



Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse)

Discipline ou spécialité :

Hydrologie, Hydrochimie, Sols, Environnement

Présentée et soutenue par :

Mme LOUBNA EL FELS

le samedi 20 décembre 2014

Titre :

SUIVI PHYSICO-CHIMIQUE, MICROBIOLOGIQUE ET
ECOTOXICOLOGIQUE DU COMPOSTAGE DE BOUES DE STEP
MELANGEES A DES DECHETS DE PALMIER: VALIDATION DE
NOUVEAUX INDICES DE MATURITE

Ecole doctorale :

Sciences de l'Univers de l'Environnement et de l'Espace (SDUEE)

Unité de recherche :

Ecologie Fonctionnelle (ECOLAB)

Directeur(s) de Thèse :

M. ERIC PINELLI

M. MOHAMED HAFIDI

Rapporteurs :

M. MOHAMMED RIHANI, UNIV. CHOUAÏB DOUKKALI - EL JADIDA

M. RACHID MRABET, INSTITUT NAT. DE LA RECH. AGRONO. RABAT

Membre(s) du jury :

M. ANDRÉ AMBLES, UNIVERSITE DE POITIERS, Président

M. ERIC PINELLI, INP TOULOUSE, Membre

M. MOHAMED HAFIDI, UNIV. DE CADI AYYAD MARRAKECH MAROC, Membre

M. YEDIR OUHDOUCH, UNIV. DE CADI AYYAD MARRAKECH MAROC, Membre

Avant Propos

FICHE PRESENTATIVE DE LA THESE

Cette thèse fait l'objet d'une cotutelle au sein du Laboratoire Ecologie et Environnement (L2E) (Unité associée au CNRST, URAC32), Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad de Marrakech sous la direction du Professeur Mohamed HAFIDI, conjointement avec le Laboratoire Ecolab (UMR 5245, CNRS-INPT-UPS), Institut National Polytechnique Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse ENSAT, INPT sous la direction du Professeur Eric PINELLI.

Nom et prénom de l'auteur : Loubna EL FELS

Intitulé du travail :

Suivi physico-chimique, microbiologique et écotoxicologique du compostage de boues de STEP mélangées à des déchets de palmier: validation de nouveaux indices de maturité.

Directeurs de thèse :

- Nom, Prénom: Professeur **Mohamed HAFIDI**.

Laboratoire Ecologie et Environnement (L2E) (Unité associée au CNRST, URAC32), Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad Marrakech, Maroc.

- Nom, Prénom: Professeur **Eric PINELLI**

Laboratoire Ecolab (UMR 5245, CNRS-INPT-UPS), Institut National Polytechnique Ecole Nationale Supérieure Agronomique ENSAT, INP, Toulouse, France.

Laboratoires où les travaux de cette thèse ont été réalisés :

- Laboratoire Ecologie et Environnement (L2E) (Unité associée au CNRST, URAC32), Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech-Maroc.

- Laboratoire Biologie et Biotechnologie des Microorganismes, Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech- Maroc.

- Laboratoire Physico-Chimique des Matériaux et Environnement (LPCME), Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech- Maroc.
- Laboratoire Ecolab (UMR 5245, CNRS-INPT-UPS), Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse ENSAT, Institut National Polytechnique de Toulouse, France.
- Laboratoire Synthèse et Réaction des Substances Naturelles (SRSN) à l'Université de Poitiers, France.

Cadre de Coopération-soutien financier :

- URAC 32 (Unité associée au CNRST)
- Bourse d'Excellence Eiffle du gouvernement Français N° de dossier 783997j

Date du commencement des travaux de recherche: Octobre 2013.

Publications et communications aux quelles ce travail a donné lieu :

Publications :

1. **El Fels L., Zamama M., El Asli A., Hafidi M. (2014):** Assessment of biotransformation of organic matter during co-composting of sewage sludge-lignocelulosic waste by chemical FTIR analyses and phytotoxicity tests. **International Biodeterioration and Biodegradation, 87, 128-137.**
2. **El Fels L., Lemee L., Ambles A., Hafidi M. (2014):** Identification and biotransformation of lignin compounds during co-composting of sewage sludge-palm tree waste using pyrolysis-GC/MS. **International Biodeterioration and Biodegradation, 92, 26-35.**
3. **El Fels L., EL Ouaquoudi F. Z., Lemee L., Winterton P., Merlina G., Ouhdouch Y., Pinelli E., Ambles A., Hafidi M. (2014):** Identification and assay of the microbial fatty acids during co-composting of active sewage sludge with palm waste by TMAH-thermochemolysis coupled with GC-MS. **Chemistry and Ecology. DOI:10.1080/02757540.2014.932782.**

4. **El Fels L.**, El Ouaqoudi F.Z., Barje F., Hafidi M., Ouhdouche Y. (2014): Two cultures approaches used to determine the co-composting stages by assess of the total microflora change during sewage sludge and date palm waste co-composting. **Journal of Environmental health Science and Engineering 12:132. DOI: 10.1186/s40201-014-0132-4.**
5. El Ouaqoudi F.Z., **El Fels L.**, Winterton P, Lemee L, Ambles A, Hafidi M, (2014), Study of humic acids during composting of ligno-cellulose waste by spectroscopic (FTIR) and thermal (TGA/TDA) analysis. **Compost Science and Utilization, 22(3), 188-198.**
6. **El Fels L.**, El Asli A., Ouhdouch Y., Hafidi M. (2014): Effect of co-composting on helminth eggs removal. **Environmental Engineering and Management (accepted, in press).**
7. **El Fels L.**, Ouhdouch Y., Hafidi M. (2014): Use of the co-composting time extract agar to evaluate the microbial community changes during the co-composting of activated sludge and date palm waste. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture (accepted, in press).**
8. **El Fels L.**, Hafidi M., Silvestre J., Kallerhoff J., Merlina G., Pinelli E. (2014): The efficiency of co-composting process to remove genotoxicity from sewage sludge containing hexavalent chromium. Ecological Engineering (submitted).
9. **El Fels L.**, Lemee L., Geffroy C., Ambles A., Hafidi M. (2014): Transformation of steroid compounds during co-composting of date palm-sewage sludge as evidenced by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry coupling. Ecological Engineering (submitted).
10. **El Fels L.**, Hafidi M., Ouhdouch Y. (2014): Screening for antimicrobial microflora from active sludge and date palm waste compost and actinobacteria sanitization activities. Environmental Technology (submitted).

Communications :

1. **El Fels L.**, Lemee L., Winterton P., Merlina G., Ouhdouch Y., Zamama M., Pinelli E., Ambles A., Hafidi M. Assessment of microbial community signatures during co-composting of active sewage sludge and lignocellulosic waste by TMAH-thermochemolysis coupled with gas chromatography-mass spectrometry. Eurasia waste management symposium, 28-30 April, Istanbul, 2014 Turkey.
2. Elouaqoudi F.Z., **El Fels L.**, Agronomic evaluation of the effect of composts resulting from treatment by composting of a lignocellulosic substrate. Eurasia waste management symposium., 28-30 April, Istanbul, 2014 Turkey.
3. **El Fels L.**, Ouhdouch Y., Lemee L., Pinelli E., Ambels A., Hafidi M. Bio-Transformation of Lignin compounds during co-composting of sewage sludge-date palm waste using pyrolysis-GC/MS technique and assessment of maturity of compost. 4eme édition du congrès international : Eau, Déchets et Environnement., 18- 20 Décembre, Agadir, 2013- Maroc.
4. **El Fels L.**, El Assli A., Ouhdouch Y., Hafidi M. Monitoring of parasitological contamination of compost product and efficiency of co-composting process removal of sludge helminthes eggs. 4^{eme} édition du congrès international: Eau, Déchets et Environnement., 18- 20 Décembre, Agadir, 2013- Maroc.
5. **El Fels L.**, Boukeskase A., Chafii K., Ouhdouch Y., Hafidi M. Indigenous microflora evolution during co-composting of sewage sludge and date palm waste. 4eme édition du congrès international : Eau, Déchets et Environnement., 18- 20 Décembre, Agadir, 2013- Maroc.
6. **El Fels L.**, Ouhdouch Y., Lemee L., Ambels A., Hafidi M. Characterization of organic compounds by pyrolysis and assessment of maturity of compost sludge of step. The Second Edition of the International Congress : "Microbial Biotechnology for Development" (MICROBIOD 2) 02-04 October, Marrakech, 2012-Morocco.
7. El Hassan C., **El Fels L.**, Ouhdouch Y., Hafidi M. Traitement de boues issues des bassins d'évaporation des rejets d'huileries d'olives par le procédé de compostage. The Second Edition of the International Congress: "Microbial Biotechnology for Development" (MICROBIOD 2) 02-04 October, Marrakech, 2012-Morocco.

8. **El Fels L.**, Ouhdouche Y., Duponnois R., Hafidi M. Evaluation de la phytotoxicité au cours de la biotransformation aérobie des boues de step (Boues activées). Third International Symposium of Microbial Biotechnologies « Technological Innovations & Valorization of Biomolecules » CIBM, 15 to 17 March, Tangier, 2012- Morocco.
9. **El Fels L.**, Seyni Hasimi M., Ouhdouch Y., Duponnois R., Amblèse A., Lemee L., André, Moukrim A., Hafidi M. Biological breakdown during composting: case of sludge from Marrakesh waste water purification station. Water and Environment International conference "WATEIC-2011. 26-29 October, Marrakech, 2011, Maroc.
10. **El Fels L.**, Meddich A., Duponnois R., Ambles A., Lemee L., Hafidi M. Traitement de boues de step par la filière de compostage. La 6^{ème} Edition des Journées Internationales des Géosciences de l'Environnement. 21-23 Juin, Oujda, 2011, Maroc.
11. **El Fels L.**, Hafidi M. Gestion d'assainissement liquid et épuration des eaux uses au Maroc. Colloque Scientifique International, 21-25 Avril, 2011, Togo.
12. **El Fels L.**, Meddich A., Duponnois R., Moukrim A., Hafidi M. Traitement et valorisation de boues de step par la filière de compostage. 1^{er} workshop Maroc-Tunisien Traitement et valorisation des eaux usées et des déchets organiques biodégradables. 21-23 Mars, Casablanca, 2011, Maroc.

Résumé

Le traitement de boues de station d'épuration (Boues activées de Marrakech) en mélange avec déchets verts (Palmier dattier) selon deux mélanges dont les proportions : A (1/3 Boues + 2/3 Déchets de palmier) et B (1/2 Boues + 1/2 Déchets de palmier), a été effectué par la filière du compostage, pendant six mois. Au cours du co-compostage, l'intense activité microbienne s'est traduite par une augmentation de température (autour 65 °C) au cours des premières semaines (phase thermophile) et un taux de décomposition final de l'ordre de 40%. Après six mois de co-compostage, le compost final est caractérisé par un rapport C/N voisin de 10, un rapport de $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^- < 1$, un pH autour de la neutralité signe de maturité des composts. L'analyse FTIR a montré une diminution de l'absorbance des bandes aliphatiques et l'augmentation de la structure de bandes d'absorbance aromatiques reflètent l'état d'avancement du processus d'humification.

Le taux d'abattement des lipides totaux est de l'ordre de 43%. Les esters méthyliques d'acide gras (FAMES) des Gram-positif (i,C15 :0) ont augmenté durant la phase thermophile. Les FAMES d'origine non spécifique (C6 :0, C14 :0) ont connu une intense diminution, les FAMES de bactéries non spécifiques représentent une grande teneur durant la phase thermophile. L'indice CPI a augmenté à la fin du co-compostage indiquant l'enrichissement du compost en FAMES d'origine végétale. Les principaux composés ligneux identifiés, au cours du co-compostage, par Py-GC-MS, sont classés en deux groupes. Le premier est constitué de 7 composés dont la teneur diminue au cours du co-compostage, parmi lesquels : Toluène, 2,4-diméthylbenzène, éthylbenzène, Styrene, 1-éthyl-2-méthylbenzène, 4-méthylphénol et 2-méthyl-naphthalène. Le deuxième groupe est constitué de 4 composés qui augmentent au cours du co-compostage : phénol, benzofuran, éthylméthoxyphénol et diméthoxyphénol. Les principaux stéroïdes identifiés sont les C₂₇-C₂₉ stéroïdes, stanols, 5 β -cholesta-3-one, cholesta-3,5-diène et 2 thio-stéroïdes. A l'exception des thio-stéroïdes et quelques composés de C₂₇-C₂₉ cholestérols la concentration relative des stéroïdes diminue au cours du processus suite à leur attaque microbienne. L'abattement total de la teneur des stéroïdes est corrélé positivement avec les indicateurs de maturité du compost (C/N et $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$) ce qui ouvre la voie à une éventuelle utilisation des stéroïdes comme indicateur de dépollution et de maturité de compost.

12 isolats d'actinomycètes ayant une activité antimicrobienne vis-à-vis d'un large spectre des germes pathogènes ont été isolés sur le milieu sélectif CTEA. Le degré d'hygiénisation est confirmé par la diminution de la concentration des coliformes fécaux et totaux, et l'abattement des œufs d'helminthes identifiés (*Ascaris sp.*, *Capillaria sp.*, et *Trichuris sp.*) vers la fin du co-compostage.

La phytotoxicité, déterminée par l'effet des extraits hydrosolubles à différents stades de co-compostage sur la germination et la croissance des radicules (Navet, Cresson, Laitue, Luzerne), a diminué et l'indice de germination dépasse 100%, après six mois de co-compostage. La génotoxicité du chrome hexavalent (Cr(VI)) du substrat de co-compostage est corrélée positivement avec la fréquence des micronoyaux (MN). Après six mois de co-compostage le taux des MN diminue avec un taux d'abattement de 70,4% et 77,2% avec l'abattement de la concentration du Cr(VI) avec 58 et 58,6% respectivement pour le mélange A et B. Ceci ouvrira la voie d'utilisation de cet indice comme un indice de maturité des composts.

La diminution de la phytotoxicité et la génotoxicité au cours du co-compostage confirme l'état de stabilisation et de la maturité des co-composts, ce qui permettra l'épandage de ces composts en tant qu'amendement organique des sols sans risque de contamination du système sol-plante.

Mots clés : Co-compostage, Boues activées, Déchets de palmier, FAMES, Lignine, Stéroïdes, Phytotoxicité, Génotoxicité, Oeufs d'helminthes, Champignons thermotolérants, Actinomycètes, FTIR, TMAH-Py-GC-MS, Indices de maturité.

Abstract

The co-composting of activated sludge and lignocellulose waste (palm tree waste) was monitored to study the behaviour of two mixtures, referred to as A (1/3 sludge + 2/3 palm waste) and B (1/2 sludge + 1/2 waste palm) for 6 months. The biotransformation was evaluated by physicochemical and spectroscopic analyses. The thermophilic phase is characterized by a rise in temperature, which peaked at 65°C. This is the result of intense microbial activities. The final composts exhibited a higher degree of decomposition than the controls as shown by a decomposition rate of about 40%, decrease of C/N ratio to around 10 and $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratio below 1. The decrease of aliphatic absorbance bands and the increase of aromatic absorbance bands follow the progress of the humification process. Total extractable lipid was decreased by 43%. The fatty acid methyl esters (FAMES) from Gram-positive bacteria (i, C15:0) increased during the thermophilic phase. FAMES from non-specific origin (C6:0, C14:0) exhibited a decrease toward the end of co-composting, linear FAMES from non-specific bacteria underwent a decrease during co-composting. The CPI index thus increased at the end of the composting process, indicating that the final product was proportionally richer in fatty acids of plant origin. Two lignin groups were distinguished by Py-GC-MS. Group 1 contained toluene, 2,4-dimethylbenzene, ethylbenzene, styrene, 1-ethyl-2-methylbenzene, 4-methylphenol and 2-methylnaphthalene; their relative proportions decreased during co-composting. A second group of 4 components showed concentrations that increased with co-composting time: phenol, benzofuran, ethylmethoxyphenol and dimethoxyphenol. The main steroids identified were C_{27} - C_{29} sterenes and stanols, 5 β -cholesta-3-one, cholesta-3,5-diene and 2 thiosteranes. Except for thiosteranes and some of the C_{27} - C_{29} cholestenes, the relative concentrations decreased during co-composting due to microbial degradation. The changes in steroids during co-composting, was positively correlated with the physico-chemical parameters of mature compost, especially C/N and $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratios, opening the way for the use of steroids as indicators of pollution and compost maturity.

On the selective CTEA medium, 12 active strains of isolated actinobacteria presented a suppressive action against various pathogens. This may justify that a biotic factor is also an important factor contributing to making co-composting substrates hygienic. The degree hygiene reached is confirmed by the reduction in the faecal and total coliforms, and by the abatement of identified helminth eggs (*Ascaris* sp., *Capillaria* sp., and *Trichuris* sp.) towards the end of the process. The phytotoxicity determined by the effect of aqueous extract, at various stages of the co-composting, performed by monitoring the number of germinated seeds and the rootlets growth of turnip, watercress, alfalfa, and lettuce was decreased, and the growth of radicals that have a germination index that exceeds 100% after six months of co-composting. Hexavalent chromium (Cr(VI)) genotoxicity showed a positive correlation with micronucleus (MN) frequency. After six months of co-composting, the MN rate decreased significantly by 70.4 and 77.2% with decreasing Cr(VI) concentration with 58 and 58.6%, for mixtures A and B respectively. That indicates their suitability for use as a maturity index. During co-composting the abatement rate of phytotoxicity and genotoxicity confirms the maturation and stabilization degree of co-composting end products which encourages their recycling in agriculture as a fertilizer for the soil without any contamination of the soil-plant system.

Key words: Co-composting, Activated sludge, Date palm waste, FAMES, Lignin, Steroids, Phytotoxicity, Genotoxicity, Helminth eggs, Thermotolerant fungi, Actinobacteria, FTIR, TMAH-Py-GC-MS, Maturity Index.

Remerciements

Au nom de ce travail, réalisé au Laboratoire Ecologie et Environnement (L2E) CNRST, URAC32, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech sous la direction du Professeur Mohamed HAFIDI, conjointement avec le Laboratoire Ecolab (UMR 5245, CNRS-INPT-UPS), Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse ENSAT, INPT sous la direction du Professeur Eric PINELLI, je tiens à remercier toutes les personnes ayant contribué à sa réalisation.

J'exprime mes remerciements au professeur Mohamed HAFIDI, qui a accepté de m'accueillir au sein de son laboratoire. Je suis très sensible à l'honneur qu'il m'a fait pour diriger mon travail. Je souhaiterais ici lui témoigner ma sincère considération pour tous les conseils et les remarques objectives et ses orientations pour faire avancer ce travail et pour l'autonomie qu'a développée en moi. Je suis aussi reconnaissante pour sa constante disponibilité et son profond dévouement.

Je tiens à remercier professeur Eric PINELLI d'avoir accepté m'accueillir dans son laboratoire Ecolab à Toulouse et dirigé mon travail. Qu'il trouve ici l'expression de mes vifs remerciements surtout pour sa gentillesse et pour son soutien.

Je tiens également à remercier et à exprimer ma sincère gratitude au professeur Yedir OUHDOUCH professeur de l'enseignement supérieur à la Faculté des Sciences Semlalia, pour son encadrement, ses conseils ses encouragements et aussi pour le temps consacré pour l'avancement de mon travail. Qu'il trouve ici toute ma reconnaissance surtout à la source intarissable qu'il est.

J'adresse mes remerciements aux professeurs de l'enseignement supérieur, Rachid MRABET et Mohammed RIHANI pour m'avoir honoré de leur présence en acceptant d'être rapporteurs de ce travail et de siéger au jury de cette thèse. Qu'ils trouvent ici l'expression de mes vifs remerciements.

Mes remerciements s'adressent également au professeur André AMBLES, professeur à l'Université de Poitiers (France), pour l'intérêt qu'il a toujours manifesté envers mes travaux de recherche ainsi que pour ses qualités humaines dignes d'estime. Qu'il trouve ici toute ma reconnaissance de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

Je suis aussi reconnaissante aux conseils et à l'aide du professeur Mohamed ZAMAMA professeur à la Faculté des Sciences Semlalia, pour son intérêt qu'il a apporté à avancer mon travail. Je tiens à lui exprimer ma gratitude pour son endurance, sa serviabilité et surtout son aide.

Je tiens à remercier également Mr Georges MERLINA, Ingénieur de recherche - HDR à l'ENSAT, Mr Jérôme Silvester Ingénieur de recherche à l'ENSAT, et Mr Laurent LEMEE Ingénieur de recherche à l'Université de Poitiers pour leur contribution et leur disponibilité pour l'avancement de ce travail.

Je tiens également à remercier le gouvernement français pour le soutien financier : Bourse d'Excellence Eiffle N° de dossier 783997j.

J'adresse un remerciement particulier pour toute l'équipe pédagogique de ma formation de Master « Environnement et Santé » Faculté des Sciences Agadir (Université Ibn Zohr) ainsi qu'à mon encadrant en master Pr Moukrim Abdellatif, auxquels je dois mon initiation à la recherche.

Je ne pourrai terminer mes remerciements sans y associer mes parents, mon frère, mes deux sœurs, aussi mes collègues du Laboratoire Ecologie et Environnement et mes ami(e)s d'Ecolab, merci de m'avoir toujours soutenu.

SOMMAIRE

Avant Propos	ii
Résumé	vii
Abstract	viii
Remerciements	ix
Liste des Figures	xvi
Liste des Tableaux	xix
Liste des Abréviations	xxi
Introduction Générale	1
Revue Bibliographique	9
I. Assainissement liquide au Maroc	10
I.1. Les filières de traitement des eaux usées	10
I.1.1. Prétraitement	10
I.1.2. Traitement primaire.....	10
I.1.3. Traitement secondaire	10
I.1.3.1. Traitement physico-chimique.....	10
I.1.3.2. Traitement biologique	11
I.1.4. Traitement tertiaire.....	11
II. Situation des traitements des eaux usées au Maroc	12
III. Etat des lieux des boues de STEP	17
III.1. Composition de boues de STEP	19
III.1.1 Eléments fertilisants	19
III.1.2. Elément traces métalliques	19
III.1.3. Polluants organiques et émergents	20
III.1. 4. les germes, les parasites et les risques sanitaires	25
III. 1. 4. 1. Méthodes d'analyse des parasites et des germes dans la boue	30
III. 1.4.2. Les outils d'hygiénisation.....	32
III. 2. Principales filières de traitements de boues de STEP.....	34
IV. Aperçu sur la filière de compostage	36
IV.1. L'utilité de filière de compostage.....	36
IV.2. Principaux paramètres physico-chimiques de fonctionnement de compostage	37
IV.3. La microbiologie du compostage et sa contribution à la détermination des phases de compostage.....	41
IV.4. Critères de maturité des composts.....	44
IV. 4.1. Les critères empiriques.....	45

IV.4.2. Indicateurs physiques et analyses spectroscopiques	45
IV.4.3. Indicateurs chimiques.....	45
IV.4.4. Indicateurs biologiques	46
IV.4.4 .1. Test respirométrique et d'auto-échauffement.....	47
IV.4.4 .2. Phytotoxicité	47
IV. 4. 4. 3. Test de Génotoxicité.....	48
IV.4.4 .4. Marquage ³² Phosphore des adduits à l'ADN.....	48
IV.4.4.5. Mesure des dommages à l'ADN par l'essai comet	48
IV.4.4.6. Mesure de la 8-hydroxydéoxyguanosine.....	49
IV.4. 4.7. Modifications des quantités et des séquences d'ADN par cytométrie en flux et AFLP	49
IV.4.4 .8. Micronoyaux	50
IV.5. Identification et évolution des composés organiques au cours du compostage	51
IV.5.1. Les polysaccharides.....	52
IV.5.2. Les composés organiques azotés.....	53
IV.5.3. La lignine	53
IV.5.4. Les lipides	56
IV.5.5. Les hydrocarbures aliphatiques et l'hydrophobicité.....	58
IV.5.6. Activité enzymatique.....	60
IV.5.7. Evolution de la composition biochimique de la matière organique des composts et formation des substances humiques	61
IV.5.8. Pouvoir de complexation des polluants par les substances humiques.....	65
V. Les normes environnementales	66
V.1. Les normes et réglementation d'utilisation des boues de STEP	66
V.2. La normalisation et réglementation du compost.....	67
Partie I	71
Chapitre 1 : Evaluation de la biotransformation de la fraction organique et minérale lors du co-compostage de boues d'épuration- déchets de palmier	72
1. Introduction	72
2. Matériel et Méthodes.....	75
2.1. Substrats utilisés pour le co-compostage.....	75
2.2. Description de la station de boues activées de Marrakech	75
2.3. Production de déchets de palmier de Marrakech.....	76
2.4. Essais de co-compostage	76
2.5. Méthode d'échantillonnage et les paramètres physico-chimiques analysés.....	77

2.5.1. Température.....	78
2.5.2. Mesure du pH	78
2.5.3. Taux d'humidité.....	79
2.5.4. Taux de cendres.....	79
2.5.5. Taux de décomposition.....	79
2.5.6. Dosage de l'Azote Kjeldahl.....	79
2.5.7. Dosage de l'azote ammoniacal (N-NH ₄ ⁺).....	80
2.5.8. Dosage de l'azote nitrique (N-NO ₃ ⁻)	80
2.5.9. Dosage de carbone organique total.....	81
2.5.10. Extraction et fractionnement des substances humiques.....	81
2.5.11. Dosage des éléments traces métalliques totaux (ETM).....	82
2. 5. 12. Analyse par spectroscopie d'absorption infrarouge (FTIR).....	82
2.5.13. Traitement thermique	83
2.5.14. Analyse chimique par Fluorescence X	83
2.5.15. Analyse par DRX	83
3. Analyses statistiques.....	83
4. Résultats et Discussion.....	84
4.1. Evolution des paramètres physico-chimiques	84
4. 2. Processus d'humification au cours du co-compostage	87
4.3. Etude de la composition des éléments majeurs par fluorescence X	88
4. 4. Analyse minéralogique par DRX	89
4. 5. Les analyses spectroscopie infra-rouge.....	92
4. 6. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) des échantillons calcinés	95
4.7. Analyse des teneurs des métaux lourds totaux	99
5. Analyses statistiques.....	100
6. Conclusion.....	101
Chapitre 2: Evolution des esters méthyliques d'acides gras (FAMEs) au cours du co-compostage.....	103
1. Introduction	103
2. Matériel et Méthodes.....	104
2.1. Extraction des lipides totaux	104
2.2. Thermochimiolyse analytique (TMAH-Py-GC-MS)	104
2.3. Analyses statistiques.....	105
3. Résultats et Discussion.....	105

3.1. Evolution des lipides totaux	105
3. 2. Identification et suivi des FAMES par TMAH-Py-GC-MS, au cours du co-compostage	106
3.2.1. Evolution de FAMES.....	106
3.2.2. Evolution des acides gras (FAMES) saturés à chaine carbonée paire (chaines courtes < C20).....	110
3.2.3. Evolution des acides gras linéaires et branchés en C15 :0 et C17 :0 FAMES	113
3.2.4. Evolution des acides gras à chaines longues	116
4. Analyses statistiques.....	119
5. Conclusion.....	123
Chapitre 3: Evolution des composés ligneux au cours du co-compostage.....	125
1. Introduction.....	125
2. Matériel et Méthodes.....	127
2.1. Py-GC-MS.....	127
3. Résultats et Discussion.....	127
3.1. Analyse des pyrogrammes et identification des composés organiques	127
3. 2. Evolution des composés ligneux au cours de co-compostage	131
4. Conclusion.....	139
Chapitre 4: Evolution des composés stéroïdes au cours du co-compostage.....	141
1. Introduction	141
2. Matériel et Méthodes.....	141
3. Résultats et Discussion.....	142
3.1. Evolution des stéroïdes au cours du co-compostage	142
3.2. L'abattement des stanols	150
3.3. Evolution du stanone, stéradiène et stérènes	151
3.4. Evolution des thiostéranes.....	152
4. Conclusion.....	155
Partie II	157
Chapitre 5 : Evaluation de la succession de la communauté microbienne au cours du co-compostage des boues activées-déchets de palmier sur un milieu synthétique à base de composts (CTEA)	158
1. Introduction.....	158
2. Matériel et Méthodes.....	159
2.1. La mise en culture et dénombrement de la microflore endogène.....	159
2.2. Dénombrement des actinomycètes	159
2.3. Dénombrement des bactéries.....	160

2.4. Dénombrement des champignons.....	160
3. Analyses statistiques.....	160
4. Résultats et Discussion.....	160
4.1. La concentration de la microflore endogène et son évolution au cours du co-compostage selon l'approche CTEA et GSM.....	160
4.2. Evolution de la microflore totale dans le milieu synthétique CTEA.....	162
4.3. Evolution de différents groupes de la microflore endogène.....	164
4.3.1. Evolution des actinomycètes au cours du co-compostage.....	164
4.3.2. Evolution de la microflore fongique au cours du co-compostage	167
4.3.3. Evolution des bactéries au cours du co-compostage	167
5. Conclusion.....	168
Chapitre 6: Abondance de la microflore endogène des produits de compostage des boues-déchets de palmier et screening d'isolats d'actinomycètes à activité antimicrobienne.....	
1. Introduction	169
2. Matériel et Méthodes.....	170
2.1. Technique des puits d'agar.....	170
2. 2. Test de confrontation.....	171
2.3. Dénombrement des coliformes.....	171
3. Résultats et Discussion.....	171
3.1. L'inhibition des germes pathogènes.....	171
3.1.1. L'activité inhibitrice de l'extrait aqueux	171
3.1.2. L'activité inhibitrice des actinomycètes	174
3. 2. L'évolution des coliformes fécaux et totaux au cours du co-compostage.....	177
4. Conclusion.....	178
Chapitre 7 : Caractérisation des œufs d'helminthes de la boue de station d'épuration et l'efficacité de leur inactivation par procédé de compostage.....	
1. Introduction	180
2. Matériel et Méthodes.....	181
2.1. Méthode d'extraction et identification des œufs d'helminthes.....	181
3. Résultats et Discussion.....	182
3.1. La charge parasitaire du substrat brut.....	182
3.2. L'abattement des œufs d'helminthes au cours du co-compostage	184
4. Conclusion.....	188
Partie III : Evaluation de la phytotoxicité et la génotoxicité au cours du co-compostage de boues de STEP -déchets de palmier	
	189

1. Introduction.....	190
2. Matériel et Méthodes.....	191
2.1. Test de germination, et évaluation de la phytotoxicité au cours du co-compostage de boues-déchets de palmier	191
2.2. Détermination des teneurs du chrome	192
2.2.1. Détermination de la concentration du chrome total (Cr).....	192
2.2.2. Dosage du chrome hexavalent Cr(VI).....	192
2.3. Test des micronoyaux.....	192
2.3.1. Germination.....	192
2.3.2. Test de micronoyaux en milieu solide.....	192
2.3.3. Test de micronoyaux en milieu liquide	193
2.3.4. Observation et quantification des micronoyaux	193
2.4. Analyses statistiques.....	194
3. Résultats et Discussion.....	194
3.1. Test de germination	194
3. 2. Evolution des formes de chrome au cours du co-compostage.....	196
3. 3. Evolution de la génotoxicité au cours du co-compostage de boues -déchets de palmier	199
3.3.1. Génotoxicité de la matrice solide de co-compost.....	199
3. 3. 2. Génotoxicité des extraits hydrosolubles de co-compost et de la solution de chrome hexavalent.....	200
4. Conclusion.....	204
Synthèse Conclusion & Perspectives	206
Références Bibliographiques	217

Liste des Figures

Revue Bibliographique	9
Figure 1 : Evolution des volumes des eaux usées rejetées (Mm ³ /an). (Ministère de l'Agriculture, Administration du Génie Rural, 2002)	12
Figure 2 : Evolution des boues de STEP au Maroc (Rapport national 2009, stratégie de gestion de boues de STEP au Maroc).....	18
Figure 3 : Structure des précurseurs de la lignine. I: Alcool p-coumarylique, II: Alcool coniférylique, III, Alcool sinapylique, (Kogel-Knaber, 2002).....	54
Figure 4 : Humification et minéralisation de la matière organique fraîche (selon Gossart, 2001).....	62
Partie I	71
Chapitre 1 : Evaluation de la biotransformation de la fraction organique et minérale lors du co-compostage de boues d'épuration- déchets de palmier	72
Figure 1 : Dimensionnement de l'andain de co-compostage de boues-déchets palmier	77
Figure 2 : Echantillon global homogénéisé divisé en quatre parts équivalentes	78
Figure 3 : Elimination de deux parts opposées.....	78
Figure 4 : Homogénéisation des parts restantes	78
Figure 5 : Evolution de la température en fonction du temps au cours du processus de co-compostage du mélange A et B.....	84
Figure 6 : DRX des échantillons de compost séché à 105°C	90
Figure 7 : Comparaison des DRX de compost avant et après calcination.....	91
Figure 8 : DRX des échantillons de composts calcinés à 650°C.....	91
Figure 9 : Les spectres FTIR à différentes stades du co-compostage pour les deux mélanges A (a) et B (b).....	94
Figure 10 : Spectres FTIR des échantillons de composts calcinés à 650°C	95
Figure 11 : Comparaison des spectres FTIR de compost avant et après calcination.....	96
Figure 12 : La teneur totale en métaux (Pb, Cr, Cd) pendant le processus de co-compostage des mélanges A(a), et B (b)	100
Figure 13 : Diagramme de composante principale (ACP) des paramètres physico-chimiques des mélanges A (a), et B (b)	101
Chapitre 2: Evolution des esters méthyliques d'acides gras (FAMES) au cours du co-compostage	103
Figure 1 : Pyrogramme TIC et SIM (Single Ion Monitoring) m/z= 74 du stade initial du co-compostage.....	107
Figure 2 : Abondance relative (%) des lipides totaux et des FAMES au cours du co-compostage des mélanges A et B	109
Figure 3 : Abondance relative (%) des FAMES C6:0, C12:0 et C14:0 au cours du co-compostage des mélanges A et B	111

Figure 4 : Abondance relative (%) des FAMES C16 :0, C18 :0 au cours du co-compostage des mélanges A et B	111
Figure 5 : Abondance relative (%) des FAMES C15 :0, C17 :0 au cours du co-compostage des mélanges A et B	114
Figure 6 : Abondance relative (%) des FAMES i,a,C15 :0; i,a,C17 :0 au cours du co-compostage des mélanges A et B	115
Figure 7 : Evolution de l'indice (CPI) au cours du co-compostage des mélanges A et B.....	117
Figure 8 : Diagramme de composante ACP (a, b) des FAMES des mélanges A(a) et B(b).....	120
Figure 9 : Diagramme des projections factorielles (1 et 2) des FAMES des mélanges A(a) et B(b)...	121
Figure 10 : Diagramme des projections factorielles (1 et 2) des mélanges A et B.....	122
Figure 11 : Dendrogrammes des variables FAMES pour les deux mélanges A et B.....	123
Chapitre 3: Evolution des composés ligneux au cours du co-compostage.....	125
Figure 1 : Les pyrolysats identifiés des composés organiques au cours du co-compostage des mélanges A et B	129
Figure 2 : Evolution de différents composés ligneux, ayant diminué par rapport à T0, au cours du co-compostage des mélanges A et B	134
Figure 3 : Evolution de différents composés ligneux, ayant augmenté par rapport à T0, au cours du co-compostage des mélanges A et B	137
Figure 4 : Evolution de l'indice de Shannon Weaver (Ish) au cours du co-compostage.....	139
des mélanges A (Ish A) et B (Ish B).....	139
Chapitre 4: Evolution des composés stéroïdes au cours du co-compostage	141
Figure 1 : Pyrogramme (TIC) des composés stéroïdes identifiés à T0 lors du co-compostage.....	142
Figure 2 : Variations de l'abondance relative des stéroïdes au cours du co-compostage.....	147
Figure 3 : Evolution des cholestènes 3 et 4, éthylcholestène 3, thiocholestane et thiocampestande au cours du co-compostage	148
Figure 4 : Schéma de la conversion des stérols en stanols proposé par (Bull et al., 2002)	149
Figure 5 : Dégradation thermique de cholesterylstéarate proposé par Asperger et al., 1999	152
Figure 6 : Corrélations entre les indicateurs classiques de maturité et le taux d'abattement de C-stéroïdes.....	155
Partie II	157
Chapitre 5 : Evaluation de la succession de la communauté microbienne au cours du co-compostage des boues activées-déchets de palmier sur un milieu synthétique à base de composts (CTEA)	158
Figure 1 : Evolution de la microflore totale (mésophile (MM), thermophile(TM)) au cours du co-compostage des mélanges A et B sur GSM (a, b) et CTEA (c, d)	161
Figure 2 : Evolution de la microflore mésophile au cours du co-compostage des mélanges A et B..	164
Figure 3 : Evolution de la microflore thermophile au cours du co-compostage des mélanges A et B	165
Figure 4 : Analyse de composante principale (ACP) de la microflore mésophile et les paramètres physico-chimiques au cours du co-compostage des mélanges A et B, M : Mésophile	165

Figure 5: Analyse de composante principale (ACP) de la microflore thermophile et les paramètres physico-chimiques au cours du co-compostage des mélanges A et B, T : Thermophile	166
Chapitre 6: Abondance de la microflore endogène des produits de compostage des boues-déchets de palmier et screening d'isolats d'actinomycètes à activité antimicrobienne	169
Figure 1 : Activité des extraits aqueux des mélanges A et B vis-à-vis de <i>Micrococcus luteus</i> (ML) par la technique des puits	172
Figure 2 : Les souches actives isolées (Mésophile (M) et Thermophile (T)) et leurs spectres d'inhibition	174
Figure 3: Isolats d'actinomycètes actif vis-à-vis des pathogènes Gram-positif (a), Gram-négatif (b) et levures, moisissures (c)	176
Figure 4: Evolution des coliformes fécaux et totaux des stades initiaux et finaux du co-compostage des mélanges A et B	178
Chapitre 7 : Caractérisation des œufs d'helminthes de la boue de station d'épuration et l'efficacité de leur inactivation par procédé de compostage.....	180
Figure 1 : Œufs d'helminthes isolés de la boue de STEP de Marrakech observation microscopique grossissement ×400	182
Figure 2: Total des œufs d'helminthes par g de matière fraîche de boue et des deux stades initiaux de co-compostage, mélanges A et B	185
Figure 3: Abattement des œufs d'helminthes au cours du co-compostage des mélanges A et B.....	186
Partie III : Evaluation de la phytotoxicité et génotoxicité au cours du co-compostage de boues de STEP -déchets de palmier.....	189
Figure 1 : Evolution de la phytotoxicité au cours du co-compostage des mélanges A et B.....	195
Figure 2: Evolution de différentes formes de chrome, chrome total (a) et Cr(VI) (b) des stades initiaux (A0, B0) et finaux (A6, B6) du co-compostage des mélanges A et B.....	197
Figure 3 : Les micronoyaux et les cellules en division d'une racine dans l'extrait hydrosoluble de boues.....	201
Figure 4: Indice de corrélation entre le Cr(VI) et MN aux différents stades de co-compostage des mélanges A et B	203

Liste des Tableaux

Revue Bibliographique	9
Tableau 1 : Tableau comparatif des avantages et inconvénients de différents systèmes Intensifs (El Fels, 2010)	11
Tableau 2 : Formes de gestion de l'assainissement liquide en milieu urbain (Rapport national 2009, stratégie de gestion de boues de STEP au Maroc).....	13
Tableau 3 : Situation et différents type de stations d'épuration au Maroc	13
(Bahij et Soudi, 2003)	13
Tableau 4 : Le nombre des step achevées ou en cours d'achèvement et les organismes gestionnaires	15
Tableau 5 : Le nombre des stations achevées et en cours par les organismes gestionnaires dans le cadre de PNA.....	15
Tableau 6 : Objectifs du programme PNA pour l'horizon 2015 (Rapport national Avril 2009, Identification et Elimination des Goulets d'Etranglement pour l'Utilisation des Eaux Usées dans le Cadre de l'Irrigation ou autres Usages).....	16
Tableau 7 : Projets achevés, en cours et programmés selon le PNA.....	16
Tableau 8 : Production de boues en fonction de systèmes de traitement des eaux usées.....	18
Tableau 9 : Classe des polluants émergents (Barcelo, 2003)	23
Tableau 10 : Excrétion journalière des hormones stéroïdes en µg/L (Ying et al., 2002).....	24
Tableau 11 : Les différents catégories de microorganismes pathogènes isolés des boues d'épuration (Dumontet et al., 2001).....	26
Tableau 12 : Différents types d'œufs d'helminthes retrouvés dans les boues et les eaux usées (Kowal, 1985).....	27
Tableau 13 : Nombre d'œufs pondus par jours chez différentes espèces d'helminthes et la valeur moyenne d'helminthes par gramme de matière fécale selon (Feachem et al., 1983; Shuval et al., 1986)	29
Tableau 14 : Paramètre physiques des œufs d'helminthes dans l'eau (Shuval, 1977).....	30
Tableau 15 : Niveau de température et temps nécessaire pour détruire certains pathogènes présents dans les matériaux à composter (Golueke, 1991).....	33
Tableau 16 : Différents microorganismes isolés en fonction des phases de compostage (Ryckeboer et al., 2003; Haruta et al., 2005)	43
Tableau 17 : Les sous-unités d'acides gras et leurs origines (Amir et al., 2008, modifié par EL Fels et al., 2014b).....	56
Tableau 18 : Composition élémentaire des différentes fractions des substances humiques.....	63
Tableau 19 : Les normes d'utilisation agricole des boues dans les pays européens	67
Tableau 20 : Valeurs limites de classement des composts, classe A (sans risque à l'utilisation), classe B (à utiliser dans les sols forestières)	68
Tableau 21 : Limites normatives en métaux lourds (mg/Kg Ms) dans les composts.....	68

Partie I	71
Chapitre 1 : Evaluation de la biotransformation de la fraction organique et minérale lors du co-compostage de boues d'épuration- déchets de palmier	72
Tableau 1: Principales caractéristiques des substrats utilisés.....	75
Tableau 2: Evolution des paramètres physico-chimique au cours du co-compostage des mélanges A et B	85
Tableau 3: Paramètres d'humification durant le co-compostage des mélanges A et B.....	88
Tableau 4 : Composition chimique par fluorescence X des échantillons calcinés de différents stades de co-compostage	89
Chapitre 2: Evolution des esters méthyliques d'acides gras (FAMES) au cours du co-compostage	103
Tableau 1: Evolution des lipides totaux au cours du co-compostage des mélanges A et B.....	106
Tableau 2a : Abondance relative (%) des acides gras au cours de co-compostage du mélange A déterminée par TMAH-Py-GC-MS.....	107
Tableau 2b: Abondance relative (%) des acides gras au cours de co-compostage du mélange B déterminée par TMAH-Py-GC-MS.....	108
Tableau 3: Indice Shannone-Weavers des groupes de microorganismes identifiés	118
Chapitre 3: Evolution des composés ligneux au cours du co-compostage	125
Tableau 1: Variation des taux de dégradation des produits identifiés par Py-GC/MS au cours du co-compostage.....	130
Tableau 2: Structures moléculaires et temps de rétention des dérivés identifiés par Py-GC-MS au cours du compostage de boues de STEP-déchets de palmier	Erreur ! Signet non défini. 132
Chapitre 4: Evolution des composés stéroïdes au cours du co-compostage	141
Tableau 1: Les stéroïdes identifiés au cours du co-compostage.....	143
Tableau 2: Abondance relative (%) des stéroïdes identifiés au cours du co-compostage	145
Tableau 3: Le rapport de l'abondance relative des composés stéroïdes.....	154
Partie II	157
Chapitre 6: Abondance de la microflore endogène des produits de compostage des boues-déchets de palmier et screening d'isolats d'actinomycètes à activité antimicrobienne	169
Tableau 1 : Les microorganismes tests utilisés pour l'activité antimicrobienne d'actinomycètes.....	171
Tableau 2: Activité antimicrobienne des extraits de composts évaluée par la technique des puits (technique des puits) (diamètre d'inhibition est exprimé en mm).....	173
Tableau 3: Activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes issus de différents stades de co-compostage.....	175
Chapitre 7 : Caractérisation des œufs d'helminthes de la boue de station d'épuration et l'efficacité de leur inactivation par procédé de compostage	180
Tableau 1: Evolution des œufs d'helminthes en fonction de co-compostage pour les deux mélanges A et B	183

Tableau 2: Equations d'inactivation en fonction du temps (t: heure) (Feachem et al., 1983; Vinneras et al., 2003) à des différentes températures (T°C).....	187
Partie III : Evaluation de la phytotoxicité et la génotoxicité au cours du co-compostage de boues de STEP -déchets de palmier	189
Tableau 1: Résultat de micronoyaux des racines de <i>Vicia faba</i> par approche matrice solide et sol Lufa 2.2.....	199
Tableau 2: Effet génotoxique au cours du co-compostage et de différentes concentrations du Cr(VI) par le test micronoyaux (approche extrait hydrosoluble).....	201

Liste des Abréviations

ACP: Analyse de la Composante Principale

ADEME: Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (France)

AF: Acide Fulvique

AFNOR: Association Française de Normalisation

AH: Acide Humique

CL50: Concentration létale de 50% de la population

CPI: Carbon Preference Index

CTEA: Co-compost Time Extract Agar

DEHP: Di(2-éthylhexyl) phtalate

DGCL : Direction Générale des Collectivités Locales

DRX : Diffraction des Rayons- X

ETM : Élément Trace Métalique

FAME : Fatty Acide Methyle Ester

GSM: Growth Standard Media

HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

HM: Hydrasine Maleique

IG: Indice de Germination

Ish: Indice Shannone Weaver

MF: Matière Fraiche

MO: Matière Organique

MS: Matière Sèche

MS/EHJ : Matière Sec/Equivalent Habitat par Jour

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PCB: PolyChoroBiphényl

PCI : Pouvoir Calorifique Intérieur

PLFA : Phospholipide Acide Gras

PPM : Partie Par Million (mg/kg)

PVC: Polychlorure de Vinyle

Py-GC-MS: Pyrolyse couplée à la Chromatographie en Phase Gazeuse-Spectre de Masse

RADEEMA : Régie Autonome de Distribution d'Eau et d'Électricité Marrakech

RT: Retention Time

SIM: Single Ion Monitoring

STEP: Station de traitement et épuration des eaux usées

TIC: Total Ion Current

TMAH-Py-GC-MS : Tétraméthylammonium hydroxide couplée à la Chromatographie en Phase Gazeuse et la Spectrométrie de Masse

UFC : Unité Formant Colonie

Introduction Générale

Au Maroc, les volumes d'eaux usées rejetés ont été estimés à 600 Millions m³ en 2005 et atteindraient 900 Mm³ par an à l'horizon 2020 (Ministère de l'Agriculture et de la Mise en Valeur Agricole, Maroc (2002). Ces eaux usées présentent un risque potentiel de pollution des eaux, et de pollution des sols, d'où la nécessité de les traiter avant leur réintroduction dans le milieu naturel. Cette approche permettra de disposer d'une ressource hydrique importante à exploiter, en particulier dans les zones où sévissent des pénuries d'eau et des années consécutives de sécheresse, face aux changements climatiques.

Afin de palier le déficit en matière d'assainissement liquide au Maroc, le gouvernement Marocain a lancé un programme ambitieux (SDNAL: Schéma Directeur National d'Assainissement Liquide) qui est mené conjointement par le Département de l'Environnement et le Ministère de l'Intérieur et qui a permis d'élaborer en 2005 le « Programme National d'Assainissement Liquide et d'Épuration des Eaux Usées » (PNA) doté d'un budget conséquent de l'ordre de 50 milliards de Dirhams à l'horizon 2020. Ce programme s'est fixé comme objectif la construction de 260 stations d'épuration pour la période 2006/2020 qui viendront s'ajouter aux 80 stations déjà en service. Il s'agit d'atteindre un taux de raccordement global au réseau d'assainissement de 75% en 2016, 80% en 2020 en milieu urbain, et d'abattre la pollution de 60 à 80 % au moins et surtout de limiter la dégradation environnementale et l'amélioration de la qualité de l'eau des systèmes aquatiques, prolonger les traitements jusqu'au niveau tertiaire et les réutiliser à 50% en 2020. Actuellement, plusieurs types de systèmes de traitement des eaux usées existent au Maroc (lagunage, boues activées, percolation filtration... etc).

Quel que soit le système d'épuration adopté pour le traitement des eaux usées, celui-ci s'accompagne d'une production de quantités de boues non négligeables, qui sont estimées à 40 000 T/an en 2010, et les prévisions sont de 300 000 T/an pour 2025 (ONEP, Maroc).

En général les boues issues des systèmes d'épuration des eaux usées sont reconnues par leur pouvoir fertilisant, en termes de matière organique, d'azote, de phosphore et des oligo-éléments (Bousselhaj, 2007). Néanmoins, les boues de step peuvent aussi contenir des éléments traces métalliques (Cr, Zn, Cd, Hg, Pb...) (Amir et al., 2001, 2005, Jouraiphy, 2007); des polluants organiques (phthalates, PCB, HAP...) (Amir et al., 2005) susceptibles de provoquer des effets nocifs sur les milieux récepteurs, et des polluants émergents (antibiotiques) (Khadra et al., 2012) qui sont classés parmi les 30000 substances chimiques produites à des quantités au-dessus des normes (Giger, 2003); ce qui limiterait la valorisation agricole de ces boues, d'où la nécessité de s'assurer de leur innocuité avant toute utilisation. Ces différentes sources de polluants sont à l'origine du pouvoir génotoxique et cytotoxique

des boues (Shukla et al., 2009; Lopez et al., 2010). A ceci s'ajoute la richesse de boues de step en germes pathogènes et en parasites à savoir les protozoaires, comme les *Amibes*, *Toxoplasma gondii*, *Giardia lamblia* et *Cryptosporidium sp.*, ainsi que les helminthes comme *Ascaris sp.*, *Trichuris sp.*, *capillaria sp.*, *schistosoma sp.*, et *Taenia sp.*, (Feachem et al., 1983, Tønner-Klank et al., 2007; Marcinkowski, 2010; Utzinger et al., 2011), d'où la nécessité de mieux concevoir la filière de traitement et d'élimination de boues lors de la conception de la station d'épuration.

Dans de nombreux pays, le choix des filières de traitement des boues est orienté le plus souvent vers des filières de stabilisation (déshydratation, chaulage) et des filières de traitement par incinération, qui demeure prohibitif pour le contexte marocain. Dans de nombreux pays y compris le Maroc, en absence de législation sur les boues; celles-ci sont évacuées en décharge publique; dans certains cas après un prétraitement. Cette pratique est légalement interdite dans de nombreux pays (directive 1999/31/CE).

De point de vue environnemental, l'incinération contribue au dégagement des gaz toxiques (NO, CO, CO₂...) et le plus grave est la transformation des nombreux composés (PCBs) en dioxines. Néanmoins, les installations d'incinération doivent être conformes aux normes en matière de rejets gazeux, comme la stipule la Loi N°13-03 relative à la lutte contre la pollution de l'air. Pour le cas du Maroc, l'incinération des boues de STEP ne peut pas être une solution envisageable en raison des coûts élevés des installations des incinérateurs, l'incinération dans des cimenteries pourrait remédier, en partie, au problème mais les volumes de boues importants limitent l'impact de cette solution. Une étude récente a été faite par un bureau d'étude au profit de la RADEEMA qui a montré que les coûts de traitement sont excessifs. D'autres possibilité sont exploitées à savoir l'usage des boues utilisées en cimenterie, néanmoins cette solution semble confrontée à des contraintes parmi lesquelles, l'éloignement de la cimenterie par rapport à la station, ainsi que l'exigence habituelle des cimenteries de boues avec une forte siccité (>90%) et un fort PCI (>2000 kW/t). De même la présence de chlore dans les boues, à partir de certaines teneurs, semble affecter le four, sans oublier l'impact des boues sur la qualité des ciments.

La mise en décharge contrôlée consiste à enfouir les boues souvent mélangées avec des ordures ménagères en prenant en considération les précautions (site étanche, compactage des résidus, récupération et traitement des lixiviats). De plus, pour réduire la production des lixiviats et éviter une saturation rapide de la décharge, seules les boues peu humides sont acceptées. La mise en décharge contrôlée nécessite des opérations préliminaires de

stabilisation et de déshydratation poussées. Cette solution va progressivement perdre de son intérêt pour des raisons financières et juridiques.

Le traitement de boues par bio-méthanisation doit être justifié après des études en matière des besoins énergétiques et les coûts d'énergie par rapport au marché. En effet, le biogaz qui sera fourni doit être compétitif pour justifier les investissements nécessaires sans oublier que cette filière produit un digestat de faible siccité qu'il faut gérer.

L'épandage direct des boues de STEP est sans doute une solution envisageable. Les composés tels que le carbone, l'azote, le phosphore et le potassium étant ainsi recyclés et valorisés par la végétation en place. Cette méthode vise à se rapprocher des grands cycles naturels et éviter tout gaspillage de la matière organique dû à l'incinération ou à l'enfouissement dans les décharge (Lambkin et al., 2004). Les modes d'épandage (doses, période) sont tributaires de la composition des boues, du milieu récepteur (sol) et du type de cultures. Néanmoins, l'épandage direct de boues non traitées fait l'objet des réticences auprès des agriculteurs, en raison des risques liés à la présence d'agents pathogènes, des odeurs nauséabondes, ce qui peut présenter un risque pour le voisinage.

Au Maroc, en l'absence de loi qui réglemente l'usage de boues, il serait plus judicieux d'être prudent et n'autoriser que l'épandage des boues traitées au préalable par compostage, bio-méthanisation ou séchage thermique afin de s'assurer de leur stabilisation et de leur hygiénisation.

A titre d'exemple, en France de nombreux traitements sont mis en place pour limiter le volume produit, les odeurs, et la nocivité des boues. Actuellement 3 filières sont utilisées pour évacuer les boues, selon que l'on privilégie un mode de gestion basé sur l'élimination ou le recyclage. Les trois filières de traitement sont donc la mise en décharge (25%), l'incinération (15%) et l'épandage agricole (60%). Les boues d'épuration ne seront plus épandues à terme sous forme liquide, mais après traitement mécanique et thermique, sous forme de compost ou de granulés. La valorisation biologique (méthanisation, et compostage), a été considérée par plusieurs décideurs scientifiques comme des technologies vertes permettant de transformer les déchets en produits à haute valeur ajoutée. Depuis la publication de la norme NFU 44-095, (AFNOR, 2002 complétée en 2008) des composts de boues contenant des matières d'intérêt agronomique issues des traitements des eaux, et la norme NFU 44-051, (AFNOUR, 2006 complétée en 2010) relative aux amendements organiques, on peut envisager maintenant la commercialisation d'un produit homologué au lieu de recourir aux plans d'épandage. On peut aussi sécher les boues par des moyens économes en énergie et rendre l'épandage plus intéressant que l'incinération.

Actuellement, aucune filière de traitement de boues n'est utilisée au Maroc, bien que le PNA recommande de développer des recherches en matière de traitement de ces déchets. En matière de caractérisation des boues urbaines à l'échelle nationale, les résultats sont assez fragmentaires. Le plus récent travail de caractérisation a porté sur 9 STEP : Agadir (Grand Agadir), Bouregreg, Drarga, Mrirt, Skhirate, Taoujdate, Tafoghalte, Taourirt et Tiznit. Alors qu'en matière de traitement de boues certains travaux ont été réalisés à l'échelle du laboratoire et semi-industrielle par les équipes de l'Université Cadi Ayyad de Marrakech et qui ont abouti à la soutenance de plusieurs thèses de doctorats (Bousselhaj, 2007 : sur l'épandage agricole), Echab (2002, sur le compostage en mini-réacteur), Amir (2005, sur compostage et devenir des polluants métalliques et organiques); Jouraiphy (2007, sur le compostage des boues activées et devenir des polluants organiques et valorisation agronomique à grande échelle), Abouelwafa (2009, compostage de boues agro-industrielle et qualité biochimique du compost issu des boues de STEP de Khouribga, Drarga, M'zar). En 2005, une équipe de l'Université Chouaïb Doukkali a présenté les travaux de recherche relatifs à un projet européen sur les boues.

Depuis 2009, une nouvelle station d'épuration a été construite à Marrakech pour traiter les eaux usées de l'ensemble de l'agglomération urbaine. Elle est considérée comme la plus grande STEP nationale, avec un traitement tertiaire, générant actuellement l'équivalent 130 t/jour environ de boues avec une siccité moyenne de 22%, soit l'équivalent au total de 30,8 tonnes de Matière Sèche par jour (tMS/J). Actuellement la RADEEMA évacue les boues d'épuration vers des sites de déchargement loués et situés à proximité de la décharge publique de Marrakech.

Cette situation engendre des charges importantes en matière de gestion du déchargement des boues, de location des terrains et de leur aménagement. Ces charges sont évaluées à 50 DH-HT/tonne des boues évacuées soit 2,4 MDH-HT/an. En l'absence de filière d'évacuation définitive, ces charges ne cessent d'augmenter d'une année sur l'autre. De plus, sur le plan environnemental, cette situation présente une source de nuisance sérieuse sur les plans paysager, sanitaire et olfactif qui seront ressenties de plus en plus avec la fermeture de la décharge publique actuelle, d'où la nécessité de réfléchir à d'autres filières de traitement et/ou de valorisation adaptées au contexte local.

D'après de nombreuses études, le compostage constitue le traitement par excellence qui répond à toutes ces conditions dans des limites financières très accessibles. En effet, les besoins du marché marocain en matière organique sont très importants. Sur la base d'une perte annuelle de 650 kg de matière organique/hectare de sols bours (Life project, LIFE05

TCY/MA/000141), les besoins en matières organiques stables et compatibles avec une agriculture durable dans ces zones, qui représentent plus de 7 millions d'hectares au Maroc, sont d'environ: 4,55 million de tonnes par année. Les superficies potentielles en terres irrigables au Maroc sont estimées à 1664000 ha dont 1364000 ha de surface irriguées de façon pérenne et 300000 ha de façon saisonnière lors d'épandage des eaux de crue. Les besoins en amendement organique nécessaire pour compenser les pertes annuelles des zones irriguées du Maroc sont estimés à 1,7 million de tonnes par année (life project, LIFE05 TCY/MA/000141). Ainsi le total des besoins annuels des sols au Maroc en matières organiques stable est d'environ 6,25 millions de tonnes (Rapport Nationale 2009, Stratégie de gestion de boues de STEP au Maroc).

Dans ce contexte, le Laboratoire Ecologie et Environnement (L2E) de l'Université Cadi Ayyad de Marrakech (Maroc), en partenariat avec l'équipe de recherche ECSECO du Laboratoire Ecologie Fonctionnel (ECOLAB) de l'Institut National Polytechnique (INP) de Toulouse (France), a mené une étude scientifique sur les potentialités de la valorisation de boues de station de Marrakech par le procédé de co-compostage.

Ce travail, initié en Octobre 2013 s'est focalisé sur l'étude physico-chimique, microbiologique et écotoxicologique au cours de la biotransformation des boues activées de la STEP de Marrakech en mélange avec des déchets de palmier par un procédé de compostage. Dans ce travail de nouveaux indices de maturités ont aussi été validés.

Dans cette optique nous nous sommes fixés comme objectifs :

- ✓ Le recyclage, en vue d'une valorisation agronomique, des boues de la station d'épuration des eaux usées (cas de la station de boues activées de Marrakech) en mélange avec des déchets verts (déchets de palmier) par la filière de compostage.
- ✓ L'évaluation des paramètres physico-chimiques, indices de la maturité des composts, et suivi de l'évolution de la matière organique et minérale au cours du procédé.
- ✓ Validation des nouveaux paramètres de maturité de composts qui répondent aux normes d'utilisation de boues de STEP et déchets de palmier sans aucun risque, à savoir l'évolution de composé ligneux, stéroïdes, ester méthyliques d'acides gras (indice CPI), et hydrocarbures aliphatiques.
- ✓ Validation d'un nouveau milieu synthétique d'isolement à base de compost, et évaluation des microorganismes qui contribuent à l'hygiénisation des composts

- ✓ Mesure des paramètres biologiques d'hygiénisation en termes d'évolution des œufs d'helminthes, détermination et devenir de la charge des œufs de nématodes (*Ascaris sp.*, *Trichuris sp.*, et *Capillaria sp.*)
- ✓ Validation des paramètres écotoxicologique de maturité et évaluation du pouvoir génotoxique sur *Vicia faba* comme un nouveau indice de maturité de compost.

Ce travail de thèse est subdivisé en deux grands volets :

Le premier volet est consacré à l'état de l'art bibliographique ou l'état des lieux de l'assainissement liquide au Maroc, la problématique des boues et les filières de traitement et leur élimination sont traitées, ainsi que les aspects relatifs au compostage des boues. De même, un état des lieux de la recherche a été réalisé en matière de devenir des polluants métalliques, organiques et émergents au cours du compostage, et les différents composés organiques, ainsi que les aspects d'hygiénisation et de maturité moyennant les différents outils biologiques (microbiologie, parasitologie, phytotoxicité, et génotoxicité).

Le deuxième volet consacré aux résultats et leurs discussions. Il est subdivisé en trois parties :

La première partie intitulée « Biotransformation des boues-déchets de palmier et évolution des composés organiques au cours du co-compostage » est subdivisée en 4 chapitres:

Chapitre 1: Évaluation de la biotransformation de la fraction organique et minérale lors du co-compostage de boues de station d'épuration- déchets de palmier.

Chapitre 2: Évolution des esters méthyliques d'acides gras (FAMES) au cours du co-compostage.

Chapitre 3: Évolution des composés ligneux au cours du co-compostage.

Chapitre 4: Évolution des composés stéroïdes au cours du co-compostage.

La deuxième partie intitulée «Évolution des microorganismes et évaluation du degré d'hygiénisation au cours du co-compostage » est subdivisée en 3 chapitres :

Chapitre 5: Évaluation de la succession de la communauté microbienne au cours du co-compostage des boues activées-déchets de palmier sur un milieu synthétique à base de composts.

Chapitre 6: Abondance de la microflore endogène des produits de compostage de boues-déchets de palmier et screening d'isolats d'actinomycètes à activité antimicrobienne.

Chapitre 7: Caractérisation des œufs d'helminthes de la boue de station d'épuration et l'efficacité de leur inactivation par procédé de compostage.

La troisième partie Intitulée «Évaluation de la phytotoxicité et la génotoxicité au cours du co-compostage de boues de STEP -déchets de palmier» est composée d'un seul chapitre (**chapitre 8**).

Une confrontation de l'ensemble des résultats a été réalisée. Elle vise la mise en place de procédé, des outils analytiques et des supports d'expertise, ce qui a permis de dégager une synthèse générale justifiant l'efficacité de cette filière et de son intérêt. Une conclusion et une présentation de diverses perspectives concluront ce travail.

Revue Bibliographique

I. Assainissement liquide au Maroc

La connaissance de la production des déchets est essentielle dans la planification d'un système de gestion afin d'atténuer leurs impacts environnementaux et de prévoir au mieux le dimensionnement des installations de traitement. De nombreuses études évaluent la quantité des eaux usées produites, mais les résultats présentent des écarts importants entre le Maroc et les autres pays en voie de développement ainsi que les pays développés. La différence de production des eaux usées est tributaire du type de société. Elle est liée à la situation économique, les saisons, la culture et les divergences de coutumes entre les villes. Les stations d'épuration restent les seules solutions d'élimination de la pollution des effluents domestiques et/ou industriels produits, conformément aux normes de rejets, avant leur évacuation dans le milieu naturel.

Après la purification des eaux qui consiste à éliminer les matières minérales et organiques en suspension, les polluants initiaux se retrouvent par la suite en partie stockée et concentrée dans les boues issues des diverses étapes de traitement de l'eau. Ces principaux déchets des eaux usées « boues » sont donc considérées comme un déchet riche en bactéries, agents pathogènes, matière organique minéralisée, éléments fertilisants (N, P...), micropolluants minéraux et organiques, qu'il faut éliminer tout en profitant de sa partie utile. Une station d'épuration doit alors comporter des installations de traitement des eaux et des dispositifs de traitement des boues produites. Les eaux usées qui peuvent être à la fois industrielles ou urbaines sont généralement soumises dans les stations à différentes filières.

I.1. Les filières de traitement des eaux usées

I.1.1. Prétraitement

Le prétraitement consiste à débarrasser les eaux usées des polluants solides, des graisses et autres éléments. Ce prétraitement comporte plusieurs étapes parmi lesquelles : Dégrillage, Dessablage et Déshuilage.

I.1.2. Traitement primaire

Il s'agit d'une décantation simple ou renforcée par des additifs chimiques.

I.1.3. Traitement secondaire

I.1.3.1. Traitement physico-chimique

Selon plusieurs phases:

- Phase de coagulation ou agglomération par addition des adjuvants chimiques pour éliminer la matière en suspension.
- Phase de floculation et phase de décantation pour assurer la séparation entre la phase solide et liquide suite à des injections des agents floculants, sulfate d'alumine ou de fer par exemple.

I.1.3.2. Traitement biologique

Il permet la dégradation de la matière organique par les bactéries aérobies et anaérobies dans les systèmes suivants :

Système extensif : c'est un système qui traite les eaux usées d'une manière classique naturelle. Le système le plus répandu est : lagunage naturel, chenal algal à haut rendement, infiltration-percolation.

Système intensif : s'effectue d'une façon mécanique et en présence d'oxygène, ce système est plus coûteux et demande plus d'énergie par rapport au système extensif. Parmi les systèmes existants, on trouve: lits bactériens, disques biologiques, boues activées. Une étude comparative des avantages et inconvénients de ces différents systèmes intensifs est résumé au Tableau 1.

I.1.4. Traitement tertiaire

Il s'agit d'une filière conçue pour la désinfection et la réduction des odeurs par des opérations suivantes : désinfection, dénitrification, déphosphatation.

Tableau 1 : Tableau comparatif des avantages et inconvénients de différents systèmes Intensifs (El Fels, 2010)

Système	Avantages	Inconvénients
<u>Installation à culture libre</u> <ul style="list-style-type: none"> • boues activées 	<ul style="list-style-type: none"> • Pour toute taille de collectivité (sauf les très petites) • Bonne élimination de la DBO, DCO et MES • Boues légèrement stabilisées • Adapté pour la protection des milieux sensibles. 	<ul style="list-style-type: none"> • Coût d'investissement élevé • Sensibilité aux surcharges hydrauliques • Consommation énergétique importante
<u>Installation à cultures fixées</u> <ul style="list-style-type: none"> • Lits bactériens ou de pérculation 	<ul style="list-style-type: none"> • Faible consommation d'énergie • Fonctionnement simple • Bonne décantation de boues 	<ul style="list-style-type: none"> • Cout d'investissement élevé • Sensibilité au colmatage et au froid • Nécessite un prétraitement efficace • Boues fermentescible

<ul style="list-style-type: none"> • <i>Disques biologiques ou biodisques</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Adapté pour les petites collectivités • Bonne décantabilité des boues • Plus faible sensibilité aux variations de charge que la technique des boues activées. 	<ul style="list-style-type: none"> • Performance plus faible que la technique de boues activées • Cout d'investissement important • Grande sensibilité aux variations de température ce qui exige une couverture • Boues putrescibles

II. Situation des traitements des eaux usées au Maroc

Les eaux usées au Maroc présentent non seulement une nouvelle limitation de la ressource disponible mais surtout une atteinte à la santé des populations et à la qualité de l'environnement en général. Au Maroc, les volumes d'eaux usées rejetés ont été estimés à 600 millions de m³ en 2005 et atteindraient 900 Mm³ par an, à l'horizon 2020 (Ministère de l'Agriculture, Administration du Génie Rural, 2002) (Figure 1). A l'instar des pays en développement, l'essentiel des eaux usées sont déversées dans le milieu naturel après et/ou sans traitement, en fonction des villes. La dégradation de l'environnement liée à la pollution de l'eau a des retombées économiques négatives importantes.

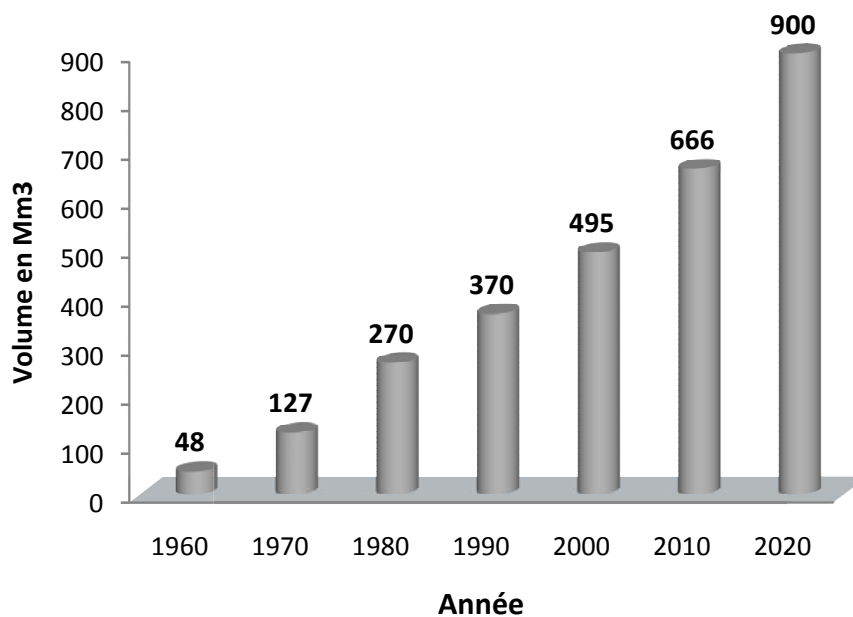


Figure 1 : Evolution des volumes des eaux usées rejetés (Mm³/an). (Ministère de l'Agriculture, Administration du Génie Rural, 2002)

Le tableau 2 résume le mode de gestion de l'assainissement liquide en milieu urbain.

Tableau 2 : Formes de gestion de l'assainissement liquide en milieu urbain (Rapport national 2009, stratégie de gestion de boues de STEP au Maroc)

Organisme	Nombre de centres
Municipalité ou Commune	261
Régies	16
ONEP	17
Sociétés privées	17
Total	311

Malgré que la construction des stations de traitement des eaux usées ait débuté au Maroc depuis les années cinquante, le secteur d'assainissement au Maroc connaît une défaillance structurelle importante. En effet, l'épuration des eaux usées, reste la composante qui connaît le plus de retard. Le Tableau 3 présente la situation et les différents types de stations d'épuration au Maroc (Bahij et Souidi, 2003). Bien d'autres stations ont été lancées après 2003 d'après le plan national d'assainissement et dont le nombre n'est pas identifié, le nombre de STEP reste en deçà des besoins réels.

Tableau 3: Situation et différents types de stations d'épuration au Maroc
(Bahij et Souidi, 2003)

STEP	Nombre	En fonction	Hors Service	Non Raccordée	Pourcentage en fonction
Boues activées	20	12	5	3	60
Lits bactériens	11	5	6	0	45,5
Décanteurs-Digesteurs	17	2	13	2	11,8
Egouttage	3	0	3	0	0
Lagunage	13	7	5	1	53,8
Infiltration-percolation	2	2	0	0	100
Chenal algal	3	1	1	1	33,3
Total	69	29	33	7	42,0

L'analyse de la situation révèle que les problèmes rencontrés par les stations d'épuration peuvent être de deux natures :

- d'ordre technique, de par l'inadaptation de la filière de traitement aux moyens et aux besoins locaux ou encore par le défaut de conception des ouvrages.

- d'ordre institutionnel du fait que l'institution chargée de gérer l'assainissement se trouve confronté à, l'absence de budget, un manque d'information des élus locaux et à l'absence de planification à court et à long terme.

Au début des années 2000, l'analyse de la situation au Maroc, fait apparaître d'importants retards en matière d'assainissement liquide. Bien que 73% de la population marocaine soit raccordée à une forme d'assainissement amélioré (Kawni, 1999; OIE eau, 2007), seuls 13% des eaux usées produites au niveau national bénéficiaient d'un traitement secondaire. Le linéaire total du réseau d'assainissement n'assurait qu'une couverture partielle des zones urbaines, et l'épuration des eaux usées comptaient juste un nombre très modeste de stations. Ce retard considérable porte un préjudice grave à la préservation des ressources en eaux et à l'environnement de manière générale.

Sur le plan juridique, la Loi 10-95 sur l'Eau a été promulguée pour combler le vide juridique existant. Cette loi sur l'eau vise à mettre en place une politique nationale de l'eau, basée sur une vision prospective qui tient compte d'une part de l'évolution des ressources, et d'autre part des besoins nationaux en eau. Elle prévoit des dispositions légales visant la rationalisation de l'utilisation de l'eau, la généralisation d'y accéder, la solidarité inter-régionale, la réduction des disparités entre la ville et la campagne dans le cadre de programmes dont l'objectif est d'assurer la sécurité hydraulique sur l'ensemble du territoire du Royaume. A cet égard, la loi sur l'eau constitue la base légale de la politique de l'eau du pays. Elle fixe, en conséquence, plusieurs objectifs dont la protection et la conservation quantitative et qualitative du domaine public hydraulique dans son ensemble.

Afin de pallier aux problèmes d'assainissement liquide, le Ministère de l'Intérieur et le Ministère de l'Aménagement du Territoire de l'Eau et de l'Environnement, ont constitué une commission mixte pour élaborer le programme PNA (Plan National d'assainissement Liquide) pour l'horizon 2020 qui consiste en la réhabilitation et l'extension du réseau, le branchement et le renforcement du réseau pluvial et la réalisation des stations d'épuration (traitement primaire, secondaire, voir tertiaire) pour équiper 330 villes et centres urbains avec un total de plus de 10 millions d'habitants. Ce programme permettra de répondre aux objectifs suivants :

- Répondre aux objectifs du millénaire du sommet de Johannesburg

- Atteindre un taux de raccordement global au réseau d'assainissement de plus de 75% en 2016, de 80% en 2020 en milieu urbain.
- Rabattre la pollution de 60 à 80 % au moins.
- Traiter jusqu'au niveau tertiaire les eaux usées et les réutiliser à 50% en 2020.
- Réduction de la dégradation environnementale et l'amélioration de la qualité de l'eau des systèmes aquatiques.
- Maitrise des risques sanitaires liés à la qualité de l'eau.
- Création des conditions favorables pour la réutilisation des eaux usées épurées.

Depuis la mise en œuvre du PNA, en plus des projets programmés, plusieurs autres projets de construction des STEP ont été achevés et d'autres sont en cours d'achèvement avec différents procédés de traitement. La situation actuelle est résumée aux tableaux 4 et 5:

Tableau 4: Le nombre des step achevées ou en cours et les organismes gestionnaires

Organisme gestionnaire	STEP achevées			STEP en cours		
	Nombre	Population 2010	Débit (m ³ /j)	Nombre	Population 2010	Débit (m ³ /j)
Villes et Centres gérés par l'ONEP	60	2 313 956	229231	43	1630928	130100
Villes et Centres gérés par les Régies	13	3 535 735	306 880	6	1337950	172700
Villes et Centres gérés par les Communes	4	89300	8320	2	10000	1154

Tableau 5: Stations achevées et en cours par les organismes gestionnaires dans le cadre de PNA

Le procédé	STEPS achevées et en cours		
	ONEP	Régies	Communes

	Achevée	En cours*	Achevée	En cours**	Achevée	En cours
Lagunage	46	27	10	2	3	-
Boues activées	11	5	2	3	-	2
Infiltration	2	2	1	-	-	-
Lit bacterien	1	6	-	-	-	-
Chenal algale	-	-	-	-	1	-

*La décision n'est pas encore définitive pour la nature du procédé pour deux stations qui sont en étude et une à un raccordement régie.

