageant et elles ont été répliquées trois fois.

La Figure 2.15 montre l'influence de la dose de PAC sur la diminution de la turbidité et de la DCO.

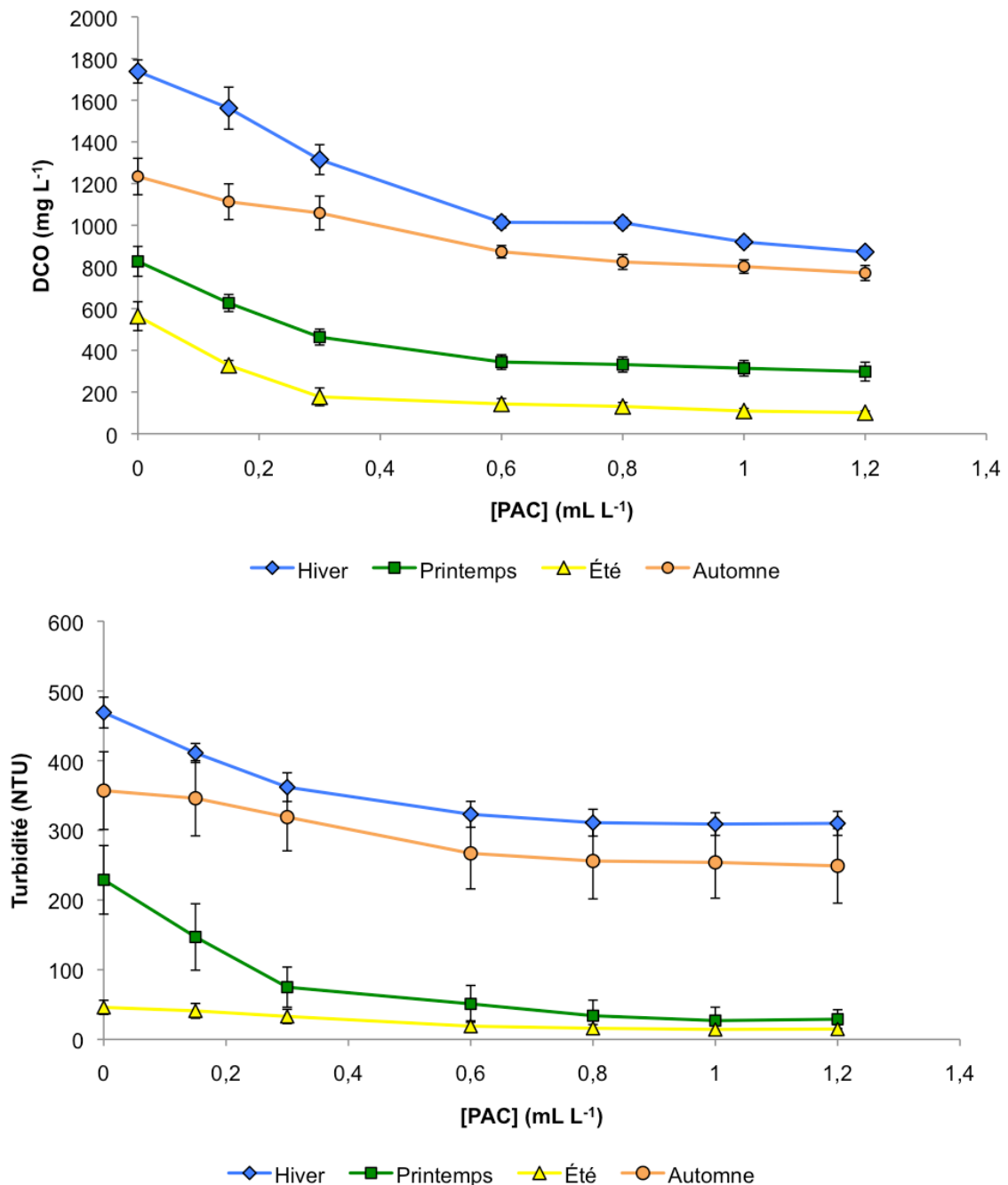


Figure 2.15 : Variation de DCO (en haut) et de turbidité (en bas) en fonction de la dose de PAC ajoutée et après 2 h de décantation.

L'abattement atteint un plateau entre 0,6 et 1 mL L⁻¹. On remarque également que les courbes d'optimisation peuvent être séparées en deux groupes : le premier correspond aux saisons chaudes (printemps-été) où les abattements en DCO et en turbidité sont importants et inférieurs respectivement à 600 mg L⁻¹ et 100 NTU, et le second aux saisons froides (automne-hiver) où, cette fois, les valeurs de DCO et de turbidité sont supérieures respectivement à 800 mg L⁻¹ et 280 NTU. La différence de DCO et de turbidité résiduelles entre ces deux périodes est donc supérieure à 25 % pour la DCO et à 65 % pour la turbidité. D'après ces résultats, il serait intéressant de multiplier par trois les concentrations en PAC, soit 0,6-0,8 mL L⁻¹, en particulier en hiver. Or, l'acidité importante de la formulation pourrait diminuer le pH de façon importante.

1.2. Variation du pH en fonction de la dose de PAC

La Figure 2.16 montre que, quelle que soit la saison, le pH des eaux traitées par du PAC diminue fortement avec l'augmentation de la dose de flocculant. Après un ajout de PAC de 0,3, 0,6 et 1 mL L⁻¹, le pH atteint respectivement des valeurs de 7,3, 6,8 et 6,3, alors que le pH moyen de l'effluent biologique non traité est de 7,8. Le PAC a une formulation très acide (pH ~ 2), qui, après ajout, diminue le pH de l'effluent. Cependant, cette diminution ne semble pas être affectée par la température. Si on augmente la dose de PAC pour diminuer plus fortement la DCO, le pH de la solution traitée peut descendre en dessous de 5, ce qui peut entraîner des effets nuisibles pour le milieu récepteur. Il est donc difficile d'utiliser des concentrations de PAC supérieures à 1 mL L⁻¹, et donc de se placer à son optimum d'utilisation sans effet notable sur le pH.

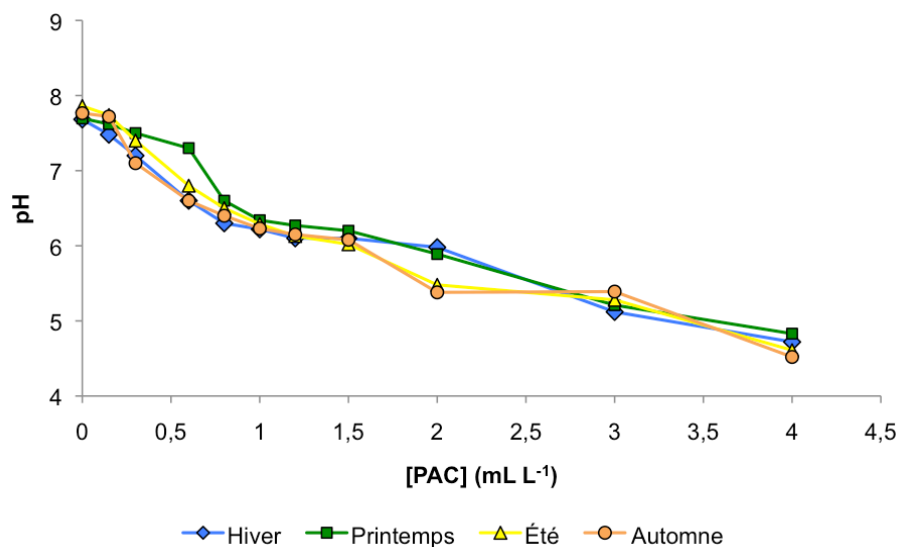


Figure 2.16 : Variation du pH en fonction de la dose de PAC utilisée pour traiter l'effluent biologique.

1.3. Variation de la concentration en aluminium en fonction de la dose de PAC

Les résultats présentés au Tableau 2.21 montrent que la concentration résiduelle en aluminium après traitement par le PAC augmente de façon significative quelle que soit la saison. Les concentrations en Al varient de 24,6 à 33,8 mg L⁻¹ alors que la concentration dans le témoin varie entre 21,7 et 9,5 mg L⁻¹. Le traitement par PAC a pour conséquence de relarguer davantage d'Al dans l'effluent, car celui-ci n'a pas le temps de réagir entièrement. On constate également une diminution des concentrations des autres métaux, après floculation de la matière organique par le PAC.

Tableau 2.21 : Concentrations moyenne des métaux Al, Pb, Ni et Zn dans le surnageant après traitement de l'effluent biologique par le PAC (0,3 mL L⁻¹) en fonction de la saison.

Métal	Hiver	Printemps	Été	Automne
Al (mg L ⁻¹)	33,8	31	24,6	29,9
Al _{Témoin} (mg L ⁻¹)	21,7	10,6	9,5	10,3
Pb (µg L ⁻¹)	2,2	1,8	0,8	2,0
Pb _{Témoin} (µg L ⁻¹)	11,1	6,7	1,8	7,8
Ni (µg L ⁻¹)	4,4	10,2	< ldd	8,7
Ni _{Témoin} (µg L ⁻¹)	5,1	13,2	< ldd	10,0
Zn (µg L ⁻¹)	17,1	< ldd	< ldd	33,5
Zn _{Témoin} (µg L ⁻¹)	30,9	< ldd	< ldd	43,2

2. Effluents biologiques traités par du chitosane

Le chitosane est de plus en plus étudié et utilisé dans le traitement des eaux, comme le montre les nombreuses publications produites chaque année. Il est utilisé soit sous forme soluble, en tant que coagulant, floculant ou encore dans des procédés d'ultrafiltration assistée par des polymères, soit sous forme insoluble, par exemple des billes réticulées utilisables dans des réacteurs d'adsorption. Cependant, la grande majorité des études a été réalisée à partir de solutions synthétiques constituées d'un ou deux contaminants. Il existe peu d'études sur des effluents réels multi-contaminés. De plus, il y a également peu d'essais sur sites industriels, en raison notamment de contraintes économiques et techniques (prix du chitosane, problématique approvisionnement, etc.). L'une des utilisations commerciale du chitosane concerne les eaux de piscines, les autres utilisations à large échelle dans le traitement des eaux sont pour l'instant rares (Gidas, 1998 ; Rodrigues et al., 2008 ; Bhatnagar et Sillanpää, 2009).

2.1. Étude préliminaire du comportement du chitosane lors de la floculation d'effluent biologique

Une recherche de la concentration optimale de chitosane (CHITO) à utiliser a été effectuée. Cette concentration doit, d'une part, servir à optimiser les paramètres d'agitation du CHITO et, d'autre part, à observer son efficacité lors de variations de pH. Les concentrations seront exprimé en millilitre de solution de chitosane a 3 % par litre d'effluent. La concentration optimale a été définie à 10 mL L⁻¹ en hiver et à 5 mL L⁻¹ en été (Figure 2.17). On remarque aussi qu'un fort excès de CHITO entraîne une diminution de l'efficacité par une restabilisation des colloïdes.

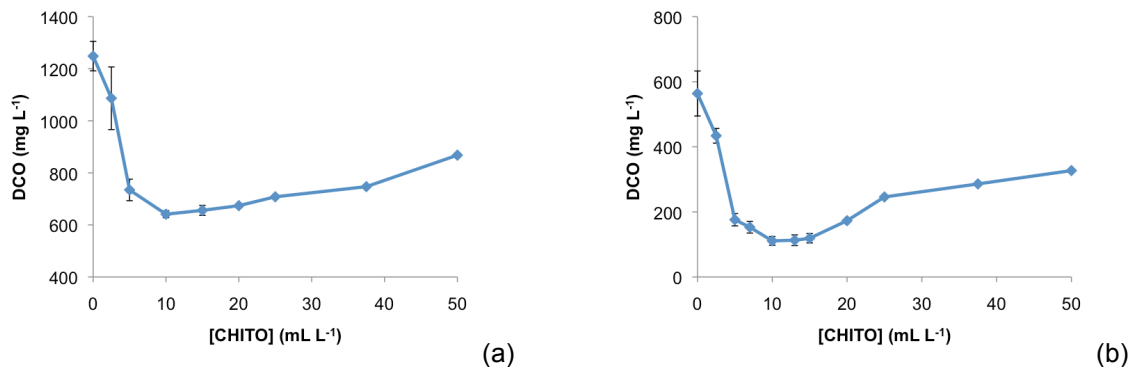


Figure 2.17 : Effet de l'ajout de CHITO sur la DCO de l'effluent « biologique » en hiver (a) et en été (b).

L'agitation du mélange conditionne en partie la formation du floc dans le processus de floculation. En effet, la floculation requiert une phase d'homogénéisation rapide du mélange effluent/floculant suivie d'une phase d'agitation. La durée de cette homogénéisation n'a pas d'effet significatif sur l'abattement de DCO par le biopolymère (Figure 2.18). D'après les résultats obtenus, un temps d'homogénéisation de 2,5 minutes est suffisant pour obtenir un bon abattement de charge organique. Ce temps d'homogénéisation est du même ordre de grandeur que celui du PAC. De plus, nous avons constaté que l'ajout d'une phase d'agitation lente consécutive à la phase d'homogénéisation n'améliore pas la floculation en terme de DCO (Figure 2.19).

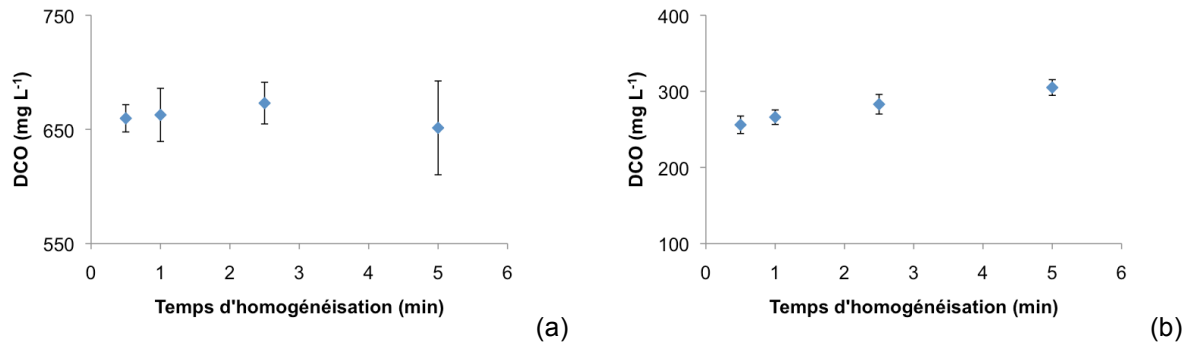


Figure 2.18 : Effet du temps d'homogénéisation rapide sur la DCO de l'effluent « biologique » lors d'un traitement par CHITO en hiver (a) et en été (b).

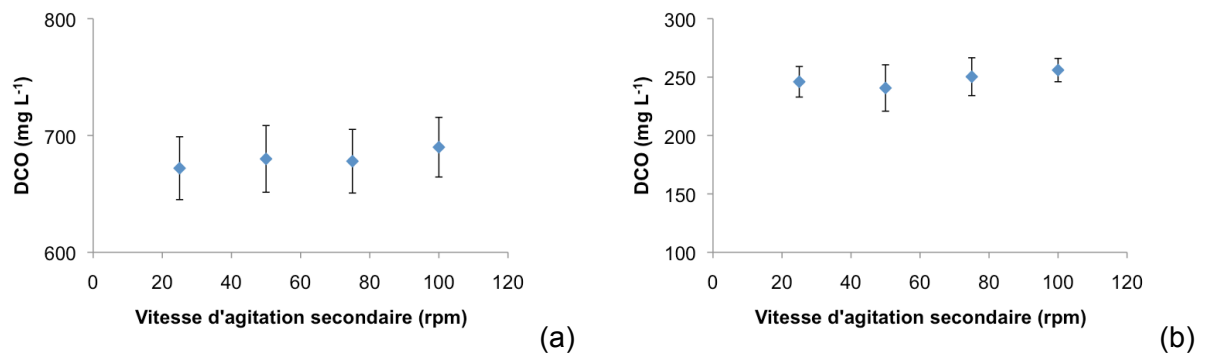


Figure 2.19 : Effet de la vitesse d'agitation secondaire sur la DCO de l'effluent « biologique » lors d'un traitement par CHITO en hiver (a) et en été (b).

La Figure 2.20 montre l'effet du pH initial de l'effluent sur l'abattement de DCO. Les résultats obtenus sont indépendants du pH de la solution. Le chitosane est ainsi efficace quel que soit le pH initial. Aucune variation importante du pH final n'a été obtenue après floculation par du CHITO.

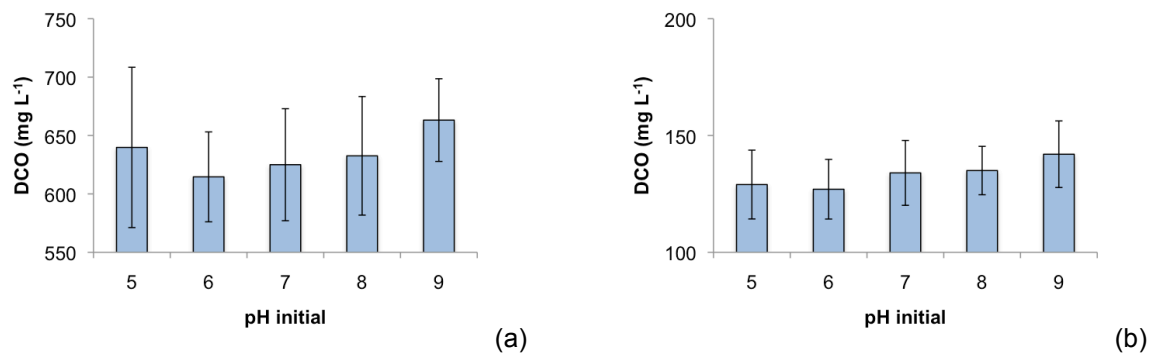


Figure 2.20 : Effet du pH initial sur la DCO de l'effluent « biologique » lors d'un traitement par CHITO en hiver (a) et en été (b).

2.2. Variation de DCO et de turbidité en fonction de la dose de chitosane

Afin de comparer l'efficacité du CHITO par rapport à celle du PAC, nous avons réalisé une série d'essais dans des conditions similaires aux conditions industrielles. Les conditions expérimentales utilisées sont les suivantes : vitesse d'agitation fixée à 300 rpm pendant 5 min, apports variables de CHITO de 0, 2,5, 5, 7, 10, 13 et 15 mL L⁻¹ sur 5 échantillons traités par saison et une décantation de 2 heures.

La Figure 2.21 montre que l'optimum pour l'abattement de DCO et de turbidité est obtenu à 10 mL L⁻¹ de CHITO pour l'hiver et l'automne et 5 mL L⁻¹ pour l'été et le printemps. Les DCO et les turbidités finales obtenues s'évaluent respectivement de 100 à 800 mg L⁻¹ et de 10 à 180 NTU en fonction de la saison considérée. L'abattement de DCO est de 63 %, 44 %, 80 % et 78 % respectivement pour l'hiver, le printemps, l'été et l'automne. L'abattement de turbidité est de 81 %, 93 %, 87 % et 71 % respectivement pour l'hiver, le printemps, l'été et l'automne. L'ensemble des manipulations s'étant déroulées à la température du laboratoire (20 °C), c'est l'effet de la composition de l'effluent qui est observé dans ce cas. L'effluent le plus favorable à un traitement par CHITO est celui prélevé en été. En effet, à cette période chaude, le processus de floculation est facilité car la lagune possède une communauté bactérienne facile à floculer.

Pour vérifier l'effet de la température sur le traitement par le CHITO, la même expérience que celle réalisée au point 4.4. du chapitre précédent est présentée à la Figure 2.12. Le rendement du traitement par le CHITO lors de la baisse de température chute respectivement de 36 et 26 % pour la DCO et la turbidité (Figure 2.22). A titre de comparaison, une chute de 48 % pour la DCO et 55 % pour la turbidité a été observée pour le traitement par le PAC. Le traitement par le CHITO est moins sensible aux baisses de température que le traitement par le PAC, ce qui confirme les résultats de Gidas (1998). C'est notamment le cas des effluents subissant l'influence des températures extérieures notamment (lagune aérée, boues activées, *moving bed biofilm reactor*, etc.).

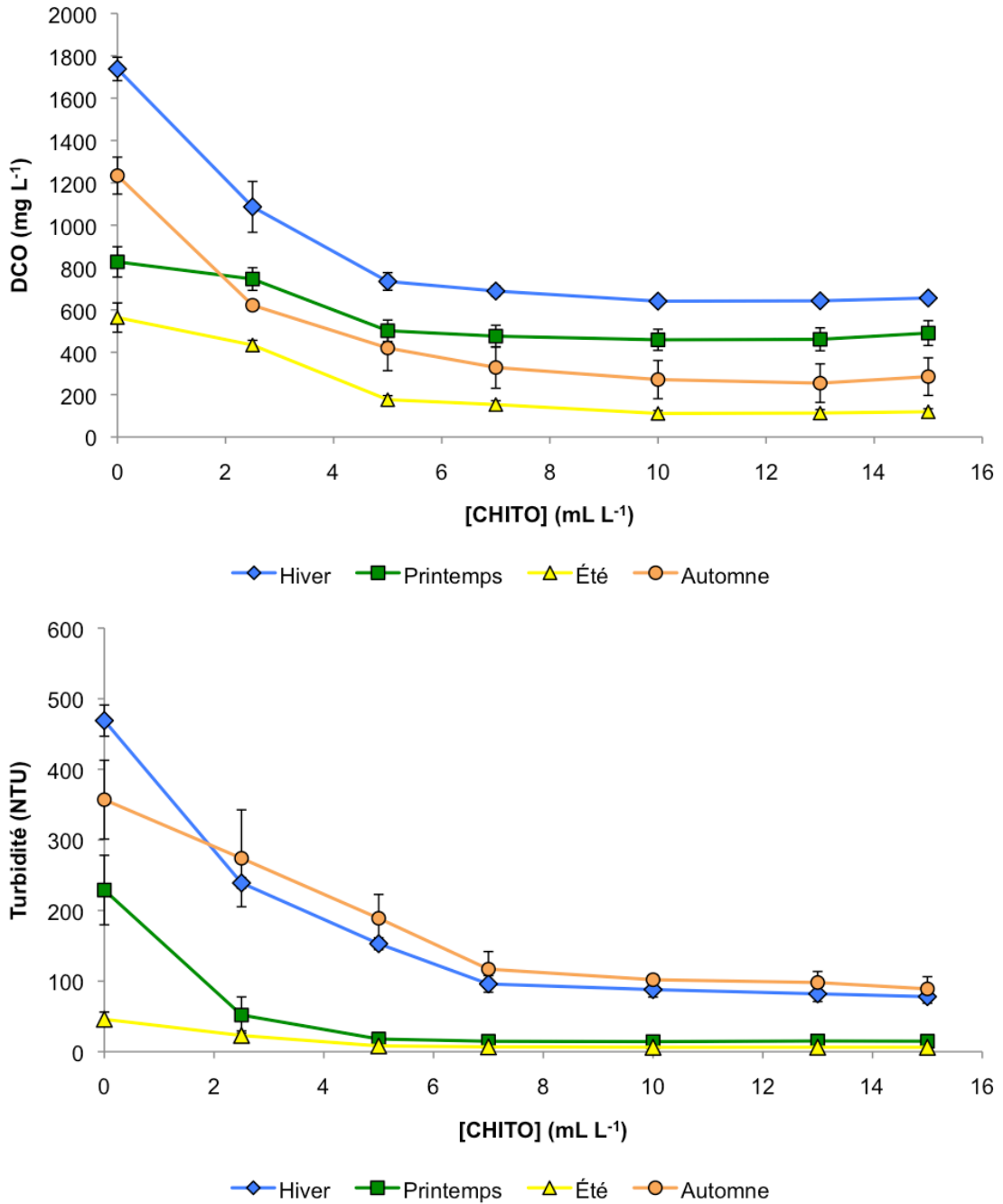


Figure 2.21 : Variation de DCO (en haut) et de turbidité (en bas) en fonction de la dose de CHITO ajoutée et après 2 h de décantation.

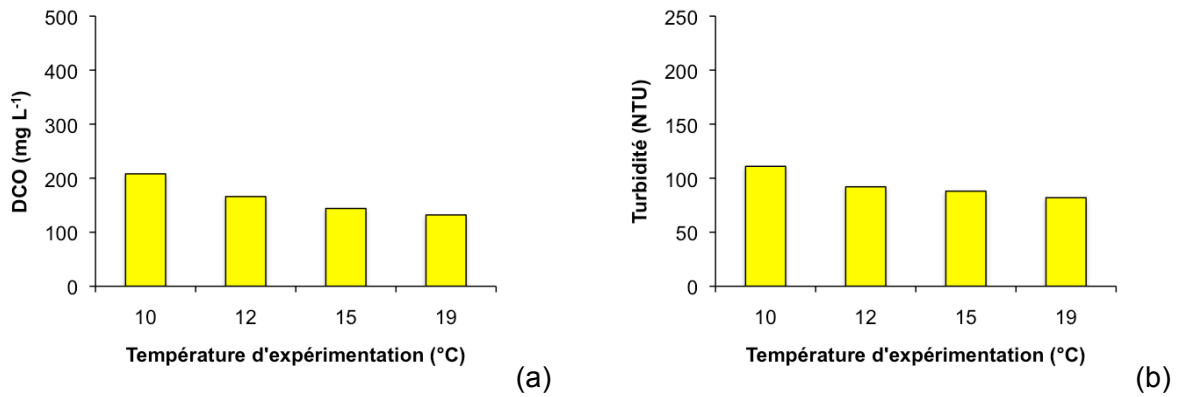


Figure 2.22 : Variations de DCO (a) et de la turbidité (b) après un traitement de l'effluent biologique par CHITO en fonction de la température. L'échelle est la même qu'à la figure 2.12 pour faciliter les comparaisons.

2.2. Variation du pH en fonction de la dose de CHITO

Le pH des eaux traitées par le CHITO varie entre 7,7 et 8,0 (Figure 2.23) pour un pH initial d'environ 7,8. Cette légère variation est pratiquement indépendante de la saison et de la concentration de biofloculant ajoutée. Le traitement par le CHITO n'a donc pas d'effet sur le pH. Par conséquent, les eaux de rejets conservent un pH proche de la neutralité, donc sans effets délétères (acidité ou alcalinité) sur le milieu récepteur, contrairement au PAC.

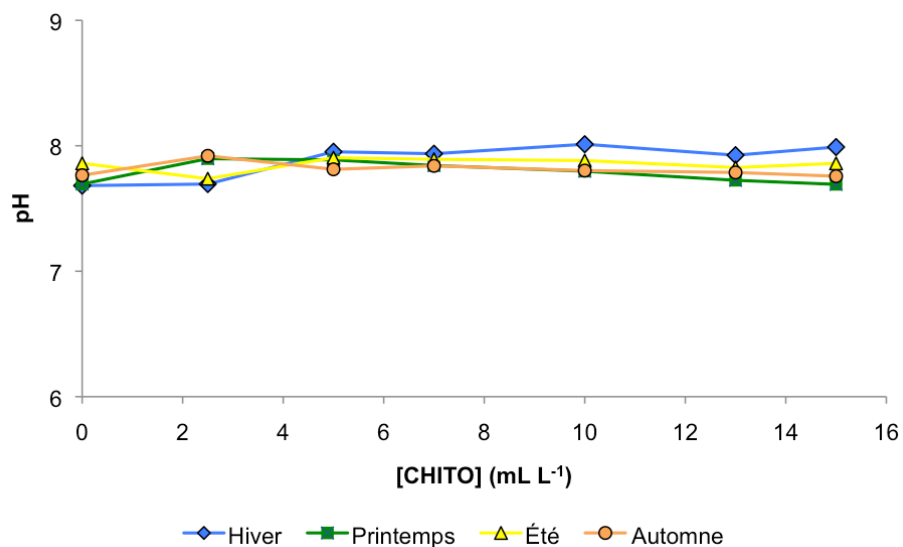


Figure 2.23 : Variations de pH en fonction de la dose de CHITO utilisée pour traiter l'effluent biologique.

2.3. Variation de la concentration en aluminium en fonction de la dose de CHITO

L'aluminium a été mesuré dans le surnageant des solutions après traitement par le CHITO à son optimum de concentration. Le chitosane commercial utilisé pour nos tests de floculation a été analysé. Les résultats ont montré qu'il ne contenait pas d'Al, de Pb, de Ni et de Zn en quantité significative. Les concentrations en Al diminuent après biofloculation (Tableau 2.22) surtout en hiver, de 21,7 à 7,2 mg L⁻¹. Le CHITO est donc efficace pour abattre l'aluminium résiduel présent dans l'effluent. Le Tableau 2.16 montre également une diminution importante pour les métaux Pb, Ni et Zn. Le chitosane soluble permet donc de diminuer fortement non seulement la DCO et la turbidité, mais également d'abattre les métaux par chélation (Guibal, 2004).

Tableau 2.22 : Concentrations moyennes des métaux Al, Pb, Ni et Zn présents dans le surnageant après traitement par le chitosane de l'effluent biologique en fonction de la saison.

Métal	Hiver	Printemps	Été	Automne
Al (mg L ⁻¹)	7,2	6,9	4,7	6,3
Al _{Témoin} (mg L ⁻¹)	21,7	10,6	9,5	10,3
Pb (µg L ⁻¹)	1,3	0,9	0,7	1,6
Pb _{Témoin} (µg L ⁻¹)	11,1	6,7	1,8	7,8
Ni (µg L ⁻¹)	3,9	11,1	< ldd	6,9
Ni _{Témoin} (µg L ⁻¹)	5,1	13,2	< ldd	10,0
Zn (µg L ⁻¹)	< ldd	< ldd	< ldd	< ldd
Zn _{Témoin} (µg L ⁻¹)	30,9	< ldd	< ldd	43,2

3. Comparaison entre la biofloculation par le CHITO et la floculation par le PAC

A ce stade, nous avons comparé l'efficacité chimique du CHITO avec celle du PAC (Tableau 2.23). Les concentrations utilisées pour les floculants étaient les suivantes : pour le PAC 0,3 mL L⁻¹ (été) et 0,4 mL L⁻¹ (hiver) quantités utilisées en station par l'industriel et 5 mL L⁻¹ (été) et 10 mL L⁻¹ (hiver) pour le CHITO (ajouts optimum obtenus lors des essais en laboratoire). Les résultats décrits dans le Tableau 2.23 montrent que l'abattement de DCO par le CHITO varie de 45 à 80 % alors que celui obtenu par le PAC varie de 25 à 68 %. L'abattement de DCO par le CHITO est donc supérieur à celui du PAC pour une même saison. Les différences d'abattement de turbidité sont similaires : l'abattement de turbidité par le CHITO varie entre 71 et 94 % alors que l'abattement par le PAC varie entre 11 et 32

%. L'abattement de turbidité par le CHITO est donc supérieur à celui du PAC quelle que soit la saison.

Pour obtenir une plus grande efficacité du PAC, l'apport doit être sensiblement augmenté ($> 1 \text{ mL L}^{-1}$). Or, lors d'une augmentation du flocculant métallique, les concentrations en Al sont nettement supérieures à celles mesurées dans le témoin (effluent biologique non traité). De plus, l'augmentation de l'apport de PAC conduit à une diminution importante du pH. Ainsi, cette solution n'est en pratique pas réalisable pour des raisons à la fois économiques (prix du PAC) et environnementales (augmentation du pH et des quantités d'aluminium restantes dans l'effluent).

Tableau 2.23 : Récapitulatif des performances des deux systèmes de floculation des effluents pour l'abattement de DCO et de turbidité, et pour les concentrations minimales et maximales d'aluminium, de plomb, de nickel et de zinc.

Paramètre	Saison	PAC	CHITO
Abattement de DCO en %	Hiver	25	63
	Printemps	43	45
	Été	68	80
	Automne	13	80
Abattement de turbidité en %	Hiver	23	81
	Printemps	32	94
	Été	29	86
	Automne	11	71
pH		Diminue si la dose augmente	Reste stable quelque soit la dose
[Aluminium] en mg L^{-1}		24,6-33,8	4,7-7,2
[Plomb] en $\mu\text{g L}^{-1}$		0,7-1,6	0,8-2,2
[Nickel] en $\mu\text{g L}^{-1}$		<2,5-11,1	<2,5-10,2
[Zinc] en $\mu\text{g L}^{-1}$		< 25	< 25 -33,5
Couleur		jaune-orangée	incolore

Il y a deux autres avantages à utiliser le chitosane : i) celui-ci permet d'abattre également les autres métaux présents dans les rejets (Pb, Ni, Zn) et ii) et décolore l'effluent (Figure 2.24). Les eaux de rejets de la papeterie ont, en effet, une coloration jaune-orangée voire marron due à la présence de dérivés de la lignine. Ces composés ne sont pas biodégradables et sont toxiques pour le milieu aquatique (Ali et Sreekrishnan, 2001). Le PAC n'agit pas sur la décoloration des rejets.

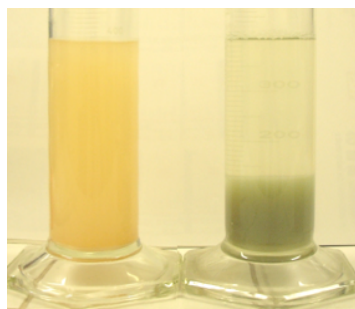


Figure 2.24 : Photographie avant (à gauche) et après (à droite) traitement de l'effluent biologique par le CHITO.

4. Essais de biofloculation à l'échelle semi-industrielle

4.1. Essais en jar-test géant

Deux campagnes d'essais en jar-test géant ont été réalisées durant l'hiver 2008 ($T_{\text{lagune}} = 10\text{ }^{\circ}\text{C}$) et l'été 2009 ($T_{\text{lagune}} = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Nous avons vu précédemment que la concentration optimale de chitosane à utiliser pour avoir un rendement maximum d'abattement de pollution était de 10 mL L^{-1} , ce qui est 30 fois supérieur à la quantité optimale de PAC utilisée en station. Les données de la littérature montrent qu'une fonctionnalisation chimique du chitosane peut, dans certains cas, être proposée pour diminuer les doses à utiliser. Cependant, le choix a été fait ici de ne pas modifier le chitosane brut mais plutôt d'étudier son comportement lors d'essais à l'échelle semi-industrielle. Notre hypothèse était de mettre en évidence un éventuel « effet volume » c'est-à-dire un meilleur abattement avec l'utilisation de plus gros volumes.

Des essais préliminaires ont été réalisés pour observer le phénomène de décantation naturelle des effluents « biologiques ». Pour ces essais, le temps de décantation a été fixé à 2 h (temps généralement constaté en station). La Figure 2.25 montre que l'abattement est plus important lorsque le volume utilisé augmente. Cette augmentation est de 38 % entre 1 L et 10 L. Il y a bien un effet « volume » en effet, on considère en génie chimique que les cinétiques réactionnelles sont affectées positivement par le volume disponible (Euzen et al., 1993).

Suite aux essais en laboratoire, des essais identiques ont été reproduits sur site industriel en été et en hiver, de façon à tenir compte des variations de température. Le protocole et les conditions utilisées sont les suivantes : un volume de 800 L d'effluent biologique est placé dans un jar-test géant (Figure 2.4). L'agitation est effectuée pendant 2 min suivie d'une décantation de 2 h. Les apports de CHITO sont croissants ($2, 5$ et 10 L m^{-3} en hiver, $1, 2, 5$ et 7 L m^{-3} en été). Chaque modalité a été répétée trois fois. L'ensemble des essais a fait l'objet d'une comparaison avec la même étude réalisée en laboratoire.

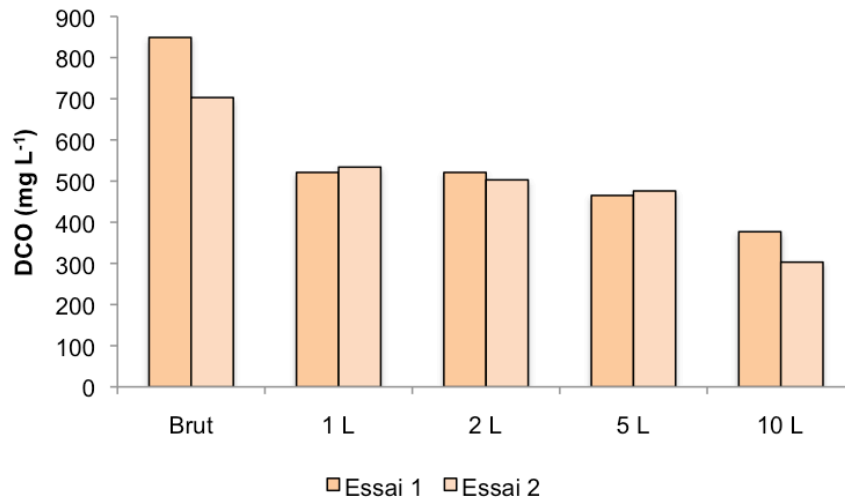


Figure 2.25 : Concentrations en DCO après décantation de volumes croissants d'un même effluent biologique.

La Figure 2.26 montre un abattement plus important lors du passage du laboratoire ($V = 0,4 \text{ L}$) au niveau semi-industriel ($V = 800 \text{ L}$). En hiver, des abattements supplémentaires de 30 % pour la turbidité et de 23 % pour la DCO ont été observés par rapport au laboratoire, ce qui confirme l'effet « volume ». Ce résultat a été également obtenu en été avec un abattement supplémentaire de 74 % en turbidité et 21 % en DCO. Les concentrations optimales de CHITO à utiliser sont donc moindres : l'optimum est atteint à partir de 5 mL L^{-1} en hiver et 2 mL L^{-1} en été. Cette diminution de la concentration optimale est un atout dans la réduction du coût du traitement.

Dans le cas de la papeterie du Doubs et du strict point de vue de la limite réglementaire (c'est-à-dire $\text{DCO} < 1320 \text{ mg L}^{-1}$), une quantité de 2 mL L^{-1} en hiver serait suffisante pour atteindre un niveau de DCO inférieur à 1000 mg L^{-1} .

Pour que le procédé soit réellement transférable, il faut vérifier que la biofloculation par le chitosane soluble est opérationnelle dans un process de traitement existant. En effet, dans le cas d'espèce, les effluents SLA passent à travers un système de décanteurs/minéralisateurs et de lits filtrants verticaux. Les effluents doivent donc décanter facilement, être biodégradables et contenir peu de MES pour ne pas colmater les filtres.

Les résultats sont présentés au Tableau 2.24. Le traitement par le CHITO rend l'effluent davantage biodégradable par rapport au témoin. En effet, le rapport DCO/DBO_5 diminue quel que soit la saison après traitement par le CHITO. En hiver, il passe de 2,9 (témoin) à 1,9 (CHITO), et en été de 2,2 (témoin) à 1,6 (CHITO). Les MES sont également en baisse, elles passent de 800 à 220 mg L^{-1} en hiver, et de 220 à 100 mg L^{-1} en été. Enfin, l'indice de Mohlman est en forte hausse, passant de 70 à 357 mL g^{-1} en hiver et de 86 à 331 mL g^{-1} en été. La hausse importante de l'indice de Mohlman est un signe d'une prise en

masse, ce qui impose l'utilisation d'un véritable clarificateur dans le traitement. Si on exprime les résultats des ETM en flux journaliers, on constate une diminution importante des teneurs en métaux (Tableau 2.24), et ceci est à mettre en relation avec les propriétés de chélation du chitosane. Tous ces résultats sont parfaitement reproductibles.

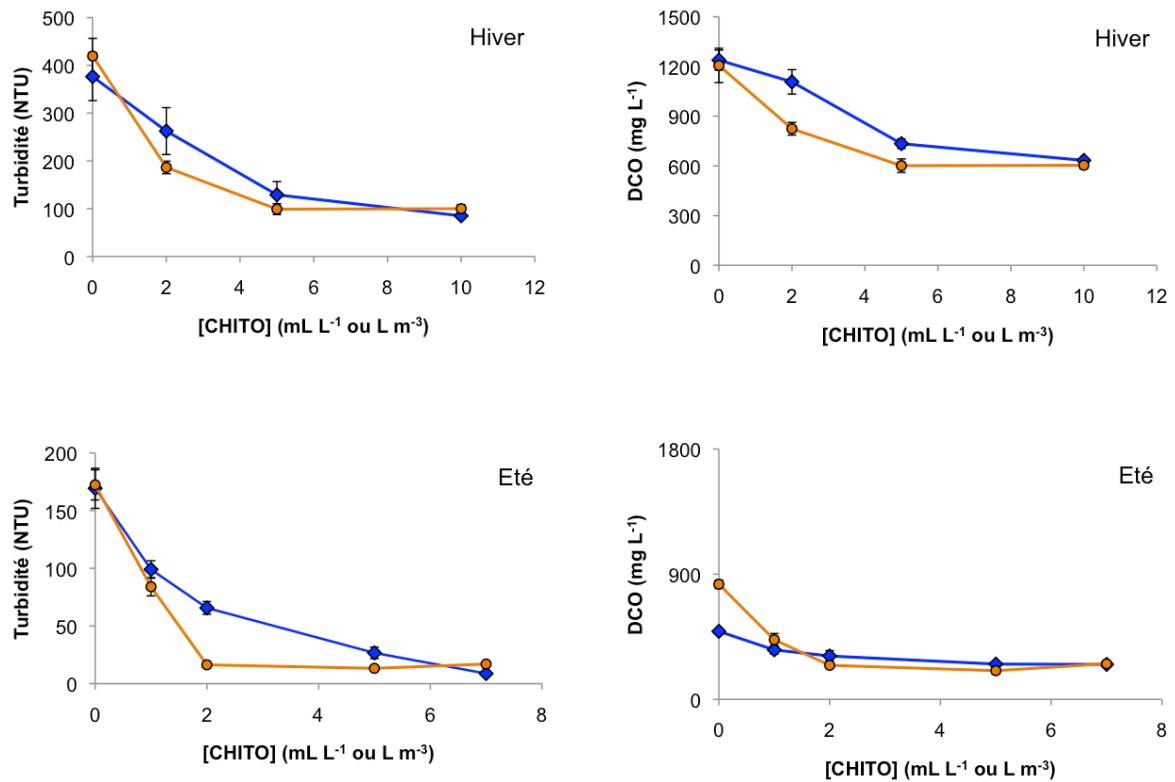


Figure 2.26 : Comparaison des performances du chitosane en fonction du volume (en orange : essais en jar-test géant et en bleu : essais en jar-test conventionnel).

Tableau 2.24 : Comparaison des mesures analytiques entre un effluent biologique non traité et traité par le CHITO.

Paramètre	Témoin		CHITO	
	Hiver	Été	Hiver	Été
DCO ($\text{mg}_{\text{O}_2} \text{L}^{-1}$)	1215	489	606	204
DBO ($\text{mg}_{\text{O}_2} \text{L}^{-1}$)	420	218	312	127
Biodégradabilité (DCO/DBO_5)	2,9	2,2	1,9	1,6
MES (mg L^{-1})	800	220	220	100
Indice de Mohlman	70	86	357	331
[Al] Kg j^{-1}	5,5	1,22	1,9	0,4
[Pb] g j^{-1}	63	12,2	1,3	9,8
[Ni] g j^{-1}	30	< ldd	25	< ldd
[Zn] g j^{-1}	0,7	30,8	0,4	4,4

5. Comparatif des essais semi-industriels

5.1. Comparaison des modes de traitement

Les abattements réalisés à l'optimum de CHITO ($2\text{-}5\text{ L m}^{-3}$) ont été comparés avec les abattements réalisés à l'optimum de PAC ($0,3\text{-}0,4\text{ L m}^{-3}$), ceci afin de démontrer l'intérêt du chitosane pour remplacer un flocculant métallique. La Figure 2.27 montre que l'abattement de DCO et de turbidité par le CHITO est légèrement supérieur à celui par le PAC.

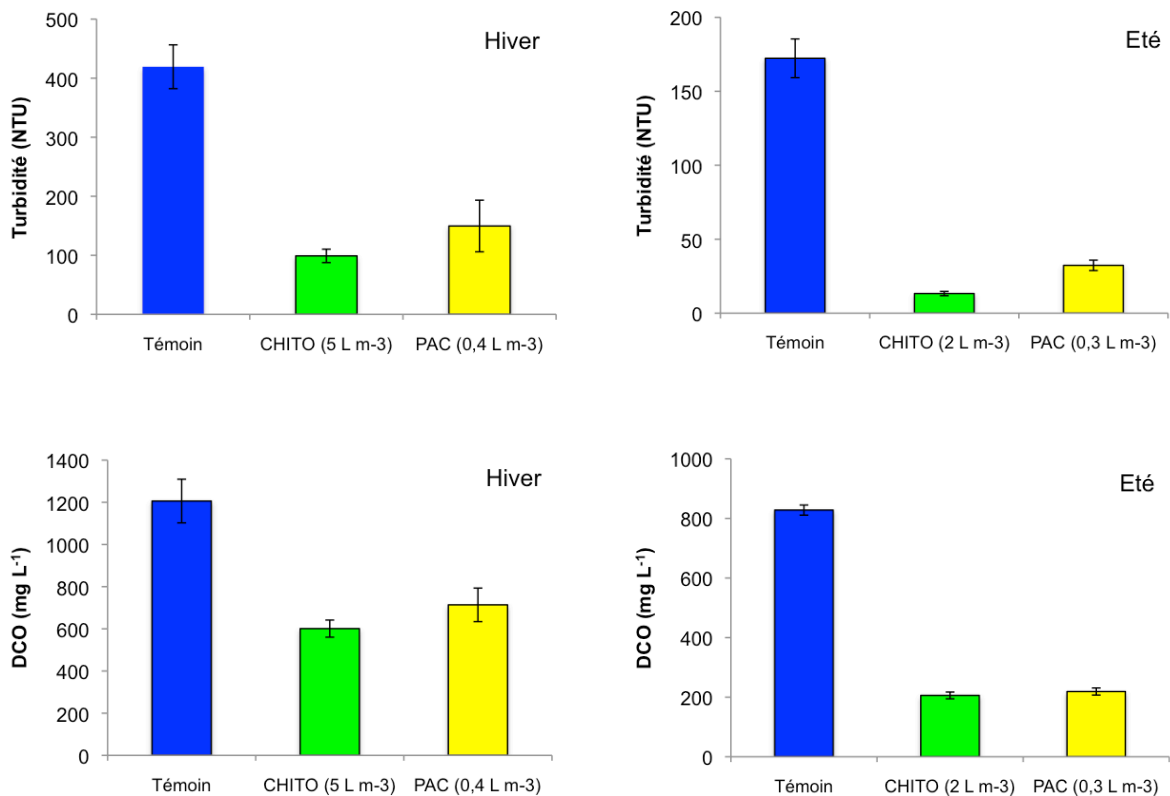


Figure 2.27 : Comparaison des performances de turbidité (en haut) et de DCO (en bas) du CHITO et du PAC à leur dose optimale (5 mL L^{-1} et $0,3\text{ mL L}^{-1}$ respectivement)

Les résultats du Tableau 2.25 montrent que l'abattement des MES obtenu par le CHITO est plus important que celui obtenu par le PAC et l'effluent est plus facilement biodégradable lorsqu'il est traité par CHITO (augmentation de la part de DBO). De plus, l'indice de Mohlman est bien plus important pour un traitement par CHITO que par PAC. Comme observé lors des essais laboratoire, le chitosane permet d'abattre fortement les métaux. D'une façon générale, il est donc plus intéressant, pour le milieu aquatique, de traiter les eaux avec du chitosane.

Tableau 2.25 : Comparaison des performances du CHITO et du PAC sur les paramètres influençant l'opérationnalité des procédés dans le process.

Paramètre	PAC		CHITO	
	Hiver	Été	Hiver	Été
DCO (mg _{O2} L ⁻¹)	686	219	606	204
DBO (mg _{O2} L ⁻¹)	245	82	312	127
Biodégradabilité (DCO/DBO ₅)	2,8	2,7	1,9	1,6
MES (mg L ⁻¹)	350	180	220	100
Indice de Mohlman	180	120	357	331
[Al] kg j ⁻¹	7,8	0,8	1,9	0,4
[Pb] g j ⁻¹	2,2	20,5	1,3	9,8
[Ni] g j ⁻¹	16	< ldd	25	< ldd
[Zn] g j ⁻¹	33	14,3	0,4	4,4

5.2. Intérêt du protocole semi-industriel

Cette méthode a permis d'évaluer la capacité d'un flocculant naturel à être utilisé dans une station de décontamination industrielle. C'est une perspective intéressante dans le cadre d'essais industriels pour le chitosane afin de montrer la transférabilité des procédés. Le chitosane est un produit disponible en faibles quantités, ce qui a rendu impossible un test industriel vu les énormes volumes d'eaux à traiter (Débit_{SLA} : 50 m³ j⁻¹). Avec la méthode en jar-test géant, il a été néanmoins possible d'effectuer plusieurs tests et répétitions et de vérifier par des paramètres pertinents, l'opérationnalité du procédé dans le process de traitement. Les essais semi-industriels ont démontré que le chitosane est plus efficace que le PAC pour abattre la charge organique, les MES, les métaux et la couleur, quel que soit la saison.

Pour aider à flocculer les effluents en sortie de traitement biologique, on utilise en général des dérivés à base de sels métalliques. Ces procédés sont certes efficaces pour atteindre les limites réglementaires mais constituent un problème pour l'environnement en raison de la toxicité de l'aluminium. En effet, les sels d'aluminium comme le PAC, ne sont pas efficaces lorsque les températures sont basses et ont tendance à augmenter la concentration d'aluminium et à diminuer le pH des eaux traitées.

Pour toutes ces raisons, il est important de lui trouver un produit de remplacement tout aussi efficace, plus respectueux de l'environnement et économiquement viable. Les produits à base de biofloculants donnent des résultats prometteurs dans la littérature bien qu'il existe très peu d'études de cas concrets sur site industriel.

L'étude de la biofloculation par du chitosane a montré que ce biopolymère est plus performant que le PAC, et ceci quelles que soient les conditions climatiques. Le traitement des effluents biologiques en période froide est efficace avec du chitosane, contrairement au PAC. De plus, le chitosane n'apporte pas d'aluminium, chélate les autres métaux présents et décolore les eaux de rejets.

Lors des essais semi-industriels, nous avons observé que les quantités de produits à utiliser ne sont pas proportionnelles mais dépendent d'un effet « volume ». Les essais réalisés ont abouti à des résultats très intéressants en termes d'abattement chimique, de meilleur décantabilité et de décoloration des eaux. Le chitosane abat la pollution indépendamment de la température des effluents. En outre, la biofloculation par du chitosane pourrait facilement s'intégrer à un système de traitement existant. Cependant, il n'a pas été possible de réaliser un test industriel car, pour obtenir des résultats pertinents et une interprétation des données, il aurait fallu faire un test au moins sur 5 jours consécutifs, ce qui nécessitait d'énormes volumes de CHITO.

Il reste également un point important à vérifier pour valider ce procédé : s'assurer que l'efficacité chimique entraîne un intérêt pour l'environnement. Ceci fera l'objet de la partie 3.

Troisième Partie :

**Impact écotoxicologique des
procédés de traitement des eaux**

Chapitre 1 : Matériels et méthodes pour l'expérimentation en écotoxicologie

Il existe de nombreuses méthodes de mesure des impacts que peuvent avoir les rejets industriels sur l'environnement aquatique. Au niveau laboratoire, on dispose de tests écotoxicologiques qui apportent une information sur la toxicité des effluents. L'avantage principal de ces tests est leur facilité de mise en œuvre ainsi que leur caractère normé. Cependant, le désavantage principal de ces tests tient au manque de réalisme écologique des organismes suivis. En effet, *Daphnia magna* est un crustacé des eaux stagnantes tandis que *Danio rerio* est un poisson amazonien. Par conséquent, la pertinence de leur utilisation dans des cours d'eau et/ou sous des latitudes européennes n'est pas assurée.

L'évaluation environnementale peut également se faire *in situ* par la mesure d'indices (IBGN, IBGA, MAG20, etc.), mais ce type d'indice intègre des échelles de temps et d'espaces étendues (analyse au niveau de la communauté et des assemblages) et, par conséquent, ne permettent pas toujours de mettre en évidence une pollution sur une faible échelle de temps ou d'espace.

Ainsi, il était nécessaire de mettre en place une méthode de bioindication qui soit écologiquement réaliste en laboratoire et qui soit capable de mettre en évidence une pollution dans un grand cours d'eau et sur une faible échelle de temps *in situ*. A cet effet, l'amphipode *Gammarus pulex* a été choisi dans le cadre de cette étude à cause de son caractère ubiquiste et de son importance écologique dans les réseaux trophiques (Maltby et al., 1990 ; Adam et al., 2009).

Ce chapitre présente les différentes méthodes mises en place pour l'utilisation de *Gammarus pulex* comme bioindicateur.

1. Tests écotoxicologiques

1.1. Principe

Le principe de tout test écotoxicologique est l'observation des réponses d'un organisme à un contaminant ou à un polluant. Ainsi, une sensibilité suffisante de l'organisme permettant de révéler la présence d'un contaminant ou les effets physicochimiques d'une pollution est souvent recherchée.

Le choix de la réponse à mesurer doit être fait en fonction des effets potentiels que peuvent induire les polluants ou les contaminants recherchés (Figure 3.1). Par exemple, un contaminant susceptible de provoquer la mort d'un organisme, c'est-à-dire un contaminant dont la toxicité est aiguë et la concentration attendue élevée, nécessitera le suivi de réponses létales (taux de survie, taux de mortalité). En revanche, si la toxicité est plutôt chronique ou si le contaminant est peu concentré alors il faut rechercher le niveau d'organisation auquel le contaminant entraînera un effet (niveau individuel ou subindividuel).

Les réponses comportementales (niveau individuel) sont le reflet de l'état physiologique de l'organisme et entraînent, par voie de conséquence, des effets au niveau de la population et de la communauté (Figure 3.1). Si le comportement observé est en mesure d'induire une modification de la capacité de survie de l'organisme (respiration, nutrition, etc.) alors un suivi du taux de survie doit être effectué en complément.

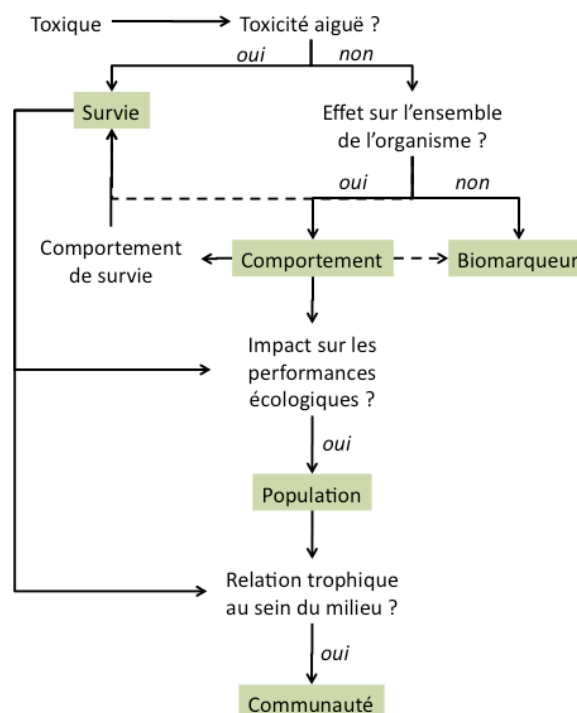


Figure 3.1 : Schéma synoptique de choix des réponses toxiques et écotoxicologiques.

1.2. Choix de la réponse suivie

L'aluminium a été identifié comme étant, avec la MO, le contaminant majeur de la papeterie du Doubs. Les données issues de la littérature montre que l'aluminium n'est pas un élément présentant une toxicité aiguë importante (Witters, 1998 ; Elangovan et al., 1999 ; Kádár et al., 2001 ; Pichard et al., 2005). Les effets principaux de l'aluminium sur les organismes aquatiques sont des stress immunitaires, des stress osmotiques et des stress oxydatifs (Wauer et al., 2004 ; Ward et al., 2006). L'aluminium est donc un contaminant caractérisé par une toxicité chronique et ses effets portent sur l'ensemble de l'organisme. Ainsi, la mesure d'une réponse comportementale couplée à un suivi du taux de survie apparaît comme un choix pertinent pour cet élément.

De nombreuses réponses comportementales ont été identifiées chez *Gammarus pulex*, comme, la résistance de l'amplexus, les battements de pléopodes, la locomotion, la nutrition etc. (Felten et al., 2006 ; Dedourge-Geffard et al., 2009 ; Sornom et al., 2010). Le taux de locomotion a été utilisé ici car il intègre plusieurs traits qui ont une importance dans la biologie de *G. pulex* notamment la fuite, la recherche de nourriture et de partenaire sexuel ou les comportements migratoires.

2. Protocole expérimental

2.1. Récolte de *Gammarus pulex*

Les gammares utilisés dans les expérimentations écotoxicologiques ont été prélevés *in natura* dans le ruisseau de la Fontaine des Dames (X : 880771, Y : 2274714, Lambert II étendu).

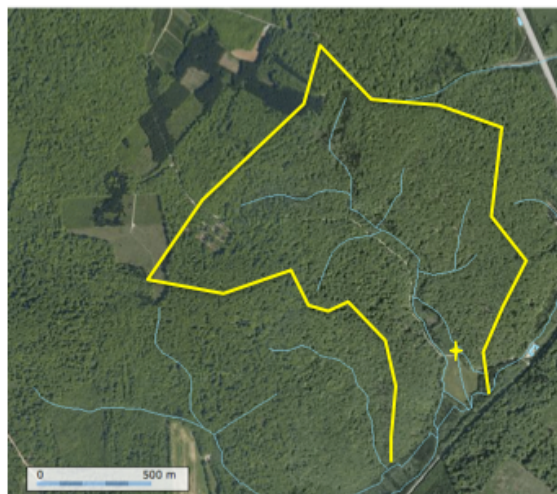


Figure 3.2 : Bassin versant du ruisseau de la fontaine des Dames (X : 880771, Y : 2274714, Lambert II étendu).

Le bassin versant du ruisseau est principalement occupé par une forêt de feuillus et ne présente pas de pollution (Figure 3.2). Ainsi, on ne peut pas suspecter que la population utilisée ait été conditionnée par la présence d'aluminium ou d'autres métaux. Pour que la récolte des gammares soit plus performante, nous avons installé des pièges (Figure 3.3). Ils sont constitués de pieux enfoncés dans le lit du ruisseau auxquels sont fixés un filet grillagé destiné à retenir des feuilles d'Aulne glutineux (*Alnus glutinosa*). Cette niche « artificielle » est propice à une colonisation par *Gammarus pulex* (McCahon et Pascoe, 1988). Les gammares sont prélevés lors du relevage des pièges puis ramenés au laboratoire. Ils passeront alors 48 heures dans un bac rempli d'eau du ruisseau à l'obscurité et à 16°C pour acclimatation aux conditions du laboratoire. A l'issue de ces 48 heures, les gammares sont triés par classe de taille et de sexe et les individus parasités sont éliminés. Ils passeront à nouveau 48 heures dans les bacs de tri remplis d'eau de Volvic™ pour acclimatation. A l'issue de ces 96 heures d'acclimatation dont 48 heures de jeûne certain, les essais écotoxicologiques peuvent commencer.

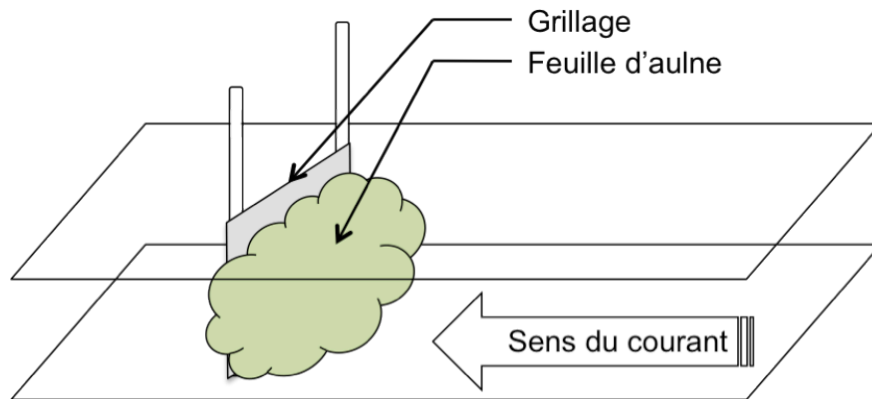


Figure 3.3 : Schéma d'un piège à gammare.

2.2. Mesure du taux de locomotion

Le taux de locomotion a été mesuré par la méthode de Felten et al. (2008a). Chaque individu est placé dans un tube en plastique (7 cm x 1,3 cm) rempli par l'eau de Volvic™ (eau de dilution) et fermé par du parafilm (Figure 3.4). Chaque tube est marqué d'un trait latéral en son milieu. Un temps d'acclimatation de 5 minutes est respecté avant chaque mesure. Le nombre de passage sous le trait médian est comptabilisé sur 2 minutes. Ce décompte est ensuite divisé par 2 pour exprimer le taux de locomotion (min^{-1}).

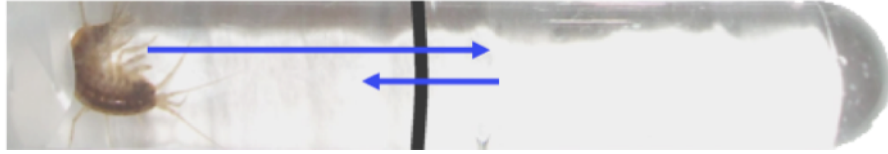


Figure 3.4 : Photographie d'un individu dans un tube de mesure.

Les résultats obtenus seront présentés sous la forme de *boxplot* dont la signification est présentée à la Figure 3.5.

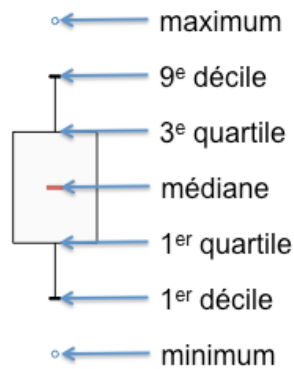


Figure 3.5 : Signification des *boxplots* utilisés

2.3. Expériences en laboratoire

Le protocole expérimental (Figure 3.5) suivant a été suivi pour les expériences en laboratoire :

- des pots en plastique ont été utilisés afin de limiter les échanges de métaux entre la solution et le contenant ; chaque pot a été rempli par 200 mL de la solution à tester ; 10 individus ont été introduits dans chaque pot et chaque pot a été oxygéné à l'aide d'un aérateur ($8 \text{ mg L}^{-1} < \text{O}_2 < 9 \text{ mg L}^{-1}$) ;
- chaque concentration a été répliquée 6 fois ;
- l'ensemble des essais a été fait à une température de $16 \text{ }^\circ\text{C}$ et à l'obscurité ;
- le taux de locomotion a été mesuré aux jours 3 et 6
- pour l'ensemble des manipulations les 4 concentrations d'effluents testées ont été diluées de façon à avoir les mêmes DCO (50, 100, 200 et

400 mg_{O2} L⁻¹) pour chacune des manipulations et ainsi s'affranchir de ce paramètre ;

- l'eau a été changée au 3^{ème} jour du test et les individus morts étaient retirés 2 fois par jour.

2.4. Expériences *in situ*

Les expérimentations *in situ* ont demandé la conception et la fabrication d'un système d'encagement des gammares. Ce système devait répondre à plusieurs impératifs pratiques :

- se maintenir au fond d'une rivière à fort débit ;
- être évolutif (utilisation en profondeur, en surface, en ruisseau, etc.) ;
- être simple d'utilisation ;
- être utilisable pour plusieurs mesures au cours d'une même campagne ;
- permettre la réplication des manipulations.

Chaque cage est constituée d'un tube PVC de 50 mm de diamètre et de 150 mm de long muni d'un bouchon grillagé à ses extrémités. Ainsi, le renouvellement de l'eau est assuré à l'intérieur de la cage. Une plateforme de repos plantée de touffes de fils en plastique imitant des bryophytes a été ajoutée dans la cage. Elle doit permettre le repos des gammares et diminuer leur stress et ainsi éviter la surmortalité. Chaque gammare dispose d'un volume utile de 25 mL. Chaque support comporte 6 cages. L'ensemble cage+support sera nommé « dispositif de mesure » par la suite (Figure 3.6). Nous nous sommes fixés un seuil de 80 % de survie dans les cages amont pour la validation de l'essai comme dans la plupart des tests normalisés.



Figure 3.6 : Photos des cages à Gammares sur leur support

Les dispositifs de mesures ont été disposés de part et d'autre du rejet de la papeterie du Doubs dans la zone de dilution de l'effluent (Figure 3.7). Nous avons placé deux dispositifs en aval (à 10 m et 100 m) et deux dispositifs en amont (à 10 m et 100m), de cette

façon il est possible de vérifier l'homogénéité ou l'hétérogénéité au niveau de l'amont ou de l'aval. Chaque dispositif constitue un amont ou un aval proche ou immédiat. Il n'a pas été possible de réaliser un aval plus lointain (1000 m) à cause de la présence des rejets de la station d'épuration de la commune de Novillars (25).

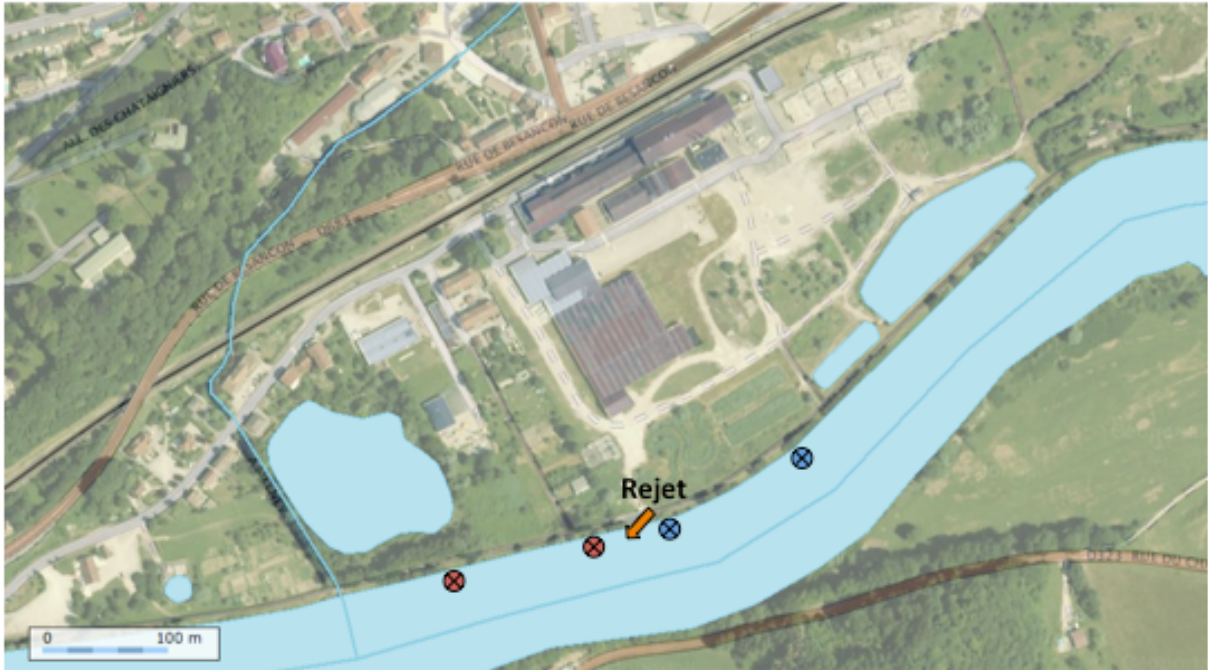


Figure 3.7 : Disposition des dispositifs de mesure en amont (bleu) et en aval (rouge) du rejet de la papeterie du Doubs (Novillars, 25). Image *geoportail.fr*

2.5. Mesure de la concentration interne d'aluminium chez *G. pulex*

La concentration interne d'aluminium a été mesurée, après minéralisation des échantillons, par spectrométrie d'absorption atomique en four. La biomasse d'un seul individu étant insuffisante pour pratiquer une mesure, la population d'un réplicat, soit 10 individus, a été minéralisée. La minéralisation est faite en présence de HNO₃ 65% et H₂O₂ 25%, à une température de 70 °C pendant 24 h.

Chapitre 2 : Étude de l'impact environnemental des procédés conventionnels de décontamination

L'étude présentée dans ce chapitre a pour objectif d'apporter des données et des informations relatives à l'écotoxicités des effluents traités par les procédés conventionnels de traitement utilisant du PAC et relatives à l'écotoxicité des sels d'aluminium. Elle a également pour objet de vérifier que le gain chimique (abattement de DCO, de métaux, de turbidité, etc.) observé précédemment se traduit bien par un gain environnemental dans les tests en laboratoire et *in situ*.

1. Résultats des expériences en laboratoire

1.1. Écotoxicité du nitrate d'aluminium

L'effet d'une solution de nitrate d'aluminium sur le taux de survie a été étudié. Des solutions tests ont été préparées avec une solution mère de nitrate d'aluminium (10 mg L^{-1}). Celle-ci a été diluée dans de l'eau de VolvicTM pour fabriquer 5 solutions tests tamponnées (0, 200, 400, 800, $1600 \mu\text{g}_{\text{Al}} \text{ L}^{-1}$).