** Pour Anza le procédé est de prétraitement + Traitement primaire + désodorisation

Les prévisions pour 2015 ont été résumées au Tableau 6.

Tableau 6: Objectifs du programme PNA pour l'horizon 2015 (Rapport national Avril 2009, Identification et Elimination des Goulets d'Etranglement pour l'Utilisation des Eaux Usées dans le Cadre de l'Irrigation ou autres Usages)

	Taux de raccordement actuel (%)	Taux de raccordement Objectif fixé (Johannesburg)	Objectif visé (%)	
			SDNAL	Programme
				2015
Villes de moins de 20.000 habitants	40	/	100	60
Villes moyennes	67	83	100	75
Grandes villes	76	85	100	83
Total population Urbaine (%)	/	/	100	80

En ce qui concerne les projets de traitement et émission en mer projets achevés, en cours et ceux programmés sont présentés respectivement dans le tableau 7.

Tableau 7 : Projets achevés, en cours et programmés selon le PNA

	Centre	Débit STEP (m ³ /j)	Procédé de traitement

Projets achevés	Tanger	82 000	Prétraitement + émission en mer
	Tetouan	43 400	Prétraitement + émission en mer
	Casablanca (Al Hank)	500 000	Prétraitement + émission en mer
	Rabat	110 000	Prétraitement + émission en mer
	El Jadida (Régie)	95 040	Prétraitement + émission en mer
Projets en cours	Agadir (Régie)	49 680	Emission en mer ANZA 2,5 Km
Projets programmés	Sale	-	Prétraitement + émission en mer
	Casablanca (Nord)	-	Prétraitement + émission en mer
	Larache (Régie)	34 560	Prétraitement + émission en mer

III. Etat des lieux des boues de STEP

A l'échelle nationale il n'existe pas de données réelles sur la production des boues de STEP, en raison de l'absence d'études globales à l'échelle de territoire. Les rares études existantes se sont contentées de faire l'état des lieux de certaines stations ayant fait l'objet de différentes études. Selon les données citées précédemment on peut considérer que les procédés d'assainissement liquide dominants au Maroc sont le lagunage et les boues activées avec les proportions respectives de 72% et 14%. On peut calculer (sur base des valeurs proportions arrondies de 80% (au lieu de 72%) et de 20% (au lieu de 14%), on obtient une valeur pondérée de 17 920 tonnes de MS/an. On peut ainsi retenir une production actuelle potentielle de 18 000 tonnes de MS/an. Ce chiffre prend en compte des hypothèses liées à la population et au type de traitement. Sur la base d'une production de boues de 20g MS/EHJ, pour les systèmes extensifs (scénario: 80 % des cas) et 60g MS/EHJ pour les systèmes intensifs (20%) (Tableau 8) la production de boues est estimée à 40 000 T/an en 2010 et les prévisions sont de 300 000 T/an à l'horizon 2025 (Figure 2). Cette intense production de boues est liée au

lancement du programme PNA. En plus des boues de step, les boues de curage constitue un potentiel non négligeable.

Tableau 8 : Production de boues en fonction de systèmes de traitement des eaux usées

Hypothèse	Ratio de production de boues (gMS/habt/j)	Production de boues (tonne MS/an)
Basse (STEPs à dominance de systèmes extensifs comme le lagunage)	20	12800
Moyenne	40	25600
Haute (STEPs à dominance de systèmes intensifs comme les boues activées)	60	38400

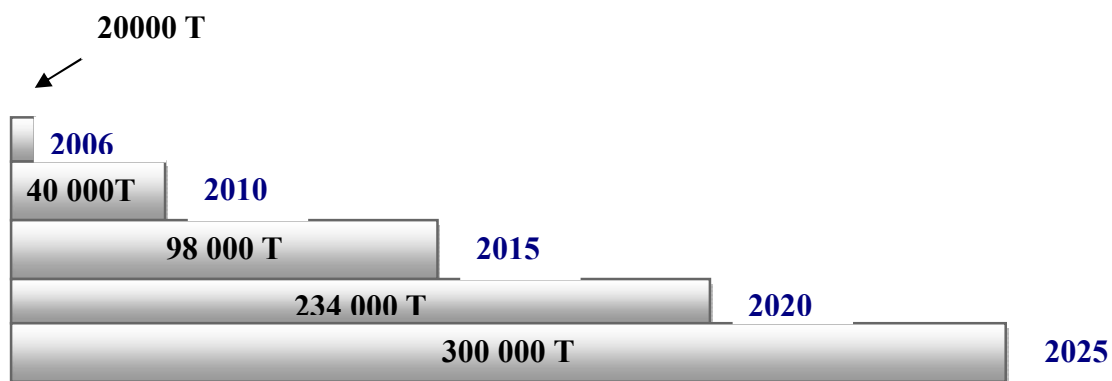


Figure 2 : Evolution des boues de STEP au Maroc (Rapport national 2009, stratégie de gestion de boues de STEP au Maroc)

En effet, d'après les données de la DGC, les eaux usées circulant dans le réseau d'assainissement contiennent en moyenne 10 % de boues dont 50 % sont réellement valorisables. La quantité des eaux usées qui traverse le réseau des égouts ne constitue que 75 % du total des eaux usées générées par les activités industrielles et ménagères. Malgré les prévisions de la production de boues produites au Maroc, ces derniers, demeurent faibles par rapport aux productions de boues habituellement produites dans des pays développés. L'ampleur de la production de boues qui est de 0,85 millions de tonnes/an en France (avec 15 000 stations d'épuration) et 2,7 millions de tonnes/an en Allemagne, reflète le retard accumulé par le Maroc en matière d'assainissement liquide.

III.1. Composition de boues de STEP

Selon plusieurs auteurs (Werther et Ogada, 1999; Jard et al., 2003; Singh et al., 2004) l'origine des eaux usées, la période de l'année, le type de traitement adopté, et le conditionnement pratiqué au sein de la station d'épuration sont les principaux paramètres qui influencent la composition des boues résiduaire. Les boues représentent un réservoir important de composés organiques, inorganiques (éléments fertilisants, éléments en traces métalliques) et d'agents pathogènes (microorganismes pathogènes, parasites...etc). Cependant, à côté de ces composés toxiques en relation avec la nature des activités raccordées au réseau d'assainissement, la matière solide de ces résidus représente une source importante d'éléments naturels valorisables.

III.1.1 Eléments fertilisants

D'importantes quantités en composés inorganiques usuels se retrouvent dans les boues à savoir : N, P, K, Ca et Mg. La concentration en azote varie entre 1 et 5 % de la matière sèche. L'apport de ces composés au sol peut couvrir, en partie ou en totalité les besoins des cultures en azote, en phosphore, en magnésie, calcium et en soufre. Cet apport peut aussi corriger des carences (Zebarth et al., 2000; Su et al., 2004; Warman and Termeer., 2005). Les éléments en traces tels que le cuivre et le zinc présents dans les boues sont aussi indispensables au développement des communautés du sol. Cependant la valorisation de ce résidu nécessite une bonne connaissance de sa valeur agronomique afin de le comparer aux engrais minéraux classiquement employés par les agriculteurs.

III.1.2. Eléments traces métalliques

Des études récentes (Amir et al., 2005, Jouraiphy et al., 2007), ont montré que la nature et la concentration des eaux usées en polluants sont très dépendantes des activités raccordées au réseau. L'essentiel des contaminations chimiques vient des rejets industriels et dans une moindre mesure des rejets domestiques (utilisation de solvants, déchets de bricolage, peinture...). Du fait de la décantation lors du traitement, ces contaminants chimiques se retrouvent dans les boues à de très grandes concentrations par rapport aux eaux usées. La présence des éléments traces métalliques (Al, As, Cd, Co, Cu, Hg, Mn, Pb et Se...) est variable dans une boue sous différentes formes chimiques. Ces composés sont toxiques à fortes doses, et sont non seulement non biodégradables mais ils ont tendance à s'accumuler dans les maillons. McBride (2003), a confirmé que le Cd, le Pb, et le Cr sont des toxiques potentiels. Hsu et Lo (2001) ont montré que la détermination de la teneur totale des métaux lourds ne

fournit pas d'informations utiles sur les risques de la biodisponibilité, ainsi qu'à la capacité de leur remobilisation et leur comportement dans l'environnement. Par contre, les formes chimiques d'un métal ou spéciation permettent l'estimation de la biodisponibilité des métaux lourds, et leur force de liaison, soit sous forme ionique libre ou complexée par des matières organiques, ou incorporée dans la fraction minérale de l'échantillon.

III.1.3. Polluants organiques et émergents

La matière fécale, les déchets ménagers, ainsi que les effluents industriels constituent la matière d'origine des boues, telle que les protéines, les acides aminés, les sucres et les graisses, d'origine animale ou végétale et qui restent non toxiques.

La présence des polluants chimiques et organiques d'origine industrielle et agricole, a été réglemanté et plusieurs études ont été réalisées pour évaluer leurs effets. Avec l'essor et le progrès des méthodes analytiques, la présence de nouveaux produits inattendus « les contaminants émergents » a été décelée.

Une multitude de ces polluants peuvent être contenus dans les boues; notamment les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), pesticides principalement les organochlorés, composés aliphatiques halogènes, chlorobenzènes, composés organiques volatiles (COV), phénols, dioxines...etc. Les substances dont les concentrations sont supérieures à 10 et même à 100 mg/kg dans les boues stabilisées sont les phthalates, les surfactants. La forte concentration en surfactants s'explique par leur utilisation dans les lessives, ce qui peut justifier leur présence en concentrations en général de l'ordre de $\mu\text{g}/\text{kg}$ de MS dans les boues (Pérez et al., 2001; Amir, 2005, Som, 2006). Quant aux phthalates, ils se retrouvent en concentrations très élevées parce qu'ils sont largement utilisés pour la fabrication d'adhésifs, de colles et de lubrifiants. Ces composés sont constitués d'un noyau benzénique portant deux groupements carboxylates dont la taille de la chaîne alkyle peut varier. Le plus couramment utilisé d'entre eux est le di(2-éthylhexyl)phthalate (DEHP) appartient à la famille des esters de phthalates, dont les principaux métabolites sont le 2-éthylhexanol, le 2-éthylhexanal, et l'acide 2-éthylhexanoïque. Les phthalates sont utilisés comme additifs assouplissants dans les matières plastiques (en particulier dans le polychlorure de vinyle, PVC). Ils peuvent également entrer dans la composition des peintures, colles et encres (Lashermes, 2010). Leurs origines dans les boues sont les effluents d'industrie du plastique, et de matériaux constitués de plastiques qui peuvent être transférés dans les eaux usées. En raison de leur faible solubilité dans l'eau (Langford et Lester, 2003), et de leur forte hydrophobicité, le DEHP s'accumule dans les boues d'épuration, et a tendance à s'adsorber sur

les sédiments et la matière en suspension (Scrimshaw et Lester, 2003; Abad et al., 2005; Barnabé et al., 2009). Ce phénomène varie considérablement avec le type de matrice solide. Schulten et al. (2001), ont démontré que la complexation de di-éthylphthalate peut être biphasique, si les concentrations en DEP sont faibles, l'adsorption se fait à l'intérieur des vides des structures humiques, et quand la concentration augmente, l'adsorption se fait à la surface externe de ces structures humique. A des doses normales, ces polluants sont caractérisés par une demi-vie très courte (Dérfler et al., 1996). Les micro-organismes interviennent avec un pourcentage important à la dégradation des phthalates (Chang et al., 2004). Gavala et al. (2004), ont observé que les phtalates sont lentement dégradés au cours du prétraitement thermique par des réactions physicochimiques. L'hydrolyse, et la photodégradation sont aussi des mécanismes d'élimination des phtalates. Les teneurs limites de ces composés dans les boues selon les données de Jardé (2002) est de l'ordre de 100 mg/kg MS.

La biodégradation et la métabolisation des HAPs par les microorganismes, bactéries et champignons, constituent la principale voie de dégradation des HAPs. La biodégradation se fait essentiellement par voie aérobie et dans une moindre mesure par voie anaérobie. La biodégradabilité des HAPs est fonction du coefficient de partage/octanol eau. Les HAPs de faible poids moléculaire (2 et 3 noyaux aromatiques) sont davantage soumis à la biodégradation que les HAPs de poids moléculaire plus élevé (4 et 5-6 noyaux aromatiques). Des souches bactériennes de type gram-négatif comme les *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Acinetobacter* isolées à partir de sols pollués ont montré leur capacité à métaboliser ces HAPs, par l'intervention notamment de dioxygénases (Fritsche et Hofrichter, 2000). Peu de données existent sur les bactéries capables de biodégrader les HAPs de poids moléculaire élevé (Juhasz et Naidu, 2000). Il s'agirait principalement de bactéries de type gram-positif telles que les Actinomycètes appartenant aux genres *Mycobacterium*, *Rhodococcus*... Pagnout et al. (2006, 2007). Les champignons filamenteux ont la capacité de dégrader les HAPs de poids moléculaire élevé (> 3 noyaux aromatiques) et plus généralement les HAPs faiblement biodisponibles. Ces champignons attaquent la structure des HAPs par la production d'enzymes extracellulaires de type lignine peroxydases, laccases (Rama et al., 2001; Mougin, 2002; Mougin et al., 2003; Potin et al., 2004). Différents processus physico-chimiques (volatilisation, photo-oxydation, lixiviation, lessivage, température, pH) et la biodisponibilité des polluants peuvent modifier la structure, le comportement, le devenir et la toxicité des polluants.

Les polychlorobiphényles (PCB) sont des dérivés de substitution du noyau de biphényle par 1 à 10 atomes de chlore. Ils sont caractérisés par une faible volatilité, une haute stabilité thermique et une forte résistance à l'oxydation (Lashermes, 2010). Ils sont lipophiles et ont tendance à se concentrer dans le milieu récepteur. Il s'agit des produits de synthèse exclusivement anthropogénique qui ont commencé à être utilisés dans les années 1930 dans les encres d'imprimerie, dans les peintures, en tant qu'isolants dans les transformateurs électriques (Borja et al., 2005). Bien que leur production industrielle ait été arrêtée dans les années 1980, ils sont toujours détectés dans l'environnement, et l'élimination des anciens résidus demeure un problème non entièrement résolu (Barriuso et al., 1996). La toxicité des PCB repose principalement sur leur pouvoir d'augmenter la croissance tumorale, sont des inducteurs enzymatique puissants (Monod, 1983). Dans le sol suite à l'épandage de boue de step, la concentration de ces polluants se modifie au cours du temps, et plusieurs mécanismes peuvent expliquer ce phénomène, à savoir leur adsorption (Weast, 1980), volatilisation (Bacci and Gaggi, 1985), photo-dégadation (Tarradellas, 1984) et/ou dégradation microbienne (Focht et al., 1987), dans des conditions aérobies et anaérobies (Rhee et al., 1989, Gan et Berthouex, 1994). Le taux de dégradation diminue généralement quand le nombre de chlore substitué augmente (Rhee et al., 1989; Gan et Berthouex, 1994). Selon les données bibliographiques citées par Jardé, (2002), les teneurs moyennes en PCBs dans les boues européennes varient entre 0 et 250 mg/kg MS. Cependant les teneurs limites en composés organiques PCBs dans les boues pour leur épandage sur sol agricole d'après l'«European Union Drafton Sewage Sludge » est de 0,8 mg/kg MS.

Les boues sont aussi le lieu de convergence de plusieurs autre types des polluants organiques tels que les colorants, les pesticides, les solvants, et les résidus de médicaments (Moreda et al., 1998; Harrison et al., 2006). Selon les données bibliographiques de Maroga Mboula, (2012), un grand nombre de ces produits sont utilisés dans la vie courante en grande quantité mais aussi dans l'industrie, l'agriculture ainsi que pour le bien être animal; on inclut dans ces produits, les composés chimiques ménagers, les produits industriels, les produits pharmaceutiques et les produits de soins personnels (antibiotiques, hormones, anticancéreux, analgésiques, les anti-inflamatoires, les antihistaminiques...etc) (Hignite and Azarnoff, 1977, Snyder et al., 2003; Donn et al., 2008), des œstrogènes naturels ou synthétiques, les produits d'usage corporel (savons, crèmes...), produits d'entretien (détergents...), les sous-produits de désinfection... (Tableau 9).

Tableau 9: Classe des polluants émergents (Barcelo, 2003)

Exemples de composé	
Produits pharmaceutiques	
Antibiotiques	Triméthoprime, Erythromycine, Lincomycine, Sulfaméthoxazole
Analgésique, Anti-inflammatoires	Codéine, Ibuprofène, Acétaminophène, Aspirine, Diclofénac
Médicaments psychotiques	Diazépam
Régulateurs de lipide	Bézafibrate, acide clorifibrique, acide fénofibrique
β -bloquants	Métoprolol, propranolol, timolol
Stéroïdes et hormones	Oestradiol, Oestron, Oestriol, Diéthylstilbestrol
Produits à usage ménager	
Parfums	Polycyclique, Macrocyclique
Produits solaires	Benzophénone, Méthylbenzylidène
Insecticides	N,N-diéthyltoluamide
Antiseptiques	Triclosan, chlorophène
Tensioactifs et leurs métabolites	Ethoxylates d'alkylphénol, 4-nonylphénol, 4-octylphénol, Carboxylates d'alkylphénol
Additifs industriels	Agents chélatant (EDTA), Sulfate aromatique
Additifs d'essence	Dialkyl d'éther, Méthyl-ter-butyl éther (MTBE)

La présence de ces composés émergents à des concentrations de l'ordre de $\mu\text{g/L}$ ou ng/L dans les milieux aquatiques et les sols est considérée comme une menace potentielle pour les écosystèmes environnementaux (Halling-Sørensen et al., 1998, Barcelo, 2003; Lapworth et al., 2012), ils sont introduits continuellement dans le milieu aquatique par les effluents des stations d'épuration, principalement via les rejets (industriel, pharmaceutiques, et domestique) (Petrović et al., 2003).

Plus de 80 substances pharmaceutiques ont été détectées dans les eaux naturelles ou souterraines et les eaux usées (Heberer, 2002), et également dans les sols agricoles soumis à l'épandage de boues d'épuration municipales (Kinney et al., 2008; Wu et al., 2009). Parmi les composés pharmaceutiques souvent détectés dans les milieux aquatiques, on trouve les anti-inflammatoires non stéroïdiens (diclofénac, ibuprofène), les anticonvulsivants (carbamazépine), les régulateurs de lipides (gemfibrozil) et les antibiotiques (sulfamides, tétracyclines, fluoroquinolones). Selon les données de Drawano, (2013) douze molécules de trois classes différentes ont été ciblées incluant: pesticides, certaines classes de ces polluants, les médicaments et résidus de médicaments, les hormones naturelles, montrent des effets

défavorables sur la faune et parfois sur l'homme malgré leurs faibles concentrations. Les hormones à l'exemple du 17β -œstradiol peuvent causer des effets de perturbations endocriniennes chez les hommes et les animaux. De plus, l'exposition prolongée aux médicaments en particulier les antibiotiques augmente la résistance chez les microorganismes pathogènes (Birkett et Lester, 2003).

Ces produits peuvent poser un problème dans le traitement des eaux usées urbaines parce que, d'une part, les procédés de traitement actuels ne permettent pas leur élimination totale et, d'autre part, certaines molécules toxiques non biodégradables peuvent avoir un impact sur la biomasse utilisée en station d'épuration (Pasquini et al., 2001). Le taux d'excrétion est généralement en fonction de la pharmacologie du composé et du mode d'application (orale, cutanée, etc.). On estime en moyenne que 42% est excrété sous forme de métabolites, alors que 64% est excrété par l'urine et 35% par les fèces (Lienert et al., 2007). Les composés les plus largement étudiés sont les hormones stéroïdiennes qui font partie des composés biologiquement actifs synthétisés à partir du cholestérol. Ces hormones sont sécrétées par le cortex rénal, les testicules, les ovaires, le placenta. Les êtres humains aussi bien que les animaux peuvent excréter les hormones via les urines ou les fèces. Pour l'œstrone (E1) et la 17β -œstradiol (E2), environ 3 à 20 et 2 à 12 $\mu\text{g}/\text{personne}$, sont excrétées respectivement par les femmes Ying et al. (2002) (Tableau 10); et qui ne sont pas complètement éliminées dans les filières de traitement des stations d'épuration, elles se retrouvent alors rejetées dans l'environnement dans les effluents de ces stations (Cargouët et al., 2004). D'autres sources de contamination par des hormones stéroïdes peuvent être citées telles que les excréments d'animaux (les moutons, les bovins, les porcs, les volailles). Une fois excrétées sur le sol, ces hormones peuvent se propager par ruissellement et par infiltration atteindre d'autres compartiments comme les eaux souterraines.

Tableau 10: Excrétion journalière des hormones stéroïdes en $\mu\text{g}/\text{L}$ (Ying et al., 2002)

	E2	E1	E3
Hommes	1,6	3,9	1,5
Femmes	3,5	8	1,5
Femmes ménopausées	2,3	4	1
Femmes enceintes	259	600	6000

E2: 17β -Oestradiol, E1: Oestrone, E3: Oestriol.

Malheureusement, une grande quantité de médicaments prescrits ou en vente libre ne sont pas consommée et beaucoup d'entre eux sont encore éliminés dans les toilettes. Ils finissent par

retrouver leur chemin vers le milieu aquatique via les effluents de traitement des eaux usées (Steger-Hartmann et al., 1997; Bernhard et al. 2006 ; De Wever et al., 2007). Leur devenir environnemental est principalement contrôlé par des processus physiques, chimiques et biologiques (adsorption, photodégradation, dégradation chimique et dégradation microbienne) (Kaneco et al., 2004, Rodriguez et al., 2010). Ces processus décrivent la base des procédés d'élimination de ces composés dans les stations d'épuration. Dans une étude sur le bisphénol A, il a été montré que l'effet des ions présents dans la matrice aqueuse (nitrates, carbonates etc.), le pH, l'intensité de l'irradiation ainsi que la présence de dioxyde de titane pouvait intervenir dans l'élimination des contaminants (Chiang et al., 2004; Fujishima et al., 2008; Tsai et al., 2009). Néanmoins la plupart de ces composés ont tendance à s'adsorber sur les phases solides (Birkett et Lester, 2003; Von Sperling, 2007). Le devenir et le comportement de ces composés dépendent donc dans une large mesure de devenir et du comportement de ces phases solides (particules en suspension, colloïdes, sédiments, biosolides).

Les antibiotiques les plus recherchés dans les boues sont classés en sept familles : fluoroquinolone (FQ), sulfonamide (SA), (PE), cephalosporine (CE), nitroimidazole (NI), tetracycline (TC), et macrolide (MA) (Hartmann et al., 1999, Golet et al., 2003, Hamscher et al., 2005). Parmi ces familles les plus rencontrées dans l'environnement : les macrolides, les fluoroquinolones (FQ) et sulfonamides (Ternes, 1999, Sacher et al., 2001). Ces composés peuvent générer des dommages de l'ADN dans les bactéries, les plantes, et suscitent des inquiétudes pour l'homme (Mc Queen et al., 1991; Holden et al., 1989, Hartmann et al., 1999, Khadra et al., 2012). Les études de toxicité les plus rencontrées sont les évaluations d'effet de toxicité aiguë. Cette dernière est étudiée sur la faune et la flore *in vivo*, chez l'animal après exposition à des doses relativement élevées ou *in vitro*, avec des tests sur des cultures cellulaires comme exemple les poissons, les algues et les souris (Farré et al., 2001 ; Staples et al., 2000 ; Russo et al., 2002 ; Birkett et Lester, 2003 ; Ferreira et al., 2007).

III. 1. 4. Les germes, les parasites et les risques sanitaires

D'après la littérature, les boues de STEP sont connues par leur pouvoir de concentrer une très grande diversité d'organismes pathogènes (bactéries, virus, parasites...) (Dumontet et al., 2001 ; Bagge, 2005 ; Jouraiphy, 2007) (Tableau 11). Néanmoins un grand nombre de microorganismes est nécessaire au bon déroulement des processus. L'ensemble de ces microorganismes se trouve initialement dans les eaux usées. Parmi les problèmes liés à

l'utilisation des boues, les plus préoccupants, concernent la présence des bactéries pathogènes et des parasites ayant un potentiel pathogène élevé.

Compte tenu de la grande diversité d'agents pathogènes, il est difficile de détecter et de quantifier tous les germes (Bagge, 2005). Il est donc nécessaire d'utiliser des organismes indicateurs afin d'évaluer l'efficacité d'hygiénisation du traitement.

Tableau 11: Les différentes catégories de microorganismes pathogènes isolés des boues d'épuration (Dumontet et al., 2001)

BACTERIES	VIRUS	HELMINTHES	PROTOZOAIRES	CHAMPIGNONS	LEVURES
<i>Salmonella spp.</i>	Poliovirus	<i>Ascaris lumbricooides</i>	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Aspergillus spp.</i>	<i>Candida spp.</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Coxsackievirus	<i>Trichuris sp.</i>	<i>Cyclospora cayetensis</i>	<i>Phialophora richardsii</i>	<i>Trichosporon</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	Echovirus	<i>Hymenolepis sp.</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Geotrichum candidum</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Campylobacter spp.</i>	Parvovirus	<i>Taenia saginata</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Tricophyton spp.</i>	
<i>Clostridium botulinum</i>	Adenovirus	<i>Toxocara (canis et cati)</i>	<i>Sarcocystis spp.</i>	<i>Epidermophyton spp.</i>	
<i>Clostridium perfringens</i>	Reovirus	<i>Diphyllobothrium latum</i>	<i>Cryptosporidium parvum</i>		
<i>Shigella spp.</i>	Virus de l'hépatite A, C et E	<i>Echinococcus granulosus</i>	<i>Encephalitozoon intestinalis</i>		
<i>Mycobacterium spp.</i>	Rotavirus	<i>Ancylostoma duodenale</i>	<i>Vittaforma corneae</i>		
<i>Staphylococcus (souches coagulase positives)</i>	Astrovirus	<i>Necator americanus</i>			
<i>Streptococcus (souches beta hémolytiques)</i>	Calicivirus				
<i>Escherichia coli (souches entéro-pathogènes)</i>	Coronavirus				
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Norwalk-like calicivirus				
<i>Bacillus anthracis</i>	Virus adénoassociés				
<i>Vibrio spp.</i>	Virus Influenza				
<i>Leptospira spp.</i>	Polyomavirus (JC et BK)				
<i>Aeromonas mobiles</i>					
<i>Arcobacter spp.</i>					
<i>Brucella spp.</i>					

Les infections se produisent généralement lors de la consommation d'aliments ou d'eau contaminée par des microorganismes pathogènes, la survie de ces derniers sur les végétaux est très variable selon Kowal et al. (1982) ; les bactéries, les virus et les helminthes peuvent résister en moyenne 1 mois et seulement 2 jours pour les protozoaires. Des différences importantes existent entre les différentes espèces d'helminthes, certaines présentent une résistance importante (*Ascaris sp.*) ; 0,8 à 1,2 milliard de personnes ont globalement ascaridiase et la population la plus touchées étant l'Afrique subsaharienne, l'Amérique latine l'Asie (Lozano, 2012). Cela rend l'*Ascaris* la forme la plus courante d'helminthiases transmise par différentes voies notamment le « sol-oral-fécal ». Les dommages viscéraux,

induits par ce parasite sont l'inflammation chronique des intestins, des risques de péritonite, l'élargissement du foie et/ou de la rate et des poumons (Hagel et Giusti 2010). Les enfants âgés entre 5 à 15 ans représentent la population la plus vulnérable (Bundy et al., 2004).

Les eaux usées sont susceptibles de véhiculer un grands nombre d'œufs d'helminthes avec la matière fécale d'origine humaine ou animale appartenant aux classes des némathelminthes (nématodes, Acanthocéphales) et des Plathelminthes (Trématodes, Cestodes) (Stien, 1989) (Tableau 12). Les parasites ayant un intérêt sur le plan santé publique sont les protozoaires, comme les Amibes, *Toxoplasma gondii*, *Giardia lamblia* et *Cryptosporidium sp.*, ainsi que les helminthes appartenants à différents groupes taxonomiques dont :

- les nématodes : *Ascaris sp.*, *Toxocara sp.*, *Trichuris sp.*, *Capillaria sp.*, et *Ankylostoma duodenale*.

- les cestodes : *Taenia saginata*, *Taenia solium*, *Hymenolepis sp.*

- les trématodes : *Fasciola sp.*, *Schistosoma sp.* (Bouhoum, 1987, Asmama, 1996).

La contamination des boues par les helminthes est quasiment systematique; ces parasites peuvent se retrouver sous forme de kystes ou d'œufs dont le nombre peut varier de plusieurs centaines à quelques milliers par kilogramme. Les techniques de récupération des œufs et d'analyse de la viabilité employés sont toutes différentes, et par conséquences les résultats ne sont donc pas directement comparables, néanmoins une grande diversité dans la hiérarchie des proportions des genres a été observée. Gantzer (2001) a déterminé des concentrations moyennes en œufs de nématodes viables comprises entre 2 et 45 œufs/10 g MS pour les échantillons de boue non traités dans l'ordre suivant : *Ascaris* (37,7%) > *Trichuris* (34,8%) > *Capillaria* (13,8%) > *Toxocara* (13,7%).

Tableau 12 : Différents types d'œufs d'helminthes retrouvés dans les boues et les eaux usées (Kowal, 1985)

Classe	Sous-classe	Famille	Genre	Hôte définitif
Némathelminthes	Nématodes	Ascarididae	<i>Ascaris</i>	Homme, Porc
			<i>Toxocara</i>	Chien, chat
			<i>Toxascaris</i>	
		Trichuridae	<i>Trichuris</i>	Homme, Ruminants, chien, Chat, Porc
<i>Capillaria</i>	Mouton, chèvre, Ruminants			

		Oxyuridae	<i>Enterobius</i>	Homme, Rongeur, Cheval, Lapin
		Ancylostomidae	<i>Necator</i> <i>Ancylostoma</i>	Homme
		Strongyloidae	<i>Strongyloides</i>	Homme
	Acanthocephales		<i>Moniliformis</i>	Homme, Rongeur
Plathélminthes	Cestodes	Hymenolepididae	<i>Hymenolepis</i>	Homme, Rat, Souris
		Cyclophyllidae	<i>Taenia</i>	Homme, Chien, Chat
		Pseudophilidae	<i>Diphyllobothrium</i>	Mouton, Vache, Lapin, Homme, Chien, Chat
	Trémathode	Schistosomidae	<i>Schistosoma</i>	Homme
		Douves	<i>Fasciola</i>	Homme, Mouton
	<i>Dicrocoelium</i>		Homme, Mouton	

Au niveau des boues, les données bibliographiques ne sont pas facilement exploitables, la nature de l'échantillon (boue brute, digérées, déshydratées...) n'est pas toujours précisée, de plus les résultats sont exprimés soit par gramme de boue humide, soit par gramme de boue sèche. Cependant, le nombre d'œufs retrouvé s'échelonnent de 0 à 22,63 pour 100g de boue. Une autre analyse sur les boues « activée » non traitée de 20 station en Nord-Ouest de la France montre une contamination de 72,6% en œufs d'helminthes, plus de 90% appartiennent principalement à la famille des nématodes et au genre *Toxocara* (70%) suivi par *Capillaria* > *Trichuris* > *Ascaris* (Schwartzbrod et Banas 2003). Cette importante dispersion des concentrations est due aux divers facteurs climatiques, socio-économiques et démographiques. D'autres facteurs (Tableau 13) peuvent intervenir à savoir :

- La nature de l'effluent raccordé aux stations (urbains, industriel, hopitaux ou d'abattoires)
- Le nombre d'individu et/ou d'animaux infectés
- Le nombre d'œufs pondus quotidiennement par l'espèce d'helminthe.
- Le nombre d'œufs éliminés par gramme de matière fécale humaine infestée.

- Le système de traitement des eaux usées (lagunage, boue activée) et la forme, la densité et la vitesse de sédimentation des œufs d'helminthes peuvent influencer la concentration de ces derniers dans la phase boue (Stien, 1989) (Tableau 14).

Tableau 13: Nombre d'œufs pondus par jours chez différentes espèces d'helminthes et la valeur moyenne d'helminthes par gramme de matière fécale selon (Feachem et al., 1983; Shuval et al., 1986)

Parasites	Nombre d'œufs/Jour	Références	Agents	Quantité excréte /g de fécès
<i>Ascaris lumbricoides</i>	200 000	Feachem et al. (1983)	Ascaris	$10^4 - 3 \times 10^5$ en cas d'infection grave
<i>Ascaris suum</i>	200 000 - 450 000	Pike (1983)	Schistosoma mansoni	4×10^1
<i>Trichuris trichura</i>	10 000 - 45 000	Watson et al. (1983)	Trichocephale	10^3
<i>Taenia saginata</i>	800 000 /segment	Kowal (1985)	Taenia	10^4
<i>Ankylostoma duodenale</i>	200 000	Kowal et al. (1985)	Ankylostome	$1 \times 10^2 - 8 \times 10^2$

Tableau 14: Paramètre physiques des œufs d'helminthes dans l'eau (Shuval, 1977)

Parasites	Taille μm	Forme	Densité	Vt cm/sec	Vitesse sedimentation m/h
<i>Ascaris lumbricoides</i>	55 × 40	Sphérique	1,11	0,0181	0,65
<i>Ankylostome</i>	60 × 40	Sphérique	1,055	0,0108	0,39
<i>Taenia saginata</i>	36	Sphérique	1,1	0,0074	0,26
<i>Trichuris trichura</i>	22 × 50	Cylindrique	1,15	0,04261	1,53
<i>Schistosoma</i>	50 × 150	Cylindrique	1,18	0,3386	12,55

III. 1. 4. 1. Méthodes d'analyse des parasites et des germes dans la boue

Le développement de la parasitologie médicale a conduit à un large éventail de techniques pour le dénombrement des œufs d'helminthes intestinaux et des larves dans les fèces. Ces méthodes ont été adaptées à l'énumération des œufs d'helminthes dans les eaux usées, les boues et le compost. De nombreux procédés pour le dénombrement des œufs d'helminthes sont décrits dans la littérature. Chaque méthode a ses avantages et ses inconvénients, certaines ont un taux de récupération inconnue; certaines exigent des produits chimiques d'un coût prohibitif ou sont autrement impropres à une utilisation dans les laboratoires avec un équipement limité; et d'autres ne récupèrent qu'un nombre limité d'espèces. Il est clair qu'il n'y a pas de méthode universelle, et aucune méthode ne concentrera toutes les espèces avec la même efficacité.

Toutes les méthodes disponibles sont basées sur les principes de la méthode de Bailenger, (1979) dont l'un des deux principes fondamentaux est la flottation des parasites, selon le principe de l'équilibre hydrophile-lipophile de l'organisme lui-même et sa densité relative par rapport à celle du réactif de séparation loin des autres débris dans une solution de densité relativement élevée à savoir le sulfate de zinc (ZnSO_4 , 33 %, $d = 1,18$), ou les composés gras et autre matière sont séparés dans une solution d'interphase (acétate d'éthyle ou l'éther normale), tandis que les parasites se décontent dans un tampon non-miscible. Les deux processus s'appuient sur la force centrifuge. Bouhoum et Schwartzbrod (1989) ont comparé une série de méthodes pour l'analyse des matières fécales en vue de les adapter à des

échantillons d'eaux usées. De la vaste gamme de solutions de flottation testés, ils ont trouvé que l'iodomercurate (Janeckso et Urbany, 1931) concentre le plus grand nombre d'espèces d'œufs d'helminthes, mais ce réactif reste trop corrosif et coûteux pour une utilisation de routine. La méthode de Arthur (décrit dans Faust et al., 1938), basée sur le saccharose saturé en tant que solution de flottation, génère des déformations rapides des œufs. Cependant, la solution de sulfate de zinc (Faust et al., 1938) ne permet pas la bonne concentration de *Trichuris sp.*, ou *Capillaria sp.*. La méthode d'analyse utilisée (US, EPA) par Schwartzbord et Banas (2003) ne permet pas de détecter les *Taenia*. Cependant, les autres helminthes sont bien retrouvés. Bouhoum et Schwartzbrod (1989), ont conclu que la méthode Bailenger (Bailenger, 1979), et qu'ils ont adapté pour les eaux usées, était la méthode la moins coûteuse et la plus rapide qui peut être utilisée. Néanmoins, le procédé n'est pas adapté à un nombre de trématodes qui peuvent flotter dans la solution de sulfate de zinc, avec un grand risque de se déformer, ce qui rend difficile l'identification précise. Il paraît donc important de pouvoir évaluer le risque de contamination par les parasites, avec un outil méthodologique bien adapté afin de mieux évaluer l'indicateur parasitaire.

A l'instar des parasites, la charge en **bactéries pathogènes** est très variable, en fonction de l'espèce biologique et surtout du type de boue (primaire, mixte, biologique...). Les bactéries les plus représentées dans les boues sont celles d'origine entérique (*Shigella*, *Yersinia*, *Vibrio*, *Escherchia...etc*). Auxquelles s'ajoutent notamment les genres, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Mycobactérium* et *Listeria*. La présence d'un pathogène donné, comme le genre *salmonella*, est en fonction de la prévalence de porteurs sains ou malades au sein de la population. Les salmonelles sont fréquemment isolées dans les boues non traitées à des densités atteignent 10^3 à 10^5 /g MS (Nancie, 2000), les *Pseudomonas sp.*, se trouvent en quantités assez importantes dans les boues (6 à 8 log UFC/g MS).

Les Streptocoques fécaux sont proposés comme indicateurs pour confirmer l'efficacité de réduction des pathogènes (Sahlström, 2003). Selon Sahlström (2003), les Streptocoques fécaux sont les seuls indicateurs qui aient une corrélation significative avec les *Listéria monocytogènes*. Ces derniers seraient aussi des indicateurs fiables, notamment pour évaluer la réduction des *Salmonella* (Bagge, 2005). Mais, ils sont moins appropriés que les Streptocoques fécaux en tant qu'indicateur de contamination fécale (El Abagay, 1984).

Les virus, agent infectieux à la limite du monde vivant et du monde moléculaire, sont des microorganismes capsidé avec soit un ADN ou ARN. Ils sont capables de pénétrer et de se multiplier au sein d'une cellule hôte. Les principales familles de virus pathogènes pour l'homme susceptibles d'être rencontrées dans le milieu hydrique sont :

- Picornaviridae (Entérovirus)
- Reoviridae (Réovirus et Rotavirus)
- Caliciviridae (Calicivirus, Astrovirus)
- Toroviridae (coronavirus-like)
- Adenoviridae (Adénovirus)

L'ingestion et l'inhalation sont les principales voies de transmission des virus. La recherche des virus entériques dans la boue est généralement limitée aux Enterovirus qui sont des virus à ARN simple brin, le tractus alimentaire est la principale voie de contamination. Le pouvoir infectieux de ces microorganismes passe inaperçu, ils engendrent des manifestations sub-cliniques et sont généralement l'origine des méningites, d'altération des voies respiratoires, des conjonctivites, de maladies cardiaques et gastro-intestinales. Les Enterovirus varient d'une quantité non détectable à 10^5 particules par 10g/MS de boue non traitée (Cadiergues, 2000).

La biologie moléculaire est un moyen d'analyse quantitative des virus, la recherche des virus a été réalisée par culture cellulaire (cellules BGM) pour mettre en évidence leur infectiosité. L'extraction préalable comprend une phase d'éluion, de concentration et de décontamination bactérienne et fongique (Monpoého, 2001). Cadiergues (2000) s'est basé sur la détection des entérovirus dans la boue, néanmoins cette méthode est très complexe et le rendement et de récupération des entérovirus est très faible. Pour les autres types de virus, virus hépatites, Rotavirus, Astrovirus la biologie moléculaire est la seule alternative pour leur détection, même s'elle ne fournit pas d'indication quant à l'infection des particules virales.

Les champignons (levures et moisissures) participent aussi avec un taux non négligeable au pouvoir de contamination; comme *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans*. Comme l'infection humaine se fait par contact direct ou inhalation, les risques pour la santé sont surtout élevés chez les travailleurs lors de la manipulation des boues lors de la mise en décharge, ou lors du traitement par compostage, ou bien chez les agriculteurs lors de l'épandage agricole des boues sans prétraitement. D'autres symptômes rapportés par des travailleurs ont été liés aux endotoxines produites par les bactéries Gram-négatif (Deloraine, 2002). Des études sur ces composés dans le compost de boue n'ont jamais été effectuées.

III. 1.4.2. Les outils d'hygiénisation

L'ensemble de ces microorganismes pathogènes et parasites provenant essentiellement des matières fécales peuvent être rencontrés dans les eaux usées brutes, des stations d'épuration. Le temps de séjour et la vitesse de sédimentation de ces microorganismes définissent la charge

du récepteur final «boues» en microorganismes, d'où la nécessité d'une hygiénisation préalable de boues avant leur utilisation (Garrec et al., 2003).

Meekings et al. (1996) ont montré que l'*Ascaris lumbricoïdes*, un parasite de l'homme et des animaux, qui se développe dans les intestins et se transmet par les excréments humains infectés contenant des oeufs, est détruit à des haute températures. De même, Pereira-Neto et al. (1986) ont affirmé qu'une élévation de la température du compost à 58 – 65 °C pendant 10 à 15 jours a permis de réduire de manière significative le nombre de micro-organismes pathogènes à savoir *Escherichia coli* et *Salmonella* (Tableau 15).

Tableau 15: Niveau de température et temps nécessaire pour détruire certains pathogènes présents dans les matériaux à composter (Golueke, 1991)

Bactéries pathogènes	T°C létale	Parasites	T°C létale
<i>Escherichia coli</i>	15-20 mn à 60 °C ; 1h à 55 °C	<i>Entamoeba histolytica</i>	68 °C, temps inconnu
<i>Salmonella spp</i>	15-20 mn à 60 °C ; 1h à 55 °C	<i>Taenia saginata</i>	5 mn à 71 °C
<i>Shigella spp</i>	1h à 55 °C	<i>Necator americanus</i>	50 mn à 45 °C

Spillman et al. (1987) et Madeline (2003) ont montré que les coxsackievirus B5 sont rapidement inactivés par des digestions thermiques aérobies à 61°C. Cependant une digestion anaérobie mésophile a montré un faible pouvoir hygiénisant en comparaison avec le traitement par chaulage (Monpoého, 2001). Cardiègues (2000) a démontré que le compostage abouti à la production d'un compost exempt d'entérovirus et la température a été le facteur déterminant de l'inactivation virale.

D'autres paramètres peuvent aussi intervenir à l'hygiénisation en matière d'helminthe, de bactéries et de virus. Leur survie dépend du niveau de température, de la valeur du pH, de taux d'humidité, des teneurs en nutriments et du degré de luminosité (UV).

La déshydratation est un moyen qui permet de diminuer jusqu'à 10² UFC/g MS des bactéries (Smith, 2005) dans une boue. **Le pH** peut être un facteur de réduction de certaines bactéries, il a un effet toxique sur les *Escherichia coli* et sur les *Salmonella*. Un niveau élevé d'AGV et un pH acide entraînent une inactivation des *Salmonella*. Sahlström (2003) a montré qu'à pH = 4 l'inactivation est beaucoup plus importante qu'à pH = 5. **Les interactions négatives entre les bactéries** sont des facteurs non négligeables. La composition par exemple *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogènes*, *Yersina enterocolitica* utilisent les

nutriments qui sont aussi utilisés par d'autres bactéries, la concurrence sera donc importante (Sahlström, 2003).

Les données bibliographiques indiquent que le compostage (dégradation aérobie thermophile) est un procédé considéré comme très efficace en terme d'hygiénisation en éliminant les agents pathogènes de boues notamment par le biais de l'élévation de la température (Deportes et al., 1998, Vinneras et al., 2003). **Les rayons UV** comme les rayons gamma se trouvent être un outil efficace pour l'hygiénisation des boues d'épuration (Rathod et al., 2009). D'autres types de rayonnement, y compris alpha, bêta et des rayons X ont également été utilisés (Getoff, 1992).

III. 2. Principales filières de traitements de boues de STEP

Au Maroc, l'élimination de boues résiduelles pose des problèmes sous-estimés ou mal pris en compte dans les projets d'installation. De plus, les possibilités d'évacuation ne sont pas nombreuses et sont soumises à diverses contraintes. Comme cité auparavant, les opérations disponibles sont complexes et coûteuses pour la collectivité et leurs applications et validation sur différents sites d'évacuation choisis, permettent de juger d'avance leur défaillance, vue les conséquences et les effets secondaires de certains procédés existants pour le désengorgement de la station en boues. En termes de coûts économiques, la haute valeur de la redevance environnementale dont la nécessité de grands espaces d'évacuation, le transport/déchargement et aménagement des sites, rend le coût de filière de traitement prohibitif, qui n'est pas à la portée de budget de nombreuses communes au Maroc. De même, la sécheresse et la forte charge en matière organique hautement fermentescible de boues, les nuisances sanitaires en premier temps olfactif pour la population avoisinante, handicapent davantage certaines filières de traitement et d'élimination.

Actuellement, aucune filière de traitement de boues n'est utilisée au Maroc, bien que le Plan National d'Assainissement Liquide (PNA) recommande de développer les recherches en matière de traitement de ces boues. Plusieurs filières existent pour l'élimination de ces boues, mais le choix doit être tributaire du coût d'installation, de l'origine des boues, de la valeur ajoutée du produit qui en résulte et de l'impact que pourrait avoir la filière retenue sur l'environnement.

La déshydratation (par centrifugation, filtre-presse, filtre à bandes presseuses, électro-déshydratation...) libèrera une grande partie de l'eau constituant la plupart du volume des boues. Les boues sont ensuite (selon leur toxicité ou degré d'innocuité pour l'environnement) valorisées comme amendement, stockées ou incinérées.

La stabilisation par chaulage qui est un produit ancestral dynamisé par un procédé innovant. Cette méthode a connu un développement soutenu en raison de son efficacité vis-à-vis de la maîtrise des nuisances olfactives et de l'intérêt calcique des boues chaulées pour les sols acides (ADEME, 1996; Dousset et al., 1999). Le chaulage peut jouer sur deux facteurs selon la chaux utilisée (vive ou éteinte). La chaux vive : ou oxyde de calcium provoque une réaction exothermique qui libère de la chaleur et entraîne donc une montée en température, ce qui permet de détruire les pathogènes. La chaux éteinte: ou hydroxyde de calcium provoque une augmentation du pH (jusqu'à 10) et une libération d'ammoniac, ce qui permet d'inhiber beaucoup de pathogène entériques (Heinonen-Tanski, 2006). Une digestion anaérobie de boues d'épuration, suivie d'un traitement à la chaux (10%) permet une destruction complète des bactéries genre *Salmonella*.

L'incinération de boues de step permet la destruction de la matière organique des déchets par combustion à haute température (+ de 500 °C) produisant des fumées et des matières minérales résiduelles nommées cendres. Dans l'objectif d'une valorisation énergétique des déchets, la chaleur produite est récupérée sous forme de vapeur ou d'électricité pour le fonctionnement du four lui-même, pour le chauffage urbain ou industriel (Prevot, 2000).

Dans le cas de boues, l'incinération est une technique difficilement maîtrisable, due à la composition hétérogène des boues; et la variation de leur teneur en eau font que ces résidus sont difficilement maniables et provoquent des coups de feu dans les incinérateurs (Stasta et al., 2006; Nadziakiewicz et Koziol, 2003).

L'épandage agricole de boues de step est sans doute une solution envisageable. Les composés tel que le carbone, l'azote, le phosphore et le potassium étant ainsi recyclés et valorisés par la végétation en place (Lambkin et al., 2004). Néanmoins, l'épandage direct de boues non traitées fait l'objet des réticences auprès des agriculteurs, en raison des risques liés à la présence des agents pathogènes, des odeurs nauséabondes, ce qui peut présenter un risque pour le voisinage. Au Maroc, en absence de loi qui réglemente l'usage de boues, il serait plus judicieux d'être prudent et n'autoriser que l'épandage de boues traitées au préalable, soit après stabilisation, hygiénisation et maturation. En raison des besoins grandissants de valorisation et d'élimination des déchets ; une voie naturelle de valorisation des déchets organiques, comme la filière de compostage, comportant de nombreux avantages socio-économiques et surtout environnementaux peut être appliquée. Il sera judicieux d'étudier la faisabilité de cette possibilité et étudier les possibilités de l'intégrer dans le programme national d'assainissement liquide.

Valorisation par des procédés biotechnologiques selon deux filières aérobie et anéorobie ;

La biométhanisation de boues de step consiste en la transformation de la matière organique par les bactéries en anaérobiose. Conduite dans des enceintes confinées, appelées digesteurs à l'intérieur des quelles les réactions de fermentation sont optimisées et contrôlées; elle produit du biogaz « méthane », en réduisant la moitié de la matière organique. Le traitement de boues par biométhanisation doit être justifié après des études en matière des besoins énergétiques et les coûts d'énergie par rapport au marché. En effet, le biogaz qui sera fournit doit être compétitif pour justifier les investissements nécessaires.

IV. Aperçu sur la filière de compostage

Le processus du compostage est similaire à celui de l'humification naturelle des résidus organiques en substances humiques dans les sols. Cette technique est considérée prometteuse car elle permet non seulement de restituer la matière organique aux sols ce qui permet de se rapprocher des grands cycles naturel, mais aussi elle permet de réduire les risques environnementaux liés à l'accumulation des déchets par la diminution de leurs volumes. L'enjeu principal de cette pratique biotechnologique naturelle de décomposition, est les communautés microbiennes, qui colonisent les substrats initiaux et qui peuvent transformer les substances organiques en produits stables et humifiés, renfermant des nutriments nécessaires à la croissance des plantes et la stimulation de la microfaune du milieu récepteur notamment le sol, tout en produisant la chaleur métabolique qui permet la destruction des organismes pathogènes.

IV.1. L'utilité de filière de compostage

De par l'évolution démographique, et industrielle, les produits et les déchets qui en résultent deviennent de plus en plus nombreux, diversifiés et complexes. Il faut alors identifier puis intégrer une filière de traitement la mieux adaptée et la plus pérenne possible. Au Maroc la production des déchets est diversifiée ; majoritairement déchets ménagers, déchets verts, et les déchets des stations d'épurations. Le problème s'accroît en absence de filière de séparation entre déchets industriel et urbain surtout dans les stations d'épuration. Néanmoins, plusieurs travaux ont montré que la filière de compostage est bien adaptée pour une large gamme de substrats: effluent liquide d'huilerie, déchet ménagers (Barje et al., 2012, Abouelwafa, 2009), les boue de STEP et déchets verts (Amir et al., 2001, 2010, Jouraiphy et al., 2007). Ces auteurs ont montré que le procédé de compostage a différents avantages et utilités dont les principaux sont:

- ✓ Procédé de compostage est une écotechnologie qui permet de réduire les masses et les volumes de déchets de moitié.
- ✓ Procédé biotechnologique, utilisant les potentialités microbiennes, pour transformer les substrats organiques, en un produit (appelé compost) stable et mature et exempt de toute phytotoxicité.
- ✓ Une désodorisation parfaite due à la transformation de l'azote ammoniacal, responsable principale des odeurs, en azote organique par les micro-organismes.
- ✓ Il s'agit d'un amendement organique permettant d'améliorer la structure des sols permettant l'aération, le drainage, la minéralisation des composés organiques, et la concentration des fertilisants qui permettra de réduire les carences nutritionnelles chez certains végétaux.
- ✓ L'augmentation de la température permet la destruction des agents pathogènes et la destruction de graines d'adventices, ainsi que l'inhibition de l'activité de certains champignons à l'origine de certaines maladies phytopathologiques.
- ✓ Il possède un effet à long terme dans le sol comparable aux fertilisants chimiques. Le compost possède d'autres propriétés comme la diminution de l'érosion des sols, l'augmentation de la capacité de rétention en eau ou l'amélioration des échanges gazeux.
- ✓ Enrichir et maintenir la biodiversité des populations microbiennes des sols.

IV.2. Principaux paramètres physico-chimiques de fonctionnement de compostage

Lors de la caractérisation et la valorisation d'un déchet par la filière de compostage, plusieurs paramètres sont à identifier: les constituants, les caractéristiques physico-chimiques, la concentration en éléments carbonés et azotés, et la présence de certains polluants. Leurs applications et leurs validations globale avec un savoir faire permet dans un premier temps de juger de l'efficacité de cette approche, en raison de son intérêt pour les exploitants. En effet, plusieurs usines ainsi que des entreprises ont échoué pour développer la filière du compostage, en absence d'une démarche préalablement étudiée selon les conditions réelles de fonctionnement de cette filière. Pour valider la méthodologie sur la filière compostage en incluant la collecte, le procédé, et également la valorisation du compost, un bilan est ensuite établi et la sélection des indicateurs et des paramètres les plus pertinents est effectuée (Charnay, 2005).

Au cours du compostage l'oxydation des composés organiques est le pilier de transformation des déchets organiques, ce phénomène est étroitement lié aux conditions physico-chimiques du milieu susceptibles d'affecter la décomposition de la matière organique, liés à la texture, la

structure des substrats compostés. Le processus de l'oxydation, en général, est influencé par: Le **taux d'oxygène** : l'oxygène est utilisé par les micro-organismes comme un récepteur terminal d'électrons lors de la respiration aérobie et de l'oxydation des substances organiques, pour un bon déroulement de compostage et afin de maintenir les conditions aérobies nécessaires à une décomposition rapide et inodore. Un taux d'oxygène lacunaire doit être ajusté pour le fonctionnement des micro-organismes. Selon Tomati et al. (1995), la présence d'oxygène à un seuil minimal de l'ordre de 5% d'O₂ est indispensable au bon déroulement du compostage. Pour se faire, la porosité des substrats et la taille des andains doivent être contrôlées.

La **granulométrie** grossière favorise la circulation d'air permet une bonne oxygénation des composts en évitant les conditions d'anaérobioses. Pour une granulométrie trop élevée, les apports en oxygène vont dépasser les teneurs optimales, asséchant le compost, et la montée en température se réalisera difficilement. Au contraire, une granulométrie trop fine induit un espace lacunaire trop réduit et diminue la circulation de l'air induisant un «étouffement» du compost. Néanmoins, la taille des matériaux à composter doit être moyennement petite pour augmenter la surface de contact avec les microorganismes et les enzymes (Trémier et al., 2009) et par conséquent une vitesse de dégradation importante. Cette taille selon la littérature doit être comprise entre 1,3 et 5 cm. Les particules qui dépassent significativement cette grandeur doivent subir un broyage. Si la teneur en oxygène est trop faible ou la masse à composter trop compacte, les conditions favorables à l'anaérobiose se mettent en place. Ce type de fermentation aboutit à un produit stabilisé mais par le biais d'un processus plus lent avec dégagement d'odeurs nauséabondes. Cependant, au fur et à mesure de la dégradation du substrat, le besoin en oxygène diminue et la pratique exige l'apport supplémentaire d'oxygène au cours du compostage. Plusieurs systèmes d'aération existent: **retournements** mécaniques, **aération** forcée ou pilotée, avec ou sans recirculation (Bari et Koenig, 2001). Toutefois, le retournement mécanique permet aussi d'améliorer l'homogénéisation des substrats (Ruggieri et al., 2008). L'apport d'oxygène réduit davantage l'humidité initiale si elle est trop forte, comme le cas de compostage des boues et des effluents d'huilerie, et améliore l'homogénéité du substrat et diminue une possible élévation excessive de température.

L'humidité est un facteur indispensable à la décomposition des substrats, bien que si la teneur en eau est en dessous de 20%, la décomposition sera inhibée. En revanche, si elle dépasse 70%, l'eau commence à remplir les espaces lacunaires des déchets et empêche les échanges d'oxygène, provoquant des conditions favorables à l'anaérobiose. Selon plusieurs

auteurs (Richard et al., 2002) l'optimum de teneur en eau se situe entre 40% et 60%. Une partie d'énergie calorifique dégagée lors du compostage sert à l'évaporation de l'eau qui est en grande partie évacuée à l'extérieur du compost, provoquant son assèchement. L'intensité de ces pertes varie selon les caractéristiques des matériaux compostés, et les conditions de compostage. Des pertes de l'ordre de 50% du taux d'humidité sont fréquemment mesurées (Sadaka et El Taweel, 2003). Pour compenser une perte excessive en eau qui limiterait l'activité microbienne, un arrosage est souvent réalisé.

Le **rapport C/N** est un facteur indispensable à l'activité biologique. Les bactéries utilisent le carbone comme source d'énergie et l'azote comme source protéique. Le procédé de compostage entraîne une décomposition de la MO, donc une consommation de l'azote et du carbone, correspondant à la diminution du **rapport C/N**. Le C/N d'un substrat est très variable et dépend de la composition intrinsèque du substrat à composter Mustin (1987). Mustin, (1987); et Gootas, (1959), ont montré que le gazon coupé à un C/N de 12, le tabac de 13, les légumes de 12-30, les ordures ménagères de 25, les papiers-cartons de 70, les branches d'arbres de 70, la paille de blé de 128, la sciure de bois 200, les déchets verts 30.

De nombreux auteurs (Ait Baddi et al., 2004 ; Barje, 2010, Hachicha et al., 2009 ; Vergnoux et al., 2009) ont réalisé des essais du compostage avec des substrats dont le rapport C/N varie d'un substrat à un autre en début de compostage. Il est donc nécessaire de connaître le rapport C/N initial des déchets afin de produire un mélange optimal en ajustant ce rapport par l'ajout des quantités d'éléments déficitaires/riches pour avoir un C/N dans les limites, afin d'assurer une dégradation idéale et homogène sur l'ensemble du processus. Le rapport C/N selon les données bibliographiques (Larsen et Mc Cartney, 2000 ; Amir et al., 2001, Mbuligwe et al., 2002, Sadaka et El Taweel, 2003; Antizar-Ladislao et al., 2005) doit être compris entre 25 et 40 à l'état initial, si le rapport est très bas (inférieur à 12), on assiste à une perte d'azote donc une production d'ammoniac (la dégradation des acides aminés...). Par contre, s'il est supérieur à 40, le processus de la dégradation devient lent. Cependant, un C/N final autour de 10-15 a été établi par différents auteurs (Ait Baddi et al., 2004 ; Jouraiphy, 2007 ; Barje, 2010, Hachicha et al., 2009 ; Vergnoux et al., 2009) comme un indicateur de la maturité des substrats. Un autre paramètre chimique important, vient de s'ajouter pour évaluer la maturité des substrats compostés $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$, au cours de compostage, une diminution de l'azote ammoniacal, régulièrement observée par plusieurs auteurs (Haug, 1993; Amir, 2005; Jouraiphy, 2007; Barje et al., 2012; El Fels et al., 2014a). Ceci est dû au processus de nitrification et à l'incorporation de N-inorganique dans les tissus microbiens durant leur croissance et aussi à la perte d'azote sous forme d'ammoniac, en particulier pendant la phase

thermophile (Bishop et Godfey 1983). En parallèle, les teneurs en nitrates évoluent inversement que les teneurs d'azote ammoniacal, ce qui explique le phénomène de nitrification de l'ammonium. L'enrichissement du compost final en NO_3^- par apport à NH_4^+ traduit l'évolution de substrat vers un compost exempt de phytotoxicité (Mustin, 1987 ; Benhassou, 1998; Charnay, 2005 ; El Fels et al., 2014a). En effet, les teneurs en ammonium NH_4^+ élevées peuvent induire une phytotoxicité. Dans ce cas, le rapport $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ inférieur à 1, peut être considéré selon plusieurs auteurs comme indicateur de maturité de composts (Amir, 2005 ; Barje, 2010, Hachicha et al., 2009 ; Vergnoux et al., 2009, El Fels et al., 2014a). Le **pH** et la **température** sont des paramètres interdépendants et difficilement dissociables à la maturité des composts. Au cours du compostage, le pH peut subir des variations généralement comprises entre 6 et 8 (Amir, 2005 ; Abouelwafa et al., 2008). A la première phase de compostage le pH diminue légèrement cette diminution du pH est due à la production des acides organiques et à la dissolution de CO_2 dans le milieu et/ou le produit de dégradation des molécules simples (glucides et lipides). Ces acides provoquent une acidification du milieu à cause de leurs accumulation (Kochtitzky et al., 1969; Mustin, 1987; Hafidi, 1996; Peters et al., 2000 ; Ait Baddi et al., 2004). Une légère augmentation dans la phase qui suit peut s'expliquer par le processus de l'ammonification et la production ammoniacale à partir de la dégradation des amines (protéines, bases azotée..), et peut être une libération des bases déjà existantes dans les déchets organiques (Ouatmane et al., 2000). Cette augmentation est généralement autour des valeurs neutres et les composts matures ont un pH voisin de la neutralité. Ce phénomène de stabilisation du pH peut s'expliquer par le pouvoir tampon de l'humus qui est formé dans la phase de maturation.

La Température est le premier paramètre physico-chimique qui reflète la compostabilité des substrats. Le suivi de ce paramètre est une mesure de l'intensité de décomposition. Ce paramètre physico-chimique du substrat au cours du procédé va découler le réajustement des conditions du procédé: ajout d'eau, fréquences des retournements...etc. La température de la phase thermophile (phase d'hygénéisation) pour un compostage bien aéré peut atteindre (50 à 65°C). Khalil et al. (2001) et Liang et al. (2003) ont montré qu'une température supérieure à 80°C inhibe l'activité bactérienne et par conséquent affecte négativement le processus du compostage. La libération de la chaleur au cours de la décomposition des substrats organiques se fait selon la réaction suivante (Mustin, 1987):



Une température au-delà de 55°C au moins pendant 5 jours de compostage à l'air libre est considérée comme une température d'hygénéisation selon l'U.S.E.P.A (1994) ; Charnay, 2005. Cependant, selon l'ADEME (1998), pour obtenir une bonne hygiénisation la température devrait dépasser 60°C pendant une semaine dans des réacteurs. En pratique, un produit est dit hygiénisé après 15 jours à une température supérieure à 55°C ou une semaine à 65°C pour des systèmes à l'air libre, ou 7 jours en aération forcée pour des températures supérieures à 60°C (W.R.A.P, 2004). Néanmoins, avec une montée en température suffisante, il existe un risque pour le compost de réinfection dûe à l'action de certains pathogènes en état de résistance (Hamer, 2003). D'autres auteurs ont montré qu'il est difficile d'homogénéiser la température au cours de compostage, ce qui peut permettre aux germes pathogènes (*Salmonella*, *E.coli*, Coliformes fécaux...etc) d'échapper au processus thermique d'hygénéisation (Tønner-Klank et al., 2007 ; Bhatia et al., 2013). Ceci soulève la question sur le rôle insuffisant de la température comme seul paramètre de réduction des pathogènes. Pour mieux illustrer cette question, une partie de notre travail a traité cette problématique. A la fin d'un compostage, un compost est considéré mature si la température est stable et voisine de la température ambiante extérieure sans excéder 35°C.

IV.3. La microbiologie du compostage et sa contribution à la détermination des phases de compostage

La biodégradation de la matière organique par les microorganismes est le pilier de la transformation des déchets organiques au cours du compostage. L'évolution des microorganismes présente un profil défini en fonction des espèces, au cours des différentes phases de compostage. Cette évolution est liée principalement aux variations des paramètres physico-chimiques, la nature et la structure des substrats compostés (Rosenzweig et al., 1980). Plusieurs phases théoriques se succèdent au cours du compostage. La première est appelée phase mésophile du fait des températures atteintes inférieures à 45°C. Avec l'aménagement des andains et la disponibilité des conditions favorables (matière première, ajustement des conditions physico-chimique : Humidité, aération, C/N,...) les envahisseurs initiaux des substrats (microorganismes mésophiles) activent leur métabolisme sur les substrats faciles à métaboliser (sucres simples et acides aminés libres), ce qui engendre une production de la chaleur et élève la température de compostage. La chaleur dégagée au cours de cette phase dépend de la nature des déchets compostés et le type d'isolement du milieu extérieur (Ahn et al., 2009). Ensuite, un changement de communautés mésophiliques par les communautés thermotolérantes et thermophiles. Les nouvelles conditions préparées par les micro-

organismes mésophiles, facilitent l'installation des espèces thermophiles qui reprennent le travail de dégradation de substrat et poursuivent le processus, il s'en suit une augmentation de la température jusqu'à 65°C voire 75°C. Durant cette phase très active, une partie importante de la matière organique est perdue par minéralisation du carbone organique et dégagement de CO₂. Un assèchement du compost lié à l'évaporation de l'eau est souvent observé. Cependant, la hausse de température est cruciale pour la qualité du compost. Cette phase dégradative (phase thermophile) est suivie par une période de ralentissement de l'activité, pendant laquelle la température diminue graduellement. De nouveaux microorganismes mésophiles colonisent à nouveau le compost, et s'en suit une phase de maturation constructive où apparaissent lentement des éléments précurseurs de l'humus. Le processus d'humification prédomine, le taux des substances humiques s'améliore par polymérisation et condensation des substances libérées lors de la décomposition de la matière organique résistante à cette phase, ce qui entraîne une coloration brune foncée à noir du compost et rend celui-ci plus fin et homogène. Le compost est alors mature et le processus est achevé.

Haruta et al. (2005) ont souligné que la microbiologie du compostage doit être étudiée à travers les divers aspects, notamment la composition et la succession des communautés pendant le processus, les micro-habitats, ainsi que les fonctions des microorganismes au sein de la communauté. Ces « bienfaiteurs » du déroulement du procédé biotechnologique « compostage » sont classés comme suit :

Les bactéries:

Sont toujours largement dominantes dans les déchets organiques surtout des boues (Jouraiphy, 2007 ; Chroni et al., 2009; Barje, 2010), en qualité et quantité au cours du compostage. Les bactéries se distinguent d'autres microorganismes comme les champignons par leur rapport surface/volume très élevé, qui leur permettent des transferts rapides de substrats solubles à l'intérieur de la cellule (Tuomela et al., 2000).

Les bactéries isolées dans les différents types de compost constituent une importante diversité en genres et activités (Tableau 16). Afin de comprendre l'évolution microbienne de nombreuses études de dénombrement microbiologiques au cours du processus de compostage, ont été faites. Ryckeboer et al. (2003) et Haruta et al. (2005) ont compilé les différentes études pré-existantes et ont établi une liste des espèces isolées pour chacune des phases de compostage en fonction de la température et du pH.

Tableau 16: Différents microorganismes isolés en fonction des phases de compostage
(Ryckeboer et al., 2003; Haruta et al., 2005)

Phase mésophile	Phase thermophile	Phase maturation
Alcaligenaceae, Alteromonadaceae, Bacillaceae, Burkholderiaceae, Bradyrhizobiaceae, Caryophanaceae, Caulobacteraceae, Cellulomonadaceae, Clostridiaceae, Comamonadaceae, Corynebacteriaceae, Enterobacteriaceae, Flavobacteriaceae, Flexibacteraceae, Hyphomicrobiaceae	Actinomycètes : Micromonosporaceae, Streptomyetaceae, Thermoactinomycetaceae, Thermomonosporaceae et Streptosporangiaceae	Autre Actinomycètes

Après la phase de dégradation, la diversité taxonomique microbienne change encore à la phase de maturation (Haruta et al., 2005). Des bactéries filamenteuses multicellulaires agissant plus tardivement que les autres et jouent un rôle important au cours de compostage, cas des actinomycètes (Tableau 16). Tuomela et al. (2000) ont montré leur apparition lors de la phase thermophile et pendant la phase de maturation du compostage. Deloraine (2002), a montré une charge en actinomycètes thermophiles (bactérie Gram-positif) de l'ordre de 10^3 UFC/g MS dans le produit de départ, et 3×10^6 UFC/g MS dans le produit final (compost), le genre *Thermomonospora* (75% des souches) et *Thermoactinomyces* (10% des souches) sont dénombrées au début de processus, *Saccharomonospora viridis* et *Faenia rectivirgula* étant les populations présentes pendant la phase de maturation. Les actinomycètes caractérisés par une croissance lente tolèrent des pH légèrement basiques. Ils peuvent cependant dégrader la cellulose et la lignine comme certains champignons, tout en tolérant des températures et un pH plus élevés que les champignons. Deloraine (2002) a isolé des champignons thermophiles dont la concentration est de l'ordre de 10^3 à 10^5 UFC/g MS avec une légère différence entre les deux phases de compostage. Les concentrations de boue en *Aspergillus* vont de 10^2 à 10^3 UFC/g MS mais peuvent être plus importantes (jusqu'à 10^7 UFC/g MS) lorsque des copeaux de bois sont rajoutés. Les actinomycètes sont des agents essentiels de la lignocellulolyse pendant la phase thermophile, bien que leur capacité de dégrader la cellulose et la lignine ne soit pas aussi étendue que celle des champignons (Tuomela et al., 2000).

Pour que le processus soit complet, l'activité combinée des différents micro-organismes doit être impliquée, afin d'assurer l'évolution et la biotransformation de la matière organique (Chroni et al., 2009).

Les champignons

La température est le facteur le plus important qui affecte la croissance fongique, la plupart des champignons préfèrent un environnement acide et tolèrent un large éventail de pH avec un niveau modérément élevé de l'azote nécessaire à leur développement. La majorité des champignons sont mésophile et se développent entre 5 et 37°C, avec une température optimale de 25-30°C (Dix et Webster, 1995). Néanmoins, le processus de compostage, engendre des températures importantes, d'où le rôle capital de petits groupes de champignons thermophiles dans la biodégradation de la matière organique. Différents auteurs (Mouchacca, 1997 ; Tuomela et al., 2000) ont isolé des champignons thermotolérants capables de dégrader la lignine, la cellulose et/ou les hémicelluloses.

A côté de ces trois grands groupes (bactéries, champignons et actinomycètes) qui assurent l'essentiel de l'activité du compostage. On retrouve également dans le compost des algues, des virus, des protozoaires, et les macro-organismes comme les lombrics, les insectes, les acariens, les gastéropodes, les myriapodes, les cloportes, ... etc.

L'ensemble de ces microorganismes qui peuvent coexister et coloniser les substrats de compostage reflètent l'évolution et la performance du processus de compostage. Les différentes voies métaboliques conduisent à des changements importants dans les paramètres physico-chimiques du substrat, qui à son tour conduit à des changements de communauté et influence la densité microbienne et la succession des microorganismes au cours de compostage. Les travaux (Chroni et al., 2009, Barje, 2010) indiquent que les bactéries mésophiles sont susceptibles d'avoir une action primordiale lors de la biodégradation de la matière organique, d'autres études ont noté que les champignons et les actinomycètes agissent plus tardivement (Tableau 16).

IV.4. Critères de maturité des composts

La qualité du compost dépend du degré de stabilisation de la matière organique. Il est donc essentiel de déterminer le degré de maturité du produit, c'est à dire le stade à partir duquel le compost n'entraîne plus d'effet phytotoxique. Différents critères et indicateurs allant des plus rudimentaires aux plus sophistiqués permettent de définir les classes de composts et également sa maturité. Néanmoins, il n'existe pas de critère de maturité unique et universel, il

est souvent nécessaire d'utiliser simultanément plusieurs critères pour s'assurer de la maturité d'un compost.

IV. 4.1. Les critères empiriques

L'approche, basée sur l'expérience de l'expérimentateur, permet de déterminer la maturité d'un compost. Il doit ressembler à du terreau tant par sa couleur « noire foncée » que par l'absence d'odeur désagréable (Iglesias-Jimenez et Perez-Garcia, 1989, Mbuligwe et al., 2002), et souple au toucher avec une texture friable. Sa température en fin de processus doit être stable et voisine de la température ambiante extérieure (Harada et al., 1981, Barje et al., 2013).

IV.4.2. Indicateurs physiques et analyses spectroscopiques

L'augmentation de la **température** des andains au-delà de la température ambiante est le premier signe d'évolution des substrats. La **densité optique** après mise en solution dans l'eau (extrait du compost), permet de détecter la présence de différents composés comme les substances humiques à 280 nm (Morel, 1982), ou le taux d'humification en fonction du rapports d'absorbances obtenues à 465 et 665 nm (**E465/E665**) (Deiana et al., 1990; Barje, 2010). **L'infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)** est une méthode non destructive et rapide qui permet de caractériser les principaux groupes fonctionnels de matrices complexes (Hsu et Lo, 1999 ; Ranalli et al., 2001; Castaldi et al., 2005), les méthodes **calorimétriques** comparent le comportement thermique (Pietro et Paola, 2004; Ranalli et al., 2001), **la fluorescence** (Provenzano, 1998), ou la résonance magnétique nucléaire (**RMN**) du carbone 13 (Matejka et al., 1994). En général, les méthodes spectroscopiques ont tendance à mesurer le degré d'aliphatité et le degré d'aromaticité, dont le rapport C-aromatique/C-aliphatiques augmente avec la maturation du compost.

IV.4.3. Indicateurs chimiques

Les principaux paramètres relatives au degré de maturité des composts se basent sur l'évolution de: pH, le rapport C/N et le rapport $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ (Charnay, 2005). Les pH acides sont caractéristiques des composts immatures. Les composts matures ont un pH voisin de la neutralité ou supérieur (entre 7 et 9) (Avnimelech et al., 1996). Le rapport C/N est le paramètre le plus communément mesuré pour évaluer la maturité d'un compost. Un rapport C/N inférieur à 12 est considéré comme un indicateur de maturité pour le compost (Iglesias-Jimenez et al., 1993 ; Bernal, 1998), souvent ce rapport est proche de 10. L'ajout d'un

compost mature ($C/N < 15$) dans le sol n'altère pas l'équilibre microbiologique du sol (Bernal, 1998). Une étude de Sanchez-Monedero (2001) conclut que la perte d'azote dans un compost d'ordures ménagères est proche de 40% et qu'un rapport NH_4^+/NO_3^- , inférieur à 1 correspond à un indicateur de maturité. Une étude bibliographique de Charnay (2005) ; Achour (2008), montre que l'azote organique des composts stabilisés, se minéralise lentement, avec une vitesse similaire à celle des sols (0,26 mg N/kg/j) sans évolution avec l'âge du compost. Pour les composts moins stables, la vitesse de minéralisation est supérieure (0,4 mg N/kg/j) (Houot et al., 2002). La qualité du compost est également évaluée par le suivi de l'azote. En effet, les micro-organismes nitrifient le substrat, se traduisant par une diminution de la concentration en ammonium et une apparition d'ions nitrate. Zucconi et De Bertoldi (1987) fixent la limite de stabilité d'un compost de matière organique pour une concentration en ammonium voisine de 0,04% soit 400 mg/kg. (Bernal, 1998) limite le rapport $[NH_4^+]/[NO_3^-]$ à une valeur inférieure à 0,16 pour un compost mature. Le processus d'humification produit des groupes fonctionnels et augmente l'oxydation de la MO, provoquant un accroissement de la capacité d'échange cationique (C.E.C). Le suivi de ce paramètre permet également l'appréciation de la maturité d'un compost (Harada et Inoko, 1981).

IV.4.4. Indicateurs biologiques

Malgré la performance des paramètres physico-chimiques, ils restent insuffisants pour déterminer avec certitude la maturité d'un compost. En effet, ces méthodes ne prennent pas en considération les sous-produits de biodégradation ou de transformation des composés phytotoxiques, ce qui conduit à une sous-estimation des risques phytotoxiques. Afin de palier à cette difficulté, il est nécessaire de combiner les indicateurs physico-chimiques de maturité avec des paramètres biologiques. Si les différents indicateurs physico-chimiques et spectroscopiques permettent d'évaluer, dans certaines limites, la maturité d'un compost, ils demeurent moins efficaces pour l'évaluation des risques de phytotoxicité réelles et les effets des interactions des composés de biodégradation. De nombreux auteurs se sont intéressés aux alternatives d'évaluation de la maturité des composts, en comparant les différentes méthodes entre elles (A.D.A.S Consulting Limited, 2005; Francou, 2003; Avnimelech et al., 1996; Morel et al., 1986; Godden, 1986). Il en ressort, qu'aucune méthode ne semble satisfaisante, comme méthode de référence, d'où la nécessité d'utiliser simultanément plusieurs paramètres afin de s'assurer de la maturité de compost. Globalement, les méthodes d'appréciation de la maturité sont basées sur l'état de stabilité de la MO, et ses conséquences sur l'activité microbienne des composts et des sols-plante (Houot et al., 2002).