1.1.1. Effets sur le taux de survie

Le taux de survie moyen (Tableau 3.1) après 3 jours d'exposition diminue significativement (test t, $p = 5,10 \cdot 10^{-3}$) avec l'augmentation de la concentration en aluminium. Il passe respectivement de 100 % à 82 % pour C_0 et C_{1600} . Après 6 jours d'exposition le taux

de survie moyen diminue respectivement de 95 % à 57 % pour C_0 et C_{1600} (test t, $p = 7,84 \cdot 10^{-7}$).

Tableau 3.1 : Variations du taux moyens de survie en fonction de la concentration de nitrate d'aluminium (6 réplicats de 10 *Gammarus pulex* après 3 et 6 jours d'exposition).

[Al] _{solution} ($\mu\text{g L}^{-1}$)	J3		J6	
	moyenne	écart type	moyenne	écart type
0	100	0	95	5,5
200	98,3	4,1	96,7	5,2
400	100	0	95	8,4
800	93,3	8,2	80,0	6,3
1600	81,7	11,8	56,7	21,6

1.1.2. Effets sur le taux de locomotion

L'augmentation de la concentration en aluminium induit une inhibition du taux de locomotion (Figure 3.8). Après 3 jours d'exposition, il diminue significativement ($p = 0$), passant d'une valeur moyenne respectivement de $5,3 \text{ min}^{-1}$ à $1,5 \text{ min}^{-1}$ pour C_0 et C_{1600} . Après 6 jours d'exposition ($p = 0$) il diminue respectivement de $4,3 \text{ min}^{-1}$ à $1,7 \text{ min}^{-1}$ pour C_0 et C_{1600} . Les distributions à J3 et J6 ne sont pas significativement différentes, la durée de l'exposition ne modifie donc pas l'amplitude de la réponse.

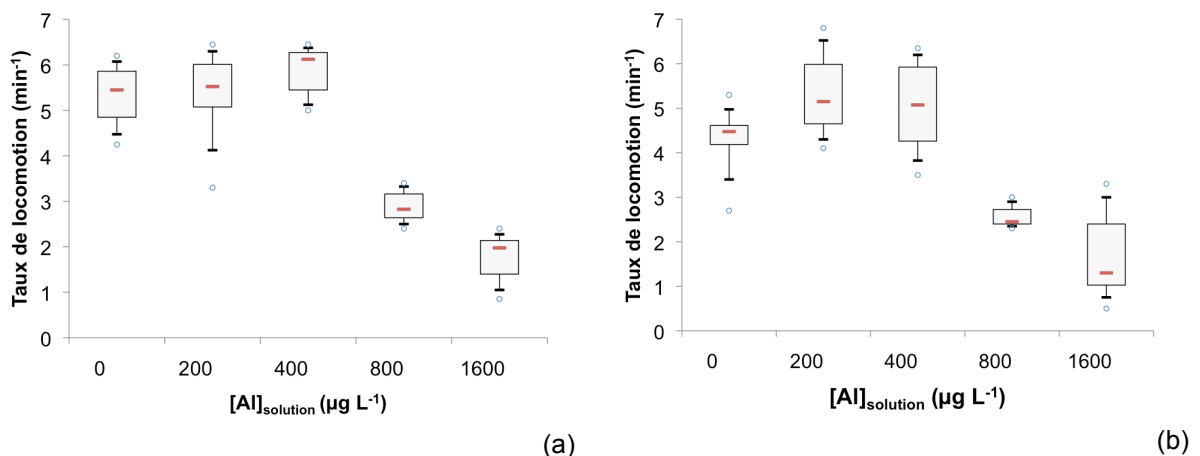


Figure 3.8 : Boxplots du taux de locomotion de *Gammarus pulex* mesuré dans chaque réplicat en fonction de la concentration en nitrate d'aluminium (a : jour 3, b : jour 6).

1.1.3. Concentration interne d'aluminium chez *Gammarus pulex*

La concentration interne d'aluminium chez *G. pulex*, après 6 jours d'exposition, augmente avec l'augmentation de la concentration en aluminium des solutions testées (Figure 3.9). La concentration interne d'aluminium chez *G. pulex* est de $0,13 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ à C_0 et de $0,62 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ pour C_{1600} .

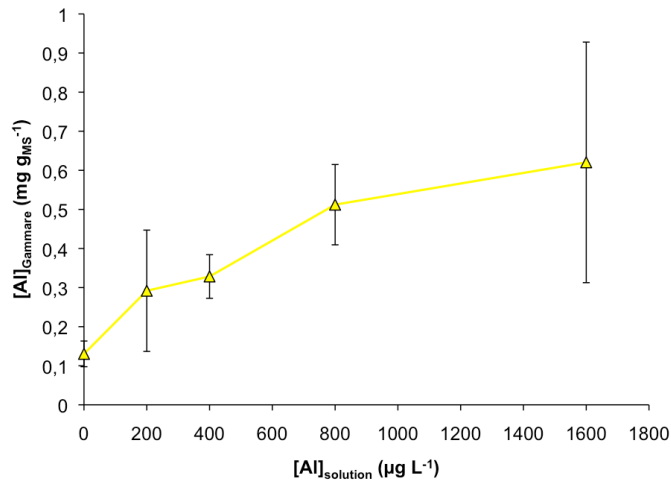


Figure 3.9 : Variations de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 6 jours d'exposition en fonction de la concentration externe de nitrate d'aluminium.

La Figure 3.10 montre les variations du facteur de bioaccumulation chez *G. pulex* (BioAccumulation Factor, BAF) en fonction de la teneur en aluminium des solutions tests. On peut considérer, d'une part, que *G. pulex* est accumulateur d'aluminium. D'autre part, il existe une relation inverse entre le BAF et la concentration en Al dans les solutions. Une telle évolution du BAF avait déjà été observée pour d'autres métaux (DeForest et al., 2007), cependant l'aluminium n'avait pas été mesuré. Cette évolution du BAF a été expliquée par les modèles toxicocinétiques et est due à un équilibre entre les flux entrants de métaux et les flux sortants de métaux (Kalman et al., 2010).

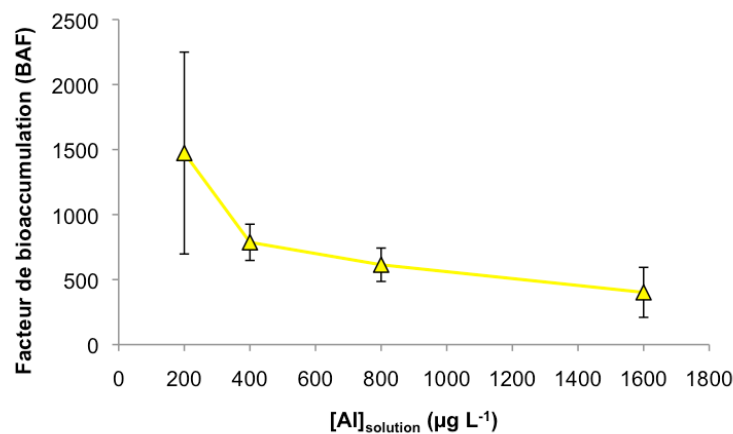


Figure 3.10 : Variations du facteur de bioaccumulation d'aluminium mesuré chez *Gammarus pulex* en fonction de la concentration externe de nitrate d'aluminium.

En réponse à une exposition à des concentrations croissantes de nitrate d'aluminium, le taux de locomotion de *G. pulex* diminue et la concentration tissulaire d'aluminium augmente. Ainsi on peut émettre l'hypothèse que plus la concentration interne d'aluminium

est élevée, plus le taux de locomotion est bas. Cette hypothèse est partiellement vérifiée à la Figure 3.11, où on observe une diminution significative ($p = 0,01$) du taux de locomotion en fonction de la concentration interne d'aluminium. Cependant, la faible corrélation ($r^2 = 0,20$) est peut-être due à l'utilisation d'une population sauvage génétiquement diversifiée qui seraient une cause de la variabilité observée ou d'autre facteur influençant la locomotion comme l'énergie pour s'épurer.

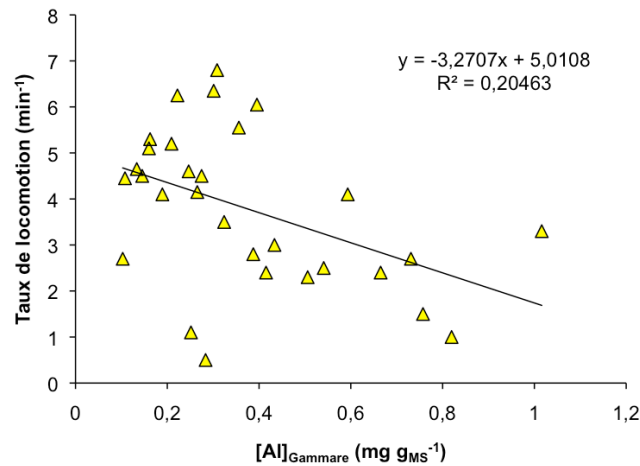


Figure 3.11 : Variations du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 6 jours d'exposition à une solution de nitrate d'aluminium de concentration différente.

Enfin, l'eau de Volvic ayant une concentration en aluminium proche de celle généralement observée dans les eaux de surface ($\sim 100 \mu\text{g L}^{-1}$; Kara et al., 2008). La concentration tissulaire d'aluminium observée chez ces gammares ($\sim 0,15 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$) sera considérée comme une valeur contrôle.

1.2. Effet de l'effluent biologique non traité

L'effet de l'effluent biologique (effluent sortant de la lagune aérée, SLA, Figure 2.6) non traité (sédimentation naturelle) a été mesuré en décembre ($T_{\text{lagune}} = 10 \text{ }^{\circ}\text{C}$) et en mars ($T_{\text{lagune}} = 13 \text{ }^{\circ}\text{C}$). Des solutions tests ont été préparées avec des effluents biologiques non traités. L'effluent a été dilué dans de l'eau de VolvicTM pour fabriquer 4 solutions tests avec des concentrations en effluent non traité de 1/32, 1/16, 1/8, 1/4 en décembre et de 1/24, 1/12, 1/6 et 1/3 en mars, correspondant respectivement à une DCO de 50, 100, 200 et 400 mg L^{-1} .

1.2.1. Réponses de *G. pulex* à une exposition à un effluent biologique non traité

L'effluent biologique non traité de décembre ou de mars n'a pas d'effet significatif sur le taux de survie (Tableau 3.2).

Tableau 3.2 : Variations du taux moyen de survie en fonction de la concentration en effluent biologique non traité (6 réplicats de 10 *Gammarus pulex* après 3 et 6 jours d'exposition).

Décembre	J3		J6	
	moyenne	écart type	moyenne	écart type
1/32	100	0	100	0
1/16	100	0	100	0
1/8	100	0	100	0
1/4	97	4	95	4
Mars	J3		J6	
	moyenne	écart type	moyenne	écart type
1/24	100	0	100	0
1/12	100	0	100	0
1/6	100	0	100	0
1/3	97	4	95	4

On observe, en décembre, que le taux de locomotion diminue lorsque l'effluent est plus concentré (Figure 3.12). Le taux de locomotion moyen passe de 7,6 min⁻¹ pour la plus faible concentration à 4,8 min⁻¹ pour la plus forte après 3 jours d'exposition et de 6,6 min⁻¹ à 4,9 min⁻¹ après 6 jours d'exposition. La diminution du taux de locomotion est significative ($p = 0$ et 7.10^{-4}), mais est plus marquée après 3 jours d'exposition ($r^2 = 0,82$) que 6 jours d'exposition ($r^2 = 0,41$). L'effluent non traité de décembre a un effet négatif sur le taux de locomotion de *G. pulex*. En mars cependant, l'inhibition du taux de locomotion n'est pas statistiquement significative (après 3 et 6 jours d'exposition $p = 0,097$ et $0,12$, $r^2 = 0,34$ et $0,12$ respectivement).

L'inhibition de l'activité locomotrice est plus élevée en décembre (-37 % à J3 et -26 % à J6) qu'en mars. Or, les concentrations d'effluent ont permis d'obtenir des DCO équivalentes entre les deux périodes de mesures mais comme la DCO est une mesure de la quantité de matière organique présente et non de sa composition, on peut conclure que les différences observées entre les deux périodes sont dues à la composition différente de l'effluent. Ainsi, l'effluent biologique produit pendant des périodes froides présente plus de contaminants (à DCO égale) qu'un effluent produit pendant de périodes où les températures sont plus douces. Dans la partie précédente, il a été montré que le fonctionnement biologique de la lagune était moins bon en période froide. Les résultats des tests écotoxicologiques autorisent à affirmer qu'à ce mauvais fonctionnement biologique correspond une augmentation de la toxicité de l'effluent.

Enfin, les taux de locomotion mesurés en mars sont inférieurs à ceux observés en décembre. Ceci peut être lié à la date de prélèvement des gammarès. En décembre la population est plus résistante (individu adulte) qu'en mars (individu jeune et/ou en reproduction ; Welton, 1979 ; Geffard et al., 2007).

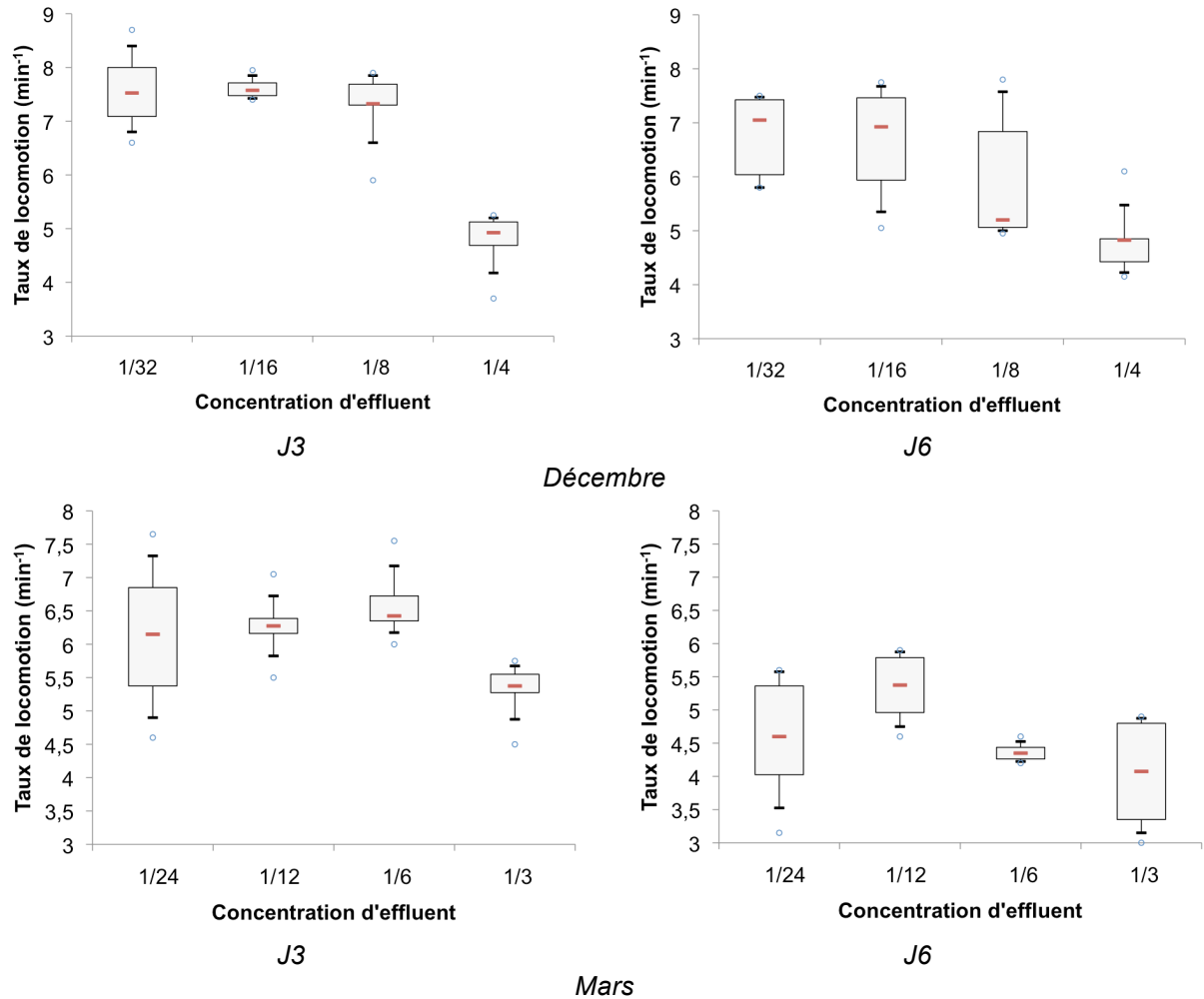


Figure 3.12 : *Boxplots* du taux de locomotion de *G. pulex* de chaque réplicat en fonction de la concentration en effluent biologique non traité prélevé en décembre ($T_{\text{lagune}} = 10\text{ °C}$) et en mars ($T_{\text{lagune}} = 13\text{ °C}$).

1.2.2. Concentration interne d'aluminium chez *G. pulex* après exposition à un effluent biologique non traité

On observe une augmentation de la concentration d'aluminium dans les tissus de *G. pulex*, après 6 jours d'exposition à des concentrations croissantes d'effluent biologique non traité (Figure 3.13). En décembre, la concentration d'aluminium chez *G. pulex* progresse de $0,17\text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ pour C_1 à $0,30\text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ pour C_4 . En mars, la concentration d'aluminium chez *G. pulex* augmente de $0,12\text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ pour C_1 à $0,21\text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ pour C_4 .

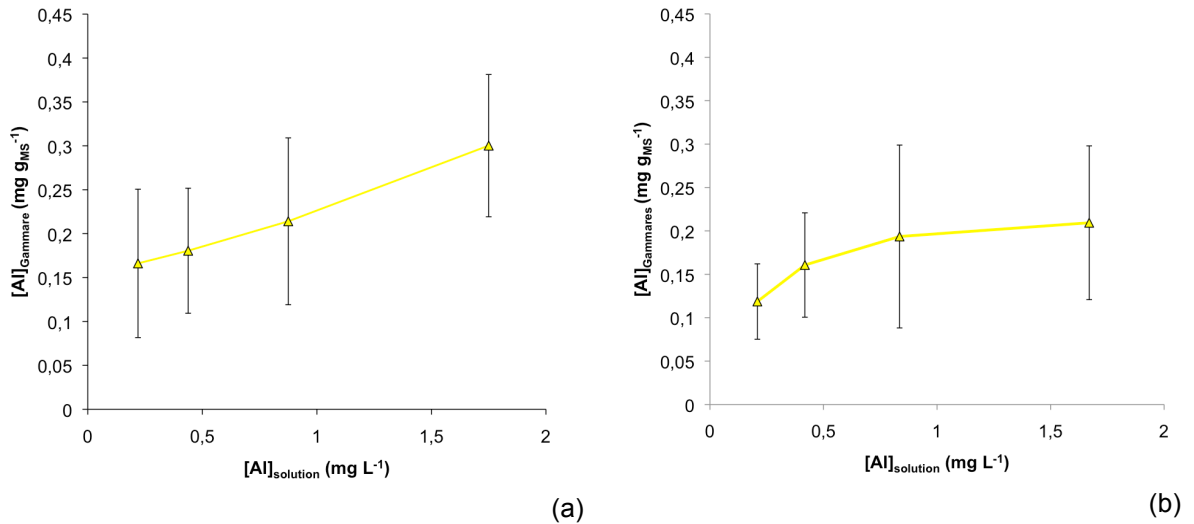


Figure 3.13 : Variations de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 6 jours d'exposition en fonction de la concentration externe d'aluminium dans l'effluent biologique non traité (a : décembre, b : mars).

Il n'existe pas de corrélation entre la concentration interne d'aluminium et le taux de locomotion lors d'une exposition à un effluent biologique non traité (décembre : $r^2 = 0,001$, $p = 0,87$, mars : $r^2 = 0,001$, $p = 0,82$, Figure 3.14). Ainsi, l'inhibition du taux de locomotion par l'effluent biologique non traité correspond probablement à la présence d'autres contaminants dans l'effluent.

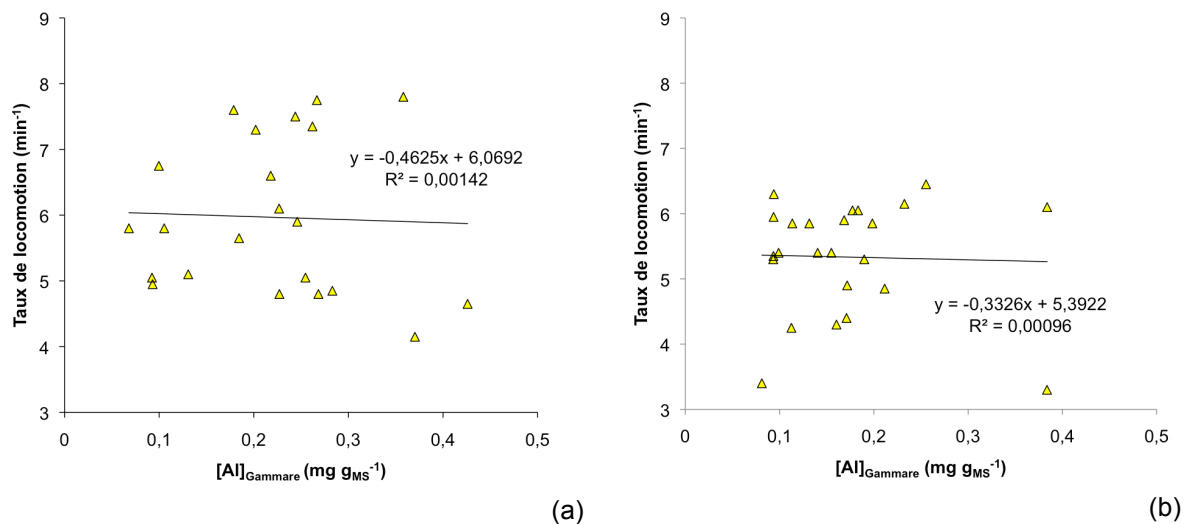


Figure 3.14 : Variation du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 6 jours d'exposition à effluent biologique non traité (a : décembre, b : mars).

2. Intérêt du traitement classique

2.1. Effet du traitement par PAC

2.1.1. Réponses de *G. pulex* à une exposition à un effluent de rejet

Les effets de l'effluent en fin de process de décontamination (effluent de rejet, SEE, Figure 2.6) sur *G. pulex* ont été mesurés. Des solutions tests ont été préparées avec cet effluent. Celui-ci a été dilué dans de l'eau de VolvicTM pour préparer 4 solutions tests avec des facteurs de dilution de 1/16, 1/8, 1/4 et 1/2, possédant un DCO de 50, 100, 200 et 400 mg L⁻¹ respectivement.

L'effluent de rejet n'a pas induit de mortalité significative sur la population de *G. pulex* exposé, que ce soit après 3 ou 6 jours d'exposition (Tableau 3.3).

Tableau 3.3 : Variations du taux moyens de survie en fonction de la concentration en effluent de rejet (6 réplicats de 10 *Gammarus pulex* après 3 et 6 jours d'exposition).

Concentration	J3		J6	
	moyenne	écart type	moyenne	écart type
1/32	100	0	100	0
1/16	100	0	100	0
1/8	95	5,5	92	7,5
1/4	100	0	100	0

Le taux de locomotion est inhibé en réponse à des concentrations croissantes d'effluent de rejet (Figure 3.15). Le taux de locomotion moyen passe de 6,3 min⁻¹ pour la plus faible concentration à 4,0 min⁻¹ pour la plus forte concentration après 3 jours d'exposition et de 5,9 min⁻¹ pour la faible concentration à 3,6 min⁻¹ pour la plus forte concentration après 6 jours d'exposition. L'effet négatif de l'effluent de rejet est significatif ($p = 0$ et $5 \cdot 10^{-4}$, $r^2 = 0,69$ et $0,73$ après respectivement 3 et 6 d'exposition). Les distributions à J3 et J6 ne sont pas différentes, il n'y a donc pas d'effet lié au temps d'exposition.

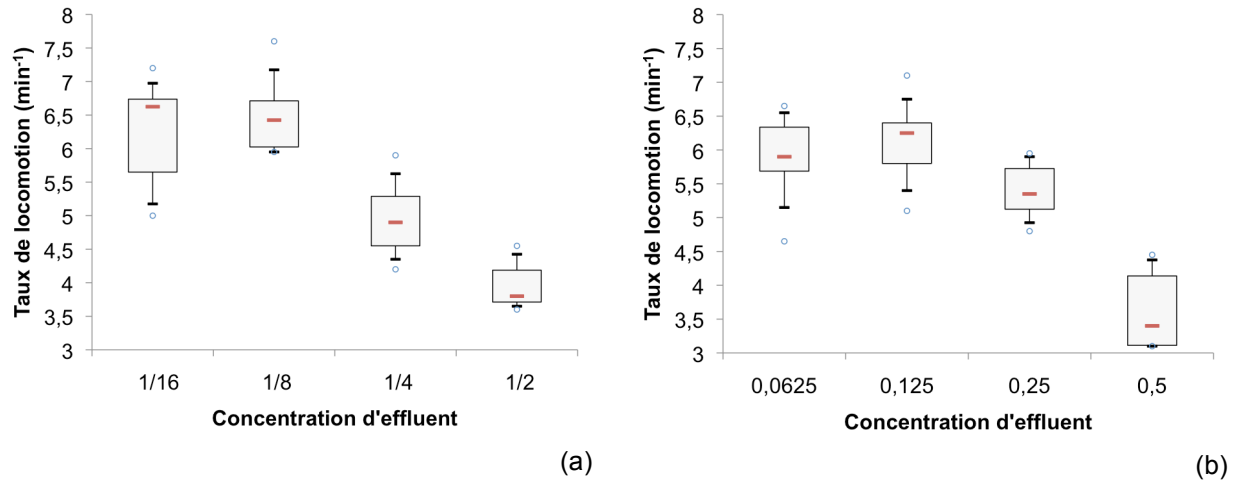


Figure 3.15 : Boxplots du taux de locomotion de chaque réplicat en fonction de la concentration en effluent de rejet (a : jour 3, b : jour 6).

L'augmentation de la concentration de l'effluent de rejet induit une augmentation de la concentration interne d'aluminium chez *G. pulex*. La concentration tissulaire passe respectivement de 0,15 à 0,54 mg g_{MS}⁻¹ pour C₅₀ et C₄₀₀ (Figure 3.16).

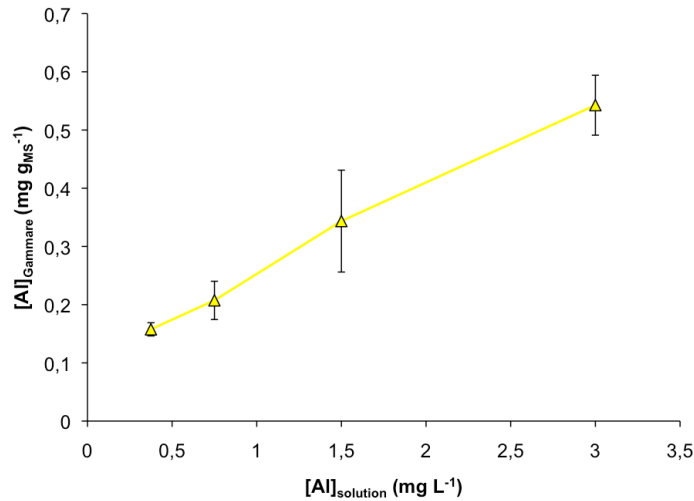


Figure 3.16 : Variations de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 6 jours d'exposition en fonction de la concentration externe d'aluminium dans l'effluent de rejet.

Le taux de locomotion diminue avec la concentration interne d'aluminium ($p = 0,001$, Figure 3.17). Il existe une corrélation importante entre le taux de locomotion et la concentration interne d'aluminium chez *G. pulex* ($r^2 = 0,64$). L'hypothèse d'un lien de causalité entre taux de locomotion et concentration interne d'aluminium peut être posée dans le cas de cet effluent.

Ainsi, alors que la présence d'aluminium dans l'effluent biologique non traité ne pouvait pas être mise en cause dans l'inhibition du taux de locomotion, il apparaît qu'après l'étape de floculation par PAC, l'aluminium a un rôle plus important dans la toxicité de l'effluent.

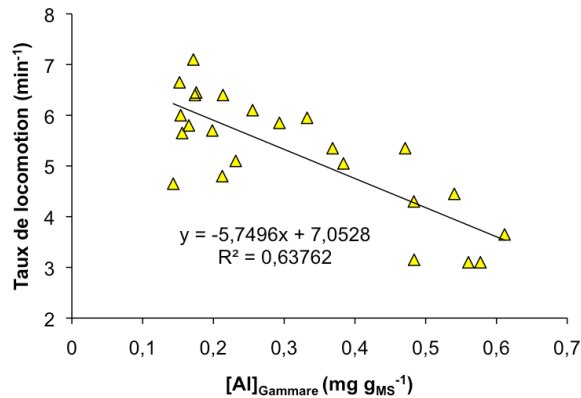


Figure 3.17 : Variation du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 6 jours d'exposition à effluent de rejet.

2.1.2. Effet du traitement par PAC en laboratoire

Les effets du traitement de l'effluent biologique (SLA, Figure 2.6) par PAC sur le taux de locomotion de *G. pulex* ont été mesurés. Des solutions tests ont été préparées avec un effluent biologique traité par PAC. Celui-ci a été dilué dans de l'eau de VolvicTM pour fabriquer 4 solutions tests de dilution de 1/24, 1/12, 1/6, 1/3 soit une de DCO 50, 100, 200, 400 mg L⁻¹ respectivement.

Le Tableau 3.4 présente les effets de l'exposition à un effluent biologique traité par PAC sur le taux de survie de *G. pulex*. Il n'y a pas d'effet significatif sur le taux de survie de *G. pulex*.

Tableau 3.4 : Variations du taux moyens de survie en fonction de la concentration en effluent biologique traité par le PAC (6 réplicats de 10 *Gammarus pulex* après 3 et 6 jours d'exposition).

Concentration	J3		J6	
	moyenne	écart type	moyenne	écart type
1/24	100	0	98	4
1/12	100	0	100	0
1/6	100	0	98	4
1/3	97	4	95	5

Le taux de locomotion diminue avec l'augmentation de la concentration en effluent traité par PAC (Figure 3.18). Le taux de locomotion moyen passe de 6,9 min⁻¹ pour la plus faible concentration à 5,0 min⁻¹ pour la plus forte et de 7,1 min⁻¹ pour la plus faible

concentration à $4,9 \text{ min}^{-1}$ pour la plus forte après, respectivement, 3 et 6 jours d'exposition. L'inhibition du taux de locomotion est relativement corrélée à l'augmentation de la concentration en effluent ($r^2 = 0,58$ et $0,65$ après 3 et 6 jours d'exposition respectivement) et l'inhibition est significative ($p = 0$). Les distributions à J3 et J6 ne sont pas différentes, le temps n'a donc pas d'effet.

Les réponses mesurées étaient similaires lors d'une exposition à l'effluent biologique non traité de la même période de prélèvement. Pour la plus forte concentration, on mesurait un taux de locomotion de $4,8$ et $4,9 \text{ min}^{-1}$ après respectivement 3 et 6 jours d'exposition.

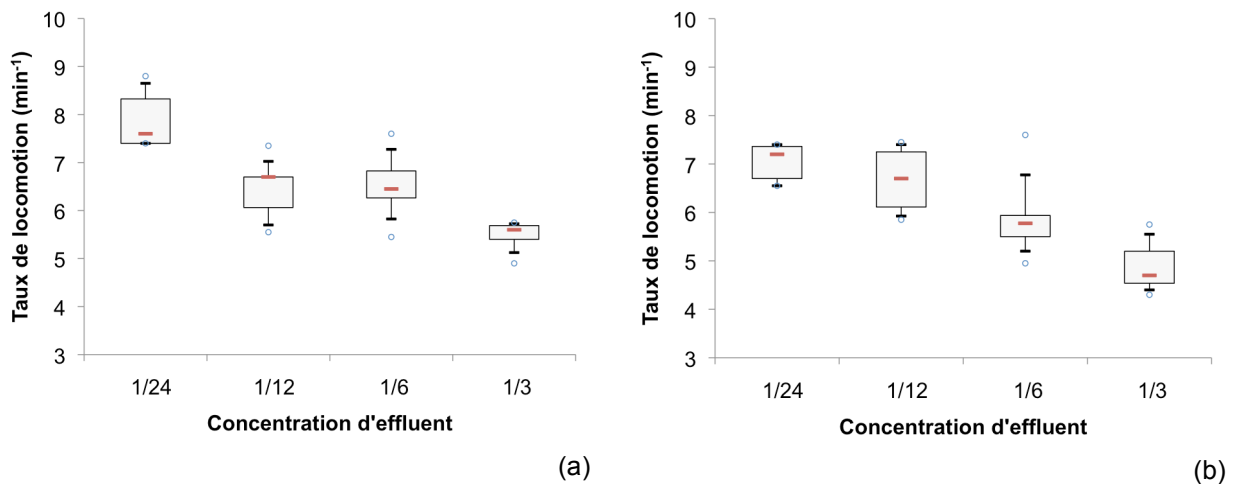


Figure 3.18 : Boxplots du taux de locomotion de *G. pulex* de chaque réplicat en fonction de la concentration en effluent biologique traité par PAC (a : jour 3, b : jour 6).

On observe (Figure 3.19) une augmentation de la concentration interne d'aluminium chez *G. pulex* lors d'une exposition à des concentrations croissantes d'effluent biologique traité par PAC. A C₁, la concentration interne d'aluminium est de $0,25 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ et de $0,79 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ à C₄. Or, la concentration interne d'aluminium est plus importante lors d'une exposition à un effluent biologique traité par PAC que lors d'une exposition à un non traité. On peut donc en déduire que l'exposition à un effluent traité par PAC induit une augmentation de la concentration interne d'aluminium chez *G. pulex*.