La maturité d'un compost est le plus souvent associée à la germination et à la croissance des plantes incluant la phyto-toxicité et la génotoxicité générées par les polluants. L'évaluation des risques liés à la pollution nécessite de disposer d'outils biologiques permettant d'apprécier l'impact des polluants sur les êtres vivants. La réponse à ces questions implique l'évaluation des effets de l'ensemble des contaminants biodisponibles, à l'aide d'une approche biologique venant compléter les analyses physico-chimiques. La nécessité de développer de tels outils écotoxicologiques pour les organismes en charge de problématiques environnementales apparaît clairement dans différents domaines.

IV.4.4 .1. Test respirométrique et d'auto-échauffement

L'activité des micro-organismes de compostage peut être aussi un indicateur de la stabilité du compost, la mesure de ce paramètre repose sur la mesure de l'activité respiratoire des micro-organismes présents dans le compost, dans des conditions spécifiques d'incubation (humidité, température). Un compost non mûr a une demande en O₂ et un taux de production de CO₂ importants, dus à une intense activité microbienne provoquée par la biodégradabilité du substrat (Nicolardot, 1982, Bernal, 1998). Une des conséquences majeures de l'intense activité des micro-organismes est la production de chaleur lors de la dégradation de la MO. Le degré de décomposition de celle-ci peut donc être évalué par son aptitude à remonter en température (auto-échauffement) (Körner et al., 2003).

IV.4.4 .2. Phytotoxicité

La phytotoxicité est souvent évaluée par l'étude de la germination ou par des tests de croissance (Saebo et Ferrini, 2006; Said-Pullicino et al., 2007). Les tests de phytotoxicité sont utilisés par plusieurs auteurs pour évaluer la toxicité de composts liée à leur incorporation au sol. En effet, les composts mûrs ne doivent pas présenter des substances empêchant la germination des graines et la croissance des plantes. Plusieurs graines peuvent être choisies pour ce test au vu de leurs sensibilités (Navet, Cresson, Luzerne, Tomate, Laitue...etc). L'acide acétique, acétaldéhyde, éthanol, acétone, éthylène...sont selon la littérature, des composés libérés par les composts immatures, et ils contribuent aux effets phytotoxiques (Jimenez et Garcia, 1989). D'autres auteurs (Levy et al., 2003; Piotrowska et al., 2006) ont montré que l'application de composts peut présenter éventuellement une certaine phytotoxicité et peut causer des effets néfastes sur la germination des graines et la croissance des plantes. Un indice de germination (IG) doit être calculé pour l'évaluation des effets de compost, ainsi Barje (2010), a montré des indices de germination très faibles (IG < 20,5%)

des stades initiaux du compostage, indiquant une phytotoxicité importante des déchets d'huileries d'olives-déchets ménagers étudiés. Cependant un IG supérieur à 50% est reconnu comme étant celui d'un compost sans effet phytotoxique (Chikae et al., 2006). Ait Baddi et al. (2004) et Barje (2010), ont montré des valeurs de IG de 99% à des stades finaux de compostage, ce qui reflète une réduction importante de la phytotoxicité, montrant ainsi un degré de maturité remarquable des composts obtenus.

IV. 4. 4. 3. Test de Génotoxicité

Différents essais ont été développés pour mettre en évidence la génotoxicité et la mutagénicité des polluants. Les tests bactériens (tests d'Ames, umu, SOS chromotest, Mutatox), le test des aberrations chromosomiques sur *Allium cepa* et le test de micronoyaux sur plantes supérieures (*Tradescantia* sp., *Vicia faba*), sur lignée hépatocytaire humaine en vue d'apprécier la génotoxicité des désinfectants chlorés présents dans l'eau du robinet (Feretti et al., 2006) et sur larves d'amphibiens (*Pleurodeles waltl*, *Xenopus laevis*) qui ont été les plus utilisés et se sont révélés pertinents dans l'évaluation de la génotoxicité/mutagénicité des polluants HAPs (Cotelle et al., 1999 ; Mendonça & Picado, 2002 ; Sasek et al., 2003 ; Plaza et al., 2005 ; Mouchet et al., 2006); et ETM (De Marco et al., 1988 ; Bolan et al., 2003; Bernhard et al., 2005, Marcato-Romain et al., 2009, Jiang et al., 2013). Selon les données bibliographiques de (Foltête, 2010) différents essais estiment le caractère génotoxique/mutagène de la fraction aqueuse ou organique par plusieurs techniques.

IV.4.4.4. Marquage ³²Phosphore des adduits à l'ADN

Le marquage ³²Phosphore des adduits à l'ADN est utilisé pour mettre en évidence la génotoxicité des sols contaminés, cette technique a été la première technique employée chez les vers de terre (Van Schooten et al., 1995, Martin et al., 2005). En raison de son coût élevé, du faible nombre d'échantillons pouvant être analysés et surtout de la radioactivité du ³²Phosphore, cette technique de détection des dommages à l'ADN chez les vers de terre a été délaissée au profit notamment de l'essai comet ou single-cell gel electrophoresis assay (SCGE).

IV.4.4.5. Mesure des dommages à l'ADN par l'essai comet

L'essai comet ou single-cell gel electrophoresis assay (SCGE) mesure le degré de dommages à l'ADN des cellules. Ostling et Johanson (1984), ont développé cet essai en condition de pH neutre afin de mesurer les dommages de type cassure double brins de l'ADN. Singh et al.

(1988) ont développé cet essai en conditions alcalines (pH > 13), cette méthode est la plus appliquée aujourd'hui à cause de sa sensibilité. En effet, la version alcaline de l'essai comet permet de mesurer à la fois les dommages double-brins, simple brin et l'expression des sites alcali-labiles de la molécule d'ADN, ainsi que les sites d'excision réparation incomplète et les ponts intercaténaux d'ADN (Gichner, 2006 ; Pourrut et al., 2008). Le test consiste à réaliser une électrophorèse en gel d'agarose appliquée aux noyaux cellulaires d'un tissu vivant donné. L'électrophorèse permet de séparer les brins d'ADN en fonction de leur taille. Un logiciel dédié permet d'évaluer le pourcentage de dommages de l'ADN des noyaux étudiés.

Cette technique a été utilisée par plusieurs auteurs (Koppen et Verschaeve, 1996, Lin et al., 2007 ; Pourrut et al., 2008) pour évaluer l'effet des métaux lourds en solution tels que le cadmium, le chrome trivalent (Cr(III)) ou hexavalent (Cr(VI)) et le plomb chez la fève *V. faba*. Lin et al. (2005), ont montré des dommages à l'ADN au niveau des racines de la fève *V. faba* après 2 heures d'exposition à un sol dopé en cadmium à des concentrations comprises entre 0,5 et 2 mg/kg.

IV.4.4.6. Mesure de la 8-hydroxydéoxyguanosine

L'induction de la 8-hydroxydéoxyguanosine (8-OH-dG), qui traduit des dommages oxydatifs à la molécule d'ADN, a fait l'objet d'une étude récente chez des vers de terre en condition contrôlée. Nakashima et al. (2008), ont ainsi mesuré par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) l'induction de la 8-OH-dG au niveau des vésicules séminales du ver de terre *E. fetida*, après 3 mois d'exposition à un sol dopé au cadmium à une concentration de 10 mg/kg de sol.

IV.4. 4.7. Modifications des quantités et des séquences d'ADN par cytométrie en flux et AFLP

Deux techniques de biologie moléculaire à savoir la cytométrie en flux (FCM) ainsi que l'AFLP (amplified fragment-length polymorphism) ont été utilisées pour la mise en évidence de la génotoxicité de métaux lourds (Cd, Cr(VI), Ni). La cytométrie en flux permet de quantifier les variations de la quantité d'ADN, plus précisément la perte d'ADN nucléaire. L'AFLP permet de quantifier les changements au niveau de la séquence d'ADN. Citterio et al. (2002) ont utilisé ces techniques chez le trèfle blanc *T. repens*, et ont montré la perte d'ADN nucléaire et l'augmentation des débris d'ADN dans les pousses et les racines de trèfle après 15 jours d'exposition à un sol enrichi en chrome hexavalent à des concentrations de 25 et 50 mg/kg, et à un sol enrichi en cadmium à des concentrations de 17,5 et 52,5 mg/kg.

IV.4.4 .8. Micronoyaux

Ce test a été largement utilisé pour évaluer l'aptitude d'un polluant à provoquer des aberrations chromosomiques. Il est actuellement normalisé ISO sur *vicia faba*. Il consiste en une observation microscopique des noyaux des cellules végétales après coloration à l'acéto-orcéine. La présence dans le cytoplasme de petits éléments nucléaires appelés micronoyaux traduit une détérioration irréversible de l'ADN cellulaire formé à partir de fragments chromosomiques ou de chromosomes entiers pendant la télophase lors de la mitose suite à l'action d'agents mutagènes (clastogènes et/ou aneugènes). Le test des micronoyaux permet de déterminer aussi les cellules binuclées qui sont bloquées au cytodierèse ou à la fusion cellulaire (Rodilla, 1993), ce qui permet de déterminer les cellules apoptotiques (Izquierdo et al., 2003). *Vicia faba* est un modèle idéal pour ce test de génotoxicité (Ferrara et al., 2000) qui permet par une exposition directe aux polluants chimiques présents dans l'environnement et d'évaluer leurs potentiel génotoxiques. Parmi les composés pouvant induire des micronoyaux, nous pouvons citer les HAPs qui induisent des adduits à l'ADN, les métaux lourds qui induisent de manière générale des cassures de brins d'ADN (Cd, Pb, Cr...), ainsi que des pontages protéine-ADN.

Marcato-Romain et al. (2009) ont observé une induction des micronoyaux des cellules du méristème racinaire chez la fève *V. faba* après 2 jours d'exposition à des sols industriels contaminés en métaux lourds (Cd = 6 mg/kg; Cr = 62 mg/kg; Ni = 33 mg/kg; Pb = 1933 mg/kg, Zn = 87 mg/kg) ou en HAP ($\Sigma 16$ HAP= 610 mg/kg). Les extraits aqueux ont montré en général une plus grande mutagénicité que les sols correspondants. Song et al. (2007) ont montré une induction des micronoyaux dans les cellules racinaires de la fève *V. faba* après 5 jours d'exposition à des sols de rizières irrigués par des eaux usées multi-contaminées ($\Sigma 16$ HAP= 0,9-2,8 mg/kg ; Σ PCB= 12-20,1 ng/kg, Cd= 1,4-2 mg/kg), El Hajjouji et al. (2007) ont montré l'induction de micronoyaux suite à l'exposition de racines de *V faba* à des margines riches en polyphénols, de même Khadra et al. (2012) ont montré la capacité de certains antibiotiques à induire des micronoyaux sur cette plante. Steinkellner et al. (1998) ont trouvé cette plante plus sensible au plomb (Pb) en milieu liquide. Le chrome VI, le Cuivre et le Mercure, Nickel et le Zinc sont aussi parmi les métaux retrouvés dans l'environnement comme génotoxiques (Itoh et Shimada, 1997). La génotoxicité des polluants des boues a été observé par plusieurs auteurs (Li et al., 2000 ; Chandra et al., 2004 ; Khadra et al., 2012), et le compostage a été recommandé comme un processus biologique pour réduire l'effet toxique de différents polluants (El Hajjouji et al., 2007). Globalement les biotestes sont de bons outils

pour évaluer l'efficacité du compostage à minimiser le risque potentiel des substrats initiaux avant leur épandage agricole (Kapanen et al., 2013).

La qualité d'un compost se juge également sur son aptitude à améliorer la fertilité du sol. Le compost permet d'enrichir le sol en un stock hétérogène de composés organiques, produits de dégradation comme la lignine, les polysaccharides, les tannins, les lipides, les substances humiques; les constituants d'origine cellulaires, les peptido-glycanes, les pigments comme les mélanines, une faible mobilité des nutriments notamment de l'azote, et un bon approvisionnement en oligo-éléments comme le phosphore, le potassium, le magnésium, et le calcium (Nkana et al., 1996, Rivero et al., 2004), ce qui peut modifier les caractéristiques physico-chimiques du sol, améliorer l'activité biologique et enzymatique des micro-organismes et favoriser sensiblement la croissance des plantes. L'enrichissement du sol en éléments minéraux, par épandage du compost, permet aussi de minimiser l'effet des polluants par le phénomène de complexation et/ou adsorption conversion des toxine à savoirs les métaux, les antibiotique, les HAPs ...etc (Marcato-Romain et al., 2009, Shahide et al., 2011). De même, l'apport des composts peut aussi inhiber le développement des micro-organismes pathogènes (Taurus et al., 1983 ; Cayuela et al., 2009).

IV.5. Identification et évolution des composés organiques au cours du compostage

Le sol est un réservoir potentiel majeur de carbone (Swift, 2001), et l'importance du sol dans notre société est d'ailleurs liée à sa fertilité et son rendement, ce qui incite à améliorer sa capacité en teneur en carbone organique qui est aussi appelé matière organique. La matière organique en général provient essentiellement des plantes, de résidus des microorganismes et des animaux à différents stades de décomposition, de corps microbiens et animaux vivants dans le sol, et de substances fabriquées par les organismes vivants et/ou provenant de la décomposition chimique de molécules plus importantes. Le processus et la vitesse de dégradation ainsi que sa stabilisation définit la dynamique de la matière organique. Ce processus de dégradation et de stabilisation de la matière est tributaire de la structure physico-chimique de la matière carbonée.

Swift (1996), a montré que la matière organique est un mélange hétérogène de composés organiques d'origines très variées. Gobat et al. (2003), ont identifié que les polysaccharides, les lignines, les protéines et les lipides sont les grandes catégories de matières organiques dans la plante et dans le sol. Le rôle principal de la matière organique est de renforcer la qualité de la structure du sol et à sa stabilité vis-à-vis des facteurs extérieurs comme le vent, la pluie ou le passage d'engins agricoles. Elle stimule l'activité biologique du sol en fournissant de

l'énergie et des éléments nécessaires au développement des organismes vivants. Elle permet également de retenir les micropolluants dans le sol et ainsi de maintenir la qualité de rétention en eau des sols, limite sa compaction, bien qu'elle constitue une source d'éléments nutritifs pour les plantes (Arrouays et al., 2002).

Dans les dernières décennies, l'utilisation anthropique excessive des sols marocains soumis à des changements climatiques sévères, a rendu le sol excessivement dégradé et pauvre. Pour lutter contre l'appauvrissement du sol, son amélioration nécessite des connaissances précises sur le matériel organique stocké et sur les mécanismes qui contribuent à l'enrichissement du sol en carbone. Ceci soulève la question, comment nous les utilisateurs potentiels du sol pouvons nous contribuer à l'amélioration de sa qualité et sa préservation ? Les apports exogènes de produits organiques peuvent être un remède majeur dans le maintien des fonctions clés du sol. Parmi ces composés organiques, les polysaccharides, la lignine, les lipides, les aliphatiques et les composés azotés qui se transforment par le biais des microorganismes lors de processus du compostage par le procédé d'humification en humus.

IV.5.1. Les polysaccharides

Les polysaccharides sont des polymères naturels synthétisés par les êtres vivants végétaux, animaux et micro-organismes. Ce sont des composés de monomères de sucre unis par des liaisons glucosidiques. Leur formule chimique est $C_x(H_2O)_{x-1}$ avec un squelette carboné incluant des hétéro-atomes (N, O, S) qui sont des points de clivage potentiels par hydrolyse enzymatique ou coupure oxydante (Muller et al., 2009). Leurs structures complexes sont plus résistantes aux attaques microbiennes et enzymatiques que les sucres simples. Néanmoins, certains auteurs (Machinet et al., 2011) ont montré que les éléments de structure formant les parois cellulaires dites les substances pectiques, hémicelluloses et la cellulose sont dégradées. Selon les données de Annabi (2005), la majorité des polysaccharides sont formés naturellement par recombinaison des sucres issus des microorganismes et des plantes. Ces composés jouent notamment un rôle fondamental dans la stabilisation des sols en formant un ciment labile entre les microagrégats et permettent ainsi la formation des macroagrégats. Ils sont généralement considérés comme le compartiment le plus labile de la matière organique dans le sol (Krull et al, 2003). Gleixner et al. (2002), ont montré que les microorganismes peuvent rapidement recycler le carbone des polysaccharides présent dans le sol comme source d'énergie. Karroum et al. (2004), ont désigné le mannose comme le marqueur des excréctions polysaccharidiques microbiennes tandis que le xylose est le traceur des polysaccharides structuraux d'origine végétale. La dégradation des polysaccharides structuraux (cellulose,

hémicelluloses), s'accompagne d'une néo-synthèse des polysaccharides microbiens qui subissent des transformations plus ou moins rapides et complètes selon la stabilité des associations formées avec d'autres composés tels que les polyphénols, les oligopeptides et même les acides aminés (glucoconjugaison).

Plusieurs hypothèses, ont été proposées pour montrer que les polysaccharides produits par les microorganismes sont considérés comme des précurseurs des substances humiques (Stevenson, 1994). En effet, les sucres réducteurs et autres acides aminés, sous-produits du métabolisme microbien, subissent une polymérisation non enzymatique pour former des polymères de substances humiques.

IV.5.2. Les composés organiques azotés

Les composés organiques azotés regroupent principalement les acides aminés et les protéines. Ils ont comme structure de base un groupement amine et carboxyl (Structure dessous) ceci les rend facilement identifiables. Les protéines de la matière organiques sont rapidement biodégradées, et peuvent être aussitôt recyclées par la biomasse microbienne.



Structure de base des composés organiques azotés

IV.5.3. La lignine

La lignine est formée par la polymérisation oxydative de trois types des unités syringyle (S), guaiacyl (G) et de *p*-hydroxy-phényl (H) qui constituent les éléments de base de la lignine et qui sont respectivement les trois précurseurs l'alcool *p*-coumaryl, l'alcool coniféryl et l'alcool synapyl (Kogel-Knaber, 2002 ; Albrechet, 2007; Neutelings, 2011) (Figure 3). La lignine, est la deuxième ressource végétale après la cellulose la plus abondante sur la terre, elle est difficile à dégrader (Huang et al., 2006; Pérez et al., 2002). Elle ralentit la biodégradation de la cellulose et de l'hémicellulose dans des matières végétales lignocellulosiques car elle agit comme une barrière physique protectrice.

Les gymnospermes possèdent essentiellement des unités guaiacyls comme marqueurs de la lignine, tandis que les angiospermes (autres qu'herbacées) possèdent autant de guaiacyls que de syringyls. Les herbacées possèdent en proportions variables les trois marqueurs. Le rapport S/G de la lignine est souvent utilisé comme un rapport qualitatif. Des valeurs élevées sont associées avec l'augmentation de rendement de production et une simple délignification (Neutelings, 2011). Ce composé polyphénolique est essentiel pour la croissance des plantes, il confère une grande rigidité et imperméabilité aux cellules végétales en fournissant un support mécanique à la plante entière. Il est responsable des propriétés hydrophobes des cellules conductrices d'eau dans le xylème, il permet aussi de lutter contre l'érosion du sol.

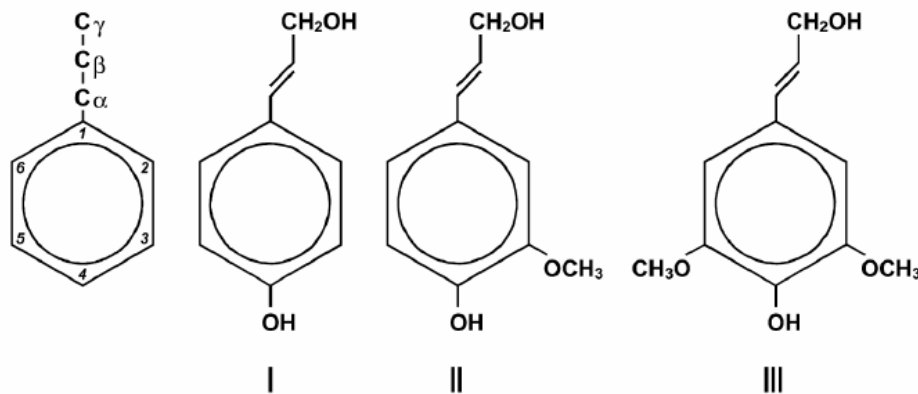


Figure 3 : Structure des précurseurs de la lignine. I : Alcool p-coumarylique, II : Alcool coniférylique, III, Alcool sinapylique, (Kogel-Knaber, 2002)

La lignine ne peut être décomposée que par des organismes hautement spécialisés, par le biais de la lignine peroxydase. Raj et al. (2007), ont montré que les champignons et les bactéries, grâce à leurs enzymes ligninolytiques, sont capables de libérer un nombre de fragments aromatiques de faible poids moléculaire par des modifications oxydatives et dépolymérisation de la lignine. Derenne et Largeau (2001), ont constaté que ce composé est considéré comme une forme de carbone très stable dans le sol. Cependant, des études récentes ont montré que les composés dérivés de la lignine sont rapidement dégradés dans le sol (Gleixner et al., 2002; Dignac et al., 2005), alors que leurs fragments servent à l'élaboration des macromolécules humiques. Plusieurs auteurs ont montré que la biodégradation de la lignine dans le compostage est relativement moins importante par rapport aux autres fractions.

Barje et al. (2008), ont remarqué un taux de réduction important (55,8 à 66,3%) durant la phase thermophile et des taux de 10,4% à 25,2% durant la phase de maturation. Francou (2003), a observé une diminution de la cellulose au cours du compostage et une concentration de la fraction assimilée aux lignines. Ainsi, pour un compost à base d'ordures ménagères, Francou (2003), a observé une diminution de la proportion de la matière organique présente sous forme cellulosique, passant de 39% de la matière organique à 26% en trois mois de compostage. Comme la cellulose, la part de l'hémicellulose a diminué de 11% de la matière organique à 2%. En revanche, les proportions de la fraction soluble et lignine ont augmenté. La fraction soluble passant de 33 à 45% de la matière organique du compost, et la teneur en lignine de 17% à 27% de la matière organique du compost (Annabi, 2005).

D'autres études indiquent des taux d'abattement plus importants de la lignine durant la phase thermophile (Tuomela et al., 2000, Paredes et al., 2002 ; Cunha-Queda et al., 2007; Francou et al., 2008). Au cours du compostage, la résistance relativement élevée de la lignine à la décomposition microbienne provoque son accumulation dans les substrats (Tuomela et al., 2000, Kalbitza et al., 2003, Ait Baddi et al., 2004). Toutefois, la biodégradation remarquable de la lignine durant la phase de stabilisation est déterminée en particulier par les champignons et les actinomycètes thermophiles. Alors que, durant la phase de refroidissement des champignons très spécifiques colonisent les substrats entre autres le groupe des Basidiomycètes souvent cité comme étant le plus actif. Les Ascomycètes et les Deutéromycètes apparentés à ceux-ci jouent également un rôle appréciable (Tuomela et al., 2000). Les champignons sécrètent des enzymes de type phénoloxidasés (tyrosinase, laccase) qui sont responsables de la décomposition partielle de la lignine (Novotny et al., 2004, Smidt et al., 2008). Les composés réfractaires ou les biopolymères en générale comme la lignine sont sélectivement transformés pour produire les précurseurs de l'humine. L'oxydation de ces précurseurs augmente leur contenu en oxygène pour former des groupes fonctionnels comme les acides carboxyliques. La biodégradation de la lignine déterminée par l'ouverture des structures aromatiques aboutit à des structures substituées d'acides carboxyliques, ce qui contribuerait à la diminution des structures aromatiques et l'augmentation des structures aliphatiques, hétérocycliques contenant l'oxygène (Leenheer et al., 2003, Barje 2010). Selon ce processus, les molécules deviennent assez petites, suffisamment hydrophiles et solubles en milieux alcalins (Vanloon et al., 2000).

Pour ces raisons, la lignine est considérée comme un composé précieux important à la survie du sol, ce qui nécessite de maintenir un réservoir/stock en composés ligneux dans le sol, avec une application appropriée (Huang et al., 2008).

IV.5.4. Les lipides

Les lipides sont des composés hydrophobes mais solubles dans les solvants de faibles polarités (éther de pétrole, éther éthylique, acétate d'éthyle, dichlorométhane...). Ils regroupent de nombreux composés comme les chaînes aliphatiques oléfiniques, les acides gras, les cires, et les résines (Kogel-Knabner et al., 1992) qui sont des composés lipidiques néoformés.

Les acides gras sont des monoacides, linéaires, à nombre pair ou impair d'atomes de carbone, soit saturés, ou insaturés suivant leur origine. Les acides gras saturés sont de formule générale $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$, chaque acide gras est constitué par une chaîne hydrocarbonée, plus ou moins longue, fortement apolaire et un groupement carboxyle polaire. Cependant les acides gras insaturés présentent dans leur structure une ou plusieurs doubles liaisons. Les plantes, les animaux et les microorganismes sont les principales origines des acides gras (Tableau 17).

Tableau 17: Les sous-unités d'acides gras et leurs origines (Amir et al., 2008, modifié par EL Fels et al., 2014b)

Acides gras	Origine
Acides gras à chaînes linaires	Eukaryotes
Acides gras cyclopropyls	Gram-négatif
Branchés (iso, anteiso)	Bactéries (particulièrement Gram-positif)
Acides gras Hydroxyls et quelques acides gras insaturés	Gram-négatif
Acides gras saturés	Plantes, animaux et bactéries

Les chaînes aliphatiques des plantes supérieures sont majoritairement composées d'un nombre de carbone pair, les cires cuticulaires d'un nombre de carbone impair, alors que celles qui proviennent des bactéries et des champignons possèdent des chaînes aliphatiques avec autant de carbone pair que de carbone impair. De plus, 60 à 80% des acides gras ont des

chaînes avec 16 et 18 atomes de carbone (dites C₁₆ et C₁₈). Ces composés organiques spécifiques ont été utilisés comme des biomarqueurs au cours du compostage, puisqu'ils permettent de traduire au sein d'un mélange hétérogène de matière organique un signal biochimique spécifique d'une origine ou d'un processus d'évolution physico-chimique ou biologique. Il existe aussi des méthodes plus complexes et peu utilisées en pratique comme l'estimation des lipides extractibles (Dinel et al., 1996) et le suivi de l'évolution de la biodiversité microbienne, et de l'activité enzymatique au cours du compostage (Forster et al., 1993; Insam et al., 1996). Mais en raison de la spécificité structurale des lipides, les acides gras généralement liés aux phospholipides membranaires (PLFA) et les lipopolysaccharides ont été choisis comme indicateurs d'évolution et de changement des communautés de microorganismes au cours du compostage (Tableau 17). Leur évolution en fonction des stades de compostage permet de distinguer la densité ainsi que le type des microorganismes. Plusieurs auteurs ont montré que la prédominance des PLFAs branchés et hydroxylés caractérisés par des points de fusion très élevés (73 °C à 87 °C pour les hydroxylés (-OH FA) et de 52,2°C à 62,4°C pour les branchés iso (i) et anteiso (a)) est un indicateur de la multiplication et la croissance des bactéries thermophiles/thermotolérante pendant la phase thermophile (Rhee et al., 2000, Boulter et al., 2002).

D'autres auteurs ont montré que pendant la phase thermophile la biodégradation des lipides est plus importante et que les microorganismes utilisent les formes les moins résistantes comme les acides gras et les glycérides (Kiikkila et al., 2005, Amir et al., 2008, 2010, El Fels et al., 2014b), tandis que les autres formes relativement plus résistantes comme les térapénoïdes et les stérols s'accumulent au cours de la biodégradation (Lhadi et al., 2006). Cependant, le début de la phase de maturation, coïncide avec une régression progressive des acides gras branchés et hydroxylés, en relation probable avec la régression des microorganismes thermophiles, reflétée par la chute de la température du substrat, suite à un épuisement du milieu en composés nutritifs métabolisables, reflété par la chute de la température du substrat. Cette phase de maturation caractérisée par un taux de décomposition relativement faible par rapport à la phase de stabilisation, se manifeste par l'installation des moisissures qui semblent plus spécialisées pour la décomposition de la fraction ligno-cellulosique. Gea et al. (2007) ont montré que l'hydrolyse des acides gras est déterminée dans des milieux bien aérés, assez humides où les conditions sont favorables aux microorganismes variés (bactéries, actinomycètes, levures et moisissures).

Des études récentes menées sur plusieurs types de déchets (Boues de station d'épuration, déchets agroalimentaires, ordures ménagères, matière végétale...) indiquent des taux

d'abattement de lipides plus importants au cours du compostage (Amir et al., 2008, 2010 ; Barje et al., 2008 ; Abouelwafa et al., 2008, El Fels et al., 2014b). Ces auteurs ont établi des seuils de maturité sur la base de l'évolution des lipides au cours de compostage, ce qui renseigne indirectement sur l'activité enzymatique des microorganismes. Hachicha et al. (2009), ont expliqué que lors de la biodégradation, les acides gras libérés étaient scindés pour donner des chaînes plus courtes, qui peuvent être incorporées aux autres substances. Ainsi ils s'accumulent dans l'humus où leur teneur peut dépasser 10%, avec un taux de 1,2% d'acides gras dans la fraction acide humique. L'évolution des lipides totaux au cours de compostage est un paramètre important de la maturité des composts. Diné et al. (1996), ont montré que le rapport entre les lipides extractibles au diéthyléther qui permet l'extraction des lipides à courtes chaînes des alcanes, des alcènes et des acides alcanoloïques, et les lipides extractibles au chloroforme est inférieur à 2,5 est une caractéristique des composts mûrs. Annabi (2005) a montré que la présence des lipides dans les composts leur confère une certaine hydrophobicité vis-à-vis de l'eau, néanmoins avec le compostage le taux des lipides diminuent, ce qui explique en partie la diminution de l'hydrophobicité des composts mûrs. Cependant les composts immatures sont plus hydrophobes que les composts mûrs et plus riches en lipides.

IV.5.5. Les hydrocarbures aliphatiques et l'hydrophobicité

Les hydrocarbures aliphatiques sont des composés constitués de carbone et d'hydrogène. Il s'agit en générale de molécules à chaînes ouvertes, linéaires ou ramifiées, saturées ou insaturées, dont la nomenclature est la suivante: paraffines (ou alcanes) hydrocarbures saturés dont la formule est C_nH_{2n+2} ; oléfines (ou alcènes) C_nH_{2n} hydrocarbures insaturés ayant une ou plusieurs doubles liaisons; acétyléniques (ou alcynes) C_nH_{2n-2} hydrocarbures insaturés ayant une ou plusieurs triples liaisons. Les hydrocarbures à chaîne courte sont gazeux à la température ambiante (de C1 à C4). Plus la masse moléculaire d'un hydrocarbure est élevée et plus sa structure est complexe, plus il a tendance à devenir liquide et plus sa viscosité s'accroît (C5 à C16); et, enfin, les hydrocarbures supérieurs sont des solides à la température ambiante (au-delà de C16). Les hydrocarbures aliphatiques d'importance industrielle dérivent principalement du pétrole, qui est lui-même un mélange complexe d'hydrocarbures. Ces composés peuvent aussi avoir comme origine les plantes (Eglinton et Hamilton (1967). Meyers et Ishiwatari (1993) ont montré que les chaînes longues n-alcanes présentes généralement dans les cires des plantes supérieures sont de la famille des n-alcanes. Les structures aliphatiques d'origine « cires de plante » sont reconnues par la simplicité de leur biodégradabilité, ce qui pourra expliquer en partie la diminution de certaines chaînes

aliphatiques par l'activité microbienne (Zegouagh et al., 1998). Les molécules lipidiques, les esters, polyesters, et acides gras peuvent être aussi à l'origine des composés aliphatiques (Chen, 2003).

En plus, ces composés aliphatiques peuvent être dérivés de tissus des végétaux (Boom et al., 2005; Lorenz et al., 2007) comme la cuticule ou le liège qui produisent les alcanes et les alcènes qui sont difficilement biodégradables (Nip et al., 1986; Tegelaar et al., 1989). Otto et Simpson (2006) ont montré que les produits d'hydrolyse des échantillons de sol et de végétation sont constitués principalement de lipides aliphatiques et de phénols issus de la subérine, de la cutine, des cires végétales de surface et des composés ligno-cellulosiques.

Toute une série de composés de la matière organique sont responsables de son hydrophobicité, dont les hydrocarbures aliphatiques. Par ailleurs l'addition de substances aliphatiques à chaînes longues au sol augmente la stabilité des agrégats du sol (Dinel et al., 1992). Des études (Piccolo et Mbagwu, 1999; Martens, 2000) montrent des corrélations positives entre la stabilité structurale des agrégats du sol et leur contenu en substances humiques ou en lipides qui induisent l'hydrophobicité. Ce phénomène n'est pas exclusivement basé sur le statut de l'eau du sol et il ne varie pas de manière linéaire avec la teneur en eau (Ritsema et al., 1998; Quayum et al., 2002). Cependant l'hydrophobicité est directement proportionnelle à la teneur en matière organique et inversement proportionnelle à la teneur en argile (Harper et al., 2000). D'autres études ont montré que le taux d'absorption d'eau dans le sol pouvait diminuer avec la teneur en matière organique du sol (Doerr et al., 2000). Selon les études menées par Pikul et al. (2009) l'hydrophobicité est liée positivement aux différents constituants de la matière organiques tels que les hydrocarbures aliphatiques et les substances amphiphiles (acides gras à chaînes longues, n-alcanes et cyclo-alcanes). La plupart des minéraux dans le sol sont hydrophiles (Monnier, 1965), ce qui laisse supposer que l'hydrophobicité est attribuée à la matière organique. Chenu et al. (2000), ont signalé que le type de carbone a un effet plus significatif que sa quantité. Les paramètres physico-chimiques tel que le pH et la force ionique de l'eau sont aussi responsables de l'hydrophobicité, en effet, la protonation des charges négatives des groupes carboxyles et phénoliques entraîne une augmentation de l'hydrophobicité. Steenhuis et al. (2005), ont trouvé une relation entre un pH faible et l'hydrophobicité (l'ajout de chaux serait une solution). Cependant, certains scientifiques doutent encore quant à savoir si un faible pH est la cause ou la conséquence de l'hydrophobicité. De fait, la matière organique n'est pas inerte, elle évolue et sa décomposition est influencée par plusieurs facteurs (température, humidité, pH, etc.), rendant

difficile l'individualisation de tous ces paramètres qui sont liés entre eux et évoluent au cours du temps.

Som et al. (2009), ont montré par analyse thermique la présence de deux formes de MO (aliphatique et aromatique), et l'évolution de ces deux formes de MO est en accord avec la biodégradabilité plus importante des aliphatiques par rapport aux aromatiques au cours du compostage. L'intensité relative des bandes associées aux fonctions (aliphatiques, amines, et polysaccharides) diminue au cours du processus de compostage, en indiquant la stabilisation du substrat. Le calcul du rapport des intensités des bandes liées aux carbones aromatiques sur celles liées aux carbones aliphatiques met en évidence l'aromatisation des acides humiques et du compost tout au long du compostage (Castaldi et al., 2005).

L'augmentation de l'hydrophobicité des agrégats du sol par la matière organique a donc pour conséquence la stabilisation des agrégats (Hurrab et Schaumann, 2006). Au Maroc la période sèche est plus longue que la période pluviale et l'humidification d'un sol sec doit être considérée comme un facteur influençant l'hydrophobicité qui affecte l'infiltration et l'érosion (Feng et al., 2001). Un sol correctement hydrophobe peut augmenter la résistance du sol à l'éclatement par l'eau. Cependant un sol très hydrophobe, ne peut pas absorber toute l'eau de pluie et l'eau non infiltrée va ruisseler, ce qui facilite le phénomène d'érosion hydrique (Shakesby et al., 2000). Ceci montre bien que l'ajout d'un compost mature avec un taux d'aliphatique modéré peut renforcer la qualité du sol et le rendre adapté aux changements hygrométriques (période pluviale) en fonction des saisons.

L'ensemble de ces composés organiques décrits ci-dessus joue un rôle très important pendant le processus d'humification des composts, et de transformation de la matière organique et les composés synthétisés par les microorganismes déterminent les paramètres d'évolution des substances humiques au cours du compostage (Steffen et al., 2000, Gonzalez et al., 2003, Wei et al., 2007, Smidt et al., 2008).

IV.5.6. Activité enzymatique

Pour pouvoir atteindre une bonne dégradation et mieux comprendre les changements d'états physiques et biologiques impliqués durant le processus de dégradation. Le compostage est le siège d'une activité qui fait intervenir les différentes communautés de microorganismes qui se succèdent, en fonction de leurs potentialités métaboliques au cours des différents stades de transformation de la matière organique. Ainsi, les propriétés physico-chimiques des substrats nécessitent un système enzymatique approprié pour attaquer les différentes liaisons

moléculaires. L'activité enzymatique des microorganismes spécifiques est la clef majeure de compostage (Yangui et al., 2009).

Les enzymes présentes dans le compost peuvent être distinguées suivant le fait qu'elles soient intra ou extracellulaires. Les enzymes intracellulaires peuvent être retrouvées au sein du compost après leur libération par des lyses cellulaires. Les enzymes extracellulaires catalysent généralement la dégradation de polymères ne pouvant traverser la membrane cellulaire (Tiquia et al., 2002). Différentes enzymes hydrolytiques libérées par des microorganismes sont impliquées dans la dépolymérisation des constituants des déchets organiques. Les principales enzymes impliquées sont les cellulases, les hémicellulases, les phénoloxydases (peroxydases et laccases), les protéases et les phosphatases. L'étude des cellulases et des phénoloxydases est essentielle par le fait que les déchets verts utilisés contiennent une importante proportion de cellulose et de lignine. La mesure des activités protéases est également intéressante puisque les boues de stations d'épuration représentent un considérable apport de protéines (Reveille et al., 2003). De la même manière, la majorité du phosphore dans un compost, est retrouvée dans les matières organiques.

IV.5.7. Evolution de la composition biochimique de la matière organique des composts et formation des substances humiques

Dans le sol, la matière organique est le moteur de l'activité biologique puisqu'elle constitue la source de carbone et d'énergie pour les organismes hétérotrophes. Plus récemment, des fonctions environnementales sont attribuées à la matière organique comme la contribution à la lutte contre l'effet de serre additionnel, en permettant le stockage de carbone piégé dans le sol « sequestration » (Arrouays et al., 2002), ceci soulève l'importance et l'intérêt de la matière organique d'un compost.

Le compostage est classiquement associé à un processus naturel d'humification observé pour la matière organique du sol (Figure 4). Ainsi, le fractionnement de la matière organique des composts en trois classes de solubilité différente en milieu acide et basique : acides humiques, acides fulviques et humines (fraction non soluble quel que soit le pH) (Gossart, 2001, Amir, 2005).

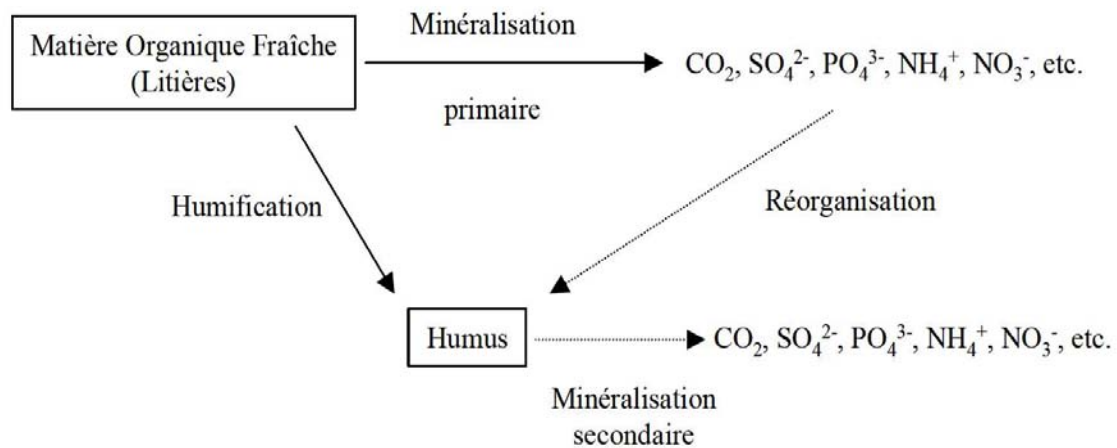


Figure 4: Humification et minéralisation de la matière organique fraîche (selon Gossart, 2001)

Les substances humiques sont souvent utilisées pour évaluer l'évolution de la matière organique au cours du compostage. Traditionnellement, les substances humiques étaient considérées comme des macromolécules de fort poids moléculaire, à noyaux aromatiques entourés de chaînes aliphatiques, plus le noyau était plus important plus le composé était humifié (Bonneau et Souchier, 1979). Cependant, McCarty (2001) a montré que les substances humiques ne sont plus considérées obligatoirement comme des molécules à fort poids moléculaire. En effet, les progrès des méthodes d'investigation, notamment l'utilisation de la RMN, FTIR, Pyrolyse,...etc ont complété cette vision. Les substances humiques sont aujourd'hui définies comme des mélanges aléatoires et hétérogènes de molécules organiques résultant de la décomposition des résidus animaux et végétaux (lignine, polysaccharides, protéines,...).

La théorie de l'humification au cours du compostage est celle d'un processus uniquement biologique (Stevenson, 1994), ou de processus biologiques suivis des processus purement chimiques. Trois principales voies de formation des substances humiques ont été citées dans la littérature (Gossart, 2001, Annabi, 2005 ; Albrecht, 2007, Jouraiphy, 2007 ; Barje, 2010) :

La voie 1 : des amino-sucres, Il s'agit de la condensation de sucres et de composés acides aminés,

La voie 2 : Cette voie ligno-protéique théorie développée par Waksman (1932) de formation des substances humiques à partir de la lignine.

La Voie 3 : Accès sur la formation de polyphénols à partir de cellulose ou d'autres composés non ligniques.

L'humus formé dépend d'une part de la nature de la matière organique initiale, et d'autre part des conditions externes et internes du processus. Pour pouvoir mesurer la nature de substances

humiques formées et suivre l'évolution de ces fractions, plusieurs méthodes ont été proposées. Plusieurs auteurs utilisent l'extraction alcaline (NaOH, 0,1N) pour les substances humiques, et précipitation en milieu acide des substances humique pour séparer les fractions humiques et fulvique. Des extractions successives et répétées suivies de phases de purification sont nécessaires pour une caractérisation fine.

La distribution relative du carbone dans ces différentes fractions est souvent utilisée pour évaluer le degré de stabilité de la matière organique des composts. La part du carbone extractible (acides humiques plus acides fulviques) représente généralement moins de 25% du carbone total. Cela signifie donc que la grande majorité du carbone des composts est sous forme non extractible (He et al., 1992). Au début de processus de compostage la fraction fulvique prédomine sur la fraction humique et représente jusqu'à 10% de la matière sèche totale. Au cours du compostage, la fraction humique devient progressivement prédominante par rapport à la fraction fluviq. La diminution de la proportion de carbone sous forme fulvique conjointement à l'augmentation de la proportion de carbone sous forme humique correspond à l'humification de la matière organique du compost, ou plus exactement à l'augmentation de la concentration de composés stables dans le compost.

Une variété de groupements fonctionnels (COOH, OH phénolique, OH énolique, OH alcools...) ont été identifiés dans les substances humiques (Albrecht, 2007). Dans le sol Steeling (1983) a montré que le carbone et l'oxygène sont deux éléments majeurs des acides humiques et fulviques (Tableau 18) (Gossart, 2001) leurs teneurs ainsi que celle de l'azote, l'hydrogène et le soufre peuvent être utilisées pour les identifier.

Tableau 18: Composition élémentaire des différentes fractions des substances humiques

Eléments	Acides humiques %	Acides fulviques %
Carbone	53,8 -58,7	40,7 – 50,6
Oxygène	32,8 – 38,3	39,7 – 49,8
Hydrogène	3,2 – 6,2	3,8 – 7,0
Azote	0,8 – 4,3	0,9 – 3,3
Soufre	0,1– 1,5	0,1 -3,6

D'une manière générale et d'après plusieurs auteurs (Amir, 2005 ; Jouraiphy, 2007) les teneurs en carbone des acides humiques sont supérieures aux acides fulviques et l'inverse a été noté pour les teneurs en oxygène. Les teneurs élevées en oxygène pour les acides fulviques sont expliquées par leur richesse en groupements carboxyliques (COOH) ou d'hydrates de carbone (Gonzalez et al., 2003, Chai et al., 2007). Pour mieux différencier entre

les acides humiques et fulviques, le rapport O/C peut être utilisé, celui-ci est autour de 0,5 pour les acides humiques et de 0,7 pour les acides fulviques (Barje, 2010). Dans d'autres cas, ce rapport est respectivement de 0,6 à 1,5 (Amir, 2005) et de 0,7 à 1 (Jouraiphy, 2007). Cette différence des teneurs en oxygène et carbone est attribuée probablement à la nature des substrats de compostage. Le rapport H/C est inversement proportionnel à l'aromatisation et/ou degré de condensation au cours du compostage (Gossart 2001).

L'évaluation de degré d'humification a été étudiée en utilisant le rapport C_{AH}/C_{AF} , qui renseigne sur le degré de polymérisation, qui augmente au cours du compostage. Ce rapport est proche de 0 pour des composts très jeunes et atteint entre 2 et 5 pour des composts très stabilisés (Saviozzi et al., 1988; Inbar et al., 1990; Forster et al., 1993; Serra-Wittling, 1995; Provenzano et al., 1998) et peut même atteindre 10 pour certains composts à base de déchets verts (Adani et al., 1995). Le rapport AH/AF montre des valeurs très faibles aux stades initiaux comme l'ont montré (Harper et al., 2000), alors qu'il progresse vers des valeurs relativement élevées durant la phase de maturation. D'autres rapports comme le pourcentage du carbone extractible/le carbone total, le rapport du carbone sous forme humique par rapport au carbone total sont également mentionnés dans la littérature (Sugahara et Ionoko, 1981; Roletto et al., 1985; Saviozzi et al., 1988).

D'autres rapports peuvent être utilisés comme indicateurs d'humification du compost à savoir les rapports élémentaire H/C, H/O, O/C (Ouatmane, 2000 ; Ait Baddi et al., 2004; Amir, 2005; Jouraiphy, 2007; Barje, 2010). Ces auteurs ont montré que la diminution du rapport H/C des acides humiques est en relation avec l'apparition des doubles liaisons C=C des structures aromatiques. Néanmoins, Plaza et al. (2007) ont montré que les rapports élémentaire H/C, H/O, O/C subissent des fluctuations remarquables au cours du compostage.

La diminution du rapport C/N des acides fulviques, a été expliquée par Jouraiphy (2007) et Barje (2010), comme une caractéristique de synthèse des acides fulviques à partir des précurseurs libérés lors de la biodégradation, et par un enrichissement des acides fulviques en azote (Barje, 2010). Des liaisons avec les composés organiques et/ou inorganiques contenant l'azote sont supposés (Gonzalez-Vila et al., 2001, Berns et al., 2005) voire l'intégration de composés d'origine peptidique dans les hydrates de carbone colloïdaux des acides fulviques (Paredes et al., 2002, Gonzalez et al., 2003, Plaza et al., 2007).

L'influence des substances humiques de composts sur les processus physico-chimiques et biochimiques des sols, se manifeste par des effets notables sur la croissance des végétaux et des microorganismes (Filip et al., 1993 ; Chai et al., 2007, Wei et al., 2007).

IV.5.8. Pouvoir de complexation des polluants par les substances humiques

Certains métaux rencontrés dans l'environnement sont considérés comme des éléments essentiels à la vie (Fe, Cu, Zn...), mais peuvent s'avérer toxiques à de trop fortes concentrations. Les métaux non essentiels ne possèdent aucun rôle biologique connu et peuvent engendrer des problèmes environnementaux sous-estimés par leur présence.

Les données de la littérature montrent que les agrégats humiques sont retenus entre eux par des liaisons faibles tels des ponts hydrogène et les interactions hydrophobes. Schnitzer et Khan (1972) ; Schulten et Leinwebe (1996) proposent l'existence de vides dans la structure tridimensionnelle des substances humiques, qui peuvent être des sites d'adsorption des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), et des éléments traces métalliques. L'adsorption est un phénomène important dans l'interaction entre les polluants et la phase solide des boues ou du sol (matières organiques, les argiles, oxydes de fer et d'aluminium) (Murphy et al., 1994). Ce phénomène peut limiter la biodisponibilité des polluants vers les eaux souterraines ou vers les plantes. Ce phénomène est réversible s'il n'est pas couplé à des transformations chimiques parallèles. Engebretson et Wandruska (1997) ont apporté expérimentalement par fluorescence des preuves en faveur d'un modèle micellaire en utilisant un pyrène marqué. Hogan (1997) trouve que les HAPs peuvent aussi former avec la matière organique des complexes qui deviennent non extractibles et non disponibles. Les métabolites, après la dégradation microbienne des HAPs, peuvent être incorporés dans les substances humiques par des réactions oxydatives avec les composés phénoliques de la matière organique pour former des macromolécules humiques non hydrolysables (Richnow et al., 2003).

Parallèlement, les substances humiques possèdent un grand nombre de groupements fonctionnels hydrophiles : thiols (SH), amines (NH₂), carbonyles (C=O), carboxyles (COOH), et fonctions phénoliques ou alcooliques (OH). Du fait de l'importance de ces charges négatives, les AFs sont plus réactives envers les métaux, dont les carboxylates (COO⁻) présentent un rôle important de complexation des métaux. En fonction de l'augmentation du pH du milieu, ces groupements fonctionnels s'ionisent autorisant l'apparition de charges négatives qui augmentent la capacité de rétention des cations. Ces charges négatives très réactives envers les métaux lourds déterminent différents types de liaisons en fonction des métaux et leur concentration. Entre autres, la réaction du carboxylate COO⁻ et les métaux forment des complexes phtaliques quand deux entités COOH sont en jeu, de même un groupe OH voisin conduit à des complexes de type salicylate. D'autres liaisons hydrogènes peuvent

se présenter avec les groupes OH (Vanloon et al., 2000). La sélectivité et la force de liaison par les substances humiques envers les métaux dépendent de la quantité de métal libre disponible et complexé. La force de liaison diminue par l'augmentation de la concentration en métal complexé. Cependant, le type de complexes formés et la force des liaisons avec les groupements fonctionnels dépendent de l'état électronique des sites de complexation, de la présence de chaînes aliphatiques et aromatiques, de la géométrie du site fonctionnel, du pH et de la force ionique du milieu (Schnitzer et al., 1972 ; Hancock et al., 1995 ; Vanloon et al., 2000, Elkins et al., 2002). Vanloon et al. (2000) et Elkins et al. (2002), ont montré que les groupements fonctionnels des substances humiques sont en général des groupements aromatiques oxygenés, des fonctions azotées, des groupements aliphatiques oxygenés et des fonctions soufrées ou phosphorylées.

V. Les normes environnementales

V.1. Les normes et réglementation d'utilisation des boues de STEP

En l'état actuel des choses, il n'existe aucune loi au Maroc qui encadre directement les boues de STEP et leur épandage agricole direct et/ou après compostage.

Sur la base de la définition de déchets par la loi 28-00 :

Déchets : tous résidus résultant d'un processus d'extraction, exploitation, transformation, production, consommation, utilisation, contrôle ou filtration, et d'une manière générale, tout objet et matière abandonnés ou que le détenteur doit éliminer pour ne pas porter atteinte à la santé, à la salubrité publique et à l'environnement (Article 3 de la loi n° 28-00 relative à la gestion des déchets et à leur élimination).

Boues récupérées = déchets soumis aux dispositions de la loi n° 28-00.

Il y'a possibilité de réglementer l'utilisation des boues récupérées grâce :

A l'article 80 de la loi n° 10-95 sur l'eau : prévention de la dégradation des ressources en eau ou des sols cultivables.

A l'article 82 de la loi n° 10-95 sur l'eau : prescription de mesures destinées à lutter contre la pollution de la nappe par épandage excessif de produits chimiques ou organiques.

A l'autorisation de l'exploitation de l'établissement classé qu'est le stockage des boues récupérées : prescription de mesures destinées à éviter la pollution des eaux et des mesures

d'hygiène et de sécurité, tout en prenant compte des utilisations éventuelles de ces boues par les irrigants.

A l'échelle internationale plusieurs normes existent. Celles-ci tiennent compte des teneurs de différents éléments traces métalliques et précise les limites, en tenant compte de la concentration de différents ETMs, à partir des quelles les boues ne peuvent pas être recyclées en agriculture. Ces limites varient en fonction du pH du milieu récepteur (sol). Les risques de mobilité des ETMs dans les sols dont le pH est compris entre 5 et 6 est supérieur à celui pour les sols dont le pH est supérieur à 6. Afin de limiter ces risques de pollution, la norme française (NF 97-1133) a fixé les quantités des ETMs admises sur 10 ans en tenant compte des teneurs de différents ETMs et du pH du sol, ceci permet de pallier à l'effet d'accumulation des métaux et leurs effets dans le système sol-eau-plante.

Le tableau 19 indique les normes d'utilisation agricole des boues dans plusieurs pays européens, en particulier pour les principaux métaux lourds Cd, Cu, Hg et Pb.

Tableau 19: Les normes d'utilisation agricole des boues dans les pays européens

	Cd	Cu	Hg	Pb
CEE	20 à 40	1000 à 1750	15 à 25	750 à 1200
France	40	2000	20	1600
Allemagne	5-10 (1)	800	8	900
Denmark	0,8 (2)- 200 (3)	1000 (2)	0,8 (2) – 200 (3)	60 (2,6)-120(2,6)
Espagne	20 (4)- 40 (5)	1000 (4)- 1750 (5)	16 (4) – 25 (5)	750 (4)-1200 (5)
Grèce	20 à 40	1000 à 1750	16 à 25	750 à 1200
Irlande	20	1000	16	750
Italie	20	1000	10	750
Pays-Bas	1,25	75	0,75	100
Portugal	-	-	-	-
Royaume-Uni	-	-	-	1200 (7)
Suisse	5	600	5	500

(1) Valeur abaissée à 5mg/kg si épandage sur sol sableux et $5 < \text{pH} < 6$, sinon 10 mg/kg ; (2) valeur exprimée par rapport à la MS ; (3) valeur exprimée par rapport à la teneur en phosphore ; (4) pH du sol < 7 ; (5) pH du sol > 7 ; (6) valeur abaissée si usage en jardinage domestique ; (7) La réglementation anglaise n'a pas prévu de valeur limites ni de guide de bonnes pratiques pour les boues, sauf pour le plomb et le fluor quand les boues sont épandues sur les herbages.

V.2. La normalisation et réglementation du compost

Au Maroc, dans l'état actuel des choses aucune norme n'existe sur le compostage. Les normes sur le compost sont devenues nécessaires par la progression de l'industrie du compostage. En effet, on retrouve de plus en plus de produits compostés sur le marché qui sont importés et

homologués, ce qui amène des questions sur le choix et l'utilisation correcte de ces produits. Une norme sur les composts permet de répondre à beaucoup de ces interrogations. En France, la norme existant actuellement et s'appliquant au compost, est la norme relative aux amendements organiques NF U 44-051. Le Bureau de Normalisation du Québec a émis, le 27 Janvier 1997, une norme CAN/BNQ 0413-200/1997 d'application volontaire, classant les composts en trois types de qualité, par ordre décroissant : AA, A et B. Les composts AA et A sont de très bons composts. Les composts B, en raison de leur teneur en éléments traces, doivent être accompagnés d'instructions appropriées lors de la vente ou de la distribution. Cette norme définit des caractéristiques physiques (teneur en eau, en matières organiques totales, en corps étrangers), des caractéristiques chimiques (rapport C/N, taux d'assimilation d'oxygène, teneur en éléments traces) et des caractéristiques biologiques (teneur en coliformes fécaux et en salmonelles).

Le tableau 20 et le tableau 21 montrent les valeurs limites des métaux dans le compost selon B.N.Q et le classement des composts selon les normes canadiennes (CCME, 1995).

Tableau 20: Valeurs limites de classement des composts, classe A (sans risque à l'utilisation), classe B (à utiliser dans les sols forestières)

Métal	Valeurs limites classe A mg/Kg poid sec	Valeurs limites classe B mg/Kg poid sec
Zn	500	1850
Cu	100	757
Pb	150	500
Ni	62	180
Cd	3	20

Tableau 21: Limites normatives en métaux lourds (mg/Kg Ms) dans les composts

Pays	Législatif	Classe	As	Cd	Cr_{tot}	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
Allemagne	Biowaste ordinance I		/	1	70	70	0,7	35	100	300
Australie	ARMCANZ*	Biowaste	20	3	400	200	1	60	200	250
Autriche	Compost ordinance	Class A*	/	0,7	70	70	0,4	25	45	200
		Classe A		1	70	150	0,7	60	120	500
		Classe B		3	250	500	3	100	200	1800
Canada	BNQ**	AA, A	13	3	210	100	0,8	62	150	500

France	NFU 44-051	Compost urbain	50	3	/	600	2	100	150	1500
Pays-Bas		Compost très propre	5	0,7	50	25	0,2	10	65	75
		Compost propre	15	1	50	60	0,3	20	100	200
Ecolabel	2001/688/EC		10	1	100	100	1	50	100	300

*A.R.M.C.A.N.Z : Agriculture and Resource Management Council of Australia and New Zealand.

** B.N.Q: Bureau de Normalisation du Quebec

A la lumière de cette synthèse bibliographique, il ressort que le secteur d'assainissement liquide au Maroc va subir un sursaut dans les 10 années à venir suite à la stratégie du plan national d'assainissement liquide, et aux fondements de la charte nationale sur l'environnement. Le choix du système de traitement doit être tributaire des spécificités géographiques des communes et de leurs moyens financiers.

En parallèle, le traitement des eaux usées génère une production de boues très importante. Les prévisions de cette production de boues à l'horizon 2025 sont estimées à 300 000 tonnes/an. Cette production de boues n'a pas été prise en considération lors de la construction des stations d'épurations, ce qui pose actuellement un problème pour leur élimination. Dans l'état actuel et en absence de filières de traitement de boues, celles-ci se retrouvent en décharge publique non contrôlées ou décharges contrôlées, ou stockées sur les lieux de leur production ou encore déversées sauvagement, ce qui présente des risques de pollution environnementale réels.

Ces boues de STEP de nature organo-minérale en fonction de leurs origines peuvent contenir des teneurs importantes en éléments fertilisants (Azote et phosphore) susceptibles d'être valorisées en agriculture. Néanmoins, ces boues peuvent aussi contenir des polluants métalliques et organiques, ce qui nécessite un traitement avant leur utilisation.

En raison de cette composition de boues, la filière de compostage semble la mieux adaptée à la réalité marocaine (économie d'énergie et recyclage agricole), par rapport aux d'autres filières qui sont révélées très coûteuses (incinération, mise en décharge...). Actuellement, aucune filière de traitement de boues n'est normalisée au Maroc, bien que le PNA recommande de développer les recherches en matière de traitement de ces boues. Les rares recherches réalisées au Maroc sur les boues sont relatives, soit à leur caractérisation, épandage et compostage à l'échelle réduite (Bousselhaj, 1996; Amir, 2005, Jouraiphy, 2007 ; Abouelwafa, 2009).

Notre étude préconise la valorisation des boues de station d'épuration et des déchets verts par le procédé du compostage, en essayant de montrer que cette filière permet de produire un nouveau produit rentable, en mesure de répondre aux besoins socio-économiques et environnementaux.

Notre chapitre bibliographique s'est focalisé sur la description de différents critères physico-chimiques classiques d'évaluation de degrés de dégradation du substrat. Néanmoins notre principal objectif est de valider des nouveaux paramètres de maturité de composts qui répondent aux normes d'utilisation de boue de STEP et déchet de palmier sans aucun risque; par l'application des tests physicochimiques d'évolution des composés **ligneux**, de mise en place **d'indicateurs** comme **les esters méthylique d'acides gras (FAMES)** et les **stéroïdes**, ou encore de tests biologiques, par la validation de **nouveaux milieux synthétiques**, à base de substrat de compostage, avec un dénombrement des **souches fonctionnelles**. Un suivi des facteurs d'hygiénisation **d'évolution des œufs d'helminthes**, et l'identification des **souches actives d'actinomycètes contribuent à l'hygénisation des composts** a été envisagé. Ainsi via ce travail nous avons tenté de cerner **le pouvoir génotoxique** sur le modèle biologique végétal **des racines de *Vicia faba***. ce travail ouvrira la voie à l'extrapolation de ces paramètres comme indicateurs de maturité nécessaires en absence de normes au Maroc pour une pratique dédiée à la validation du procédé de compostage, ainsi que promouvoir la problématique en face des stations d'épurations produisant d'énorme quantité de déchet au Maroc, a fin de le pérenniser et l'intégrer dans les programme de la sécurité environmental en absence des moyens de gestion et de traitement judécieux.

Partie I

Biotransformation de boues de STEP-déchets de palmier et évolution des composés organiques au cours du co-compostage

Chapitre 1 : Evaluation de la biotransformation de la fraction organique et minérale lors du co-compostage de boues de station d'épuration- déchets de palmier

Chapitre 2 : Evolution des esters méthyliques d'acides gras (FAMES) au cours du co-compostage

Chapitre 3 : Evolution des composés ligneux au cours du co-compostage

Chapitre 4 : Evolution des composés stéroïdes au cours du co-compostage

Chapitre 1 : Evaluation de la biotransformation de la fraction organique et minérale lors du co-compostage de boues d'épuration- déchets de palmier

1. Introduction

La croissance démographique, l'évolution économique sont à l'origine de différentes pollutions chimiques, biologiques et physiques qui ont un impact direct et/ou indirect sur les ressources hydriques, le milieu physique (sol) et l'atmosphère. En absence de traitement des eaux usées, celles-ci sont épandues, en partie, sur les sols, déversées en mer; le reste se retrouve dans les oueds et les cours d'eau. Les eaux usées non traitées constituent ainsi l'une des sources majeures de pollution hydrique (les eaux côtières, de surface et souterraines) et génèrent de nombreuses maladies et une propagation des épidémies (OMS, 1989). Ces dernières années, l'accroissement de la demande en eau pour la consommation humaine, industrielle, agricole et les sécheresses répétées qui sévissent au Maroc ont sensibilisé les décideurs à considérer les eaux usées comme une ressource hydrique exploitable après épuration. Quelque que soit le système d'épuration adopté, celui-ci génère une production de quantités de sous produits « boues » importantes. Ces boues renferment des matières organiques et des éléments minéraux qui sont susceptibles de constituer un apport en fertilisants nécessaires pour amender les sols agricoles (Amir, 2005 ; Jouraiphy, 2007) dont l'utilisation directe présente de nombreux risques, d'où la nécessité de son traitement avant usage. La filière de compostage est la technique la plus pertinente pour traiter et transformer la matière organique des boues. La qualité des composts est définie par son degré de maturité et de stabilité. Plusieurs tests et paramètres peuvent être proposés pour évaluer ces deux éléments. Les principaux paramètres physico-chimiques analysés sont le rapport C/N, $\text{NH}_4^+ / \text{NO}_3^-$ (Jouraiphy et al., 2005; Huang et al., 2006); le taux de carbone (Zmora-Nahum et al., 2005). L'index d'humification est souvent utilisé pour déterminer le degré de maturité des composts (Stevenson et al., 1990; Ouatmane et al., 2000; Higashikawa et al., 2014). Le processus d'humification est assez bien décrit et plusieurs voies ont été proposées pour expliquer son déroulement. Une voie consiste en une biodégradation suivie d'une accumulation de matériaux récalcitrants (Chefetz, 2000). Un deuxième mécanisme propose une oxydation puis une condensation de polyphénols (Flaig, 1964; Veeken et al., 2000). Une autre voie plus récente implique une préservation sélective de biopolymères d'hydrocarbures aliphatiques résistants qui sont formés lors de la biosynthèse microbienne (Lichtfouse et al., 1998). Quelle que soit la voie suivie, l'humification conduit à la formation des substances

humiques (SH) dont la composition dépend des matières premières de départ et des conditions d'humification (González-Pérez et al., 2004). Diverses méthodes spectroscopiques (UV / VIS, ^{13}C NMR, et FTIR) sont utilisées pour caractériser et étudier les propriétés des substances formées par humification. La spectroscopie IR est l'une des techniques qui permettent d'étudier les échantillons sans aucun traitement chimique susceptible de générer des réactions latérales. Cette méthode est largement utilisée pour caractériser l'évolution des composés organiques, notamment des SH présentes dans les composts, les sols, les boues d'épuration (Polak et al., 2009). Hormis l'identification des groupes fonctionnels par leurs fréquences caractéristiques, cette technique permet de suivre la composition des SH par comparaison des intensités relatives de certaines bandes d'absorption (Chefetz et al., 2006; Amir et al., 2006a,b; Fakharedine et al., 2006). La disparition et l'apparition de nouvelles bandes sur le spectre FTIR renseignent aussi bien sur l'évolution de la matière que de son interaction avec les métaux lorsqu'ils sont présents surtout dans les boues d'épuration (Pajczkowska et al., 2003; Jerzykiewicz, 2004; Polak et al., 2005; Sawalha et al., 2007). Néanmoins, l'indexation des spectres FTIR à différents stades d'évolution d'un co-compost, de boue-déchets vert, reste compliquée vu le chevauchement des bandes relatives à la phase minérale avec celles des SH (Ellerbrock et al., 2005). Il est difficile dans ce cas d'attribuer avec précision toutes les bandes d'absorption du spectre FTIR dans les régions $3500\text{-}3280\text{ cm}^{-1}$ et $1200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ (Haberhauer et al., 1998; Ellerbrock et al., 2005; Kaiser et Ellerbrock, 2005). Dans le cas des acides humiques (AH) extraits des composts, même après leur purification, il subsiste souvent une partie relativement importante de la fraction minérale qui donne, en particulier dans la région $1200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ du spectre FTIR, des bandes caractéristiques, qui s'enchevauchent avec celles des AH (Haberhauer et al., 1998; Kaiser et Ellerbrock, 2005). Le profil et la position des bandes observées dans ces régions du spectre FTIR varient d'une référence bibliographique à l'autre et diverses attributions des bandes ont été avancées :

- Des bandes dissymétriques larges et intenses apparaissant vers $3450\text{-}3280\text{ cm}^{-1}$, ont été attribuées aux vibrations d'élongation des groupements OH liés par liaison hydrogène et des groupes NH d'AH extrait du sol ou des boues d'épuration (Senesi et al., 2003; González-Pérez et al., 2004; Polak et al., 2009)

- Sur le spectre FTIR d'AH extraits des composts des boues d'épuration, les bandes apparaissant dans la région $1200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ ont fait l'objet de diverses attributions. Soit aux vibrations d'élongation d'éthers aromatiques ou à des Si-O (Polak et al., 2009), aux vibrations d'élongation C–O–C des carbohydrates; ou aux éthers aromatiques et polysaccharides

(Niemeyer et al., 1992; Laguirati et al., 2005; Madari et al., 2006; Sawalha et al., 2007); et même aux vibrations d'élongations OH (Laurent et al., 2009). Ivan Smikovic et al. (2008) attribuent la bande située à 1035 cm^{-1} sur le spectre FTIR à la matière minérale dans la mesure où sa fréquence et son intensité restent inchangées lorsque le sol est chauffé à 225 °C .

Ces données bibliographiques montrent que les bandes apparaissant dans les régions $3500\text{-}3280\text{ cm}^{-1}$ et $1200\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ du spectre FTIR caractérisent aussi bien la phase minérale que la phase organique. Le chauffage à 225 °C ne permet pas d'affirmer, de façon catégorique, l'élimination totale de la matière organique d'un compost pour pouvoir attribuer les bandes résiduelles du spectre FTIR spécifiquement à la phase minérale. En fait, les changements thermiques des boues d'épuration (riche en matière organique) sont complexes et un certain nombre de réactions consécutives et parallèles sont impliquées. En fonction des constituants de la boue, des conditions thermiques tels que le taux de chauffage, sa durée, la température, la disponibilité en oxygène auxquels s'ajoute la réhydratation de l'échantillon lors du refroidissement. Les travaux les plus récents concernant les traitements thermiques sont orientés pour : i) améliorer la compatibilité des propriétés physico-chimique des boues avec le ciment de portland (El Ouazzani et al., 2012), ii) détruire, par le chauffage intense de courte durée, les agents pathogènes d'un compost et éliminer les produits chimiques volatiles afin d'obtenir un compost final désinfecté (Fernandez et al., 2009), iii) étudier la variation des groupes fonctionnels et la distribution des produits séchés par pyrolyse tubulaire (Gao et al., 2014). Les études sur la calcination des co-composts dans le but de mettre en évidence la contribution de la matrice minérale au spectre FTIR lors de l'humification d'un co-compost ont été peu réalisées.

En matière de traitement de boues, l'incinération n'est pas adaptée à la réalité Marocaine (coût élevé). Actuellement, aucune filière de traitement de boues n'est utilisée au Maroc, bien que le PNA recommande de développer les recherches en matière de traitement de ces boues. Dans ce présent chapitre, nous proposons de réaliser des essais de compostage semi-industriels du mélange boues de STEP-déchets de palmier pour évaluer leur degré de compostabilité. Afin de mesurer le degré de maturité de produits finaux, différentes analyses physico-chimiques ont été effectuées. Nous nous sommes intéressés en premier temps, à suivre l'évolution des indices classiques de maturité (C/N , $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$). Par la suite, nous avons utilisé l'outil spectroscopie infrarouge (FTIR) pour évaluer la maturité des composts. De même, il s'agit de mettre en évidence la contribution, au spectre IR, de la matrice minérale contenue dans un co-compost après élimination de la phase organique par pyrolyse lente.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Substrats utilisés pour le co-compostage

Les boues et les déchets du palmier dattier sont les deux substrats utilisés lors du compostage. Les boues d'épuration que nous avons utilisées proviennent du système de traitement des eaux usées par la filière « boues activées » de Marrakech, les déchets de palmier proviennent des déchets verts de la ville. Leurs principales caractéristiques sont présentées ci-dessous (Tableau 1):

Tableau 1: Principales caractéristiques des substrats utilisés

Paramètres	Déchets palmier	Boues
pH	6,31 ±0,08	6,45±0,09
Humidité (%)/MF	25,1±0,21	46,46±0,26
Taux de cendres (%)/MS	9±0,1	43,80±0,02
COT(%)/MS	50,5±0,61	31,20±0,11
NTK(%)/MS	1,36±0,24	1,50±0,2
C/N	37,13	20,8

Ms: Matière sèche, MF: Matière fraîche

2.2. Description de la station de boues activées de Marrakech

- Taux de raccordement : 85%
- Mode d'assainissement :

Gravitare {
Unitaire : 85%
Séparatif : 15%

- Longueur du réseau : 1 627 km
- Nombre de branchements : 112 754
- Débit nominal: 90 720 m³/jour (temps sec) et 117 936 m³/jour (débit moyen estival)
- Charge polluante: DBO5 : 50 t/jour

Les filières de traitements dans la station sont successivement : un prétraitement physique (dégrillage, dessablage déshuilage), la station possède sept décanteurs circulaires dont trois réservés pour la décantation primaire suivi par quatre bassins d'aération flux piston pour l'activation bactérienne et quatre autres pour la décantation secondaire; la boue décantée dans ces derniers décanteurs est recyclée vers les bassins d'aération pour subir un traitement

biologique. En bout, la station est dotée d'un filtre rapide et l'eau filtrée subit une désinfection par UV.

La station a reçu en moyenne une charge journalière de l'ordre de 110 000 m³ en 2012 et les prévisions pour 2015 sont de 118 000 m³/j et 150 000 m³/j pour 2030. Une production de boues de 3800 m³/j passe par trois processus pour sortir de 80m³/j à l'aide d'un épaissement de boues primaire suivi d'une digestion anaérobie et d'une dessiccation mécanique par filière à bande. L'épaissement des boues secondaires (4200 m³/j) est suivi d'une digestion anaérobie et d'une dessiccation mécanique aussi par filière à bande pour un résultat de 130 tonne/j en 2012 avec une siccité moyenne de 22%, soit l'équivalent au total de 30,8 tonnes de matière sèche par jour (tMS/j). Les prévisions sont de l'ordre 136t/j en 2015 et 187 t/j en 2030 soit une production annuelle de 47 5000 t/an en 2012 et 50 000t/j en 2015 et 68 500 t/j en 2030. Il est à préciser que le nominal de la STEP se situe à 40 tonne MS/j.

2.3. Production de déchets de palmier de Marrakech

Les déchets de palmier sont constitués de résidus issus de l'entretien de la palmeraie de Marrakech. Ils représentent une source importante de déchets organiques collectés par les municipalités. Selon les services environnementaux de la commune urbaine de Marrakech, les espaces verts de la ville génèrent l'équivalent de 3500 à 5250 tonnes de déchets verts/an, à ceci s'y rajoute le nombre de palmiers morts qui est de l'ordre de 2 à 4 palmiers/Ha /an, pour une palmeraie de 7700 ha. Cependant, la quantité totale des déchets verts de la palmeraie de Marrakech s'élève à 8000t/an. L'affluence de l'ensemble de ces déchets s'accroît avec une défaillance du recyclage dans l'environnement.

L'utilisation de déchets de palmier, substrat ligno-cellulosique, permettra de :

- Favoriser l'aération du mélange à composter, comme agent structurant.
- Favoriser un rapport C/N optimal pour l'activité des microorganismes, étant donné que le rapport C/N des boues est faible.
- Enrichir le milieu en molécules ligno-cellulosiques considérées comme des précurseurs de substances humiques.

2.4. Essais de co-compostage

Les essais de co-compostage ont été réalisés sous forme d'andains sur une plateforme à la pépinière communale de Marrakech selon les proportions suivante :

-Mélange A :

1/3 de boues + 2/3 de déchets de palmier, volume total est de 4m³ (4 × 1 × 1)

-Mélange B :

1/2 de boues + 1/2 de déchets de palmier, volume total est de 4m^3 ($4 \times 1 \times 1$)



Figure 1: Dimensionnement de l'andain de co-compostage de boues-déchets palmier

Après homogénéisation des substrats et une humidification voisine de 60% (valeur optimale du compostage), le mélange est mis en andain (Figure 1) préparé sur un plastique, pour éviter toute contamination du milieu en contact avec le sol et pour permettre de récupérer les lixiviats lors des arrosages des andains. Au cours du compostage, des brassages manuels sont effectués chaque semaine pour favoriser l'aération du mélange. Après chaque brassage l'humidité est contrôlée et en cas de dessèchement des mélanges un arrosage des mélanges est effectué. Des échantillons homogènes de chaque mélange (A et B), sont prélevés à T0 (A0 et B0), (après le mélange à T01 mois (A1, B1), à T02 mois (A2, B2), à T03 mois (A3, B3) et à T06 mois (A6, B6).

2.5. Méthode d'échantillonnage et les paramètres physico-chimiques analysés

Afin de s'assurer de l'homogénéisation de l'échantillon, les prélèvements sont prélevés selon la méthode de quartage (Figure 2, 3, 4). Chaque échantillon composite est réalisé à partir de différents prélèvements effectués sur les différents endroits et profondeurs des andains qui sont ensuite mélangés, et un échantillon représentatif de 1 kg est prélevé. Les échantillons représentatifs sont mis en sacs en plastique numérotés et conservés à -20°C jusqu'à leur analyse.

Principe de quartage:



Figure 2: Echantillon global
Homogénéisé divisé en quatre
parts équivalentes



Figure 3: Elimination
de deux parts opposées.



Figure 4: Homogénéisation des parts restantes

Les paramètres physico-chimiques analysés :

2.5.1. Température

La température est mesurée quotidiennement sur l'andain à différents niveaux à l'aide de puces spéciales (PH0700115 version 1.20 Ector Traçabilité), qui sont introduites directement dans l'andain et qui permettent à l'aide d'un logiciel, de récupérer l'ensemble des données sur l'ordinateur.

2.5.2. Mesure du pH

Le pH est mesuré à partir une solution du compost (1g / 10ml), après agitation durant 30 min, et à l'aide d'un pH-mètre préalablement étalonné par des solutions tampons (pH= 7 puis pH= 4).

2.5.3. Taux d'humidité

Le taux d'humidité est déterminé sur un échantillon de 100 g, après séchage dans une étuve à 105°C pendant 48 heures (AFNOR, 2000), selon la relation suivante :

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = 100 \times (P_f - P_s) / P_f$$

Sachant que: P_f = poids frais et P_s = poids sec

L'eau, fortement retenue par la matière, peut être sous-estimée, alors qu'un traitement par excès peut engendrer la perte d'une partie des substances organiques. L'évaporation d'eau jusqu'à poids constant est influencée par les conditions de séchage, qui dépendent du système d'évacuation d'air de l'étuve, l'humidité de l'air et la qualité de conservation au dessiccateur avant les mesures (balance sensible à 0,1 mg).

2.5.4. Taux de cendres

Le taux de cendres est obtenu après destruction de la matière organique par calcination au four à moufle 600°C (par palier thermique) pendant 6 heures, pour éviter la destruction brutale de la matière organique. Le calcul du taux de cendres est effectué selon la relation suivante:

$$\text{Taux de cendres (\%)} (\text{Ash}) = 100 - [100 \times (P_s - P_c) / P_s]$$

Sachant que : P_s = poids sec et P_c : poids calciné

2.5.5. Taux de décomposition

Ce paramètre renseigne sur le degré de la biodégradabilité du substrat, en tenant compte du taux de cendre initial et final. Le taux de décomposition est déterminé à différents stades de compostage selon la formule suivante (Paredes et al., 2002; Barje, 2010):

$$\text{Décomposition(\%)} = 100 - 100 [Ash_i(100 - Ash_f)] / [Ash_f(100 - Ash_i)]$$

Ash_i : cendres initiales et Ash_f : cendres finales.

2.5.6. Dosage de l'Azote Kjeldahl

Dans un compost, l'azote se trouve sous forme minérale et organique (protéines, phospho-amino-lipides...). Pour doser la totalité de l'azote, l'échantillon doit être minéralisé en totalité afin de permettre la transformation de l'azote organique en azote minéral.

Minéralisation

Dans un matras on mélange 0,5g d'échantillon préalablement séché et broyé, en présence de 0,5g du catalyseur Kjeldahl (K_2SO_4 : 50g, $CuSO_4$: 5g et Sélénium Se: 0,5 g) qui permet de convertir les différentes formes d'azote en sulfate d'ammonium, et 10 ml de H_2SO_4 concentré (36N). Puis on place les matras dans un minéralisateur à haute température jusqu'à l'obtention d'un minéralisât blanchâtre (au moins 03 heures).

Distillation et dosage

Après refroidissement le minéralisât est distillé en milieu alcalin (excès de soude) (NaOH 50ml, 10N) en présence d'un indicateur coloré la phénol-phtaléine. L'ammoniac est récupéré par l'acide borique (H_3BO_3) (10 ml, 1 N). Pour le dosage on neutralise l'ammoniac par une solution H_2SO_4 (0,02N) en présence d'un indicateur coloré : l'indicateur de Tashiro (Rouge de méthyle 0,1 g, Vert de bromo-crésol 0,5 g, Ethanol à 95 % : 500 ml).

La teneur en azote minérale, est déterminée selon l'expression suivante:

$$N (\%) = N' (V_e - V_t) \times 1,4 / P$$

N : Azote NTK.

V_e : volume de titre de l'échantillon (ml).

V_t : volume de titre de témoin (ml).

N' : normalité de l'acide sulfurique du dosage.

P : poids en gramme de la prise d'essai (mg).

2.5.7. Dosage de l'azote ammoniacal ($N-NH_4^+$)

L'ammonium est dosé directement à partir d'un échantillon frais (2g) par distillation en milieu alcalin, 10 ml de soude (10 N). L'ammonium se transforme en ammoniaque puis il est récupéré dans 10 ml de l'acide borique (1N) et sera dosé par l'acide sulfurique (0,02N) en présence d'indicateur d'azote Tashiro.

$$N (\%) = N' (V_e - V_t) \times 1,8 / P$$

2.5.8. Dosage de l'azote nitrique ($N-NO_3^-$)

2g d'échantillon frais, additionnés de 10 ml de soude (NaOH 10 N), de 10 ml d'eau distillée et quelque mg d'alliage de DEVARDA. Après distillation, le mélange est titré avec l'acide sulfurique (0,02 N).

N.B. : L'ammoniac au contact dans l'acide borique, alcalinise le milieu qui vire au vert, on verse alors la solution étalonnée d'acide fort pour ramener l'indicateur à sa teinte sensible.

2.5.9. Dosage de carbone organique total

Le taux de matière organique est déterminé après calcination de l'échantillon au four pendant 6 heures à 600 °C, l'augmentation de température se fait par paliers thermiques, pour éviter la perte de l'échantillon par projection suite à sa brusque combustion.

Le carbone organique total est calculé par la méthode suivante:

Après la calcination la combustion de matière organique est totale, ce qui facilite la détermination de sa teneur par simple différence entre le poids avant et après calcination, selon la formule suivante :

$$MO(\%) = 100 \times (P_s - P_c) / P_s$$

P_s : Poids de l'échantillon sec et P_c : Poids de l'échantillon après calcination

A partir des % de MO nous pouvons déterminer les pourcentages de COT (carbone organique total), ainsi en appliquant la relation suivante:

$$MO(\%) = COT(\%) \times 1,8$$

Le calcul est basé sur le fait que la MO est constituée de presque 55,5% de carbone.

2.5.10. Extraction et fractionnement des substances humiques

Extraction

L'extraction des substances humiques a été réalisée après avoir éliminé les composés hydrosolubles susceptibles d'interférer avec les substances humiques. Pour ceci, pour 5 g d'échantillon, on a ajouté de 50 ml d'eau distillée. Après agitation pendant 10 minutes, le mélange est centrifugé pendant 15 min à 4000 g et le culot est récupéré. L'expérience est répétée trois fois. Ensuite, le culot est additionné de 50 ml de soude (NaOH 0,1 N). Après agitation, centrifugation et filtration dans les mêmes conditions, le surnageant est récupéré pour le dosage des substances humiques. L'expérience est répétée plusieurs fois, jusqu'à l'obtention d'extrait clair. Les deux fractions des substances humiques (acides humiques et acides

fulviques) ont été séparées par précipitation des acides humiques dans l'acide sulfurique H_2SO_4 à un pH autour de 1.

Dosage

Les deux fractions humiques ont été dosées, après oxydation par le permanganate de potassium ($KMnO_4$) en milieu alcalin (Chaminade, 1944). L'oxydation de 5 ml de la solution humique a été réalisée à ébullition (10 min) par 20 ml de $KMnO_4$ (0,1 N) en milieu alcalin (10 ml de NaOH 0,1 N). Après refroidissement et addition de 20 ml d'acide oxalique et 10 ml d'acide sulfurique (6 N) l'excès de l'acide oxalique est titré avec le permanganate de potassium (0,1N) jusqu'au virage rose. La teneur des substances humiques est déterminée sachant que 1 ml de $KMnO_4$ (0,1N) oxyde 1 mg de substances humiques (Chaminade, 1944). Cette technique permet de calculer les trois paramètres d'humification qui renseignent sur le degré de maturité du compost et dont les formules sont les suivantes :

$$IH = CAH/CAF \text{ avec } CAH = AH/2 \text{ et } CAF = AV/2 \text{ (Ezelin, 1998).}$$

$$DH = [(CAH + CAF) / CET] \times 100 \text{ (Ciavatta et al., 1988).}$$

$$TH = [(CAH + CAF) / COT] \times 100 \text{ (Ciavatta et al., 1988).}$$

IH : Indices d'humification, DH : degré d'humification, TH : Taux d'humification, CAH : carbone total des acides humiques, CAF : carbone total des acides fulviques, AH : acides humiques, AV : acides fulviques, CET : carbone total extractible, COT : carbone organique total.

2.5.11. Dosage des éléments traces métalliques totaux (ETM)

1 g de compost calciné à 600°C pendant 6 heures, est dissous dans 5 ml de acide fluoridrique. Le digestât est en suite évaporé puis dissous dans une solution de HNO_3/HCl (1:1) (AFNOR, 1993). La détermination des métaux étudiés a été réalisée par spectro photométrie d'absorption atomique.

2. 5. 12. Analyse par spectroscopie d'absorption infrarouge (FTIR)

Cette méthode basée sur des radiations de nature électromagnétique, qui permettent d'assigner les bandes d'absorption infrarouge à des groupements. Malgré la structure complexe des substrats compostés, la technique de spectroscopie infra-rouge est utilisée sur des échantillons de chaque stade de co-compostage préalablement séchés à 105°C en mélange avec le bromure de potassium (KBr) avec un ratio de (2: 200, échantillon/KBr). Le mélange est ensuite pressé sous forme de pastilles. Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre FTIR Bruker Vertex 70, équipé d'un détecteur DTGS et logiciel OPUS 6,5 (128 balayages à une résolution

de 2 cm^{-1} ont été effectués). Les données spectrales sont obtenues en tant que valeurs d'absorbance sur une gamme de fréquence de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$. Cette technique permet de caractériser les groupements fonctionnels des molécules par détermination des énergies absorbées par les différentes vibrations inter-atomiques. Des informations importantes peuvent être obtenues sur la nature, la réactivité et les changements structuraux des groupements fonctionnels des substances organiques.

2.5.13. Traitement thermique

Les échantillons de différent stade de co-compostage préalablement séchés ont été traités thermiquement par pyrolyse en lit fixe dans des bacs en céramique dans un four électrique type FERRO. La montée en température est linéaire et s'effectue à une vitesse de $5^\circ\text{C}/\text{min}$ jusqu'à 650°C . A cette température, la calcination des échantillons est maintenue pendant une durée de 5 heures. Le refroidissement s'effectue à la vitesse propre du four fermé.

2.5.14. Analyse chimique par Fluorescence X

Les analyses de la composition chimique ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre de fluorescence X de marque Pioneer XRF-S4 piloté par le logiciel Spectraplus utilisant le programme d'évaluation interactif Eval. Des prises de l'ordre de 10 g d'échantillons ont été analysées sous forme de poudre.

2.5.15. Analyse par DRX

Les échantillons solides préalablement séchés à 105°C et les échantillons calcinés à 650°C ont été broyés et analysés par la technique de diffraction sur poudre désorientée à l'aide d'un diffractomètre Philips X'PERT, utilisant une anticathode de cuivre de longueur d'onde $\lambda = 1.540560\text{ \AA}$ opérant à 40 kV et 40 mA. L'acquisition des données est effectuée par une unité de contrôle pour des angles de 2 théta (2θ) compris entre 5 et 70° . Le traitement des diffractogrammes s'effectue à l'aide du logiciel X'Pert High Score. L'indexation des phases est basée sur la comparaison des DRX de la base de données des fiches ASTM (American Society for Testing and Materials) faisant la comparaison des distances inter-réticulaires dus aux angles 2θ .

3. Analyses statistiques

La corrélation entre l'évolution des paramètres durant le co-compostage de boue et déchet de palmier a été étudiée par analyse en composante principale (ACP), appliquée sur la matrice de

corrélation entre les variables. Les traitements statistiques ont été réalisés en utilisant le logiciel SPSS Win version 10.

4. Résultats et Discussion

L'évolution du processus de compostage des mélanges boues-déchets verts a été déterminée par le suivi de certains paramètres physico-chimiques pendant six mois. L'ensemble de ces paramètres permettent de se renseigner sur les transformations qui se sont produites au cours du co-compostage de boues-déchets du palmier. De même, ils permettent de mieux évaluer le degré de compostabilité des substrats initiaux et de déterminer la maturité des produits finaux.

4.1. Evolution des paramètres physico-chimiques

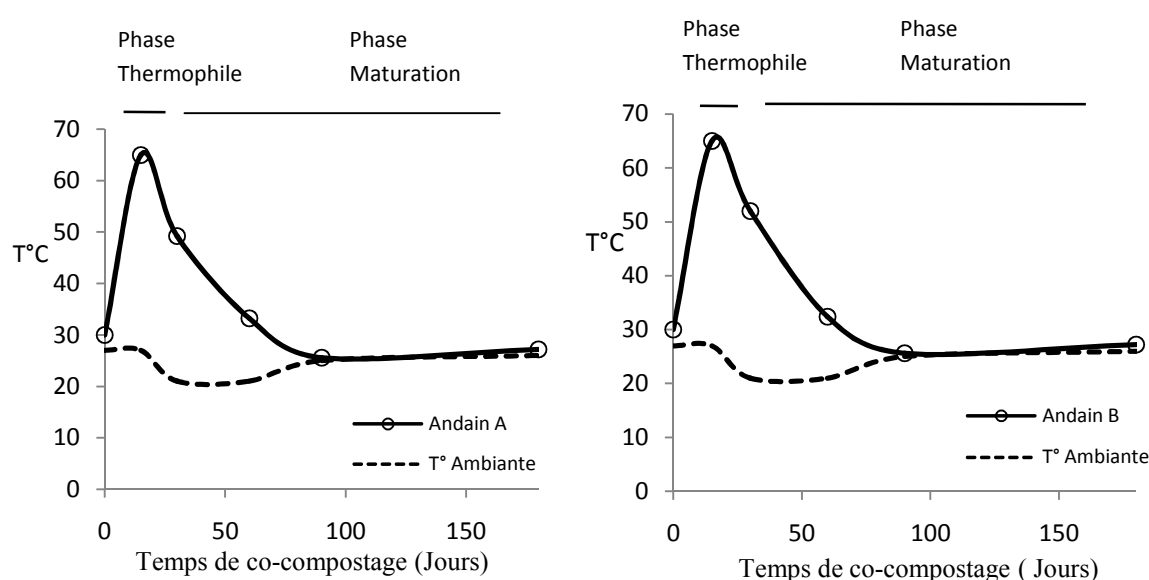


Figure 5 : Evolution de la température en fonction du temps au cours du processus de co-compostage du mélange A et B

L'évolution de la température au cours du compostage est un premier indice qui reflète le degré de dégradabilité du compostage. Dans notre cas (Figure 5), la courbe de température à une allure classique du compostage, caractérisée par deux phases importantes (phase de stabilisation et phase de maturation). La phase thermophile est caractérisée par une élévation de la température jusqu'à une température de 65°C, cette augmentation de la température est le résultat d'une intense activité microbienne qui résulte de la dégradation des molécules simples présentes dans le substrat (Khalil et al., 2001 ; Paredes et al., 2002 ; Knicker, 2004;

Lhadi et al., 2006 ; Barje et al., 2012 ; El Fels et al., 2014a). Par la suite, la température des andains baisse régulièrement pour atteindre des températures ambiantes. Cette baisse de température est due à l'épuisement du milieu en composés organiques facilement métabolisables; et seuls les composés résistants à la dégradation (lignine, cellulose...) persistent (Ait Baddi et al., 2004 ; Amir, 2005). Cette seconde phase appelée « phase de maturation » est dominée par les réactions d'humification qui consiste à la polymérisation des composés organiques vers des composés plus stables appelés « Humus » (Mustin, 1987).

Tableau 2: Evolution des paramètres physico-chimiques au cours du co-compostage des mélanges A et B

Mélanges	Temps du co-compostage (mois)	%NTK*	Humidité	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺	C/N	DEC (%)*	pH	%TOC*
A	0	1,3±1,2	58,83	0,016±0,001	0,22±0,03	26,2	-	6,34±0,03	34,4±1,2
	1	2,3±1,3	69,5	0,05±0,01	0,12±0,04	12,8	20,03±0,9	6,3±0,3	29,4±0,12
	2	2,8±1,5	66,8	0,075±0,02	0,05±0,02	9,92	28±1,2	6,51±0,2	27,7±0,1
	3	2,2±1,4	66,94	0,065±0,01	0,02±0,01	11,2	33,4±1,17	6,59±0,37	24,64±1,11
	6	2,2±1,1	66	0,075±0,01	0,01±0,01	10,09	40,07±1,1	6,79±0,06	22±0,2
B	0	1,3±1,1	60,97	0,028±0,01	0,21±0,01	27,4	-	6,04±0,28	35,1±1,1
	1	2,2±1,2	68,8	0,06±0,02	0,15±0,01	14,39	18,22±0,2	6,4±0,56	31,1±0,1
	2	2,7±1,5	66,2	0,1±0,05	0,05±0,01	10,8	23,4±0,12	6,65±0,27	30±0,12
	3	2,2±1,1	66,56	0,06±0,01	0,02±0,01	11,5	33,39±1,75	6,99±0,28	25,41±0,21
	6	2,3±1,2	66	0,07±0,02	0,009±0,01	10,08	40±1,49	7,03±0,08	23±0,13

(*): Résultats exprimés en poids sec, NTK : Azote total kjeldhal, DEC ; Taux de décomposition

Au cours du processus de co-compostage, on assiste à une légère diminution du pH ; 6,34 et 6,04 suivie d'une augmentation, puis une tendance à la stabilisation autour de la neutralité de 6,79 et 7,03 respectivement pour le mélange A et B (Tableau 2). Cette diminution du pH est due à la production d'acides organiques et à la dissolution de CO₂ dans le milieu et/ou les produits de dégradation des molécules simples (glucides et lipides). Ces acides provoquent une acidification du milieu à cause de leur accumulation (Moustin, 1987; Peters et al., 2000, Barje et al., 2013). La légère augmentation peut s'expliquer par un processus d'ammonification et la production ammoniacale à partir de la dégradation des amines (protéines, bases azotés...) (Ouattmane et al., 2000), et peut être une libération des bases existantes dans les déchets organiques (Beck-Friis et al., 2001 ; Vergnoux et al., 2009). La

stabilisation de la valeur du pH durant le co-compostage est due au pouvoir tampon de l'humus au cours de la phase de maturation. En général, pour cette phase, le pH reste stable, avec une valeur optimale de 6 à 8 (Amir et al., 2005; Zenjari et al., 2006).

Le taux de décomposition a augmenté pour atteindre une valeur autour 40 %, après six mois de compostage. Ces résultats indiquent le bon degré de compostabilité du mélange boue-déchets de palmier, qui semble bien adapté aux conditions du compostage.

Les teneurs en carbone organique (COT) au début du co-compostage sont de l'ordre de 34 et 35% respectivement pour les mélanges A et B (Tableau 2), ces valeurs montrent la richesse de la matière première en carbone. Au cours du compostage, on constate une diminution de la teneur en carbone, qui s'explique par la minéralisation continue des composés organiques qui se traduit par l'appauvrissement du milieu en composés facilement dégradables (phase de stabilisation), ainsi que la dominance des précurseurs des substances humiques (phase de maturation) (Mustin, 1987). Pendant la phase de maturation, la teneur en carbone se stabilise relativement. En effet, dans cette phase les pertes de carbone sont ralenties et on assiste à une redistribution de carbone par les mécanismes de l'humification. Les voies de re-polymérisation et condensation qui conduisent à la formation des substances complexes caractérisées par un poids moléculaire très grand et une faible solubilité (Said-Pullicino et al., 2007).

Au début du co-compostage on remarque une légère augmentation du l'azote (NTK) de 1,31 et 1,28% jusqu'à 2,18 et 2,28 % respectivement pour les mélanges A et B (Tableau 2). Après la première semaine du co-compostage, la teneur de l'azote a diminué de 1,31 et 1,28% à 1,25 et 1,19%. Cette diminution est surtout liée à des pertes d'azote sous forme d'ammoniac volatile pendant les phases thermophiles (Eghball et al., 1997); et/ou à son lessivage lors de l'arrosage des andains. L'augmentation de la teneur en azote après la deuxième semaine est due à sa concentration, engendrée par la forte dégradation des composés carbonés. La teneur de NTK lors du compostage dépend d'une part, de la nature des molécules azotés et de leurs aptitudes à être minéralisées, et d'autre part de la nature du composés carbonés présents dans le substrat à composter (Bernal et al., 1998).

Au début du co-compostage la teneur de l'azote ammoniacal est de 0,22 et 0,21% respectivement pour les mélanges A et B. A la fin du co-compostage, cette teneur a diminué pour atteindre 0,009%. Cette diminution de l'azote ammoniacal, régulièrement observée, est due au processus de la nitrification et à l'incorporation de N-inorganique dans les tissus microbiens durant leurs croissances et aussi à la perte d'azote sous forme d'ammoniac par

évaporation et lessivage, en particulier pendant la phase thermophile (Bishop et Godfey, 1983).

Au début du compostage, la teneur en nitrates est de l'ordre de 0,016 et 0,028%. Au cours du co-compostage, cette teneur en nitrate augmente pour atteindre 0,075 et 0,07%, respectivement pour les mélanges A et B (Tableau 2). Les teneurs en nitrates évoluent inversement que les teneurs d'azote ammoniacal, ce qui explique le phénomène de nitrification de l'ammonium. L'enrichissement du compost final en NO_3^- par rapport à NH_4^+ traduit l'évolution du substrat vers un compost exempt de phytotoxicité (Mustin, 1987 ; Benhassou, 1998; Amir, 2000 ; Barje et al., 2012). Dans notre cas de co-compostage, le rapport de $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ passe de 13,75 et 15,6 à 0,12 et 0,14 ; respectivement pour les mélanges A et B. Cette valeur ($\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^- < 1$) témoigne la maturité des composts finaux.

Le rapport C/N passe de 26,2 et 27,4 à 10,09 et 10,08 respectivement pour les mélanges A et B à la fin du co-compostage (Tableau 2). La diminution de ce rapport est étroitement liée à la perte de carbone organique par biodégradation de la matière organique et le dégagement du CO_2 , et d'autre part à l'augmentation du taux de l'azote total du milieu. La baisse de ce rapport est atténuée par les pertes de l'azote sous forme ammoniacale au cours de la phase thermophile (Amir, 2005 ; Barje, 2010). Les valeurs finales atteintes de C/N voisines de 10, après six mois de co-compostage, témoignent d'une bonne maturité du compost final. En effet selon de nombreux auteurs (Pfirter et al., 1982; Dorfman et Batch, 1985 ; Amir et Hafidi, 2001; Jouraiphy, 2007; Barje et al., 2012) un compost est considéré mature s'il présente un rapport C/N entre 10 et 15.

4. 2. Processus d'humification au cours du co-compostage

Au cours du compostage, les réactions d'humification sont liées à des processus de dégradation des glucides, des protéines, des acides aminés, des lipides, des lignines, des tanins et des pigments en composés plus simples. Différents auteurs (Tomati et al., 1995; Amir et al., 2006a,b) montrent que l'activité microbienne et les réactions enzymatiques de polymérisation/repolymérisation conduisent à la formation des composés aromatiques, tels que les substances humiques. Une augmentation significative des substances humiques de plus de 60% a été observée à la fin de ce processus de co-compostage (Tableau 3). Nous avons noté une augmentation significative du degré de polymérisation (DP) autour de 62% et 99%, respectivement, pour les mélanges A et B. Ce rapport est l'indice le plus sensible pour suivre le processus d'humification (Jimenez et Garcia, 1991; Sanchez-Monnedero et al., 1999, Vergnoux et al., 2009). L'augmentation de ce rapport peut être expliquée par la

formation des molécules complexes (acides humiques), par la polymérisation de molécules simples (acides fulviques). L'augmentation de l'indice d'humification (IH) et le degré de polycondensation de la matière organique avec la formation des macromolécules, ont été confirmés par le rapport d'humification (RH). La fraction relative, calculée en tant que AF/SH diminue au cours de processus. Cette diminution de la fraction fulvique (AF) est concomitante avec l'augmentation de (RH), indiquant la nature intermédiaire des AF (acides fulviques) à la formation des grosses molécules d'AH (acides humiques).

Tableau 3: Paramètres d'humification durant le co-compostage des mélanges A et B

Mélanges	Stade (Mois)	SH g/Kg*	AH g/Kg*	AF g/Kg*	RH%	IH%	DP%	F AF/SH
A	0	17,28	8,44	8,84	50,23	24,53	95,47	0,51
	6	30,24	18,36	11,88	104,81	63,63	154,54	0,39
B	0	15,12	5,4	9,72	43,07	15,38	55,55	0,64
	6	25,92	13,6	12,32	91,97	48,14	110,38	0,47

*: resultants exprimé par matière fraîche, RH (rapport d'humification) = $SH/C.O.T \times 100$; IH (Indice d'humification) = $AH/C.O.T \times 100$; DP (degré de polymérisation) = $AH/AF \times 100$; SH: Substances humiques; F: Fraction; AH: Acide Humique, AF: Acide fulvique.

4.3. Etude de la composition des éléments majeurs par fluorescence X

Le tableau 4 récapitule les résultats d'analyses obtenus par fluorescence X. Les éléments majeurs présents à différents stades de co-compostage sont exprimés sous forme d'oxydes. Il en ressort que la composition est homogène et les différents échantillons étudiés sont pauvres en aluminium et très riches en silice et en carbonates. Les pourcentages des métaux comme le cuivre, le zinc, le plomb et le chrome sont faibles. Ces résultats confirment bien la texture sableuse de la boue et son faible caractère argileux. Une proportion relativement importante de phosphate et de potasse est présente. La perte au feu est élevée et varie de 55,82 à 56,08 %, signe d'une présence importante de la matière organique.

Tableau 4 : Composition chimique par fluorescence X des échantillons calcinés de différents stades de co-compostage

Eléments	Echantillons calcinés			
	0 mois	1mois	2 mois	6 mois
SiO ₂	17,84	19,30	20,30	19,32
Al ₂ O ₃	5,60	4,72	4,04	4,37
Fe ₂ O ₃	1,05	0,88	0,76	0,80
MgO	2,98	3,36	3,76	3,44
CaO	7,63	6,77	6,17	6,43
Na ₂ O	0,67	0,74	0,77	0,77
K ₂ O	1,33	1,76	1,95	1,92
TiO ₂	0,17	0,13	0,10	0,13
P ₂ O ₅	3,03	2,70	2,36	2,45
SO ₃	2,86	2,61	2,59	2,96
Cl	0,51	0,94	1,22	1,27
Cr ₂ O ₇	0,02	0,02	0,02	0,02
MnO	0,02	0,02	0,02	0,02
ZnO	0,04	0,03	0,03	0,03
CuO	0,01	0,01	0,01	0,01
PbO	0,01	0,01	0,00	0,01
Total minéraux	43,76	43,99	44,10	44,94
Perte au feu	56,13	55,82	54,92	56,08
Total	99,89	99,81	99,02	100,02

4. 4. Analyse minéralogique par DRX

Les analyses DRX de l'échantillon séché à 105°C (Figure 6) montrent la présence de phases amorphes ou mal cristallisées. Néanmoins, nous avons noté des pics dans la zone ($2\theta = 15-25$)

qui caractérisent les fibres de cellulose (cel). Ce polymère linéaire de chaînes de glucose qui, en s'associant par des liaisons hydrogène donnent une forme de cellulose cristallisée. La structure cristalline est caractérisée par une bande large et diffuse dans la zone ($2\theta = 21,3-22,6$) correspondant à la diffraction du plane 002 dans cette zone (Liu et al., 2006).

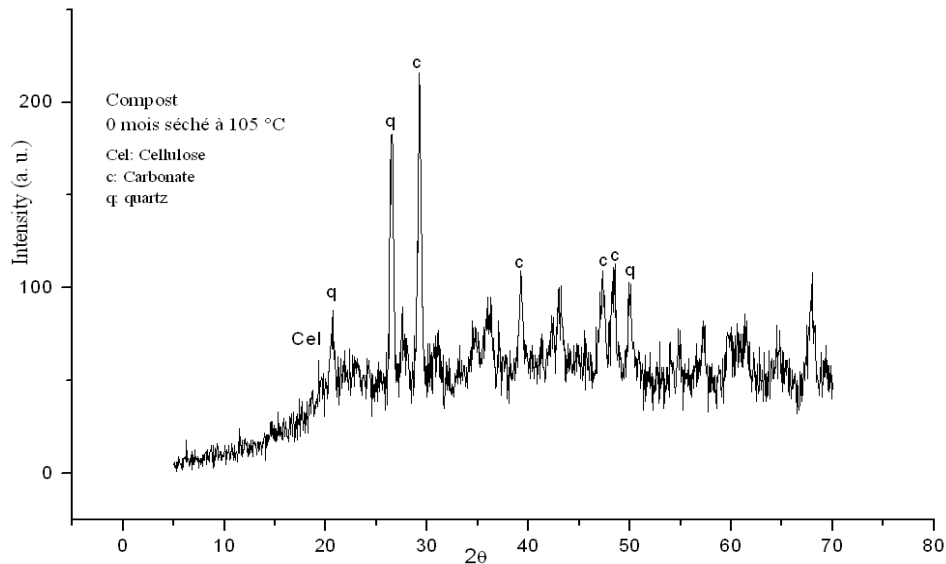


Figure 6: DRX des échantillons de compost séché à 105°C

Les DRX des échantillons traités thermiquement à 105°C et 650°C (Figure 7) présentent la même allure. Néanmoins, on constate la disparition totale du pic caractérisant la cellulose après traitement thermique à 650°C. Ces résultats sont en accord avec les études sur la décomposition thermique de la cellulose qui commence vers 390°C. Bien que cette décomposition varie en fonction du pourcentage de la matière minérale associée, et elle ne dépasse pas 600°C (Méndez et al., 2009).

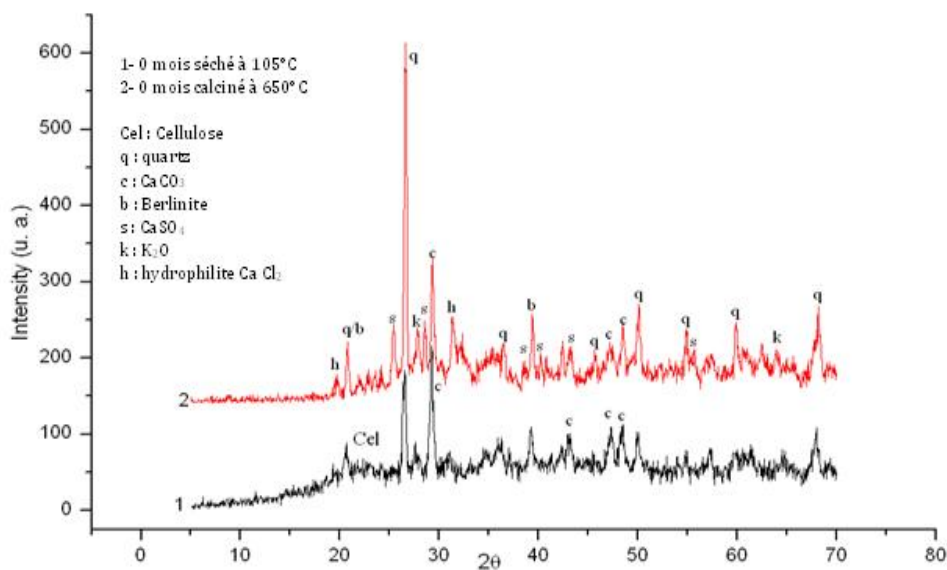


Figure 7: Comparaison des DRX de compost avant et après calcination

Par ailleurs, comparativement au pic du quartz (région $2\theta = 25-30$), les DRX des échantillons calcinés montrent une nette diminution des carbonates qui ne sont pas complètement éliminés à cette température (Figure 7 et 8). D'autre part, les DRX ne montrent pas la formation de nouvelle phase par calcination à 650°C . Les pics résiduels, indexés par rapport à la composition donnée par fluorescence X, montrent que les phases présentes sont la silice, le calcium qui se présente sous forme de carbonate d'hydrophilite (CaCl_2), de sulfate (CaSO_4) et le phosphore qui est probablement sous forme de berlinitite (AlPO_4). Nous considérons que la calcination à 650°C provoque la dégradation de la matière organique contenue dans les échantillons de co-compostage et seule la matière minérale persiste à cette température.

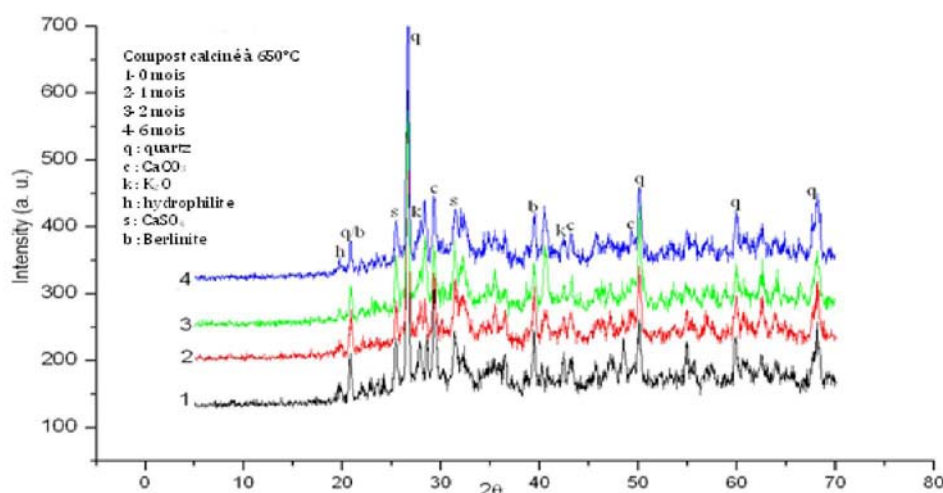


Figure 8: DRX des échantillons de composts calcinés à 650°C

4. 5. Les analyses spectroscopie infra-rouge

La spectroscopie FTIR est largement utilisée comme méthode de base pour la caractérisation des substances organiques issues de l'humification des boues d'épuration (Polak et al., 2007), des traitements des boues d'épuration (Simkovic et al., 2008), et des eaux usées traitées par bioréacteur à membrane (Avella et al., 2010). L'attribution des bandes d'absorption dans la région ($4000-2000\text{ cm}^{-1}$) du spectre FTIR reste assez précise dans le cas de l'étude des substances humiques extraites des sols, des boues, des composts, des sédiments de réservoirs d'épurations et des eaux usées (Polak et al., 2009). En revanche, l'indexation des autres régions du spectre FTIR reste délicate.

Les spectres FTIR présentés sur la figure 9a, 9b (échantillons A0, A1, A2, A6, et les échantillons B0, B1, B2, B6) montrent l'évolution des bandes d'absorption des échantillons de compost. A hautes fréquences, la bande située à 3402 cm^{-1} peut être attribuée à des vibrations d'élongation des groupements hydroxyles O-H. Son profil large et la valeur des nombres d'onde inférieurs à celui des OH libres laissent penser que les hydroxyles sont en interaction par liaisons hydrogène. Dans les boues de grignons d'olives et des sols riches en matière organique, cette bande a été attribuée respectivement à des phénols et à des hydroxyles d'acides carboxyliques (Ait Baddi et al., 2004); à des hydroxyles de phénols et des élongations N-H (Madari et al., 2006). Nos spectres sont en accord avec ces hypothèses, la dissymétrie de la bande permet de pointer deux composantes situées à 3402 cm^{-1} et à 3280 cm^{-1} que nous attribuons respectivement à des groupements OH et N-H. Dans la région $3000-2800\text{ cm}^{-1}$, la diminution des absorbances relatives des bandes situées à 2964, 2922 et 2850 cm^{-1} ($\nu_{\text{C-H}}$ aliphatiques des groupe méthyle et méthylène) et l'augmentation des intensités relatives des bandes situées à 1514 et 1426 cm^{-1} ($\nu_{\text{C=C}}$ insaturés et $\nu_{\text{C=C}}$ aromatiques) reflètent l'état d'avancement de l'humification. La diminution des intensités des bandes des chaînes aliphatiques ($\nu_{\text{C-H}}$ et $\delta_{\text{CH}_2/\text{CH}_3}$ à 1450 cm^{-1}) et l'augmentation des intensités des fonctions C=C sont en faveur d'une dynamique du processus de compostage conduisant à la formation d'édifices insaturés et aromatiques.

L'attribution des bandes d'absorption du spectre FTIR dans la région ($1800-1600\text{ cm}^{-1}$) devient compliquée suite aux chevauchements des bandes de vibration, rattachées à la boue et aux déchets verts des végétaux. Dans le cas des échantillons de compost, les bandes apparaissant vers $1750-1600\text{ cm}^{-1}$ renseignent sur la nature et aussi sur la quantité des fonctions C=O contenue dans la matière organique (Kaiser et Ellerbrock, 2005). Dans leur étude de caractérisation d'acides humiques, Gonzalez-Pérez et al. (2004) ont attribué la bande

située à 1716 cm^{-1} aux vibrations d'élongation $\nu_{\text{C=C}}$ des groupes carboxyles des acides et des cétones. La bande située à 1650 cm^{-1} a été associée par ces auteurs aux vibrations $\nu_{\text{C=C}}$ des structures aromatiques et de la vibration antisymétrique ν_a des COO^- . Dans la même région plusieurs auteurs (Van der Marel et Beutelspacher, 1976; Günzler et Bock, 1990; Kaiser et Ellerbrock, 2005) ont observé des bandes entre 1698 et 1740 cm^{-1} et les attribuent à $\nu_{\text{C=O}}$ d'acides carboxyliques, des cétones et des aldéhydes contenus dans la matière organique extraite des sols. Les bandes attribuées à ν_{COO^-} sont situées entre 1680 – 1630 cm^{-1} dans le cas des acides humiques extraits des boues à différents stades de traitement (Pajaczkowska et al., 2003). Une bande qui apparaît aussi vers 1600 – 1640 cm^{-1} a été attribuée à la fonction $\nu_{\text{C=O}}$ de la forme ionisée du groupement COO^- des acides carboxyliques (Celi et al., 1997). Une autre composante à observées à des nombres d'ondes plus bas (1600 – 1613 cm^{-1}) a été attribuée à la double liaison C=C conjuguée avec C=O des cétones insaturées, acides carboxyliques ou amides (Günzler et Bock, 1990) elle a été attribuée à un groupement N-H selon (Kaiser et Ellerbrock, 2005). L'analyse profonde des références bibliographiques bien qu'abondantes révèle que, dans la région 1750 – 1600 cm^{-1} le nombre d'onde, et par conséquent la position de la bande de vibration, attribuée au groupe C=O , varie de plusieurs dizaines de cm^{-1} d'une référence bibliographique à l'autre. Son attribution à un groupe fonctionnel spécifique (aldéhyde, cétone, ester, acide) devrait se faire avec précaution. En fait, l'humification conduit à la formation d'AH qui sont composés de plusieurs centaines de constituants organiques (González-Pérez et al., 2004) dont la composition dépend des matières premières de départ, de leurs comportement -avant, durant et à la fin du processus- et des conditions d'humification. La différence des fréquences observées montre que le mouvement de vibration de l'oscillateur C=O , dépend de façon très sensible de l'environnement du carbone porteur d'autres groupements, en particulier, l'électronégativité des autres atomes qui assurent sa tétravalence ainsi que l'effet mésomère des autres liaisons adjacentes. Afin de caractériser avec précision cette fonction, il est alors indispensable d'analyser d'autres régions du spectre FTIR et chercher d'autres bandes caractéristiques qui renseignent sur l'environnement du carbone porteur de la fonction carbonyle. Il serait plus prudent, d'attribuer les bandes qui apparaissent dans la région 1750 – 1700 cm^{-1} à des élongations $\nu_{\text{C=O}}$ de la fonction carboxyle sous sa forme non ionisée et celles qui apparaissent vers 1650 cm^{-1} à $\nu_{\text{C=O}}$ de la fonction carboxyle ionisée (COO^-). Il s'en suit qu'il est plus probable que les bandes situées à plus basse fréquences (région 1630 – 1600 cm^{-1}) soient caractéristiques des liaisons C=C conjuguées

avec un groupe carbonyle (cas des cétones insaturées, et composés aromatiques) plutôt qu'à un groupement carboxyle C=O même à l'état ionisé.

Nous attribuons la bande située à 1737 cm^{-1} à $\nu_{\text{C=O}}$ de la fonction carboxyle sous sa forme non ionisée qu'on retrouve dans les acides carboxyliques, les aldéhydes, les esters. La faible intensité relative de cette bande sur les spectres de la boue et celui des échantillons A0 et B0 du début de compostage est en accord avec une diminution de la forme non ionisée. Au cours du compostage, bien que l'intensité de la bande ($\nu_{\text{C=O}}$ de la fonction COO^- ionisée à 1647 cm^{-1}) augmente, un épaulement large vers 1740 cm^{-1} persiste. Cet épaulement évolue même sensiblement en intensité au cours du compostage et montre bien la présence d'une forme de carboxyle non ionisée. Nos spectres indiquent, qu'en parallèle, il se produit une augmentation de l'intensité de la bande située vers 1155 cm^{-1} que nous attribuons aux vibrations $\nu_{\text{C-O}}$. L'évolution en intensité des bandes observées respectivement vers 1740 et 1155 cm^{-1} témoignent d'une part de la présence d'une fonction carboxyle et d'autre part, que celle-ci est probablement caractéristique d'une forme d'ester.

Dans la région $1386\text{-}1375\text{ cm}^{-1}$, nous avons relevé l'apparition d'une bande qui évolue sensiblement en intensité et en structure (passage d'une bande large à une bande fine en fin du co-compostage). L'évolution du profil de cette bande peut être expliquée par la formation continue d'une forme bien structurée. Nous l'attribuons à une vibration de déformation δOH comme dans les alcools aromatiques (Senesi et al., 2003).

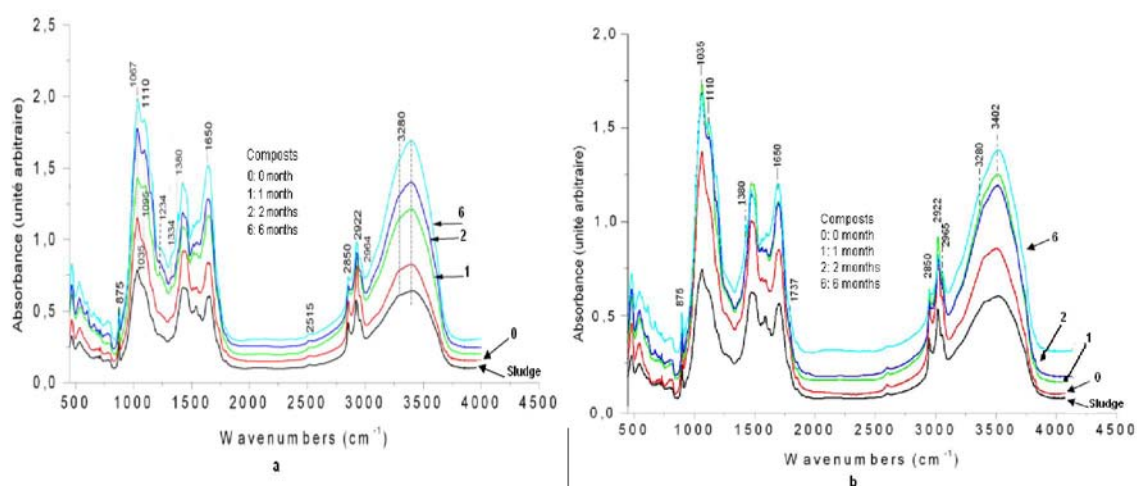


Figure 9: Les spectres FTIR à différents stades du co-compostage pour les deux mélanges A (a) et B (b)

4. 6. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) des échantillons calcinés

Les spectres FTIR des échantillons calcinés (Figure 10), ne montrent pas de bandes dans la région 3600-3700 cm^{-1} caractérisant des phases phyllosilicatées comme les kaolins, l'illite et les micas. Ces résultats sont en accord avec les analyses de DRX qui ne montrent pas de pic aux faibles valeurs de θ , et les données de fluorescence X qui révèlent un rapport de silice/alumine en faveur d'une composition riche en phases silicatées.

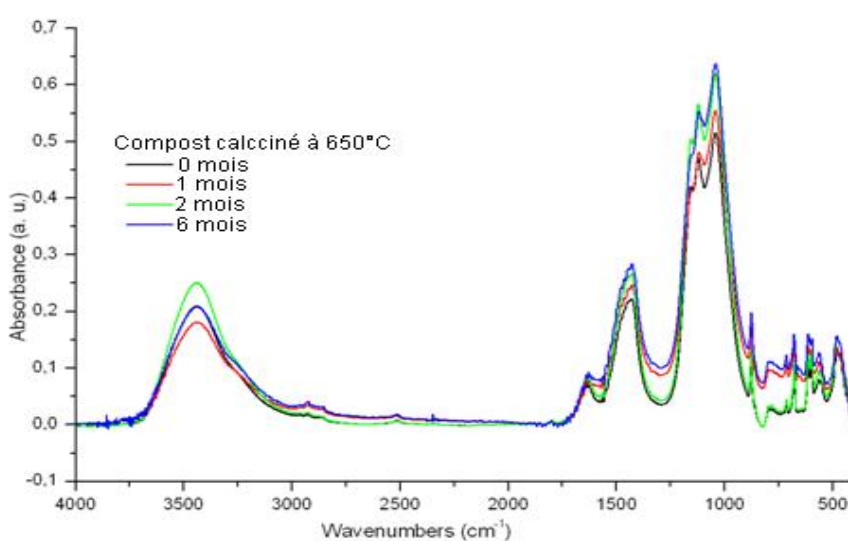


Figure 10 : Spectres FTIR des échantillons de composts calcinés à 650°C

Le traitement thermique provoque des changements significatifs à la fois des intensités et des positions des bandes d'absorption. Comparativement au spectre de l'échantillon séché à 105°C (Figure 11), les spectres FTIR des échantillons calcinés à 650°C présentent :

- Une diminution de l'intensité des bandes caractéristiques des vibrations O-H situées vers 3406 cm^{-1} et 3280 cm^{-1} .

- La disparition totale de l'épaulement situé à 1236 cm^{-1} et les bandes caractéristiques des C-H aliphatiques relevées entre 3000 et 2800 cm^{-1} . Cette disparition est en accord avec l'élimination/dégradation de la matière organique par pyrolyse.

- Une diminution des intensités des bandes situées à 2535, 1795, 1435 et 875 cm^{-1} . Ces fréquences sont typiquement caractéristiques de la calcite (Fernández et al., 2010). La

persistance de certains épaulements, à 650°C, montre qu'à cette température, les carbonates ne sont pas totalement dégradés.

- la persistance des trois bandes intenses, situées dans la région 1155-1035 cm^{-1} , caractéristiques de la silice.

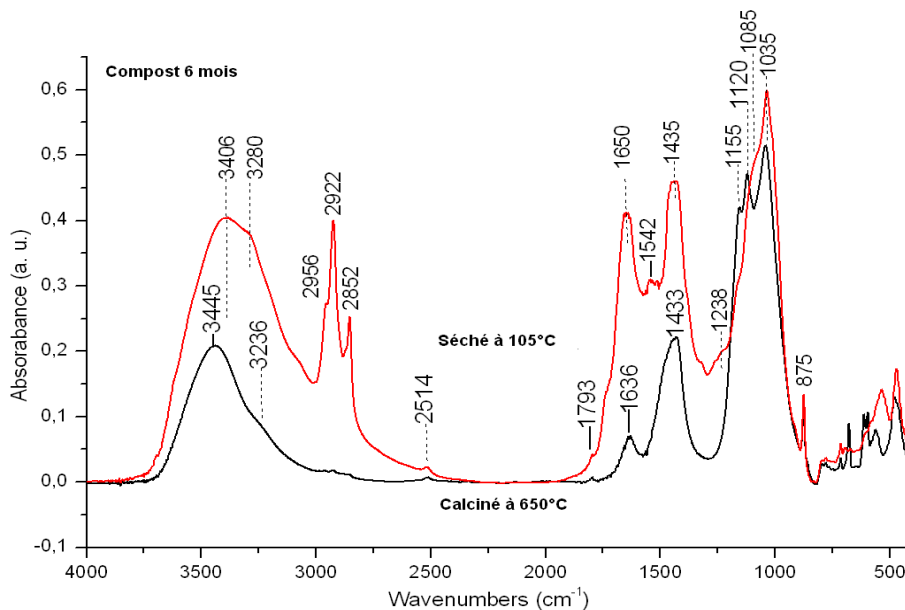


Figure 11 : Comparaison des spectres FTIR de compost avant et après calcination

Les résultats de nos spectres IR montrent que la calcination des échantillons provoque d'une part la disparition totale de certaines bandes. Dans ce cas, on suppose que le traitement thermique élimine les phases rattachées à ces bandes. D'autre part, le traitement provoque la diminution de l'intensité de certaines bandes mais qui restent centrées sur les mêmes nombres d'ondes, alors que d'autres bandes diminuent nettement d'intensité et subissent en plus un glissement. Les bandes à 3406, 3280 et 1650 cm^{-1} glissent respectivement vers 3445, 3236 et 1636 cm^{-1} ; et la bande à 1085 cm^{-1} glisse vers 1120 cm^{-1} .

Ces modifications relevées sur le spectre FTIR montrent que les changements thermiques induits dans une matrice qui contient la matière organique sont complexes. Ils sont commandés par les constituants de la matrice, de ses propriétés thermiques, de la période et le taux de chauffage, de la température, des conditions tels que le taux de chauffage, sa durée, la disponibilité en oxygène aux quels s'ajoute le taux d'hydratation de l'échantillon lors du refroidissement. Des études menées pour déterminer les conditions qui conduisent à la

dégradation spécifique des constituants organiques sont apparus récemment mais les phénomènes qui se déroulent au cours de la calcination sont encore controversés. Fernandez et al. (2001), ont montré que le chauffage de la fraction humique extraite de deux sols différents à 220°C pendant 30 minutes, conduit à une perte de 75% d'holocellulose et la fraction lipidique présente une résistance thermique qui dépend de la nature du deux sols, avec une perte de 73% dans le premier cas, et seulement de 11% dans l'autre cas. Cependant à 350°C, l'holocellulose disparaît pratiquement et la perte de la lignine est significative. Selon une autre étude, le chauffage à 225°C pendant 5 heures conduit à un abaissement de 13% des substances organiques (Simkovic et al., 2008). La pyrolyse lente utilisée dans la gazéification du bois et qui consiste à un traitement thermique pendant deux heures montre qu'à partir de 450°C, il se produit la dégradation des celluloses et de la lignine. Le résidu restant est composé essentiellement de coke et de matière minérale (Nowakowski et Jones, 2008). Une étude thermogravimétrique récente (Gao et al., 2014) montrent qu'entre 276 et 454 ° C, il se produit non seulement la décomposition des protéines et des groupes carboxyle, mais aussi le craquage du carbone réfractaire comme celui des noyaux aromatiques, et les structures N-alkyle à longue chaîne et des chaînes aliphatiques saturées (Haberhauer et al., 1998; Gao et al., 2014). Dans la plage de température de 492 à 720°C, la perte en masse constatée a été attribuée à la décomposition des matières inorganiques telles que le carbonate de calcium (Casajus et al., 2009). Cependant, les études réalisées par Frías et al. (2008) montrent que la calcination à 650° C pendant 2 h conduit à la destruction totale de fibres organiques et à une faible décarbonatation de la calcite. Ceci montre que le chauffage à 650°C pendant 5 heures, constitue des conditions idéales pour dégrader toute la matière organique. L'analyse de nos spectres FTIR est basée sur l'hypothèse que les bandes résiduelles sur le spectre caractérisent uniquement la matrice minérale.

Sur les spectres FTIR de l'échantillon séché à 105°C, la dissymétrie de la bande (dans la région 3500-3280), nous permet de pointer deux composantes centrées sur 3406 cm⁻¹ et à 3280 cm⁻¹ qui par pyrolyse leurs intensités diminuent et glissent respectivement vers 3445 et 3236 cm⁻¹; et une bande de faible intensité persiste à 1636 cm⁻¹ après calcination. Des bandes semblables ont été relevées à 3443 et 1632 cm⁻¹ sur le spectre FTIR lors de la pyrolyse des boues de papier, et ont été attribuées respectivement aux vibrations d'élongation d'hydroxyles de l'eau $\nu(\text{O-H})$ et à sa déformation ($\delta(\text{H-O-H})$) (Fernández et al., 2010). Par ailleurs, les molécules d'eau rencontrées dans d'autres environnements restreints affichent également des bandes dans des positions similaires; smectites hydratés à 3450, et 3350 cm⁻¹ (Bishop et al., 1994); l'eau dans H₂O/AOT/i-octane micelles à: 3455, et 3290 (Jain et al., 1989); l'eau dans

les polymères tels que le chlorure de polyvinyle et le polyéthylène tétraphtalate à : 3510, et 3380 cm^{-1} (Sammon et al., 1998).

Sur nos spectres FTIR le glissement, de la bande située à 3406 vers 3445 cm^{-1} après pyrolyse à 650°C, trouve son explication selon les travaux de Clegg et al., 2012 qui ont montré un phénomène de réhydratation à l'air ou en atmosphère contrôlée lors du refroidissement des échantillons des argiles préalablement calcinés à 500°C. Ces auteurs constatent que le matériau issu de la pyrolyse se réhydrate. Les bandes situées à 3430 cm^{-1} et 3260 cm^{-1} relevées sur le spectre de l'échantillon de départ disparaissent quasi-totalement vers 400°C. Le phénomène de réhydratation survient ensuite lors du refroidissement de l'échantillon donnant lieu à l'apparition d'une bande centrée sur 3450 cm^{-1} avec un nombre d'onde plus élevé que celui de la bande de départ (3430 cm^{-1}). L'autre bande apparaît au même nombre d'onde que l'échantillon de départ 3260 cm^{-1} , est affectée à des molécules d'eau qui s'associent aux phases issues du traitement thermique.

Il se dégage que le comportement des hydroxyles avant et après calcination de nos échantillons est analogue aux hydroxyles rencontrés dans les principaux minéraux impliqués dans la transformation chimique et minéralogique des phases hydratées lors de leurs calcinations. Dans l'hypothèse où la fonction potentielle décrivant ces molécules d'eau est similaire, nous attribuons la bande relevée à 3406 cm^{-1} sur le spectre FTIR des échantillons séchés à 105°C aux vibrations d'élongations $\nu_{\text{O-H}}$ d'hydroxyles de l'eau. Une composante masquée par les bandes de la matière organique contenue dans l'échantillon séché et qui est mise en évidence à 1636 sur le spectre de l'échantillon calciné pourrait être attribuée au mode de déformation ($\delta_{\text{(H-O-H)}}$). Quant à la composante située à 3280 cm^{-1} sur le spectre de l'échantillon séché, et qui glisse après calcination vers 3236 cm^{-1} , elle est probablement due à un mode de combinaison de la déformation ($\delta_{\text{(H-O-H)}}$) située vers 1636 cm^{-1} .

Dans la région 1200-1000 cm^{-1} , nous avons relevé un massif mal résolu constitué de deux bandes situées à 1155 et 1080 et 1035 cm^{-1} qu'on retrouve à 1150 et 1120 et 1037 cm^{-1} après calcination. Des bandes similaires ont été observées à 1150 et 1080 cm^{-1} dans le cas de la silice amorphe (Fernández et al., 2010). Il est vraisemblable que le traitement thermique, favorise la cristallisation de la silice amorphe qui se traduit par l'apparition des bandes bien résolues centrées sur des fréquences sensiblement identiques que celles rencontrées sur le spectre FTIR du quartz (Fernandez et al., 2001). Ces données sont en accord avec les résultats de la composition obtenue par fluorescence XRF qui montrent l'existence d'une phase minérale relativement importante qui a un caractère silicaté. Les spectres FTIR sont, en outre, en accord avec les diagrammes de DRX qui montrent une meilleure cristallisation après

pyrolyse. La bande située à 1035 cm^{-1} (localisée à 1037 cm^{-1} après calcination) insensible à la pyrolyse peut être attribuée aux vibrations Si-O de la silice contenue dans l'échantillon. La présence des bandes semblables dans cette région du spectre IR est très courante dans le spectre IR du sol entier qui n'a pas fait l'objet d'un procédé d'extraction spécifique (Haberhauer et al., 1998; Ellerbrock et al., 2005). Même purifiés, après extraction des AH, il subsiste toujours une fraction minérale (6,35% Ash) (Olk et al., 1999; González-Pérez et al., 2004). Le glissement de la bande située à 1080 cm^{-1} sur le spectre IR de l'échantillon séché vers 1120 cm^{-1} après pyrolyse est du probablement à une interaction de la silice avec la matière organique dégradée donnant une sorte de complexe stable dans ces condition thermique.

4.7. Analyse des teneurs des métaux lourds totaux

Les ETM totaux suivants, Pb, Cd, Cr ont été analysés à différents stades du co-compostage de boue-déchets de palmier. Au cours du co-compostage, la teneur totale en éléments traces métalliques (ETM) change. Le Pb diminue vers la fin de co-compostage et passe de 123,9 à 80,1 mg/kg et de 136 à 127,5 mg/kg et Cd diminue de 1,4 à 0,84 mg / kg et de 1,25 à 1mg/kg, respectivement, pour le mélange A et B (Figure 12a, 12b). Cette diminution est essentiellement constaté durant de la phase thermophile peut être le résultat de la lixiviation de ces métaux par l'eau produite lors de la dégradation de la matière organique et par lessivage lors de l'arrosage des andains. D'autre part, les changements dans les caractéristiques physico-chimiques tels que le pH, CEC, NH_4^+ , NO_3^- influence la solubilisation du ETM (Hooda et Alloway, 1993; Amir, 2005). Paré et al. (1999), ont montré que la baisse du taux total des ETM et le taux de certaines de ses formes est nécessairement liée à une décomposition de matières organiques au cours de la phase thermophile. Comme cette diminution peut être liée à l'effet de la fraction minérale du compost, les analyses de diffraction RX a montré que le compost est riche en carbonate ce qui peut contribuer à la précipitation du ETM. Singh et al. (2004), ont montré que les ETM précipitent et deviennent immobiles en présence des carbonates. Businelli et al. (1996) ont montré que la concentration de plomb dans le sol diminue lorsque les SO_4^{2-} et PO_4^{3-} augmentent. En général, les ETM sont immobilisés par la matière organique (Businelli et al., 1996). Le phénomène d'adsorption de la matrice organique peut intervenir pour diminuer la concentration des ETM. L'humus formé au cours de la phase de maturation, peut jouer un rôle important en tant qu'agent chélateur des ETM, ce qui peut diluer le contenu de ces ETM, le même phénomène a été démontré pour les HAP par (Hafidi et al., 2008.); une partie de ces ETM peut être incorporé dans les tissus

microbiens. La teneur en Chrome (Cr) a augmenté vers la fin du processus de co-compostage. Néanmoins cette valeur de Cr ne dépasse pas les normes d'utilisation de boues. A la lumière de ces données, les teneurs totales en métaux lourds (Pb, Cd et Cr) dans le compost final est inférieure à celle de la boue activée toute seule, en raison de l'effet de dilution de déchets du palmier. Après 6 mois de co-compostage de déchets de boues activées-déchets de palmier, les teneurs en ETM répondent aux normes d'utilisation (AFNOR, 1993) et nos composts sont classés dans la catégorie A. Par conséquent, ils peuvent être utilisés dans l'agriculture comme amendement pour les sols sans risque de contamination du système sol-plante.

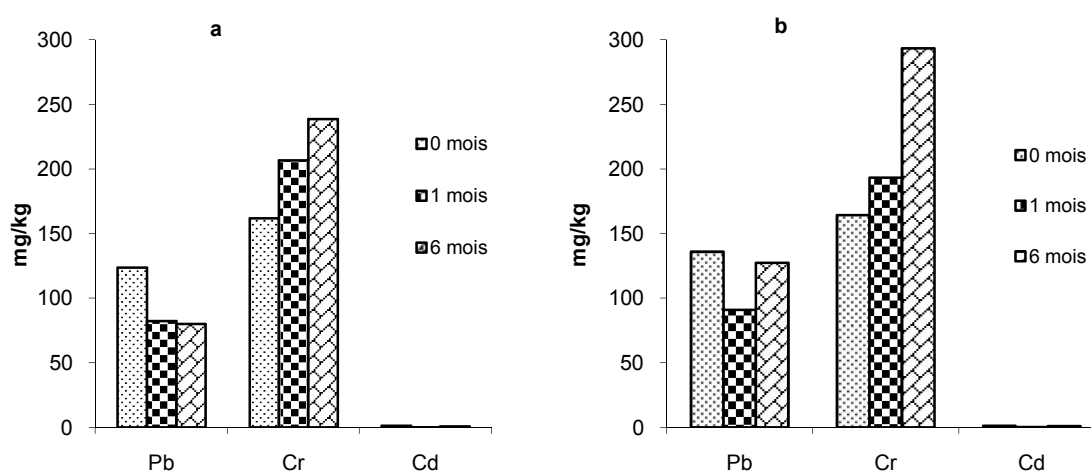


Figure 12: La teneur totale en métaux (Pb, Cr, Cd) pendant le processus de co-compostage des mélanges A(a), et B (b)

5. Analyses statistiques

Les résultats de l'ACP appliqué entre les paramètres physico-chimiques lors du co-compostage pour la quasi-totalité des informations ou de la variabilité (la perte de l'information suite à la simplification par la réduction du nombre de facteurs ou de composants qui est très faible). La première composante, (PC 1) explique 73,95%; 76,54% et le second composant (PC 2) explique 23,96%; 21,45% de la variabilité entre les profils des paramètres physico-chimiques, respectivement pour le mélange A et B. La projection sur le plan de ces variables pour les deux mélanges, en termes, de deux composants principaux (I et II) (Figure 13a, 13b), montre l'affinité de variables selon chaque axe d'ACP. Les tracés des composantes principales sont divisés en deux domaines inversement corrélés. Le premier

représente les paramètres (C/N, COT, $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$) qui sont positivement corrélés. Le deuxième domaine regroupe les paramètres (taux décomposition (DEC), teneur en cendres (Ash), le pH et NTK), qui ont tendance à augmenter vers la fin de co-compostage. Ces résultats expliquent clairement la relation entre ces différents paramètres physico-chimiques lors du co-compostage.

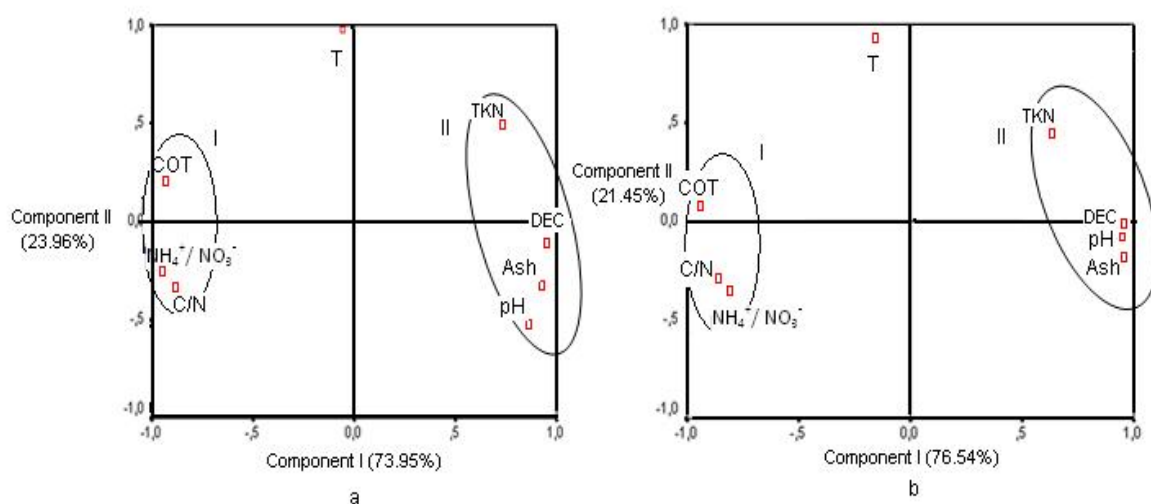


Figure 13: Diagramme de composante principale (ACP) des paramètres physico-chimiques des mélanges A (a), et B (b)

6. Conclusion

La biotransformation de substrats organiques de boues activées de la station d'épuration des eaux usées (Marrakech) mélangées avec les déchets ligno-cellulosiques (palmier dattier), par le biais de la filière de co-compostage selon deux proportions: mélange A: (1/3 boues + 2/3 déchets de palmier) et le mélange B: (1/2 boues + 1/2 déchets de palmier) a été évaluée par différentes analyses physico-chimiques et spectroscopiques. Après six mois de co-compostage, les composts finaux présentent un rapport C/N autour de 10, un rapport $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^- < 1$ et un pH voisin de la neutralité. Le taux de décomposition de substrat de compostage est de l'ordre de 40,7% et 40 %, respectivement pour le mélange A et B. Cette biotransformation est le résultat d'une activité microbienne intense qui a abouti à une élévation de température d'environ 65°C pendant la phase thermophile, ce qui permet d'hygiéniser le compost en éliminant les micro-organismes pathogènes.

Les analyses spectroscopie FTIR révèlent une réduction relativement importante des structures aliphatiques, caractérisées par les bandes 2964, 2922, et 2850 cm^{-1} par rapport à des structures aromatiques 1514, 1426, et 1386 cm^{-1} qui ont enrichi le compost. La diminution des

composés aliphatiques est en fonction de l'augmentation du degré de polymérisation (C_{AH}/C_{AF}) qui explique l'aromatisation des acides humiques, et reflètent l'évolution du processus d'humification avec une augmentation de l'ordre de 60% des substance humiques, et une augmentation de degré de polymérisation de 62% et 99% respectivement pour le mélange A et B. Les DRX obtenus présentent une série de pics de diffraction bien définis qui correspondent à des phases solides majoritairement bien cristallisées, et un bruit de fond dont la forme indique la présence de phases mal cristallisées. La matrice minérale contenue dans les échantillons est majoritairement composée de silice, et de calcite, avec présence également de quartz et de muscovite. Ce résultat montre aussi que les échantillons prélevés à différents stades de co-compostage semblent présenter une composition minérale très proche. L'analyse par spectrométrie FTIR montre que la région 3500-3280 cm^{-1} est essentiellement caractéristique des molécules d'eau. La contribution de la matrice minérale au spectre IR du co-compost, par les bandes, intenses, larges et mal résolues, apparaissant dans cette région masque l'empreinte de la matière organique. Néanmoins, cette région est indicatrice de la matière organique susceptible d'interagir avec les molécules d'eau provoquant ainsi les déplacements des ν_{OH} caractéristiques de ces molécules. Elle indique aussi le caractère hydrophile de la matière organique. Cette région 3500-3280 cm^{-1} peut renseigner sur les interactions entre la matière organique et les molécules d'eau mais ne peut fournir que des informations très limitées sur la composition de la matière organique contenue dans le compost. Quant à la région 1200-1000 cm^{-1} , elle caractérise en particulier la silice apportée par la boue. La bande fine et intense située à 1035 cm^{-1} attribuée au mode Si-O. Avec un coefficient d'extinction molaire important, cette bande fine relativement intense (1035 cm^{-1}) est souvent relevée sur les spectres FTIR. Son profil et sa position insensible au traitement thermique sont en faveur de son utilisation comme référence interne pour des études semi-quantitatives lors de l'évolution de la matière organique lors du co-compostage.

L'ensemble des analyses confirment la stabilité, la maturité et l'hygiénisation des composts finaux, ainsi que leur innocuité en termes d'ETM totaux, ce qui ouvre la voie à leur épandage agricole.

En raison, de l'intérêt de la composition des substrats initiaux (déchets du palmier et boues) et /ou des composés organiques qui résultent de l'activité microbienne et leurs impacts sur l'évolution du processus du co-compostage et sur la qualité des composts finaux, il nous paraît indispensable, d'identifier et suivre le devenir de ces composés au cours du co-compostage, en particulier, la fraction lipidique, les composés ligneux et les stéroïdes.

Chapitre 2: Evolution des esters méthyliques d'acides gras (FAMES) au cours du co-compostage

1. Introduction

La biodégradation de la matière organique par les microorganismes est le pilier de la transformation des déchets organiques au cours du compostage. La biomasse microbienne peut être évaluée par les méthodes de dénombrement, de dosage d'ATP, de mesure d'activité enzymatique, et de méthode physiologique (Mathur et al., 1993). L'utilisation des biomarqueurs pour suivre l'évolution des microorganismes au cours du compostage est une approche qui permet de traduire un signal biochimique spécifique d'une origine ou d'un processus d'évolution physico-chimique ou biologique (Vivas et al., 2009). L'analyse des lipides (acides gras) reste une méthode fiable pour déterminer indirectement, sans la mise en cultures des microorganismes, des communautés microbiennes durant les différentes phases de compostage (Dinel, 1996, Steger, 2003). Deux approches peuvent être utilisées pour évaluer les lipides microbiens: les analyses des phospholipides acides gras (PLFAs) et des esters méthyliques d'acides gras (FAMES) (Steger, 2003). La majorité des études se sont basées sur les analyses des phospholipides (PLFAs) (Forstegard et Baath, 1996; Steger, 2003; Barje et al., 2008; Hachicha et al., 2009, Amir et al., 2010). L'approche de détermination des acides gras par la pyrolyse en présence d'hydroxyde de tétraméthylammonium couplée à la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse (TMAH-Py-GC-MS) est utilisée pour donner plus de détails structuraux à partir de faibles quantités d'échantillons. De nombreux auteurs (Poerschmann, 2007; Fukushima, 2009; 2011 ; Fujisawa, 2012), ont utilisé cette méthode pour la détermination des structures des substances humiques des composts. De même, Grasset et al. (2002), ont utilisé la même technique pour la détection des composés polaires à chaînes longues comme les acides gras. L'analyse des FAMES totaux semble apporter davantage de précision sur la spéciation des lipides. Les FAMES indiquent la composition des dérivés à la fois des cellules vivantes et les cellules mortes, et de toutes les catégories de formes de vie. Par conséquent, cette méthode ne donne pas de discrimination entre les acides gras provenant de lipides membranaires (PLFAs) et les lipides de stockage, les lipides neutres (NLFA). Le contenu et la composition de la membrane des cellules bactériennes (PLFA) vivantes est relativement constant sur une large gamme en fonction des conditions; et les NLFAs sont rapidement dégradés après la mort de la cellule (White, 1979; Vestal, 1989; Amir et al., 2008). L'approche d'analyses des FAMES peut apporter davantage

d'indications que les PLFAs. D'ailleurs, il a été démontré par Klamer et Baath (2004), que les lipides de réserve semblent plus sensibles aux variations du milieu (conditions de croissances et le rapport C/N) par rapport les PLFAs. Baath (2003), a montré que l'ajout d'un substrat riche en carbone dans le sol peut augmenter 10 fois les lipides de réserve fongiques, après quelques jours d'incubation, sans changer la teneur en phospholipides.

L'objectif de ce chapitre est de suivre l'évolution des acides gras sous forme d'esters méthyliques par TMAH-Py-GC-MS, afin de déterminer chaque groupe des communautés microbiennes (bactéries, champignons...etc) et leur évolution au cours du co-compostage de boues de STEP-déchets du palmier.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Extraction des lipides totaux

Les lipides sont extraits par un mélange de solvants dichlorométhane/méthanol ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$) (2:1 v/v) avec un extracteur automatique (speed extractor, Buchi). 5g d'échantillon lyophilisé sont placés dans une cellule chauffée à 80°C, pendant 5 min, l'extraction s'effectue en contact avec le solvant sous une pression d'azote de 50 bars. Trois cycles d'extraction ont été réalisés. A l'issue des 3 cycles d'extraction, les phases organiques sont recombinaées et le solvant est évaporé sous vide (20 mmHg) à l'aide d'un rotavapor Buchi. La quantité de lipides extraite est exprimée en ppm (mg de lipides par kg de compost lyophilisé).

2.2. Thermochimie analytique (TMAH-Py-GC-MS)

L'échantillon lyophilisé et broyé (0,5 mg) est placé dans une cupule en inox en présence d'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAH, 4 μ l) en solution dans le méthanol (50/50 v/v), la pyrolyse est réalisée à 600°C pendant une minute (source : 220°C, l'interface : 280°C, rapport de division 100/1). Un courant d'Hélium (débit constant : 1ml/min, pression en fonction de température) entraîne les produits de pyrolyse vers le chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse.

La pyrolyse des composts en présence d'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAH) permet d'observer les acides gras sous forme méthylée. Ils sont ainsi beaucoup mieux détectés que sous leurs formes initiales. En effet, cette dérivation in situ permet d'augmenter la volatilité des produits de pyrolyse en diminuant leur polarité. De plus, l'accélération du transfert des produits à la colonne du chromatographe limite la possibilité de dégradation thermique (Ribechini et al., 2011). Les esters méthyliques ont un coefficient de réponse

supérieur à celui des acides gras du fait de la grande stabilité des fragments formés en spectrométrie de masse. La pyrolyse est effectuée à l'aide d'un pyrolyseur Frontier Lab (EGA PY 3030D), équipé d'un passeur d'échantillons. Le pyrolyseur est couplé à un chromatographe en phase gazeuse et à un spectromètre de masse quadrupolaire (ionisation par impact électronique 70 eV) Shimadzu (GCMS QP2010 Ultra). Le pyrolyseur est constitué d'un micro-four en céramique directement relié à l'injecteur du GC/MS. La séparation des composés en GC est réalisée sur une BPX (SGE) colonne capillaire (30 m de long, 0,25 mm de diamètre, 0,25 microns d'épaisseur de phase). La température de la colonne est programmée de 60 à 300° C à 5° C. min⁻¹ et maintenu à 300° C pendant 30 min. Les pyrogrammes sont exploités à l'aide du logiciel GC-MS solution Shimadzu. Les composés ont été identifiés sur la base de leur temps de rétention en GC et par comparaison de leurs spectres de masse avec les normes et les données de la littérature.

L'abondance relative P_i de chaque produit de thermochimolyse a été calculée à partir du rapport entre l'aire de pic de chaque produit par rapport à la somme de tous les pic identifiés dans le pyrogramme (Ayuso, 1996 ; Amir et al., 2010):

$$P_i = \frac{a_i}{\sum_1^n a_i}$$

2.3. Analyses statistiques

L'évolution de FAMES au cours de co-compostage a été étudiée en appliquant l'analyse en composantes principales (ACP) et la méthode de classification (hiérarchique) cluster. L'ACP a été appliquée sur la matrice de corrélation entre les variables FAMES. Les traitements statistiques ont été réalisés grâce au logiciel SPSS win version 10.

3. Résultats et Discussion

3.1. Evolution des lipides totaux

Le niveau des lipides extraits au cours du co-compostage montre une diminution significative avec un taux d'abattement de l'ordre de 43% pour les deux mélanges A et B, après six mois de co-compostage (Tableau 1). Cette diminution est en accord avec plusieurs travaux sur le compostage (Ait Baddi et al., 2004; Cunha-Queda et al., 2007; Abouelwafa et al., 2008; Barje et al., 2008). Cette dégradation est le résultat de l'oxydation microbienne des composés lipidiques. L'action des microorganismes s'exerce sur des formes variables de lipides et diverses substances voisines caractéristiques des tissus de protection des végétaux supérieurs

(cires, cutine et subérine). L'hydrolyse des acides gras est déterminée dans des milieux bien aérés, assez humides où les conditions sont favorables aux microorganismes variés (bactéries, actinomycètes, et champignons) spécifiquement pendant la phase thermophile (Gea et al., 2007). Différents travaux (Saviozzi et al., 1987; Dinél et al., 1996 ; Ait Baddi et al., 2004 ; Cunha-Queda et al., 2007) ont montré que la stabilité et la maturité des substrats sont liées à la concentration des lipides dans le milieu. Golod (1968), a montré que les lipides affectent les propriétés physiques du substrat. Ait Baddi et al. (2004), ont montré une corrélation entre l'augmentation de l'indice de germination et l'abattement des phénols et des lipides.