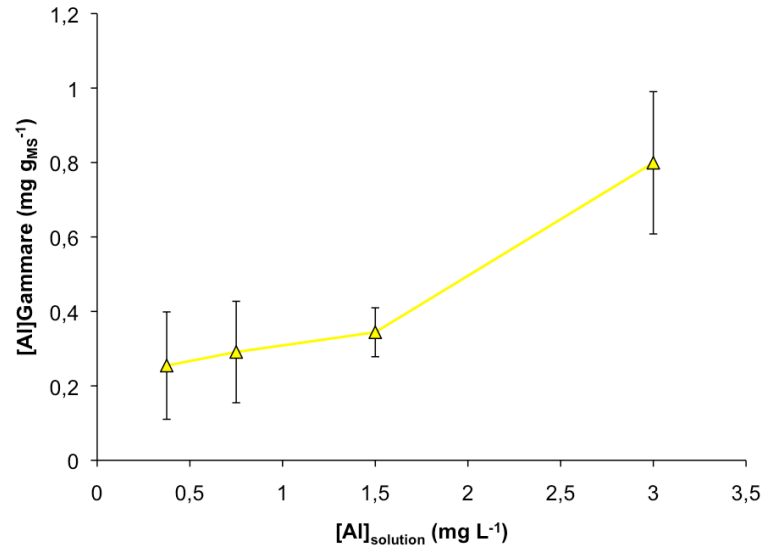


Figure 3.19 : Variations de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 6 jours d'exposition en fonction de la concentration externe d'aluminium dans l'effluent biologique traité par PAC.

On observe que le taux de locomotion diminue significativement lorsque la concentration interne d'aluminium chez *G. pulex* augmente ($p = 0,04$; Figure 3.20). Cependant la relativité de la corrélation ($r^2 = 0,38$) suggère l'implication d'autres contaminants dans l'inhibition du taux de locomotion. D'une part, l'effluent papetier est un mélange complexe, d'autre part, le PAC étant une formulation commerciale on peut penser qu'il existe des adjuvants ayant aussi un effet potentiellement négatif sur le taux de locomotion.

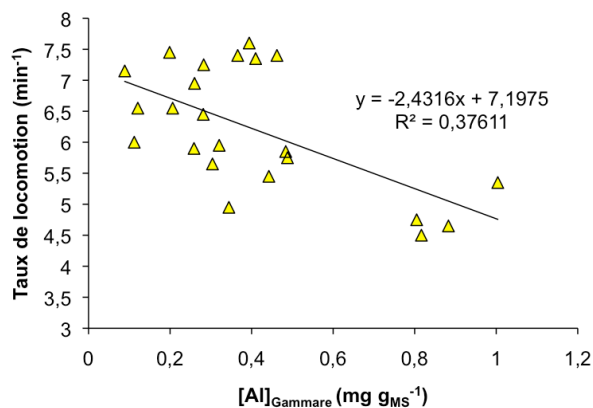


Figure 3.20 : Variations du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 6 jours d'exposition à l'effluent biologique traité par PAC.

2.2. Effets de l'effluent biologique enrichi en aluminium

L'effluent biologique (SLA, Figure 2.6) a été enrichi en nitrate d'aluminium afin d'observer les effets d'un ajout d'aluminium sous une forme libre sur la toxicité de l'effluent biologique. Des solutions tests ont été préparées avec un effluent biologique non traité enrichi en aluminium pour atteindre les concentrations obtenues lors d'un traitement par PAC (12 mg L^{-1}). Celui-ci a été dilué dans de l'eau de VolvicTM pour fabriquer 4 solutions tests de dilutions de 1/32, 1/16, 1/8 et 1/4 soit des DCO de 50, 100, 200, 400 mg L^{-1} respectivement.

Le Tableau 3.5 présente les effets de l'exposition à un effluent biologique non traité et enrichi en aluminium sur le taux de survie de *G. pulex*. On remarque qu'il y a un effet significatif sur le taux de survie de *G. pulex* ce qui n'était pas le cas lors d'une exposition à un effluent biologique traité par PAC.

Tableau 3.5 : Variations du taux moyens de survie en fonction de la concentration en effluent biologique non traité et enrichi en aluminium (6 réplicats de 10 *Gammarus pulex* après 3 et 6 jours d'exposition).

Dilution	J3		J6	
	moyenne	écart type	moyenne	écart type
1/32	100	0	100	0
1/16	100	0	100	0
1/8	95	5,5	88	10
1/4	65	14	63	15

Le taux de locomotion diminue avec l'augmentation de la concentration en effluent biologique non traité et enrichi en aluminium (Figure 3.21). Après 3 jours d'exposition, le taux de locomotion moyen varie de $5,3 \text{ min}^{-1}$ pour la plus faible concentration à $3,1 \text{ min}^{-1}$ pour la plus forte. Après 6 jours d'expositions, le taux de locomotion moyen varie de $4,5 \text{ min}^{-1}$ pour la plus faible concentration à $2,7 \text{ min}^{-1}$ pour la plus forte. Le taux de locomotion est significativement inhibé ($p = 1.10^{-4}$ et $7,6.10^{-3}$) avec l'augmentation des concentrations en effluent biologique enrichi en aluminium ($r^2 = 0,60$ et $0,63$ après 3 et 6 jours d'exposition). Les distributions à J3 et J6 ne sont pas différentes, il n'y a pas d'effet du temps.

L'inhibition du taux de locomotion est plus élevée lors d'une exposition à un effluent biologique non traité enrichi en aluminium que lors d'une exposition à un effluent biologique traité par PAC.

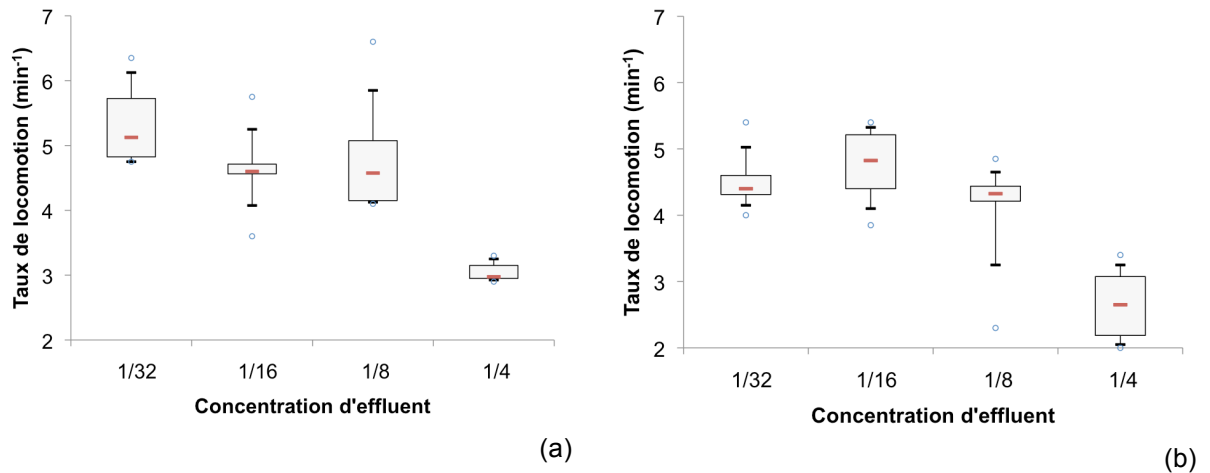


Figure 3.21 : Boxplots du taux de locomotion de *G. pulex* de chaque réplicat en fonction de la concentration en effluent biologique non traité enrichi en aluminium (a : jour 3, b : jour 6).

La concentration interne d'aluminium chez *G. pulex* après 6 jours d'exposition à un effluent biologique non traité, enrichi en aluminium, est présentée à la Figure 3.22. La concentration interne d'aluminium augmente avec l'augmentation des concentrations externes d'aluminium. La concentration interne est de $0,11 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ pour C_1 et de $0,42 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ pour C_4 .

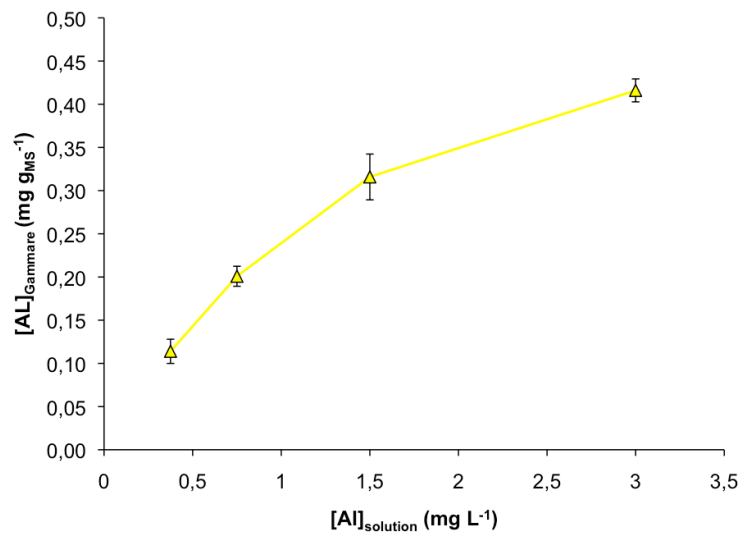


Figure 3.22 : Variations de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 6 jours d'exposition en fonction de la concentration externe d'aluminium dans l'effluent biologique non traité enrichi en aluminium.

On observe une diminution importante de la locomotion avec l'augmentation de la concentration interne d'aluminium de *G. pulex* ($p = 0,0001$). Dans ce cas, il existe une corrélation relativement importante entre l'accumulation d'aluminium et le taux de locomotion ($r^2 = 0,50$; Figure 3.23).

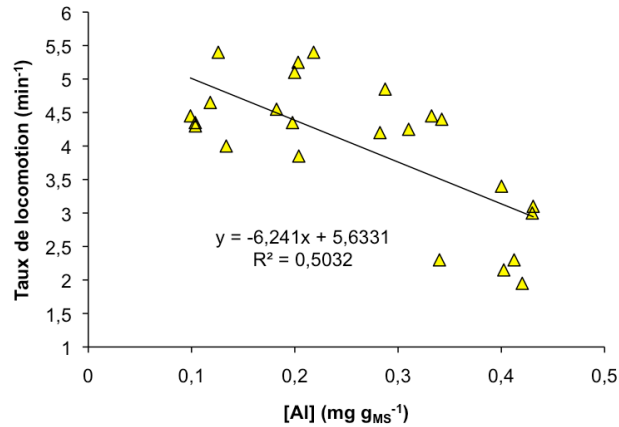


Figure 3.23 : Variations du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 6 jours d'exposition à effluent biologique non traité enrichi en aluminium.

Les effets différents observés entre une exposition à un effluent biologique non traité enrichi en aluminium par rapport à un effluent biologique traité par PAC sont les suivantes : mortalité plus importantes, taux de locomotion plus inhibé, concentration interne d'aluminium plus importante. Ces différences d'effet peuvent s'expliquer par une biodisponibilité plus importante de l'aluminium dans le cas d'un effluent enrichi. En effet, la forme préhydrolysée du PAC rend l'Al plus réactif avec la matière organique, ainsi l'Al est moins biodisponible.

3. Effets *in situ*

Les résultats en laboratoire indiquent un effet toxique de l'effluent. D'après les résultats obtenus, l'aluminium occupe une place importante parmi les polluants impliqués. Cependant, on peut s'interroger sur l'effet de l'effluent *in situ* étant donné l'importance du débit du milieu récepteur.

Pour la période de mesure (septembre 2009), le débit moyen de la rivière le Doubs était de $53 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$. A titre de comparaison le débit moyen du rejet de la papeterie du Doubs est de $35 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$ (10 L s^{-1}). Le facteur de dilution potentiel du rejet de la papeterie par le Doubs est d'environ 1/5300 pour la période de mesure.

Cependant, la dilution n'est pas immédiate. En effet, des colorations effectuées précédemment ont montré que la dilution du rejet se faisait selon une trainée à environ 10 m de la rive, et ce sur une centaine de mètres de long (Deforet, 2009).

Les espèces de la famille des Gammaridae ont été souvent utilisées lors d'essai écotoxicologique *in situ*. Cependant, peu d'études portent sur leur utilisation en bioindication active dans de grands cours d'eau (Tableau 3.6). Cette étude *in situ* constitue donc un essai original dans ce type de milieu.

Tableau 3.6 : Récapitulatif des différentes études ayant utilisé la famille des crustacés amphipodes dans des essais *in situ* en fonction des caractéristiques hydromorphologique des sites d'études.

Contaminants	Caractéristiques hydrologiques	Espèces	Références
Agriculture	Largeur : 1-2 m Profondeur : 0,1-0,5 m	<i>G. pulex</i>	Crane et al., 1995
Agriculture	Largeur : 2-6 m large Profondeur : 0,3-0,7 m Débit moyen 0,1-0,4 m ³ s ⁻¹	<i>Hyalella curvispina</i>	Jergentz et al., 2004
Agriculture Traitement du bois	Débit moyen 10-150 L s ⁻¹ Largeur : 1,5 m Profondeur : 0,02 m Débit moyen : 69 L s ⁻¹	<i>G. pulex</i> <i>G. pulex</i> <i>G. fossarum</i>	Schulz et Liess, 1999 Adam, 2008

3.1. Composition physicochimique des eaux du Doubs

Les eaux du Doubs prélevées au niveau des dispositifs de mesure ont été analysées (Tableau 3.7). Les paramètres physico-chimiques mesurés entre l'amont et l'aval ne sont pas significativement différents. La DCO est relativement faible, de l'ordre de 10 mg L⁻¹. La DBO quant à elle n'a pas pu être mesurée car elle était inférieure à la limite de détection des appareils. Le pH est neutre à tendance basique (fond calcaire). Les concentrations en métaux ne sont pas anormales, l'aluminium, notamment, est au niveau du fond géochimique (~ 0,1 mg L⁻¹). En revanche le Pb dépasse la Norme de Qualité Environnementale (NQE_{Pb} = 7,2 µg L⁻¹).

Tableau 3.7 : Composition physicochimique des eaux du Doubs prélevées après chaque mesure d'écotoxicité (4 mesures pour chaque station) au moment de la période d'étude (septembre 2009).

	Amont		Aval		Rejet de la papeterie pour la période
	Lointain	Proche	Proche	Lointain	
DCO (mg _{O2} L ⁻¹)	8,4	11,5	12,5	14,5	440
DBO (mg _{O2} L ⁻¹)	<Idd	<Idd	<Idd	<Idd	162
pH (20 °C)	7,9	8,1	8,1	8,1	8,2
Température de l'eau	14,8	15,1	15,2	15,1	15,8
Al (mg L ⁻¹)	0,11	0,10	0,06	0,09	4,7
Pb (µg L ⁻¹)	5,0	9,0	9,9	12,2	5,2
Zn (µg L ⁻¹)	<Idd	<Idd	<Idd	<Idd	21
Ni (µg L ⁻¹)	<Idd	<Idd	<Idd	<Idd	7,3

La seule interprétation des paramètres physicochimique de l'eau ne permet pas de mettre en évidence une modification de sa composition entre l'amont et l'aval et donc de

caractériser un éventuel effet écotoxique ou une modification néfaste des paramètres du milieu.

3.2. Effet des rejets de la papeterie du Doubs sur du taux de survie des individus engagés

La Figure 3.24 montre l'effet des rejets de la papeterie du Doubs sur le taux de survie des individus engagés. Les taux de survie amont sont toujours restés supérieur à 80 % ce qui était une limite de validité du protocole expérimental. Cependant, Il n'y a pas de différence significative entre les taux de survie amont et aval (Tableau 3.8) mais ils montrent tout de même une tendance à la diminution avec l'augmentation de la durée d'exposition.

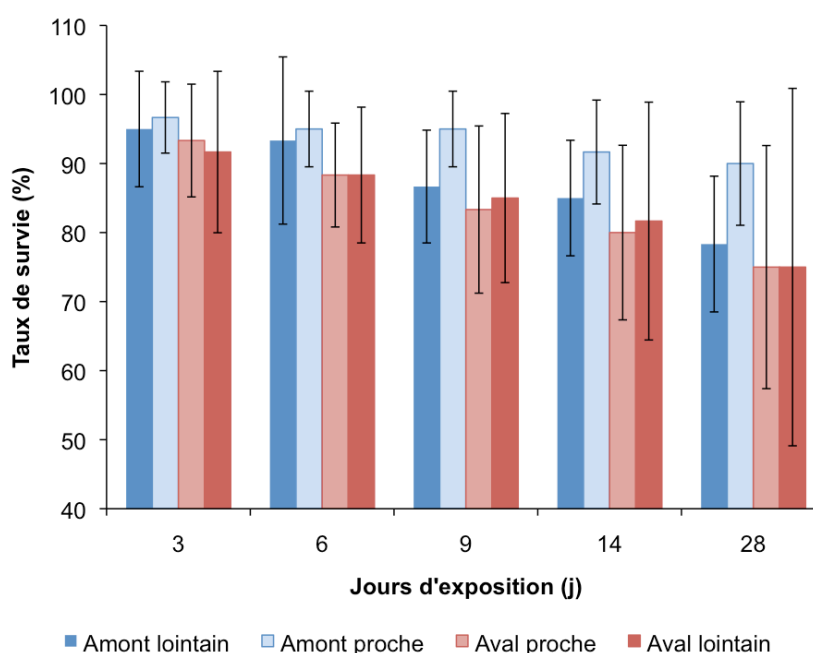


Figure 3.24 : Taux de survie moyen à l'amont et à l'aval du rejet de la papeterie du Doubs après 3, 6, 9, 14 et 28 jours d'exposition.

Bien que le taux de survie moyen de l'aval soit légèrement inférieur aux taux de survie moyen de l'amont, il n'existe pas de différence statistiquement significative (Tableau 3.8). En conclusion, le taux de survie n'est pas suffisamment sensible pour détecter une pollution aussi diluée que celle supposée être causée par la papeterie du Doubs.

Tableau 3.8 : Récapitulatif des valeurs de p obtenues en comparant les taux de survies amont et aval.

Jours d'exposition	3	6	9	14	28
Valeur de p	0,175	0,141	0,159	0,252	0,19

Les taux de survie et leurs variations nous renseignent sur deux points :

- 1) les organismes ont tendance à s'épuiser au cours de l'exposition ; en effet, l'absence de différence entre l'amont et l'aval élimine la possibilité d'une diminution due à une modification physicochimique des eaux ; la seule variable d'effet restante est donc la variable temps ;
- 2) le taux de survie n'est pas une réponse suffisamment sensible pour détecter une pollution aussi diluée que celle de la papeterie du Doubs.

3.3. Effet des rejets de la papeterie du Doubs sur le taux de locomotion des individus engagés

Le taux de locomotion à l'amont et l'aval du rejet de la papeterie du Doubs sont présentés à la Figure 3.25. Les taux de locomotion mesurés à l'amont proche et à l'amont lointain ne sont pas différents quelle que soit la durée de l'exposition.

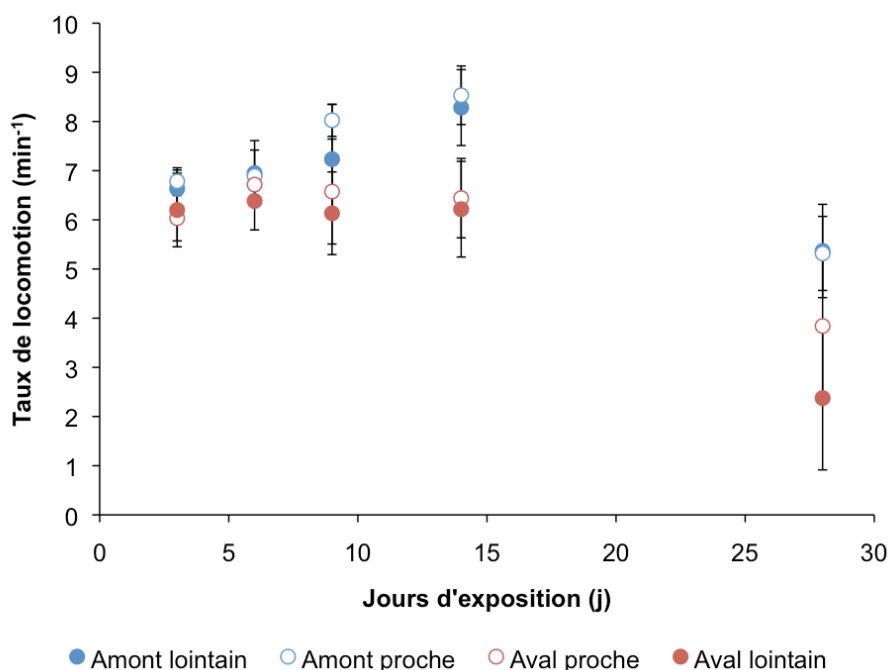


Figure 3.25 : Taux de locomotion moyen à l'amont et à l'aval du rejet de la papeterie du Doubs après 3, 6, 9, 14 et 28 jours d'exposition.

Le taux de locomotion à l'amont augmente du 3^{ème} au 14^{ème} jour d'exposition (de 6,7 min⁻¹ à 8,4 min⁻¹) puis chute à 5,3 min⁻¹ au 28^{ème} jour d'exposition. Le taux de locomotion à l'aval du rejet reste relativement stable du 3^{ème} au 14^{ème} jour d'exposition (de 6,1 min⁻¹ à 6,3 min⁻¹) puis chute aux 28^{ème} jour d'exposition à 3,1 min⁻¹.

Dès le 3^{ème} jour d'exposition le taux de locomotion à l'amont est significativement plus élevé qu'à l'aval (Tableau 3.9). Jusqu'au 14^{ème} jour, on observe une augmentation du taux de locomotion amont plutôt qu'une diminution du taux de locomotion aval. L'hypothèse d'un phénomène d'acclimatation a été retenue pour expliquer cette observation, en effet, les conditions du milieu (milieu eutrophe, eau dure) sont plus favorables pour les gammares que celles du laboratoire (milieu oligotrophe, eau douce) et peuvent ainsi avoir un effet positif sur le taux de locomotion. En revanche, à l'aval, malgré ces conditions favorables aucune augmentation du taux de locomotion n'a été observée.

Enfin, on assiste entre le 14^{ème} et le 28^{ème} jour d'exposition à une chute des taux de locomotion, aussi bien en amont qu'en aval consécutif à un évènement météorologique pluvieux. Cependant, l'inhibition relative du taux de locomotion aval est maintenue ($p = 3,2 \cdot 10^{-4}$). On en déduit que l'impact du rejet persiste pendant cette période de crue modérée.

Tableau 3.9 : Récapitulatif des valeurs de p obtenue en comparant les taux de locomotion entre amont et amont, aval et aval, et, amont et aval.

Jours	3	6	9	14	28
Amont vs Amont	0,46	0,87	0,13	0,54	0,92
Aval vs Aval	0,65	0,25	0,44	0,67	0,12
Amont vs Aval	$6,5 \cdot 10^{-3}$	$9,9 \cdot 10^{-2}$	$2,7 \cdot 10^{-3}$	$1,2 \cdot 10^{-6}$	$3,2 \cdot 10^{-4}$

Le taux de locomotion n'est pas significativement différent entre l'aval proche et l'aval lointain. On peut supposer que, sur la distance testée (100 m), l'effet de dilution n'était pas suffisant pour permettre une reprise de l'activité locomotrice de *G. pulex* (Figure 3.26).

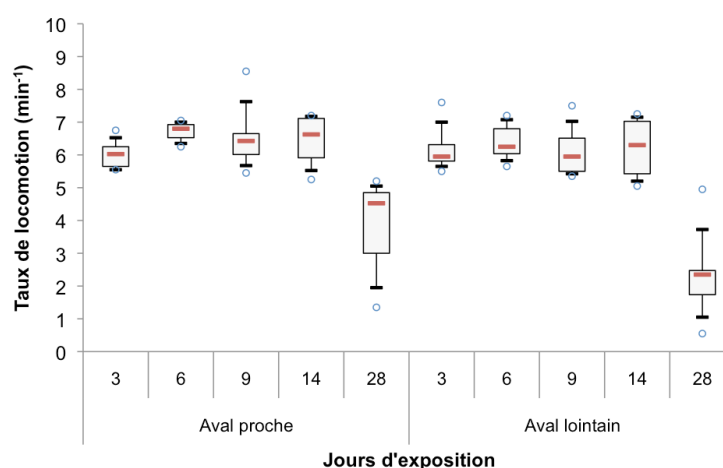


Figure 3.26 : Boxplots représentant les variations du taux de locomotions des cages de l'aval proche et de l'aval lointain.

Ce premier essai *in situ* dans une rivière à débit important, montre que le taux de locomotion est sensible à l'effet des rejets de la papeterie du Doubs dans le milieu. De plus, dans la méthodologie utilisée, l'organisme n'est pas en contact avec les sédiments et la

réponse n'est pas influencée par l'habitat naturel. Ainsi les valeurs mesurées ne sont que le reflet de la qualité de la masse d'eau, et non le reflet de la qualité habitacionnelle du milieu. Cependant, il reste à évaluer le temps nécessaire à l'acclimatation de *G. pulex*.

La Figure 3.27 présente le rapport des écarts types aval/amont. Aux 9^{ème} et 14^{ème} jours de mesure le rapport est de 1, ainsi la variabilité intrinsèque des populations de gammares engagées est la même entre l'amont et l'aval, ce qui laisse penser que ceci correspond à un temps d'acclimatation ou à la période optimale pour pratiquer les mesures de taux de locomotion.

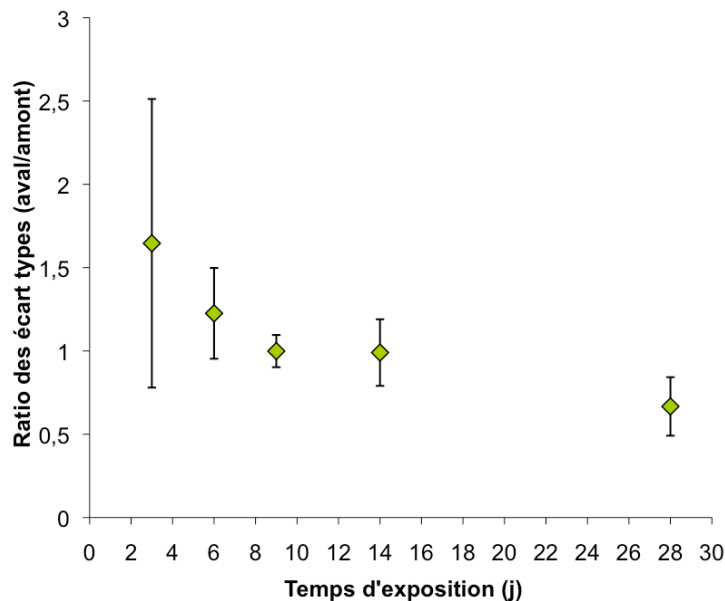


Figure 3.27 : Représentation graphique des variations du rapport des écarts types des cages aval et des cages amont.

3.4. Concentration interne d'aluminium chez les gammares engagés

La concentration interne d'aluminium a été mesurée et des valeurs moyennes ont été calculées pour chaque dispositif d'encagement. La Figure 3.28 présente les résultats de la concentration interne d'aluminium chez *G. pulex* après 28 jours d'exposition. On observe une forte concentration d'aluminium chez *G. pulex* à l'amont lointain ($1,1 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$) bien supérieure à celles observées dans les autres dispositifs d'encagement (de l'ordre de $0,8 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$). La concentration moyenne à l'amont proche ($0,73 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$) est légèrement inférieure à celle de l'aval proche ($0,85 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$) et de l'aval lointain ($0,77 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$). On observe également une tendance à la diminution de la concentration entre l'aval proche et l'aval

lointain. Cependant, les tests de comparaison multiple ne font pas apparaître de différences statistiquement significatives. En effet, le Doubs est une rivière très anthropisée où les sources de pollution à l'aluminium sont multiple (industrie, transport, assainissement, etc.)

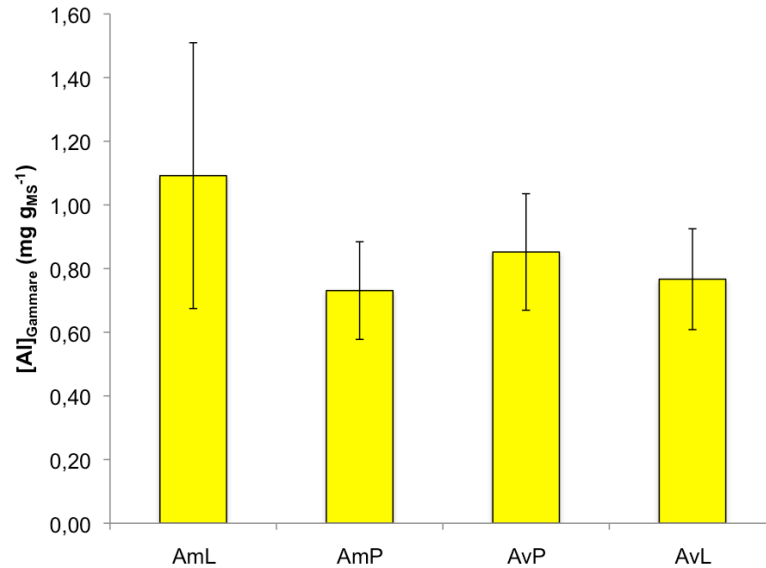


Figure 3.28 : Concentration interne d'aluminium chez *G. pulex* après 28 jours d'exposition en amont et en aval du rejet de la papeterie du Doubs.

La Figure 3.29 montre la concentration interne d'aluminium en fonction du taux de locomotion. Il n'existe pas de corrélation entre la concentration interne d'aluminium et le taux de locomotion ($r^2 = 0,03$). Le lien entre taux de locomotion et concentration interne d'aluminium n'a pas pu être démontré dans les conditions opératoires utilisées, bien que, les expériences de laboratoire aient montré un lien entre la concentration interne d'aluminium et le taux de locomotion de *G. pulex*. Dans les expériences *in situ*, l'effet de l'aluminium est peut être masqué par la complexité du mélange de polluant présent dans le rejet de la papeterie. De plus, il est difficile de mesurer les effets des multiples paramètres environnementaux inhérents aux études *in situ* (variation de température, apport sédimentaire, bioturbation, apport hydraulique, etc).

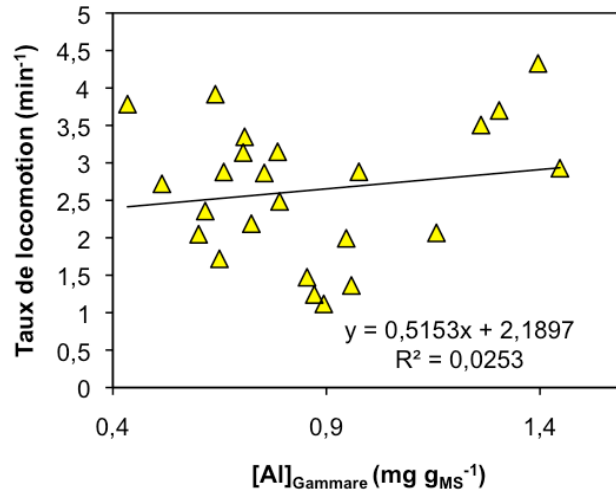


Figure 3.29 : Variations du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 28 jours d'exposition aux eaux de la rivière le Doubs.

Les rejets de la papeterie du Doubs n'affecte pas le taux de survie de *Gammarus pulex*. En revanche, l'augmentation de la concentration de ces effluents inhibe sa mobilité. Parallèlement, l'abattement de la DCO et de l'aluminium, qui constitue une amélioration chimique de la qualité du rejet, se traduit par un rétablissement partiel de sa mobilité. Par conséquent, la mesure du taux de locomotion de *Gammarus pulex* constitue un excellent test pour évaluer l'évolution de la toxicité des effluents de ce type.

Toutefois, la confrontation des résultats de ce test avec la mesure des concentrations internes d'aluminium n'a pas permis de mettre en évidence un lien fort entre ces deux paramètres. Cette absence de corrélation forte s'explique probablement par la complexité de la composition de l'effluent de la papeterie du Doubs. Certes, les deux composantes les plus concentrées de ce mélange sont la DCO et l'aluminium, mais il est probable que les autres contaminants ont également un rôle dans l'inhibition du taux de locomotion de *G. pulex*.

L'analyse du comportement de *G. pulex* a permis de mettre en évidence l'effet des pollutions chroniques multiples même diluées. De plus, le dispositif d'encagement qui a été proposé *in situ* permet de mieux cerner les altérations affectant la masse d'eau en s'affranchissant des différences de qualité habitacionnelle.

Chapitre 3 : Étude de l'impact environnemental du procédé innovant de décontamination

Les rejets de la papeterie du Doubs ont un impact négatif sur *G. pulex* même après traitement par les procédés conventionnels. Cet impact a été démontré au chapitre précédent à la fois en laboratoire et *in situ*. Les rejets induisent une diminution du taux de locomotion et une augmentation de la concentration interne d'aluminium.

L'alternative constituée par le chitosane est prometteuse du point de vue chimique. Il a été démontré que le chitosane procurait un gain chimique évident (Renault et al., 2009b). Cependant, il arrive qu'un gain chimique ne corresponde pas à un effet moindre sur les organismes (effet des sous-produits, apport de polluant non ciblé, etc.). C'est pourquoi, l'effet positif pour l'écosystème qui devrait découler du gain chimique doit être mis en évidence et quantifié.

Dans un premier temps, l'effet du traitement des effluents biologiques par du chitosane (CHITO) sur le taux de locomotion de *Gammarus pulex* sera étudié, puis ceux du traitement des rejets. Enfin, une comparaison, en termes d'impact environnemental, des trois types de traitement sera effectuée.

1. Intérêt de la biofloculation

1.1. Effets de l'effluent biologique traité par CHITO

Les effets de l'effluent biologique (SLA, Figure 2.6) traité par CHITO sur *G. pulex* ont été mesurés. Des solutions tests ont été préparées avec un effluent biologique traité par CHITO. Celui-ci a été dilué dans de l'eau de Volvic™ pour fabriquer 4 solutions tests de dilution de 1/12, 1/6, 1/3 et 2/3 soit des DCO égalent à 50, 100, 200, 400 mg L⁻¹.

1.1.1. Réponses de *G. pulex* à une exposition à un effluent biologique traité par CHITO

Le Tableau 3.10 présente l'effet d'un effluent biologique traité par CHITO sur le taux de survie de *G. pulex*. On remarque qu'il n'y a pas d'effet significatif de l'effluent biologique traité par CHITO sur le taux de survie de *G. pulex*.

Tableau 3.10: Variations du taux moyens de survie en fonction de la concentration en effluent biologique traité par le CHITO (6 réplicats de 10 *Gammarus pulex* après 3 et 6 jours d'exposition).

Dilution	J3		J6	
	moyenne	écart type	moyenne	écart type
50	100	0	98	4
100	100	0	98	0,7
200	100	0	100	0
400	100	0	98	4

On observe une diminution du taux de locomotion avec l'augmentation de la concentration en effluent (Figure 3.30). Après 3 jours d'exposition, le taux de locomotion moyen diminue de 7,8 min⁻¹ à 5,7 min⁻¹ respectivement pour la concentration la plus faible et la plus forte. Après 6 jours d'exposition, le taux de locomotion moyen diminue de 7,1 min⁻¹ à 5,4 min⁻¹ respectivement pour la concentration la plus faible et la plus forte. Les inhibitions du taux de locomotion sont significatives aux jours 3 et 6 ($p = 0,003$ et $0,0214$ respectivement). Les réponses mesurées le jour 3 sont légèrement supérieures à celles mesurées le jour 6 ce qui suggère un effet du temps du temps d'exposition.