Tableau 1: Evolution des lipides totaux au cours du co-compostage des mélanges A et B

Mélanges	Stade initial (mg/kg)	Stade final (mg/kg)
A	87713	50573
B	74960	42146
Taux d'abattement	43%	

3. 2. Identification et suivi des FAMES par TMAH-Py-GC-MS, au cours du co-compostage

3.2.1. Evolution de FAMES

Les pyrogrammes (Figure 1) montrent une diversité importante des échantillons de compost de boues-déchets de palmier à différents stades, en termes de teneurs relatives des FAMES. D'après l'analyse par le logiciel «GC-MS Solution Shimadzu» des chromatogrammes Total Ionic Current (TIC) et Single Ion Monitoring (SIM M/Z = 74 ion), nous avons pu identifier les différents types des FAMES suivant (C6:0; C12:0; C14:0; C15:0; *i*(iso) C15:0; *a*(anteiso); C15:0; C16:0; *a*C16:0; C17:0; *i*C17:0; *a*C17:0; C18:0; C18:1 ω 9c; C18:1 ω 7c; C20:0; C22:0; C23:0, C24:0 et C26:0) avec leur temps de rétention et leurs abondances relatives (Tableau 2a, 2b). Il en ressort une identification de différentes familles de FAMES parmi lesquelles les acides gras saturés, insaturés, branchés iso et anteiso et dont le comportement est tributaire des phases de co-compostage (phase de stabilisation et phase de maturation) et les conditions du milieu (températures et l'activité des microorganismes, principalement des bactéries et des champignons). D'après la littérature en matière du compostage (Hellman et al., 1997, Baath, 2003) les acides gras saturés peuvent provenir d'origine végétale, animal et/ou bactérienne ; dans notre cas de co-compostage les FAMES C6:0; C12:0, C14:0; C16:0; C18:0; C20:0; C22:0; C23:0; C24:0; C26:0; sont d'origine non spécifique peuvent être d'origine végétale, animale, comme d'origine bactérienne. Les FAMES C15 :0 et C17 :0 sont d'origine

bactérienne non spécifique ; et les FAMES branchés iso, antieso i,C15:0 ; a,C15:0 ; a,C16:0 ; i,C17:0 ; a,C17:0 ; sont d'origine bactérienne principalement Gram-positif (Steger et al., 2003, Amir et al., 2010), tandis que les FAMES C15:0, C17:0 sont des indicateurs des bactéries non spécifiques, et les insaturés en C18:1 sont d'origine des bactéries spécifiquement des Gram-négatif (Bastida et al., 2008; Venkata-Ramana et al., 2010).

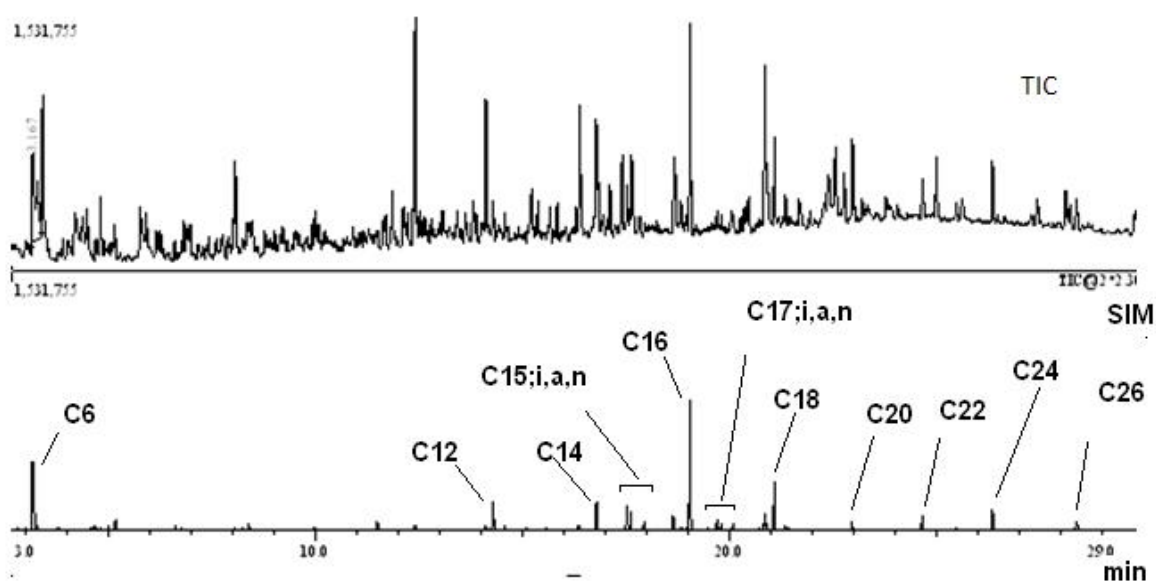


Figure 1: Pyrogramme TIC et SIM (Single Ion Monitoring) $m/z= 74$ du stade initial du co-compostage

Tableau 2a : Abondance relative (%) des acides gras au cours de co-compostage du mélange A déterminée par TMAH-Py-GC-MS

Type de FAME	FAME	RT (min)	Temps de co-compostage (mois)				
			0	1	2	3	6
			Phase thermophile		Phase maturation		
Saturés (carbone pair)	C6:0	3,17	16,68	12,05	13,22	10,38	7,29
	C12:0	14,3	3,47	3,73	4,41	4,43	2,49
	C14:0	16,8	23,17	17,24	20,18	11,9	7,91
	C16:0	19,06	15,9	22,23	23,33	27,75	40,51
	C18:0	21,09	6	12,06	8,55	14,5	13,03
	C20:0	22,98	2,41	2,26	1,57	2,69	2,87
	C22:0	24,67	2,21	2,85	2,5	3,11	2,34

	C23:0	25,49	0,5	0,74	0,63	0,67	0,4
	C24:0	26,36	3,41	3,58	3,36	3,71	3,47
	C26:0	28,4	2,05	1,8	1,75	2,16	1,39
Branchés	<i>i</i> C15:0	17,53	2,93	3,11	3,25	2,45	1,59
	<i>a</i> C15:0	17,63	4,88	2	1,74	0,97	0,44
	<i>a</i> C16:0	19,05	5,53	3,55	3,66	4,02	6,15
	<i>i</i> C17:0	19,71	1,26	1,18	1,01	0,75	0,3
	<i>a</i> C17:0	19,81	0,95	0,83	0,72	0,57	0,27
Saturés (carbone impair)	C15:0	17,95	1,09	1,07	0,99	0,97	0,79
	C17:0	20,1	0,92	1,07	0,87	0,9	0,69
insaturés	C18:1 ω 9c	20,86	4,36	5,42	5,38	4,83	3,61
	C18:1 ω 7c	20,92	2,2	3,13	2,78	3,14	4,37

RT: temps de retention a: anteiso; i: iso, c: cis

Tableau 2b: Abondance relative (%) des acides gras au cours de co-compostage du mélange B déterminée par TMAH-Py-GC-MS

Type de FAME	FAME	RT (min)	Temps de co-compostage (mois)				
			0	1	2	3	6
			Phase thermophile		Phase maturation		
Saturés (carbone pair)	C6:0	3,17	21,68	23,08	23,25	13,54	8,63
	C12:0	14,3	2,7	3,57	3,57	2,75	2,94
	C14:0	16,8	24,63	21,98	18,51	11,35	8,94
	C16:0	19,06	15,47	17,4	23,53	37,53	46,63
	C18:0	21,09	4,99	6,13	8,42	12,17	13,44
	C20:0	22,98	0,98	0,93	1,11	1,4	1,52
	C22:0	24,67	2,12	2,11	1,85	1,85	1,83
	C23:0	25,49	0,79	0,56	0,62	0,45	0,37
	C24:0	26,36	3,17	2,67	2,39	2,24	1,95
	C26:0	28,4	1,9	1,11	0,83	0,83	0,91
Branchés	<i>i</i> C15:0	17,53	2,67	3,08	2,71	1,95	1,66
	<i>a</i> C15:0	17,63	2,41	2,26	2,08	1,97	1,86
	<i>a</i> C16:0	19,05	4,49	5,68	4,19	1,87	0,98
	<i>i</i> C17:0	19,71	1,21	1,16	1	0,52	0,24
	<i>a</i> C17:0	19,81	0,83	0,7	0,08	0,13	0,07

Saturés (carbone impair)	C15:0	17,95	0,87	1,07	1,36	1,74	1,23
	C17:0	20,1	1,06	0,35	0,25	0,12	0,06
insaturés	C18:1 ω 9c	20,86	6,01	0,54	1,92	3,75	3,37
	C18:1 ω 7c	20,92	1,88	5,52	1,93	3,74	3,27

L'évolution des lipides totaux et des FAMES au cours du co-compostage de boues-déchets palmier, pour les deux mélanges A et B, montre que les lipides totaux ont subi une réduction très significative, avec un abattement de 43% pour les deux mélanges, après 06 mois du co-compostage. Cette réduction des lipides totaux est confirmée par de nombreux auteurs lors du compostage de déchets (Ait Baddi et al., 2004; Barje et al., 2008; Amir et al., 2008, 2010). Cette réduction des lipides totaux est attribuée à leur métabolisation par l'intense activité des microorganismes. Amblès et al. (1989) ont montré que les lipides qui ne sont pas directement extractibles sont moins biodégradables à cause de leur adsorption à la matière organique. Il s'en suit une augmentations significative des FAMES au cours du co-compostage, pour les mélanges A et B. En effet, les FAMES ont augmenté de 8,44% à 33,3% et de 10,76 à 43,4%, respectivement pour le mélange A et B (Figure 2). Cette augmentation des FAMES est le résultat de l'activité microbienne intense enregistrée au cours du co-compostage, en particulier pendant la phase thermophile. Ceci a été confirmé par d'autres auteurs Barje et al. (2008), lors du compostage de déchets d'huileries d'olive-déchets ménagers et Hachicha et al. (2009), lors du co-compostage des déchets d'industrie d'olive en mélange avec déchets de volaille.

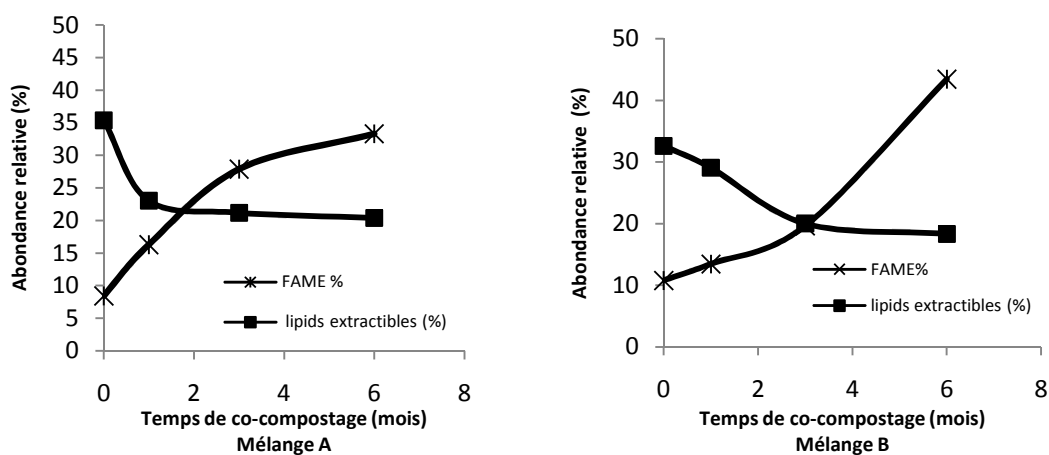


Figure 2 : Abondance relative (%) des lipides totaux et des FAMES au cours du co-compostage des mélanges A et B

3.2.2. Evolution des acides gras (FAMES) saturés à chaîne carbonée paire (chaines courtes < C20)

Le suivi des acides gras saturés (C6 :0, C12 :0, C14 :0) (Figure 3) par pyrolyse a montré une diminution très significative pour les deux mélanges A et B, en particulier pour les acides C6 :0 et C14 :0. Ceci traduit la décomposition des acides gras au cours du co-compostage, liée à l'intense activité des microorganismes observée au cours du co-compostage. Néanmoins, on constate une augmentation de l'indicateur chimiotaxonomique C12 :0 (acide laurique) seulement pendant la phase thermophile. Ceci peut être expliqué par le processus de la dégradation β -oxydation qui résulte de l'action des microorganismes des mélanges. L'épuisement du milieu en substrat métabolisable induit une diminution de l'activité des microorganismes qui s'accompagne de faibles teneurs d'acides gras saturés, en phase de maturation.

La diminution de l'ensemble de ces marqueurs au début de la phase de maturation pourrait être le résultat combiné de deux phénomènes, l'utilisation de ces composés par d'autres groupes microbiens et/ou l'incorporation de ces marqueurs dans la structure d'acides humiques. En effet, Fujisawa et al. (2012), ont montré que les acides gras saturés et insaturés ont été trouvés dans l'acide humique extrait à partir d'un échantillon de compost. En outre, la diminution du niveau des acides gras indique la mort de la biomasse après la phase active de co-compostage où les conditions deviennent sélectives. Plusieurs auteurs (Herrmann et Shann, 1997; Klamer et Baath, 1998; Eiland et al., 2001) ont observé la dominance des chaînes saturées et insaturées des acides gras dans la première phase du compostage (phase de stabilisation) et leur diminution à la fin du compostage (phase de maturation). Selon ces mêmes auteurs, cette diminution d'acides gras saturés, sera suivie par une augmentation d'acides gras branchés, ce qui pourrait correspondre au remplacement, lors du processus du co-compostage, des groupes fongiques et bactériens Gram-négatif par les groupes Gram-positif et les Actinomycètes.

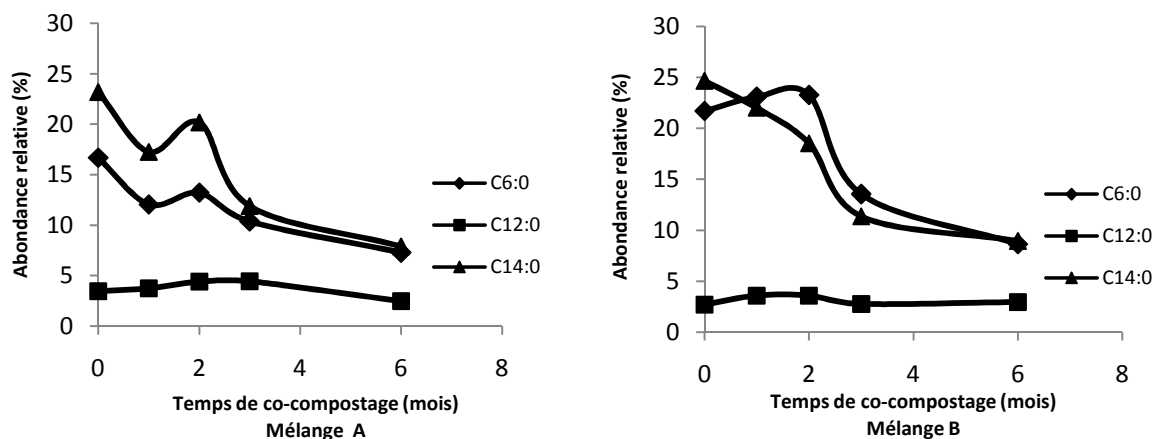


Figure 3 : Abondance relative (%) des FAMES C6:0, C12:0 et C14:0 au cours du co-compostage des mélanges A et B

Dans nos conditions expérimentales, la distribution des acides gras initialement dominée par le C14 :0, (Tableau 2a, 2b) a été rapidement remplacée, après un mois de co-compostage pour le mélange A et deux mois pour B, par l'acide palmitique (C16 :0) qui est la fraction lipidique la plus dominante par rapport aux autres acides gras identifiés. Celui-ci évolue de 15,9 % et 15 % à 40,5 % et 45 % après 6 mois de co-compostage, respectivement pour le mélange A et B (Figure 4). Alors que l'augmentation de C18 :0 est moyenne, de 6% et 5% à 12% et 13% après 06 mois de co-compostage, respectivement pour le mélange A et B.

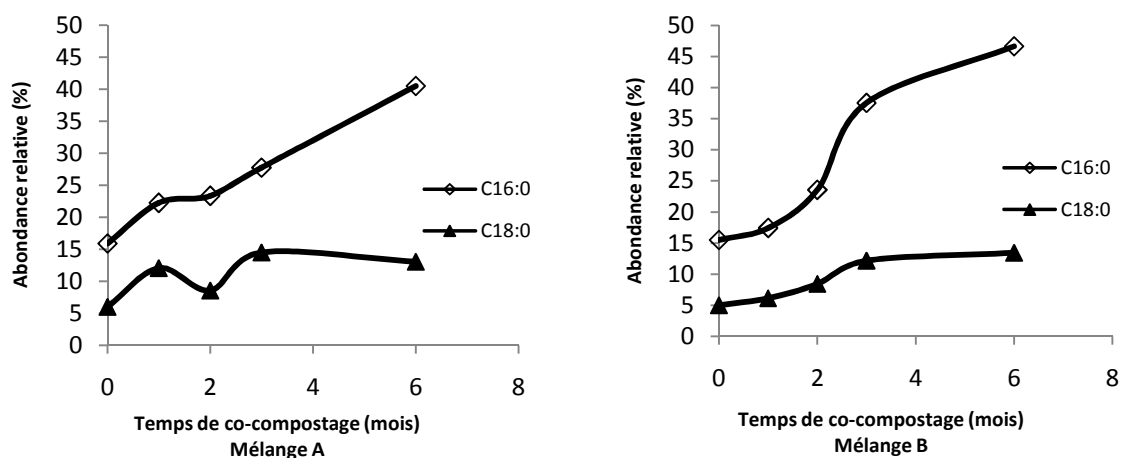


Figure 4 : Abondance relative (%) des FAMES C16 :0, C18 :0 au cours du co-compostage des mélanges A et B

Le profil observé pour les deux acides C16 :0 et C18 :0 en phase maturation, laisse envisager l'hypothèse que C18 :0, est mieux incorporé lors de la synthèse de substances humiques que C16 :0. L'augmentation de C16:0, surtout au cours de la phase thermophile, pourrait être expliquée par la dégradation des lipides extractible, et par l'oxydation des autres acides gras longues chaînes tels que C18:0. Klamer et Baath (1998), ont montré que l'abondance des longues chaînes d'acides gras saturés est un indicateur de développement des microorganismes à des températures élevées. Hellman et al. (1997), ont noté que la forte augmentation de C16 :0 pourrait être attribuée à la décomposition intense de la matière végétale et non à une augmentation de champignons, alors que Allen et al. (2012), a attribué l'augmentation de C16 :0 à la distribution des cyanobactéries dans le milieu.

De même, la spécificité des espèces microbiennes et les conditions physico-chimiques du milieu peuvent influencer la composition lipidique et l'expression de différents indicateurs d'acides gars identifiés. Il a bien été identifié (Steger, 2003) qu'au début de compostage, les champignons et quelques Gram-négatif sont moins abondants. Rhee (2000), quant à lui, a montré que les Gram-négatif sont thermotolérants et les Gram-positif sont strictement des thermophiles. La légère fluctuation que connaît C18 :0 durant ce processus du co-compostage (mélange A) peut être attribué à la disparition et l'apparition des communautés bactériennes responsables de synthèse de ce composé et/ou à sa décomposition pendant les stades intermédiaires. En effet, Steger et al. (2003), ont montré la préférence de dégradation de leurs homologues monoinsaturés, lors du compostage de déchets municipaux. Selon les mêmes auteurs, ceci constituerait une preuve d'adaptation des microorganismes à l'augmentation de la température.

Les acides gras saturés (C16:0 et C18:0), sont souvent identifiés dans la matière végétale (Klamer et Baath, 1998), dans notre cas, ils peuvent parvenir, en partie, du palmier dattier, substrat structurant utilisé lors du co-compostage. C16:0 et C18:0 sont les FAMES les plus répandue dans notre cas, sont utilisés pour constituer les réserves d'énergie. En effet, ils constituent les acides gras de stockage dans les triglycérides, qui sont les principaux constituants de la fraction lipidique neutre (Amir et al., 2008). Certains auteurs (Harwood et Russell, 1984), ont montré que les acides gras à chaîne courte saturée, la plus abondante contenant 16 et 18 atomes de carbone sont non spécifiques et se produisent dans les membranes cellulaires des micro-organismes et dans les cuticules des végétaux ou bien dans les cires. D'autre part Farrington et Quinn, (1973) et Pierson, (1978), ont montré que les eaux usées domestiques peuvent être reconnues par l'association de quatre acides gras, le 16:0, 18: 1

(n-9), 18:0 et 18:2 (n-6), qui sont présents en grandes quantités, ce qui pourra expliquer la présence de ces acides gras dans les boues utilisées dans notre compostage.

Le rapport stéarique sur palmitique (C18 :0/C16 :0) augmente pendant la phase thermophile, ce qui suggère une augmentation des groupes thermotolérants et thermophiles comme a été mentionné par Barje et al. (2008). Ces résultats peuvent être un indicateur de stabilité et de maturité de composts.

Les FAMES C18 :1 et les acides gras hydroxylés ont été utilisés pour représenter les acides gras des bactéries gram-négatif. Venkata-Ramana et al. (2010), ont montré que les acides gras des bactéries Gram-négatif isolés dans leur cas d'étude sont du type C18:1 ω 7c. Hoppe et al. (2011), ont isolé des bactéries Gram-négatif caractérisées par des acides gras C18:1 ω 7c et C18:1 ω 9c. Dans notre cas d'étude, les acide gras C18:1 ω 9c (mélange A), et C18:1 ω 7c augmentent spécifiquement pendant la phase thermophile (Tableau 2a, 2b), ceci explique la corrélation entre ces indicateurs chimiotaxonomiques des espèces thermotolérantes et l'augmentation de la température. Albuquerque et al. (2012), ont montré que les acides gras des bactéries Gram-négatif isolés sont dominés par C18:1 ω 7c et C18:1 ω 7c11-méthyl après incubation à des températures de l'ordre de 50°C. Après une incubation à des températures de 30°C, le C18:1 ω 7c11-méthyl montre une chute. Ceci explique que les acides gras monoinsaturés sont des indicateurs taxonomiques des microorganismes de la phase thermophile de co-compostage. Cependant les indicateurs hydroxylés sont convertis en méthoxylés comme il a été montré par Poerschmann et al. (2005). Del Rio et Hatcher (1998), ont montré que les sites hydroxylés sont transformés en méthyl éthers par TMAH.

3.2.3. Evolution des acides gras linéaires et branchés en C15 :0 et C17 :0 FAMES

Les acides gras bactériens (C17:0) subissent une diminution au cours du co-compostage pour les mélanges A et B (Figure 5). Les plus grandes teneurs en C17 :0 sont observées pendant la première phase du co-compostage (phase thermophile). Steger et al. (2003), ont observé une allure similaire pendant la phase thermophile.

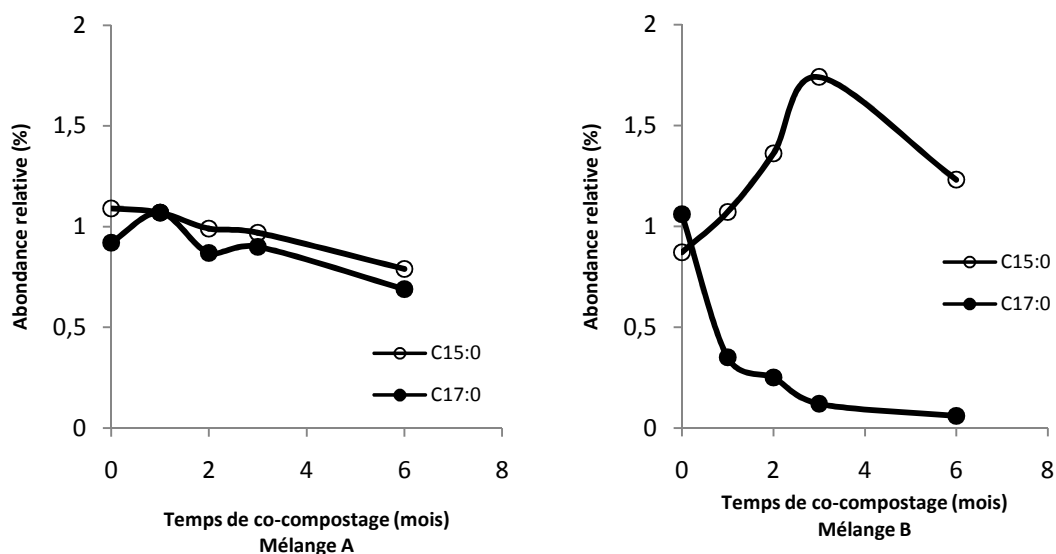


Figure 5: Abondance relative (%) des FAMES C15 :0, C17 :0 au cours du co-compostage des mélanges A et B

C15:0 qui peut être d'origine microbienne a aussi diminué au cours du co-compostage, ce qui a été confirmé par (Kogel-Knabner, 2002). Les C15 :0 peuvent être piégés dans la structure de substances humiques ou réticulés par les liaisons ester. Le fait que les substances humiques augmentent, au cours du co-compostage, pourra induire une augmentation de la capacité de rétention des acides gras. De même, ces acides gras peuvent être réutilisés par les microorganismes du milieu, comme source de carbone. Les valeurs élevées de C15 :0 au début de co-compostage (Figure 5) peuvent être expliquées par l'origine microbienne, en phase de températures élevées, à savoir les microorganismes thermotolérants et thermophile (Adiguzel et al., 2009). Selon O'leary (1988), la présence de C15 :0 et C17 :0 est considérée comme indicateur de présence des *Bacillus* thermophiles. La variation de la teneur de C15 :0 persiste jusqu'au 3^{ème} mois de co-compostage du mélange B, ce qui explique la présence constante et en abondance du groupe responsable de synthèse de ce composé au niveau du mélange B, et le prolongement de sa phase de stabilisation.

La diminution des acides gras branchés (i, a) en C17, (indicateurs bactériens) surtout durant la phase thermophile (Figure 6), indique que ces acides gras n'aient pas le temps d'être accumulés dans le milieu et ils pourraient être rapidement transformés par des mécanismes de redistribution des molécules et/ou incorporés dans d'autres structures tissulaires des bactéries, ou d'autres groupes de microorganismes du compostage. Amir et al. (2008), ont montré une

diminution intense de ces composés durant le compostage, par l'analyse de la fraction des lipides neutre (NLFAs).

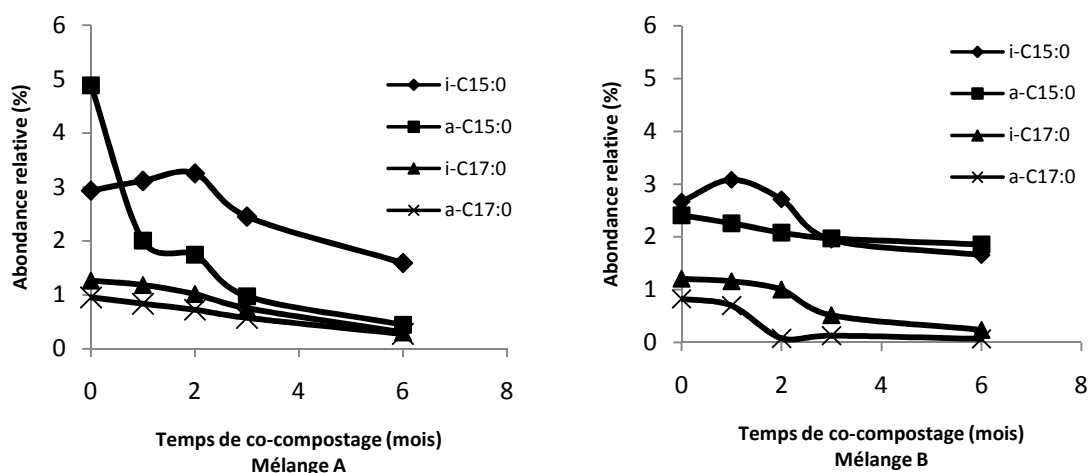


Figure 6: Abondance relative (%) des FAMES i,a,C15 :0; i,a,C17 :0 au cours du co-compostage des mélanges A et B

Les acides branchés iso- et antéiso- (i, a) en C15, C16 et C17, indiquent une origine bactérienne spécifiquement des bactéries Gram-positif (Parkes, 1987; Amir, 2008; 2010). D'après d'autres travaux (Cahyani et al., 2002 ; Lei, 2000; Steger, 2003; Amir et al., 2008), le i,C15 :0 est considéré comme un indicateur de la croissance des bactéries Gram-positif au cours de la phase de stabilisation de compostage. Dans notre cas, i,C15 :0 a augmenté durant la phase thermophile où la température enregistrée est de 65°C (Figure 6), ceci indique la présence des bactéries thermophiles type Gram-positif dans notre substrat de compostage. La synthèse de ces composés par les bactéries gram-positif s'est étalée sur les deux mois de co-compostage pour le mélange A, cependant pour le mélange B, cette synthèse ne dépasse pas la phase thermophile (un mois).

Les variations du pH (Anderson et Domsch, 1993; Anderson et Joergensen, 1997) et l'épuisement du milieu en composés facilement métabolisables peuvent en phase de maturation expliquer la faible activité des bactéries Gram-positif.

Selon Baath et Anderson (2003), ces variations peuvent induire des changements de comportement de ces acides gras (i,C15:0, et i,a,C17:0). En effet, ces auteurs ont mis en évidence l'effet principal du pH sur les acides gras i,C15 :0 et i,a ,C17 :0 (PLFAs), dans les sols à pH acides. Néanmoins dans notre cas de co-compostage après la première semaine, le pH est resté autour de la neutralité, ce qui explique que dans notre cas le pH est un facteur non

significatif. Pendant la phase de maturation, les lipides peuvent être piégés lors du processus d'humification, ou les fragments d'acides gras peuvent être liés de manière covalente aux substances humiques et/ou être incorporés intégralement dans la structure de substances humiques. Schulten et Leinweber (2000), ont proposé un modèle de structure d'acides humiques avec des «vides» susceptibles de piéger ou lier d'autres composés organiques tels que des glucides, des protéines, des lipides ou des éléments inorganiques.

Oshima et Miyagawa (1974), ont montré que l'augmentation des acides gras branchés, représentés par l'augmentation de leurs rapports comme $aC17:0/aC15:0$ et $iC17:0/iC15:0$ est en parallèle avec l'augmentation de la température. Dans notre cas, l'augmentation du $aC17:0/aC15:0$ a été notée dans le mélange A; et le rapport $aC16:0/C16:0$ ainsi le total des FAMES branché/saturés (FAMES branchés sur leurs homologues saturés) augmentent pendant la phase thermophile du mélange B puis diminuent pendant la phase de maturation. Ces ratios indiquent une augmentation des espèces microbiennes, spécifiquement des Gram-positif tolérants les hauts degrés de température pendant la phase thermophile et peuvent donc être utilisés comme des indicateurs de stabilisation et de maturation.

3.2.4. Evolution des acides gras à chaînes longues

Le mode long (C20 au C26) majoritairement pair est d'origine végétale. Ces indicateurs proviennent de l'oxydation des acides gras végétaux par les microorganismes (Cranwell, 1984). Leurs teneurs, dans notre cas, sont variables au cours du co-compostage, en raison de leur libération progressive suite à la biodégradation des mélanges boues-déchets de palmier. Les fluctuations observées sont le résultat combiné de différents phénomènes qui se produisent dans le milieu, minéralisation, métabolisation et polymérisation, en fonction de différents stades du co-compostage. L'augmentation de l'indicateur taxonomique C20 :0 (acide arachidique) pendant la phase de maturation pour les deux mélanges A et B (Tableau 2a, 2b) peut être expliquée par l'accumulation de ce composé. Diné et al. (1996), ont montré que cet indicateur est un composé récalcitrant. Ceci explique que les acides gras d'origine végétale peuvent apparaître durant la phase de maturation caractérisée par une baisse de température et par une augmentation des actinomycètes et des champignons.

Le substrat initial de co-compostage peut être influencé par la concentration des microorganismes, leur présence et leur viabilité, et aussi par le cycle de vie des microorganismes (spore, stade végétatif...), leur âge et la phase de latence.

La prédominance pair / impair ou l'indice (CPI : carbon preference index) pour C20-C30 a été calculé selon la formule suivante : $CPI = \text{somme (C20-C30) Pair} / \text{somme (C21-C31) impair}$.

Cet indice est aussi largement utilisé pour diagnostiquer la distribution des lipides dans les tissus végétaux (Wiesenberg, 2012) et pour identifier la distribution de la matière organique récente biogénique et la matières de source anthropique (Zheng et al., 2000; Alves et al., 2001; Guo et al., 2003).

Dans notre cas, l'indice CPI a augmenté au cours du co-compostage (Figure 7) pour atteindre des valeurs comprises entre 15 et 25, après 06 mois du compostage. Dans notre cas, l'augmentation de (CPI) indique que le caractère végétal des acides gras est plus marqué ainsi que le degré avancé de la biodégradation des déchets de palmier à base de composés ligneux et cellulosiques, ce qui peut aussi renseigner sur le degré de maturité des composts finaux.

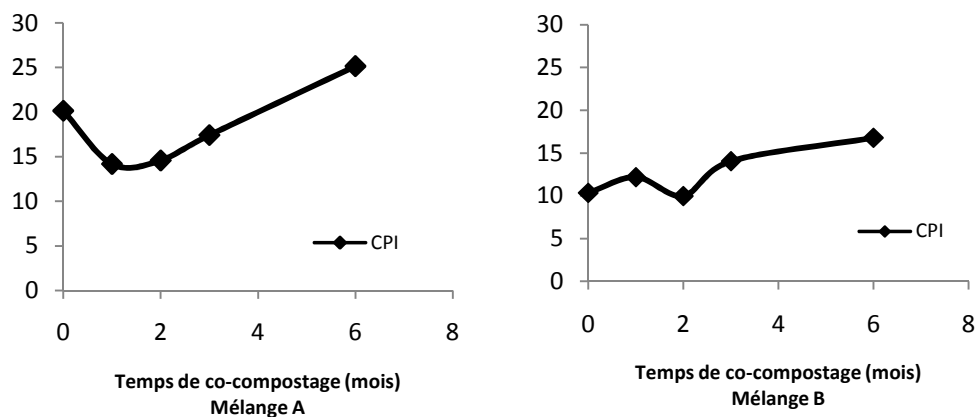


Figure 7 : Evolution de l'indice (CPI) au cours du co-compostage des mélanges A et B

La diversité des microorganismes a été calculée par l'indice de diversité de Shannone « Ish » selon la relation suivante:

$$Ish = - \sum_i^n P_i \log_2 P_i, \quad 0,5 < Ish < 4,5$$

La diversité totale des microorganismes (Ish tot), a relativement augmenté à la phase de stabilisation du mélange A, puis diminue vers la fin avec une valeur de l'ordre de 12,5% pour le mélange A et 16,7% pour le mélange B. Ish tot diminue pour les deux mélanges, mais il reste prédominant tout au long du co-compostage dans le mélange A par rapport au mélange B (Tableau 3). Tang et al. (2004, 2007) ont montré que la biomasse et la diversité microbienne augmente pendant la phase thermophile du compostage et reste élevée pendant plusieurs mois avant de diminuer significativement à la fin. L'indice (Ish) de diversité des bactéries non

spécifiques (BNS) a des valeurs constantes tout au long du processus de co-compostage du mélange A, mais il diminue intensivement dans le mélange B avec un pourcentage de l'ordre de 72%. La diversité des microorganismes indicateurs des FAMES d'origine non spécifique (ONS) pour les deux mélanges A et B est la diversité la plus abondante dans les deux mélanges, Ish est maintenu élevé durant les trois premiers mois de co-compostage avec une légère fluctuation à la phase de stabilisation, puis il diminue vers la fin avec une valeur de l'ordre de 11,27% et 13,88% respectivement pour le mélange A et B. Pour ces groupes, la variation de leur indice spécifique peut s'expliquer par la spécificité de ces groupes vis-à-vis de la température et sous l'influence des paramètres physico-chimiques du substrat comme l'ont montré Blanc et al. (1999), ainsi que par l'épuisement du milieu en substrats facilement métabolisables suite au compostage (Amir, 2005); et peut être due à l'effet de la suppression des agents pathogènes, ce qui a été confirmé par Hachicha et al. (2009), ou bien à la disponibilité du substrat suite à la stabilisation des déchets qui influence le développement des bactéries, comme l'ont suggéré Barje et al. (2008).

Tableau 3 : Indice Shannone-Weaver des groupes de microorganismes identifiés

Mélanges	Ish	Temps de co-compostage (mois)				
		0	1	2	3	6
			Phase thermophile	Phase maturation		
A	Ish tot	3,51	3,53	3,43	3,43	3,07
	Ish ONS	2,66	2,74	2,66	2,72	2,36
	Ish BNS	0,99	0,99	0,99	0,99	0,99
	Ish Gram-positif	1,72	1,82	1,76	1,75	1,57
	Ish Gram-négatif	0,92	0,94	0,92	0,96	0,99
B	Ish tot	3,34	3,27	3,18	3,05	2,78
	Ish ONS	2,52	2,51	2,5	2,36	2,17
	Ish BNS	0,99	0,8	0,86	0,35	0,28
	Ish Gram-positif	1,85	1,8	1,57	1,55	1,39
	Ish Gram-négatif	0,79	0,43	0,99	1	0,99

La diversité des bactéries Gram-positif du mélange B diminue vers la fin du co-compostage avec un pourcentage de 24,8% par rapport au stade initial, ce groupe de microorganismes est maintenu constant durant les trois mois du co-compostage du mélange A, avec un pic relatif

pendant la phase thermophile suivi par une diminution à la fin du co-compostage avec 8,7%, ceci s'explique par une grande diversité bactérienne (Gram-positif) dans le substrat initial des boues. Plusieurs auteurs (Kato et Miura, 2008 ; Amir et al., 2008; 2010), ont montré une augmentation de l'indice de diversité des acides gras phospholipidiques des Gram-positif pendant la phase thermophile du compostage, et ils ont attribué la croissance de ce groupe des bactéries à la concentration des éléments dégradables. Ceci peut expliquer que l'augmentation des Gram-positif pendant la phase thermophile, est favorisé par la richesse de nos substrat (boue-déchets vert) en composés facilement métabolisables.

4. Analyses statistiques

Les résultats de (ACP) entre les esters méthyliques d'acides gras FAMES au cours du co-compostage pour les deux mélanges sont illustrés dans la Figure 8.

Pour les deux mélanges: le pourcentage de la variance dépasse 86% (1^{er}) et 89% (2^{ème}) donc l'ACP dans les deux cas résume la presque la totalité de l'information ou de la variabilité avec deux composantes seulement (la perte de l'information suite à la simplification par la réduction du nombre de facteurs ou composantes est très faible).

La composante principale ACP, est déterminée selon deux composantes (1 et 2), ces deux composantes déterminent 86,24% de l'ensemble des informations pour le mélange A et 89,42% pour le mélange B avec un taux de variabilité entre les FAMES de l'ordre de 60,19% et 70,59% pour la composante 1, et de 26,05% et 18,83% pour la composante 2, respectivement pour le mélange A et B (Figure 8). Le domaine III du mélange A est inversement corrélé par rapport aux domaines I et II (Figure 8), qui représentent une corrélation proche entre eux. Le domaine I regroupe les FAMES d'origine bactérienne (Gram-positif) (i,C15 :0 ; a,C15 :0 i,C17 :0 ; a,C17 :0), les FAMES des bactéries non spécifiques (C15 :0 ; C17 :0) et les FAMES d'une origine non spécifique (ONS) (C6 :0 ; C14 :0) ; l'analyse de ACP selon la composante 1 (60,19%) montre que ces groupes sont positivement corrélés (des valeurs plus proches de 1), les variables du domaine II regroupent les FAMES d'origine bactérienne Gram-négatif C18 :1, des FAMES ONS (C12 :0, C23 :0, C26 :0) qui sont aussi positivement corrélés entre eux.

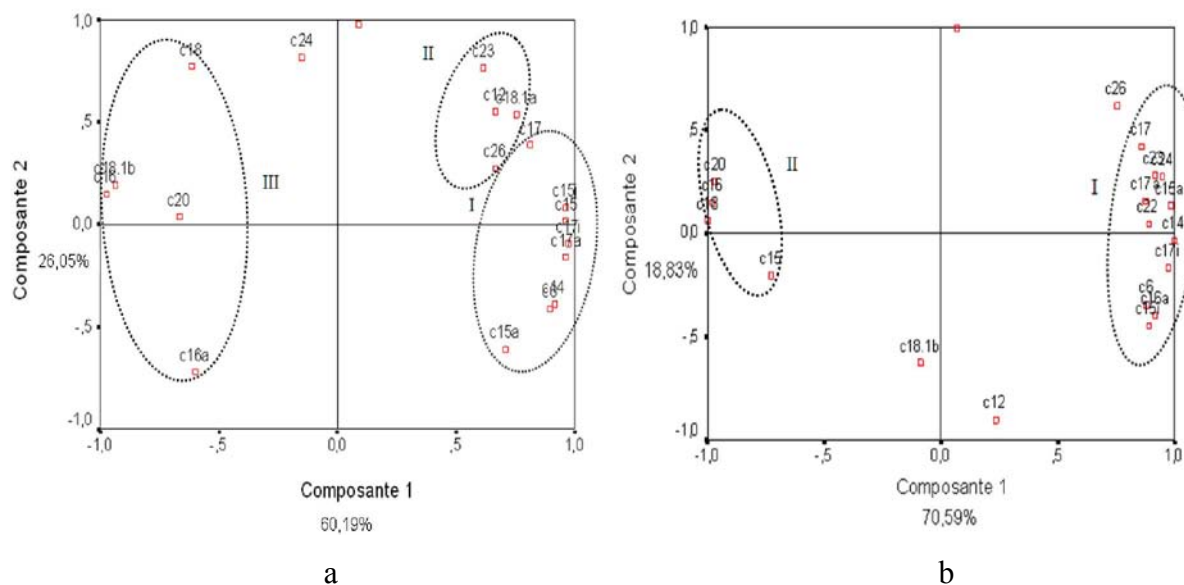


Figure 8: Diagramme de composante ACP (a, b) des FAMES des mélanges A(a) et B(b)

Les composés du domaines III (C16 :0, a,C16 :0, C18 :0, C18 :1, C20 :0) sont inversement corrélés aux variables de domaine I et II par rapport à la composante 1. Ceci explique bien la relation entre ces différents groupes.

Le domaine II du mélange B est inversement corrélé par rapport au domaine I. Le domaine I du mélange B inclus les FAMES d'origine bactérienne (Gram-positif) (a,C15 :0, i,C15 :0 i,C17 :0 ; a,C17 :0, a,C16 :0), les FAMES d'origine non spécifique (C6 :0, C14 :0, C22 :0, C23 :0, et C24 :0) et une seule variable des bactéries non spécifiques (C17 :0); l'ensemble de ces groupes sont hautement corrélés entre eux selon la composante 1 (70,59%). Les variables du domaine II qui inclus les FAMES d'origine non spécifique (C16 :0, C18 :0, C20 :0) et une seule variable C15 :0 d'origine des bactéries non spécifiques se trouve à l'opposé de celles de domaine I. Ceci explique une relation entre les groupes de chaque domaine et qui diffère de celles des groupes du mélange A.

La projection factorielle (diagrammes des observations) de ces variables sur le plan en termes des deux composantes principales (1 et 2), présentée sur le graphique (Figure 9) montre l'affinité des variables selon chaque axe (1 et 2).

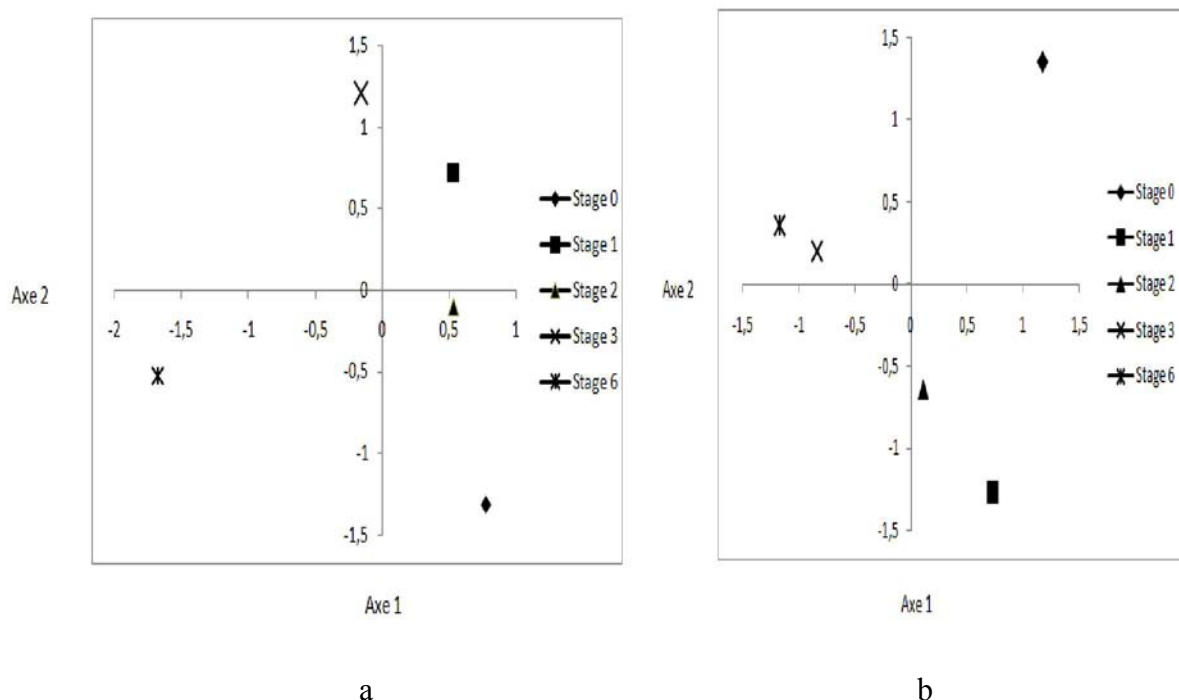


Figure 9: Diagramme des projections factorielles (1 et 2) des FAMEs des mélanges A(a) et B(b)

Le stade 0 du mélange A est inversement corrélé avec le stade 6 mois selon Axe 1, ce qui explique la diminution vers la fin des FAMEs notamment pour (a,C15 :0, i,C15 :0 i,C17 :0 ; a,C17 :0, C6 :0 et C14 :0) qui ont présenté des valeurs élevées au stade initial. Ce dernier est aussi inversement corrélé avec le stade 3 mois (selon l'axe 2) ce qui est expliqué par le FAME i,C15 :0 qui représente une valeur faible au stade initial puis il augmente durant le stade 3. Le stade 1 et 2 mois ont même projection par rapport à l'axe 1 et sont inversement corrélé par rapport au stade 6 selon l'axe 1; ce rapprochement est confirmé par le FAME C16 :0 qui est hautement corrélé avec le stade final (six mois). La corrélation entre les diagrammes ACP et diagrammes des observations du mélange B (Figure 9), montre que le stade initial se trouve à l'opposé (selon l'axe 1) des deux stades finaux ; il représente une corrélation inverse par rapport aux derniers stades 3 et 6 mois; ces derniers ont des valeurs plus proches entre eux selon axe 1. Ces rapprochements sont confirmés selon les analyses ACP par la diminution des FAMEs du domaine I (C6 :0 et C14 :0, a,C15 :0, i,C15 :0 i, a,C16 :0, C17 :0 ; a,C17 :0, i,C17 :0, C22 :0, C23 :0 et C24 :0) et l'augmentation des FAMEs du domaine II (C15 :0, C16 :0, C18 :0, et C20 :0) vers la fin. Le stade 0 et le stade un mois ont même variabilité selon l'axe 1.

La corrélation entre les deux diagrammes ACP et diagrammes des observations des deux mélanges (Figure 10) révèle une différence entre le mélange A et le mélange B.

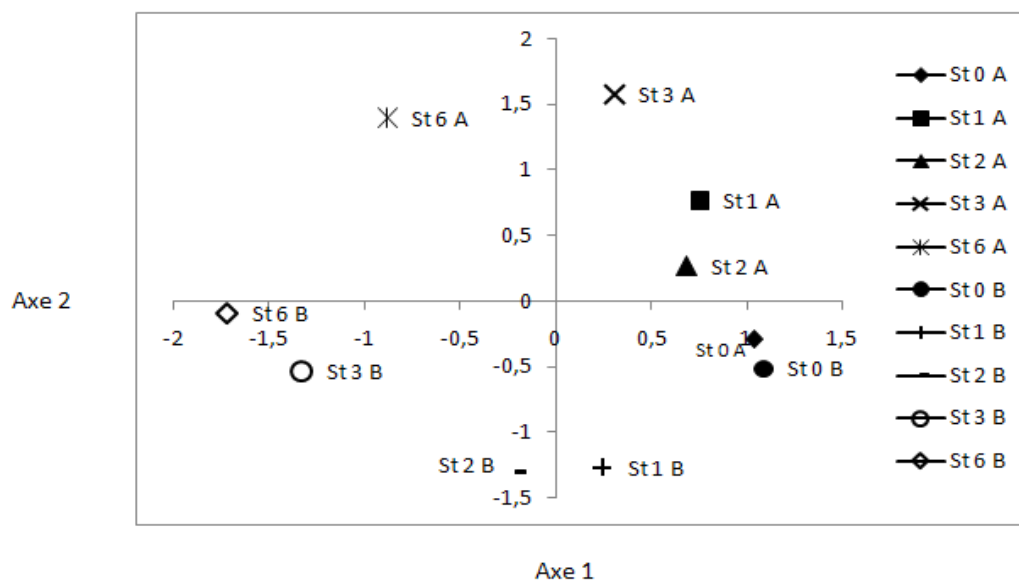


Figure 10 : Diagramme des projections factorielles (1 et 2) des mélanges A et B

Les stades initiaux des deux mélanges A et B se trouvent sur même point, ils ont une même corrélation sur l'axe 1 aussi bien sur l'axe 2 (Figure 10), ces deux stades sont inversement corrélés avec les stades finaux de 6 mois qui se trouvent à l'opposé selon l'axe 1. Les deux derniers stades (6 mois) représentent une même variation mais avec une différence entre les deux mélanges A et B. Le stade un mois (phase thermophile) présente même variation selon l'axe 1 sauf que le stade 1 du mélange A a des valeurs élevées par rapport au stade du mélange B. Les stades deux et trois mois sont inversement corrélés selon l'axe 1 ce qui révèle une différence entre les deux mélange A et B.

Ces approches pour les deux mélanges A et B sont aussi confirmés par la méthode classification (hiérarchique) cluster des observations et des variables (Figure 11) qui montre une corrélation entre les groupes FAMES (Gram positif, ONS) avec une légère différence entre les deux mélanges A et B. Le FAME C16 :0 selon analyse cluster confirme la haute corrélation avec les stades finaux (six mois).

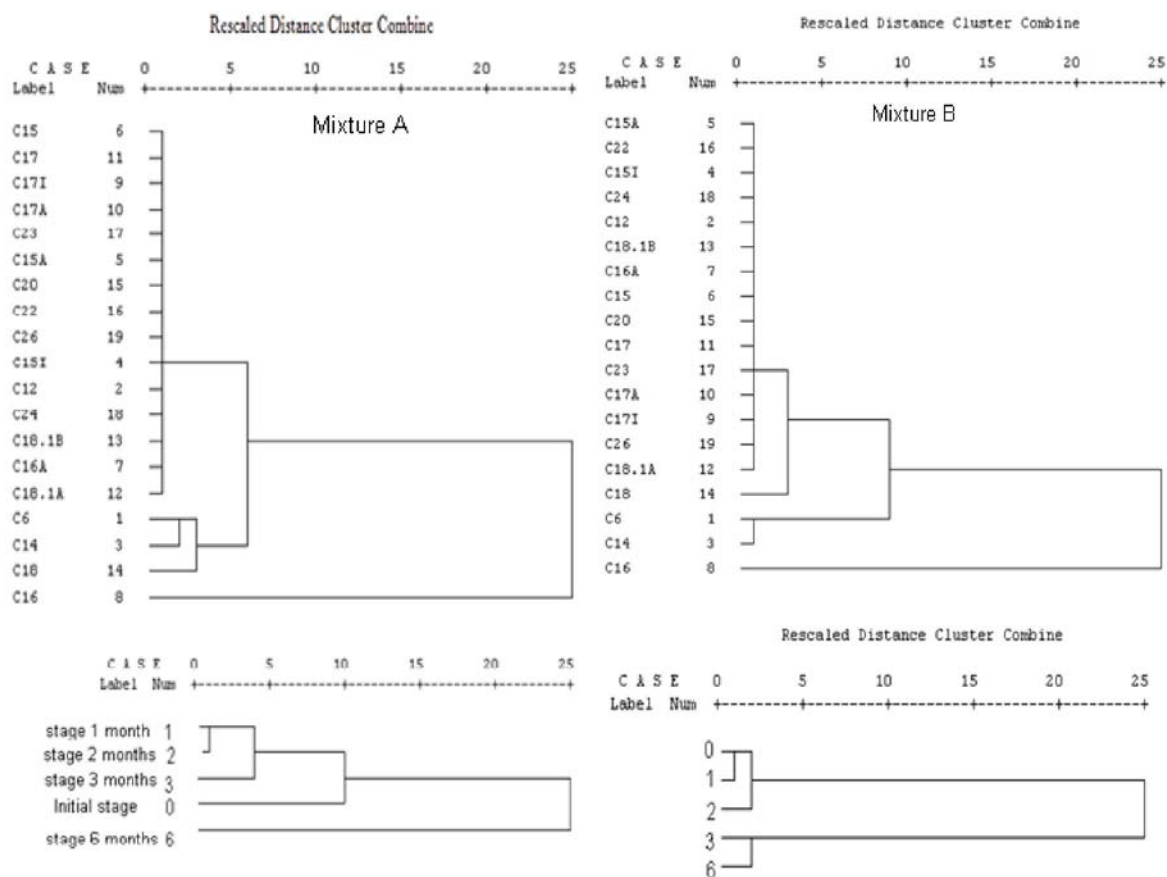


Figure 11 : Dendrogrammes des variables FAMES pour les deux mélanges A et B

L'analyse typologique par cluster confirme les analyses avec ACP en ce qui concerne les relations entre les FAMES en fonction de leurs profils au cours du co-compostage. Analyse cluster montre une corrélation entre les FAMES branchés qui sont regroupés avec les composés du premier dendrogramme (a,C15 :0, i,C15 :0 i,C17 :0 ; a,C17 :0) et les FAMES (C6 :0, C14 :0) qui sont regroupés dans un deuxième dendrogramme. Cette analyse montre aussi que C16 :0 connaît une forte variation au cours du co-compostage.

5. Conclusion

L'analyse des composés organiques au cours de la biotransformation des boues-déchets de palmier pendant six mois par la thermochimie analytique (TMAH-Py-GC-MS) permet de suivre l'activité microbologique du milieu à différentes stades de co-compostage. Les résultats ont mis en évidence que les lipides totaux diminuent avec un taux d'abattement de 43% pour les mélanges A et B. Les différentes familles de biomarqueurs taxonomiques (FAMES) identifiées sont les acides gras saturés, insaturés, branchés iso et anteiso et dont le comportement est tributaire des phases de co-compostage (phase de stabilisation et phase de maturation). Les FAMES indicateurs des bactéries Gram-positif (caractérisant les phases

thermophiles) ont diminué vers la fin de co-compostage, les indicateurs taxonomiques des bactéries non spécifiques, et les indicateurs des groupe d'origine non spécifique (ONS) à l'exception de FAMES C16 :0 et C18 :0 qui ont connu une augmentation vers la fin du co-compostage pour les deux mélanges A et B. l'augmentation des rapports C18 :0/C16 :0 ; a,C17 :0/aC15 :0 et aC16 :0/C16 :0 pendant la phase thermophile est un indicateur de stabilisation et maturation des substrats de co-compostage. La maturité du compost final s'accompagne aussi d'une augmentation de l'indice CPI, ce qui met en évidence l'enrichissement du milieu en FAMES d'origine végétale et qui résultent de l'attaque des composés récalcitrants ligno-cellulosiques. Le profil de FAMES a permis de caractériser les spécificités de chaque phase de compostage et a permis d'identifier les structures spécifiques de la communauté qui caractérise les composts matures.

Chapitre 3: Evolution des composés ligneux au cours du co-compostage

1. Introduction

Les effets des composts sur le système sol-plante sont généralement attribués aux éléments fertilisants (N, P, K....) mais aussi aux différents composés organiques humiques et non humiques dont les teneurs varient en fonction des conditions du compostage et de l'origine des matières compostées (Mustin, 1987). La fraction non humique a des caractéristiques chimiques complexes dont la majorité des composés provient des résidus de constituants organiques des végétaux, animaux et microbiens. Ces composés sont retrouvés souvent dans les boues et les déchets verts.

La lignine est l'un des principaux composés organiques de déchets verts et le plus abondant biopolymère dans la nature après les polysaccharides (Kögel-Knabner, 2002; Marche et al., 2003). Cette macromolécule est un polymère complexe composé d'unités de type phénylpropane tels que l'alcool coniférylique (unité guaiacyle), l'alcool p-coumarylique et l'alcool sinapylique (unité syringyle), liées entre elles par une grande variété de liaisons chimiques, ce qui rend la lignine résistante à la dégradation (Marche et al., 2003). Ce polymère aromatique intervient dans la rigidité de la paroi cellulaire et rend les plantes plus résistantes à l'attaque des organismes pathogènes. Ainsi il est un constituant principal de la biomasse lignocellulosique, ce complexe formé de polymères de lignine, de cellulose et d'hémicelluloses, contient 40-60 % de cellulose, 20-40 % d'hémicelluloses et 10-25 % de lignine. Les fibres de cellulose peuvent être étroitement liées aux hémicelluloses et à la lignine par des liaisons hydrogène ou des liaisons covalentes, ester ou éther (Kögel- Knabner, 2002). Cependant la structure chimique de la lignine n'est pas encore bien résolue.

Jusqu'à présent, la lignine est classée comme une macromolécule tridimensionnelle, dont la structure est tributaire à la polymérisation de sous-unités liées entre elles par trois principales liaisons: les liaisons arylglycérol- β -aryléther qui peuvent représenter jusqu'à 50% des liaisons, et en moindre proportions les liaisons carbone-carbone et les liaisons phénylcoumaranes. Ces composés ligneux sont des précurseurs des substances humiques (Stevenson, 1982), ils constituent l'objet de la première hypothèse de formation de la deuxième fraction du compost, la fraction humiques, par le processus d'humification qui répond au phénomène de condensation entre acides aminés et les composés issus de la dégradation de la lignine; comme l'ont montré Waksman (1936) et Piccolo (2002). Cette fraction humique, issue de la dégradation des composés récalcitrants du compost dont la

« lignine », est un composé organique stable impliqué dans nombreuses fonctions du sol. Bresson et al. (2001), ont montré que l'ajout du compost, en raison de ces composés organique apportés, joue un rôle efficace pour lutter contre la dégradation de la surface du sol. Les composés organiques contenus dans le compost renforcent aussi la qualité physico-chimique et biologique du sol (Pagliai et al., 2004). Tejada et al. (2006), ont aussi montré que l'addition d'amendements organiques stables permet une remédiation de sols pollués, en luttant notamment contre la toxicité saline. Guittonny-Larchevêque (2004), a montré que l'application de compost mature dans le sol pollué est capable de diminuer, à court terme, le stress toxique potentiel qu'exercent le nickel (Ni) et le zinc (Zn) sur les végétaux ; et améliore à long terme la fertilité du sol et favorise le processus de reforestation par amélioration de la qualité des plantes, et réduire le nombre de maladies occasionnées par les pathogènes issus du sol (Erhart et al., 1999; Cotxarrera et al., 2002). L'humus formé par la lignine, durant la phase de maturation, peut jouer un rôle important comme agent chélateur en éléments traces métalliques (ETM), cet humus peut d'un coté diluer la teneur en ces (ETM) et d'une autre coté peut constituer un apport exogène contrôlé en éléments nutritifs pour les plantes. L'apport de ces composés organiques de compostage permet de remédier les sols contaminés par les polluants organiques en augmentant la photo-dégradation de pesticides comme l'Irgarol (Breitung et al., 1996, Bruns-Nagel et al., 1998 ; Guittonny-Larchevêque, 2004; Amine-Khodja et al., 2006). De plus, ces composés organiques de compost ont un effet important sur les microorganismes des sols qui jouent un rôle important dans le maintien de la structure et la qualité du sol. En général, les qualités d'un compost sont tributaires, en partie, de la matrice humique dont le précurseur principal est la lignine. Selon Bahri (2008), les dérivés ligneux pourraient être rapidement adsorbés sur les particules du sol. En raison de leur propriété chimique récalcitrante, les dérivés ligneux constituent une réserve dans le sol (Dagley, 1975; Flaig et al., 1975). Le temps de séjour de ces composés récalcitrants varie entre 20 à 38 ans (Rasse et al., 2006; Heim et Schmidt, 2007) avec un temps de séjour moyen de l'ordre de 7 ans, ce qui peut constituer un réservoir potentiel de précurseurs de substances humiques.

L'objectif du présent chapitre est d'identifier les molécules et la transformation des composés ligneux et leurs dérivés au cours du co-compostage de boue de STEP et déchet de palmier par pyrolyse couplée à la chromatographie phase gazeuse-spectroscopie de masse (Py-GC/MS). Cette technique est rapide, et sensible à la caractérisation des structures des macromolécules (Leinweber et Schulten, 1999; Kögel-Knabner, 2000; Gonzalez-Perez et al., 2007) à savoir

les composés ligneux et les acides humiques (Fu et Qing, 1995; Chefetz et al., 2002; Fahmi et al., 2007; Pallo et al., 2011).

2. Matériel et Méthodes

2.1. Py-GC-MS

Les échantillons du compost lyophilisés ont été broyés (0,5 mg) puis pyrolysés à l'aide d'un pyrolyseur Frontier Lab (EGA PY 3030 D), équipé d'un passeur d'échantillons. La pyrolyse a été réalisée à 600°C pendant une minute (source : 220°C, l'interface : 280°C, rapport de division 100/1). Un courant d'Hélium (débit constant : 1ml/min, pression en fonction de température) entraîne les produits de pyrolyse vers le chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse. Le pyrolyseur est couplé à un chromatographe en phase gazeuse et à un spectromètre de masse quadrupolaire (ionisation par impact électronique 70 eV) Shimadzu (GCMS QP2010 Ultra). Le pyrolyseur est constitué d'un micro-four en céramique directement relié à l'injecteur du GC/MS. La séparation des composés en GC est réalisée sur une BPX (SGE) colonne capillaire (30 m de long, 0,25 mm de diamètre, 0,25 microns d'épaisseur de phase). La température de la colonne est programmée de 60 à 300 ° C à 5 ° C. min⁻¹ et maintenue à 300 ° C pendant 30 min. Les pyrogrammes sont exploités à l'aide du logiciel GC-MS solution Shimadzu. Les composés ont été identifiés sur la base de leurs temps de rétention en GC et par comparaison de leurs spectres de masse avec les normes et les données de la littérature.

La pyrolyse des composts permet d'observer les composés organiques tels que les composés ligneux, azotés, polysaccharides, hydrocarbure aliphatiques et stéroïdes. L'abondance relative P_i de chaque produit de pyrolyse a été calculé à partir le rapport entre l'air de pic de chaque produit par rapport à la somme de tous les pic identifié dans le pyrogramme (Ayuso, 1996, Amir et al., 2010) :

$$P_i = \frac{a_i}{\sum_1^n a_i}$$

3. Résultats et Discussion

3.1. Analyse des pyrogrammes et identification des composés organiques

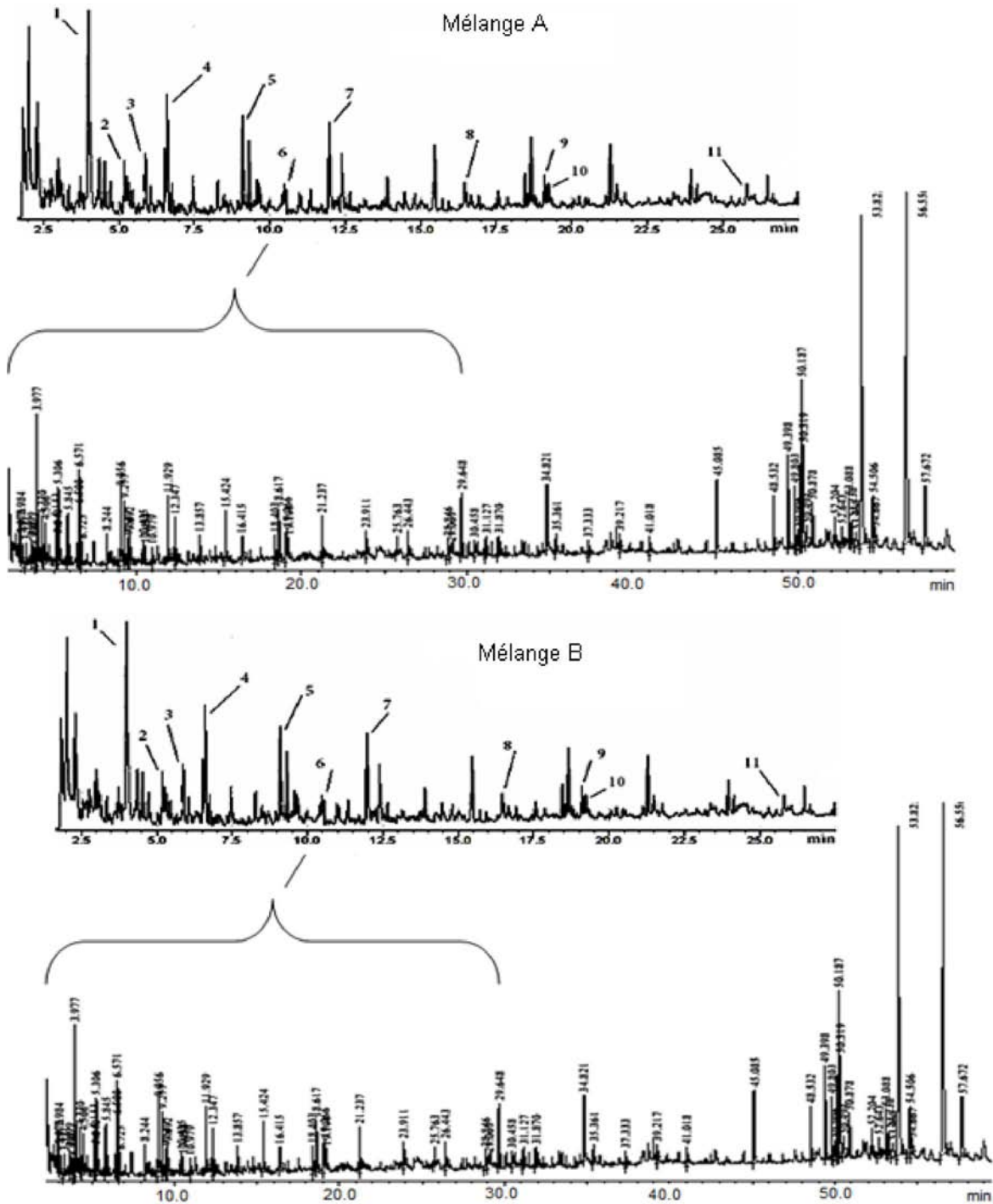
Les pyrogrammes (Figure 1) montrent une diversité importante des composés organiques obtenus à partir des échantillons boues /déchets palmier, à différents stades du co-compostage par Py-GC-MS, en termes de teneurs relatives. Les principaux composés

identifiés dans les pyrolysats ont été regroupés en cinq grandes catégories (Tableau 1): composés provenant de la pyrolyse des polysaccharides (PS), composés azotés (N), produits provenant de la lignine (LIG), des composés hydrocarbures aliphatiques (HYD) et les composés stéroïdes (STR).

La teneur des polysaccharides est globalement inférieure à 6 % et le taux de leur décomposition est de 50 et 28 %, après 6 mois du co-compostage respectivement pour le mélange A et B. L'analyse de nos échantillons par pyrolyse a permis d'identifier des motifs furaniques (furanone et furfural). Ces dérivées sont considérés comme pyrolysats des polysaccharides (Helleur et al., 1985 ; Pouwels, et al., 1987; Dignac et al., 2005). (Hayes et al., 1989), ont montré que ces composés de biodégradation sont issue de la fraction polysaccharidique des végétaux. Zhao et al., (2012), ont montré la présence des dérivés furaniques (furane et benzofuran) dans la fraction des acides humiques par l'analyse Py-GC-MS.

Les teneurs des composés azotés est généralement inférieure à 8% avec un taux de dégradation moyen qui est de 24 et 33 %, respectivement pour le mélange A et B. Parmi les composés azotés identifiés, méthylpyrole, benzylnitrile, indole et le méthylindole. Après 6 mois du co-compostage, on constate une augmentation de 31% pour le méthyle pyrole et de 13% pour benzylnitrile. Par contre, l'indole a diminué de 10%, alors que le méthylindole est presque constant avec une légère augmentation durant la phase thermophile. Le méthylpyrole est connu comme un produit dérivé des protéines (Tsuge, 1985), bien que ce composé méthylpyrol peut aussi être dérivé de la pyrolyse des pigments des chlorophylle (Sinninghe-Damsté, et al., 1992). L'indol et le méthylindol, proviennent des protéines et des peptides contenant le tryptophane (Tsuge, et al., 1985), ceci montre la présence des protéines dans notre compost et qui proviendraient des boues activées utilisées. Le benzonitrile est un produit de pyrolyse (Nierop et al., 2001), qui peut contribuer à la formation des acides humiques (Zhao et al., 2012).

La teneur des stéroïdes est de 30 et 32% avec un taux de dégradations de 68 et 54,5 %, respectivement pour le mélange A et B. La teneur des hydrocarbures est de 17 et 15%, avec un taux de décomposition très importants de 83 et 75%, après 6 mois du co-compostage, respectivement pour A et B. Les teneurs en composés ligneux sont de 41 % aux stades initiaux et voisines de 50% aux stades finaux. En tenant compte de la biodégradation dans le milieu, le taux de décomposition des composés ligneux est de 27 et 25%, respectivement pour le mélange A et B, après 6 mois du co-compostage.



(transformés à partir d'un produit primaire pyrolysé), qui peuvent réagir avec la lignine qui demeure le précurseur principal de substances humiques.

Tableau 1: Variation des taux de dégradation des produits identifiés par Py-GC/MS au cours du co-compostage

Temps (mois)	Phase du co-compostage	Quantité (% relatif, poids sec)					Taux de dégradation (% valeur initial*)				
		Composés ligneux	Composés azotés	polysaccharides	stéroïdes	Hydrocarbures	Composés ligneux	Composés Azotés	polysaccharides	Stéroïdes	Hydrocarbures
Mélange A											
0		41,75	6,1	4,36	30,33	17,43	0	0	0	0	0
1	Phase 1**	46,38	6,16	4,61	28,91	13,91	8	17	12,6	22,9	43,5
6	Phase 2***	50,81	7,73	4,17	24,64	12,63	27	24	50	68	83
Mélange B											
0	Phase 1**	41,65	7	3,82	32,5	15,01	0	0	0	0	0
1		40,24	5,36	5,7	35,24	13,44	21,5	48,5	15	8,4	26,5
6	Phase 2***	49,12	7,54	3,81	28,39	11,13	25	33	28,2	54,5	75

*Dégradation exprimé par rapport à la valeur initial (T0) de chaque composés organiques, ** phase 1 : Phase de stabilisation, *** phase 2 : Phase de maturation.

La dégradation de la lignine dans des conditions aérobies est très variable en fonction des conditions expérimentales. Lynch et Wood (1985) affirment que la lignine se dégrade rarement au cours du compostage. Toutefois, Hammouda et Adams (1989) ont mesuré des taux de dégradation de la lignine allant de 17% à 53% de l'herbe initiale pendant 100 jours de compostage. Tomati et al. (1995) ont mesuré une réduction de 70% de la teneur en lignine dans du compost de déchets d'olive après 23 jours (la phase thermophile), à une humidité entre 65-83%. En revanche, dans une étude d'incubation en laboratoire, Horwath et al. (1995), ont mesuré une dégradation de la lignine de 39% pendant la phase thermophile et 25% au

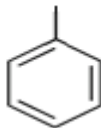
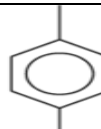
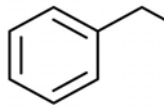
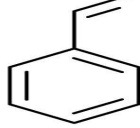
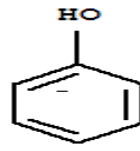
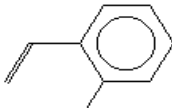
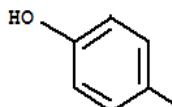
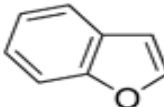
cours de la phase mésophile lors du compostage de l'herbe. Selon Yang et al. (1980), l'incubation en présence de *Phanerochaete chrysosporium*, pendant deux semaines à 39-40 °C, a permis d'augmenter le taux de dégradation de lignine de 5,2% à 29,8%. Les différents taux de dégradation de lignine ne sont pas seulement attribués aux conditions du compostage (température, humidité et teneur d'azote...), mais peuvent s'expliquer, en partie, par l'origine de la matière végétale à composter. Ladisch et al. (1983), ont montré que la lignine de gymnospermes est composée d'alcool coniférylique, et celui des angiospermes comme le palmier dattier que nous avons utilisé, est composé d'alcools à la fois coniférylique et sinapylique, et l'herbe est composée de la lignine coniférylique, sinapylique, et p-coumaryl alcools.

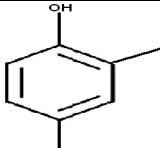
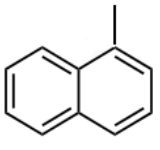
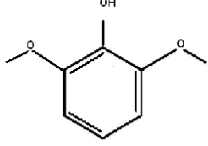
Dans notre cas, le taux de dégradation de la lignine (Tableau 1) est de 8 et 21,5 % pendant la phase thermophile et de 27 et 25% à la fin de phase de maturation respectivement pour les mélanges A et B. Cette différence de dégradation entre les deux phases du co-compostage est liée aux conditions du milieu, en particulier la présence d'azote, des actinomycètes et des champignons décomposeurs. La phase de maturation semble mieux adaptée à la dégradation de la lignine. Différents auteurs (Mustin, 1987 ; Ait Baddi et al., 2004) ont montré qu'après la phase de stabilisation, qui est caractérisée par l'intense activité microbiologique et une biodégradation des molécules facilement métabolisables, l'épuisement du milieu ralentit l'activité des bactéries et déclenche l'activité fongique ayant la capacité enzymatique susceptible d'attaquer la lignine. Une spécificité d'attaque est surtout enzymatique de ces composés malgré leurs structures complexes, principalement par des champignons aérobies filamenteux et les actinomycètes (Kirk et Farrell, 1987 ; Tuomela et al., 2000). Cependant, Tuomela et al. (2000), ont rapporté que la lignine subit de fortes modifications et dégradations pendant le compostage. De même, Kogel-Knabner (2002), a expliqué que la lignine subit une oxydation graduelle ainsi qu'une incorporation de groupements carboxyles durant sa biodégradation. Il en résulte une dégradation partielle de la lignine, et une libération de molécules qui constituent, avec d'autres molécules issues de la dégradation des composés non ligneux, des précurseurs de substances humiques, par des mécanismes de polymérisation qui demeurent complexes (Piccolo et al., 2000). Le suivi des composés issus de la dégradation de lignine par Py-GC-MS, permettra certainement d'identifier ces composés et d'apporter des informations quant à leurs biodégradation, et/ou leurs incorporation lors de la formation des substances humiques et /ou leurs adsorption par la matrice organique du compost.