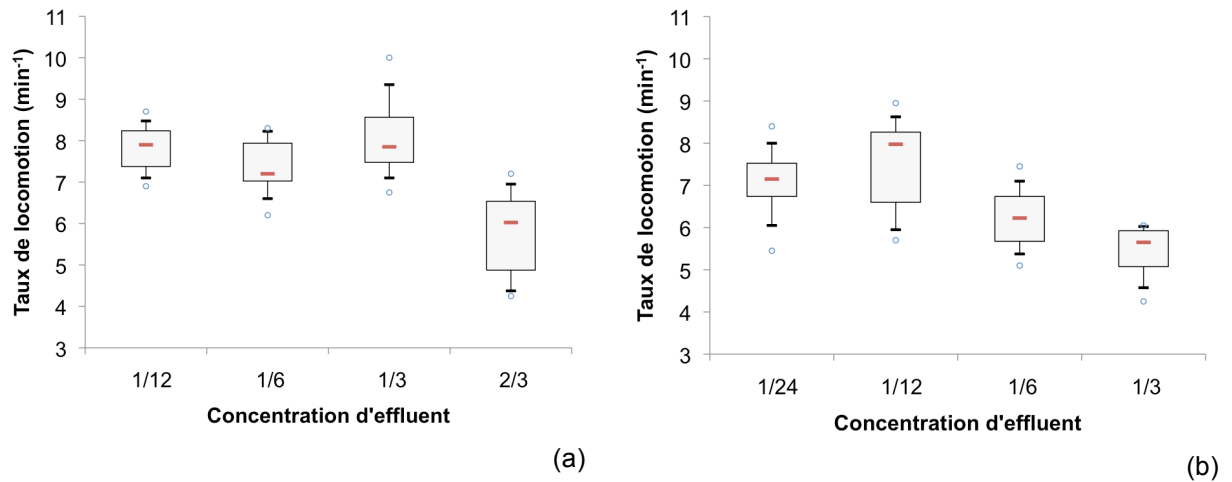


Figure 3.30 : Boxplots du taux de locomotion de *G. pulex* de chaque réplicat en fonction de la concentration en effluent biologique traité par CHITO (a : jour 3, b : jour 6).

1.1.2. Effet du traitement de l'effluent biologique par CHITO sur la concentration interne d'aluminium chez *G. pulex*

La concentration interne d'aluminium chez *G. pulex* augmente avec l'augmentation des concentrations en effluent (Figure 3.31). La concentration interne varie de $0,15 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ à $0,25 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ pour C_1 et C_4 respectivement. A titre de comparaison, l'effluent biologique non traité de la même période (décembre) observait des variations de $0,17 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ à $0,30 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ respectivement pour C_1 et C_4 . La concentration interne d'aluminium après une exposition à un effluent biologique traité par CHITO est légèrement inférieure à celle observée lors d'une exposition à un effluent biologique non traité.

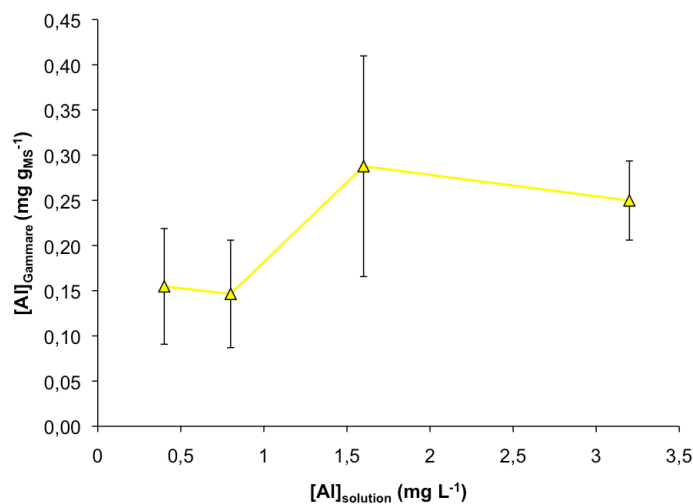


Figure 3.31 : Variations de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 6 jours d'exposition en fonction de la concentration externe d'aluminium dans l'effluent biologique traité par CHITO.

La Figure 3.32 montre que le taux de locomotion ne varie pas avec l'augmentation de la concentration interne d'aluminium chez *G. pulex* ($r^2 = 0,008$, $p = 0,25$), par conséquent, la seule concentration interne d'aluminium ne suffit pas à expliquer l'inhibition du taux de locomotion. La présence d'autres polluants pour expliquer l'inhibition induite par cet effluent est envisagée.

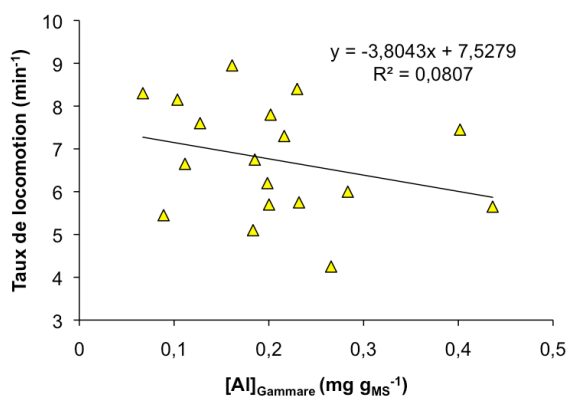


Figure 3.32 : Variations du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 6 jours d'exposition à un effluent biologique traité par CHITO.

1.2. Effets de l'effluent de rejet traité par CHITO

Les effets du traitement par CHITO de l'effluent de rejet (SEE, Figure 2.6) sur le taux de locomotion de *G. pulex* ont été mesurés. Des solutions tests ont été préparées avec un effluent de rejet traité par CHITO. Celui-ci a été dilué dans de l'eau de Volvic™ pour fabriquer 4 solutions tests des dilutions de 1/8, 1/4, 1/2 et 1 (soit une DCO de 50, 100, 200, 400 mg_{O2} L⁻¹).

1.2.1. Effet du traitement du rejet par CHITO sur le taux de locomotion de *G. pulex*

Le Tableau 3.11 présente les effets de l'exposition à un effluent de rejet traité par CHITO sur le taux de survie de *G. pulex*. Il n'y a pas d'effet significatif sur le taux de survie de *G. pulex*.

Tableau 3.11 : Variations du taux moyens de survie en fonction de la concentration en effluent de rejet traité le CHITO (6 réplicats de 10 *Gammarus pulex* après 3 et 6 jours d'exposition).

Dilution	J3		J6	
	moyenne	écart type	moyenne	écart type
1/8	100	0	97	5,2
1/4	100	0	100	0
1/2	100	0	100	0
1	95	5,5	90	8,9

Après 3 et 6 jours d'exposition, le taux de locomotion est stable quelque soit la concentration en effluent (Figure 3.33, $p = 0,18$ et $0,82$ respectivement pour le jour 3 et 6). Ainsi, l'effluent de rejet traité par CHITO n'a pas d'effet sur le taux de locomotion de *G. pulex*.

A titre de comparaison, l'effluent de rejet non traité diminuait significativement le taux de locomotion de *G. pulex*. Le traitement par CHITO du rejet diminue les effets écotoxiques de cet effluent.

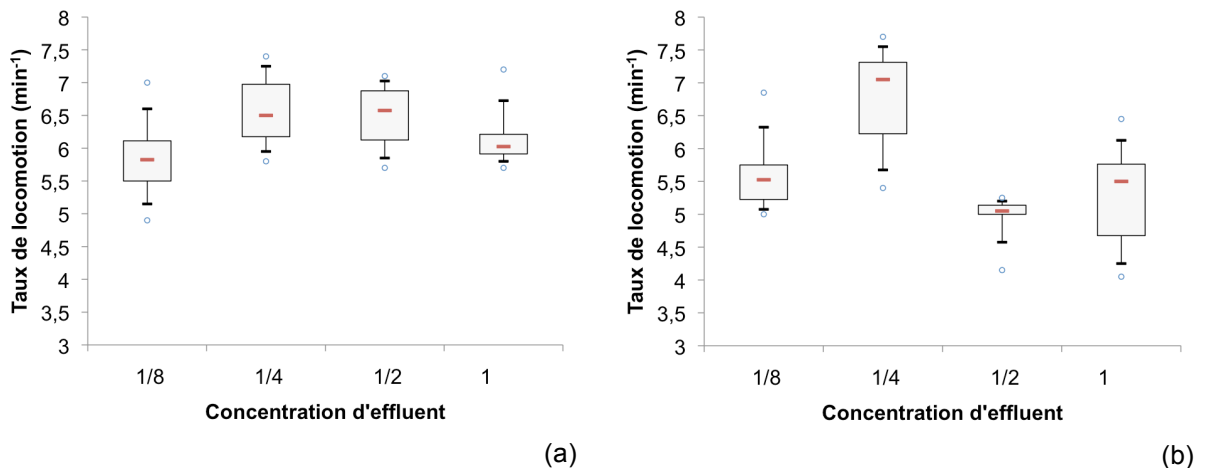


Figure 3.33 : Boxplot du taux de locomotion de chaque réplicat en fonction de la concentration en effluent de rejet traité par CHITO (a : jour 3, b : jour 6).

1.2.2. Effet du traitement du rejet par CHITO sur la concentration interne d'aluminium chez *G. pulex*

La concentration interne d'aluminium chez *G. pulex* augmente légèrement avec l'augmentation des concentrations en effluent (Figure 3.34). La concentration interne d'aluminium augmente entre C_1 et C_4 respectivement de $0,15 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ à $0,20 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$. En comparaison, la concentration interne d'aluminium chez *G. pulex* exposé à un effluent de rejet non traité passait de $0,15 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ à $0,54 \text{ mg g}_{\text{MS}}^{-1}$ entre C_1 et C_4 .

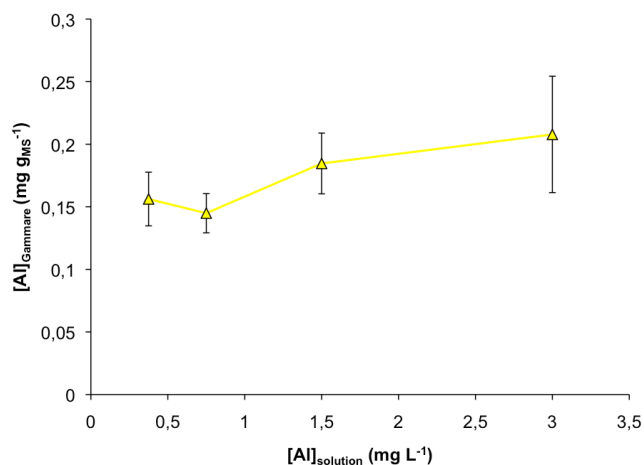


Figure 3.34 : Variations de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 6 jours d'exposition en fonction de la concentration externe d'aluminium dans un effluent de rejet traité par CHITO.

Le taux de locomotion diminue avec l'augmentation de la concentration interne d'aluminium (Figure 3.35). Il existe un lien relativement faible entre ces deux paramètres ($r^2 = 0,22$, $p = 0,02$).

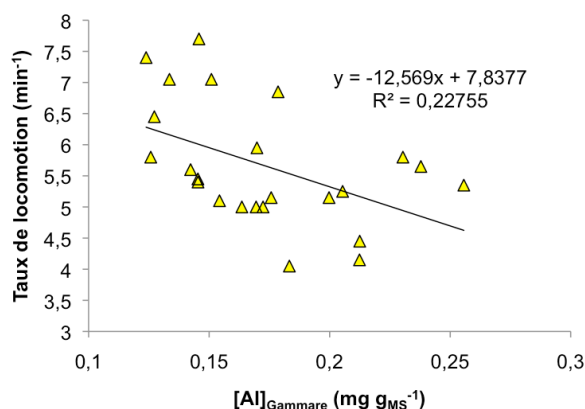


Figure 3.35 : Variations du taux de locomotion en fonction de la concentration d'aluminium dans les tissus de *Gammarus pulex* après 6 jours d'exposition à un effluent de rejet traité par CHITO..

2. Comparaison du procédé innovant aux procédés classiques de traitement

La comparaison du procédé de traitement par CHITO aux systèmes de décontamination conventionnel (PAC et décantation naturelle) est faite ici sur la base de l'effet sur le taux de locomotion et sur la concentration interne d'aluminium chez *Gammarus pulex*.

2.1. Traitement par le chitosane vs traitement par le PAC

Le Tableau 3.12 récapitule les différences d'effets entre un effluent biologique traité par PAC et un effluent biologique traité par CHITO. Après 3 jours d'exposition, les taux de locomotion moyens sont peu différents entre un traitement par PAC et un traitement par CHITO (à forte dilution, 5,0 et 5,7 min⁻¹ respectivement). En revanche, l'effluent biologique non traité fait apparaître un taux de locomotion moyen de 4,8 min⁻¹ à forte concentration. Les taux de locomotion à faible concentration sont quasiment identiques : 6,9, 7,8 et 7,6 min⁻¹ pour PAC, CHITO et non traité respectivement. Après 6 jours d'exposition, les différences sont un peu plus marquées à forte concentration entre PAC et Non traité par rapport à CHITO : 4,9, 4,8 et 5,7 min⁻¹ respectivement.

Dans tous les types de traitement la concentration en effluent diminue le taux de locomotion. Or, les dilutions ont été conçues pour obtenir des DCO équivalentes dans les solutions test des 3 traitements. On met donc en évidence un effet de la charge organique, représenté par la DCO.

Tableau 3.12 : Récapitulatif des performances environnementales des différents traitements.

	PAC	CHITO	Non traité
Taux de locomotion moyen à J3			
faible concentration	6,9	7,8	7,6
forte concentration	5,0	5,7	4,8
Taux de locomotion moyen à J6			
faible concentration	7,1	7,1	6,6
forte concentration	4,9	5,4	4,9

La Figure 3.36 représente l'effet de la concentration en effluents issus des 3 traitements testés sur le taux de locomotion de *G. pulex*. Le traitement par CHITO est celui qui a demandé la plus faible dilution pour atteindre les niveaux de DCO choisis (de 1/12 à 2/3). L'effluent traité par PAC et l'effluent non traité ont demandé, respectivement des dilutions de 1/24 à 1/3 et de 1/32 à 1/4 pour atteindre les niveaux de DCO choisis.

Après traitement par CHITO, le taux de locomotion atteint 5,7 min⁻¹ pour une concentration de 2/3 alors que le traitement par PAC entraîne une diminution à 5,0 min⁻¹ pour une concentration de 1/3 et l'absence de traitement de l'effluent biologique entraîne un taux de locomotion de 4,8 pour une concentration de 1/4.

Donc, le traitement de l'effluent par CHITO amène à un taux de locomotion supérieur pour une concentration plus forte que dans le cas d'un traitement par PAC ou de l'absence de traitement de l'effluent biologique. On peut donc en conclure que l'effluent biologique

traité par CHITO induit un effet moins important que lors d'un traitement par PAC ou une absence de traitement à concentration équivalente.

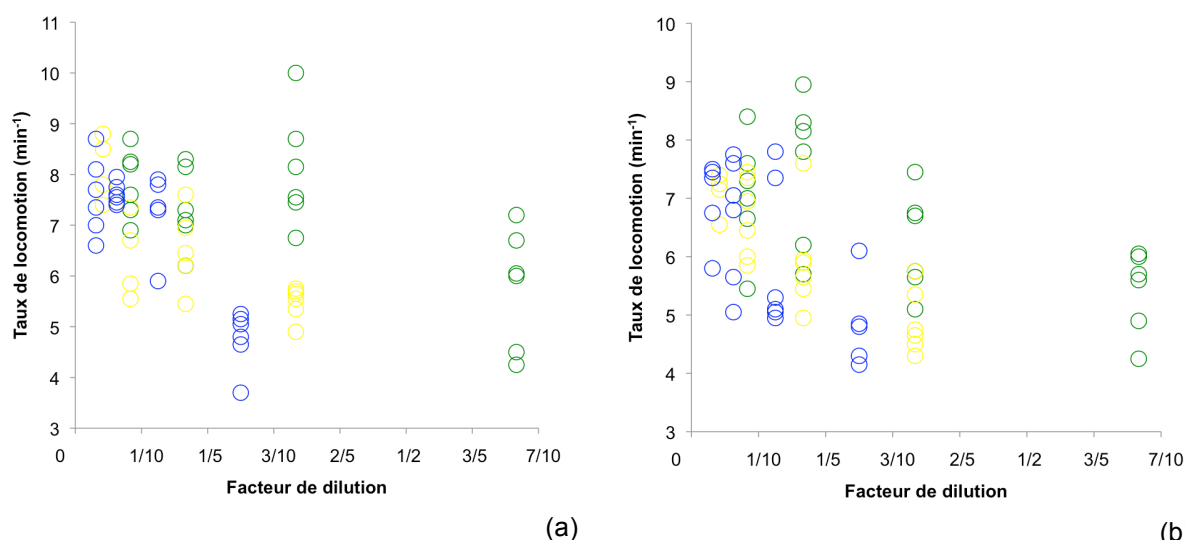


Figure 3.36 : Effets des 3 types de traitements sur le taux de locomotion de *G. pulex* en fonction de la concentration en effluent biologique traité après 3 (a) et 6 (b) jours d'exposition (○ : CHITO ○ : PAC ○ : Non traité)

2.2. Effets des traitements sur la concentration interne d'aluminium chez *G. pulex*

Le Tableau 3.13 récapitule les différences de concentration interne d'aluminium chez *Gammarus pulex* consécutives à une exposition à un effluent biologique non traité, traité par PAC et traité par CHITO. La concentration interne d'aluminium est nettement plus importante lors d'un traitement par PAC (de 0,25 à 0,74 mg g_{MS}⁻¹) que lors d'un traitement par CHITO (0,15 à 0,29 mg g_{MS}⁻¹) ou d'un non traité (0,17 à 0,30 mg g_{MS}⁻¹).

Tableau 3.13 : Récapitulatif des accumulations moyennes d'aluminium chez *Gammarus pulex* en fonction du traitement.

	PAC	CHITO	Non traité
Accumulation après 6 jours d'exposition			
Maximum	0,74	0,29	0,30
Minimum	0,25	0,15	0,17

Pour info, accumulation d'aluminium après 6 jours d'exposition à VolvicTM : 0,15 mg g_{MS}⁻¹

La concentration interne d'aluminium est significativement plus importante lors d'un traitement par PAC que lors d'un traitement par CHITO ou non traité (Figure 3.37). Par conséquent, du point de vue des risques de transfert dans les réseaux trophiques, la

meilleure façon de décontaminer les eaux est par CHITO ou par décantation naturelle car elle amène à des concentrations internes moins élevées que lors d'un traitement par PAC.

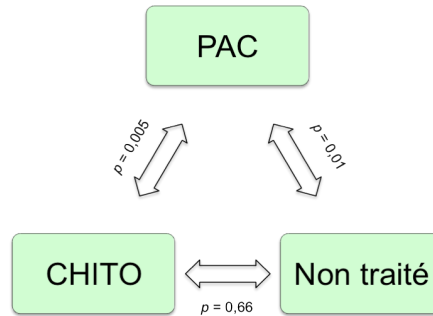


Figure 3.37 : Récapitulatif des valeurs de p concernant les différences de concentration interne d'aluminium chez *G. pulex* en fonction du traitement.

La Figure 3.38 montre l'évolution du facteur de bioaccumulation (BAF) pour les trois traitements utilisés sur l'effluent biologique. On observe tout d'abord que, le BAF est inversement proportionnel à la concentration d'exposition (plus le polluant est concentré moins le facteur de bioaccumulation est élevé), ce qui avait déjà été observé par DeForest et al. (2007) pour d'autres métaux. En effet, lorsque la concentration dépasse un certain niveau, un équilibre entre le flux de métal entrant dans l'organisme et le flux de métal sortant de l'organisme amène à une relative stabilisation de l'accumulation malgré l'augmentation de la concentration environnemental (Wang et Rainbow, 2008 ; Kalman et al., 2010).

La Figure 3.38 montre aussi un BAF plus élevé lors d'un traitement par PAC (de 678 à 266) que lors d'un traitement par CHITO (de 387 à 78) pour des concentrations en aluminium équivalentes. On peut en déduire que les formes d'aluminium présentent lors d'un traitement par PAC sont beaucoup plus biodisponibles que celle restant après un traitement par CHITO. En effet, le chitosane, contrairement au PAC, a la capacité de mettre en place des mécanismes de complexation des métaux les rendant ainsi moins biodisponibles.

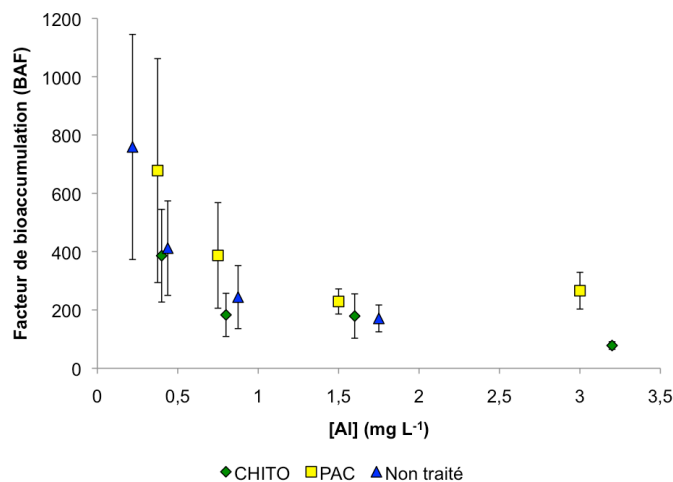


Figure 3.38 : Variations du facteur de bioaccumulation de l'aluminium chez *G. pulex* pour les différents types de traitement appliqués sur l'effluent biologique.

Le traitement par CHITO diminue l'écotoxicité de l'effluent en comparaison des autres types de traitement (PAC et sédimentation). L'avantage du CHITO tient en plusieurs points :

- 1) le taux de locomotion est moins inhibé ;
- 2) la concentration interne d'aluminium chez *G. pulex* est moins importante ;
- 3) le BAF de l'aluminium chez *G. pulex* est moins important.

L'avantage environnemental que procure le traitement par chitosane correspond au gain chimique : l'abattement de DCO est plus important et le chitosane complexe les métaux, notamment l'aluminium, les rendant ainsi moins biodisponibles.

Ces deux derniers points sont importants du point de vue écologique. En effet, la position de *G. pulex* à la base des chaînes alimentaires (détritivores) entraînera des phénomènes de bioamplification chez les prédateurs et les superprédateurs.

Discussion générale et perspectives

1. Discussion générale

1.1. Efficacité chimique

Le procédé de traitement des eaux usées actuellement utilisé à la papeterie du Doubs pour la décontamination des eaux est efficace bien que ses performances soient variables dans le temps. Nous avons démontré que cette variabilité chimique est essentiellement due à deux grands types de facteurs :

- 1) aux changements de production papetière : les qualités et quantités de papier produites ne sont pas continues dans le temps ce qui entraîne des variations de charge dans les eaux usées issues du process (Partie 2, Chapitre II.2) ; l'origine de ce type de variation a été confirmée par l'industriel dans le cadre de son autocontrôle et par les données publiées dans la littérature (Skrzydłowska et al., 2003 ; Abbasi et Abbassi, 2004) ;
- 2) aux rythmes saisonniers, et en particulier aux baisses de la température ; la baisse des températures a un effet négatif sur les réactions biochimiques de dégradation (Campbell et Reece, 1995) ; c'est d'ailleurs le paramètre le plus important dans la dégradation de la charge organique par les microorganismes (Partie 2, Chapitre II.4) ; les résultats obtenus sur le terrain confirment les observations faites en laboratoire par Escalas-Cañellas et al. (2008) ; de plus, l'efficacité du PAC diminue lorsque la température baisse, cette démonstration a été faite à la fois sur le terrain et en laboratoire (Partie 2, Chapitre II.4).

En outre, les produits à base d'aluminium comme le PAC ne peuvent pas être utilisés à leur optimum de laboratoire, pour des raisons économiques et environnementales. En effet, ces produits apportent une quantité relativement importante d'aluminium dans les eaux qu'ils

traitent (Partie 2, Chapitre III.1), et leur forte acidité entraîne une diminution importante du pH lorsqu'on augmente leur concentration (Partie 2, Chapitre III.1).

Nous avons clairement identifié le facteur température comme étant responsable des variations des abattements chimiques en charges organiques, colloïdales et particulaires. La solution technique souvent envisagée est d'agir sur les communautés microbiologiques présentes dans le traitement, par exemple par l'introduction d'activateurs biologiques pendant les périodes froides. Or, ces solutions sont complexes, difficiles à mettre en œuvre, et surtout coûteuses. De plus, les résultats ne sont pas garantis. Par ailleurs, un changement dans la qualité de la boue produite pourrait devenir incompatible avec la production de papier (Mahmood et Elliott, 2006 ; Salvetti et al., 2006). La solution chimique envisagée consiste alors à augmenter le PAC durant les périodes de basses températures. Néanmoins, nous avons démontré que, en périodes froides, le PAC présente trois inconvénients majeurs : (i) une efficacité altérée malgré sa concentration plus élevée, (ii) une diminution importante du pH et (iii) une augmentation des concentrations en aluminium susceptibles de se retrouver dans les eaux traitées.

En revanche, le procédé utilisant du chitosane pour décontaminer des eaux issues du traitement biologique est prometteur et répond aux questions posées précédemment (existe-t-il un produit plus adapté à la composition variable de la lagune ? comment faire flocculer un effluent à basse température ? etc.). Les avantages que nous avons mis en évidence lors de l'utilisation d'un bioproduit sont les suivants :

- la biofloculation est efficace chimiquement pour traiter des effluents « biologiques » d'origine industrielle : le chitosane en tant que biofloculant abat la DCO et la turbidité, diminue la concentration des métaux et décolore les eaux (Partie 1, chapitre II.2) ;
- le chitosane est connu pour ses interactions avec les polymères des parois bactériennes, ce qui en fait un biofloculant parfait pour la clarification des eaux issues de traitement biologique (Strand et al., 2002) ;
- le chitosane est peu sensible aux variations de température (Partie 2, Chapitre III.4) ;
- l'utilisation de chitosane n'a pas apporté de DCO, contrairement à ce qui avait été avancé par quelques études publiées dans la littérature ; en effet, ce dernier point ne fait habituellement pas l'objet d'études systématiques lors des recherches sur la biofloculation (Partie 1, chapitre II.2) ;

- le chitosane n'apporte pas d'aluminium dans les eaux, au contraire il interagit avec les métaux présents soit par des mécanismes de chélation (ou complexation) ou par de l'échange d'ions (ou interactions électrostatiques) en fonction du pH de la solution (Guibal et al., 2005 ; Partie 2, chapitre III.2).

En outre, le chitosane offre des marges de manœuvre plus importantes car l'augmentation de la concentration utilisée n'entraîne pas de variations de pH, de conductivité, ou de concentration de métaux. Le chitosane est donc un bioproduit très intéressant pour le traitement d'eaux contaminées dont la composition quantitative et qualitative varie en fonction de la saison.

Le procédé de biofloculation utilisant du chitosane est transférable à l'échelle industrielle (Partie 2, chapitre III.4) :

- l'efficacité du biofloculant a été démontrée dans les expériences en jar-test géant et notamment dans les études de décantabilité des boues ;
- le bioprocédé est opérationnel dans les systèmes de traitement possédant un clarificateur ;
- les résultats obtenus lors des essais semi-industriels étaient légèrement meilleurs sur site en comparaison de ceux obtenus en laboratoire, ce qui laisse supposer un gain plus important lors d'une éventuelle utilisation à plus grande échelle ; ce phénomène a été attribué à l'effet « volume ».

A notre connaissance, aucune donnée sur l'utilisation du chitosane pour traiter des eaux usées provenant de filières industrielles en tant que biocoagulant et/ou biofloculant à grande échelle n'est disponible dans la littérature. Nos essais ont permis de démontrer que le chitosane pourrait se comporter d'une façon satisfaisante dans des conditions industrielles. La facilité d'emploi et la qualité des eaux traitées sont telles que cette étape de biofloculation par CHITO peut sans difficulté s'intégrer dans les systèmes de traitement existants.

1.2. Intérêt environnemental

Les procédés conventionnels de décontamination (traitement par lagunage assisté par floculation PAC) produisent des effluents qui ne sont pas sans effet sur le milieu aquatique. Nous avons, en effet, constaté que :

- l'effluent rejeté (SEE) entraîne une diminution significative du taux de locomotion de *Gammarus pulex*, dans les conditions de laboratoire (Partie 3, chapitre II.2) ;
- l'effluent « biologique » non traité (SLA) entraîne une diminution significative du taux de locomotion de *Gammarus pulex* lorsque la température de la lagune est faible (10 °C) ; au contraire, lorsque la température est plus douce (13 °C), le taux de locomotion n'est pas affecté ; ce résultat est à relier à un meilleur fonctionnement biologique de la lagune (Campbell et Reece, 1995 ; Partie 3, chapitre II.1) ;
- l'utilisation du PAC pour décontaminer les eaux issues du traitement « biologique » n'a pas d'effet positif sur l'écotoxicité des effluent ; par ailleurs, la concentration interne d'aluminium chez les gammares est nettement plus élevée et la biodisponibilité de l'aluminium augmentée (Partie 3, chapitre II.2) ;
- les effets constatés dans les tests en laboratoire le sont également *in situ* ; des taux de locomotion plus élevés en amont par rapport à l'aval du rejet ont été mesurés (Partie 3, chapitre II.3).

Les eaux issues du recyclage de carton et de papier usagers sont moins écotoxiques que les eaux issues de l'écorçage et du broyage du bois (Asghar et al., 2008). L'écotoxicité des rejets de la papeterie du Doubs ne peut être attribuée ici à la seule matière organique à laquelle les gammares sont peu sensibles. Il existe une relation entre la concentration d'aluminium présente dans les tissus de *G. pulex* et le taux de locomotion : dans le cas du PAC, la concentration interne d'Al est en partie corrélée à une diminution du taux de locomotion chez *G. pulex* (Partie 3, chapitre II.2). La littérature indique par ailleurs que l'aluminium agirait sur les neurones et donc sur la transmission de l'influx nerveux (Sauvant et al., 2000). Néanmoins, cette corrélation relative, statistiquement significative mais limitée, implique d'autres contaminants dans les effluents papetiers dont la composition est complexe (Ali et Sreekrishnan, 2001 ; Skrzydlewska et al., 2003).

Enfin, malgré sa capacité à amener l'effluent en dessous des limites réglementaires (hors période froide), le PAC ne présente qu'un intérêt environnemental limité du fait de son écotoxicité intrinsèque.

L'utilisation du taux de locomotion de *G. pulex* en laboratoire a montré son intérêt dans le cas de contamination faiblement concentrée, diffuse ou chronique. Une approche bioindicatrice active via l'implantation de cages *in situ* permet de constater les effets du traitement sur le milieu aquatique indépendamment de l'effet de la diversité de l'habitat. En ce sens, elle est complémentaire des tests en laboratoire (Crane et al., 1995). Le dispositif étant standardisable, il autorise une comparaison plus facile des effets mesurés dans différents sites ou à diverses périodes. En outre, ces bioessais peuvent être réalisés dans des zones où les gammarès sont très peu abondants voire absents (les individus sont alors prélevés dans un autre site).

L'utilisation de chitosane pour bioflocculer des eaux entraîne une diminution de la toxicité des effluents :

- le taux de locomotion est moins inhibé lors d'un traitement CHITO que lors d'un traitement PAC alors que les solutions tests étaient plus concentrées en effluent du fait d'un abattement chimique plus important (Partie 3, chapitre III.1) ; un meilleur abattement chimique a un effet positif sur l'écotoxicité de l'effluent ;
- la bioaccumulation d'aluminium est nettement plus faible lors d'un traitement par CHITO ; en effet, la biofloculation n'apporte pas d'aluminium, au contraire elle complexe les métaux et les espèces chimiques présentes entraînant alors une biodisponibilité moindre (Partie 3, chapitres III.1 et III.2).

L'état de l'art que nous avons réalisé (Renault et al., 2009a) a montré que l'écotoxicité des eaux traitées par du chitosane est rarement testée dans la littérature, et ce point a également été soulevé par Rizzo et al. (2008a). En ce sens, cette étude a permis d'apporter des connaissances scientifiques sur l'impact de la biofloculation.

1.3. Impact environnemental

La littérature propose de nombreuses méthodes d'évaluation de l'impact environnemental. Les principales catégories d'évaluation sont répertoriés dans le Tableau 4.1 (Balkema et al., 2002 ; Renou et al., 2008 ; Zhang et al., 2010).

Tableau 4.1 : Catégories couramment utilisés dans l'évaluation de l'impact environnemental d'un système de traitement des eaux.

Catégories	Description des critères
Effets sur le milieu	DCO, DBO, MES Dystrophisation Métaux Composés organiques et minéraux Phénomène de transfert Acidification Toxicité Intégration dans les cycles naturels
Effet de serre	CO ₂ , SO ₂ , NO _x ...
Consommation de ressources	Matières premières Consommation de ressources non renouvelables Consommation d'énergie Réutilisation d'eau
Indicateurs techniques	Mise en place Maintenance Transport

Les effets sur le milieu ont été analysés par un couplage chimie/écotoxicologie. Les effets du traitement par du chitosane soluble, du PAC ou de l'absence de traitement sur le milieu sont récapitulés au Tableau 4.2. D'après nos résultats de laboratoire, le chitosane entraîne un abattement de 50 % de plus de DCO par an par rapport au PAC et de 73 % en ce qui concerne la turbidité. De plus, la charge métallique est réduite les ETM mesurés. Ainsi, on observe un abattement de 73 % de l'aluminium, de 54 % du plomb, de 37 % du zinc et de 15 % du nickel par rapport au traitement par PAC. L'abattement chimique mesuré correspond à un impact écotoxicologique plus faible. En effet, la réduction du taux de locomotion est moins importante avec un traitement biofloculant. De plus, la plus faible bioaccumulation mesurée lors d'un traitement par CHITO indique que l'aluminium est moins biodisponible que dans le cas d'une absence de traitement (phénomènes de complexation). Enfin, la décoloration des eaux observées après traitement CHITO indique également un effet positif du fait de la diminution des dérivés de type lignine (Ganjidoust et al., 1997). La

décontamination des eaux par du chitosane réduit donc l'impact potentiel des effluents sur le milieu aquatique.