3. 2. Evolution des composés ligneux au cours de co-compostage

L'analyse des pyrogrammes type (TIC) a montré la présence de 11 principaux dérivés ligneux (Figure 1, Tableau 2). Ces dérivés identifiés peuvent être regroupés en deux groupes en fonction de leurs comportements durant le processus du co-compostage. Le groupe 1 est composé de 7 dérivés (toluène; 2,4-diméthylbenzène; éthylbenzène; styrène; 1-éthyl-2-méthylbenzène; 4-méthylphénol et 2-méthyl-naphthalène) dont les teneurs diminuent au cours du co-compostage. Le groupe 2 est composé de 4 dérivés (phénol; benzofuran; éthylméthoxyphénol et diméthoxyphénol), dont les teneurs augmentent au cours du co-compostage.

Tableau 2: Structures moléculaires et temps de rétention des dérivés identifiés par Py-GC-MS au cours du compostage de boues de STEP-déchets de palmier

Composés ligneux du mélange A and B	RT (mn)	N° du pic	Composés	Structures moléculaires
Toluène	3,97	1	Alkylbenzène	
2,4-diméthylbenzène	5,30	2	Alkylbenzène	
éthylbenzène	5,84	3	Alkylbenzène	
Styrène	6,57	4	Alkylbenzène	
Phénol	9,05	5	phénol	
1-éthyl-2-méthylbnzène	10,43	6	Alkylbenzène	
4-méthylphénol	11,92	7	Alkylphénol	
Benzofuran	16,41	8	furane	

Ethylméthoxyphénol	19,06	9	Guaiacyl	
2-Méthyl-naphthalène	19,19	10	Alkyl-naphthalène	
Diméthoxyphénol	25,76	11	Syringyl	

Ces molécules sont des dérivés benzéniques plus ou moins substitués (méthyl ou éthyl), des dérivés hydroxylés (phénols) ainsi que des dérivés polyaromatiques (benzofuran, 2-méthyl-naphthalène) issus de structures végétales comme la lignine ou les tanins présentes dans les déchets de palmier (Macheix et al., 2005). Selon Zhao et al. (2012), les composés aromatiques dérivés de la lignine sont également des composantes majeures de pyrolysats.

Les dérivés phénols peuvent provenir de la lignine décomposée du tronc (Saiz-Jimenez et De Leeuw, 1987), des dérivés d'autres structures, comme les protéines, les acides polycarboxyliques (Bracewell et al., 1980), et des polysaccharides (Wilson et al., 1983). Selon les mêmes auteurs, une grande partie des phénols et méthoxy-phénol proviennent de biodégradation de la lignine. Le toluène peut provenir de la lignine (Klap et al., 1998), comme aussi bien que des protéines ou d'acides aminés (Nierop et al., 2001). Fabbri (2001), a montré que le toluène et le styrène sont libérés lors de la pyrolyse, à la fois d'origine naturelle et des polymères synthétiques. Le styrène peut provenir de la lignine mais plus sûrement des protéines/peptides et des tannins non hydrolysables dégradés (Dignac et al., 2006). D'autres études ont considéré le styrène comme le marqueur de dégradation de la lignine (Nierop et al., 2005). D'autres auteurs (Fabbri, 2001; Junga and Park, 2005; García-Peña et al., 2008, Chen et al., 2013), ont aussi identifié certaines molécules, dans l'environnement et dans certains déchets organiques, comme des contaminants, benzène, toluène, éthybenzène, et styrène, ceci peut expliquer que dans notre cas, une partie de ces composés peuvent aussi provenir des boues de STEP.

Dans nos conditions expérimentales, la diminution des dérivés ligneux, après 6 mois du co-compostage est de 82,59 et 42,55 % pour 2,4-diméthylbenzène; de 78,59 et 75,93 % pour le 2-méthyl-naphthalène; de 72,35 et 63,85 % pour le 1-éthyl-2-méthylbenzène; de 66,31 et 64,81

% pour éthylbenzène, 24,71 et 20,96 % pour le styrène ; de 17,28 et 26,8 % pour toluène, et de 3,65 et 12,96 % pour le 4-méthylphénol, respectivement pour les mélanges A et B (Figure 2).

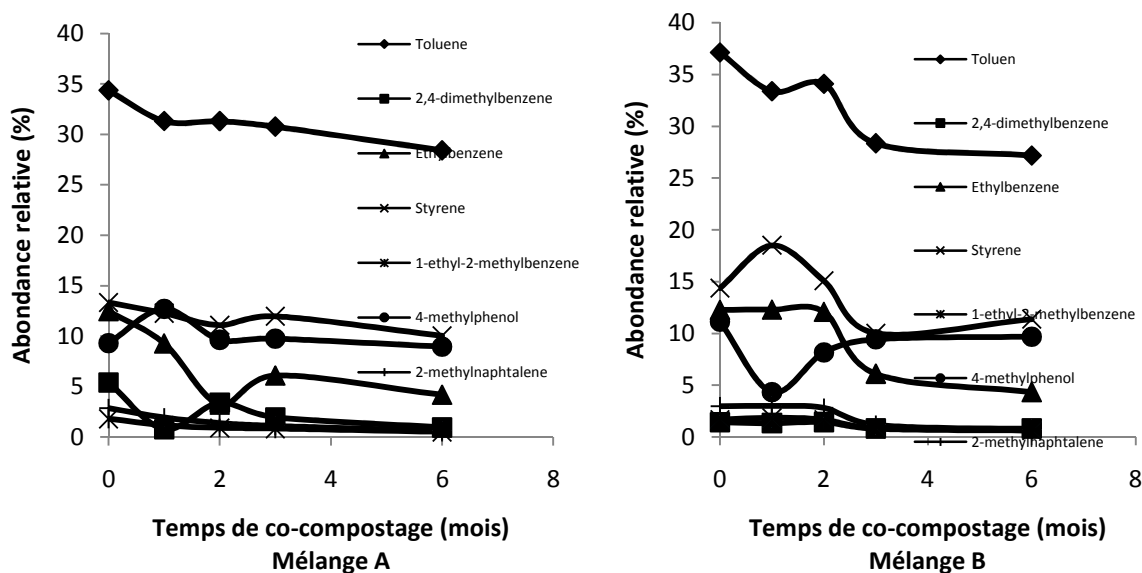


Figure 2: Evolution de différents composés ligneux, ayant diminué par rapport à T0, au cours du co-compostage des mélanges A et B

Cette diminution de taux des dérivés ligneux est en partie le résultat de leur métabolisation et biodégradation favorisée par les conditions du co-compostage (humidité, température et la présence des micro-organismes décomposeurs), pendant les deux principales phases de compostage (phase de stabilisation et phase de maturation). Bien que la lignine résiste à l'attaque de la plupart des microorganismes, d'autres types spécifiques des microorganismes, sont connus pour avoir un pool enzymatique pour attaquer la lignine et ces dérivés dans le milieu. En particulier certaines souches bactériennes et les champignons qui ont été identifiées pour dégrader la lignine. Des études récentes ont montré que les composés dérivés de la lignine sont rapidement dégradés dans le sol (Gleixner et al., 2002; Dignac et al., 2005). D'autres auteurs ont montré que quelques espèces bactériennes pourraient métaboliser la lignine et les composés liés à la lignine en composés de faible poids moléculaire (Jokela et al., 1987; Kumar et al., 2001). Ceci peut justifier les taux de diminution des dérivés ligneux observés lors du co-compostage des mélanges A et B. Dans notre cas, le mélange B (constitué de 50% de boues) a présenté un taux de dégradation de dérivés ligneux de 21,5 % en phase de stabilisation, alors que le mélange A (1/3 de boues) ne présentait que 8%; ceci peut s'expliquer par l'enrichissement du milieu en inoculum bactérien par les boues activées utilisées et qui a

favorisé la dégradation des composés ligneux pour le mélange B pendant la phase thermophile. Raj (2007), a identifié trois souches bactériennes : *Paenibacillus*, *Aneurinilyticus* et *Bacille* espèces d'*Aneurinibacillus* qui agissent sur la décoloration de la lignine et la libération des composés aromatiques de faibles poids moléculaires, après 06 jours d'incubation. Au cours de la minéralisation de lignine, une partie du carbone peut être dissoute dans l'eau (Hofrichter et al., 1999; Steffen et al., 2000; Tuomela et al., 2002), et une autre partie du carbone, extrêmement faible, dérivés de la lignine à travers son processus de transformation est incorporée dans la biomasse microbienne (Martin et al., 1980; Stott et al., 1983).

Les *Basidiomycètes* et *Ascomycètes*, sont les principaux décomposeurs de la lignine dans la nature (Tuomela et al., 2000). Selon Kirk et Farrell (1987). Les champignons grâce à leurs activités enzymatiques (ligninolytique) peuvent libérer un certain nombre de fragments aromatiques de faible poids moléculaire par des changements oxydatifs et la dépolymérisation progressive de la lignine. *Phanerochaete chrysosporium* est un champignon de pourriture blanche, ayant fait l'objet de nombreuses études pour ses capacités de production d'enzymes actives dans la dégradation de la cellulose et de la lignine, à des températures optimales de 36 à 40°C avec un maximum de 46 à 49°C (Mouchacca, 1997). Nakasaki et al. (2009), ont montré que les actinomycètes thermophiles (*Thermobifida fusca*) produisent des enzymes pour la dégradation des composés lignocellulosiques. Les actinomycètes agissent plus tardivement, ils apparaissent aussi bien lors de la phase thermophile que pendant la phase de maturation du compostage (Tuomela et al., 2000; Xiao et al., 2011). García-Peña et al. (2008), ont montré la biodégradation du benzène, éthylbenzène et toluène dans des biofiltres à base d'un champignon filamenteux *Paecilomyces variotii* CBS115145. Gunsch et al. (2005), ont montré qu'*Exophiala lecanii-corni* est capable de dégrader plusieurs composés organiques y compris l'éthylbenzène. D'autres auteurs ont mis en exergue la biodégradation du styrène par les *Pseudomonas sp* (O'Leary et al., 2002) et par la souche *Rhodococcus pyridinovorans*, utilisée pour le traitement des eaux usées (Jung et Park, 2005). Il est très connu, en matière de compostage, que la phase de maturation est dominée essentiellement par l'activité des champignons et des actinomycètes, ce qui expliquerait, en partie, les taux de diminution, observés pendant notre cas en phase de maturation et qui sont de l'ordre de 27 et 25 %, respectivement pour les mélanges A et B.

Le groupe des 7 dérivés ligneux qui diminuent au cours du co-compostage peuvent être classés en deux catégories. La première catégorie regroupe le 2,4-diméthylbenzène, 2-méthyl-naphthalène, 1-éthyl-2-méthylbenzène et éthylbenzène dont le taux de diminution est

élevé (entre 40 et 82%). Cet abattement très élevé laisse avancer l'hypothèse que ces 4 dérivés sont facilement biodégradables, lors du compostage de boues-déchets de palmier, ou bien sont facilement transformés en d'autres dérivés ligneux ayant augmenté au cours du co-compostage. La deuxième catégorie regroupe le styrène, toluène et 4-méthylphénol dont l'abattement est faible à moyen et qui est compris de 3 à 27%. Ceci laisse prédire que ces dérivés sont adsorbés par la matrice organique du compost y compris les substances humiques, et/ou transformés en d'autres dérivés qui augmentent au cours du compostage, et/ou bien ils sont incorporés directement dans la structure des substances humiques. De plus, la légère augmentation observée pendant la phase de stabilisation qui est de l'ordre de 3,4 % pour le dérivé 4-méthylphénol (mélange A) et de 4,13% pour le styrène (mélange B) est attribué aux phénomènes d'adsorption-désorption sur la matrice organique. Des phénomènes identiques ont été mis en évidence pour les HAPs, lors du compostage de boues de lagunage-paille (Amir et al., 2005) et boues activées-gazon (Hafidi et al., 2008). Chen et al. (2013), ont étudié les phénomènes d'adsorption-désorption du toluène sur les déchets organiques solides. Ils ont montré que la matière humique peut former une liaison covalente avec du toluène et/ou des intermédiaires de la biodégradation du toluène, avec une affinité plus importante pour les acides humiques par rapport aux acides fulviques. Haas et Kaplan (1985), ont mis en évidence la liaison acide humique-toluène. Zhao et al. (2012), ont identifié l'ensemble de ces dérivés lors de l'étude des acides humiques par Py-GC-MS.

Pour l'ensemble de ces 7 dérivés (2,4-diméthylbenzène, 2-méthyl-naphthalène, 1-éthyl-2-méthylbenzène, éthylbenzène, styrène, toluène, 4-méthylphénol) les teneurs relative (en %) sont inférieures à 11% pour A et B, à l'exception du toluène qui reste à 28,4 et 27,2%, après 6 mois du co-compostage, respectivement pour le mélange A et B. Ces quantités de dérivés peuvent correspondre aux dérivés incorporés dans les substances humiques, dont les teneurs sont de 30 et 26 g/kg respectivement pour le mélange A et B, en plus des débris végétaux non composés dans lesquels les dérivés ligneux restent intacts. Néanmoins pour le toluène, la valeur enregistrée peut être expliquée, par son adsorption par les acides humiques dont les teneurs sont de 18 g/kg (mélange A) et 13 g/kg (mélange B) en raison de leurs affinités, comme l'ont montré Chen et al. (2013). Les enzymes ligninolytiques peuvent également polymériser la lignine, en augmentant sa liaison avec les substances humiques (Dec et Bollag, 1994; Hatakka, 2001). Selon plusieurs études, la lignine et ses dérivés constituent les précurseurs nécessaires pour la formation des substances humiques (Tate, 1987; Shevchenko et Bailey, 1996 ; Amir et al., 2006). La liaison des dérivés ligneux avec les substances

humiques (liaisons covalentes), induit une résistance à la dégradation par les champignons (Haider et al., 1977 ; Tate, 1987).

Le groupe des 4 dérivés ligneux qui augmente au cours du co-compostage est présenté sur la Figure 3. Ces augmentations sont de l'ordre de, 257 et 227% pour le phénol, 208 et 287% pour le benzofurane, 113 et 146% pour éthylmethoxyphénol et de 266 et 456% pour le diméthoxyphénol, après 6 mois du co-compostage, respectivement pour le mélange A et B.

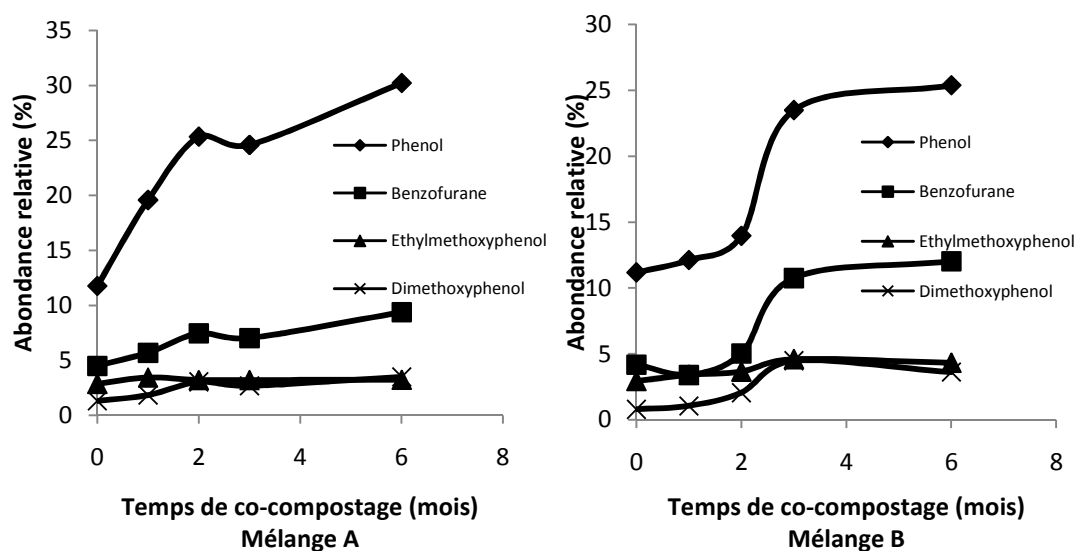


Figure 3: Evolution de différents composés ligneux, ayant augmenté par rapport à T0, au cours du co-compostage des mélanges A et B

Ceci peut s'expliquer par une accumulation de ces dérivés au fur et à mesure de leur libération suite à l'attaque partielle de la lignine. Il s'en suit l'incorporation de ces dérivés dans la structure des substances humiques et/ou adsorbés par celles-ci. Dans notre cas, les teneurs des substances humiques sont de 17 et 15 g/kg au stade initial, et de 30 et 26 g/kg au stade final, respectivement pour les mélanges A et B. Lors de l'analyse par pyrolyse à différents stades, le pyrolysats s'enrichit par l'ensemble des dérivés y compris ceux qui sont incorporés ou adsorbés sur les substances humiques. Zhao et al. (2012), ont identifié l'ensemble de ces dérivés lors de l'étude des acides humiques par Py-GC-MS. D'autres réactions peuvent se produire dans le milieu et qui permettent la transformation des dérivés qui diminuent (groupe de 7) au cours du co-compostage pour donner naissance aux nouveaux dérivés (groupe de 4), ce qui expliquerait, en partie, leurs augmentations. Les dérivés benzéniques sont facilement transformés en phénols par différentes oxydases par le biais d'une peroxydation partielle du cycle, leur conversion par des enzymes de type laccase en dérivés alkylés nécessitent un milieu réducteur (Macheix et al., 2005). La production de benzofurane peut être associée soit

à la diminution du styrène initialement présent soit à une conversion liée à la pyrolyse en phase gazeuse de l'échantillon. La présence prépondérante de composés aromatiques benzofuran suggère un caractère fortement humifié du matériel organique (Righi et al., 1995). D'autres auteurs (Guthrie et Pfaender, 1998), ont confirmé que certains composés benzéniques sont incorporés en grande partie (43-80 %) à la structure de substances humiques, ce qui en faveur de l'implication de différents dérivés ligneux qui augmentent, au cours du co-compostage dans le processus d'humification.

Afin d'évaluer ces changements structurels produits au cours de la biotransformation de la lignine et la formation des substances humiques, l'indice de la diversité de Shannone Weaver (Ish) a été calculé selon la relation suivante :

$$Ish = - \sum_i^n P_i \log_2 P_i, \quad 0,5 < Ish < 4,5$$

Avec P_i : abondance relative de chaque dérivé

L'indice de Shannon Weaver (Ish) reflète le degré de diversité à l'intérieur du polymère (lignine) et par conséquent des substances humiques. Un indice (Ish) faible désigne une diversité et un système complexe. Plusieurs auteurs (Alcaniz et al., 1983 ; Ayuso et al., 1996) ont utilisé (Ish) pour étudier l'organisation des composés organiques du sol et des acides humiques. Amir et al. (2006b) l'ont utilisé pour étudier des acides humiques par Pyrolyse-GC-MS et Amir et al. (2006a) pour les acides fulviques. Ayuso et al. (1996) ont montré que la faible valeur de (Ish), déterminée à partir des données de pyrogramme, doit être le résultat d'un processus sélectif tel que l'humification.

Dans notre cas (Figure 4), l'indice Ish (mélange A) est relativement élevé au début du co-compostage puis il diminue vers la fin de la phase de maturation. Pour le mélange B, Ish reste faible au début du co-compostage, augmente pendant les stades intermédiaires et diminue à la fin du co-compostage. L'augmentation s'explique par l'augmentation relative de la diversité structurelle de la lignine, ce qui enrichi la qualité des substances humiques par la formation de dérivés de lignine avec d'autre structure, les composés azotés, les polysaccharides, les lipides et d'autres composés non déterminés dans la présente étude à savoir les quinones et hydroquinone. La diminution de l'indice de Ish à la fin du co-compostage peut s'expliquer par l'importance des processus sélectifs et/ou d'oxydation des chaînes latérales et des sous unités des polymères de la lignine. Ceci correspond à une faible diversité des dérivés de la lignine à la fin du co-compostage, en raison de leur incorporation et/ou adsorption de ces derniers aux

structures des substances humiques. Amir et al. (2006a) et Ayuso et al. (1996), ont publié des résultats comparables et ont attribué la faible valeur de l'indice Ish aux processus sélectifs.

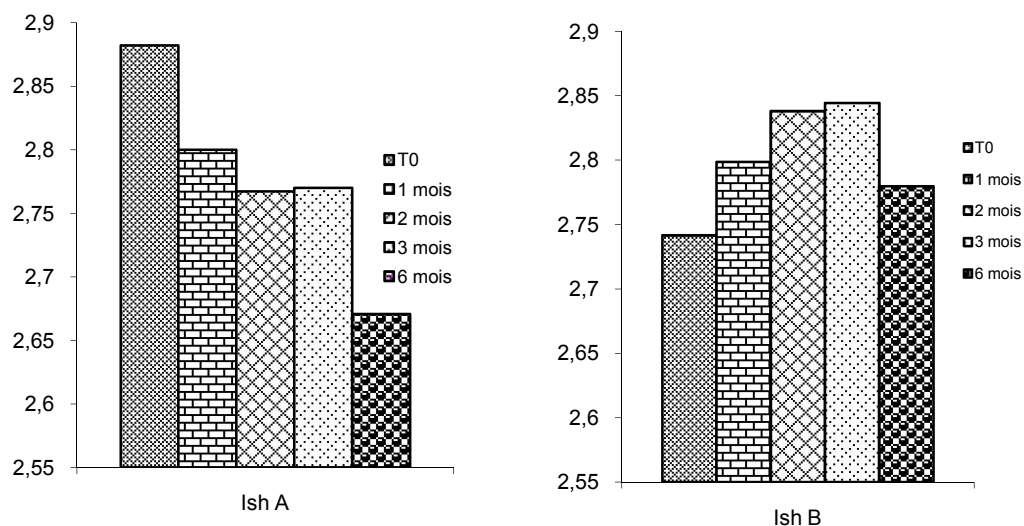


Figure 4: Evolution de l'indice de Shannon Weaver (Ish) au cours du co-compostage des mélanges A (Ish A) et B (Ish B)

4. Conclusion

L'identification et le suivi des composés ligneux lors du co-compostage montrent un taux de dégradation de la lignine de 8 et 21% pour la phase de stabilisation et de 27 et 25% à la fin de phase de maturation respectivement pour les mélanges A et B. Ceci est le résultat de leur métabolisation et biodégradation favorisée par les conditions du compostage : humidité, température et la présence des micro-organismes décomposeurs. Les principaux composés ligneux identifiés sont classés en deux groupes. Le premier groupe est constitué de 7 composés qui diminuent avec différents pourcentage au cours du co-compostage (82,59 et 42,55 % pour 2,4-diméthylbenzène; de 78,59 et 75,93 % pour le 2-méthyl-naphthalène; de 72,35 et 63,85 % pour le 1-éthyl-2-méthylbenzène; de 66,31 et 64,81 % pour éthylbenzène 24,71 et 20,96 % pour le styrène; de 17,28 et 26,8 % pour le toluène, et de 3,65 et 12,96 %

pour le 4-méthylphénol, pour les mélanges A et B respectivement). Ceci est le résultat combiné de leur métabolisation et leur transformation en d'autres composés.

Le deuxième groupe est constitué de 4 composés qui augmentent au cours du co-compostage. Il s'agit de, 257 et 227 % pour le phénol, 208 et 287 % pour le benzofuran, 113 et 146 % pour l'éthylméthoxyphénol et de 266 et 456 % pour le diméthoxyphénol, respectivement pour les mélanges A et B. Cette augmentation peut s'expliquer par une accumulation de ces dérivés au fur et à mesure de libération suite à l'attaque partielle de la lignine. Il s'en suit, l'incorporation de ces dérivés dans la structure des substances humiques et/ou adsorbés par celles-ci.

Chapitre 4: Evolution des composés stéroïdes au cours du co-compostage

1. Introduction

L'accumulation de certains composés organiques est répercutée néfaste pour l'environnement Lai et al. (2002). Gomes et al. (2004), ont montré que les stéroïdes sont susceptibles de subir une biotransformation, bien qu'ils aient le potentiel de bio-concentration, ce qui peut générer de sérieux problèmes environnementaux (Carballo et al., 2005). Un tel comportement complexe, qui n'est pas entièrement compris, conduit à l'incertitude dans la détermination de l'importance de leur présence dans l'environnement (Lai et al., 2002). Les facteurs intervenant dans leur dégradation nécessitent d'être élucidés.

Quelques dérivés stéroïdes ont été considérés comme des biomarqueurs de pollution. Ces dérivés peuvent être utilisés dans les deux milieux liquides à savoir les eaux usées, et les sédiments (Nichols et al., 1993; O'Leary et al., 1999). De même, Tyagi (2007), Nash et al. (2005), ont identifiés des biomarqueurs chimiques les stérols fécaux et ils les ont utilisés comme des biomarqueurs de la pollution dans les eaux usées urbaines. D'autres auteurs (Jen et Han 1994; Gomez et al., 1998 ; Nash et al., 2005; Tyagi, 2007), ont montré d'après leurs études, que le 5 β -stigmastanol et le 5 β -cholestanol sont des biomarqueurs chimiques des stérols fécaux et ils les ont utilisés comme des biomarqueurs fiables de la pollution des eaux usées urbaines.

L'objectif de ce chapitre vise à identifier et suivre l'évolution des stéroïdes au cours du co-compostage des boues-déchets palmier, par Py-GC-MS. Ceci se justifie par l'intérêt que pourra présenter les stéroïdes et les multiples renseignements qu'ils peuvent apporter sur la qualité des composts en termes d'enrichissement du milieu en précurseur d'humification et d'évaluation de degré de pollution. De même, il s'agira d'apporter, certaines précisions sur les stéroïdes et le compostage, en raison de la rareté des données de ce sujet.

2. Matériel et Méthodes

La pyrolyse est effectuée aux mêmes conditions physiques de la pyrolyse des composés ligneux (voir chapitre 3 section matériel et méthode). Les standards utilisés sont le 5 α -cholestan-3 β -ol (Chiron), 5 β -cholestan-3 β -ol (coprostanol) (Sigma), 24-ethyl-5 α -cholestan-3 β -ol (Chiron), 5 α -cholestan-3-one (Sigma), 5 β -cholestan-3-one (Chiron) et cholest-5-ene (Sigma). Le 3 β -thio-5 α -cholestane a été fourni par Dr P. Adam (Université de Strasbourg). Le pourcentage relatif de chaque composé stéroïde est calculé selon la formule :

$$P_i = \frac{a_i}{\sum_1^n a_i}$$

3. Résultat et Discussion

3.1. Evolution des stéroïdes au cours du co-compostage

Les pyrogrammes (Figure 1) montrent une diversité de composés organiques obtenus à partir des échantillons boues-déchets palmier, à différents stades de co-compostage, par Py-GC-MS, en termes de teneurs relatives.

Les principales familles identifiées sont des terpènes tetracycliques : 3 stérènes, 1 stéradiène, 4 stanols, 1 stanone, et 2 thiostérans (Tableau 1). Les 4 isomères de cholestènes et de 24-éthyl-cholestènes sont nommés (1 à 4), et les deux isomères des 24-méthylcholestènes sont désignés (1 et 2). Le diène identifié est le cholesta-3,5-diène ($\Delta^{3,5}$ cholestadiène). Pour les 4 stanols, cholestanone, thiocholestane et thiocampestane, leur groupe fonctionnel est localisé sur le carbone 3.

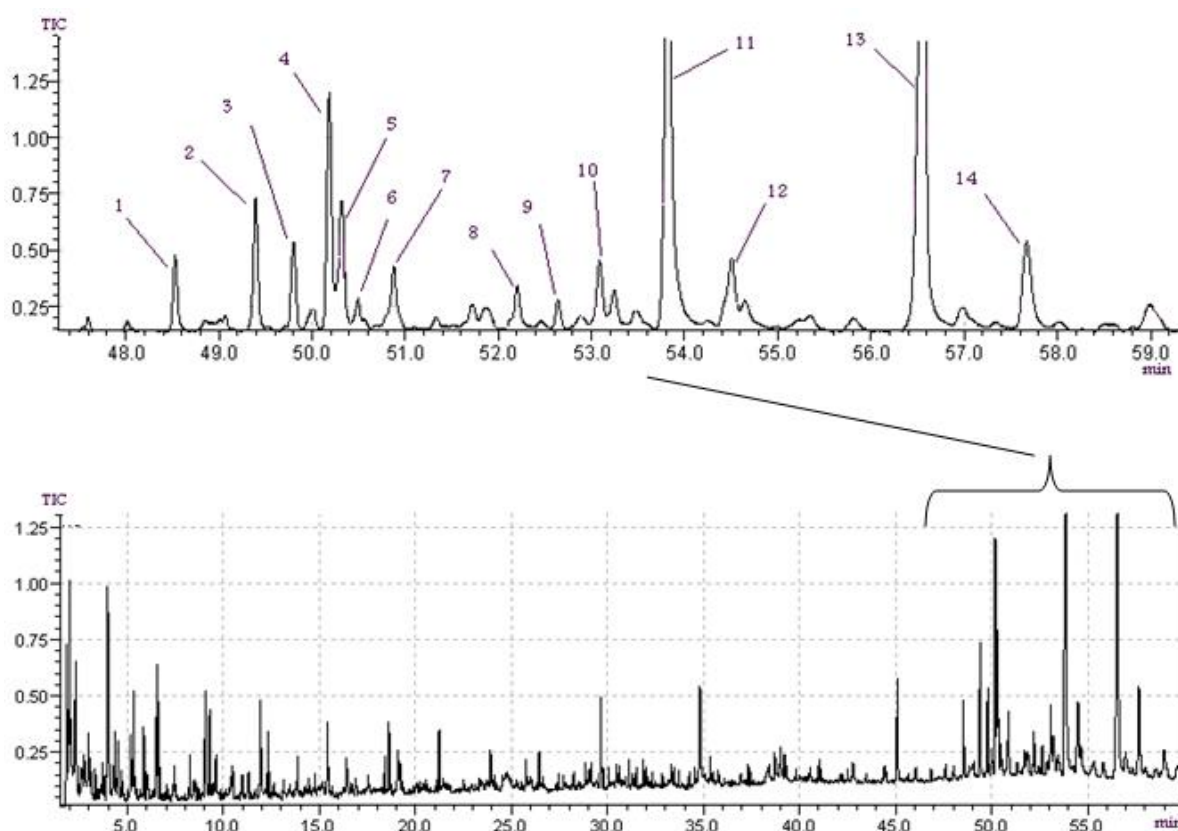
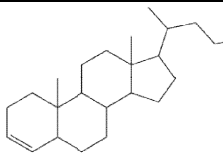
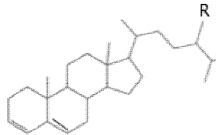
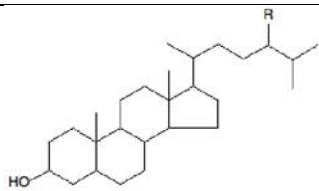
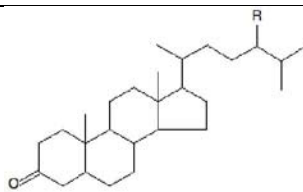
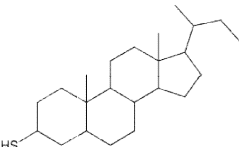


Figure 1: Pyrogramme (TIC) des composés stéroïdes identifiés à T0 lors du co-compostage

Tableau 1: Les stéroïdes identifiés au cours du co-compostage

Familles	Composés	Groupe alkyl à C24	Structures
Stérènes	cholestène	R= H	
	24-méthylcholestène (campestène)	R=Me	
	24-éthylcholestène (stigmastène)	R =Et	
Stéradiène	cholesta-3,5-diène $\Delta^{3,5}$ -cholestadiène)	R=H	
Stanols	5 β -cholestan-3-ol (coprostanol)	R= H	
	5 α -cholestan-3-ol (cholestanol)	R = H	
	24-méthyl-5 α -cholestan-3-ol (campestanol)	R = Me	
	24-éthyl-5 α -cholestan-3-ol (stigmastanol)	R = Et	
Stanone	5 β -cholestan-3-one	R = H	
Thiostéranes	3 β -thio-5 α -choléstane (thiocholestane)	R= H	
	3 β -thio-24-méthyl-5 α -choléstane (thiocampestanane)	R = Me	

Les stanones sont identifiées sous forme 5 β -cholestan-3-one (différent de 5 α -isomer) sur la base des temps de rétention GC et des spectres de masse. Les stanols ont été identifiés (par

rapport aux standards) comme le 5 α - et 5 β -cholestan-3 β -ols, 24-méthyl- et 24-éthyl-5 α -cholestan-3 β -ols, et les thiocholestane comme 3 β -thio-5 α -cholestane (Tableau 1).

En fonction de leur pourcentage relatif au cours du co-compostage, les stéroïdes peuvent être classés en trois groupes (Tableau 2). Le premier groupe dont les concentrations diminuent (Figure 2) est constitué des cholestènes (1, 2), $\Delta^{3,5}$ -cholestadiène, 24-éthylcholestènes (1, 2), 5 β -cholestan-3 β -ol (coprostanol), 5 α -cholestan-3 β -ol, 5 β -cholestan-3-one et 24-éthyl-5 α -cholestan-3 β -ol (stigmastanol). Le deuxième groupe contient les isomères cholestène (3 et 4), l'isomère 3 de 24-éthylcholestène, thiocholestane et thiocampestane dont le pourcentage augmente au cours du co-compostage (Figure 3). Les variations de ces deux groupes sont progressives, cependant le troisième groupe composé seulement de trois stéroïdes avec des fluctuations sans aucune tendance au cours du stade du co-compostage, il s'agit de deux isomères (1 et 2) de 24-méthylcholestènes et l'isomère 4 de 24-éthylcholestène (Tableau 2).

La teneur initiale des stéroïdes est de 30% du total des composés organiques identifiés. En tenant compte de la biodégradation dans le milieu, le taux de décomposition de ces composés est de l'ordre de 23% et 8 % en phase de stabilisation (1^{er} mois) et la dégradation continue pour atteindre un taux d'abattement de l'ordre de 68% et 55% à la fin de la phase de maturation (après 6 mois) respectivement pour le mélange A et B. Les composés stéroïdes semblent moins résistants que les composés ligneux. Plus important, une disparition totale des stanols a été observée, il s'agit du coprostanol et cholestanol (5 β - et 5 α -cholestanols, respectivement), 24-méthylcholestanol (campestanol), et 24-éthylcholestanol (stigmastanol) (Tableau 2, Figure 2).

Tableau 2: Abondance relative (%) des stéroïdes identifiés au cours du co-compostage

Composés	Isomères	MW	Numéro de pic	Temps de Rétention (min)	Temps de co-compostage (mois)						Tendance
					0	1	2	3	6		
					Abondance relative (% stéroïdes)						
Cholestènes	<u>1</u>	M= 370	1	49,4	2,55	2,41	1,71	0,62	0,31	↘	
	<u>2</u>		2	49,8	1,29	1,23	0,91	0,57	0,35	↘	
	<u>3</u>		3	50,2	4,25	4,35	4,96	5,10	7,06	↗	
	<u>4</u>		4	50,3	2,80	2,74	3,03	3,32	4,42	↗	
Cholesta-3,5-diène		M = 368	5	50,9	1,25	1,00	0,87	0,74	0,69	↘	
24-méthylcholestènes (campestènes)	<u>1</u>	M = 384	6	51,7	5,28	5,24	5,56	5,60	4,12	-	
	<u>2</u>		7	51,9	7,18	4,99	5,47	5,43	6,43	-	
24-éthylcholestènes (stigmastènes)	<u>1</u>	M = 398	8	52,2	0,98	0,98	0,73	0,49	0,34	↘	
	<u>2</u>		9	52,6	0,49	0,48	0,36	0,23	0,13	↘	
	<u>3</u>		10	53,1	1,48	1,62	1,87	1,88	2,43	↗	
	<u>4</u>		11	53,2	8,81	7,87	8,98	7,90	8,10	-	
5β-Cholestan-3β-ol (coprostanol)		M = 388	12	53,8	9,56	7,16	3,46	1,45	0,23	↘	
5β-Cholestan-3-one		M = 384	13	54,5	2,11	1,68	0,85	0,62	0,08	↘	

Partie I

5 α -Cholestan-3 β -ol		M = 388	14	54,6	4,81	4,45	5,32	4,98	0,06	↗
Ratio (5 β):(5 β +5 α) cholestanols					0,66	0,61	0,39	0,22	0,79	
24-méthyl-5 α -cholestan-3 β -ol(campestanol)		M =402	15	55,8	4,89	4,14	0,04	0,02	0,02	↗
24-éthyl-5 α -cholestan-3 β -ol(stigmastanol)		M = 416	17	57,7	2,37	1,94	1,06	0,47	0,06	↗
Thiocampestane (24-méthyl-3 β -thio-5 α -cholestane)		M = 418	18	59,0	15,74	16,15	19,81	20,39	21,66	↗
Thiocholestane (3 β -thio-5 α -cholestane)		M = 404	16	56,5	23,28	30,78	34,26	39,35	42,91	↗

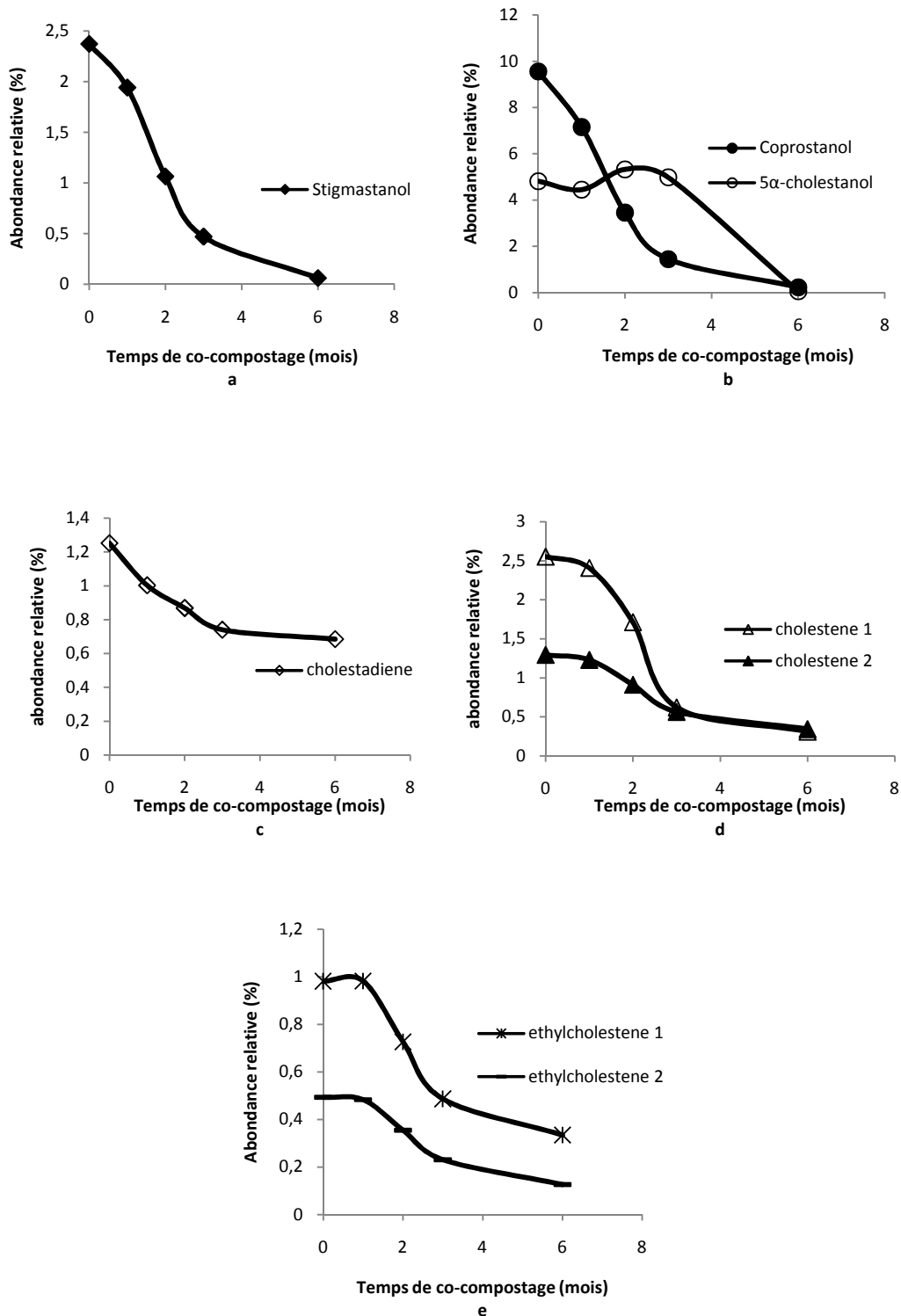


Figure 2: Variations de l'abondance relative des stéroïdes au cours du co-compostage

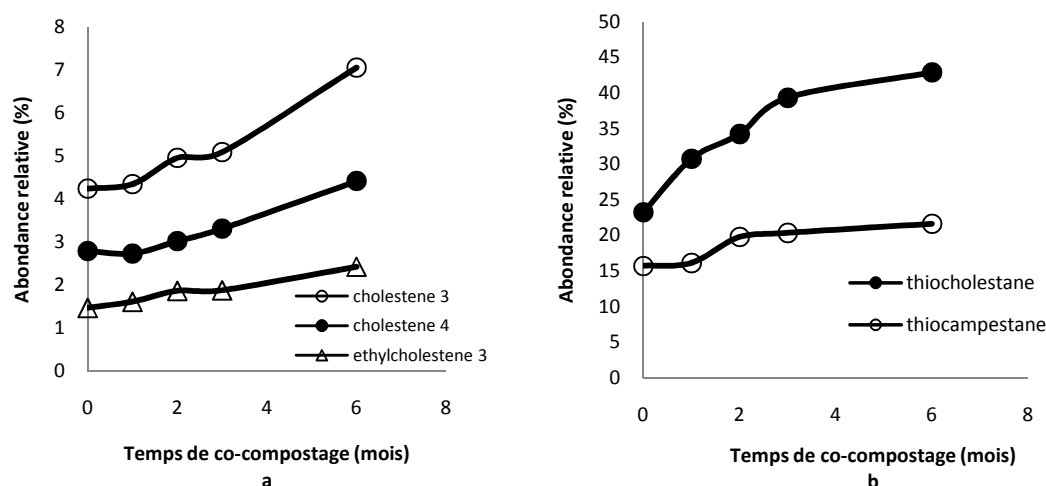


Figure 3: Evolution des cholestènes 3 et 4, éthylcholestène 3, thiocholestane et thiocampestane au cours du co-compostage

Tous les stéroïdes identifiés dans les pyrolysats proviennent des C₂₇-C₂₉ stérols, principalement le cholestérol (cholest-5-en-3 β -ol) qui est un composé ubiquiste (animal, zooplancton, algue) (Takada et Eganhouse, 1998) et les phytostérols comme sitostérol “ β -sitostérol” (24-éthylcholest-5-en-3 β -ol), stigmastérol (24-éthylcholest-5,22-dien-3 β -ol), campestérol (24-méthylcholest-5-en-3 β -ol). Aucun composé stérol n’a été détecté dans les pyrolysats, même pour l’échantillon au stade initial (T0), malgré la présence de déchets de plantes réputées comme origine essentielle. Malgré la présence de cholesta-3,5-diène, la déshydratation des stérols libres est probablement produite durant la pyrolyse. De plus aucun produit de déshydratation des stérols végétaux comme le 24-méthyl-ou 24-éthyl-cholesta-3,5-diène n’a pu être identifié.

La diminution de plusieurs stéroïdes au cours du co-compostage peut être expliquée par l’action des différents types de microorganismes sous les conditions physico-chimiques du milieu de co-compostage. L’activité enzymatique microbienne a un large éventail dans la dégradation des composés organiques, et dans différents milieu. Wilson et Hrutfiord (1975), ont montré que la présence d’oxygène active la biodégradation de ces molécules par différents types des microorganismes. Toutefois la majeure partie de la biotransformation des stéroïdes a été attribuée aux bactéries, champignons et levures.

La cholestérol oxydase a été isolée et caractérisée à partir de *Rhodococcus sp.* (Turffit, 1944, Lashkarina et al., 2010). Plus tard, elle a été identifiée chez des bactéries de différents milieux à la fois gram-positif (Rhee et al., 2002) comme *Bacillus sp* et *Streptomyces*

sp. (Fukuyama et Miyake 1979; Ghoshroy et al., 1997) et gram-négatif comme *Burkholderia* et *Chromobacterium sp* (Doukyu et al., 2008). Schatz et al., (1949); Varma et Nene (2003) ont isolé le *Pseudomonas sp.*, *Mycobacterium sp.*, *Streptomyces sp.*, *Brevibacterium sp* capable de synthétiser la cholestérol oxydase, et ils ont montré que les actinomycètes restent le groupe le plus prolifique de l'enzyme cholestérol oxydase. Ceci laisse prédire le rôle capital que jouent les actinomycètes dans la biodégradation des composés stéroïdes spécifiquement pendant la phase de maturation du co-compostage.

Kanchana et al. (2011), ont mis en évidence une intense activité enzymatique chez *Micrococcus sp.* durant la phase de stabilisation de compostage à pH = 7 et une température de l'ordre de 50 °C. Cependant, *Bacillus sp.* peut avoir une activité enzymatique à des températures jusqu'au 75°C (Liu et al., 1988). Quelques autres espèces de champignons et levures *Fusarium culmorum* et l'*Aspergillus Niger* ont été signalés comme capables de produire la cholestérol oxydase et dégradent les stéroïdes à des composés à faible poids moléculaire (Kolek, 1999; Varma et Nene, 2003; Xiangjiu et al., 2006).

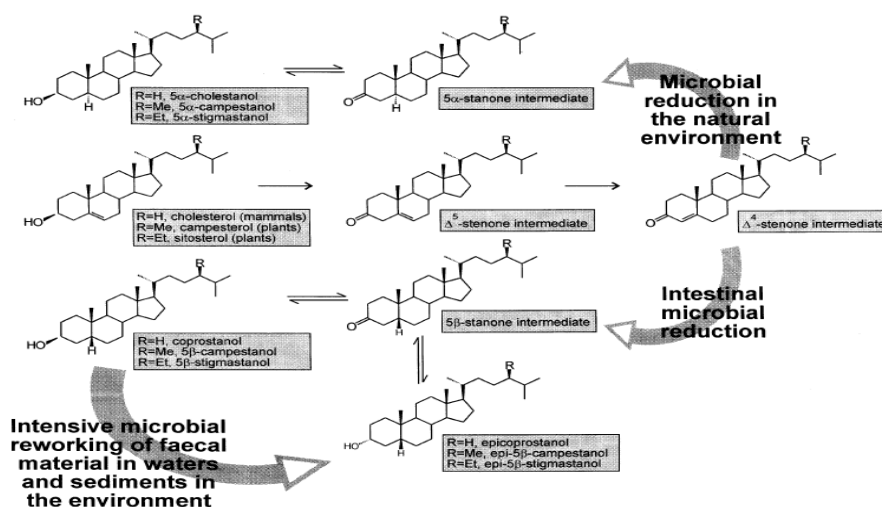


Figure 4: Schéma de la conversion des stérols en stanols proposé par (Bull et al., 2002)

La cholestérol oxydase est capable de modifier la structure physique de la membrane lipidique par transformation de cholestérol en cholest-4-en-3-one par isomérisation de cholest-5-en-3-one (Kumari et Kanwar, 2012). Dans les milieux naturels, la Δ^4 -sténonone est réduite en 5 α -stanone puis en 5 α -stanols (Eyssen et al., 1973). La même voie affecte les composés à haut poids moléculaire d'origine végétale (Bull et al., 2002) (Figure 4). Dans des conditions anoxiques, l'hydrogénation directe de stérols en 5 α -stanols peut se produire, comme ont montré Mermoud et al. (1984) dans un cas d'étude des sédiments de lac. Célerier et al. (2006),

ont montré l'hydrogénation de cholestérol et le stigmastérol en 5α -stanols après addition de compost de déchets verts au sol. Les Δ^4 -sténones étaient présents, probablement étant que composants intermédiaires.

3.2. L'abattement des stanols

Dans le présent travail, 5α -campestanol (24-méthyl- 5α -cholestan- 3β -ol) et 5α -stigmastanol (24-éthyl- 5α -cholestan- 3β -ol) provient des C28 et C29 phytostérols comme le campestérol brassicastérol, stigmastérol et β -sitostérol qui sont présents dans le palmier dattier. La conversion de stérols au stanols peut se produire naturellement dans les plantes catalysées par la 3-hydroxystéroïd oxydase et par la stéroïd 5α -réductase et le 3-kéto réductase (Noguchi et al., 1999, Venkatramesh et al., 2003), en suivant le même mécanisme mentionnés par Bull et al., (2002) (Figure 4). La diminution des stérols peut également se produire par l'intermédiaire d'une biohydrogénation dans l'environnement naturel, ou l'hydrogénation abiotique favorisée par la température relativement élevée et la présence de métaux tels que le nickel. En effet, les fibres de palmier sont en mesure de retenir et piéger les métaux, ce qui explique que ce substrat peut être utilisé pour surveiller les sites de pollution (Al-Shayeb et Seaward, 2000). Ces deux voies ont eu lieu probablement durant le stockage de trois mois de déchets de palmier pendant l'été. Le stigmastanol (avec stigmastérol) ont été trouvés comme des produits majeurs dans des plantes (Benveniste, 1986). Garcia et al. (1981) ont montré la présence du stigmastérol et du stigmastanol dans les feuilles de palmier *phoenix canariensis*. Ifzal et al. (2010), ont mis en évidence la présence des stéroïdes et des terpénoïdes dans les feuilles de palmier *Phoenix dactylifera L.* Le 5α -phytostanol identifié dans notre étude indique une contribution de déchets de palmier dattier.

Les deux autres composés de stanol identifiés sont 5β - et 5α -cholestanols correspondent aux formes réduites de cholestérol. Le 5β -stanols (coprostanol) et 5β -stigmastanol (24-éthyl- 5β -cholestanol) sont considérés comme des biomarqueurs caractéristiques de la matière fécale (Baeten et al., 2012). Les 5β -Stigmastanols n'ont pas été détectés après six mois de co-compostage. Le coprostanol est un composé caractéristique à la fois de la matière fécale humaine et animale (Leeming et al., 1996). Les β -stanols sont connus pour être des produits d'hydrogénation de Δ^5 -stérols (Bull et al., 2002) (Figure 4) par l'intermédiaire de bactéries anaérobies (Leming et al., 1996). Cependant les 5α -stanols ne sont pas considérés comme des biomarqueurs fécaux, ils résultent de la réduction de Δ^5 -stérol dans des conditions aérobies (Taylor et al., 1981). Néanmoins, Sherblom et al. (1997), proposent l'utilisation du

coprostanol et de l'épicoprostanol comme des marqueurs des ordures ménagères. Bull et al. (2002), ont rapporté que les 5 β -stanols peuvent également dériver de la réduction de stérols dans certains environnements comme les sédiments.

Dans notre cas de co-compostage, les coprostanols ont leur origine dans la boue de STEP, tandis que le 5 α -cholestanol, le 24-méthyl- et le 24-éthyl-5 α -cholestanols proviennent des stérols végétaux. Les stanols identifiés ont diminué au cours du co-compostage avec des valeurs très faibles (Tableau 2, Figure 2a, 2b.). L'abattement était régulier en fonction du temps, sauf pour le 5 α -cholestanol; la variation de son abondance relative, pourrait indiquer une production parallèle avec la dégradation jusqu'à 3 mois. En conséquence, le coprostanol produit peut être biodégradé plus rapidement que son isomère 5 α (Tableau 2). Les valeurs du coprostanol et le ratio (coprostanol + 5 α -cholestanol) tendent vers une diminution avec le temps, sauf pour le stade final 6 mois dont la valeur n'est probablement pas significative due à la faible concentration observée (Bull et al., 2002). La disparition de ces marqueurs de pollution après six mois de co-compostage est un indicateur du degré d'hygiénisation des composts finaux.

3.3. Evolution du stanone, stéradiène et stérènes

Une seule cétone a été identifiée, il s'agit de la 5 β -cholestan-3-one. Comme indiqué précédemment, ce composé est un produit intermédiaire de la formation du 5 β -cholestan-3 β -ol (Figure 4) à partir du cholestérol (Bull et al., 2002). Ce composé considéré comme un biomarqueur fécal provient de la boue d'épuration et diminue au cours du co-compostage. Les composés 5 β -campestanone (24-méthylcholestan-3-one) et 5 β -stigmastanone (24-éthylcholestan-3-one) d'origine végétale n'ont pas été détectés. Le cholesta-3,5-diène présent en faible quantité dans les produits de pyrolyse, diminue avec le temps avec un abattement de 45% après 6 mois (Tableau 2, Figure 2c). Le $\Delta^{3,5}$ cholestadiène est le produit de la déshydratation classique de cholestérol. La déshydratation des stérols favorisée par la température dans des conditions oxydiques (Alves et al., 2010) a pu se produire pendant le stockage des déchets ce qui explique l'absence de stérols à T0. Une autre source probable du cholestadiène dans les pyrolysats est la scission d'esters (stérides) lors de la pyrolyse comme l'ont montré Asperger et al. (1999) dans l'analyse de cires naturelles (Figure 5): la dégradation thermique de cholesterylstéarate donne en plus de l'acide stéarique deux composés, le cholesta-2,5-diène comme un produit mineur et le cholesta-3,5-diène favorisé par sa double liaison conjuguée. La dégradation thermique des formes estérifiées de stérols

(comme stérides ou des formes plus complexes) peuvent également survenir au cours du compostage.

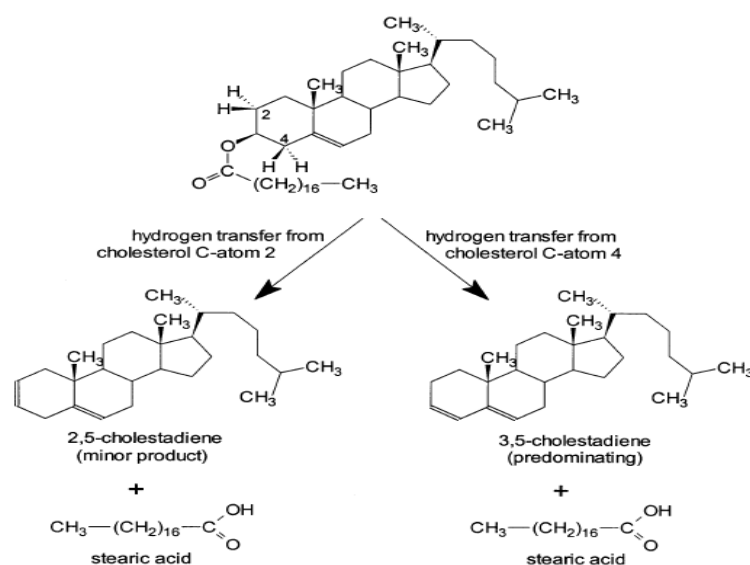


Figure 5: Dégradation thermique de cholesterylstéarate proposé par Asperger et al., 1999

Les stérènes sont les cholestènes (4 isomères), 24-éthylcholestènes (stigmastènes) (4 isomères) et 24-méthylcholestérènes (campestènes) (2 isomères). Les cholestènes (isomères 3 et 4) et l'isomère 3 du 24-éthylcholestènes (stigmastènes) augmentent au cours du co-compostage, cependant les deux isomères du 24-méthylcholestérènes restent relativement stables au cours du co-compostage (Tableau 2, Figure 3a). Ce résultat est expliqué par le manque de structure chimique complète. Certains isomères pourraient correspondre à Δ^2 et Δ^3 stérènes résultant de l'élimination du groupe chimique à la position C-3.

Une partie de stérènes peut être formées pendant la pyrolyse comme un produit de dégradation thermique des stanides ou des formes estérifiées de stanols. L'augmentation des stérènes (cholestènes 3, 4, et éthylcholestène 3) dans les pyrolysats est, en partie, le résultat de l'augmentation relative des formes estérifiées de cholestanol et éthylcholestanol au cours du co-compostage. Les autres stérènes identifiés diminuent en fonction du temps (Figures 2d, 2e). La double liaison des stérènes présents dans le substrat du compost est un site réactif pour l'oxydation en particulier pendant la phase de maturation.

3.4. Evolution des thiostérènes

Les principaux thiostérènes identifiés sont 3 β -thio-5 α -cholestane (étalons de Adam et al., 1992) et 24-méthyl-3 β -thiocholestane (3 β -thiocampestane) pour lesquels la stéréochimie du

carbone 5 ($5\alpha(H)$ ou $5\beta(H)$) ne peut être établie sur la base des spectres de masse. Les concentrations relatives de thiostéranes augmentent avec le temps, ceci explique que la réaction de stéroïdes avec des espèces inorganiques du soufre est favorisée par le compostage (Tableau 2, Figure 3b). À notre connaissance, la présence de S-lipides n'a jamais été reportée dans les composts, contrairement aux sédiments. Kok et al. (2000), ont expliqué la formation de thiosteroides de stérols par les cétones dans les sédiments du lac Ace (Antarctique). Les stéroïdes S-liés ont des liens de soufre à la position C-3. Les stéroïdes ont été rapportés pour être sulfurés de manière préférentielle par rapport à d'autres lipides, et le C27 stéroïdes étant favorisé par rapport aux autres C28 et C29. Adam et al. (2000), ont étudié les processus de sulfuration dans les sédiments récents et ils ont proposé un mécanisme de lipides di-ou polysulfure liés. Le phénomène de sulfuration de stéroïdes est produit via les cétones. Adam et al. (1992), ont établi dans les fractions pétrolières lourdes des fragments de stéroïdes, qui sont liés à la matrice moléculaire par des liaisons mono-, di-ou polysulfure. Tenant compte de ces résultats et la littérature citée, nous postulons que le 3-thiocampestane est formé à partir de 24-méthyl- 3β -ol- 5α -cholestane et, en conséquence, la configuration du carbone 5 est proposé pour être $5\alpha(H)$. De même, 3β -thiocholestane peut être formé à partir de 5α -cholestan- 3β -ol. Le mécanisme de sulfuration des stéroïdes pendant le compostage est une question ouverte. L'absence de 2α -SH- 5α -thiocholestane (Adam et al, 1992, 2002) tend à indiquer que l'incorporation de soufre sur les cholest-2-ènes n'a pas été produite. D'autre part le mécanisme de sulfuration via les fonctions cétones rapporté dans les sédiments (Kok et al, 2000; Adam et al., 2002) peut expliquer ce résultat.

Les cétones correspondant aux thiostéranes n'ont pas été retrouvées (très réactives). C'est aussi, a priori, de supposer que seulement $5\alpha(H)$ -stéroïdes (d'origine végétale) ont été sulfurés et pas les 5β -isomères. Une explication est peut être possible, le groupe 3β -SH des $5\beta(H)$ stéroïdes est axial ce qui correspond à une configuration thermodynamique moins stable qui est le 3β -SH des $5\alpha(H)$ -stéroïdes. Cela explique pourquoi la sulfuration de 3β -OH- $5\beta(H)$ des stéroïdes dans les sédiments donne un mélange de 3α -SH- et 3β -SH- 5β -stéranes, l'épimérisation au niveau du carbone 3 est produite via les cétones correspondantes (ou des aldéhydes) (Kok et al., 2000; Adam et al., 2002).

Nous pouvons également nous interroger sur la forme de ces molécules soufrées dans le compost: sont ils présentent comme des thiols ou sont des thiols produites par pyrolyse des liaisons C-S de stéroïdes S-liés (mono-à polysulfure lié). Selon l'hypothèse des stéroïdes S-

liés, la pyrolyse de -S-[stéroïde] peut générer un thiol, un stérène dépendant sur la liaison S-C-C, par la scission homolytique (2 possibilités).

Dans le cas des stéroïdes à C3-liés, le cholestène formé doit être un cholest-2-ène et cholest-3-ène. On peut observer que l'augmentation de cholestènes 3 et 4 au cours du co-compostage (Tableau 2) est en parallèle à celle de thiocholestane, comme illustré par les valeurs des rapports donnés dans le Tableau 3. Néanmoins, il faut être prudent car les stérènes présents dans les pyrolysats peuvent avoir plusieurs origines. Plus généralement, il a été établi que les processus de sulfuration dans les sédiments récents ont eu lieu durant la diagenèse précoce par des réactions entre les lipides fonctionnalisés des espèces de soufre inorganiques (Adam et al., 2000, Kok et al., 2000).

Tableau 3: Le rapport de l'abondance relative des composés stéroïdes

	Temps du co-compostage (mois)				
	0	1	2	3	6
Thiocholestane/Cholestène <u>3</u>	5,5	7,0	6,9	7,7	6,1
Thiocholestane/Cholestène <u>4</u>	8,3	11,2	11,3	11,8	9,7

Nos résultats suggèrent qu'il existe une certaine analogie entre la diagenèse dans les sédiments conduisant à la formation de kérogène et le processus de compostage conduisant à la formation des substances humiques. Dans l'ensemble, la quantité de stéroïdes qui était initialement élevée (30% en poids sec) diminue fortement au cours de la phase de maturation de 68%. Le taux est positivement corrélé à la diminution du rapport $\text{NH}_4^+ / \text{NO}_3^-$ qui reflète le degré de phytotoxicité du compost, ainsi que le rapport C/N qui reflète la maturité du compost (Figure 6).

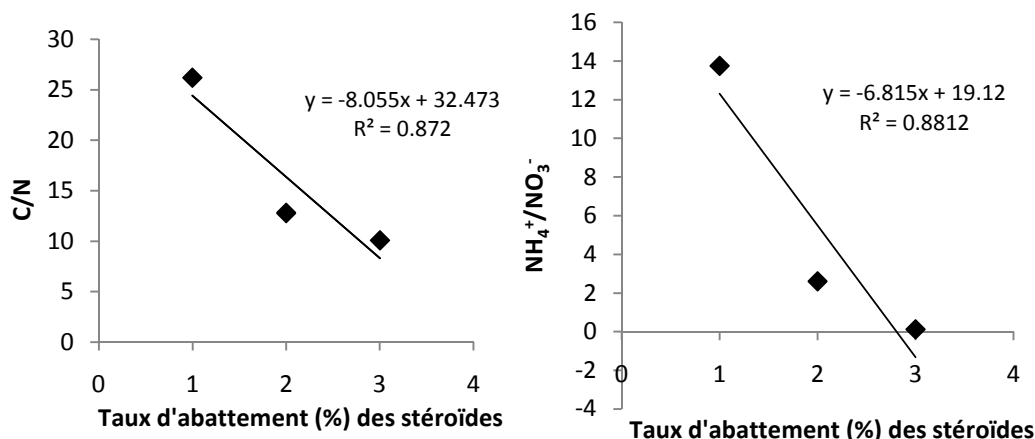


Figure 6: Corrélation entre les indicateurs classiques de maturité et le taux d'abattement de C-stéroïdes

La corrélation linéaire positive de ces rapports avec le taux de réduction de stéroïdes est respectivement de ($R^2 = 0,88$; $R^2 = 0,87$) (Figure 6) indique que la quantité de stéroïdes pourrait également être utilisée comme un indicateur de la maturité du compost.

Malgré que la majorité des stéroïdes identifiés subissent un abattement très significatif au cours du co-compostage, certains demeurent récalcitrants et inaccessibles à l'activité microbienne. Ceci est illustré par l'augmentation du cholestènes (3 , 4), l'isomère 3 d'éthylcholestène, du thiocholestane et du thiocampestane, respectivement, avec un taux de l'ordre de 66%, 58%, 64%, 84%; et 38% (Figure 3a, 3b). Le caractère récalcitrant des stéroïdes a été étudié dans les sédiments. Nishimura (1977) a mis en évidence que la résistance des stéroïdes était due à des réactions chimiques ou biochimiques au cours de la diagenèse. De plus la production et l'augmentation relative de thiostérans est une preuve des réactions de sulfuration au cours de co-compostage. Ces composés qui sont peu dégradables, s'accumulent relativement au cours de co-compostage ce qui explique leur augmentation. Ces stéroïdes peuvent être adsorbés et même être incorporés dans la structure type humus des composts.

4. Conclusion

Le taux des stéroïdes totaux a été réduit de 68% après six mois de co-compostage, le groupe stanols, avec $5\alpha(\text{H})$ configuration provenant des plantes et le 5β -cholestanol (matière fécale), ont diminué avec un taux d'abattement $> 90\%$. Certains stérènes peuvent être formés par pyrolyse de stanols liés aux groupes ester, éther, soufre...etc. L'augmentation des stérènes au

cours du co-compostage peut refléter l'incorporation des stéroïdes dans la structure humique. Le $\Delta^{3,5}$ cholestadiène formé par la pyrolyse du cholestérol a diminué au cours du processus. Le compostage de boue de STEP-déchet de palmier est caractérisé par le phénomène de sulfuration. La pyrolyse couplée à la chromatographie phase gazeuse et spectroscopie de masse est un outil rapide et reproductible permet de mieux identifier la qualité des composés organiques présent dans le compost. Le type de ces composés dépend de la nature de la matière première utilisée lors du co-compostage et les conditions du compostage, ce qui affecte directement la matrice de base d'un compost qui est l'humus.

Partie II

Microbiologie et évaluation du degré d'hygiénisation au cours du co-compostage

Chapitre 5: Evaluation de la succession de la communauté microbienne au cours du co-compostage des boues activées-déchets de palmier sur un milieu synthétique à base de composts (CTEA).

Chapitre 6: Abondance de la microflore endogène des produits de compostage des boues-déchets de palmier et screening d'isolats d'actinomycètes à activités antimicrobienne.

Chapitre 7: Caractérisation des œufs d'helminthes de la boue de station d'épuration et l'efficacité de leur inactivation par procédé de compostage.

Chapitre 5 : Evaluation de la succession de la communauté microbienne au cours du co-compostage des boues activées-déchets de palmier sur un milieu synthétique à base de composts (CTEA)

1. Introduction

Le compostage est un processus aérobie de dégradation des composés organiques par l'action successive des micro-organismes (bactéries, levures, et champignons), dont la concentration peut atteindre des millions, voir des milliards par gramme de compost (Barje et al., 2008, Jouraiphy, 2007, Amir, 2005 ; Amir et al., 2010) ; leur évolution est en fonction des stades de compostage avec un profil défini en fonction des espèces. Leur évolution est liée principalement aux variations des paramètres physico-chimiques et à la nature et la structure des substrats (Rosenzweig et al., 1980). La phase mésophile est caractérisée par une température généralement inférieure à 45°C, résultat de la chaleur dégagée lors de la biodégradation des composés facilement assimilables par les micro-organismes mésophiles (Ahn et al., 2009). Avec le compostage l'intense activité des micro-organismes génère une élévation de la température qui permet l'installation des microorganismes thermophiles et thermotolérants. Cependant, durant la phase de maturation qui succède à la phase thermophile, les pertes de chaleur par échange avec le milieu extérieur et la diminution des éléments nutritifs, engendrent une chute de température. Durant cette dernière phase, les microorganismes mésophiles retrouvent les conditions thermiques optimales pour leur développement (Mustin, 1987). La biodégradation lente des composés récalcitrants comme la lignine, au cours de cette phase, par les champignons et les actinomycètes contribuent au refroidissement de la phase de maturation. Pendant cette phase, le processus d'humification prédomine, et la polymérisation et la condensation des substances libérées lors de la décomposition de la matière organique s'améliore (Mustin, 1987, Chroni et al., 2009 ; Barje, 2010). Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur la microbiologie de compost mais jusqu'à présent les analyses systématiques microbiologiques des produits de compostage restent insuffisantes (Hassen et al., 2001). L'évolution des microorganismes au cours du compostage peut être évaluée par plusieurs méthodes. L'utilisation des biomarqueurs comme PLFA, est une technique largement utilisée dans le domaine de compostage (Abouelwafa, 2009 ; Amir et al., 2010). Le dosage d'ATP ou la mesure des activités enzymatiques, et les méthodes physiologiques par la mesure de la respiration (Mathur et al., 1993) sont aussi

grandement utilisées. La technique de dénombrement sur des milieux de cultures est une évaluation directe, rapide, reproductible et moins coûteuse.

Dans ce chapitre, nous envisageons d'étudier l'évolution et la succession de la microflore endogène, et sa contribution aux changements des paramètres physico-chimiques de substrat. De même, il s'agira de déterminer des phases réelles au cours de co-compostage, par utilisation de deux approches de culture. L'approche classique sur milieu standard (GSM), et sur milieu synthétique à base de substrat de chaque stade de co-compostage (Co-composting Time Extract Agar (CTEA) comme milieu sélectif de la microflore fonctionnelle.

2. Matériel et Méthodes

2.1. La mise en culture et dénombrement de la microflore endogène

Différents stades de co-compostage ont été analysés (0, 15, 22, 30, 60, 90 et 180 Jours), l'extrait aqueux (10 g / 100 ml d'eau physiologique (NaCl: 9‰), homogénéisé à l'aide d'un vortex puis mise en sonication selon la méthode développé par Ouhdouch et al. (2001). Tous les échantillons préparés ont été dilués de 10^{-1} à 10^{-6} . Seules les dilutions 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} sont ensemencées sur les milieux synthétiques d'isolement à raison de 0,1 ml par boîte de Pétri, chaque stade est ensemencé dans le milieu usuel standard (Gélose Nutritive), et dans son milieu correspondant synthétisé CTEA (Co-composting Time Extract Agar), à base de substrat de chaque stade préparé comme suit: 35g de chaque stade de compostage dans un litre d'eau, macéré pendant une nuit, par la suite le filtrat est additionné de 15g d'agar. Le pH est ajusté au pH de chaque stade de co-compostage puis le mélange est stérilisé à 120°C/2bar pendant 30 min, ce milieu a pour but de sélectionner seulement la microflore fonctionnelle sur notre substrat de compostage. Chaque boîte de Pétri représentant un stade de co-compostage, est incubée à deux degrés différents de température (mésophile à 28°C et thermophile à 45°C) pendant 48h à deux semaines afin d'évaluer la microflore fonctionnelle de chaque stade.

2.2. Dénombrement des actinomycètes

Les milieux de dénombrement des Actinomycètes sont additionnés de 40 µg/ml d'actidione afin d'inhiber les champignons (Olson, 1968) et 10 µg/ml d'acide nalidixique, un inhibiteur des bactéries Gram-négatif (Bulina et al., 1997; Barakate et al., 2002). Les différentes colonies d'actinomycètes obtenues sur notre milieu d'isolement (CTEA) sont reconnues par leur aspect morphologique caractéristique à l'œil nu, et confirmé au microscope optique (10×10) selon les normes ISP (International Streptomyces Project) (Shirling et Gottlieb,

1966). Les colonies d'actinomycètes sont souvent pigmentées d'aspect compact sec, lisse ou rugueux, leur contour est arrondi ou échancré. La surface poudreuse est due à la présence d'un mycélium aérien.

2.3. Dénombrement des bactéries

Les colonies des bactéries en général ont été caractérisées à l'aide de la morphologie et confirmation par un microscope binoculaire, les souches isolées se différencient par leur forme et leur couleur; la majorité des souches isolées sont sous forme ronde, ovoïde, avec des couleurs différentes; blanche, grise, rouge-orange, jaune, rose et noir.

2.4. Dénombrement des champignons

Le dénombrement des champignons est effectué sur des milieux de culture en présence de 5µg/ml of chloramphénicol afin d'inhiber le développement des bactéries. L'analyse microbiologique a été réalisée avec 3 répétitions.

3. Analyses statistiques

La comparaison des moyennes est effectuée par ANOVA, et la différence est considérée significative pour $p < 5\%$. L'ACP a été appliquée sur la matrice de corrélation entre la microflore endogène identifiée et les paramètres physico-chimiques. Les traitements statistiques ont été réalisés grâce au logiciel SPSS Win version 10.

4. Résultats et Discussion

4.1. La concentration de la microflore endogène et son évolution au cours du co-compostage selon l'approche CTEA et GSM

La variation de la microflore mésophile et thermophile pour les deux mélanges A et B en fonction de co-compostage montre la même allure d'évolution en fonction du temps (Figure 1). Une différence a été notée entre la microfloreensemencée sur le milieu synthétique (CTEA) et le milieu standard (GSM). La microflore totale identifiée est 10 fois plus élevée dans le GSM (Figure 1a, 1b) que dans le CTEA (Figure 1c, 1d). Ceci est dû au développement de la microflore endogène cultivable, fonctionnelle et non fonctionnelle dans le GSM. Cependant le CTEA a agi comme un milieu sélectif seulement de la microflore fonctionnelle, qui est capable de dégrader le substrat de co-compostage.

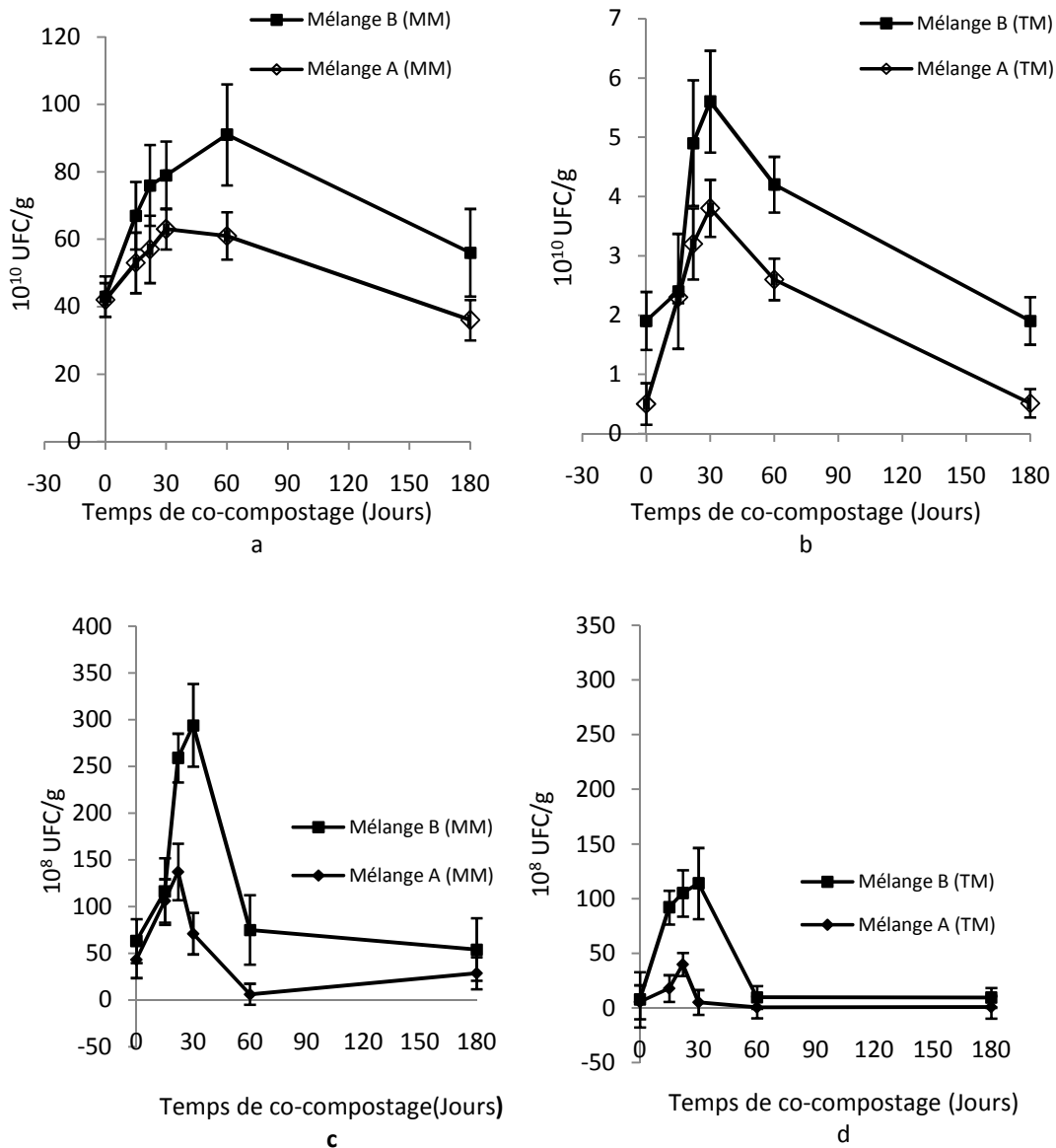


Figure 1: Evolution de la microflore totale (mésophile (MM), thermophile(TM)) au cours du co-compostage des mélanges A et B sur GSM (a, b) et CTEA (c, d)

Dans les deux milieux, la microflore mésophile est présente à des concentrations élevées par rapport à la microflore thermophile. Ces résultats sont en accord avec les travaux de Chroni et al. (2009). Ceci s'explique par la présence abondante de la microflore mésophile dans le milieu. On constate aussi qu'il y a une différence entre la concentration de ces deux types de microflores. La microflore du mélange B reste toujours élevée par rapport au mélange A, ceci est étroitement liée à la proportion de la boue qui représente 50% pour le mélange B.

L'évolution de la microflore totale mésophile et thermophile est caractérisée par un pic pendant la phase thermophile pour les deux mélanges A et B dans les deux milieux de culture.

Dans le GSM la microflore mésophile augmente de 42×10^{10} CFU/g à 63×10^{10} CFU/g au 30^{ème} jour (phase thermophile), et de 43×10^{10} UFC/g à 91×10^{10} UFC /g au 60^{ème} jour du co-compostage, respectivement pour le mélange A et B (Figure 1a). La microflore thermophile varie de $0,5 \times 10^{10}$ UFC/g à $3,8 \times 10^{10}$ UFC/g et de $1,9 \times 10^{10}$ UFC/g à $5,6 \times 10^{10}$ UFC/g, respectivement au 30^{ème} jour pour le mélange A et B (Figure 1b). Cependant dans le CTEA la microflore mésophile augmente de 43×10^8 UFC/g à 137×10^8 UFC/g au 22^{ème} jours (phase thermophile) et de 63×10^8 UFC/g à 294×10^8 UFC/g au 30^{ème} jour, respectivement pour le mélange A et B (Figure 1c). La microflore thermophile a varié de l'ordre de $5,4 \times 10^8$ à 40×10^8 et de $7,7 \times 10^8$ à 114×10^8 UFC/g, au 30^{ème} jour, respectivement pour le mélange A et B (Figure 1d).

Ces résultats montrent que la phase thermophile, déterminée par l'évolution de la microflore mésophile dans le milieu GSM, n'est pas corrélée avec l'évolution de la température du co-compostage. Ceci confirme que le milieu CTEA est un milieu sélectif des microorganismes fonctionnels, ce qui peut donner des informations correctes sur la détermination des phases de co-compostage. L'évolution de la microflore thermophile endogène jusqu'au 30^{ème} jour (cas du mélange B) dans les deux milieux de culture (GSM et CTEA) est strictement liée à l'évolution de la température au cours de la phase thermophile (jusqu'au 30^{ème} jour). Par la suite la biomasse thermophile diminue après le 30^{ème} jour. Une exception, le développement de la biomasse thermophile du mélange A dans le CTEA, est limité au 22^{ème} jour (Figure 1d). Ceci peut expliquer que le milieu de culture GSM donne des informations supplémentaires sur la microflore non fonctionnelle, ce qui n'est pas approprié à la détermination des phases de co-compostage.

4.2. Evolution de la microflore totale dans le milieu synthétique CTEA

Le pic d'évolution pour les deux types de microflore (mésophile et thermophile) dans le CTEA durant la phase thermophile, renseigne en plus des conditions favorables de la croissance microbienne (nutriments, humidité, température...) sur l'abondance et la densité de la microflore thermotolérante dans notre substrat de compostage. Sneath, (1986), a isolé des espèces thermotolérantes capables de se développer tout au long de compostage. Le même auteur a montré que des températures entre 26-48°C représentent des conditions favorables pour le développement des microorganismes tolérants. D'autres auteurs (Hassen et al., 2001; Marshall et al., 2004; Bhatia et al., 2013) ont montré que la première phase mésophile du processus est caractérisée par une intense activité et un développement de la microflore mésophile, avec une concentration deux à quatre fois plus élevée que la microflore

thermophile. Chroni et al. (2009), ont montré que les températures autour de 50°C semblent favorables au développement des bactéries mésophiles.

Au début du processus de co-compostage la microflore mésophile dégrade les molécules faciles à métaboliser, ceci conduit à une augmentation de la température dans le milieu ce qui favorise le développement de la microflore thermotolérante suivi par la microflore thermophile. Ce dernier groupe devient responsable de processus de dégradation des substrats pendant la phase thermophile.

L'ensemble des densités de la microflore identifiées a connu un déclin juste après le premier mois de co-compostage. Ce résultat est dû aux conditions restreintes traduites par l'épuisement de substrat facile à dégrader, et par conséquent la diminution de la température, ce qui affecte surtout la microflore thermophile, et favorise le milieu pour la réinstallation de la nouvelle microflore mésophilique. Ces résultats sont en accord avec d'autres auteurs (Tønner-Klank et al., 2007). Chroni et al., (2009), ont montré une diminution intense de la microflore à la fin de la phase thermophile. Plusieurs autres facteurs, à savoir le taux d'oxygène, l'humidité, le pH, et la température peuvent affecter la succession de la communauté microbienne au cours du co-compostage. Paul et Clark (1996), ont montré que le changement rapide en conditions physico-chimiques au cours du co-compostage est un facteur sélectif de la succession microbienne. Sidhu et al. (2000), ont montré aussi que la population bactérienne a connu une diminution progressive avec la maturité de compostage, quand les nutriments et le taux d'humidité diminuent.

Une différence a été observée pour les deux mélanges A et B, la phase thermophile déterminée par la microflore endogène est courte pour le mélange A, elle est limitée à 22 jours, pourtant on constate que cette phase s'étale sur tous le premier mois de co-compostage pour le mélange B. Ceci peut être lié au remplacement rapide de la microflore thermophile du mélange A. Comme il a été déjà mentionné dans la littérature la phase thermophile peut varier de quelques jours à quelques mois (Tuomela et al., 2000). Ceci peut être dû à la concentration de la microflore thermophile ainsi thermotolérante qui est élevée dans le mélange B en fonction de la proportion de boue ajoutée. Dans ce sens, on éloigne l'hypothèse de la différence dans la nature de la microflore thermophile installée, puisqu'il s'agit du même substrat de compostage ce qui fait, il s'agit de mêmes groupes fonctionnels. Filippi et al. (2002), ont identifié quelques conditions qui peuvent engendrer un décalage temporaire dans la décomposition de la fraction organique au cours du compostage. Adani et al. (2001), ont montré que le taux d'oxygène, le taux d'humidité et la stabilisation de la matière organique génèrent un décalage dans le temps de l'activité des microorganismes.

Ce résultat d'évolution de la microflore endogène au cours du co-compostage permet de déterminer et distinguer entre les deux phases caractéristiques de compostage, la phase de stabilisation et de maturation nécessaires pour la maturité des substrats compostés.

4.3. Evolution de différents groupes de la microflore endogène

4.3.1. Evolution des actinomycètes au cours du co-compostage

Trois principaux groupes des micro-organismes aérobies ont été dénombrés au cours de l'analyse microbiologique des stades de compostage: actinomycètes, champignons, et bactéries, ce qui renseigne sur la richesse de la boue en microflore active. Différents auteurs (Finstein et Morris, 1975; De Bertoldi et al., 1983; Marshall et al., 2004) ont montré que l'activité microbienne durant le processus de compostage est attribuée aux différents groupes de micro-organismes, à savoir la flore totale aérobie mésophile (TAM), les actinomycètes et la microflore fongique.

Dans cette étude, à partir de deuxième mois de co-compostage, le groupe fonctionnel d'actinomycètes représente un pic de l'ordre de 80% et 70% et de 90% et 80%, respectivement pour la microflore mésophile et thermophile des mélanges A et B (Figure 2, 3).

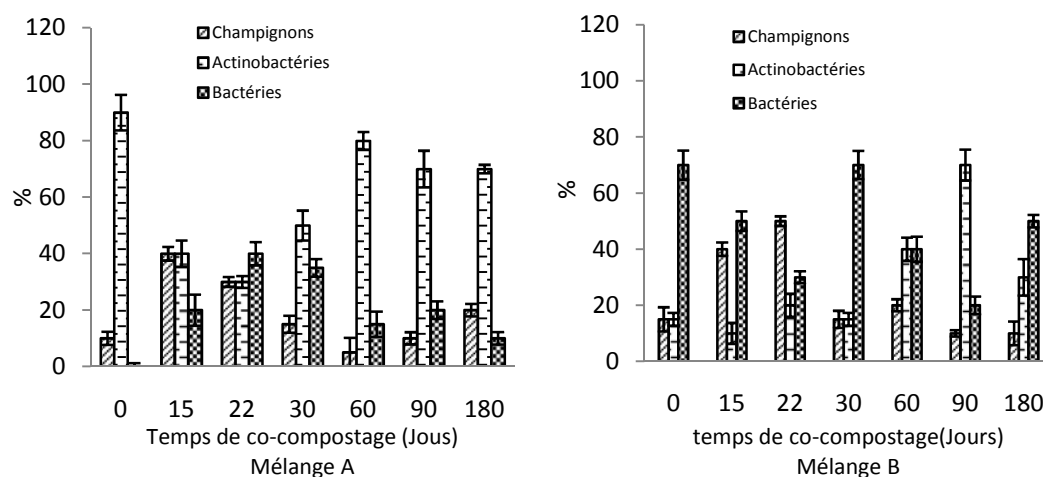


Figure 2 : Evolution de la microflore mésophile au cours du co-compostage des mélanges A et B

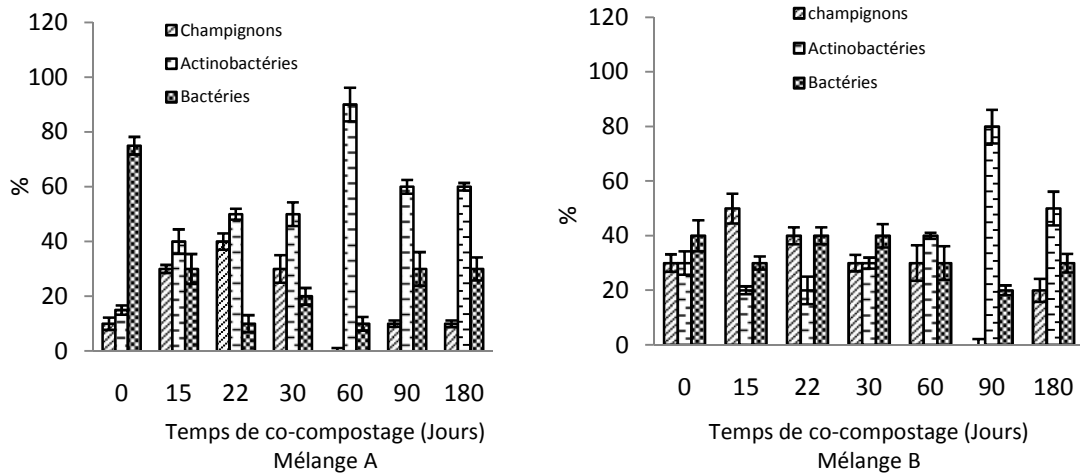


Figure 3: Evolution de la microflore thermophile au cours du co-compostage des mélanges A et B

Les résultats de l'analyse ACP entre la microflore mésophile et thermophile et les paramètres physico-chimiques au cours du co-compostage (Figure 4, 5), montrent que les actinomycètes (domaine I) sont inversement corrélés avec la température, et fortement corrélés avec le pH (cas du mélange B). Cette observation confirme la corrélation significative entre les Actinomycètes et la phase de maturation. Néanmoins, dans notre cas de co-compostage quelques souches isolées d'actinomycètes sont thermotolérantes.

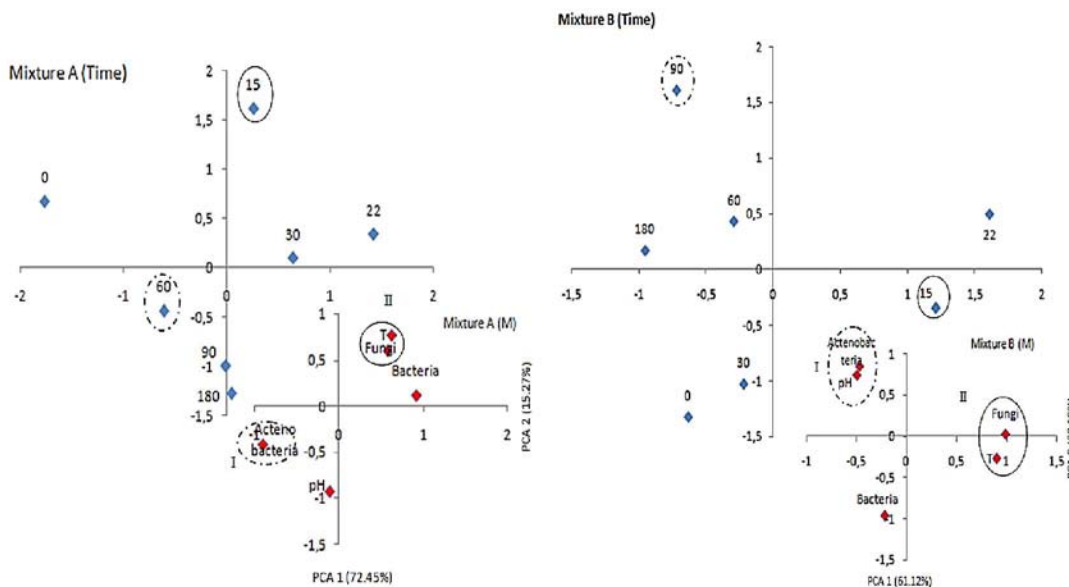


Figure 4 : Analyse de composante principale (ACP) de la microflore mésophile et les paramètres physico-chimiques au cours du co-compostage des mélanges A et B

M: Mésophile

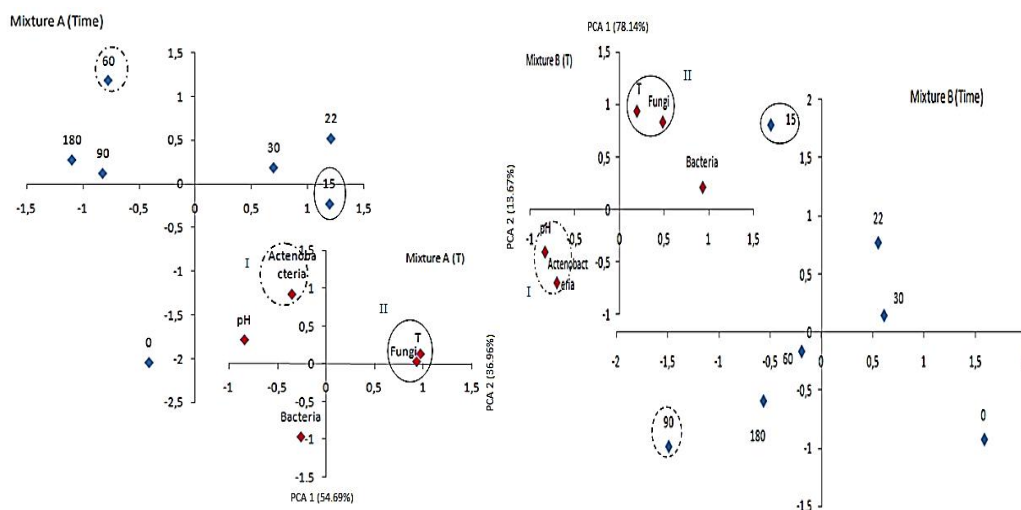


Figure 5: Analyse de composante principale (ACP) de la microflore thermophile et les paramètres physico-chimiques au cours du co-compostage des mélanges A et B

T: Thermophile

Différents auteurs (Partanen et al., 2010; Sundberg et al., 2011) ont montré une corrélation entre le pH et l'augmentation des actinomycètes et ils ont considéré ce phénomène comme un indicateur de maturité de compost. Goodfellow et Williams (1983), ont reporté que les actinomycètes ont la capacité de se développer tout au long du compostage sous une large gamme de variation de température, avec un optimum entre 25-30°C pour les souches mésophiles, et 45-55°C pour les thermophiles. La capacité enzymatique des actinomycètes à attaquer les molécules récalcitrantes, explique leurs activités et leur prolifération dans la phase de maturation (Tuomela et al., 2000). Cette intense activité des actinomycètes, peut expliquer l'augmentation de ce groupe pendant le processus de compostage à base de déchet de palmier, spécifiquement durant la phase de maturation. Vers la fin du processus, ce groupe connaît une chute dans le mélange B, et une légère diminution avec un plateau dans le mélange A. Cette différence peut être attribuée à la forte concentration du substrat ligno-cellulosique dans le mélange A, favorable au développement des actinomycètes. D'autres auteurs (Perez et al., 2002; Nakasaki et al., 2009), ont montré que les actinomycètes thermophiles (*Thermobifida fusca*) produit une enzyme active pour dégrader les composés ligno-cellulosiques. Ces

actinomycètes sont activés ultérieurement à la phase de maturation (Tuomela et al., 2000; Xiao et al., 2011), ce qui contribue à la formation des substance humiques.

4.3.2. Evolution de la microflore fongique au cours du co-compostage

La microflore fongique augmente spécifiquement pendant la phase thermophile de co-compostage, avec un pourcentage de l'ordre de 40% et 50% respectivement pour la microflore mésophile et thermophile du mélange A et B (Figure 2,3). L'analyse ACP et les projections factorielle sur le plan entre les variables microorganismes et temps, montre que la microflore mésophile et thermophile fongique, et la température sont fortement corrélés au 15^{ème} jour (65°C) (Figure 4, 5). Ceci peut expliquer la nature thermotolérante des champignons identifiés dans notre cas de co-compostage. Les résultats de notre expérience ont montré que 80 % des champignons isolés et ré-incubés à 45°C ont bien poussé. Au cours des stades intermédiaires, la densité de la microflore fongique diminue, ceci est dû à la diminution de la température. Néanmoins, on constate une réinstallation des champignons à la fin du co-compostage. Chroni et al. (2009), ont identifié des champignons thermophiles qui augmentent avec l'augmentation de la température pendant le premier mois du compostage. Steger et al. (2007), ont montré un développement des actinomycètes et des champignons à des températures inférieures à 45°C. Plusieurs auteurs (Finstein et Morris, 1975; Ishii et al., 2000), ont expliqué que la phase de maturation est caractérisée par le développement d'une nouvelle microflore fongique mésophile. Ait Baddi et al. (2004), ont montré que pendant la phase de maturation, la biodégradation est limitée à des molécules complexes comme les ligno-celluloses de haut poids moléculaire. Mouchacca (1997), a identifié un champignon qui a été largement étudié en raison de sa capacité à produire de la cellulose et des enzymes dégradant la lignine à 30-40°C avec des températures maximales de 36-40 °C. Les champignons avec leur capacité de produire des enzymes ligninolytiques peuvent libérer les sous-unités aromatiques de bas poids moléculaire par dépolymérisation et des modifications oxydatives progressives comme il a été démontré par Kirk et Farrell (1987). Ceci renforce l'hypothèse de leur réinstallation sur un substrat ligno-cellulosique vers la fin du co-compostage.

4.3.3. Evolution des bactéries au cours du co-compostage

La variation des bactéries mésophiles au cours du co-compostage montre une tendance générale vers une augmentation-diminution-augmentation (Figure 2, 3). Ce profil d'évolution est dû aux conditions physico-chimiques du milieu. Tuomela et al. (2000), ont montré que les

microorganismes peuvent s'adapter à la diminution graduelle des nutriments, de l'oxygène, et de l'humidité avec la maturité du compostage. L'analyse en composante principale (ACP) ne montre aucune corrélation entre les bactéries et l'évolution de la température (Figure 4, 5). Bhatia et al. (2013), ont montré que la microflore mésophile est nécessaire à l'oxydation des substrats organiques, ceci par conséquence conduit à une augmentation de la température du milieu, ce qui inhibe les bactéries mésophiles. Par la suite, l'épuisement du milieu en substrat et les nouvelles conditions de la phase de maturation, favorisent la réapparition de la microflore mésophile à savoir les bactéries. Chroni et al. (2009), ont montré qu'un nombre élevé de bactéries protéolytiques peuvent apparaître durant la phase de maturation, suite à l'enrichissement du milieu en protéine des microorganismes en fin de vie.

5. Conclusion

L'évolution de la succession de la microflore endogène au cours du co-compostage, a été effectuée sur deux milieux de culture. Le CTEA ajusté au pH du milieu de co-compostage et le milieu standard (GSM). La microflore thermophile varie de $5,4 \times 10^8$ à 40×10^8 UFC/g aux 22 jours dans le milieu CTEA, et de $7,7 \times 10^8$ à 114×10^8 UFC/g aux 30 jours respectivement pour les mélanges A et B. Cependant, dans le milieu GSM, l'abondance varie de $0,5 \times 10^{10}$ UFC /g à $3,8 \times 10^{10}$ UFC /g et de $1,9 \times 10^{10}$ UFC /g à $5,6 \times 10^{10}$ UFC/g aux 30 jours respectivement pour le mélange A et B. Le milieu GSM indique seulement la présence de la microflore endogène cultivable, ce qui est insuffisant pour évaluer la microflore responsable de la décomposition des substrats de co-compostage. Ceci est l'un des inconvénients d'utilisation des milieux usuels de culture. Cependant le CTEA indique l'évolution qualitative des microorganismes au cours du co-compostage. Sur ce milieu, la microflore mésophile et thermophile endogène augmente principalement au cours de la phase thermophile qui est limitée à 22 jours pour le mélange A et s'étale jusqu'à 30 jours pour le mélange B. Trois différentes catégories de micro-organismes (actinomycètes, champignons et bactéries) ont été évaluées. La microflore fonctionnelle composé d'actinobactéries présente un pic au cours de la phase de maturation, signe du développement sur le substrat récalcitrant ligno-cellulosique. La communauté bactérienne subit un changement lié à la disponibilité du substrat nutritif, et aux variations physico-chimiques du milieu. Le substrat de co-compostage est caractérisé par des champignons thermotolérants. Ces résultats indiquent que le développement et la succession des microorganismes, est strictement liée aux substrats et aux stades de co-compostage.

Chapitre 6: Abondance de la microflore endogène des produits de compostage des boues-déchets de palmier et screening d'isolats d'actinomycètes à activité antimicrobienne

1. Introduction

Le compostage est un processus aérobie de dégradation des composés organiques par l'action des micro-organismes, ce processus permet aussi d'hygiéniser le milieu et permet d'avoir un produit final qui répond aux normes d'utilisation en agriculture. Hao et al. (2009), ont défini le compostage comme une option d'auto-stérilisation en termes de désinfection et d'inactivation des germes pathogènes. Plusieurs facteurs physico-chimiques influencent le degré de compostabilité et d'hygiénisation des substrats (nature du substrat, pH, O₂, humidité, température...), ces facteurs sont strictement liés aux micro-organismes endogènes. Sous l'influence de l'ensemble de ces paramètres biotiques et abiotiques le processus de compostage est caractérisé par un scénario d'activité et de développement de la microflore endogène, selon trois catégories microbiennes: microflore mésophile, microflore thermophile et la réapparition de la nouvelle microflore mésophile pendant la phase de maturation (refroidissement). Cette succession est nécessaire pour augmenter la qualité de compost. Beaucoup de travaux de recherche ont été focalisés sur la microbiologie du compost mais jusqu'à présent ces investigations restent incomplètes et peu d'études existent au sujet d'interaction intra-communauté, ainsi que celle de chaque groupe avec le substrat au cours des phases de compostage. Hassen et al. (2001) ont supposé que les analyses systématiques microbiologiques des produits de compostage demeurent insuffisantes pour évaluer le processus du compostage.

En plus des catégories prè-cités des micro-organismes habituels du compostage, on trouve en abondance, les différents groupes d'agents pathogènes, qui peuvent provenir des substrats à composter, dont les concentrations peuvent dépasser les normes recommandées pour une utilisation en agriculture. Tous les déchets organiques sont potentiellement recyclables en amendement, par le biais du compostage. En effet, ce traitement biologique permet d'éliminer les risques de contamination de l'homme et/ou des plantes par les germes pathogènes et/ou substances phytotoxiques, ainsi que l'élimination des mauvaises graines (Mustin, 1987).

La qualité microbiologique des boues varie selon le degré d'hygiène de la population et de la proportion de la population raccordée au réseau. Les boues sont connues pour contenir de

nombreuses espèces de parasites (protozoaires, nématodes et les cestodes), des virus, des bactéries (*Salmonelle*, *Shiguella*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Pseudomonase*, *Coliformes fécaux et totaux...*), insectes, des champignons et prions (Shuval, 1977 ; Cardiergues, 2000 ; Dumontet et al., 2001 ; Bagge, 2005, Bhatia et al., 2013). Ces agents pathogènes excrétés dans les selles des personnes infectées et qui se retrouvent dans les eaux usées dont 60 à 90 % de la contamination microbiologique en suspension, se décantent et enrichissent les boues. Le reste se retrouve en milieu naturel avec les eaux usées épurées à la sortie de la station d'épuration. La qualité hygiénique ou bien sanitaire des composts des déchets organiques est souvent qualifiée par le suivi des indicateurs biotiques. Selon plusieurs études (Pereira-Neto et al. 1986; Golueke, 1991 ; Madeline, 2003 ; Hachicha et al., 2009 ; Barje, 2010) les hautes températures enregistrées pendant le processus de compostage (50 -70° C) sont capables d'éliminer les agents pathogènes entériques; spécialement pendant la phase de stabilisation. Plusieurs auteurs (Palmisano et al., 1996 ; Vinneras et al, 2003) considèrent cette étape, dans le processus de compostage, comme la seule phase d'hygiénisation du substrat de compostage. La température est considérée comme un facteur létal des germes pathogènes, des parasites, ...etc. Néanmoins, ce phénomène d'augmentation de la température n'est pas homogène dans tous le substrat de compostage et elle est réservée juste pour une seule phase de compostage, ce qui peut favoriser la re-croissance des germes pathogènes (Tønner-Klank et al., 2007). L'idée d'attribuer l'hygiénisation, au cours du compostage, au seul facteur de température est discutable et le rôle potentiel des interactions négatives entre les microorganismes dans l'hygiénisation des composts mérite aussi d'être vérifié.

L'objectif de cette partie de notre travail est de suivre la charge en germes pathogènes essentiels au cours du co-compostage et s'assurer de l'innocuité des composts finaux en germes pathogènes afin d'évaluer leurs degrés d'hygiénisation. De même, il s'agira de sélectionner les micro-organismes de chaque stade de co-compostage après culture sur le nouveau milieu synthétique à base de notre substrat de compost (CTEA). Ceci permettra d'isoler les groupes actifs sur notre substrat de co-compostage et de mesurer leur reproductibilité et évaluer leur contribution à l'hygiénisation et la stabilité de compost.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Technique des puits d'agar

La technique des puits est utilisée afin d'évaluer l'activité inhibitrice de l'extrait aqueux des stades de co-compostage. Cette technique consiste à préparer des boîtes de gélose nutritive stérile avec des puits de volume identique synthétisé à l'aide des billes en verre stériles. Après

solidification du milieu, 100 µl de surnageant de l'extrait hydrosoluble (10g/100 ml de NaCl : 9 ‰) de chaque stade de co-compostage a été testé sur plusieurs souches test. Les boîtes de pétri sont inoculées par les souches tests (Tableau 1), les puits sont remplis avec le surnageant et après 4h de diffusion à +4°C pour permettre une pré-diffusion des substances actives, les boîtes ont été incubées à 28°C durant 24h. Les zones d'inhibition apparaissent plus claires autour des puits.

Tableau 1: Les microorganismes tests utilisés pour l'activité antimicrobienne d'actinomycètes

Bactéries gram- positif	Bactéries gram- négatif	Levure et moisissures
<i>Staphylococcus aureus</i> CCMM B ₃	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Rhodotorula rubra</i>
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC381	<i>Pseudomonas fluorescens</i> DSM 50090 ATCC13525	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CCMM ₃₄
<i>Bacillus cereus</i> ATCC	<i>Escherichia coli</i> K12 (W1130)	<i>Botrytis cinerea</i>
		<i>Pythium ultimum</i>

2. 2. Test de confrontation

Pour sélectionner les isolats actifs, la confrontation entre les différents actinomycètes isolés, de chaque stade de co-compostage, est utilisée sur des souches test. Chaque isolat d'actinomycètes (spores) est inoculé par une strie centrale à la surface des boîtes de pétri contenant la gélose nutritive. Les boîtes sont incubées durant 72h soit à 28°C, soit à 45°C, selon la nature des souches de chaque stade de co-compostage à tester. Les souches test ont étéensemencées en strie verticale à la strie centrale de la souche à analyser, puis incubées à des températures favorables de la souche test (28°C). L'apparition d'une zone d'inhibition entre la souche active d'actinomycète et les souches tests se visualise par une zone claire traduisant une inhibition de croissance.

2.3. Dénombrement des coliformes

Les coliformes totaux et fécaux ont été déterminés sur le desoxycholate (0,1%) lactose agar respectivement après incubation à 37°C et 44°C pendant 24h.

3. Résultats et Discussion

3.1. L'inhibition des germes pathogènes

3.1.1. L'activité inhibitrice de l'extrait aqueux

Parmi les cinq stades analysés trois à quatre extraits aqueux représentent une activité inhibitrice importante, limite le développement des souches autour des puits, en créant une zone claire appelée zone d'inhibition vis-à-vis de la majorité des germes pathogène testés (Figure 1). Le stade initial (T0), stade 3^{ème} semaine (T3) et le stade 8^{ème} semaine (T8) sont les stades les plus actifs (Tableau 2a, 2b), vis-à-vis de la majorité des souches testées (*Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhodotorula rubra*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Botrytis cinerea*, et *Pythium ultimum*) qui sont incapables de se développer autour des puits. En alternance nous avons noté une activité limitée, seulement à quelques souches pathogènes, des autres stades 4^{ème} semaine (T4), 10^{ème} semaine (T10), et 13^{ème} semaine (T13).

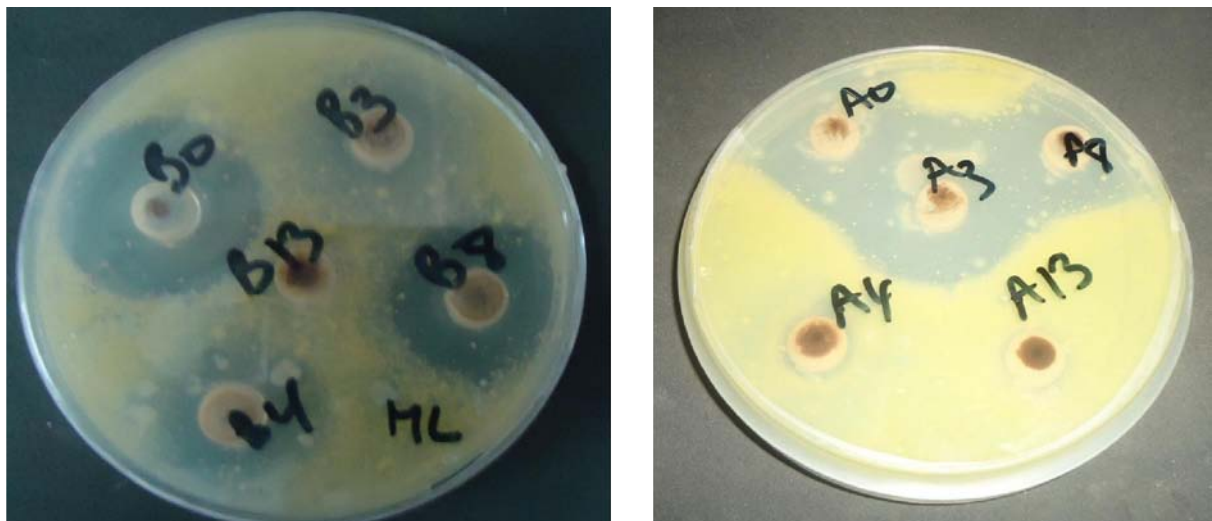


Figure 1 : Activité des extraits aqueux des mélanges A et B vis-à-vis de *Micrococcus luteus* (ML) par la technique des puits

Tableau 2: Activité antimicrobienne des extraits de composts évaluée par la technique des puits (technique des puits) (diamètre d'inhibition est exprimé en mm)

Souches test	Mélange A				Mélange B			
	Temps de co-compostage (semaines)				Temps de co-compostage (semaines)			
	0	3	4	8	0	3	4	8
<i>Micrococcus luteus</i>	10	22	0	20	10	22	20	20
<i>Escherichia coli</i>	12	15	0	20	12	15	0	25
<i>Staphylococcus aureus</i>	12	15	0	26,5	12	22	20	26,5
<i>Enterobacter cloacae</i>	13	0	0	22	13	15	17	22
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0	0	0	20	0	0	0	20
<i>Bacillus cereus</i>	15	23	0	31	15	23	27	22
<i>Rhodotorula rubra</i>	12	12	16	14	12	12	16	14
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10	10	0	15	10	0	0	15
<i>Botrytis cinerea</i>	13	19	17	15	13	19	17	15

Cette expérience montre que la quasi-totalité des stades de co-compostage ont une capacité de produire des substances inhibitrices pour lutter contre une large gamme des pathogènes. Ces résultats montrent que notre produit de compost surtout sous forme extrait hydrosoluble peut être utilisé comme un amendement organique pour lutter contre toute contamination causée par les différents germes testés. Les composts ont longtemps été destinés à être utilisés en agriculture comme amendements organiques des sols, pour la gestion de la matière organique et l'amélioration des propriétés physiques et la fertilité du sol (Brady et Weil, 2009). Plusieurs études scientifiques ont mis en évidence l'aptitude des composts à lutter contre les microorganismes phytopathogènes, en particuliers ceux transmis par le sol (Stone et al., 2004). D'autres auteurs (Scheuerell et Mahaffee, 2004), ont montré que l'extrait des composts

peut lutter efficacement contre certaines maladies foliaires, comme la pourriture grise des fraises, le mildiou de la pomme de terre et de raisin... etc.

Cet effet suppressif des extraits hydrosolubles du composts peut être attribué aux divers mécanismes, tel que la présence de molécules actives particulièrement solubles dans l'eau et qui proviennent des micro-organismes actifs capables de synthétiser des substances inhibitrices comme les antibiotiques et/ou autres substances à effets antagonistes (Hoitink et al., 2006). Néanmoins, la présence des effets inhibiteurs de l'extrait hydrosoluble des stades initiaux peuvent être expliqué par la composition initiale des substrats à composter. En effet, selon plusieurs auteurs (Ait Baddi et al., 2004 ; Hachicha et al., 2009), la présence de divers composés organiques (acides organiques, phénols, alcaloïdes, aldéhydes, cétones, aminoacides et certains composés flavoniques), peut induire des effets inhibiteurs, en raison de leur teneurs élevées dans certains déchets organiques. Selon ces mêmes auteurs, ces composés organiques subissent des abattements très importants par biodégradation, en particulier dans la phase de stabilisation, et leurs effets sont généralement réduits avec le compostage.

3.1.2. L'activité inhibitrice des actinomycètes

La confrontation entre différents isolats (Figure 2) est effectuée pour assurer de la diversité chimique des molécules produites par les souches actinomycétales; et l'utilisation des Gram-positif et Gram-négatif, levures et moisissures est adoptée pour mieux évaluer la capacité de production des souches isolées à partir des composts.

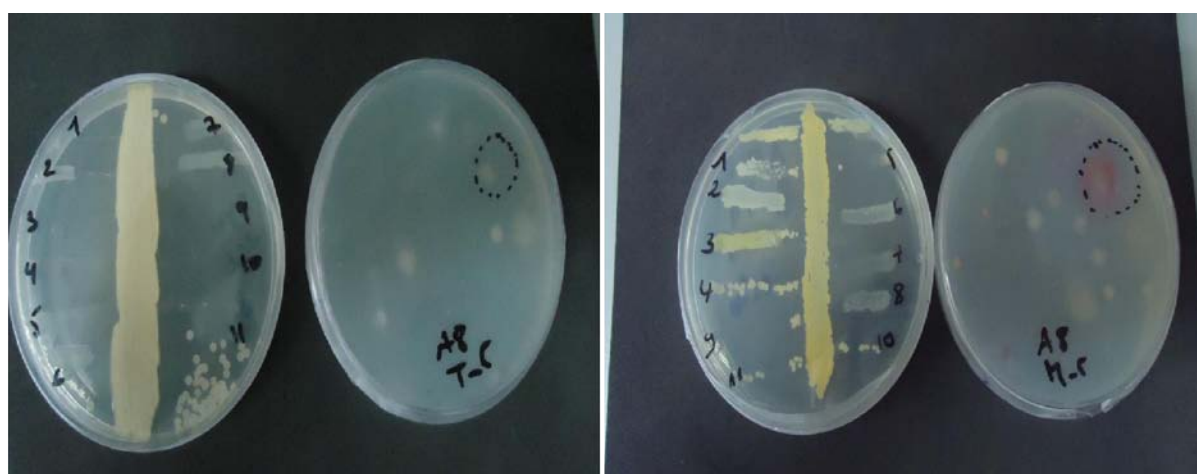


Figure 2 : Les souches actives isolées (Mésophile (M) et Thermophile (T)) et leurs spectres d'inhibition

Parmi les multitudes souches testées, 12 souches actives ont été isolées (Figure 2). Ces souches font partie du groupe des actinomycètes et ont un large spectre d'inhibition (Tableau 3). L'activité a été évaluée par la présence ou l'absence d'activité antibactérienne, qui se traduit par la présence d'une zone d'inhibition et qui renseigne sur leur capacité à produire des antibiotiques. Certains microorganismes sont dotés des capacités à produire des métabolites secondaires importants, parmi lesquels les antibiotiques (Raaijmakers et al., 2002).

Tableau 3: Activité antibactérienne des isolats d'actinomycètes issus de différents stades de co-compostage

Temps de co-compostage (semaines)	T0	T3	T4	T8		T10	T13	
Nombre d'Actinomycète	5	7	9	11		16	9	
Microflore (T/M)*	-	-	T	T	M	T	T	M
Total des isolats actifs	-	-	1	5	3	1	1	1
Pourcentage des isolats actifs	-	-	11,11	72,72		6,25	22,22	
Microorganismes test**	Nombre des isolats actifs***							
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 10240	-	-	1	2	2	0	1	0
<i>Escherichia coli</i> K12	-	-	0	2	1	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> CCMM B3	-	-	1	2	3	1	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	0	1	1	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	0	1	1	0	0	0
<i>Bacillus cereus</i> ATCC	-	-	1	2	3	1	1	1
<i>Rhodotorularubra</i>	-	-	1	2	3	0	0	1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> CCMM34	-	-	0	3	1	0	1	1
<i>Botrytis cinerea</i>	-	-	1	1	0	0	0	0

*T: Microflore Thermophile, M: Microflore Mésophile

**Antagonisme estimé par zone de confrontation entre l'actinomycète et la souche test.

*** nombre d'isolats actifs en fonction du stade de co-compostage.

Le résultat montre que le pourcentage de souches actives vis-à-vis des bactéries Gram-positif (Figure 3a) est largement supérieur au pourcentage de souches actives vis-à-vis des bactéries Gram-négatif (Figure 3b), des levures et des moisissures (Figure 3c), ceci suggère que ces souches ont une capacité à produire des antibiotiques différents. Minotti et al. (2004), ont montré que les actinomycètes ont des activités biologiques diverses.

Les souches actives isolées sont des souches de la phase thermophile et mésophile, ces résultats laissent suggérer que le pouvoir d'auto-hygiénisation du compost est non seulement

lié aux facteurs physico-chimiques et spécifiquement à la température, et que la phase thermophile n'est pas la seule phase d'hygiénisation durant le compostage comme il a été proposé par plusieurs auteurs (Redlinger et al., 2001; Vinneras et al., 2003). Le mode d'hygiénisation, pendant la phase thermophile, semble donc autant lié au facteur thermique qu'au facteur biotique, celui-ci semble clairement en relation avec les molécules « actives » produites par la microflore endogènes thermophile au cours du procédé.

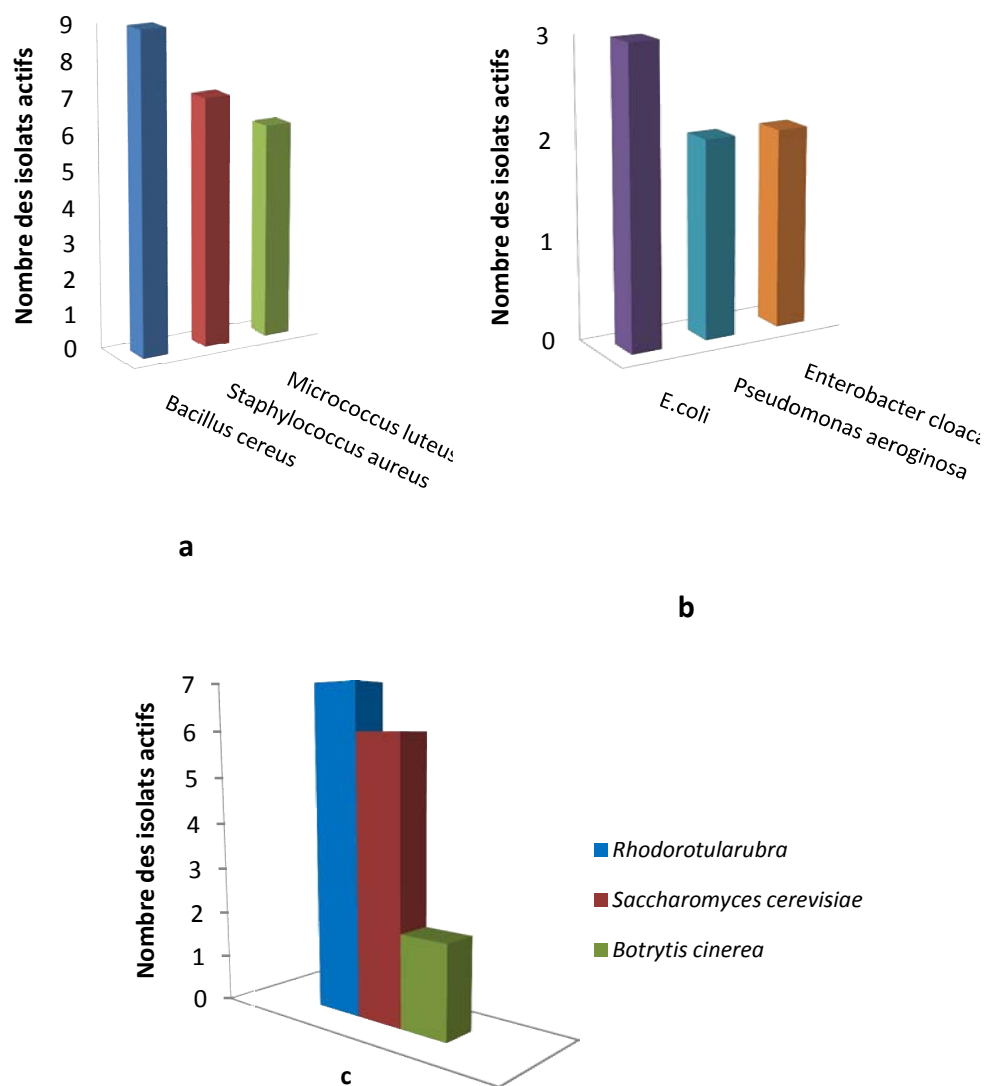


Figure 3: Isolats d'actinomyces actifs vis-à-vis des pathogènes Gram-positif (a), Gram-négatif (b) et levures, moisissures (c)

Tønner-Klank et al. (2007), ont confirmé qu'il est impossible d'assurer une température homogène dans le compostage de déchet surtout de la matière fécale, et ils ont mis en évidence la réapparition des entérocoques et de micro-organismes pathogènes viables à 22-36°C. Plusieurs études ont montré une « re-croissance » des agents pathogènes dans les composts durant la phase de maturation (Sidhu et al., 2000; Pietronave et al., 2004). Les effets suppressif des agents pathogènes par les composts ont été confirmés par différents auteurs (Hoitink, 1990; Pietronave et al., 2004). Toutefois une majorité d'auteurs s'accordent (Xu et al., 2011) sur le rôle important de la microflore endogènes dans le contrôle de la croissance des agents pathogènes et d'autres risques infectieux (*Salmonellasp.*, *Escherichia coli*,...etc). Hoitink et Fay (1986), ont montré que les produits de compostage peuvent aussi constituer une solution contre les attaques phytopathologiques.

A la lumière de nos résultats, il est clairement établi que nos composts renferment une large gamme de micro-organismes endogènes susceptibles de contribuer à l'hygiénisation des composts surtout pendant la phase de maturation. Hoitink et al. (2006), ont expliqué que l'effet suppressif des maladies spécifiques ne peut être garanti que si le compost est colonisé par des antagonistes spécifiques. Selon certains auteurs (Block et al., 2002; Veeken et al., 2005), l'élimination des pathogènes est liée à l'activité microbienne de la microflore de compost, qui est à son tour en relation avec le niveau de la décomposition de la matière organique.

La forte abondance et la forte diversité de la microflore active ont été isolées à partir du deuxième stade de compostage T8 (Tableau 3). En fonction du temps de compostage, cette diversité devient spécifique et se limite presque en un seul groupe actif. Cette réduction de la diversité du milieu est due aux changements des conditions physico-chimiques du milieu et à la nature des nutriments (Levanon et Pluda, 2002). La présence des souches isolées de notre substrat (boues-déchet ligno-cellulosique) sont en majorité des actinomycètes avec des propriétés suppressives contre les pathogènes. Il en résulte que dans nos conditions expérimentales les produits ultimes du processus de co-compostage, vont renforcer la qualité sanitaire de notre produit.

3. 2. L'évolution des coliformes fécaux et totaux au cours du co-compostage

Plusieurs études ont été basées sur les coliformes fécaux et totaux comme indicateur de la contamination fécale (Redlinger et al., 2001). Leur présence est un indicateur de la mauvaise hygiénisation. Au cours du co-compostage de boue-déchet de palmier, nous avons noté une

réduction de l'ordre de 90% de cette microflore vers la fin du co-compostage (Figure 4). Selon Vuorinen et Saharinen (1997); Bhatia et al., (2013), pour un compost hygiénisé, la densité en coliformes et streptocoques fécaux doivent être respectivement de 5×10^2 bactérie/g et 5×10^3 bactérie/g.

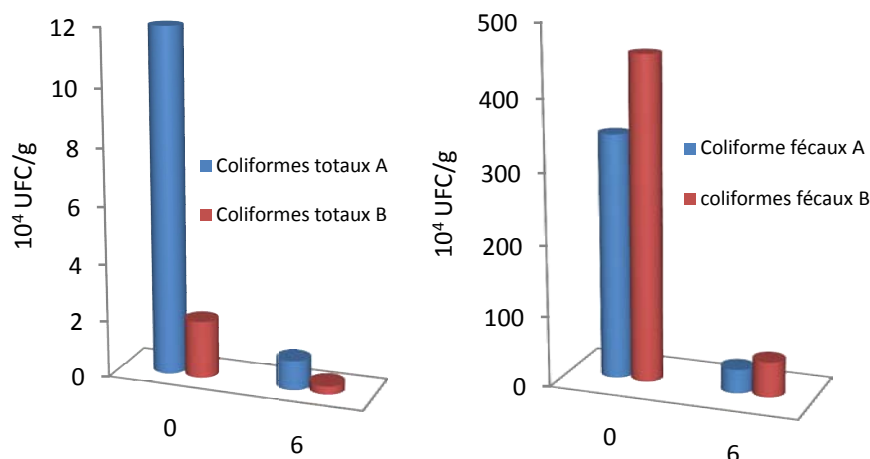


Figure 4: Evolution des coliformes fécaux et totaux des stades initiaux et finaux du co-compostage des mélanges A et B

L'abattement des coliformes est principalement lié aux paramètres physico-chimiques et biotiques du co-compostage, spécifiquement l'augmentation de la température pendant la phase thermophile et la présence des souches actives inhibitrices. Plusieurs auteurs (Palmisano et Barlaz, 1996; Lung et al., 2001; Tønner-Hassen et al., 2001; Gaspard et Schwartzbrod, 2003, Cofie et al., 2006; Tønner-Klank et al., 2007; Koné et al., 2007), ont montré que l'augmentation de la température (50-70°C) au cours de compostage conduit à une diminution graduelle des germes pathogènes entériques (*Salmonella*, *Shigella*, ...etc) et par conséquent à une hygiénisation des substrats. D'autres auteurs (Redlinger et al., 2001; Pietronave et al., 2004; Bhatia et al., 2013) ont montré une diminution significative des coliformes fécaux et totaux au cours du compostage. Paniel et al. (2010), n'ont observé aucune augmentation des entérocoques fécaux au cours de la phase de stabilisation.

4. Conclusion

L'extrait aqueux des stades de co-compostage de la phase de stabilisation (T0), et (T3), et le stade (T8) de la phase de maturation sont les stades les plus actifs, vis-à-vis d'un large spectre

des souches pathogènes (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Rhodotorula rubra*, *Saccharomyces cerevisia*, *Botrytis cinerea*, *Bacillus cereus* et *Pythiumultimum*). Le milieu sélectif CTEA a permis d'isoler 12 souches mésophiles et thermophiles (spécifiquement de la phase de maturation) actives type actinomycète au cours de différents stages du co-compostage, capables de produire des métabolites secondaires. 72,7% des souches actives ont été isolées du stade T8. Les souches isolées ont un pourcentage élevé d'inhibition des pathogènes Gram-positif. Ces résultats montrent que le facteur biotique de la microflore endogène contribue avec un pourcentage important à l'hygiénisation des composts, ce qui laisse supposer que le pouvoir de contrôle de compostage réservé à la phase de stabilisation est sous l'effet combiné de deux facteurs, thermique et biotique, cependant le facteur biotique est le facteur le plus important durant la phase de maturation.

Chapitre 7 : Caractérisation des œufs d'helminthes de la boue de station d'épuration et l'efficacité de leur inactivation par procédé de compostage

1. Introduction

La contamination fécale est constitué essentiellement de groupe des pathogènes entériques composé des bactéries, des virus, et des parasites (protozoaires et helminthes) (Deportes et al., 1998). D'après l'OMS (2006), la matière fécale contient des agents pathogènes responsables de plusieurs maladies surtout chez les enfants. Les infections parasitaires les plus répandues dans le monde entier sont les nématodes vivant dans l'intestin, transmis d'une personne à une autre. Ces parasites sont répartis dans l'environnement naturel peuvent y persister (Gunawardena et al., 2004; Jinabhai et al., 2001). La voie orale est considérée comme la principale voie d'infection parasitaire des êtres humains, en contact direct ou indirect par le sol et/ou l'eau (Lane et Lloyd, 2002). L'utilisation croissante des eaux usées pour l'irrigation des cultures a conduit à la contamination des légumes et des salades avec des œufs d'helminthes (Esteban et al., 2002). Selon Amoah et al. (2006), les légumes irrigués avec des eaux usées urbaines, contiennent des concentrations plus élevées d'œufs d'*Ascaris* (55-60%) que de *Trichuris* ou *schistosoma* (2-3%). Maikai et al. (2012), ont montré une contamination qui dépasse 50% des légumes consommés habituellement par des œufs d'helminthes. Gupta et al. (2009), ont identifié sur des plantes irriguées par des eaux usées la présence d'œufs d'helminthes. De nombreuses études ont montré que les eaux usées brutes présentent des teneurs appréciables de parasites constituées de plusieurs taxons (Amahmid et al., 2002; Bouhoum et al., 2002; Sylla et Belghyti, 2008). Parmi les parasites identifiés on trouve en abondance l'*Ascaris*. Selon Bouhoum et al. (1997), et Cissé et al. (2011), cette abondance est liée à leur résistance ainsi qu'à leur mode de transmission (cycle direct). Feachem et al. (1983), quant à eux ont lié la prédominance des *Ascaris* dans l'environnement à leur capacité de production intense d'œufs et leur capacité à survivre dans des conditions difficiles. En effet, la femelle d'*Ascaris* produit 200000 œufs par jour, comparativement à la femelle de *Trichuris* qui ne produit que 2000-10000 œufs par jour.

Plusieurs auteurs ont montré une forte élimination d'*Ascaris* lors des traitements des eaux usées (Lakshminarayana et Abdulappa, 1969; Feachem et al., 1983), avec des taux d'élimination de l'ordre de 100% des œufs d'*Ascaris*. Amahmid et al. (2002), ont attribué l'abattement des œufs de parasites lors du traitement des eaux usées par leur accumulation

dans la phase solide (les boues). Cette concentration dans les boues se produit soit par décantation directe ou bien par adsorption sur la matière en suspension des effluents, dont le temps varie en fonction d'espèces de parasites. Cette vitesse de sédimentation est estimée selon Shuval et al. (1986), à 65cm/h pour les œufs d'*Ascaris*. Plusieurs auteurs ont isolé des concentrations différentes d'œufs d'helminthes de 0,12 à 41,5 œufs/g dans des boues de STEP (Ayres et al., 1993 ; Schwartzbrod et al., 1987 ; Kone' et al., 2007).

Des techniques de déshydratation et chaulage de boues sont souvent utilisées comme des solutions pour réduire et/ou éliminer leur charge en parasites. En effet, des nombreuses études ont montré que le pH basique influence la désintégration des œufs d'helminthes dans les biosolides (Cappizzi-Banas et al., 2004; Gaspard et Schwartzbrod, 2003). D'autres travaux montrent la nécessité d'un pH stable entre 12 et 12,6 pendant 20 à 60 jours pour l'élimination des œufs de nématodes viables (Reimers et al., 1998; Gaspard et al., 1997). Schuh et al. (1985), ont observé l'inactivation des œufs d'*Ascaris suum* après 2-4 mois de stockage à pH 12,5. Gantzer et al. (2001), ont montré l'influence significative de la température et le pH sur l'inactivation des œufs de parasites. Lors de l'utilisation agricole des boues de step après compostage, de nombreux travaux se sont intéressés à la vérification de leur innocuité en termes de polluants organiques (phatalates, HAP, PCB) et métalliques (Amir et al, 2005, Lguirati et al., 2005). Néanmoins les données relatives au devenir des parasites au cours du compostage de boues de STEP restent rares.

Dans cette perspective, ce travail se fixe comme objectif d'identifier les principaux parasites existants dans le cas des boues de la station à « boues activées » de Marrakech, et suivre leur devenir au cours du compostage semi-industriel de boues-déchets ligno-cellulosiques. De même, il s'agit de déterminer les paramètres qui interviennent dans l'efficacité d'inactivation des œufs de parasites par ce procédé de co-compostage.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Méthode d'extraction et identification des œufs d'helminthes

L'analyse des œufs d'helminthes est effectuée sur 5g d'échantillon frais, la concentration des œufs de nématodes est basée sur le principe de la méthode de flottation en présence de sulfate de zinc ($ZnSO_4$: 56,81%) après dispersion des particules par le bicarbonate d'ammonium (11,9%) (Bowman et al., 2003; US EPA Protocol (1999) modifié par Schwartzbrod (2003), Koné et al. (2007)). L'identification des œufs de nématodes a été effectuée au grossissement 400 à l'aide d'une lame de Mac Master de capacité 0,3 ml. Des microphotographies ont été réalisées à l'aide d'un microscope binoculaire doté d'un appareil photographique numérique

(Moticam 1000, 1,3 M Pixel USB 2,0, lens 16MM, ø28). Le nombre total de parasites a été calculé par gramme d'échantillon frais.

3. Résultats et Discussion

3.1. La charge parasitaire du substrat brut

L'examen microscopique des échantillons de boues et des stades initiaux de co-compostage a permis de mettre en évidence la présence des parasites appartenant, en prédominance, aux groupes de nématodes (œufs d'*Ascaris sp.*, *Trichuris sp.*, et *Capillaria.*, *sp*) (Figure 1) (Tableau 1). Cette prédominance des œufs de nématodes par rapport aux autres groupes, a été signalée par plusieurs auteurs qui ont rapporté que les œufs des nématodes intestinaux sont plus résistants que ceux des cestodes dans les eaux usées (Bouhoum et al., 1996; Schwartzbrod et Banas, 2003) et par conséquent dans les boues. Les agents pathogènes des eaux usées se concentrent dans la boue lors du procédé de traitement des effluents, cette concentration se produit soit par décantation directe ou bien par adsorption sur la matière en suspension de l'effluent. Les parasites présents dans les boues sont très nombreux, mais seuls les œufs d'helminthes (vers plats et ronds) transmissibles à l'homme ou au bétail, présentent un réel risque sanitaire à la manipulation des boues. La contamination des boues par les œufs d'helminthes est quasi systématique (Schwartzbrod et al., 1999) et leur provenance est essentiellement animale.



Ascaris sp.

Capillaria sp.

Trichuris sp.

Figure 1 : Œufs d'helminthes isolés de la boue de STEP de Marrakech observation microscopique grossissement $\times 400$

On dénombre dans cette étude de 4 à 27 œufs de nématodes/g de boue fraîche (*Ascaris sp.*, *Capillaria sp.*, *Trichuris sp.*) (Tableau 1). Schwartzbrod et al. (1987), ont mis en évidence des concentrations de l'ordre de 0,12 œufs/g de boues et Ayres et al. (1993), ont identifié des teneurs de 9 à 41,5 œufs/g de boues. Kone' et al. (2007), ont isolé jusqu'à 22-38 œufs

d'helminthes (*Ascaris et Trichuris*)/g de boues, dont 25 à 50% viables après déshydratation de la boue. Ces chiffres dépassent les normes, soit moins de 1œufs/g de la directive OMS (2006) d'utilisation des boues sans traitement.

Contrairement aux références bibliographiques (Tonner-Klanket al., 2007, Maurer et al., 2009), dans notre présente étude nous avons enregistré une dominance des œuf de *Capillaria sp.*, suivi par ceux de *Trichuris sp.*, et d'*Ascaris sp.* La présence de ces deux espèces est très fréquente en Afrique sub-Saharienne (Silva et al., 2003). L'œuf d'*Ascaris* est décrit comme le plus résistant de tous les pathogènes. Feachem et al. (1983), ont expliqué la dominance d'*Ascaris* dans l'environnement à leur capacité de production et leur pouvoir de résistance. La directive de l'OMS pour l'irrigation des champs avec les eaux usées, demande une moyenne de moins de 1 œufs d'*Ascaris*, *Trichuris* ou *hookworm* par litre pendant la période d'irrigation (Bouhoum et al., 2002 ; OMS, 2006).

Tableau 1: Evolution des œufs d'helminthes en fonction de co-compostage pour les deux mélanges A et B

Les œufs d'helminthes	Boues/g (MF)	Mélange A				Mélange B			
		T0	T1	T2	T3	T0	T1	T2	T3
		MS	TH	MT		MS	TH	MT	
Total des œufs de nématodes	4-27	8	1	0,3	-	12	2,3	0,3	-
<i>Ascaris sp</i>	0-3	1	0,3	-	-	1	0,5	-	-
<i>Capillaria sp</i>	3,5-16,3	5	0,3	0,3	-	7	0,6	0,3	-
<i>Trichuris sp</i>	0,5-7,6	2	0,3	-	-	4	0,3	-	-

MF: Matière fraîche, MS: première phase mésophile, TH: Phase thermophile, MT : phase de maturation

L'abondance en *Capillaria sp.* (Tableau 1), par rapport aux autres œufs d'helminthes dans notre cas; peut être expliqué par la forte charge initiale dans les eaux usées par cette espèce d'helminthe. Elle peut aussi s'expliquer par de possibles variations saisonnières, leur capacité à résister, ou bien par la charge des aliments (l'eau et/ou plante irriguée par les eaux usées non traités). Maikai et al. (2012), ont montré une contamination qui dépasse 50%, des légumes consommé habituellement avec des œufs d'helminthes à savoir *Toxocara sp.*, *Strongyloides*

sp., *Taenia sp.*, *Echinococcus sp.*, *Ancylostoma sp.*, *Trichuris sp.*, et *Enterobius sp.* Gupta et al. (2009), ont identifié une contamination de Laitue, Epinards, Céleries, Coriandres avec des œufs d'*Ascaris lumbricoides* (36%), *Trichuris trichiura* (1,7%) et *hookworms* (6,4%). *Capillaria*, une des espèce qui contamine le plus les boues de Marrakech est un parasite plus dominant chez les animaux (Wobeser, 2002 ; Delahay et al., 2007, McDonald et al., 2008). Certains auteurs (Rudolphi, 1819 ; Horak, 1992) ont attribué la présence des *hymenolepis sp.*, aux rats vivants dans les réseaux d'eaux usées. Vosta (1958), quant à lui, a montré que l'*Hymenolepis sp.* est reconnu par sa destruction rapide et sa difficulté à survivre dans les eaux usées, ainsi que dans les boues.

Le développement démographique, la qualité de la santé de la population, ainsi que la nature des réseaux d'assainissement (urbain, industriel, abattoir...etc) peuvent être des paramètres susceptibles d'expliquer la charge initiale de boues en helminthes. Dans notre cas, la station d'épuration de Marrakech reçoit à la fois des eaux usées de nature urbaines, industrielles, et d'abattoirs. Les paramètres physico-chimiques (décantation des particules et la vitesse de sédimentation des œufs, agrégats matière-parasite, déshydratation de boue...etc) influence aussi la charge des boues en parasites (Shuval et al., 1986, Gaspard et Schwartzbrod, 2003; Cappizzi-banas et al., 2004).

La boue testée est une boue solide (ayant subi un épaissement), cependant le processus de séchage n'a pas beaucoup d'influence sur la charge parasitaire. Kone et al. (2007), ont montré que le processus de déshydratation de boue de vidange (boue de la matière fécale) sur lits de séchage n'était pas assez efficace pour inactiver tous les œufs d'helminthes, 25 à 50% des œufs d'*Ascaris* et de *Trichuris* restent viables.

3.2. L'abattement des œufs d'helminthes au cours du co-compostage

En comparaison avec la boue seule, les stades initiaux de co-compostage ce sont révélés moins chargés en œufs d'helminthes avec une différence de plus de 25% entre le mélange A et B (Figure 2). Ceci est dû à l'effet de dilution par le déchet de palmier qui est exempt d'œufs d'helminthes. La proportion de la matrice ligno-cellulosique mélangée avec la boue influence l'adsorption des œufs d'helminthes, et par conséquence leur charge initiale dans chaque mélange. La nature et la taille des particules sur lesquelles les parasites sont adsorbés a un effet sur la concentration initiale des œufs dans les échantillons. Kone et al. (2007), ont montré que lorsque les matériaux dégradés et les particules sont devenus plus fines, la variabilité diminue en raison de l'homogénéité de l'échantillon, ce qui peut influencer, la concentration initiale des échantillons de compostage en œufs d'helminthes.

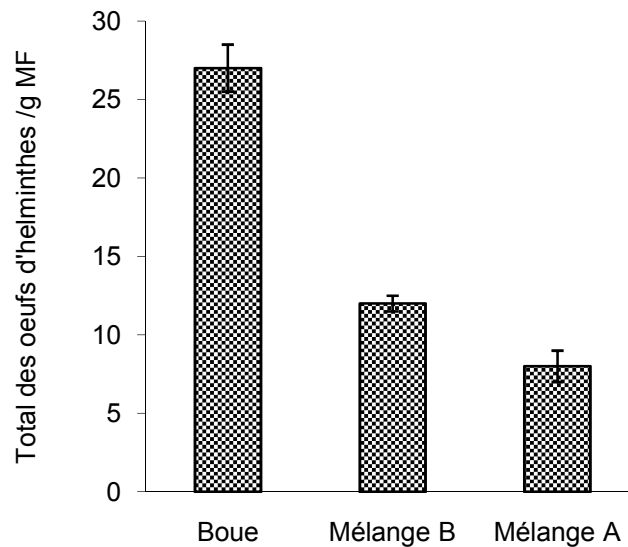


Figure 2: Total des œufs d'helminthes par g de matière fraîche de boue et des deux stades initiaux de co-compostage, mélanges A et B

L'analyse des échantillons de compostage de boue-déchet de palmier montre une diminution de la concentration en œufs d'helminthe vers la fin de processus de co-compostage (Figure 3). Un abattement de l'ordre de 88% et 81% durant la phase thermophile a pu être noté, respectivement pour les mélanges A et B. A la phase thermophile le taux d'abattement des œufs d'*Ascaris sp.*, est de l'ordre de 70 et 50%, de 85 et 92% pour Les œufs de *Trichuri sp.*, et de 94 et 91% pour les œufs de *Capillaria sp.*, respectivement pour les mélanges A et B. Cette diminution atteinte jusqu'à 100% à la phase de maturation du co-compostage (Figure 3). Les œufs d'*Ascaris sp.*, représentent le plus faible taux d'abattement en comparaison avec les autres œufs d'helminthes. Ces résultats renforcent les données bibliographiques en termes de résistance des œufs d'*Ascaris* par rapport aux autres œufs d'helminthes. L'intense réduction des œufs d'helminthes pendant la phase thermophile est expliquée par l'augmentation de la température (65°C).

L'étendue de l'inactivation thermique des pathogènes dépend des températures létales, la durée d'exposition et les proportions "mix ratio" de biosolides (Hay, 1996). Kone' et al. (2007), ont montré une réduction intense de nombre total des œufs d'helminthes en fonction du compostage, ils ont montré qu'une température supérieure à 45°C est létale pour les œufs d'*Asaris*. Cependant, la concentration réelle des œufs d'helminthes dans le compost doit être

toujours surveillée pour vérifier les hypothèses théoriques. Cette étape dans le processus de compostage est définie comme une étape de désinfection et d'hygiénisation du compost (Palmisano et Barlaz, 1996).

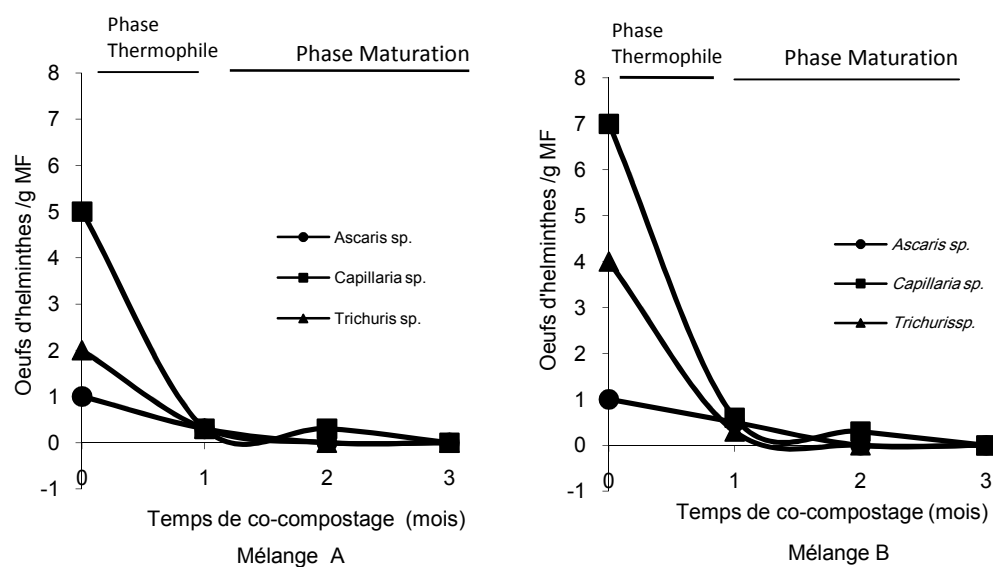


Figure 3: Abattement des œufs d'helminthes au cours du co-compostage des mélanges A et B

La concentration de l'ammoniac enregistré à la phase thermophile contribue à l'abattement des œufs d'helminthes. L'ammoniac est présent naturellement dans les eaux usées à partir de l'hydrolyse de l'urée et de la dégradation des protéines et d'autres composés contenant de l'azote. Pecson et Nelson (2005), ont montré que la présence d'ammoniac à des concentrations rencontrées dans les boues et les matières fécales (jusqu'à 8000 ppm en N) permet d'atteindre 99% d'inactivation des œufs à des températures allant jusqu'à 14 °C. Le traitement alcalin augmente le pH des boues et contribue à l'ammonification. Le NH_3 , qui domine à des pH élevé (pKa) 9,3 à 25°C, est plus lipophile que NH_4^+ et peut être plus facilement diffusé à travers des membranes biologiques. Il a été démontré que NH_3 peut provoquer des changements de pH qui vont nuire à une grande variété d'organismes, y compris un certain nombre d'agents pathogènes des eaux usées (Jenkins et al., 1998). Reimers et al. (1985), ont montré que l'ajout d'ammoniac dans les boues alcalinisées augmente l'inactivation des œufs d'*Ascaris*. La perméabilité de la coquille des œufs est principalement contrôlée par la membrane lipidique qui est liée aux variations de la température (Fairbairn et Passey, 1955 ; Berrett, 1976).

D'autres composés que l'ammoniac peuvent également jouer un rôle dans l'inactivation des pathogènes, les acides organiques, des aldéhydes et des alcools (Reimers et al., 2001). Néanmoins la température est toujours le facteur dominant (Carrington et al., 1991; Plym-Forshell et al., 1995). Le temps nécessaire pour atteindre des niveaux élevés d'inactivation d'helminthes (> 95%) est très variable dans la littérature, allant de 2 heures à 180 jours (Brewster et al., 2003; Gantzer et al., 2001; Schuh et al., 1985; Ghiglietti et al., 1997). Reimers et al. (1998), ont déterminé le temps nécessaire pour inactiver complètement les œufs d'*Ascaris* par digestion aérobie. Ils ont montré qu'à 25°C l'inactivation complète nécessite 130 jours, et seulement 2 jours à 57°C. Feachem et al. (1983), ont décrit une théorie entre temps-température pour l'inactivation des pathogènes. Vinneras et al. (2003), ont dérivé une équation (Eq.1) pour *Ascaris sp*, afin de déterminer le temps (en heure) nécessaire, à n'importe quelle température, pour atteindre une inactivation totale de ces pathogènes (Tableau2)

$$t = 177 * 10^{-0.1922 (T-45)} \quad (1)$$

T: Température; t: temps

Tableau 2: Equations d'inactivation en fonction du temps (t: heure) (Feachem et al., 1983; Vinneras et al., 2003) à des différentes températures (T°C)

Helminthes	Equation
<i>Ancylostoma</i>	$t = 9,31 * 10^{-0,1340(T-45)}$
<i>Ascaris</i>	$t = 177 * 10^{-0,1944(T-45)}$
<i>Schistosoma</i>	$t = 10 * 10^{-0,1844(T-45)}$
<i>Taenia</i>	$t = 6,6 * 10^{-0,1306(T-45)}$

L'inactivation des œufs d'helminthes dans le compost peut être efficace si la température à l'intérieur des andains est suffisante. Comme le montre l'équation et le tableau théorique d'inactivation de Vinneras et al. (2003), on peut conclure que l'inactivation théorique de tous les œufs d'*Ascaris* aura lieu si la température des andains de compostage est supérieure à 45°C pendant au moins 5 jours. Le même résultat pourrait être obtenu avec 8 jours à 44°C, 12 jours à 43°C, 19 jours à 42°C, un mois à 41°C ou 1,5 mois à 40°C. Cela signifie que la température théoriquement nécessaire pour assurer la mortalité massive des œufs

d'helminthes dans notre cas de co-compostage et d'autres agents pathogènes est largement atteinte.

D'autres paramètres physico-chimiques peuvent intervenir dans l'abattement des œufs d'helminthes, la diminution de taux d'humidité et la stabilisation du pH durant la phase de maturation. Différents auteurs (Sanguinetti et al., 2005) ont montré que les œufs d'*Ascaris* peuvent survivre avec un tel taux d'humidité dans les biosolides stockés dans l'environnement. Néanmoins, la diminution de la concentration d'eau dans un environnement donné peut favoriser l'inactivation des œufs d'helminthes. Un pH basique influence également la désintégration des œufs d'helminthes dans les bio-déchets (Cappizzi-Banas et al, 2004; Gaspard et Schwartzbrod, 2003). Diverses études ont montré la nécessité d'un pH stable entre 12 et 12,6 durant 20 à 60 jours pour l'élimination des œufs de nématodes (Reimers et al., 1998; Gaspard et al., 1997). Schuh et al. (1985), ont observé l'inactivation des œufs d'*Ascaris suum* après 2-4 mois de stockage à pH 12,5. L'ensemble de ces paramètres justifie le taux d'abattement atteint (100%) des œufs d'helminthes identifiés dans notre substrat, et l'efficacité du procédé de co-compostage en l'élimination des pathogènes.

4. Conclusion

L'analyse de boues, montre que les échantillons bruts sont chargés en germes parasites notamment les œufs d'*Ascaris sp.*, (0-3/g), *Capillaria sp.*, (3,5–16,3/g) et *Trichuris sp.*, (0,5–7,6/g). Cette densité des œufs est supérieure aux normes recommandées pour la réutilisation des boues en agriculture. Le traitement de ces boues par compostage pendant 6 mois a permis d'obtenir des abattements d'œufs d'helminthes très significatifs, rendant ces composts utilisables en agriculture.

L'inactivation des œufs d'helminthes est liée aux différents paramètres du co-compostage, en particulier la température, la teneur en ammonium, le pH et le taux d'humidité du milieu. L'action combinée de ces paramètres a permis d'obtenir des composts exempt de parasites et sans risque de contamination.

Partie III

Chapitre 8 : Evaluation de la phytotoxicité et la génotoxicité au cours du co-compostage de boues de STEP-déchets de palmier

1. Introduction

L'utilisation des composts comme amendement et/ou fertilisant est une pratique agricole courante. En fonction de la nature et l'origine de ces amendements, ces pratiques agricoles, à long-terme, peuvent induire une accumulation de composés toxiques comme des éléments traces métalliques, des contaminants organiques ou d'autres types de substances toxiques qui par voie de conséquence présentent un risque environnemental (Chen et al., 2005; Tulve et al., 2006). Les métaux lourds sont connus par leur pouvoir phytotoxique et génotoxique (Barje et al., 2012; Shahid et al., 2011). Le chrome (Cr) est l'un des contaminants généralement présent dans les effluents de différentes activités, principalement ceux des tanneries qui contribuent à la contamination des eaux rejetées dans les stations d'épurations et qui se retrouvent dans les boues activées de Marrakech. Le chrome existe dans les effluents liquides sous deux formes : le (Cr III et Cr VI). Le chrome trivalent (Cr(III)) est un micro-élément nécessaire aux métabolismes des plantes et des animaux (Anderson, 1981), est considéré comme relativement peu toxique (Jiang et al., 2013). Le chrome hexavalent (Cr(VI)) classé parmi les substances les plus toxiques. Ces effets cancérigène et mutagène sont due d'une part à sa forte solubilité et sa mobilité, et d'autre part à sa capacité d'interagir avec l'ADN des cellules (Dixit et al., 2002; Wani et al., 2007).