Tableau 4.2 : Comparaison des principales caractéristiques des effluents papetiers avant et après traitement par le PAC et le chitosane.

Critère de la catégorie « Effet sur le milieu »	Non traité	Traité PAC	Traité CHITO
DCO (10^3 kg an ⁻¹)	330	228	112
Turbidité (moyenne annuel)	275	197	53
pH	Stable (~ 7,8)	Diminué (jusqu'à 5)	Stable (~7,8)
Aluminium (10^3 kg an ⁻¹)	4,1	9,0	2,4
Plomb (kg an ⁻¹)	2,1	0,54	0,34
Nickel (kg an ⁻¹)	2,3	2,0	1,7
Zinc (kg an ⁻¹)	7,3	4,8	3,7
Taux de locomotion	Réduit	Fortement réduit	Faiblement réduit
Concentration interne d'Al chez <i>G. pulex</i>	0,17-0,30	0,25-0,74	0,15-0,29
Facteur de bioaccumulation	171-759	266-678	78-387

Les autres catégories fournissent des informations plus globales sur l'intérêt de l'utilisation du chitosane (Tableau 4.3). Parmi les inconvénients relevés, on peut citer le transport depuis les zones de production (par exemple Inde ou Chine) qui peuvent être éloignées des zones d'utilisation (par exemple Europe), ou encore l'utilisation d'un coproduit issu d'une ressource surexploitée comme la crevette (Bhathal et Pauly, 2008). Le PAC présente le même type d'inconvénients (transport, extraction minière et activité polluante pour les sols ; Sharaai et al., 2010). De plus, le PAC présente un risque chimique lors de sa manipulation. Au contraire, le chitosane est non toxique et simple à manipuler.

Tableau 4.3 : Synthèse des catégories non mesurés par ce travail dans les autres catégories.

Catégories	CHITO	PAC
Consommation de ressources naturelles	Coproduit de la pêche Fungi Biosynthèse	Extraction minière Recyclage
Indicateurs techniques	Simple à manipuler Non corrosif Transport depuis les zones de production	Précaution d'emploi et de stockage Corrosif Transport depuis les zones de production

1.4. Viabilité économique potentielle

Le biofloculant chitosane est plus efficace et engendre moins de pollution par rapport aux autres modes de traitement étudiés. Cependant, les industriels et les établissements publics potentiellement utilisateurs sont tenus par des impératifs de maîtrise des coûts, de compétitivité et de rentabilité. Par conséquent, il importe de s'interroger sur la faisabilité économique d'un tel procédé de décontamination des eaux.

Pour évaluer la viabilité économique d'un tel procédé, le cas d'espèce de la Papeterie du Doubs a d'abord été abordé. Le Tableau 4.4 présente une estimation du coût de traitement par du chitosane lors d'une production à très petite échelle (niveau laboratoire), à la fois pour la concentration optimale définie lors des essais semi-industriels (soit 10 L m^{-3}) et pour la concentration permettant d'atteindre les limites réglementaires lors des essais semi-industriels (soit 2 L m^{-3}). Le coût du traitement est compris entre 2000 et 10000 € j^{-1} , alors que le coût d'un traitement par PAC est de 200-300 € j^{-1} . Malgré de très bons résultats en terme d'abattement chimique (bien en dessous des normes réglementaires notamment) qui se sont traduits par un gain environnemental, la biofloculation par du chitosane a un coût important. Néanmoins, lors du passage au niveau industriel, de plus gros volumes seront traités, ce qui pourrait permettre une diminution des concentrations à utiliser, et donc une diminution des prix.

Tableau 4.4 : Estimation du coût de traitement par du chitosane soluble des effluents de la papeterie du Doubs, pour la concentration optimum et la concentration permettant d'atteindre les limites réglementaires (prix d'achat laboratoire chitosane : 17 € Kg^{-1} , acide acétique $4,5 \text{ € L}^{-1}$).

Matières premières	Optimum (10 L m^{-3})	Limites réglementaires (2 L m^{-3})
Coût horaire	$417,5 \text{ € h}^{-1}$	$83,5 \text{ € h}^{-1}$
Coût journalier	10020 € j^{-1}	2004 € j^{-1}

1 L de chitosane 3 % (m/v) coûte 0,83 €

Actuellement, le chitosane est principalement vendu pour des secteurs à forte valeur ajoutée (biomédical) ou à des particuliers (traitement des piscines). Par conséquent, ces secteurs achètent des quantités faibles mais à des prix élevés. Or, si la production était orientée vers le traitement des eaux industriels, la consommation plus importante pourrait entraîner une baisse du prix du chitosane (Figure 4.1).

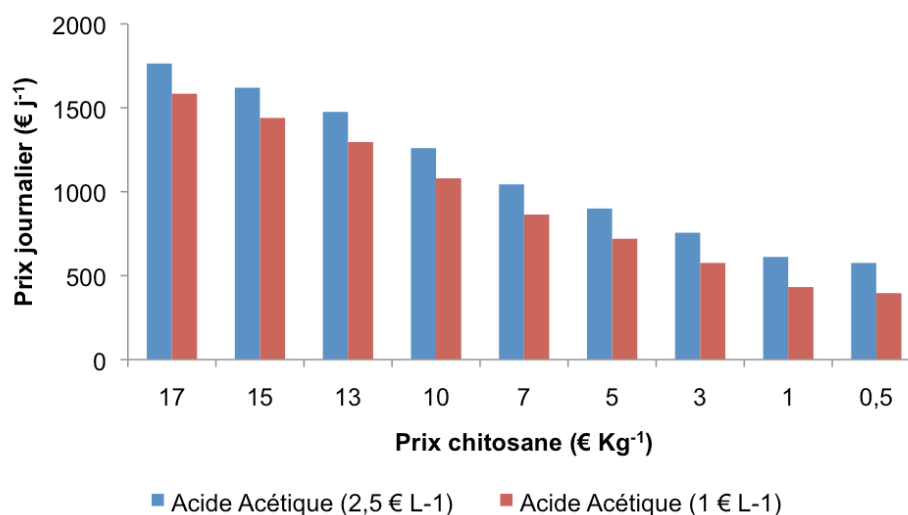


Figure 4.1 : Évolution du prix au litre et du prix journalier en fonction du coût des matières premières (chitosane et acide acétique).

Plusieurs pistes de réduction des coûts ont été identifiées :

- utilisation de produits moins désacétylés, plus colorés, contenant d'avantage d'impuretés, etc. ;
- utilisation d'eau du robinet ou d'eau de rivière filtrée pour préparer les solutions de chitosane ;
- une plus forte demande entraînerait une plus grande production qui aiderait la structuration de la filière.

En effet, dans le cas d'une utilisation régulière par tous les acteurs du traitement de l'eau, les coûts de production pourraient être diminués grâce à l'augmentation des volumes de chitosane produits. L'augmentation de la production entraînerait des économies d'échelle. Les causes principales de ces économies, d'ordres techniques, sont triples (Genthon, 2004) :

- la première économie entraîne une progression des coûts de production moins rapides que l'augmentation des capacités de production ; les ingénieurs estiment qu'un doublement de la capacité de production entraîne une augmentation de 66 % des coûts de production ;
- la seconde concerne les coûts fixes (loyer, charges fixes, etc.) dont l'importance unitaire diminue avec l'allongement de la série ;
- la troisième est liée à l'indivisibilité des équipements.

Les phénomènes d'économies d'échelle, bien connus des ingénieurs *process* sont résumés graphiquement à la Figure 4.2. Cependant, ces économies d'échelle sont très difficiles à estimer hors atelier (Genthon, 2004).

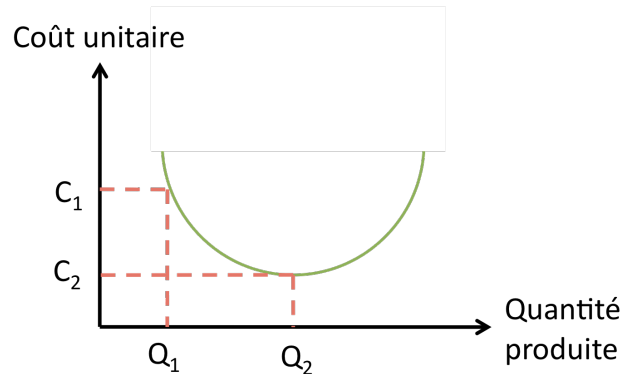


Figure 4.2 : Courbe en U de l'évolution du coût unitaire avec l'accroissement de la quantité produite. On parle de rendement décroissant (sous-dimensionnement à moyens de production identique) dans la deuxième partie de la courbe

2. Perspectives

2.1. La biofloculation par du chitosane

La biofloculation par du chitosane n'est pas encore utilisable en routine, bien qu'elle soit très prometteuse du point de vue chimique et environnemental dans une station industrielle. Le problème est désormais technique car la quantité de chitosane à utiliser reste trop importante. Plusieurs pistes pourraient être mises à l'étude pour diminuer le volume et améliorer l'efficacité :

- effectuer, à titre expérimental et en hiver, un essai de niveau industriel sur 5 jours (10000 € d'investissement) ; ce type d'essai permettrait une estimation de l'effet « volume » d'une station de traitement ;
- faire varier les caractéristiques intrinsèques du chitosane brut, notamment sa masse moléculaire et son degré de désacétylation qui ont un rôle dans son efficacité flocculante ;
- envisager du chitosane chimiquement modifié par des ligands pour le rendre encore plus efficace tout en espérant diminuer les concentrations d'utilisation.

Une fois qu'un chitosane économiquement rentable sera déterminé, des tests de niveau industriel à plus long terme, préalables à une utilisation en routine, pourront être

menés. Enfin, il serait intéressant de vérifier le bénéfice environnemental global du chitosane dans le traitement des eaux par une analyse de son cycle de vie (ACV).

2.2. Le bioindicateur *Gammarus pulex*

Le bioindicateur *Gammarus pulex* fournit des informations écologiquement réalistes et son intérêt dans la bioindication de l'effet de rejet industriel sur un grand cours d'eau a été discuté. Si cette méthode de bioindication *in situ* devait faire l'objet d'une normalisation, plusieurs points seraient à approfondir :

- la variabilité génétique des populations utilisées doit être étudiée et, si possible stabilisée, notamment par la constitution d'élevages pérennes ;
- l'identification d'autres réponses individuelles ou sub-individuelles mesurables *in situ*, de façon à pouvoir choisir le plus précoce des effets engendrés par chaque catégorie de rejets industriels ;
- la standardisation de la méthode doit être finalisée, notamment dans le choix du matériel, dans les conditions d'acclimatation, dans la durée d'exposition et dans la période de mesure ;
- la validation du test dans d'autres cours d'eau et avec d'autres types de rejets doit être poursuivie ;

Un effort de recherche serait à fournir dans le domaine de l'éthologie et de la physiologie du gammare. Ainsi, les relations entre contaminant et effet individuel ou sub-individuel pourraient être alors étudiées. Un type ou une famille de contaminants pourraient être identifiés par leurs effets sur l'organisme et non plus seulement par des mesures chimiques (Wells et al., 2001).

Il existe peu de méthodes de bioindication passive, non létale, à l'échelle individuelle. Ainsi le taux de locomotion de *G. pulex* pourrait être mesurée directement sur le terrain, en fonction de la taille et du sexe, et pourrait apporter une information qualitative aux études populationnelles quantitatives.

2.3. La production d'eau potable

Une dernière perspective pourrait être une application potentielle dans la production d'eau potable à partir d'eaux de rivière. Une première approche a été effectuée par la diminution de la turbidité des eaux de la rivière la Loue (25) en collaboration avec la régie des eaux de la ville de Besançon. Cette perspective a fait l'objet d'une étude et d'une valorisation sur poster.

Conclusion Générale

Ce travail de recherche avait pour objectif de **développer un système innovant de traitement des eaux usées industrielles qui soit à la fois efficace chimiquement, environnementalement intéressant et viable économiquement**. Ce système est basé sur l'utilisation d'une substance naturelle.

L'**efficacité chimique** a été prouvée au niveau laboratoire, sur des effluents papetiers, mais aussi au niveau semi-industriel. Dans les deux cas, le chitosane est efficace sur les paramètres analytiques de l'eau (DCO et turbidité notamment), et possède un large spectre d'action sur les contaminants (colorant, métaux, etc.). De plus, l'augmentation du volume lors des essais semi-industriels entraîne une diminution de la dose optimale.

Ainsi, ce travail de recherche finalisé a apporté des arguments très concrets en faveur de l'utilisation d'un biopolymère pour la décontamination des eaux qui confirment (i) son efficacité sur des eaux contaminées réelles et (ii) sa faisabilité d'une utilisation au niveau industriel.

Ce travail de recherche a aussi utilisé une réponse comportementale de *Gammarus pulex* en réponse à une exposition à un effluent réel. Ainsi, l'utilisation du taux de locomotion a montré son intérêt dans la détection de contamination faiblement concentrée, peu toxique ou chronique. En effet, la sensibilité de la réponse a permis une plus grande précocité dans la détection de contaminant. De plus, il a été montré que la bioindication active par *Gammarus pulex* dans de grand cours d'eau était faisable.

Ainsi, l'**avantage environnemental** du chitosane est dû à sa non toxicité intrinsèque et à ses capacités d'abattement chimique qui entraîne une forte diminution de l'écotoxicité des eaux rejetées.

Même si d'autres recherches doivent encore être menées sur la biofloculation par du chitosane, il appartient aussi aux ingénieurs process de se saisir de ce travail pour émettre un avis, notamment, sur la viabilité du procédé « en atelier ». Cependant, traiter des eaux

contaminées possède un coût dont le bénéfice est soit dit « caché » (amélioration sanitaire, réoligotrophisation des écosystèmes aquatiques, etc.) soit à long terme (anticipation de législation, investissement, etc.)

Pour finir, l'approche pluridisciplinaire de ce travail a permis d'intégrer au sein d'une même démarche prospective différents acteurs et différents aspects : évaluation de l'efficacité chimique, évaluation des impacts environnementaux et viabilité économique potentielle du procédé de traitement chitosane. En effet, le chimiste possède les outils et l'expérience pour décontaminer une eau industrielle, mais il appartient à l'écotoxicologue d'intégrer, par les organismes biologiques, les multiples effets des contaminations complexes rencontrés dans les effluents des filières industrielles.

Bibliographie

- Aamirtharajha, A., O'Mellia, C.R., 1990. Coagulation Processes: Destabilization, Mixing, and Flocculation. 4th ed Water quality and Treatment : a Handbook of Community Water Supplies. AWWA, pp. 269-365.
- Abbasi, G.Y., Abbassi, B.E., 2004. Environmental assessment for paper and cardboard industry in Jordan -- a cleaner production concept. *Journal of Cleaner Production*, 12, 321-326.
- Abdessemed, D., Nezzal, G., Ben Aim, R., 2000. Coagulation--adsorption--ultrafiltration for wastewater treatment and reuse. *Desalination*, 131, 307-314.
- Adam, O., 2008. Impact des produits de traitement du bois sur les amphipodes *Gammarus pulex* (L.) et *Gammarus fossarum* (K.) : approches chimique, hydroécologique et écotoxicologique. Université de Franche-Comté, Doctorat, pp. 199.
- Adam, O., Badot, P.-M., Degiorgi, F., Crini, G., 2009. Mixture toxicity assessment of wood preservative pesticides in the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 441-449.
- Adams, S.M., Shepard, K.L., Greeley, M.S., Ryon, M.G., Jimenez, B.D., Shugart, L.R., McCarthy, J.F., Hinton, D.E., 1989. The use of bioindicators for assessing the effects of pollutant stress in fish. *Marine Environmental Research*, 28, 459-464.
- Adjalle, K.D., Brar, S.K., Verma, M., Tyagi, R.D., Valero, J.R., Surampalli, R.Y., 2007. Ultrafiltration recovery of entomotoxicity from supernatant of *Bacillus thuringiensis* fermented wastewater and wastewater sludge. *Process Biochemistry*, 42, 1302-1311.
- AFNOR, 1985. Matières fertilisantes - Boues des ouvrages de traitement des eaux usées urbaines - Dénominations et spécifications. NF U44-041.
- AFNOR, 1996. Qualité de l'eau - Détermination de l'inhibition de la mobilité de *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Essai de toxicité aigüe. NF EN ISO 6341.
- AFNOR, 1998a. Qualité de l'eau - Détermination de la demande biochimique en oxygène après n jours (DBOn) - Partie 1 : méthode par dilution et ensemencement avec apport d'allylthio-urée. NF EN 1899-1.
- AFNOR, 1998b. Qualité de l'eau - Détermination de la demande biochimique en oxygène après n jours (DBOn) - Partie 2 : méthode pour les échantillons non dilués. NF EN 1899-2.
- AFNOR, 2001. Qualité de l'eau - Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO). NF T90-101.
- AFNOR, 2005. Qualité de l'eau - Dosage des matières en suspension - Méthode par filtration sur filtre en fibres de verre. NF EN 872.

-
- AFNOR, 2006. Caractérisation des boues - Propriétés de sédimentation - Partie 1 : détermination de l'aptitude à la sédimentation (Détermination du volume de boues et de l'indice de boues). NF EN 14702-1.
- Aguilar, M.I., Sáez, J., Lloréns, M., Soler, A., Ortuño, J.F., Meseguer, V., Fuentes, A., 2005. Improvement of coagulation-flocculation process using anionic polyacrylamide as coagulant aid. *Chemosphere*, 58, 47-56.
- Ahmad, A.L., Sumathi, S., Hameed, B.H., 2006. Coagulation of residue oil and suspended solid in palm oil mill effluent by chitosan, alum and PAC. *Chemical Engineering Journal*, 118, 99-105.
- Ahmad, A.L., Wong, S.S., Teng, T.T., Zuhairi, A., 2008. Improvement of alum and PACI coagulation by polyacrylamides (PAMs) for the treatment of pulp and paper mill wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 137, 510-517.
- Ali, M., Sreekrishnan, T.R., 2001. Aquatic toxicity from pulp and paper mill effluents: a review. *Advances in Environmental Research*, 5, 175-196.
- Alvarenga, P., Palma, P., Gonçalves, A.P., Fernandes, R.M., Cunha-Queda, A.C., Duarte, E., Vallini, G., 2007. Evaluation of chemical and ecotoxicological characteristics of biodegradable organic residues for application to agricultural land. *Environment International*, 33, 505-513.
- Amiard, J.-C., Caquet, T., Lagadic, L., Ramade, F., 1998. Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. Tec & Doc ed, Paris, France, pp. 320, isbn: 2-7430-0230-1.
- Ananthanarayanan, K., Natarajan, P., 2009. Fabrication and photophysical studies of phenosafranin and proflavine dyes encapsulated in mesoporous MCM-41 along with titanium dioxide nanoparticles. *Microporous and Mesoporous Materials*, 124, 179-189.
- Annadurai, G., Ling, L.Y., Lee, J.-F., 2008. Adsorption of reactive dye from an aqueous solution by chitosan: isotherm, kinetic and thermodynamic analysis. *Journal of Hazardous Materials*, 152, 337-346.
- Aremu, D.A., Meshitsuka, S., 2006. Some aspects of astroglial functions and aluminum implications for neurodegeneration. *Brain Research Reviews*, 52, 193-200.
- Asghar, M.N., Khan, S., Mushtaq, S., 2008. Management of treated pulp and paper mill effluent to achieve zero discharge. *Journal of Environmental Management*, 88, 1285-1299.
- Aubertot, J.N., Barbier, J.M., Carpentier, A., Gril, J.J., Guichard, L., Lucas, P., Savary, S., Savini, I., Voltz, M., 2005. Pesticides, agriculture et environnement. Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux Rapport d'Expertise scientifique collective. INRA et Cemagref (France).

- Bae, J.-S., Freeman, H.S., 2007a. Aquatic toxicity evaluation of new direct dyes to the *Daphnia magna*. *Dyes and Pigments*, 73, 81-85.
- Bae, J.-S., Freeman, H.S., 2007b. Aquatic toxicity evaluation of copper-complexed direct dyes to the *Daphnia magna*. *Dyes and Pigments*, 73, 126-132.
- Balkema, A.J., Preisig, H.A., Otterpohl, R., Lambert, F.J.D., 2002. Indicators for the sustainability assessment of wastewater treatment systems. *Urban Water*, 4, 153-161.
- Bengtsson, B.E., 1978. Use of a harpacticoid copepod in toxicity tests. *Marin Pollution Bulletin*.
- Berthon, G., 2002. Aluminium speciation in relation to aluminium bioavailability, metabolism and toxicity. *Coordination Chemistry Reviews*, 228, 319-341.
- Bhathal, B., Pauly, D., 2008. Fishing down marine food webs' and spatial expansion of coastal fisheries in India, 1950-2000. *Fisheries Research*, 91, 26-34.
- Bhatnagar, A., Sillanpää, M., 2009. Applications of chitin- and chitosan-derivatives for the detoxification of water and wastewater -- A short review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 152, 26-38.
- Biesinger, K.E., Christensen, G.M., 1972. Effects of various metals on the survival, growth, reproduction, and metabolism of *Daphnia magna*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 29.
- Bloor, M.C., Banks, C.J., 2006. An evaluation of mixed species *in-situ* and *ex-situ* feeding assays: the altered response of *Asellus aquaticus* and *Gammarus pulex*. *Environment International*, 32, 22-27.
- Bolto, B., Gregory, J., 2007. Organic polyelectrolytes in water treatment. *Water Research*, 41, 2301-2324.
- Bondy, S.C., 2010. The neurotoxicity of environmental aluminum is still an issue. *NeuroToxicology*, 31, 575-581.
- Bough, W.A., 1975a. Reduction of suspended solids in vegetable canning waste effluents by coagulation with chitosan. *Journal of Food Science* 40, 297-301.
- Bough, W.A., 1975b. Coagulation with chitosan—an aid to recovery of by-products from egg breaking wastes. *Poultry Science*, 54, 1904-1912.
- Bough, W.A., Shewfelt, A.L., Salter, W.L., 1975. Use of chitosan for the reduction and recovery of solids in poultry processing waste effluents. *Poultry Science*, 54, 992-1000.
- Bough, W.A., 1976. Chitosan—a polymer from seafood wastes, for use in treatment of food processing wastes and activated sludge. *Process Biochemistry*, 11, 13-26.

-
- Bough, W.A., Landes, D.R., 1976. Recovery and nutritional evaluation of proteinaceous solids separated from whey by coagulation with chitosan. *Journal of Dairy Science*, 59, 1874-1880.
- Bough, W.A., Landes, D.R., 1978. Treatment of food-processing waste with chitosan and nutritional evaluation of coagulated by-products 1st international conference on chitin/chitosan, Cambridge, MA, pp. 218-230.
- Bough, W.A., Salter, W.L., Wu, A.C.M., Perkins, B.E., 1978a. Influence of manufacturing variables on the characteristics and effectiveness of chitosan products. I. Chemical composition, viscosity, and molecular-weight distribution of chitosan products I. *Biotechnology and Bioengineering*, 20, 1931-1943.
- Bough, W.A., Wu, A.C.M., Campbell, T.E., Holmes, M.R., Perkins, B.E., 1978b. Influence of manufacturing variables on the characteristics and effectiveness of chitosan products. II. Coagulation of activated sludge suspensions. *Biotechnology and Bioengineering*, 20, 1945-1955.
- Bratby, J., 2007. Coagulation and flocculation in water and wastewater treatment. IWA Publishing, isbn:
- Bratskaya, S., Schwarz, S., Chervonetsky, D., 2004. Comparative study of humic acids flocculation with chitosan hydrochloride and chitosan glutamate. *Water Research*, 38, 2955-2961.
- Buckler, D.R., Cleveland, L., Little, E.E., Brumbaugh, W.G., 1995. Survival, sublethal responses, and tissues residues of Atlantic salmon exposed to acidic pH and aluminum. *Aquatic Toxicology*, 31, 203-216.
- Burger, J., 2008. Environmental management: Integrating ecological evaluation, remediation, restoration, natural resource damage assessment and long-term stewardship on contaminated lands. *Science of The Total Environment*, 400, 6-19.
- Caetano, M., Madureira, M.-J., Vale, C., 2003. Metal remobilisation during resuspension of anoxic contaminated sediment: short-term laboratory study. *Water, Air and Soil Pollution*, 143, 23-40.
- Calmano, W., Hong, J., Forstner, U., 1993. Binding and immobilization of heavy metals in contaminated sediments affected by pH and redox potential. *Water Science and Technology*, 28, 223-235.
- Calow, P., 1989. The choice and implementation of environmental bioassays. *Hydrobiologia*, 188 and 189, 61-64.
- Campbell, N.A., Reece, J.B., 1995. Biologie. 7eme ed. DeBoeck Université, pp. 1190, isbn: 978-2-80412-084-9.
- Chanpiwat, P., Sthiannopkao, S., Kim, K.-W., 2010. Metal content variation in wastewater and biosludge from Bangkok's central wastewater treatment plants. *Microchemical Journal*, 95, 326-332.

- Charles, J., 2009. Bilan et optimisation d'un système de traitement d'effluents papetiers. Université de Franche-Comté, Master, pp. 60.
- Charoy, C., Janssen, C.R., 1999. The swimming behaviour of *Brachionus calyciflorus* (rotifer) under toxic stress : II. Comparative sensitivity of various behavioural criteria. *Chemosphere*, 38, 3247-3260.
- Chauhan, D., Sankararamkrishnan, N., 2008. Highly enhanced adsorption for decontamination of lead ions from battery wastewaters using chitosan functionalized with xanthate. *Bioresource Technology*, 99, 9021-9024.
- Chen, L., Chen, D., Wu, C., 2003. A new approach for the flocculation mechanism of chitosan. *Journal of Polymers and the Environment*, 11, 87-92.
- Chen, X., 2008. Study on treatment of printing and dyeing wastewater with chitosan wrapping fly-ash. *Journal of Biotechnology*, 136, 651-S651.
- Cheung, W.H., Szeto, Y.S., McKay, G., 2009. Enhancing the adsorption capacities of acid dyes by chitosan nano particles. *Bioresource Technology*, 100, 1143-1148.
- Chi, F., Cheng, W., 2006a. Use of Chitosan as Coagulant to Treat Wastewater from Milk Processing Plant. *Journal of Polymers and the Environment*, 14, 411-417.
- Chi, F., Cheng, W., 2006b. Use of chitosan as Ccoagulant to treat wastewater from milk processing plant. *Journal of Polymers and the Environment*, 14, 411-417.
- Chung, Y.C., 2006. Improvement of aquaculture wastewater using chitosan of different degrees of deacetylation. *Environmental Technology*, 27, 1199-208.
- Cole, M.B., Arnold, D.E., Watten, B.J., 2001. Physiological and behavioral responses of stonefly nymphs to enhanced limestone treatment of acid mine drainage. *Water Research*, 35, 625-632.
- Crane, M., 1994. Population characteristics of *Gammarus pulex* (L.) from five English streams. *Hydrobiologia*, 281, 91-100.
- Crane, M., Delaney, P., Mainstone, C., Clarke, S., 1995. Measurement by in situ bioassay of water quality in an agricultural catchment. *Water Research*, 29, 2441-2448.
- Crini, G., Badot, P.-M., 2007. Traitement et épuration des eaux industrielles polluées - procédés membranaires, bioadsorption et oxydation chimique. Presse Universitaire de Franche-Comté, Besançon, pp. 363, isbn: 978-2-84867-197-0.
- Crini, G., Badot, P.-M., 2008. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature. *Progress in Polymer Science*, 33, 399-447.
- Crini, G., Badot, P.-M., 2009. Chitine et chitosane - Du biopolymère à l'application. Presse Universitaire de Franche-Comté, Besançon, pp. 208, isbn: 978-2-84867-197-0.

-
- Dahl, J., Greenberg, L., 1996. Effects of habitat structure on habitat use by *Gammarus pulex* in artificial streams. *Freshwater Biology*, 36, 487-495.
- Daims, H., Taylor, M.W., Wagner, M., 2006. Wastewater treatment: a model system for microbial ecology. *Trends in Biotechnology*, 24, 483-489.
- de Jonge, V.N., Elliott, M., John, H.S., Karl, K.T., Steve, A.T., 2001. Eutrophication. *Encyclopedia of Ocean Sciences*. Academic Press, Oxford, pp. 306-323.
- Dedecker, A.P., Goethals, P.L.M., d'Heygere, T., Gevrey, M., S., L., de Pauw, N., 2005. Application of artificial neural network models to analyse the relationships between *Gammarus pulex* (crustacea, amphipoda) and river characteristics. *Environmental Monitoring and Assessment*, 111, 223-241.
- Dedourge-Geffard, O., Palais, F., Biagianti-Risbourg, S., Geffard, O., Geffard, A., 2009. Effects of metals on feeding rate and digestive enzymes in *Gammarus fossarum*: An *in situ* experiment. *Chemosphere*, 77, 1569-1576.
- DeForest, D.K., Brix, K.V., Adams, W.J., 2007. Assessing metal bioaccumulation in aquatic environments: The inverse relationship between bioaccumulation factors, trophic transfer factors and exposure concentration. *Aquatic Toxicology*, 84, 236-246.
- Deforet, T., 2009. Capacités de rétention de nutriments en milieu parafluvial : dynamique spatiale et temporelle dans des bancs de gravier latéraux de la basse vallée du Doubs (France). Université de Franche-Comté, Doctorat, pp. 231.
- Degrémont, 2005. Memento technique de l'eau. Lavoisier ed, isbn: 978-2-7430-0717-1 2-7430-0717-6.
- Dick, J.T.A., 1996. Post-invasion amphipod communities of Lough Neagh, N. Ireland ; influences of habitat selection and differential predation. *Journal of Animal Ecology*, 65, 756-767.
- Dilek, F.B., Gokcay, C.F., 1994. Treatment of effluent from hemp-based pulp and paper industry: waste characterization and physicochemical treatability. *Water Science and Technology*, 29, 161-163.
- Divakaran, R., Pillai, V.N.S., 2001. Flocculation of kaolinite suspensions in water by chitosan. *Water Research*, 35, 3904-3908.
- Divakaran, R., Pillai, V.N.S., 2002. Flocculation of river silt using chitosan. *Water Research*, 36, 2414-2418.
- Divakaran, R., Pillai, V.N.S., 2004. Mechanism of kaolinite and titanium dioxide flocculation using chitosan--assistance by fulvic acids? *Water Research*, 38, 2135-2143.
- Dobranskyte, A., Jugdaohsingh, R., Stuchlik, E., Powell, J.J., White, K.N., McCrohan, C.R., 2004. Role of exogenous and endogenous silicon in ameliorating behavioural responses to aluminium in a freshwater snail. *Environmental Pollution*, 132, 427-433.

- Dorfman, D., 1977. Tolerance of *Fundulus heteroclitus* to different metals in salt waters. *Bulletin of New Jersey Academy of Sciences*, 22, 21-23.
- DRIRE, 2007. L'environnement industriel en Franche-Comté. DRIRE et DDSV, Besançon, pp. 65.
- Duquesne, S., Küster, E., 2010. Biochemical, metabolic, and behavioural responses and recovery of *Daphnia magna* after exposure to an organophosphate. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73, 353-359.
- Dutta, S.K., 1999. Study of the physicochemical properties of effluent of the paper mill that affected the paddy plants. *Journal of Environmental Pollution*, 6, 181-188.
- Eikebrokk, B.r., Saltnes, T., 2002. NOM removal from drinking water by chitosan coagulation and filtration through lightweight expanded clay aggregate filters. *Journal of Water Supply*, 51, 323-332.
- El-Sawy, N.M., Abd El-Rehim, H.A., Elbarbary, A.M., Hegazy, E.-S.A., 2010. Radiation-induced degradation of chitosan for possible use as a growth promoter in agricultural purposes. *Carbohydrate Polymers*, 79, 555-562.
- Elangovan, R., White, K.N., McCrohan, C.R., 1997. Bioaccumulation of aluminium in the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* at neutral pH. *Environmental Pollution*, 96, 29-33.
- Elangovan, R., Ballance, S., White, K.N., McCrohan, C.R., Powell, J.J., 1999. Accumulation of aluminium by the freshwater crustacean *Asellus aquaticus* in neutral water. *Environmental Pollution*, 106, 257-263.
- Elliott, J.M., 2002. The drift distances and time spent in the drift by freshwater shrimps, *Gammarus pulex*, in a small stony stream, and their implications for the interpretation of downstream dispersal. *Freshwater Biology*, 47, 1403-1417.
- Elliott, J.M., 2005. Day-night changes in the spatial distribution and habitat preferences of freshwater shrimps, *Gammarus pulex*, in a stony stream. *Freshwater Biology*, 50, 552-566.
- Escalas-Cañellas, A., Ábrego-Góngora, C.J., Barajas-López, M.G., Houweling, D., Comeau, Y., 2008. A time series model for influent temperature estimation: Application to dynamic temperature modelling of an aerated lagoon. *Water Research*, 42, 2551-2562.
- Euzen, J.-P., Tranbouze, P., Wauquier, J.-P., 1993. Méthodologie pour l'extrapolation des procédés chimiques. Technip ed, isbn: 2-7108-0635-5.
- Felten, V., Baudoin, J.M., Guéroid, F., 2006. Physiological recovery from episodic acid stress does not mean population recovery of *Gammarus fossarum*. *Chemosphere*, 65, 988-998.

-
- Felten, V., Charmantier, G., Charmantier-Daures, M., Aujoulat, F., Garric, J., Geffard, O., 2008a. Physiological and behavioural responses of *Gammarus pulex* exposed to acid stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 147, 189-197.
- Felten, V., Charmantier, G., Mons, R., Geffard, A., Rousselle, P., Coquery, M., Garric, J., Geffard, O., 2008b. Physiological and behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda) exposed to cadmium. *Aquatic Toxicology*, 86, 413-425.
- Flaten, T.P., 2001. Aluminium as a risk factor in Alzheimer's disease, with emphasis on drinking water. *Brain Research Bulletin*, 55, 187-196.
- Fränze, O., 2006. Complex bioindication and environmental stress assessment. *Ecological Indicators*, 6, 114-136.
- Fuentes, A., Lloréns, M., Sáez, J., Aguilar, M.I., Pérez-Marín, A.B., Ortuño, J.F., Meseguer, V.F., 2006. Ecotoxicity, phytotoxicity and extractability of heavy metals from different stabilised sewage sludges. *Environmental Pollution*, 143, 355-360.
- Ganjidoust, H., Tatsumi, K., Yamagishi, T., Gholian, R.N., 1997. Effect of synthetic and natural coagulant on lignin removal from pulp and paper wastewater. *Water Science and Technology*, 35, 291-296.
- Gardner, M.J., Comber, S.D.W., 2003. Aluminium speciation in effluents and receiving waters. *Journal of Environmental Monitoring*, 5, 902-905.
- Gee, J.H.R., 1988. Population dynamics and morphometrics of *Gammarus pulex* L.: evidence of seasonal food limitation in a freshwater detritivore. *Freshwater Biology*, 19, 333-343.
- Geffard, A., Quéau, H., Dedourge, O., Biagianti-Risboug, S., Geffard, O., 2007. Influence of biotic and abiotic factors on metallothionein level in *Gammarus pulex*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 145, 632-640.
- Genthon, C., 2004. Analyse sectorielle : Méthodologie et application aux technologies de l'information. L'Harmattan ed, isbn: 2-7475-6785-0.
- George, M., Abraham, T.E., 2006. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan -- a review. *Journal of Controlled Release*, 114, 1-14.
- Ghestem, J.-P., Crouzet, C., Girardot, N., Coquery, M., 2008. Estimation des fonds géochimiques en éléments traces des eaux de surface continentales et des eaux souterraines : cahier des charges pour l'analyse et le prélèvement. BRGM, pp. 47.
- Gidas, M.-B., 1998. Etude de la performance du chitosane comme coagulant pour l'enlèvement du cuivre et de la turbidité des eaux usées. Université de Montreal, Master, pp. 206.

- Giorgio, P.A., Davis, J., Stuart, E.G.F., Robert, L.S., 2003. Patterns in Dissolved Organic Matter Lability and Consumption across Aquatic Ecosystems Aquatic Ecosystems. Academic Press, Burlington, pp. 399-424.
- Graça, M.A.S., Maltby, L., Calow, P., 1994. Comparative ecology of *Gammarus pulex* (L.) and *Asellus aquaticus* (L.) II: fungal preferences. *Hydrobiologia*, 281, 163-170.
- Gray, J.S., 1980. The measurement of effects of pollutants on benthic communities. *T. Rapp. Réunion. Cons. Explor.*, 179, 188-193.
- Grison, C., 1999. Epuration des eaux usées par des filtres plantés de macrophytes - une étude bibliographique. Agence de l'eau Rhône-Méditerranée- Corse, pp. 80.
- Guibal, E., 2004. Interactions of metal ions with chitosan-based sorbents: a review. *Separation and Purification Technology*, 38, 43-74.
- Guibal, E., Tourreaud, E., Roussy, J., 2005. Chitosan interactions with metal ions and dyes: dissolved solid state application. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 21, 913-920.
- Guibal, E., Van Vooren, M., Dempsey, B.A., Roussy, J., 2006. A review of the use of chitosan for the removal of particulate and dissolved contaminants. *Separation Science and Technology*, 41, 2487-2514.
- Guibal, E., Roussy, J., 2007. Coagulation and flocculation of dye-containing solutions using a biopolymer (Chitosan). *Reactive and Functional Polymers*, 67, 33-42.
- Guo, Z., Hu, X., Ao, Y., 2009. Effect of chitosan on the available contents and vertical distribution of Cu²⁺ and Cd²⁺ in different textural soils. *Journal of Hazardous Materials*, 167, 1148-1151.
- Gupta, A., 1997. Pollution load of paper mill effluent and its impact in biological environment. *Journal of Ecotoxicological Environment Monitoring*, 7, 101-112.
- Helson, B.V., Kingsbury, P.D., De Groot, P., 1986. The use of bioassay to assess aquatic arthropod mortality from permethrin drift deposits. *Aquatic Toxicology*, 9, 253-262.
- Hickie, B.E., Hutchinson, N.J., Dixon, D.G., Hodson, P.V., 1993. Toxicity of Trace Metal Mixtures to Alevin Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Larval Fathead Minnow (*Pimephales promelas*) in Soft, Acidic Water. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50, 1348-1355.
- Huang, C., Chen, S., Ruhsing Pan, J., 2000. Optimal condition for modification of chitosan: a biopolymer for coagulation of colloidal particles. *Water Research*, 34, 1057-1062.
- Hultin, L., 1971. Upstream movements of *Gammarus pulex pulex* (Amphipoda) in a south Swedish stream. *Oikos*, 22, 329-347.

-
- Hutchinson, N.J., Sprague, J.B., 1986. Toxicity of trace metal mixtures to American flagfish (*Jordanella floridae*) in soft, acidic water and implications for cultural acidification. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 43, 647-655.
- Hynes, H.B.N., 1955. The reproductive cycle of some British freshwater Gammaridae. *Journal of Animal Ecology*, 24, 352-387.
- Hynes, H.B.N., 1978. The biology of polluted waters. Liverpool University Press, Liverpool, pp. 230, isbn: 978-0-85323-200-1.
- ISO, 1989. Qualité de l'eau -- Détermination de la demande chimique en oxygène. ISO 6060.
- ISO, 2002. Qualité de l'eau -- Détermination de l'indice de demande chimique en oxygène (ST-DCO) -- Méthode à petite échelle en tube fermé. ISO 15705.
- Jahren, S.J., Rintala, J.A., Odegaard, H., 1999. Evaluation of internal thermophilic biotreatment as a strategy in TMP closure. *Tappi Journal*, 82, 141-149.
- Jahren, S.J., Rintala, J.A., Odegaard, H., 2002. Aerobic moving bed biofilm reactor treating thermomechanical pulping whitewater under thermophilic conditions. *Water Research*, 36, 1067-1075.
- Janetzky, W., 1994. Distribution of the genus *Gammarus* (Amphipoda: Gammaridae) in the River Hunte and its tributaries (Lower Saxony, northern Germany). *Hydrobiologia*, 294, 23-24.
- Jayakumar, R., Chennazhi, K.P., Muzzarelli, R.A.A., Tamura, H., Nair, S.V., Selvamurugan, N., 2010a. Chitosan conjugated DNA nanoparticles in gene therapy. *Carbohydrate Polymers*, 79, 1-8.
- Jayakumar, R., Menon, D., Manzoor, K., Nair, S.V., Tamura, H., 2010b. Biomedical applications of chitin and chitosan based nanomaterials--A short review. *Carbohydrate Polymers*, 82, 227-232.
- Jergentz, S., Pessacq, P., Mugni, H., Bonetto, C., Schulz, R., 2004. Linking in situ bioassays and population dynamics of macroinvertebrates to assess agricultural contamination in streams of the Argentine pampa. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 59, 133-141.
- Jörnstrom, L., Lason, L., Rigdahl, M., 1995. Flocculation in kaolin suspensions induced by modified starches 1. Cationically modified starch--effects of temperature and ionic strength. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 104, 191-205.
- Justino, C.I., Duarte, K., Loureiro, F., Pereira, R., Antunes, S.C., Marques, S.M., GonÁalves, F., Rocha-Santos, T.A.P., Freitas, A.C., 2009. Toxicity and organic content characterization of olive oil mill wastewater undergoing a sequential treatment with fungi and photo-Fenton oxidation. *Journal of Hazardous Materials*, 172, 1560-1572.

- Kádár, E., Salánki, J., Jugdaohsingh, R., Powell, J.J., McCrohan, C.R., White, K.N., 2001. Avoidance responses to aluminium in the freshwater bivalve *Anodonta cygnea*. *Aquatic Toxicology*, 55, 137-148.
- Kalman, J., Smith, B.D., Riba, I., Blasco, J., Rainbow, P.S., 2010. Biodynamic modelling of the accumulation of Ag, Cd and Zn by the deposit-feeding polychaete *Nereis diversicolor*: Inter-population variability and a generalised predictive model. *Marine Environmental Research*, 69, 363-373.
- Kara, D., Fisher, A., Hill, S.J., 2008. Flow injection determination of aluminium by spectrofluorimetric detection after complexation with N-o-vanillidine-2-amino-p-cresol: The application to natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 611, 62-67.
- Karakulski, K., Kozłowski, A., Morawski, A.W., 1995. Purification of oily wastewater by ultrafiltration. *Separations Technology*, 5, 197-205.
- Karaman, G.S., Pinkster, S., 1977. Freshwater *Gammarus* species from Europe, North Africa and adjacent regions of Asia (Crustacea-Amphipoda). *Bijdr. Dierk.*, 47, 1-97.
- Kelly, D.W., Dick, J.T.A., Montgomery, W.I., 2002. The functional role of *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda): shredders, predators, or both? *Hydrobiologia*, 485, 199-203.
- Kim, C.-K., Kwak, I.-S., Cha, E.-Y., Chon, T.-S., 2006. Implementation of wavelets and artificial neural networks to detection of toxic response behavior of chironomids (Chironomidae: Diptera) for water quality monitoring. *Ecological Modelling*, 195, 61-71.
- Kim, I.-Y., Seo, S.-J., Moon, H.-S., Yoo, M.-K., Park, I.-Y., Kim, B.-C., Cho, C.-S., 2010a. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications. *Biotechnology Advances*, 26, 1-21.
- Kim, K.T., Klaine, S.J., Cho, J., Kim, S.-H., Kim, S.D., 2010b. Oxidative stress responses of *Daphnia magna* exposed to TiO₂ nanoparticles according to size fraction. *Science of The Total Environment*, 408, 2268-2272.
- Kultu, M., Düzen, A., Bayçu, C., Özata, A., 2002. Transmission electron microscope investigation of the effect lead acetate on the hepatopancreatic ceca of *Gammarus pulex*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 12, 181-187.
- Lacorte, S., Latorre, A., Barcelo, D., Rigol, A., Malmqvist, A., Welander, T., 2003. Organic compounds in paper-mill process waters and effluents. *Trends in Analytical Chemistry*, 22, 725-737.
- Lafont, M., Camus, J.C., Rosso, A., 1996. Superficial and hyporheic oligochaete communities as indicators of pollution and water exchange in the river Moselle, France. *Hydrobiologia*, 334, 147-155.

-
- Laus, R., Geremias, R., Vasconcelos, H.L., Laranjeira, M.C.M., Fevere, V.T., 2007. Reduction of acidity and removal of metal ions from coal mining effluents using chitosan microspheres. *Journal of Hazardous Materials*, 149, 471-474.
- Lawrence, A.J., Poulter, C., 1998. Development of a sub-lethal pollution bioassay using the estuarine amphipod *Gammarus duebeni*. *Water Research*, 32, 569-578.
- Le Monde, 20 juillet 2010, En France le développement durable commence à trouver sa place dans les écoles de gestion.
- Lenntech, 2009. Zinc (Zn) - Chemical properties, Health and Environmental effects. <http://www.lenntech.com/periodic/elements/zn.htm>
- Lertsutthiwong, P., Sutti, S., Powtongsook, S., 2009. Optimization of chitosan flocculation for phytoplankton removal in shrimp culture ponds. *Aquacultural Engineering*, 41, 188-193.
- Li, X., Zhang, F., 1992. Toxic effects of low pH and elevated Al concentration on early life stages of several species of freshwater fishes. *Acta Sci Circumstant/Huanjing Kexue Xuebao*, 12, 97-104.
- Lieb, D.A., Carline, R.F., 2000. Effects of urban runoff from a detention pond on water quality, temperature and caged *Gammarus minus* (Say) (Amphipoda) in a headwater stream. *Hydrobiologia*, 441, 107-116.
- Lin, J.-G., Chen, S.-Y., 1998. The relationship between adsorption of heavy metal and organic matter in river sediments. *Environment International*, 24, 345-352.
- Loi sur l'eau, 1992. Loi sur l'eau. Paris, France, NOR: ENVX9100061L
- Loi sur les déchets, 1975. Loi relative à l'élimination des déchets et à la récupération des matériaux. Paris, France, n° 75-633.
- Mahmood, T., Elliott, A., 2006. A review of secondary sludge reduction technologies for the pulp and paper industry. *Water Research*, 40, 2093-2112.
- Maitland, P.S., 1966. Notes on the biology of *Gammarus pulex* in the river Endrick. *Hydrobiologia*, 28, 142-152.
- Maltby, L., Naylor, C., Calow, P., 1990. Effect of stress on a freshwater benthic detritivore: Scope for growth in *Gammarus pulex*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 19, 285-291.
- Maltby, L., 1995. Sensitivity of the crustaceans *Gammarus pulex* (L.) and *Asellus aquaticus* (L.) to short-term exposure to hypoxia and unionised ammonia: observations and possible mechanisms. *Water Research*, 29, 781-787.

- Mandal, T.N., Bandana, T.N., 1996. Studies on physicochemical and biological characteristics of pulp and paper mill effluents and its impact in human being. *Journal of Freshwater Biology*, 8, 191-196.
- Mantis, I., Voutsas, D., Samara, C., 2005. Assessment of the environmental hazard from municipal and industrial wastewater treatment sludge by employing chemical and biological methods. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62, 397-407.
- McCahon, C.P., Pascoe, D., 1988. Use of *Gammarus pulex* (L.) in safety evaluation tests: Culture and selection of a sensitive life stage. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 15, 245-252.
- McNeil, C., Dick, J.T.A., Elwood, R.W., 1997. The trophic ecology of freshwater *Gammarus* (Crustacea : Amphipoda); problems and perspectives concerning the functional feeding group concept. *Total Biology Review*, 72, 349-364.
- Meijering, M.P.D., 1991. Lack of oxygen and low pH as limiting factors for *Gammarus* in Hessian brooks and rivers. *Hydrobiologia*, 223, 159-169.
- Meysami, B., Kasaeian, A.B., 2005. Use of coagulants in treatment of olive oil wastewater model solutions by induced air flotation. *Bioresource Technology*, 96, 303-307.
- Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement, 1998. Arrêté du 2 février relatif aux prélèvements et à la consommation d'eau ainsi qu'aux émissions de toute nature des installations classées pour la protection de l'environnement soumises à autorisation. Paris, France, NOR: ATEP9870017A
- Minshall, G.W., Minshall, J.N., 1978. Further evidence on the role of chemical factors in determining the distribution of benthic invertebrates in the River Duddon. *Archive Hydrobiologica*, 83, 324-355.
- Mishra, D.K., Tripathy, J., Srivastava, A., Mishra, M.M., Behari, K., 2008. Graft copolymer (chitosan-g-N-vinyl formamide): Synthesis and study of its properties like swelling, metal ion uptake and flocculation. *Carbohydrate Polymers*, 74, 632-639.
- Neto, M., 2007. Scénarios de gestion de boues de dragage de cours d'eau : rôle des bactéries dans la mobilité des polluants métalliques. Rapport de thèse, pp. 312.
- Novotny, C., Dias, N., Kapanen, A., Malachova, K., Vandrovcova, M., Itavaara, M., Lima, N., 2006. Comparative use of bacterial, algal and protozoan tests to study toxicity of azo- and anthraquinone dyes. *Chemosphere*, 63, 1436-1442.
- OMS IPCS, 1997. Environmental Health Criteria 194: Aluminum. World Health Organisation, International Programme on chemical Safety.
- Osswald, J., Carvalho, A.P., Claro, J., Vasconcelos, V., 2009. Effects of cyanobacterial extracts containing anatoxin-a and of pure anatoxin-a on early developmental stages of carp. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 473-478.

-
- Palace, V.P., Wautier, K.G., Evans, R.E., Blanchfield, P.J., Mills, K.H., Chalanchuk, S.M., Godard, D., McMaster, M.E., Tetreault, G.R., Peters, L.E., Vandenbyllaardt, L., Kidd, K.A., 2006. Biochemical and histopathological effects in pearl dace (*Margariscus margarita*) chronically exposed to a synthetic estrogen in a whole lake experiment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, 1114-1125.
- Park, Y.-S., Chung, N.-I., Choi, K.-H., Cha, E.Y., Lee, S.-K., Chon, T.-S., 2005. Computational characterization of behavioral response of medaka (*Oryzias latipes*) treated with diazinon. *Aquatic Toxicology*, 71, 215-228.
- Parlement européen, 1986. Protection de l'environnement et notamment des sols, lors de l'utilisation des boues d'épuration en agriculture. Strasbourg, France, 86/278/CEE.
- Parlement européen, 2000. Directive du parlement européen et du conseil établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. Strasbourg, France, 2000/60/CE.
- Paulino, A.T., Santos, L.B., Nozaki, J., 2008. Removal of Pb²⁺, Cu²⁺, and Fe³⁺ from battery manufacture wastewater by chitosan produced from silkworm chrysalides as a low-cost adsorbent. *Reactive and Functional Polymers*, 68, 634-642.
- Petrauskiene, L., 2003. Water and sediment toxicity assessment by use of behavioural responses of medicinal leeches. *Environment International*, 28, 729-736.
- Petrich, S.M., Reish, D.J., 1979. Effects of aluminum and nickel on survival and reproduction in polychaetous annelids. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 23, 698-702.
- Pettersen, R.A., Vøllestad, L.A., Flodmark, L.E.W., Poléo, A.B.S., 2006. Effects of aqueous aluminium on four fish ectoparasites. *Science of The Total Environment*, 369, 129-138.
- Pichard, A., M, B., Gay, G., Houeix, N., B, J., Lefevre, J.P., Magaud, H., Migné, V., Morin, A., Tissot, S., Gillet, C., 2005. Aluminium et dérivés Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. INERIS, pp. 53.
- Pizzichini, M., Russo, C., Meo, C.D., 2005. Purification of pulp and paper wastewater, with membrane technology, for water reuse in a closed loop. *Desalination*, 178, 351-359.
- Pokhrel, D., Viraraghavan, T., 2004. Treatment of pulp and paper mill wastewater--a review. *Science of The Total Environment*, 333, 37-58.
- Préfecture du Doubs, 2006. Disposition Techniques générales applicables à l'ensemble de l'établissement. Besançon, France, 2006/DCLE/4B.
- Préfecture du Doubs, 2010. Prescription au titre des installations Classées. Besançon, France, DDD/5B/2010.

- Ramade, F., 2007. Introduction à l'écotoxicologie – Fondements et applications. Tech & Doc ed, Paris, pp. 618, isbn: 978-2-74300-944-1.
- Ratsak, C.H., Maarsen, K.A., Kooijman, S.A.L.M., 1996. Effects of protozoa on carbon mineralization in activated sludge. *Water Research*, 30, 1-12.
- Ravazzini, A.M., van Nieuwenhuijzen, A.F., van der Graaf, J.H.M.J., 2005. Direct ultrafiltration of municipal wastewater: comparison between filtration of raw sewage and primary clarifier effluent. *Desalination*, 178, 51-62.
- Ravenga, C., 2000. Will be there enough water ? *Pilot Analysis of Global Ecosystems: Freshwater Systems*.
- Rawer-Jost, C., Blank, J., Rahmann, H., 2000. Macroinvertebrate functional feeding group methods in ecological assessment. *Hydrobiologia*, 422/423, 225-232.
- Renault, F., Sancey, B., Badot, P.-M., Crini, G., 2009a. Chitosan for coagulation/flocculation processes - An eco-friendly approach. *European Polymer Journal*, 45, 1337-1348.
- Renault, F., Sancey, B., Charles, J., Morin-Crini, N., Badot, P.-M., Winterton, P., Crini, G., 2009b. Chitosan flocculation of cardboard-mill secondary biological wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 155, 775-783.
- Renou, S., Thomas, J.S., Aoustin, E., Pons, M.N., 2008. Influence of impact assessment methods in wastewater treatment LCA. *Journal of Cleaner Production*, 16, 1098-1105.
- Rizzo, L., Di Gennaro, A., Gallo, M., Belgiorno, V., 2008a. Coagulation/chlorination of surface water: A comparison between chitosan and metal salts. *Separation and Purification Technology*, 62, 79-85.
- Rizzo, L., Lofrano, G., Grassi, M., Belgiorno, V., 2008b. Pre-treatment of olive mill wastewater by chitosan coagulation and advanced oxidation processes. *Separation and Purification Technology*, 63, 648-653.
- Rodrigues, A.C., Boroski, M., Shimada, N.S., Garcia, J.C., Nozaki, J., Hioka, N., 2008. Treatment of paper pulp and paper mill wastewater by coagulation-flocculation followed by heterogeneous photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 194, 1-10.
- Rohella, R.S., Choudhury, S., Manthan, M., Murthy, J.S., 2001. Removal of colour and turbidity in pulp and paper mill effluents using polyelectrolytes. *Indian Journal of Environment Health*, 43, 159-163.
- Roman, Y.E., De Schamphelaere, K.A.C., Nguyen, L.T.H., Janssen, C.R., 2007. Chronic toxicity of copper to five benthic invertebrates in laboratory-formulated sediment: Sensitivity comparison and preliminary risk assessment. *Science of The Total Environment*, 387, 128-140.

-
- Rosa, E.V.C., Giuradelli, T.M., Corría, A.X.R., Rorig, L.R., Schwingel, P.R., Resgalla Jr, C., Radetski, C.M., 2007. Ecotoxicological evaluation of the short term effects of fresh and stabilized textile sludges before application in forest soil restoration. *Environmental Pollution*, 146, 463-469.
- Rosic, N., Lomax, P., Kovacevic, N., 1974. The toxic and behavioural effects of a cholinesterase inhibitor in fish (*Serranus scriba*). *Comparative and General Pharmacology*, 5, 187-189.
- Rosseland, B.O., Skogheim, O.K., 1984. A comparative study on salmonid fish species in acid aluminum-rich water. II. Physiological stress and mortality of one-and two-year-old fish. Institute of Fresh Water Ecology, Oslo, Norway, pp. 186-194.
- Roussy, J., Van Vooren, M., Guibal, E., 2004. Chitosan for the coagulation and flocculation of mineral colloids. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 25, 663-677.
- Roussy, J., Van Vooren, M., Dempsey, B.A., Guibal, E., 2005. Influence of chitosan characteristics on the coagulation and the flocculation of bentonite suspensions. *Water Research*, 39, 3247-3258.
- Roy, A.K., Sharma, A., Talukder, G., 1991. Effects of aluminum salts on bone marrow chromosomes in rats in vivo. *Cytobios*, 66, 105-111.
- Rubio, J., Souza, M.L., Smith, R.W., 2002. Overview of flotation as a wastewater treatment technique. *Minerals Engineering*, 15, 139-155.
- Ruhsing Pan, J., Huang, C., Chen, S., Chung, Y.-C., 1999. Evaluation of a modified chitosan biopolymer for coagulation of colloidal particles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 147, 359-364.
- Safarik, I., 1995. Removal of organic polycyclic compounds from water solutions with a magnetic chitosan based sorbent bearing copper phthalocyanine dye. *Water Research*, 29, 101-105.
- Sakkayawong, N., Thiravetyan, P., Nakbanpote, W., 2005. Adsorption mechanism of synthetic reactive dye wastewater by chitosan. *Journal of Colloid and Interface Science*, 286, 36-42.
- Salvetti, R., Azzellino, A., Canziani, R., Bonomo, L., 2006. Effects of temperature on tertiary nitrification in moving-bed biofilm reactors. *Water Research*, 40, 2981-2993.
- Sanghi, R., Bhattacharya, B., 2005. Comparative evaluation of natural polyelectrolytes psyllium and chitosan as coagulant aids for decolourization of dye solutions. *Water Quality Research Journal of Canada*, 40, 97-101.
- Sauvant, M.P., Pepin, D., Bohatier, J., Groliere, C.A., 2000. Effects of chelators on the acute toxicity and bioavailability of aluminium to *Tetrahymena pyriformis*. *Aquatic Toxicology*, 47, 259-275.

- Schleiter, I.M., Borchardt, D., Wagner, R., Dapper, T., Schmidt, K.-D., Schmidt, H.-H., Werner, H., 1999. Modelling water quality, bioindication and population dynamics in lotic ecosystems using neural networks. *Ecological Modelling*, 120, 271-286.
- Schrimppf, E., Foeckler, F., 1985. Gammarids in streams of northeastern Bavaria, F.R.G. I. Prediction of their general occurrence by selected hydrochemical variables. *Archive Hydrobiologica*, 103, 479-495.
- Schulz, R., Liess, M., 1999. A field study of the effects of agriculturally derived insecticide input on stream macroinvertebrate dynamics. *Aquatic Toxicology*, 46, 155-176.
- Schulz, R., 2003. Using a freshwater amphipod *in situ* bioassay as a sensitive tool to detect pesticide effects in the field. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22, 1172-1176.
- Schumann, F., 1928. Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung einiger Salze, insbesondere des kohlensauren Kalkes, für Gammariden und ihren Einfluss auf deren Häutungsphysiologie und Lebensmöglichkeit. *Zool. Jb*, 44, 623-704.
- Scott, G.R., Sloman, K.A., 2004. The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. *Aquatic Toxicology*, 68, 369-392.
- Senel, S., McClure, S.J., 2004. Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56, 1467-1480.
- Sharaai, A.H., Mahmood, N.Z., Sulaiman, A.H., 2010. Life Cycle Impact Assessment (LCIA) of Potable Water Production in Malaysia: A Comparison among Different Technology Used in Water Treatment Plant. *EnvironmentAsia*, 3, 95-102.
- Sharma, P., Mishra, K.P., 2006. Aluminum-induced maternal and developmental toxicity and oxidative stress in rat brain: Response to combined administration of Tiron and glutathione. *Reproductive Toxicology*, 21, 313-321.
- Sharp, E.L., Parsons, S.A., Jefferson, B., 2006. Seasonal variations in natural organic matter and its impact on coagulation in water treatment. *Science of The Total Environment*, 363, 183-194.
- Shi, C., Zhu, Y., Ran, X., Wang, M., Su, Y., Cheng, T., 2006. Therapeutic Potential of Chitosan and Its Derivatives in Regenerative Medicine. *Journal of Surgical Research*, 133, 185-192.
- Shokrollahzadeh, S., Azizmohseni, F., Golmohammad, F., Shokouhi, H., Khademhaghighat, F., 2008. Biodegradation potential and bacterial diversity of a petrochemical wastewater treatment plant in Iran. *Bioresource Technology*, 99, 6127-6133.
- Singh, R.S., Marwaha, S.S., Khanna, P.K., 1996. Characteristics of pulp and paper mill effluents. *Journal of Industrial Pollution Control*, 12, 163-172.

-
- Sinha, S., Yoon, Y., Amy, G., Yoon, J., 2004. Determining the effectiveness of conventional and alternative coagulants through effective characterization schemes. *Chemosphere*, 57, 1115-1122.
- Skrzydłowska, E., Balcerzak, M., Vanhaecke, F., 2003. Determination of chromium, cadmium and lead in food-packaging materials by axial inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 479, 191-202.
- Sornom, P., Felten, V., Médoc, V., Sroda, S., Rousselle, P., Beisel, J.-N., 2010. Effect of gender on physiological and behavioural responses of *Gammarus roeseli* (Crustacea Amphipoda) to salinity and temperature. *Environmental Pollution*, 158, 1288-1295.
- Soucek, D.J., Cherry, D.S., Zipper, C.E., 2001. Aluminum-dominated acute toxicity to the cladoceran *Ceriodaphnia dubia* in neutral waters downstream of an acid mine drainage discharge. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58, 1396-2404.
- Spagna, G., Pifferi, P.G., Rangoni, C., Mattivi, F., Nicolini, G., Palmonari, R., 2010. The stabilization of white wines by adsorption of phenolic compounds on chitin and chitosan. *Food Research International*, 29, 241-248.
- Sparagano, O., Grolière, C.-A., 1991. Evaluation de la qualité des eaux d'une rivière avec les protozoaires ciliés comme bioindicateurs de pollution. Comparaison avec la physico-chimie. *Hydroécologie appliquée*, 3, 43-62.
- Sponza, D.T., 2006. Toxicity studies in a chemical dye production industry in Turkey. *Journal of Hazardous Materials*, 138, 438-447.
- Srivastava, A., Mishra, D.K., Behari, K., 2010. Graft copolymerization of N-vinyl-2-pyrrolidone onto chitosan: Synthesis, characterization and study of physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, 80, 790-798.
- Srivastava, S., Bembi, R., Singh, A., Sharma, A., 1990. Physicochemical studies on the characteristics and disposal problem of small and large pulp and paper mill effluents. *Indian Journal of Environment Protection*, 10, 438-442.
- Stechemesser, H., Dobias, B., 2005. Coagulation and flocculation. CRC Press, pp. 882, isbn: 157-4-44455-7.
- Strand, S.P., Nordengen, T., Oøstgaard, K., 2002. Efficiency of chitosans applied for flocculation of different bacteria. *Water Research*, 36, 4745-4752.
- Sutcliffe, D.W., 1992. Reproduction in *Gammarus* (Crustacea, Amphipoda): basic processes. *Freshwater Forum*, 2, 102-128.
- Sutcu, M., Akkurt, S., 2009. The use of recycled paper processing residues in making porous brick with reduced thermal conductivity. *Ceramics International*, 35, 2625-2631.

- Szymczyk, A., Fievet, P., 2007. Les procédés de filtration membranaire appliqués au traitement des eaux. in: Presses Universitaire de Franche-Comté (Ed.) Traitement et épuration des eaux industrielles polluées, Besançon, pp. 63-103.
- Tachet, H., Richoux, P., Bournaud, M., Usseglio-Polatera, P., 2006. Invertébrés d'eau douce - systématique, biologie, écologie. CNRS ed, Paris, France, isbn: 2-271-05745-0.
- Takashi, A., Tomonori, E., 2007. Organic coagulant. Japan.
- Tarlan, E., Dilek, F.B., Yetis, U., 2002. Effectiveness of algae in the treatment of a wood-based pulp and paper industry wastewater. *Bioresource Technology*, 84, 1-5.
- Thompson, G., Swain, J., Kay, M., Forster, C.F., 2001. The treatment of pulp and paper mill effluent: a review. *Bioresource Technology*, 77, 275-286.
- Truscott, R., McCrohan, C.R., Bailey, S.E.R., White, K.N., 1995. Effect of aluminum and lead on activity in the freshwater pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52, 1623-1629.
- Tucker, K.A., Burton, G.A., 1999. Assessment of nonpoint-source runoff in a stream using *in situ* and laboratory approaches. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, 2797-2803.
- Tuersley, M.D., McCrohan, C.R., 1987. Food arousal in the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Behavioral and Neural Biology*, 48, 222-236.
- Ueno, H., Mori, T., Fujinaga, T., 2001. Topical formulations and wound healing applications of chitosan. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 52, 105-115.
- Untersteiner, H., Kahapka, J., Kaiser, H., 2003. Behavioural response of the cladoceran *Daphnia magna* to sublethal Copper stress--validation by image analysis. *Aquatic Toxicology*, 65, 435-442.
- US EPA, 1995. EPA office of compliance sector notebook project: profile of pulp and paper industry, Washington, DC 20460, pp. 16.
- US EPA, 1996. Gammarid acute toxicity test, Washington, DC 20460, pp. 11.
- Valette, P., de Choudens, C., 1992. Le bois, la pâte, le papier. Centre technique de l'industrie des papiers, cartons et cellulose ed, pp. 181, isbn: 2-90-6579-033.
- van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E., 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13, 57-149.
- Varma, A.J., Deshpande, S.V., Kennedy, J.F., 2004. Metal complexation by chitosan and its derivatives: a review. *Carbohydrate Polymers*, 55, 77-93.

-
- Verneaux, J., 1980. Fondements biologiques et écologiques de l'étude de la qualité des eaux continentales – Principales méthodes biologiques. in: Bordas (Ed.) La pollution des eaux continentales – Incidences sur les biocénoses aquatiques, Paris, pp. 345.
- Vymazal, J., 2005. Removal of heavy metals in a horizontal sub-surface flow constructed wetland. *Journal of Environmental Science and Health*, 40, 1369-1379.
- Wakabayashi, M., Konno, R., Nishiido, T., 1988. Relative lethal sensitivity of two daphnia species to chemicals. *Tokyo-to Kankyo Kagaku Kenkyusho Nenpo*, 126-128.
- Wallen, I.E., Greer, W.C., Lasater, R., 1957. Toxicity to *Gambusia affinis* of certain pure chemicals in turbid waters. *Sewage and Industrial Wastes*, 29, 695-711.
- Wang, C., Li, J., Wang, L., Sun, X., Huang, J., 2009a. Adsorption of Dye from Wastewater by Zeolites Synthesized from Fly Ash: Kinetic and Equilibrium Studies. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 17, 513-521.
- Wang, J.-P., Chen, Y.-Z., Ge, X.-W., Yu, H.-Q., 2007. Optimization of coagulation-flocculation process for a paper-recycling wastewater treatment using response surface methodology. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 302, 204-210.
- Wang, J.-P., Chen, Y.-Z., Yuan, S.-J., Sheng, G.-P., Yu, H.-Q., 2009b. Synthesis and characterization of a novel cationic chitosan-based flocculant with a high water-solubility for pulp mill wastewater treatment. *Water Research*, 43, 5267-5275.
- Wang, W.-X., Rainbow, P.S., 2008. Comparative approaches to understand metal bioaccumulation in aquatic animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148, 315-323.
- Ward, R.J.S., McCrohan, C.R., White, K.N., 2006. Influence of aqueous aluminium on the immune system of the freshwater crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *Aquatic Toxicology*, 77, 222-228.
- Watanabe, T., Masaki, K., Iwashita, K., Fujii, T., Iefuji, H., 2009. Treatment and phosphorus removal from high-concentration organic wastewater by the yeast *Hansenula anomala* J224 PAWA. *Bioresource Technology*, 100, 1781-1785.
- Wauer, G., Heckemann, H.-J., Koschel, R., 2004. Analysis of Toxic Aluminium Species in Natural Waters. *Microchimica Acta*, 146, 149-154.
- Wells, P.G., Depledge, M.H., Butler, J.N., Manock, J.J., Knap, A.H., 2001. Rapid Toxicity Assessment and Biomonitoring of Marine Contaminants -- Exploiting the Potential of Rapid Biomarker Assays and Microscale Toxicity Tests. *Marine Pollution Bulletin*, 42, 799-804.
- Welton, J.S., 1979. Life-history and production of the amphipod *Gammarus pulex* in a Dorset chalk stream. *Freshwater Biology*, 9, 263-275.

- Welton, J.S., Clarke, R.T., 1980. Laboratory studies on the reproduction and growth of the amphipod *Gammarus pulex* L. *Journal of Animal Ecology*, 49, 581-592.
- White, D.S., 1993. Perspectives on defining and delineating hyporheic zones. *Journal of the North American Benthological Society*, 12.
- Wibowo, S., Velazquez, G., Savant, V., Torres, J.A., 2005. Surimi wash water treatment for protein recovery: effect of chitosan-alginate complex concentration and treatment time on protein adsorption. *Bioresource Technology*, 96, 665-671.
- Wijnhoven, S.M.C., Van Riel, M.C., Van Der Velde, G., 2003. Exotic and indigenous freshwater gammarid species : physiological tolerance to water temperature in relation to ionic content of the water. *Aquatic Ecology*, 37, 151-158.
- Wilke, B.M., Riepert, F., Koch, C., Kahne, T., 2008. Ecotoxicological characterization of hazardous wastes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70, 283-293.
- Williams, D.D., Williams, N.E., 1993. The upstream/downstream movement paradox of lotic invertebrates: Quantitative evidence from a Welsh mountain stream. *Freshwater Biology*, 30, 199-218.
- Wilson, R.W., Bergman, H.L., Wood, C.M., 1994. Metabolic costs and physiological consequences of acclimation to aluminum in juvenile Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). 1: Acclimation specificity, resting physiology, feeding, and growth. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 51, 527-535.
- Wilson, R.W., Wood, C.M., Houlihan, D.F., 1996. Growth and protein turnover during acclimation to acid and aluminum in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 53, 802-811.
- Witters, H.E., 1998. Chemical Speciation Dynamics and Toxicity Assessment in Aquatic Systems. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 41, 90-95.
- Wogram, J., Liess, M., 2001. Rank ordering of macroinvertebrate species sensitivity to toxic compounds by comparison with that of *Daphnia magna*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67, 360-367.
- Wong, S.S., Teng, T.T., Ahmad, A.L., Zuhairi, A., Najafpour, G., 2006. Treatment of pulp and paper mill wastewater by polyacrylamide (PAM) in polymer induced flocculation. *Journal of Hazardous Materials*, 135, 378-388.
- Wu, F., Zhao, M., Chen, J., Tang, L., Fang, X., Yu, X., 2007. Coagulation decolourant for printing and dyeing waste water. China patent CN101215029.
- Yen, N.T., Oanh, N.T.K., Reutergard, L.B., Wise, D.L., Lan, N.T.T., 1996. An integrated waste survey and environment effects of COGIDO, a bleached pulp and paper mill in Vietnam in the receiving water body. *Global Environment Biotechnology*, 66, 349-364.

-
- Yu, Z., Mohn, W.W., 2001. Bacterial diversity and community structure in an aerated lagoon revealed by ribosomal intergenic spacer analyses and 16S ribosomal DNA sequencing. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 1565-1574.
- Yukselen, M.A., Gregory, J., 2004. The reversibility of floc breakage. *International Journal of Mineral Processing*, 73, 251-259.
- Zeng, D., Wu, J., Kennedy, J.F., 2008. Application of a chitosan flocculant to water treatment. *Carbohydrate Polymers*, 71, 135-139.
- Zhang, C., Wang, Y., 2009. Removal of dissolved organic matter and phthalic acid esters from landfill leachate through a complexation-flocculation process. *Waste Management*, 29, 110-116.
- Zhang, Q.H., Wang, X.C., Xiong, J.Q., Chen, R., Cao, B., 2010. Application of life cycle assessment for an evaluation of wastewater treatment and reuse project - Case study of Xi'an, China. *Bioresource Technology*, 101, 1421-1425.
- Zouboulis, A.I., Xiao-Li, C., Katsoyiannis, I.A., 2004. The application of bioflocculant for the removal of humic acids from stabilized landfill leachates. *Journal of Environmental Management*, 70, 35-41.
- Zouboulis, A.I., Moussas, P.A., 2008. Polyferric silicate sulphate (PFSiS): Preparation, characterisation and coagulation behaviour. *Desalination*, 224, 307-316.
- Zouboulis, A.I., Tzoupanos, N.D., 2009. Polyaluminium silicate chloride--A systematic study for the preparation and application of an efficient coagulant for water or wastewater treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 162, 1379-1389.
- Zouboulis, A.I., Tzoupanos, N., 2010. Alternative cost-effective preparation method of polyaluminium chloride (PAC) coagulant agent: Characterization and comparative application for water/wastewater treatment. *Desalination*, 250, 339-344.

Annexes

Annexe 1 : Résumés des publications scientifiques



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

European Polymer Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/europolj



Review article

Chitosan for coagulation/flocculation processes – An eco-friendly approach

F. Renault, B. Sancey, P.-M. Badot, G. Crini*

Université de Franche-Comté, Laboratoire Chrono-environnement, UMR 6249 UFC/CNRS usc INRA, Place Leclerc 25030 Besançon cedex, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 30 October 2008

Received in revised form 11 December 2008

Accepted 17 December 2008

Available online 25 December 2008

Keywords:

Biopolymer

Chitosan

Coagulation

Flocculation

Wastewater treatment

Bioflocculant

ABSTRACT

Chitosan is a partially deacetylated polymer obtained from the alkaline deacetylation of chitin, a biopolymer extracted from shellfish sources. Chitosan exhibits a variety of physico-chemical and biological properties resulting in numerous applications in fields such as cosmetics, biomedical engineering, pharmaceuticals, ophthalmology, biotechnology, agriculture, textiles, oenology, food processing and nutrition. This amino-biopolymer has also received a great deal of attention in the last decades in water treatment processes for the removal of particulate and dissolved contaminants. In particular, the development of chitosan-based materials as useful coagulants and flocculants is an expanding field in the area of water and wastewater treatment. Their coagulation and flocculation properties can be used to remove particulate inorganic or organic suspensions, and also dissolved organic substances. This paper gives an overview of the main results obtained in the treatment of various suspensions and solutions. The effects of the characteristics of the chitosan used and the conditions in solution on the coagulation/flocculation performance are also discussed.

© 2008 Elsevier Ltd. All rights reserved.



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Chemical Engineering Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/cej



Chitosan flocculation of cardboard-mill secondary biological wastewater

François Renault^a, Bertrand Sancey^a, Jérémie Charles^a, Nadia Morin-Crini^a, Pierre-Marie Badot^a, Peter Winterton^b, Grégorio Crini^{a,*}

^a Université de Franche-Comté, Chrono-environnement, UMR 6249 UFC/CNRS usc INRA, Place Leclerc, 25030 Besançon cedex, France

^b Université Paul Sabatier, Toulouse III, UFR Langues, 118 Route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 9, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 24 June 2009

Received in revised form 7 September 2009

Accepted 16 September 2009

Keywords:

Bioflocculation

Biological wastewater

Chitosan

Polyaluminium chloride (PAC)

Temperature

ABSTRACT

Flocculation is a common secondary treatment procedure for the removal of suspended solids, colloids and organic matter present in industrial wastewater. In the present study, the flocculation of cardboard industry wastewater, treated by a biological process in an aerated lagoon, was examined using commercial grade polyaluminium chloride (PAC) and chitosan (CHITO) dissolved in acetic acid as flocculating agents. A series of flocculation jar-tests was conducted under different conditions. The influence of the flocculant dosage and the temperature of the lagoon on the quality of the treated wastewater was investigated. Optimum temperature for PAC was in the range 13–21 °C for a dosage of 0.3–0.4 mL L⁻¹ but the results were highly temperature-dependent; PAC lowered chemical oxygen demand (COD) by 40–45% and turbidity by 55–60%. With CHITO, the process was more efficient than with PAC for an effective dosage of 7 mL L⁻¹ and no influence of temperature was observed. Chitosan lowered the COD by over 80% and turbidity by more than 85%. It generated bigger flocs making settling faster than with PAC. It also removed residual colour and led to a significant decrease in the amount of heavy metals present in the effluent.

© 2009 Elsevier B.V. All rights reserved.

Annexe 2 : Résumés des communications orales

Linking locomotor activity to bioaccumulation of aluminum in a freshwater amphipod (*Gammarus pulex*): *in situ* case study of a paper mill sewage. 2^{ème} Journées Internationales de Limnologie, Thonon-les-Bains, 6-8 octobre 2010.

The pulp and paper industry is very water consuming and generates high amounts of polluted effluents. Wastewaters from cardboard industry are a complex mixture of many contaminants of various types depending on their origin (organics, colloids, metals, solids, etc.) and, even after treatment, might constitute a source of low but chronic aquatic pollution. Therefore there is a crucial need of sensitive tests able to detect such contamination rapidly.

In order to characterize that pollution, we used non-lethal physiological-related responses. In this study, we focused on locomotor activity because of its role in feeding, predator/prey relations and reproduction: three parameters influencing the survival and the fitness of macrobenthos. In this context *Gammarus pulex* was chosen as test-organism because of its ecological and ecotoxicological relevance: it is at the base of the food web, ubiquitous in Europe, known to be sensitive to several contaminants including metals and easy to handle. The study has taken place in the river Doubs, a large river of the east of France (mean flow for the period = $53 \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$), considering that *in situ* bioassay using *G. pulex* have rarely been done in large river we expected this study to gave us valuable information on the use of this biomonitor in these conditions.

For that purpose, we developed an ecotoxicity assay called GamStat (Gammarids Station) consisting on the evaluation of locomotor activity of caged *G. pulex*. Groups of 6 cages, containing 10 individuals each, were placed upstream (two groups of controls) and downstream, at 10 and 100 m from the discharge, for 14 days.

Locomotor activity downstream the discharge was significantly reduced right after the third day of exposure and was constantly lower through the 14 days of survey. The second groups of GamStat showed the same inhibition 100 m downstream the discharge despite dilution effect. Aluminum accumulation tend to be higher downstream the discharge, but differences were not significant compared to upstream.

These results showed that *G. pulex* can be used as an easy to handle sentinel and that the response measured is sensitive, fast, easy to perform and feasible in large rivers.

Réponse sub-léthale in situ de *Gammarus pulex* (Amphipoda, Crustacea) entre l'amont et l'aval du rejet d'une papeterie. Colloque de la SEFA, Versailles, 31 mars et 1^{er} avril 2010.

La fabrication du papier nécessite une grande quantité d'eau et donc engendre autant d'eaux usées. Même après traitement, ces rejets contiennent des substances variées (composés organiques, colloïdes, métaux, matière en suspension ...) qui constituent une source de pollution aquatique faiblement concentrée mais continue. La détection rapide de ces contaminations multiples et chroniques mais modérées nécessite des tests biologiques plus sensibles que ceux qui sont utilisés en routine pour contrôler la qualité de l'eau.

Aussi, pour caractériser l'impact de ce type de flux polluants, avons-nous utilisée une méthode fondée sur la mesure d'une réponse physiologique autre que la mort pour une espèce à cycle purement aquatique, *Gammarus pulex*. Ce crustacé a été choisi comme organisme-test à cause de son action sur plusieurs maillons de la chaîne trophique aquatique, de son ubiquité en Europe, de sa sensibilité à de nombreux micropolluants y compris les métaux et de sa résistance aux manipulations. Nous avons privilégié la mesure de son activité locomotrice car elle conditionne ses aptitudes à la nutrition, à la fuite et à la reproduction qui déterminent à leur tour, à moyen terme, la survie et la dynamique des populations.

Ces principes ont été utilisés pour évaluer l'écotoxicité du rejet d'une papeterie dans une grande rivière (le Doubs, module = $51 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$). Des séries de 6 cages contenant chacune 10 *G. pulex* ont été placées, durant 14 jours, à l'amont, sur 2 stations témoins, et en aval, à 10 et 100 m du rejet.

L'activité locomotrice en aval du rejet a été réduite d'une façon significative juste après le troisième jour d'exposition. Puis elle est restée constamment inférieure à celle qui a été observée en amont tout au long des 14 jours d'exposition. En outre, aucune amélioration de la réponse n'a été observée à 100 m à l'aval du rejet, malgré la dilution. Ces résultats montrent que cette méthode de bioindication est sensible et opérationnelle, y compris dans de grandes rivières.

Toxicité de l'aluminium vis à vis de *Gammarus pulex* (Amphipoda, Crustacea) - Essai sur solutions préparées en laboratoire et sur effluents de station d'épuration. 15e Forum des Jeunes Chercheurs, Dijon, France, 25-26 Juin 2009.

L'aluminium est un élément ubiquiste de l'environnement dont l'entrée dans la chaîne alimentaire est conditionnée par sa biodisponibilité. C'est également, après le fer, le métal le plus utilisé dans l'industrie : dans le recyclage, la production d'alliage ou encore dans le traitement de surface. Enfin, il est souvent utilisé dans la production d'eau potable et le traitement des eaux usées sous forme de sels (chlorure de polyaluminium (PAC), sulfate d'aluminium, etc.).

Dans cette étude, nous nous intéressons à des concentrations faibles d'aluminium (de $6,4 \text{ mg L}^{-1}$ à $0,4 \text{ mg L}^{-1}$) autour de la norme que doit respecter un effluent de rejet ($< 5 \text{ mg L}^{-1}$). Ces concentrations entraînent généralement une réponse sublétales de l'organisme, ici le taux de locomotion, qui peut diminuer les capacités de survie et de reproduction de l'individu et donc diminuer la capacité de survie de la population. *Gammarus pulex* présentent les avantages d'être à la base de la chaîne alimentaire, c'est aussi un crustacé ubiquiste en Europe sensible à plusieurs métaux.

Trois types d'études ont été réalisées. Dans la première, différentes concentrations sublétales d'aluminium ont été testées à deux pH différents (pH~7,5 et pH 6). Une diminution de la réponse a été observée, à la fois lors de la diminution du pH ($\text{CE}_{50_{\text{pH}7,5}} = 2,6 \text{ mg L}^{-1}$, $\text{CE}_{50_{\text{pH}6}} = 0,75 \text{ mg L}^{-1}$), mais aussi lors de l'augmentation de la durée d'exposition (à pH6 $\text{CE}_{50_{3\text{jours}}} = 0,75 \text{ mg L}^{-1}$ et $\text{CE}_{50_{6\text{jours}}} = 0,71 \text{ mg L}^{-1}$). Dans une deuxième étude, un essai avec une solution commerciale de produit de traitement de l'eau a été réalisé (PAC). Il est apparu que cette solution était moins toxique que l'aluminium libre (à 3 jours $\text{CE}_{50_{\text{PAC}}} = 4,6 \text{ mg L}^{-1}$).

La biodisponibilité de l'aluminium est conditionnée par sa forme chimique : l'abaissement du pH augmente la solubilité de Al et donc facilite son entrée dans l'organisme, au contraire la solution commercial de PAC contient un aluminium sous forme polymérique qui passera difficilement les épithéliums.

Dans le troisième type d'étude, nous avons réalisé des mesures en utilisant des effluents provenant de trois stations d'épuration différentes. Nous avons choisi un effluent biologique issu d'une papeterie, un effluent chimique issu de la filière traitement de surface, et un effluent biologique issu d'une station communale d'épuration (120 000 habitants).

Chitosan for flocculation processes - An eco-friendly approach. 9th International Conference of the European Chitin Society, Venice, Italy, May 23-26 2009.


Coagulation/Flocculation is a frequently applied process in the primary purification of industrial wastewater (and some in cases in secondary and tertiary treatment). Coagulation using chemical coagulants consists of combining insoluble particles and/or dissolve organic matter into large aggregates, thereby facilitating their removal in subsequent filtration stages. It usually involves the dispersal of one or several chemical reagents which destabilises the colloidal particles, leading to the formation of micro-floc. Bonding the microfloc particles together by the addition of a flocculation additive forms larger, denser flakes that are easier to separate. A simple separation step then eliminates the floc.

The coagulants and flocculants frequently used are mineral additives including metal salts such as polyaluminium chloride (PAC) and synthetic polymers such as acrylamide. Using these chemical substances may have several environmental consequences: i) an increase in metal concentration in water (which may have human health implications); ii) production of large volumes of toxic sludge; and iii) dispersion of acrylamide oligomers which may also be health hazard. For these reasons, alternative coagulants and flocculants have been considered for environmental applications.

Biopolymers may be of great interest since they are natural low-cost products, characterized by their environmentally friendly behaviour. Among these biopolymers, chitosan may be considered as one of the most promising coagulation/flocculation materials. Chitosan possesses several intrinsic properties such as its non-toxicity, its biodegradability and its outstanding chelation behaviour that make it an effective coagulant and/or flocculant for the removal of contaminants in the dissolved state. It has also the physico-chemical characteristics of both coagulants and flocculants, i.e. high cationic charge density and long polymer chains, leading to bridging of aggregates and precipitation. Chitosan can be an alternative for the removal of pollutants from pulp and paper industrial wastewater. The performance of chitosan was compared to PAC, a commonly used flocculant. The results will be presented in this lecture.


Annexe 3 : Images des communications affichées

Use of chitosan as a bioflocculant to treat biological wastewater from pulp and paper plant



INRA Transfert
Filiale de l'INRA

François Renault, Bertrand Sancey, Pierre-Marie Badot and Grégorio Crini*
CNRS/Université de Franche-Comté UMR 6249 Chrono-Environnement usc
INRA, Place Leclerc F-25030 Besançon Cedex (*gregorio.crini@univ-fcomte.fr)



CHRONO ENVIRONNEMENT
INRA USC CNRS

Introduction

One of the most widely used coagulant in wastewater treatment is the inorganic poly-aluminium chloride (PAC). PAC is a source of concern since low concentration in water may have environmental toxicity on the long run [1]. Environmentally friendly coagulants like chitosan could be an interesting alternative in the treatment of wastewater [2].

Materials & Methods

Powder chitosan (commercial grade) was used for the preparation [3] of the bioflocculant solution:

- 540 g of chitosan was hydrated in 17 L of distilled water for 24 h;
- 1 L of acetic acid (99.7 %) was added to the suspension and rapidly mixed for 3 h;
- Bioflocculant was used within 48 h.

Industrial wastewater from paper plant (*OTOR papeterie du Doubs* (Novillars, France)) was used. It was collected from a biological treatment. Experiments were carried out at a semi-industrial scale (800 L of wastewater in a giant Jar-test apparatus). In a 1 m³ tank, wastewater and dissolved chitosan were mixed for 2 min using an industrial agitator.

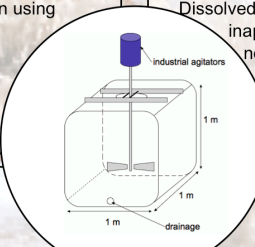
Experiments were performed in december 2008 at an ambient temperature of 1°C and an effluent temperature of 9°C. After 2 hours of settling, pH, COD, residual turbidity and trace metal of the supernatant were taken.

Results & Discussion

At a semi-industrial scale experiment, dissolved chitosan removed : 44.9 % of COD (*fig. 1*), 66 % of turbidity (*fig. 1*) most of the trace metal (*fig. 2*) with no increase in Al concentrations (*tab. 1*). With a concentration as high as 10 L m⁻³ no pH variation occurred compared to control (*fig. 3*). On the contrary, an increase of PAC modified pH. Those results were compared to the removal of the industrial treatment with PAC (0.3 L m⁻³): 43.1 % of COD, 57.7 % of turbidity, increase of aluminium.

Moreover, chitosan removed the yellowish color (see picture) due to the toxic lignocellulosic compounds in paperfiber.

Dissolved chitosan has shown better results than PAC in inappropriate experimental conditions (low temperature, non-optimal mixing, etc.), like those in industrial treatment. However, even if semi-industrial experiments are conclusive, the quantity needed was still 30 times higher compared to those required with PAC for the same results.



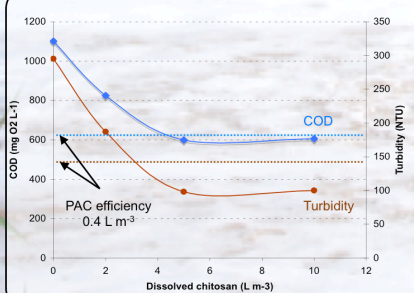


Figure 1 : COD and turbidity variation of supernatant with increasing concentration of dissolved chitosan

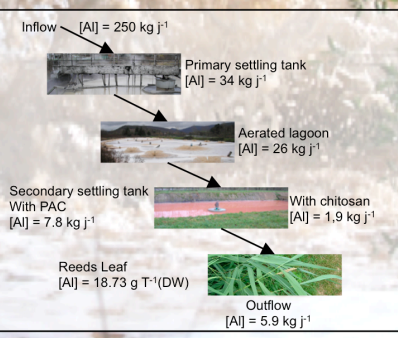
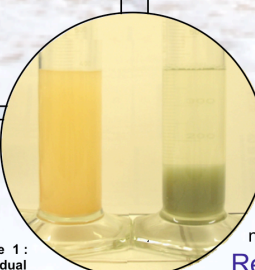


Figure 2 : Aluminium variations in treatment plant and with chitosan treatment



	Control	PAC	Chitosan
Pb	63 g j ⁻¹	2.2 g j ⁻¹	1.3 g j ⁻¹
Ni	30 g j ⁻¹	16 g j ⁻¹	25 g j ⁻¹
Zn	0.7 g j ⁻¹	33 g j ⁻¹	0.4 g j ⁻¹
Al	5.5 kg j ⁻¹	7.8 kg j ⁻¹	1.9 kg j ⁻¹

Table 1 : Residual trace metal with dissolved chitosan treatment (10 L m⁻³) and after PAC treatment (0.3 L m⁻³)

Conclusions

Dissolved chitosan is a good flocculating agent at semi-industrial scale which opens the way to industrial experiments. However, more economic studies will be needed in order to use it routinely.

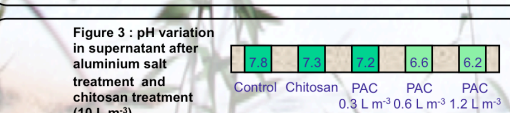



Figure 3 : pH variation in supernatant after aluminium salt treatment and chitosan treatment (10 L m⁻³)


References

[1] Renault *et al.*, 2009, Eur. Pol. J., doi:10.1016/j.eurpolymj.2008.12.027
 [2] Crini and Badot, 2008, Progr. in Polym. Sci., 33, 399-447
 [3] Guibal *et al.*, 2006, Sep. Sci. and Technol., 41, 2487-2514




EUCHI 2008

9th International Conference of The European Chitin Society
 23-26 MAY 2009 - San Servato Island - Venezia - ITALY



OTOR papeterie du Doubs (Novillars, France)



INRA Transfert (département valorisation, Paris France).

French Ministry of Research and Education

CNRS

Région de Franche Comté

In situ sublethal responses of *Gammarus pulex* (Amphipoda, Crustacea) upstream and downstream of the discharge of cardboard mill effluents



François Renault, Bertrand Sancey, François Degiorgi, Grégorio Crini and Pierre-Marie Badot
 UMR Chrono-Environnement (6249 CNRS/UFC)
 Place Leclerc - F-25030 Besançon cedex - France
pierre-marie.badot@univ-fcomte.fr

General Context:

The European directive 2000/60/EC aims at the progressive reduction of pollutant discharges, emissions and losses in freshwater. In this context, there is a crucial need to develop relevant tools to detect pollutant effects occurring at low doses.

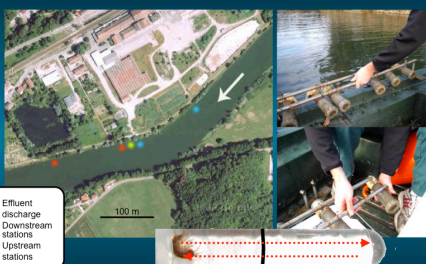
Aims and scope:

- ➔ Use of *Gammarus pulex* sublethal responses as a tool for water quality assessment in large river
- ➔ Evaluation of locomotor activity as a better endpoint to assess impact of trace pollutants

Material and Methods:

Type of pollutions:
 ➔ Papermill discharge containing organic matter (COD), metals and organics compounds [1]

The Doubs river:
 ➔ Mean flow = 53 m³ s⁻¹



- Organism:
 ➔ *G. pulex*
 ➔ Ecological relevance, sensitivity, ubiquity
- Cage:
 ➔ Downstream and upstream the discharge
 ➔ 6 cages/station; 10 *G. pulex* / cage
- Locomotor activity [2]:
 ➔ Number of line crossing in 2 min

Results and Discussion:

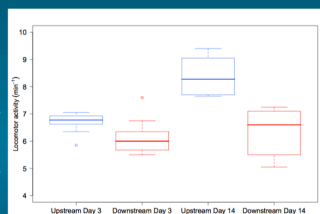
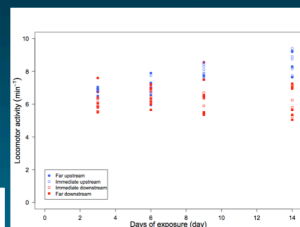
Survival rates

Days of exposure	Mean Survival rates (%; 12 cages)			
	3	6	9	14
Upstream	95.8 (±6.7)	94.2 (±9.0)	90.8 (±7.9)	88.3 (±8.3)
Downstream	92.5 (±9.7)	88.3 (±8.3)	84.2 (±12)	80.8 (±14)
<i>p</i> -value (perm-Test)	0.175	0.141	0.159	0.252

- ➔ No statistical differences
- ➔ Not a discriminating endpoint

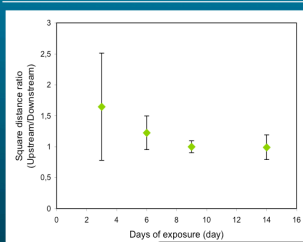
Locomotor activity

- ➔ significantly reduced through the 14 days of exposure



Locomotor activity inhibition

- ➔ Initially weak but significant
- ➔ Higher and persistent over time



- ### Locomotor activity variability
- ➔ similar after 9 days of exposure
 - ➔ Same intrinsic variability

- ➔ 9 days of acclimatisation is a minimum

- ➔ Pollution is rapidly detected

The *Gammarus pulex* locomotor activity based bioassay may constitute a complementary, valuable and easy to handle tool to monitor water quality. The bioassay does not involve any contact between the animals and the sediment and only focuses on water quality. However, the question of its reliability with respect to habitat variability has still to be investigated.

Conclusions:

The present results bring evidences that *G. pulex* could be used as a valuable environmental biomonitor. The test organism is easy to handle, its response is rapid and relevant to detect low dose multi-contamination.

References

- [1] Renault et al, 2009, Chem. Eng. J. 3: 775-783
- [2] Felten et al, 2007, Comp. Biochem. Physiol. C. 147: 189-197

Acknowledgments



23-27 May 2010
 Sevilla - España

Elimination de la turbidité des eaux de rivière par du chitosane : une manière éco-compatible de produire de l'eau potable

François Renault, François Mann,
 Pierre-Marie Badot et Grégorio Crini
 francois.renault@univ-fcomte.fr
 gregorio.crimi@univ-fcomte.fr

Introduction

Problématiques industrielles

- ➔ Eau de bonne qualité sanitaire (santé publique, société civile, législateur)
- ➔ Dégradation importante de la qualité des eaux des milieux naturels pompées pour la potabilisation

Problématique scientifique

- ➔ Floculation d'acide humique en milieu acide par le chitosane : essai laboratoire uniquement
- ➔ Aluminium mis en cause dans des problématique de santé publique (ostéomalacie, anémie, maladie neuro-dégénérative) [1]

Paramètres défavorables :

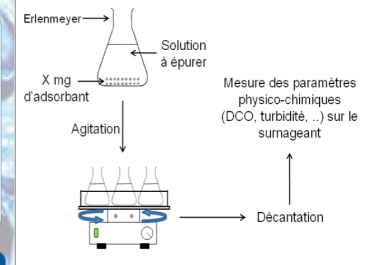
- ➔ Utilisation du chitosane en solution neutre voir basique (problème de déprotonation et don d'efficacité)
- ➔ Utilisation sur des eaux réelles, présence de perturbateur non maîtrisés.

Matériels et méthodes

La méthode dite en « batch » permet de réaliser les expérimentations de bioadsorption à l'échelle laboratoire avec des solutions réelles [2]

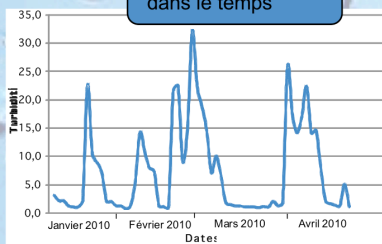
Pour réaliser les expériences:

- ➔ Eaux issus de la rivière la Loue
- ➔ Chitosane grade technique (degré de désacétylation ~80%)
- ➔ Agitation à 300 rpm pendant 30 minutes pour optimiser la dose de bioadsorbant

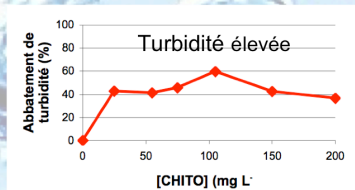
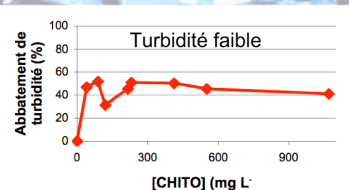


Résultats et discussions

Turbidité fluctuante dans le temps



- ➔ Optimisation à des turbidités différentes
- ➔ Passé sous 1 NTU



60 % de turbidité en moins

- ✓ Abattement variable et fonction de la turbidité initiale de l'eau brute
- ✓ Abattement maximal de la turbidité pour une gamme comprise entre 50 et 150 mg L⁻¹ de chitosane

Dose de CHITO	Turbidité brute initiale	Turbidité après adsorption
50 mg L ⁻¹	22,4	4,0
75 mg L ⁻¹	1,5	0,7

Besoin de post-traitement pour turbidité forte

Conclusion

Cette étude est l'une des première menée sur la production d'eau potable par le chitosane. Les premiers résultats montre que le chitosane a le potentiel pour se substituer au sels d'aluminium. La littérature nous montre que le chitosane a aussi une capacité d'abattement de micropolluants (PCB, nitrate, pesticides, etc.) [3].

- [1] Flaten et al, 2001, Brain Res Bull, 55:187-196
- [2] Crini et Badot, 2007, PUFC, 352pp
- [3] Qu, 2008, J Environ Sci, 20:1-13

Glossaire

Bioamplification - Augmentation cumulative de la concentration d'une substance persistante dans les tissus biologiques au fur et à mesure de l'augmentation du niveau trophique.

Bioindication - Evaluation de la qualité physicochimique d'un milieu par utilisation d'organismes vivants et de leurs réponses biologiques consécutives à une exposition à une contamination.

Coagulation - Phénomène physicochimique d'agrégation des particules colloïdales d'une solution qui, grâce à l'ajout d'une substance chimique, permet de supprimer les forces répulsives entre particules par des mécanismes de déstabilisation et de neutralisation de leur charge.

Complexation - Mécanisme physicochimique permettant d'expliquer la formation d'édifices moléculaires par la formation d'interactions entre différentes molécules (ou ions).

Degré d'acétylation (DA) - Rapport du nombre de motifs comportant un groupement acétyle sur le nombre de motifs total de la macromolécule exprimé en pourcentage.

Dystrophisation - Dérèglement du fonctionnement trophique normal d'un système aquatique par une augmentation de la concentration en nutriment entraînant une surproduction du phytoplancton et des phanérogames.

Floculation - Mécanisme physicochimique d'agglomération de particules colloïdales déstabilisées pour former un floc (ou agglomérat de colloïdes).

LOEC (*Lowest Observed Effect Concentration*) - Plus petite concentration de contaminant testée entraînant un effet sur l'organisme.

NOEC (*No Observed Effect Concentration*) - Plus forte concentration de contaminant testée n'entraînant pas d'effet sur l'organisme.

Pollution - Dégradation des conditions chimiques, physiques ou biologiques de tout ou partie d'un biotope par introduction direct ou indirect d'un agent altérant le fonctionnement de l'écosystème.

Potentiel zêta – Caractéristique des forces répulsives entre particules (colloïdes) présents dans une solution qui est déterminée par la mesure des vitesses de déplacement d'une particule soumis à un champ électrique.

Qualité physicochimique des eaux – Ensemble de critères physicochimiques qui définit le degré de pureté, et en conséquence, son aptitude aux divers usages alimentaires, domestiques, agricoles ou industriels.

Siccité - Pourcentage massique de matière sèche dans un produit ou un déchet.

Taxon - Groupe d'êtres vivants constituant une unité systématique d'un niveau hiérarchique donné (variété, espèce, genre, famille, classe, embranchement, etc).



Résumé

Pour diminuer le risque de pollution du milieu aquatique, les systèmes de traitement doivent extraire ou immobiliser les contaminants. L'industrie papetière, l'une des plus consommatrices d'eau avec l'agroalimentaire, utilise souvent un lagunage aéré assisté par des sels métalliques pour traiter ses eaux. Ces traitements sont efficaces mais température dépendants. Parmi les nombreux procédés de substitution proposés, l'un d'eux est prometteur : la biofloculation par une substance naturelle, le chitosane. L'objectif principal de ce travail a été de développer et d'étudier le comportement du chitosane dans la décontamination des eaux de la filière papetière et de caractériser l'impact environnemental du procédé.

Les essais de biofloculation en laboratoire ont montré que le chitosane est efficace avec respectivement 45 à 80 % et 71 à 94 % d'abattement de DCO et de turbidité alors que le traitement conventionnel n'abat que 25 à 68 % et 45 à 80 % respectivement. Des essais semi-industriels ont pu être menés *in situ*. Contrairement aux sels d'aluminium, le chitosane abat également les métaux et permet la décoloration des eaux. L'étude de l'impact environnemental du procédé a été menée en utilisant *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda). Les études écotoxicologiques en conditions semi-contrôlées ont montré que les eaux traitées par le chitosane étaient moins toxiques que celles traitées par le procédé conventionnel. L'inhibition du taux de locomotion est moins élevée et de plus faibles accumulations d'aluminium sont observées.

Il est possible de conclure que la biofloculation par du chitosane est un procédé chimiquement efficace et environnementalement intéressant. Sa viabilité économique est envisageable mais ce point doit être approfondi pour intégrer les gains qu'engendreront la structuration de la filière productrice et les économies d'échelles.

Mots clés

Chitosane, Traitements des eaux, Eaux industrielles, Lagunage, Biofloculation, PAC, Aluminium, Essais pilotes, Essais écotoxicologiques, *Gammarus pulex*

Abstract

In order to decrease probabilities of contaminations of aquatic systems, processes of treatment need to remove or to immobilise contaminants. The paper industry, one of the most water consuming industry with agro-alimentary, uses lagoon assisted by metallic salts to treat wastewater. These treatments are efficient but temperature dependant. Among the numerous substitutions processes offered, one of them is promising: the biofoculation by a natural product, the chitosan. The main objective of this work was to develop and to study the performance of chitosan in the decontamination of paper mill's wastewaters and to assess the environmental impact of the process.

Laboratory scale biofloculation assays demonstrated the effectiveness of chitosan with respectively 45 to 80 % and 71 to 94 % COD and turbidity removal while conventional treatment removed 25 to 68 % and 45 to 80 % respectively. As a consequence, semi-industrial scale assays have been run. Contrary to PAC, chitosan also removed metals and wastewater coloration. Environmental impact study of the process was carried out using *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda). Ecotoxicological studies in semi-controlled conditions demonstrated that wastewaters treated by chitosan were less ecotoxic than the conventionally treated ones (less locomotor activity inhibition or aluminium accumulation).

It is possible to conclude that biofloculation by chitosan is a chemically efficient and an environmentally interesting process. Its economic viability is conceivable but this point has to go further into in order to take into account the benefits generate by the structuralisation of the producing industry and the savings of scale.

Key words

Chitosan, Wastewaters treatments, Industrials wastewaters, Lagoon, Biofloculation, PAC, Aluminium, Pilots assays, Ecotoxicological assays, *Gammarus pulex*