L'évaluation de l'effet des polluants est généralement abordé par différentes approches: physico-chimiques et toxicologiques (Fernandez et al., 2005). Les analyses physico-chimiques seules ne peuvent en aucun cas suffire pour évaluer le degré de toxicité d'un polluant. Les tests biologiques sont donc une alternative de mesure pour évaluer la biodisponibilité des polluants et leurs capacités d'interaction avec les organismes vivants. Selon différents auteurs (Juvonen et al., 2000; Eom et al., 2007; Ansari et Malik, 2009) l'approche biologique est considérée comme un paramètre incontournable de la « fiche signalétique » d'un polluant. Comme modèle biologique, les plantes sont souvent utilisés comme indicateurs de la toxicité de composés chimiques purs, de mélanges ou pour l'évaluation d'effluents liquide et de bio-solides. On peut citer: le test cresson, navet, luzerne, et laitue, pour l'évaluation d'effet sur la croissance et le développement des oragnismes. *Vicia faba* ou *Alium cepa* pour le test des micronoyaux, utilisé pour évaluer des effets génotoxiques. Le test des micronoyaux sur racines de *Vicia faba* est considéré parmi les tests les plus sensibles pour évaluer la phytotoxicité et la génotoxicité dans différents milieux solides et liquides (Cotelle et al., 1999; Monarca et al., 2003 ; Ait Baddi et al., 2004; Jouraiphy et al., 2007; Barje et al., 2012; Marcato-Romain et al., 2009 ; Kapanen et al., 2013). Les boues de

station d'épuration de la STEP de Marrakech sont connus par leur teneur élevée en Cr (El Fels et al., 2014a). Il est donc nécessaire de s'assurer de leur innocuité en tenant spécifiquement compte de la présence de Cr sous différentes valences dans les boues et les composts.

L'objectif de cette troisième partie est de s'assurer de l'innocuité des composts finaux, en termes de polluants toxiques, susceptibles de provoquer un impact sur le système sol-plante lors de l'épandage agricole de ces produits, mais aussi d'interagir avec les milieux aquatiques, réceptacles d'un grand nombre de composés. Pour ceci, nous avons combiné plusieurs modèles biologiques simultanément pour mieux cerner les effets phytotoxiques et génotoxiques des composts.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Test de germination et évaluation de la phytotoxicité au cours du co-compostage de boues-déchets de palmier

Les essais de germination ont été effectués sur 20 graines de différentes espèces végétales: Laitue, Luzerne, Navet et Cresson dans les extraits hydrosolubles de composts (100 g/1000 ml), sur des boîtes de pétri avec papier filtre imbibé d'extrait du compost. Les essais sont conduits à l'obscurité et à température ambiante (25°C), durant 72h (Mayer et al., 1989 ; Garcia et al., 1991; Cunha-Queda et al., 2007). Trois répétitions ont été effectuées pour chaque stade de co-compostage. Le test de phytotoxicité est effectué par le suivi de l'émergence des graines (test à 24h), et la croissance des racines (test de 72h), L'indice de germination (IG) est déterminé par rapport à l'émergence et la croissance racinaire dans l'extrait hydrosoluble de chaque stade du co-compostage et dans l'eau distillée selon la relation suivante :

$$IG\% = \frac{NG \text{ hydr} \times LR \text{ hydr}}{NG \text{ eau} \times LR \text{ eau}} \times 100$$

Avec :

NG hydro, NG eau : Nombre de graines germées dans les extraits hydrosolubles et l'eau distillée.

LR hydro, LR eau : Longueur des racines dans les extraits hydrosolubles et l'eau distillée.

2.2. Détermination des teneurs du chrome

2.2.1. Détermination de la concentration du chrome total (Cr)

Après une minéralisation humide des échantillons de co-compostage des mélanges A et B au DigiPrep Jr (SCP Sciences), la concentration du chrome total est déterminée par ICP OES (ICP OES Thermo IRIS Intrepid II XDL Duo). Des échantillons frais de co-compostage ont été broyés dans de l'azote liquide, puis une attaque acide (HNO_3 à 70%) a été effectuée toute une nuit à température ambiante, suivi par une incubation d'une heure à 80°C au DigiPrep, Après ce temps, 5 ml d'eau oxygénée (H_2O_2 à 30%) sont rajoutée, et laissé 25 min à 55°C . Après refroidissement, les digestats ont été dilués jusqu'à atteindre une concentration de HNO_3 de moins de 10%. Les échantillons digérés sont centrifugés avant l'analyse.

2.2.2. Dosage du chrome hexavalent Cr(VI)

Le chrome hexavalent Cr(VI) a été analysé par une méthode colorimétrique (MA. 200-CrHex 1.0; Ahluwalia et Goyal, 2013). Les extraits hydrosolubles de boue et des différents stades de co-compostage des mélanges A et B (100g/L) ont été analysés après complexation du Cr(VI) avec le 1,5-diphenylcarbazine en milieu acide (H_2SO_4 , 2N). Le complexe formé est mesuré à une longueur d'onde de 540 nm à l'aide d'une spectroscopie ultra-violet visible (secomam S750). Une gamme étalon de 0,1 à 1 mg/L du Cr(VI) est préparée en utilisant le bichromate de potassium ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$).

2.3. Test des micronoyaux

2.3.1. Germination

Les graines de *vicia faba* ont été préparées selon la norme AFNOR (NF T90-327) suite aux travaux réalisés par Ma et al. (1995), et Marcato-Romain et al. (2009). Des graines de *Vicia faba* sont mises à tremper dans de l'eau déminéralisée pendant 12h, puis débarrassées des téguments, désinfectées par l'hypochlorite de calcium $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ 1% pendant 10 mn; et mises à germer durant 4 jours entre deux couches de coton hydrophile humide dans une étuve de germination à $24\pm 2^\circ\text{C}$ pour éviter la dégradation de certaines molécules photosensibles. Lorsque les racines primaires atteignent 3 cm, les plantules sont prélevées et l'extrémité des racines est coupée sur les 5 premiers millimètres. Ceci permet de favoriser l'apparition des racines secondaires qui nous intéressent plus particulièrement.

2.3.2. Test de micronoyaux en milieu solide

Pour ce test un sol standard Lufa 2.2 a été utilisé comme un contrôle négatif et comme support en mélange avec les stades de co-compostage. Différentes dilutions des stades initiaux et finaux des mélange A et B en présence de sol Lufa 2.2 ont été préparées (25%, 50%, 75%, et 100%). Comme l'ont décrit Song et al. (2007), le contrôle positif est préparé en mélangeant au sol Lufa 2.2 et 10^{-5} M d'une solution d'hydrazide maléique (HM).

Les jeunes pousses de *Vicia faba* obtenues selon le protocole décrit précédemment sont exposées par les racines à chaque dilution de co-compost mélangé au sol Lufa 2,2. L'expérience s'est déroulée au phytotron à une température à 24/22°C (jour/nuit), avec une alternance jour/nuite (14h/10h). L'humidité relative est de 70%, avec une lumière Osram Nav-T super (600W), lampe de sodium avec très haute pression fournissant une densité minimale de flux de photons de $250 \mu\text{mol} / \text{l} / \text{m}^2$. Le taux d'humidité de chaque mélange est maintenu par ajout d'eau au 2/3 de la capacité au champ. Après 3 jours d'exposition les racines secondaires des trois répétitions ont été collectées séparément.

2.3.3. Test de micronoyaux en milieu liquide

L'extrait liquide de chaque stade de co-compostage a été préparé avec un mélange de 100 g de co-compost frais dans 1000 mL d'eau, agité pendant 24h. Après 30 min de centrifugation à 5000 tr/min, les surnageants sont récupérés.

Les racines primaires des graines de fèves (*Vicia faba*) ont été exposées aux extraits liquides des stades initiaux et finaux de co-compostage des mélanges A et B, et aux cinq concentrations de chrome hexavalent (Cr(VI)) ($34 \cdot 10^{-3}$, $17 \cdot 10^{-3}$, $34 \cdot 10^{-4}$, $17 \cdot 10^{-4}$, $34 \cdot 10^{-6}$ mM) préparées avec une solution de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Le contrôle négatif et le contrôle positif ont été préparés respectivement avec de l'eau et une solution d'hydrazide maléique (HM) (10^{-5} M). Après 24h d'exposition, les plantes ont été déplacées dans des bacs contenant seulement de l'eau durant encore 24h. Les racines secondaires des trois répétitions ont été collectées séparément.

2.3.4. Observation et quantification des micronoyaux

Après chaque traitement, trois racines secondaires par répétition ont été analysées comme suit :

- **Etape de fixation** : Les racines secondaires ont été fixées dans un eppendorf par une solution de Carnoy (Acide acétique glacial /Ethanol à 95%, 1:3; v:v) durant 12h à 4°C
- **Etape conservation**: Les racines fixées ont été récupérées rincées pendant 10 mn dans de l'eau déionisée puis conservées dans de l'éthanol 70% à 4°C.

- **Etape d'hydrolyse acide:** les racines secondaires sont hydrolysées par de l'acide chloridrique (1N) dans un bain marie à 58°C pendant 7 mn. Les racines sont alors rincées à l'eau. Cette étape a pour effet de ramollir les tissus afin de permettre l'étalement de l'extrémité racinaire sur la lame de microscope et leur coloration.
- **Coloration:** la coloration des chromosomes a été effectuée par de l'orcéine à 1%.
- **Observation:** une observation au microscope binoculaire a été réalisée au grossissement 400.
- **Comptage:** Pour chaque traitement, 6000 cellules (en mitose, en phase G₀ et avec micronoyaux) sont comptées par traitement. Les résultats sont exprimés en % pour l'indice mitotique, en ‰ pour les micronoyaux. Le test est considéré valable si l'indice mitotique est supérieur à 2% (Ma et al., 1995, AFNOR, 2004).

2.4. Analyses statistiques

Les traitements statistiques sont présentés sous forme des moyennes +/- l'écart type. Les données ont été analysées par un test d'ANOVA (Sigmastat, SPSS, Cary, NC). La comparaison des variances est effectuée par un test de Tukey. Les valeurs présentant une même lettre ne sont pas statistiquement différentes. Les valeurs présentant des lettres différentes sont évaluées comme significativement différentes avec $p < 0,05$.

3. Résultats et Discussion

3.1. Test de germination

Les tests de germination montrent que les extraits hydrosolubles des stades initiaux de co-compostage des deux mélanges A et B, induisent des indices de germination (IG) faibles entre 16% et 33% pour le cas du navet, du cresson, et de la luzerne (Figure 1). Pour la laitue aucune germination n'est observée pour les deux stades du compost (T₀ et 1 mois), ceci pour les deux mélanges A et B. Ces résultats montrent la grande sensibilité de la laitue en comparaison des autres graines testées. Les faibles taux de germination sont dus aux substances hydrosolubles phytotoxiques contenues dans les échantillons de boues-déchets de palmier, durant les premiers stades du co-compostage. La libération des produits de dégradation au cours de la phase de stabilisation peut aussi contribuer à l'inhibition de la germination (Chapman et al., 1983). Plusieurs auteurs (Piotrowska et al., 2006; Hachicha et al., 2009) ont montré qu'au cours du compostage, des substances très variées ont un pouvoir inhibiteur important sur la germination des graines, comme par exemple les acides organiques à courte chaîne, les phénols, des alcaloïdes, des aldéhydes, des cétones, et certains composés flavonoïques.

L'ammoniac et les métaux lourds sont aussi des substances phytotoxiques (Mayer et al., 1989; Keeling et al., 1994 ;Tiquia et al., 1996 ; 2002 ; Novoa-Munoz et al., 2008).

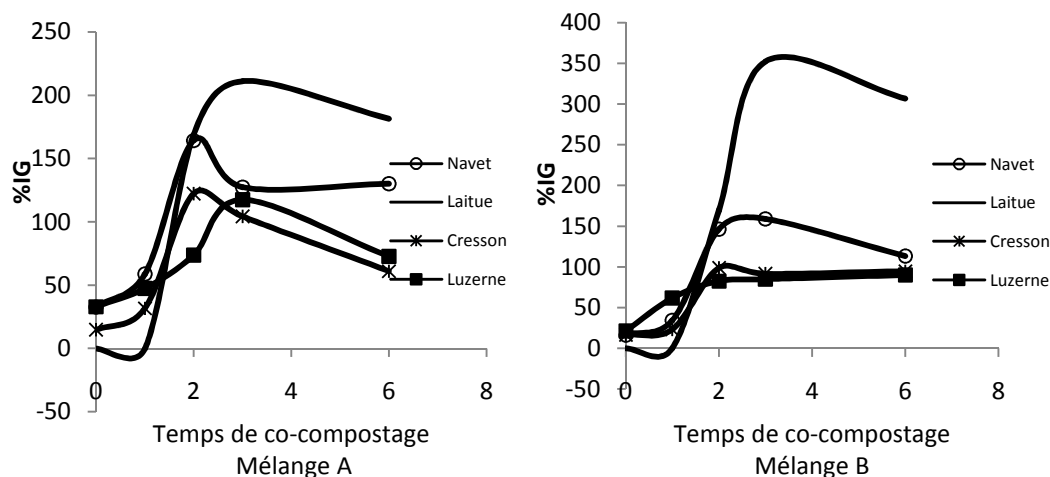


Figure 1 : Evolution de la phytotoxicité au cours du co-compostage des mélanges A et B

Après un mois de co-compostage, on remarque une augmentation importante de (IG) surtout pour la période deux mois-trois mois (Figure 1). Après trois mois de co-compostage, l'indice de germination (IG) a connu une baisse relativement importante pour le cas du cresson, luzerne et laitue pour le mélange A, et le navet et laitue pour le mélange B. L'effet inhibiteur des composés toxiques au cours du co-compostage sur la germination des graines, se montre différemment en fonction du degré de sensibilité des espèces végétales. L'action simultanée des deux effets (les substances toxiques et la sensibilité) détermine une réponse globale, qui se manifeste en conséquence pour la majorité des espèces par l'amélioration de l'indice de germination au cours du compostage (Keeling et al., 1994 ; Aggelis et al., 2003). L'amélioration de l'IG dans notre cas de co-compostage qui dépasse parfois 100% (Figure 1), confirme un comportement et une sensibilité variable en fonction des espèces envers les éléments phytotoxiques et les substances stimulatrices de la germination (Levy et al., 2003 ; Ribeiro et al., 2007). Différents auteurs (Richnow et al., 2003 ; Boopath et al., 2004) ont attribué l'augmentation de l'IG à la forte réduction des substances phytotoxiques, et des lipides qui sont susceptibles d'avoir des effets phytotoxiques. D'autres travaux (Levy et al., 2003 ; Yangui et al., 2009) ont montré que l'effet stimulateur de la germination et la croissance des racines dont l'IG dépasse 100% est dû à la teneur en matière organique stable, la richesse en substances humiques et les éléments minéraux durant la phase de

maturation. Différents travaux (Barje, 2010; Ouatmane et al., 2002 ; Ait Baddi et al., 2004) ont montré les mêmes évolutions de l'indice de germination en fonction des stades de compostage.

Pour les deux essais de compostages, les valeurs d'IG pour la majorité des espèces étudiées ont connu une diminution vers la fin du processus. Ceci peut s'expliquer, en dehors de l'action des substances phytotoxiques, par la forte charge ionique des extraits hydrosolubles et la conductivité électrique. Celle-ci peut provoquer un éventuel effet osmotique. Des effets similaires peuvent être induits par des concentrations trop importantes de certains éléments minéraux tels que le cuivre, le zinc, le manganèse ou le bore, qui peuvent générer un effet inhibiteur sur la germination et la croissance des plantes (Mayer et al., 1989 ; Marcato-Romain et al., 2009).

Toutefois, la comparaison par rapport à la germination dans l'eau seule, et dans l'extrait hydrosoluble de la boue seule, montre un IG presque nul pour toutes les espèces étudiées dans l'extrait de la boue. La germination est relativement importante dans l'eau; cela paraît tout à fait normal, puisque la composition des graines en substances nutritives, oligoéléments et réserves organiques représentent une source nutritive qui assure la germination des jeunes plantules dans l'eau.

A la lumière de ces résultats, les taux de germination des composts obtenus après 06 mois, sont supérieurs à 50 % et confirment leur maturité comme décrit par Zucconi et al. (1981).

3. 2. Evolution des formes de chrome au cours du co-compostage

Le suivi de la teneur totale en chrome au cours du co-compostage, montre une augmentation atteignant des valeurs de l'ordre de 106 mg/Kg et 150 mg/Kg (Figure 2a), respectivement pour les deux mélanges A et B. Ces teneurs totales en chrome restent inférieures aux normes des composts de boues autorisés pour un épandage agricole. Le chrome hexavalent (Cr(VI)) diminue dans la fraction soluble après six mois du co-compostage (Figure 2b). Des résultats similaires, sur l'évolution de chrome et ses formes, ont été reportés par travaux sur les tanneries (Rai et al., 2006; Shukla et al., 2009).

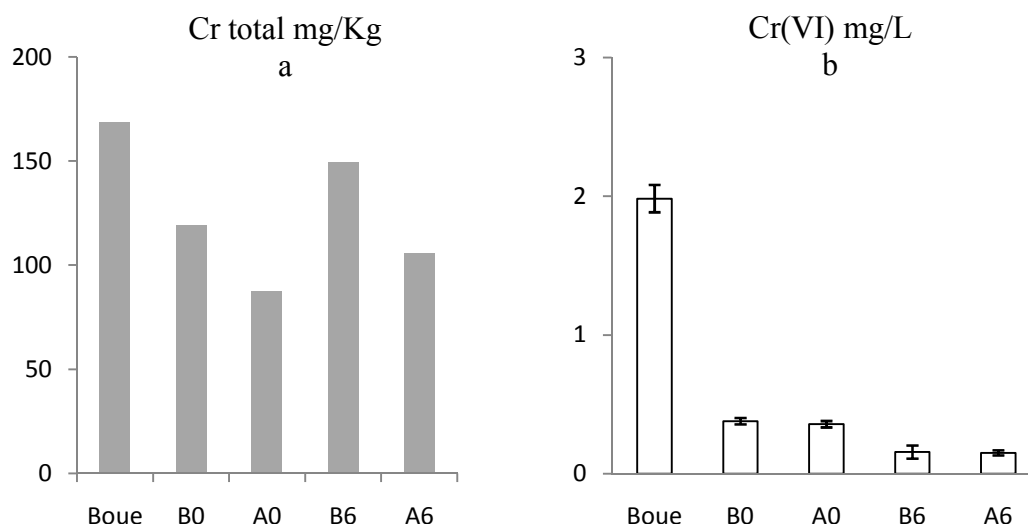


Figure 2: Evolution de différentes formes de chrome, chrome total (a) et Cr(VI) (b) des stades initiaux (A0, B0) et finaux (A6, B6) du co-compostage des mélanges A et B

Plusieurs études ont montré que Cr(VI) est fortement toxique (Viti et Giovannetti, 2001; Zayed et Terry, 2003), et le degré de toxicité est liée au stade d'oxydation du chrome (Dhal et al., 2013). Zheng et al. (2007); Shukla et al. (2009), ont indiqué que l'extraction séquentielle peut donner plus d'informations sur la spéciation chimique des éléments traces métalliques. Dhal et al. (2013), ont montré que le Cr(VI) est la forme chimique la plus hydrosoluble à une large gamme de pH, bien que la forme du chrome trivalent Cr(III) tend à être adsorbée sur la matrice solide (sol) ou précipitée sous forme d'hydroxyde de chrome dans un milieu légèrement acide et/ou alcalin.

La concentration du Cr(VI) dans l'extrait hydrosoluble de la boue est de 1,98 mg/L. Cependant, la concentration des stades initiaux dans les mélanges A et B en Cr(VI), est cinq fois plus faible que celle dans la boue non traitée (Figure 2b). Ceci est dû à l'effet de dilution de la boue par les déchets de palmier. Nos résultats montrent que la quantité de chrome total dans le déchet de palmier est de 0,65 mg/Kg.

Ainsi la concentration de Cr(VI) au cours de co-compostage a diminué significativement avec la maturité des composts (Figure 2b). Un abattement de 58 et 58,6%, après six mois de co-compostage respectivement pour le mélange A et B a pu être observé. Shukla et al. (2009), ont montré que la forme toxique Cr(VI) est susceptible de se transformer en Cr(III) au cours du compostage des effluents de tannerie. Arnfalk et al. (1996), ont enregistré un taux élevé d'abattement de Cr(VI) attribué à la matière organique. Ceci peut s'expliquer selon

Stollenwerk et Grove (1985), par la conversion de la forme Cr(VI) en Cr(III) par un donneur d'électrons à savoir la matière organique ou inorganique, qui favorise sa réduction. Dans un sol aéré, ce phénomène est possible à des pHs légèrement alcalins. Des réducteurs forts comme le H₂S (Kim et al., 2001), Fe(II) (Lin et al., 2009) et le glycérol (Yurkow et al., 2002) ont été utilisés afin de réduire le Cr(VI) en Cr(III). L'acide ascorbique joue aussi un rôle important pour la réduction du Cr(VI) en Cr(III) (Xu et al., 2004).

Dans nos conditions expérimentales, le taux d'abattement du Cr(VI) est très important au cours de la phase thermophile, où la température est de 65°C, ce dernier est de l'ordre de 44,5% et 40%, respectivement pour les mélanges A et B. Cependant au cours de la phase de maturation le taux d'abattement du Cr(VI) est de 24% et 30,5%, respectivement pour les deux mélanges A et B. Ceci peut expliquer que l'augmentation de la température au cours de la phase thermophile contribue à la diminution du Cr(VI) principalement par volatilisation. Xu et al. (2004), ont montré que l'augmentation de la température augmente la réduction du Cr(VI). Bien que Liu et al. (2013), ont montré que l'abattement de Cr(VI) augmente, en raison des échanges ioniques qui augmentent avec la température, accélérant ainsi la solubilité du chromate à des températures élevées.

D'autres auteurs ont mis l'accent sur les interactions métal-microorganisme et leur contribution à la diminution et la stabilisation des métaux lourds dans le sol et dans les effluents. Bader et al. (2000); Shukla et al. (2007), ont supposé que le milieu de compostage peut favoriser les conditions de développement de microorganismes tolérants des concentrations élevées en Cr et qui peuvent jouer un rôle important à la transformation de métal en différentes formes.

D'autres travaux (Ahluwalia et Goyal, 2013; Dhal et al., 2013), ont cité les différents mécanismes susceptibles d'intervenir à la transformation de Cr(VI) par les microorganismes des déchets. Dans les conditions aérobies, la réduction des chromates nécessite la présence du NADH ou NADPH comme cofacteur. Sous les conditions anaérobies, quelques bactéries peuvent utiliser le Cr(VI) comme accepteur d'électrons, et la réduction de Cr(VI) peut se faire par des réactions chimiques associées avec les composés intra et extracellulaires, à savoir les acides aminés, les nucléotides, les sucres, les vitamines et les acides organiques. Conventionnellement, dans les milieux aqueux le Cr(VI) peut être transformé en Cr(III) via des échanges ioniques ou par réduction chimique et par précipitation (Vieira et Volesky, 2000; Wang et Chen, 2009).

3. 3. Evolution de la génotoxicité au cours du co-compostage de boues-déchets de palmier

3.3.1. Génotoxicité de la matrice solide de co-compost

Les échantillons de co-compostage des deux mélanges A et B en mélange avec le sol Lufa 2.2 ne révèle aucun effet génotoxique (Tableau 1). La fréquence des micronoyaux de toutes les concentrations testées n'est pas significativement différente de la fréquence des micronoyaux du contrôle négatif, contrairement au contrôle positif (HM) (Tableau 1).

Tableau 1: Résultat de micronoyaux des racines de *Vicia faba* par approche matrice solide et sol Lufa 2.2

Echantillons	Indice mitotique (%)	Micronoyaux (‰)
Contrôle négatif (Lufa 2.2)	9,16±0,7	0,34±0,4
Contrôle positif (HM)	5,6±0,3	17,2±2,0
Boue	6,27±0,6	0,79±0,6
B0	6,89±1,0	0,69±0,70
A0	8,42 ±1,1	0,41±0,6
B6	9,15±1,3	0,40±0,3
A6	9,21±1,2	0,36±0,5

Song et al. (2007), ont montré que seuls les résultats observés après deux jours de contact, aussi bien dans le sol que dans l'extrait hydrosoluble, permettent de diagnostiquer et évaluer le degré de toxicité d'une substance. Ceci est lié au phénomène d'interférence entre les polluants et la matière organique de produit de compostage, ce qui affecte la biodisponibilité des polluants et principalement les métaux.

Il est reconnu que la matière organique joue un rôle significatif pour réduire la disponibilité des métaux. Shahid et al. (2012), ont montré que la matrice solide peut agir comme un chélateur des métaux. Tejada et al. (2006), ont rapporté que la remédiation des sols pollués est efficace après l'ajout de la matière organique stable. Bolan et al. (2003); Bernhard et al. (2005), ont montré que le Cu et le Zn à de faibles concentrations sont des nutriments essentiels pour la plante, et leur accumulation dans le sol peuvent avoir des effets toxiques pour la plante et les microorganismes. Warne et al. (2008), ont expliqué la faible biodisponibilité des ions de Cu dans le sol par leur chélation par les constituants organiques.

La concentration des cations Pb^{2+} libre sont fortement corrélés avec la toxicité du Pb (Kim et al., 2010, Shahid et al., 2011). Plusieurs autres études montrent que les substances humiques peuvent être utilisées en matière de remédiation des sols pollués au Pb (Ehsan et al., 2007; Saifullah et al., 2010). Lock et Janssen (2001), ont montré que le Cd^{2+} peut être adsorbé sur les argiles et sur la matrice humique chargée négativement. Bien que Sarwar et al. (2010), ont expliqué que les ions Cd^{2+} sont moins toxiques dans les sols riches en nutriments (N, P, S, Ca, Mn, Mg). Ceci a été expliqué par le phénomène de compétition avec d'autres cations divalents. Ces références soulignent la forte affinité entre la matière organique et les métaux, ce qui peut contribuer à la diminution de leur toxicité vis-à-vis des plantes. De plus, les paramètres physiques de la matrice de co-compost à savoir la porosité peut aussi limiter la biodisponibilité des polluants aux racines.

3. 3. 2. Génotoxicité des extraits hydrosolubles de co-compost et de la solution de chrome hexavalent

Le test micronoyaux de boue et de substrat de co-compostage à base de boue en milieu liquide, montre que l'extrait hydrosoluble de la boue non traitée provoque une induction significative du nombre de micronoyaux ($8,7\text{ ‰} \pm 1,04$) contre $0,33\text{ ‰} \pm 0,58$ pour le contrôle négatif (Tableau 2, Figure 3). Le taux de micronoyaux baisse respectivement de 69% et 34,5% aux stades initiaux A0 et B0 des mélanges A et B.

Ces résultats sont liés à l'effet de dilution de la boue par le déchet de palmier mais aussi par le possible piégeage de certains composés dans la matrice poreuse. Le taux de micronoyaux dans le mélange B est plus élevé que dans le mélange A, et il est 10 à 20 fois plus élevé que le contrôle négatif respectivement pour A0 et B0. Ceci est dû aux proportions de déchet de palmier mélangées avec la boue.

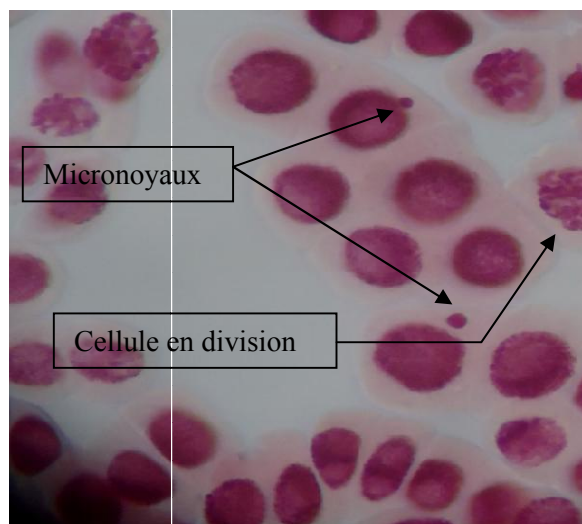


Figure 3 : Les micronoyaux et les cellules en division d'une racine dans l'extrait hydrosoluble de boues

Tableau 2: Effet génotoxique au cours du co-compostage et de différentes concentrations du Cr(VI) par le test micronoyaux (approche extrait hydrosoluble)

Echantillons	Indice mitotique (%)	Micronoyaux (‰)
Contrôle négatif	6,08±1,01 ^{ab}	0,33±0,58 ^a
Contrôle positif (HM)	4,10±0,59 ^a	21±2,65 ^c
Stades de co-compostage		
Boue	4,17±0,73 ^a	8,7±1,04 ^b
B0	4,83±0,97 ^{ab}	5,6±0,7 ^b
A0	6±0,51 ^{ab}	2,7±0,7 ^b
B6	6,5±0,45 ^b	1,33±0,2 ^a
A6	7,15±0,61 ^c	0,83±0,4 ^a
Gamme K ₂ Cr ₂ O ₇ (mM)		
34 10 ⁻³	3,10±1,25 ^{ab}	2,95±0,75 ^{ab}
17 10 ⁻³	5,02±0,86 ^c	8,92±1,01 ^b
34 10 ⁻⁴	5,95±0,96 ^b	5,2±1,15 ^b
17 10 ⁻⁴	6,4±0,58 ^a	2,5±0,48 ^b
34 10 ⁻⁶	5,83±0,58 ^a	1,15±1,03 ^b

Après six mois de co-compostage des mélanges A et B (A6, B6), nous pouvons noter une diminution drastique de la génotoxicité de l'ordre de 70,4 et 77,2%, respectivement pour les extraits hydrosolubles des mélanges A et B. De même, nous avons constaté une augmentation de l'indice mitotique de l'ordre de 19,16% et 34,57%, respectivement pour les mélanges A et

B (Tableau 2). Ces résultats indiquent l'effet suppressif de la toxicité de la boue après compostage. Il est intéressant de signaler l'effet des matières organiques stables extraites, et leur contribution à la division cellulaire et par conséquent au développement racinaire. Lopez et al. (2010), ont montré qu'après le compostage de la boue d'épuration, aucune toxicité n'a été détectée dans les extraits hydrosolubles.

La différence notée en termes de fréquence des micronoyaux entre les deux approches (matrice solide et les extraits hydrosolubles de différents stades de compostage) peut être associée à différentes origines: la nature et le comportement physiologique des racines dans le milieu solide et liquide. Tewari et al. (2005); Marcato-Romain et al. (2009), ont montré que la perméabilité des racines est élevée dans une solution aqueuse, et la surface d'échange est aussi plus importante dans l'extrait hydrosoluble que dans le sol. La spéciation et la concentration des métaux, comme déjà discuté, le Cr(VI) est la forme la plus soluble dans l'eau et 100 fois plus toxique que la forme trivalente (Cr(III)) (Kapoor et Viraraghavan, 1995 ; Yu et Gu, 2008). Chandra et al. (2004), ont montré que la génotoxicité est 2 fois plus élevée dans l'extrait hydrosoluble de déchets de tannerie que dans le milieu solide.

Les données de la littérature, montrent que la boue est un milieu complexe constituée de divers composés toxiques à savoir des HAPs, des PCB et des éléments traces métalliques (Amir et al., 2005; Kapanen et al., 2013 ; El Fels et al., 2014a). Le Cr(VI) est l'un des composés les plus toxiques de la boue, et il est reconnu inhiber non seulement la division cellulaire mais aussi l'élongation cellulaire en induisant des aberrations chromosomiques (Scoccianti et al., 2006 ; Hou et al., 2014). La capacité de Cr(VI) à pénétrer les cellules et interagir avec des constituants cellulaires va renforcer ses effets toxiques. Costa (1991) et Corradi et al. (1993), ont montré que le Cr (VI) altère les fonctions de la membrane plasmique conduisant à une plasmolyse et à l'inhibition de la biosynthèse des pigments à 48h de l'exposition au Cr(VI). Un effet inhibiteur du Cr sur l'activité d'amylases et le transport de sucres a été signalé par Hou et al. (2014). En outre, l'activité de certaines protéases augmentent avec les traitements au Cr (López-Luna et al., 2009). Pour les cellules humaines Vaglenov et al. (1999), ont montré que le Cr(VI) est facilement assimilable par les cellules via des transporteurs protéiques (anion carrier proteins). Les mécanismes moléculaires par lesquels le Cr(VI) cause des dommages d'ADN impliquent la formation de ponts intra et/ou inter-caténaux (cross-links) aboutissant à des aberrations chromosomiques mais aussi entre l'ADN et les protéines. Les mécanismes cités ci-dessus peuvent expliquer que le Cr(VI) génère des effets génotoxiques traduits par une augmentation de la fréquence des micronoyaux dans les cellules racinaires de *Vicia faba*. Cet effet diminue significativement avec

l'abattement de Cr(VI) après six mois de traitement aérobie (Tableau 2, Figure 2). Ceci peut expliquer l'effet de co-compostage sur la diminution de la toxicité de Cr. De plus Shukla et al. (2009), ont montré que le Cr devient non bio-disponible avec la maturité de compost.

L'évolution de Cr(VI) dans nos conditions expérimentales est positivement corrélé ($R^2 = 0,77$) avec l'effet génotoxique au cours du co-compostage (Figure 4). Zheng et al. (2007), ont montré une corrélation positive entre la fraction de métal disponible à la plante, et la fraction échangeable, ce qui explique le potentiel effet phytotoxique de Cr(VI) par rapport au Cr adsorbé sur la matière organique.

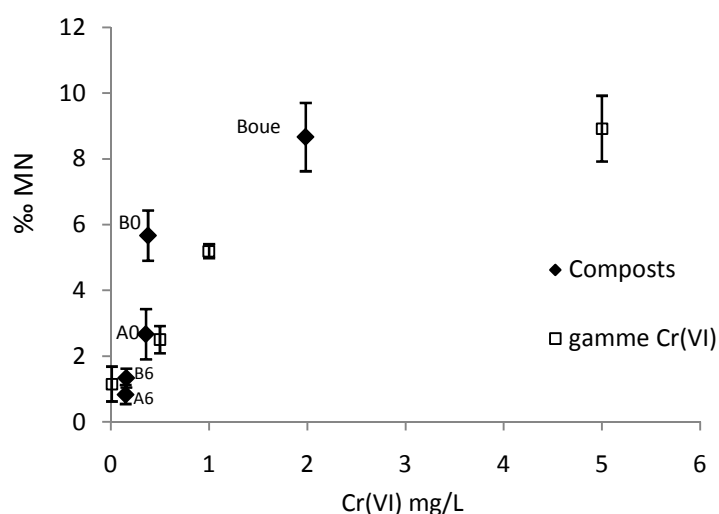


Figure 4: Indice de corrélation entre le Cr(VI) et MN aux différents stades de co-compostage des mélanges A et B

La figure 4 montre une corrélation entre les doses de Cr(IV) dans la fraction hydrosoluble des différents extraits de boues et de co-composts, ainsi que les doses de Cr(VI) présent dans les solutions de bichromate testés. Les résultats de la figure 4 montrent qu'à la concentration la plus élevée en Cr (VI) ($34 \cdot 10^{-3}$ mM), on note conjointement une diminution de la fréquence des micronoyaux et des divisions cellulaires aux limites de validation du test (3%). Les micronoyaux ne peuvent être visible que sur des cellules ayant subits une mitose. La zone apicale d'étude dans les racines, est une zone de croissance active pour l'élongation des racines qui est le siège de nombreuses mitoses. Le taux minimum estimé par Ma et al. (1995) pour visualiser de façon optimale les micronoyaux est de 2%. En dessous il est impossible de compter de façon fiable les micronoyaux formés. La baisse significative du taux de mitose induit par la dose de Cr testé traduit une toxicité aigue qui va engendrer une inhibition des

mitoses et de ce fait entrainer une diminution du nombre de micronoyaux quantifiable. Ceci est lié à la forte cytotoxicité du Cr(VI). A des concentrations plus faibles de la solution de Cr(VI) et aux stades A0 (stade initial mélange A), A6 (stade 6 mois mélange A), et B6 (stade 6 mois mélange B), la fréquence des micronoyaux était très proche et proportionnelle à la concentration de Cr(VI) (Figure 4). Cependant, pour le mélange B au stade initial (B0) et plus particulièrement pour la boue non traitée, les résultats mettent en évidence une différence significative entre la concentration de Cr(VI) et l'effet génotoxique. Pour le même nombre de micronoyaux, la concentration de Cr(VI) dans la boue non traitée était de 1,98 mg/L, néanmoins il est de 5 mg/L pour la solution de Cr(VI) appliquée toute seule (Figure 4). Les résultats suggèrent la présence d'autres composés génotoxiques dans la boue brute susceptible d'amplifier l'effet toxique. Il a été démontré que la boue brute contient différents composés à la fois toxiques et génotoxiques pour les plantes. Parmi eux on cite les acides organiques, les composés phénolique et pharmaceutique à savoir les antibiotiques (El Hajjouji et al., 2007; Khadra et al., 2012; El Fels et al., 2014a). Ce qui peut provoquer un effet additif et par conséquence une toxicité accrue. Finalement, nos résultats suggèrent que le procédé de co-compostage est une alternative efficace pour minimiser et stabiliser ces composés toxiques et plus spécifiquement le chrome hexavalent.

4. Conclusion

L'analyse concrétisée par le suivi des paramètres biologiques traduit les interactions qui interviennent entre les polluants des substrats de co-compostage avec notamment les métaux et les composés organiques. Aucun effet toxique n'a été observé en utilisant la matrice solide de co-compostage. Ceci justifie le pouvoir de la matière organique de co-compostage à complexer les polluants et diminuer leur effet. Les extraits hydrosolubles des stades de co-compostages montrent la faisabilité de cette approche pour évaluer le potentiel toxique (phytotoxique, génotoxique et cytotoxique) au cours du co-compostage. La concentration et la dynamique des éléments toxiques de la phase hydrosoluble des stades initiaux de co-compostage se répercutent par une inhibition de germination (IG < 33%) avec une sensibilité différente entre les espèces végétales testées et une fréquence significative des micronoyaux. Après six mois de co-compostage les extraits hydrosolubles des co-composts des mélanges A et B présentent un taux de phytotoxicité très faible traduit par un indice de germination qui dépasse 100%, un taux d'abattement de micronoyaux de l'ordre de 70,4 et 77,2% corrélé positivement avec le taux d'abattement de chrome hexavalent (Cr(VI)) avec 58 et 58,6%, respectivement pour les mélanges A et B. Ces indicateurs biologiques confirment l'efficacité

du processus de co-compostage à transformer et stabiliser les polluants notamment le Cr(VI) de la boue des stations d'épuration à boues activées.

Synthèse Conclusion & Perspectives

Dans le cadre du Plan National d'Assainissement Liquide au Maroc, la ville de Marrakech s'est dotée d'une station d'épuration à boues activées en 2009. Cette station dimensionnée pour un débit nominal de 90 720 m³/jour (temps sec) et 117 936 m³/jour (débit moyen estival), génère actuellement l'équivalent de 130 t/jour environ de boues avec une siccité moyenne de 22% soit l'équivalent au total de 30,8 tonnes de Matière Sèche par jour (tMS/J). Actuellement, les boues d'épuration sont évacuées vers des sites de déchargement loués et situés à proximité de la décharge publique de Marrakech. Cette situation engendre des charges importantes en matière de gestion du déchargement des boues, de location des terrains et de leur aménagement. Ces charges sont évaluées à 50 DH-HT/tonne des boues évacuées soit 2,4 MDH-HT/an. En absence de filière d'évacuation définitive, ces charges ne cessent d'augmenter d'une année à l'autre. De plus, sur le plan environnemental, cette situation présente une source de nuisance sérieuse sur les plans paysager, sanitaire et olfactif qui sera ressentie de plus en plus avec la fermeture de la décharge publique actuelle, d'où la nécessité de réfléchir urgemment à d'autres filière de traitement et/ou de valorisation adaptées au contexte local.

Dans cette perspective nous avons proposé de réaliser une expérience pilote par la filière du compostage, en vue d'aboutir à la conception et à la réalisation d'un guide méthodologique d'expertise pour appréhender les conditions optimales de réussite de cette filière et sa pérennité dans une optique de développement durable. En effet, le compostage est une alternative intéressante au recyclage des déchets organique qui pourrait en grande partie subvenir aux besoins de sols agricoles, en termes d'apport des amendements et/ou fertilisants contenus dans les boues, en particulier l'azote et le phosphore, améliorer la capacité de rétention d'eau dans le sol...etc. En plus de la valorisation agronomique, le traitement de boues par compostage permettra de réduire leur inocuité, en terme de polluants organiques, germes pathogènes, parasites ...etc.

La démarche qui a prévalu pour mettre au point cette méthodologie de compostage s'appuyait sur l'optimisation la plus exhaustive possible des conditions de déroulement de la filière en se référant aux travaux de la littérature y compris les travaux de notre laboratoire « Ecologie et Environnement » ayant réalisé une multitudes de travaux sur le compostage de boues de STEP (Amir, 2005 ; Jouraiphy, 2007 ; Aboulawafa, 2009). Pour ce faire, avant la mise en pratique, une compilation des informations indispensable et une évaluation des conditions rigoureuses de réussite de la filière en termes de la taille des particules, les conditions d'aération manuelle et la rectification de l'humidité convenable à la croissance des microorganismes ont été respectées.

Cette expérience a été réalisée sur les boues de STEP en mélange avec les déchets verts de palmier comme un agent structurant, favorisant une aération et un rapport C/N optimal. Deux essais de co-compostage ont été réalisés à la pépinière communale de Marrakech, sous forme d'andains (Andain A: 2/3 de déchets de palmier et 1/3 de boues et Andain B: 1/2 de boues et 1/2 de déchets de palmier), pendant 6 mois. Bien qu'il soit universellement utilisé, le concept de maturité de compost ne fait pas l'objet d'une définition unique et généralement acceptée. En effet, la validation de réussite de la présente alternative est basée sur la validation de plusieurs paramètres ainsi qu'indicateurs qui doivent être mesurés de l'amont à l'aval du processus, afin de déterminer le degré de stabilité et de maturité des produits finaux.

Au cours du compostage, les biotransformations des mélanges ont été suivies par les analyses physico-chimiques notamment (température, pH, conductivité, humidité, carbone organique, azote total Kjeldahl, NH_4^+ , NO_3^- , taux de cendre...etc). Après six mois de co-compostage, les deux mélanges A et B acquièrent des rapports caractéristiques de composts matures. Etant donné que les différents paramètres étudiés montrent une évolution convenable de la température, qui a permis de différencier deux phases principales : (i) la phase de stabilisation lorsque la température a atteint 65°C , est un indicateur de bon fonctionnement du processus et de degré d'hygiénisation des substrats, justifié par la diminution de la concentration des coliformes fécaux et totaux, et par l'abattement significatif des œufs d'helminthes (*Ascaris sp.*, *Trichuris sp.*, et *Capillaria sp.*) des substrat de co-compostage ; (ii) la phase de maturation caractérisée par une baisse de température des andains jusqu'à la température ambiante due au ralentissement de l'activité microbienne qui est liée à la stabilisation de la matière organique du compost, peut être définie comme l'augmentation de sa résistance à la biodégradation, un pH autour de la neutralité dû au pouvoir tampon de l'humus. La minéralisation de la matière organique donne des formes d'azote minérales déterminées par le rapport $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^- < 1$. Cette faible valeur d'indice de degré d'oxydation des substrats par les microorganismes, indique une réaction de nitrification du substrat résultante du développement de l'activité des bactéries nitrifiantes. Une diminution remarquable du rapport C/N voisin de 10, explique la diminution du carbone organique au cours du compostage qui en parallèle avec la décomposition de la matière organique autour de 40%. Cette diminution de la concentration a lieu essentiellement pendant la phase de stabilisation. La principale raison de cette diminution est l'utilisation par les micro-organismes des substances organiques indispensables à leur métabolisme. La mesure de cette biodégradabilité fait référence à l'évolution de la composition biochimique de la matière organique des substrats de

compostage des mélanges A et B. Nous avons noté un taux de décomposition de l'ordre de 50 et 28 % des polysaccharides, de 24 et 33% pour les composés azotés, un taux de décomposition très important d'hydrocarbures aliphatiques de 83 et 75%, un taux de dégradations de 68 et 54,5 % des stéroïdes et un taux de décomposition des composés ligneux de 27 et 25%, respectivement pour A et B, après 6 mois du co-compostage. La diminution de ces composés notamment les 7 dérivés ligneux identifiés dans notre cas de co-compostage avec différents pourcentage (82,59 et 42,55 % pour 2,4-diméthylbenzène; de 78,59 et 75,93 % pour le 2-méthyl-naphthalène; de 72,35 et 63,85 % pour le 1-éthyl-2-méthylbenzène; de 66,31 et 64,81 % pour éthylbenzène 24,71 et 20,96 % pour le styrène ; de 17,28 et 26,8 % pour toluène, et de 3,65 et 12,96 % pour le 4-méthylphénol) est le résultat combiné de leur métabolisation et leur biotransformation en d'autres dérivés qui par la suite s'incorporent dans la structure des substances humiques et/ou adsorbés par celles-ci. Ce phénomène est fortement associé au déroulement naturel et classique du processus d'humification de la matière organique. La différence dans le taux de dégradation des composés organiques, ne sont pas seulement attribués aux conditions physico-chimiques du co-compostage, mais sont forcément liée à l'origine de la matière organique (boue et palmier) à composter et leur proportion mélangées, ce qui peut influencer le degré de stimulation de l'activité enzymatique des microorganismes endogènes (bactéries, actinomycètes, et champignons) de chaque mélange et par conséquent la détermination de degré d'aromatisation de la matière organique. La fraction dite substances humiques a augmenté au cours du co-compostage de 17,3 et 15 g/kg jusqu'à 30,2 et 26 g/kgMF vers la fin du processus, respectivement pour les mélanges A et B. Le degré élevé d'aromatisation du mélange A par rapport au mélange B, est dû à sa concentration et son enrichissement en précurseurs des substances humiques de nature ligno-cellulosique qui proviennent des déchets de palmier. Cette tendance corrobore la caractérisation spectroscopique FTIR de la matière organique, qui nous a permis de montrer une nette réduction des structures aliphatiques et carboxyliques par rapport aux structures aromatiques, signe de la stabilisation de la matière organique et l'augmentation de la teneur en composés résistants, ce qui reflète le processus d'humification. L'indice de Shannon Weaver (Ish) reflète le degré de diversité et l'importance du processus sélectif d'oxydation des chaînes latérales et des sous unités des polymères de la lignine tel que l'humification spécifiquement dans le mélange A. Les stanols 5β -stanols (coprostanol) et 5β -stigmastanol (24-éthyl- 5α -cholestanol) marqueurs fiables de la contamination fécale, leur abattement régulier en fonction du temps est un indicateur du degré d'hygiénisation des composts finaux. Les concentrations relatives de thiostéranes augmentent avec le temps, ce qui explique que la

réaction de stéroïdes avec des espèces inorganiques du soufre est favorisée par le co-compostage. Nous avons pu conclure que le phénomène de sulfuration de stéroïdes au cours du co-compostage est produit via les cétones, nous avons alors suggéré que le 3-thiocampestane est formé à partir de 24-méthyl-3 β -ol-5 α -cholestane et, en conséquence, la configuration du carbone 5 est proposée pour être 5 α (H). De même, 3 β -thiocholestane peut être formé à partir de 5 α -cholestan-3 β -ol.

L'abattement total des stéroïdes est corrélé positivement avec les indicateurs de maturité du compost, en particulier C/N et NH₄⁺/NO₃⁻, ce qui ouvre la voie d'une éventuelle utilisation des stéroïdes comme indicateur de maturité de compost, voire de dépollution. D'autres indicateurs comme l'estimation des lipides extractibles totaux et les esters méthyliques d'acides gras (FAMES) indicateurs chimio-taxonomique, peuvent renseigner sur le degré d'évolution des substrats. Le suivi des lipides au cours des deux traitements A et B montre des variations quantitatives et qualitatives significatives. Après six mois de co-compostage, la teneur en lipides totaux diminue au cours du co-compostage avec un taux d'abattement de 43%. Cependant, les FAMES ont augmenté de 8,44% à 33,3% et de 10,76 à 43,41%, respectivement pour les mélanges A et B. Ce résultat est dû à la dégradation des lipides par les microorganismes suite aux évolutions des conditions physico-chimiques du milieu. La différence de concentration des lipides entre les deux mélanges est due au pourcentage de la boue, réservoir des lipides et des microorganismes, qui est élevé dans le mélange B. Néanmoins, la proportion de la boue de chaque mélange n'influence pas les FAMES d'origine non spécifique (C6 :0, C12 :0, C14 :0) qui ont connu une diminution importante. Cependant, les indicateurs des bactéries non spécifiques représentent une grande teneur durant la phase thermophile, le cas du C17 :0 pour le mélange A et C15 :0 pour le mélange B, les indicateurs Gram-négatif C18:1 ω 7c et le C18:1 ω 9c (cas du mélange A) augmentent spécifiquement pendant la phase thermophile. Ceci indique la nature des microorganismes thermotolérants dont les indicateurs évoluent différemment d'une phase à une autre de chaque mélange en fonction de l'évolution des conditions de compostage. Les FAMES, indicateurs des bactéries Gram-positif (caractérisant les phases thermophiles) ont diminué vers la fin de co-compostage. Ceci indique une adaptation des micro-organismes aux conditions de maturation (la diminution de la température et l'enrichissement du milieu par composés récalcitrants à la phase de maturation). Les indicateurs taxonomiques des groupes d'origine non spécifique (ONS) C16 :0 et C18 :0 ont connu une augmentation vers la fin du co-compostage pour les deux mélanges A et B, indique une intense décomposition de la matière végétale. L'augmentation des rapports C18 :0/C16 :0 ; aC17 :0/aC15 :0 et aC16 :0/C16 :0 pendant la

phase thermophile est un indicateur de stabilisation et maturation des substrats de co-compostage. La maturité du compost final s'accompagne aussi d'une augmentation de l'indice CPI, ce qui met en évidence l'enrichissement du milieu en FAMES d'origines végétales et qui résultent de l'attaque des composés récalcitrants ligno-cellulosiques. La diversité totale des indicateurs des microorganismes (Ish tot) a diminué pour les deux mélanges A et B. Cette tendance indique une adaptation microbienne lors de la succession des microorganismes au cours du co-compostage, ce qui permet d'aborder et de définir les étapes de biodégradation de la matière organique au cours du co-compostage. La phase thermophile est caractérisée par le développement des microorganismes thermotolérants et thermophiles principalement les champignons avec un pourcentage de 40% et 50%, respectivement pour la microflore mésophile et thermophile des mélanges A et B identifiés sur le milieu synthétique à base de notre substrat de co-compostage (CTEA). Cependant, la phase de maturation est caractérisée par un pic d'évolution d'actinomycètes, autour de 90% et 80% respectivement pour le mélange A et B, ce qui renseigne sur l'intense dégradation du substrat résistant ligno-cellulosique de notre substrat de co-compostage, et la contribution à l'humification et la maturité des composts. Le suivi de l'évolution de l'ensemble de la biodiversité endogène, sur le milieu (CTEA) au cours du co-compostage nous a permis de déterminer réellement la phase thermophile qui est limitée à 22 jour pour le mélange A et 30 jour pour le mélange B, ce décalage en temps est lié à la concentration des microorganismes de la boue et la nature de substrat composté. En effet, le fonctionnement de ces microorganismes en fonction de la concentration de substrat pour chaque phase de co-compostage, permet d'attribuer la longue phase de maturation du mélange A qui reflète le changement de l'installation du groupe fonctionnel, et l'induction de l'activité enzymatique rapide des actinomycètes par la forte concentration des substrats ligno-cellulosique. Cependant, aucune corrélation entre le développement de la microflore endogène et l'évolution de la température des andains n'a été trouvée sur le milieu GSM. L'approche sélective (CTEA) nous a permis d'isoler 12 souches actives d'actinomycètes mésophiles et thermophile (principalement de la phase de maturation) douées du pouvoir suppressif vis-à-vis d'un large spectre des germes pathogènes (Gram-positif, Gram-négatif et moisissures), ce qui peut montrer qu'en parallèle à l'évolution de la température le facteur biotique contribue avec un pourcentage à l'hygiénisation des substrats de co-compostage.

L'évolution prometteuse des composts issus de la boue et déchet de palmier grâce à l'activité enzymatiques de la microflore endogène peut fournir un produit de qualité, néanmoins la fiche signalétique de l'assurance d'utilisation de composts ne peut être rassurante qu'après

avoir effectué une analyse fine à l'échelle moléculaire. La boue est constituée d'une réserve en éléments minéraux qui réagissent fortement avec la fraction organique. L'évaluation de l'effet des éléments échangeables hydrosolubles lors de la biodégradation de la matière organique et l'effet complexant qu'exercent les substances humiques est effectuée sur différents modèles biologiques. Le test de phytotoxicité des graines (Laitue, Navet, Luzerne et Cresson) dans l'extrait hydrosoluble de chaque stade de co-compostage, montre un indice de germination très élevé aux stades finaux de co-compostage avec une sensibilité différente de chaque espèce, ce qui est étroitement lié à la diminution et à la dégradation des composés toxiques susceptibles de provoquer un effet toxique en inhibant la germination des graines. L'efficacité de processus de co-compostage de stabiliser les polluants est élucidé par le test des micronoyaux sur le model végétal des racines de *Vicia faba*, qui s'est révélé important pour toute incidence de génotoxicité induite par les composés toxiques de la boue, principalement le chrome hexavalent issu de l'activité industrielle des tanneries de Marrakech. Nous avons constaté que la concentration du chrome total de la boue se concentre avec la dégradation de la matière au cours du co-compostage, pour atteindre des valeurs de l'ordre de 106 mg/Kg et 150 mg/Kg, respectivement pour les deux mélanges A et B. Ces teneurs totales en chrome restent inférieures aux normes des composts de boues autorisées pour un épandage agricole. Nous avons montré qu'après 3 jours d'exposition en milieu solide, avec différentes concentrations de chaque stade de co-compostage des mélanges A et B, que le nombre de micronoyaux ne dépasse pas celui du contrôle négatif, bien que le pourcentage de l'indice mitotique reste significatif. La forte affinité entre la matière organique et les contaminants, notamment les métaux, peut contribuer à la diminution de leur toxicité, ceci soit par leur adsorption par la matière organique soit par leur interférence avec celle-ci, ce qui agit sur leur biodisponibilité. Cependant, notre résultat montre que la génotoxicité est induite spécifiquement par le Cr(VI) biodisponible et soluble. L'extrait hydrosoluble de la boue non traité a montré une fréquence importante des micronoyaux, qui correspond à une baisse de l'ordre de 69 et 34,5%, respectivement aux stades initiaux A0 et B0 des mélanges A et B. Néanmoins, la fréquence de génotoxicité des stades initiaux reste significative, 10 à 20 fois plus élevée que le contrôle négatif, respectivement pour le mélange A et B. Ce résultat explique d'un côté la forte toxicité de la boue toute seule, et de l'autre côté l'effet du mélange avec un substrat inerte (en termes de génotoxicité) à la diminution de l'effet toxique de la boue. Bien que la génotoxicité est significative pour les stades initiaux, en fonction des teneurs de la boue des deux mélanges A et B, celle-ci subit un abattement significatif de l'ordre de 70,4 et 77,2%, après six mois de co-compostage, respectivement des mélange A et

B. Nous avons aussi constaté une augmentation de l'indice mitotique de l'ordre de 19,16 et 34,57%, respectivement pour les mélanges A et B. On peut conclure que le compostage permet la diminution et suppression de l'effet toxique et génotoxique des produits compostés, ce qui stipule que cet indice peut être utilisé comme un indice biologique d'évaluation de toxicité des composts.

Nous avons pu montrer qu'un compost mature est un compost caractérisé par une diminution de la génotoxicité et une contribution positive à la croissance des racines. De même nous avons pu montrer que les tests faisant appel à l'extrait hydrosoluble représentaient la technique la plus fiable pour détecter un effet toxique du compost. L'abattement de l'effet génotoxique au cours du co-compostage est positivement corrélé ($R^2 = 0,77$) avec l'abattement de Cr(VI) soluble avec 58 et 58,6%, respectivement pour le mélange A et B après six mois de co-compostage. Cependant aucune relation dose-réponse entre la concentration en Cr (VI) et la fréquence des micronoyaux n'a été observée. Ce résultat indique d'un côté le potentiel effet phytotoxique de Cr(VI) biodisponible par rapport au Cr adsorbé sur la matière organique, et de l'autre côté l'effet du co-compostage sur la diminution drastique de Cr(VI) de la boue. Cet abattement du Cr(VI) durant la phase de stabilisation peut être amplifié par le phénomène de volatilisation dû à la hausse de température et/ou le lessivage au moment de l'arrosage. L'effet additif et combiné des polluants observé au cours de notre expérience était la seule explication que nous ayons pu trouver. Ceci réside dans le fait que pour un même nombre de micronoyaux, la concentration de Cr(VI) dans la boue non traitée était 4 fois plus faible que celle de la solution de Cr(VI) appliquée toute seule. Ceci nous a permis de suggérer la présence d'autres composés génotoxiques dans la boue brute susceptible d'amplifier et de renforcer l'effet toxique. Les résultats d'abattement global de la toxicité, permettent de conclure que le procédé de co-compostage est une alternative efficace pour minimiser et stabiliser une large gamme de composés toxiques spécifiquement le chrome hexavalent; et plusieurs mécanismes biotiques et abiotiques peuvent intervenir à savoir la biodégradation des composés toxiques, leur conversion en composés moins toxiques.

L'ensemble de nos résultats conditionnent la réalisation de nos objectifs fixés en matière de compostage des déchets de station d'épuration boue activée de Marrakech et déchets de palmier. Un guide général a pu être tiré qui inclut également une méthodologie d'approche de validation de notre procédé proposé, en matière de recyclage et de traitement des boues. A la lumière de nos expériences réalisées sur site, l'application de cette méthodologie, a mis en avant les conditions opérationnelles inhérentes à la réussite de la filière de compostage des déchets de STEP à boue activée, et déchets vert.

Notre travail montre de façon très intéressante que la pertinence des différents paramètres et indices physico-chimiques et microbiologiques de maturité et d'hygiénisation, et les biomarqueurs de toxicité que nous avons étudié (C/N, $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$, composés ligneux, stéroïdes, lipides et FAMES, les substances humiques, l'évolution de la microflore endogène, des œufs d'helminthes, les coliformes fécaux et totaux, test de germination, de micronoyaux des racines de *Vicia faba*) confirment la stabilité et la maturité des substrats de co-compostage. Ceci se traduit par l'enrichissement des composts par un substrat humifié signe d'évolution de la fraction organique de boue et de déchet de palmier sous l'action de l'évolution des paramètres physico-chimiques et de l'agglomération spatiale des communautés des microorganismes endogènes principalement les champignons et les actinomycètes. Par conséquent, l'évolution du processus a un effet remarquable sur l'hygiénisation des substrats qui se reflète par l'abattement des œufs d'helminthes, des coliformes et différents germes pathogènes sous l'action combinée des facteurs biotiques et abiotiques, tels que l'évolution de la température des andains et les souches actives, douées du pouvoir suppressif. L'effet de la filière de compostage sur l'abattement des polluants, principalement le Cr(VI) a été conclu par les résultats de test de phytotoxicité et génotoxicité, qui sont d'après notre expérience indispensables, en plus les paramètres physico-chimiques, pour mettre en évidence le risque éventuel des substrats de compostage. Nous avons constaté, à travers les résultats de nos expériences, que les tests dans l'extrait hydrosoluble sont très vivement recommandés. Les constatations nous ont permis aussi de conclure que la boue seule est un substrat toxique, cependant cette toxicité subit un abattement en mélange avec un substrat organique après maturation, dans le cas présent il s'agit de déchet de palmier. Néanmoins la proportion de la boue utilisée influence le degré et le pourcentage de la toxicité qui se sont toujours révélées significatifs aux stades initiaux des mélanges A et B. Notre proposition réajustée aux conditions de compostage des deux mélanges A et B, nous a permis d'atteindre après six mois de traitement un taux significatif et considérable d'abattement de l'essentiel de pollutions biologiques et chimiques de la boue, et d'avoir deux composts matures qui répondent aux normes d'utilisation. Bien que la synchronisation de l'activité microbienne en fonction des substrats et la cinétique d'évolution des deux mélanges A et B n'est pas identique, le degré d'évolution, de maturité et d'hygiénisation des substrats est similaire. A la lumière de ces résultats, le choix du mélange B est plus judicieux pour mieux faire face aux quantités considérables de boues générées par la STEP de Marrakech, et l'extrapolation de notre expérience à grande échelle en réalisant des essais industriels. Dans ce sens un projet proposé par notre Labortaire Ecologie et Environnement (L2E) (Faculté des

Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad Marrakech) suite à l'appel d'offres du Ministère de l'Environnement au Maroc vient d'être retenu pour financement pour 2015. A travers ce projet, les différents aspects techniques (dimensionnement...) et économiques (Business Plan...) seront étudiés.

Nous pouvons donc proposer notre scénario complet et pertinent, moins coûteux, et plus propice au sursaut du programme d'assainissement liquide de ces dernières années et qui est tributaire des moyens financiers actuels. Cette approche, contribuera à désengorger les décharges, et limiter la propagation des dépôts sauvages. De même, la mise en place et l'intégration de cette technologie verte à Marrakech permettra de recycler les déchets verts des espaces verts de la ville, et produira des composts dont les sols marocains ont largement besoin. Cette expérience locale pourra servir d'expérience pilote pour d'autres STEP à l'échelle nationale.

En perspective de ce travail, en plus des aspects techniques et économiques qui seront étudiés dans le cadre du projet financé par le Ministère de l'Environnement, nous suggérons :

- D'identifier les souches isolées d'actinomycètes actives (analyse biologie moléculaire)
- De suivre la génotoxicité d'autres molécules toxiques HAPs et d'autres éléments traces métalliques
- De faire un essai agronomique au champ qui devrait être réalisé en utilisant les différentes doses de composts des deux mélanges A et B sur les différentes cultures pour déterminer la valeur agronomique des composts.
- Réaliser l'étude économique de la filière proposée.
- Un projet de valorisation de boue de STEP à l'échelle industrielle vient d'être retenu pour financement pour 2015 par le ministère de l'environnement au Maroc.

Références Bibliographiques

A

Abad E., Martinez K., Planas C., Palacios O., Caixach J., Rivera J., 2005 : Priority organic pollutant assessment of sludges for agricultural purposes. *Chemosphere*, 61, 1358-69.

Abouelwafa R., 2009 : Biodégradation aérobie des boues de station d'épuration des rejets du raffinage des huiles brutes pour une valorisation agronomique, Thèse de doctorat Université Caddi Ayyad, Faculté des Science Semlalia Marrakech.

Abouelwafa R., Amir S., Souabi S., Winterton P., Ndira V., Revel J.C., Hafidi M., 2008: The fulvic acid fraction as it changes in the mature phase of vegetable oil mill sludge and domestic waste composting, *Bioresource Technology*, 99, 6112-6118.

Achour F., 2008: Caractérisation de la matière organique dans les ordures ménagères. Recherche d'indicateurs de stabilité. Thèse de l'école doctorale de chimie de Lyon.

Adam P., Schneckenburger P., Schaeffer P., Albrecht P., 2000: Clues to early diagenetic sulfurization processes from mild chemical cleavage of labile sulfur-rich geomacromolecules. *Geochimica and Cosmochimica Acta*, 64, 3485-3503.

Adana F., Genevini P.L., Tambone F., 1995: A new index of organic matter stability. *Compost Science and Utilization*, 3, 23-37.

Adani F., Lozzi P., Genevini P., 2001: Determination of biological stability by oxygen uptake on municipal solid waste and derived products. *Compost Science and Utilization*, 9, 163-178.

Adas Consulting, Limited, 2005: Assessment of options and requirements for stability and maturity testing of composts. The Waste and Resources Action programme, March 2005.

ADEME., 1996: La valeur azotée des boues résiduares des stations d'épuration urbaines, 336 p.

ADEME., 1998 : Le compostage des déchets organiques des ménages en Allemagne, Etat de l'art et retours d'expérience, Paris, France, 188.

ADEME., 1999 : Epanchage de boue d'épuration sur prairies et cultures fourragères. Aspects microbiologiques.

ADEME., 2006 : Gestion des déchets organiques en France, le point sur les filières de gestion biologique avec retour au sol, Ademe, Angers, pp ,22.

Adiguzel A., Ozkan H., Baris O., Inan K., Gulluce M., Sahin F., 2009: Identification and characterization of thermophilic bacteria isolated from hot springs in Turkey. *Journal of Microbiological Methods*. 79, 321–328.

AFNOR., 1975 : Norme T90-1110, Essai des eaux: dosage de l'azote total Kjeldahl.

AFNOR ., 1993 : NF X 31-15, Sols-Sédiments- Boues de stations d'épuration, mise en solution des éléments métalliques traces (Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn) par attaque acides, pp, 139-145.

AFNOR., 2000 : Amendements du sol et support de culture-Préparation des échantillons pour les essais physiques et chimiques, détermination de la teneur en matière sèche, du taux d'humidité et de la masse volumique compactée en laboratoire. Association Française de Normalisation, NF EN 13040.

AFNOR ., 2002 : Norme française NFU 44-095, Amendements organiques et supports de culture. Composts contenant des matières d'intérêt agronomiques, issues du traitement des eaux.

AFNOR., 2004: NF T90-327. Soil Quality – Assessment of Genotoxic Effects to Higher Plants Micronucleus Test on *Vicia faba*. Editions AFNOR, Saint-Denis, 13p.

Ahluwalia S.S., Goyal D., 2013: Microbial waste biomass for removal of chromium (VI) from chrom effluent. *Bioremediation Journal*, 17 (3), 190-199.

Ahn H.K., Sauer T.J., Richard T.L., Glanville T.D., 2009: Determination of thermal properties of composting bulking materials. *Bioresource Technology*, 100, 3974–3981.

Ait Baddi G., Albuquerque J.A., González J., Cegarra J., Hafidi M., 2004: Chemical and spectroscopic analyses of organic matter transformations during composting of olive mill wastes. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 54 (1), 39-44.

Albrecht R., 2007: Co-compostage de boues de station d'épuration et de déchets verts, nouvelle méthodologie du suivi des transformations de la matière organique. Thèse de doctorat de l'Université Paul Cezanne Aix-Marseille III. Faculté des Sciences et Techniques.

Albuquerque L., Rainey F.A., Nobre M.F., da Costa M.S., 2012: *Oceanicella actignis* gen. nov., sp. nov., a halophilic slightly thermophilic member of the alpha proteobacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 35,385–389.

Alcaniz J.M., Seres A., Gassiot-Matas M., 1983: Soil depth variation of humic composition studied by pyrolysis-gas chromatography (Py-GC), In Proceedings of the VIII International Symposium on Humus and Plant, Studies about Humus, pp. 1-4, Part I, Prague.

Allen M.A., Neilan B.A., Burns B.P., Jahnke L.L., 2012: Summons RE. Lipid biomarkers in Hamelin Pool microbial mats and stromalites. *Organic Geochemistry*, 41, 1207–1218.

Al-Shayeb S.M., Al Seaward M.R.D., 2000: The date palm (*Phoenix dactylifera* L.) fibre as a biomonitor of lead and other elements in arid environments. *Asian Journal of Chemistry*, 12, 954-966.

Alves A.C., Medeiros A.M., Francisco V., Gaspar I.M., Rato Q., Bourbon M., 2010: Molecular diagnosis of familial hypercholesterolemia: an important tool for cardiovascular risk stratification. *Port Cardiol*, 29, 907-921.

Alves C., Pio C., Duarte A., 2001: Composition of extractable organic matter of air particles from rural and urban Portuguese areas. *Atmospheric Environment*, 35, 5485–5496.

Amblès A., Magnoux P., Jambu P., Jacquesy R., and Fustec E., 1989: Effects of addition of bentonite on the hydrocarbon fraction of a podzol soil (A1 horizon). *Journal of Soil Science*, 40, 685–694.

Amelung W., Nikolakis A., Laabs V., 2007: Multiresidue Determination of Pesticides in Acid-Clay Soils from Thailand. *Journal of AOAC International*, 90, 1659-1669.

Amhamid O., Asmama S., Bouhoum K., 2002: Urban wastewater treatment in stabilization ponds: occurrence and removal of pathogens. *Urban Water*, 4, 255–262.

Amine-Khodja A., Trubetskaya O., Trubetskoj O., Cavani L., Ciavatta C., Guyot G., Richard C., 2006: Humic-like substances extracted from composts can promote the photodegradation of Irgarol 1051 in solar light. *Chemosphere*, 62, 1021-1027.

Amir S., Hafidi M., 2001 : Valorisation de boues de stations d'épuration des eaux usées par un bioprocédé aérobie "compostage". *Annale de Chimie-Sciences des Matériaux*, 26, 409–414.

Amir S., 2005: Contribution à la valorisation de boues de stations d'épuration par compostage, devenir des micropolluants métalliques et organiques et bilan humique du compost, Thèse de doctorat, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech.

Amir S., Hafidi M., Merlina G., Revel J.C., 2005a: Structural characterization of fulvic acids during composting of sewage sludge. *Process Biochemistry*, 40, 1693-1700.

Amir S., Hafidi M., Merlina G., Revel J.C., 2005b: Sequential extraction of heavy metals during composting of sewage sludge. *Chemosphere*, 59, 801-810.

Amir S., Hafidi M., Lemee L., Bailly J.R., Merlina G., Kaemmerer M., Revel J.-C., Ambles A., 2006a: Structural characterization of fulvic acids, extracted from sewage sludge during composting, by Thermochemolysis-Gas Chromatography- Mass Spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 77 (2), 149-158.

Amir S., Hafidi M., Lemee L., Merlina G., Guiresse M., Pinelli E., Revel J.C., Bailly J.R., Ambles A., 2006b: Structural characterization of humic acids, extracted from sewage sludge during composting, by Thermochemolysis-Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Process Biochemistry*, 41, 410-422.

Amir S., Merlina G., Pinelli E., Winterton P., Revel J.C., Hafidi M., 2008: Microbial community dynamics during composting of sewage sludge and straw studied through phospholipid and neutral lipid analysis. *Journal of Hazardous Materials*, 159, 593–601.

Amir S., Abouelwafa R., Medich A., Souabi S., Winterton P., Merlina G., Revel J.C., Pinelli E., Hafidi M., 2010: Pifas of the microbial communities in composting mixtures of agro-industry sludge with different proportions of household waste. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 64, 614–621.

Amoah P., Drechsel P., Abaidoo R.C., Ntow W.J., 2006: Pesticide and pathogen contamination of vegetables in Ghana's urban markets. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 50 (1), 1–6.

Anderson R.A., 1981: Nutritional role of chromium. *Science of the Total Environment*, 17, 13–29.

- Anderson H.A., Bick W., Hepburn A., Stewart M., 1989: Nitrogen in Humic Substances, In Hayes, M.H.B., MacCarthy P., Malcolm R.L., Swift, R.S. (Eds.), *Humic Substances II, In Search of Structure*, Wiley-Interscience, Chichester 223–253.
- Anderson T.H., Domsch K.H., 1993: The metabolic quotient for CO₂ (qCO₂) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions, such as pH, on the microbial biomass of forest soils. *Soil Biology Biochemistry*, 25,393–395.
- Anderson T.H., Joergensen R.G., 1997: Relationship between SIR and FE estimates of microbial biomass C in deciduous forest soils at different pH. *Soil Biology Biochemistry*, 29, 1033–1042.
- Andreux F., Munier-Lamy C., Genèse et propriétés des molécules humiques, in: Bonneau M., Souchier B. (Eds.), *Pédologie. 2. Constituants et Propriétés du sol*, Masson Publication, Paris, 1994, pp. 109–142.
- Annabi M., 2005 : Stabilisation de la structure d'un sol limoneux par des apports de composts d'origine urbaine, Relation avec les caractéristiques de leur matière organique, Doctorat de l'Institut National Agronomique, Paris-Grignon.
- Ansari M.I., Malik A., 2009: Genotoxicity of agricultural soils in the vicinity of industrial area. *Genotoxicity of agricultural soils in the vicinity of industrial area. Mutation Research*, 673, 124–132.
- Antizar-Ladislá B., Lopez-Real J., Beck J., 2005: In-vessel composting-bioremediation of aged coal tar soil, effect of temperature and soil, green waste amendment ratio. *Environment International*, 31 (2), 173-178.
- Arnfolk P., Wasay S.A., Tokunaga S., 1996: A comparative study of Cd, Cr(III), Cr(VI), Hg, and Pb uptake by minerals and soil materials. *Water Air and Soil Pollution*, 87, 131-148.
- Arrouays D., Balesdent J., Germon J.C., Jayet P.A., Soussana J.F., Sten gel P., 2002 : Stocker du carbone dans les sols agricoles de France, Expertise scientifique collective, Ed INRA, P 332.
- Asmama S., 1996. Traitement et réutilisation des eaux usées en agriculture (Marrakech) : aspect parasitologique. Thèse de DES de 3^{ème} cycle: Marrakech p122.
- Asperger A., Engewald W., Fabian G., 1999: Analytical characterization of natural waxes employing pyrolysis – Gas chromatography – Mass Spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 50, 103 – 115.
- Avella A.C., Delgado L.F., Görner T., Albasi C., Galmiche M., de Donato Ph., 2010 : Effect of cytostatic drug presence on extracellular polymeric substances formation in municipal wastewater treated by membrane bioreactor. *Bioresource Technology*, 101, 518-526.
- Avnimelech Y., Bruner M., Ezrony I., Sela R & Kochba M., 1996: Stability indexes for municipal solid waste compost. *Compost Science and Utilization*, 4 (2), 13-40.
- Ayres R.M., Mara D.D., Silva S.A., 1993: The accumulation, distribution and viability of human parasitic nematode eggs in the sludge of primary facultative waste stabilization pond. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 87, 256-258.

Ayuso M., Hernandez T., Garcia C., Pascual J.A., 1996: Biochemical and chemical structural characterization of different organic materials used as manures. *Bioresource Technology*, 57, 201-207.

B

Baath E., 2003: The use of neutral lipid fatty acid to indicate the physiological condition of the soil fungi. *Microbial Ecology*, 45, 373–383.

Baath E., Anderson TH., 2003: Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA based techniques. *Soil Biology Biochemistry*, 35,955–963.

Bacci E., Gaggi C., 1985: Polychlorinated biphenyl in plant foliage: translocation or volatilization from contaminated soils? *Bull. Environmental Contamination and Toxicology*, 35, 5,673.

Bader U., Ahmed N., Beswick A.J., Pattanapitpaisal P., Macaskie L.E., 2000: Reduction of chromate by microorganism isolated from metal contaminated sites of Karachi. *Pakistan Biotechnology Letters*, 22, 829–836.

Baeten J., Marinova E., DeLaet V., Degryse P., De Vos D., Waelkens M., 2012: Faecal biomarker and archaeobotanical analyses of sediments from a public latrine shed new light on ruralisation in Sagalassos, Turkey. *Journal of Archaeological Science*, 39, 1143-1159.

Bagge E., Sahlström L., Albin A., 2005: The effect of hygienic treatment on the microbial flora of biowaste at biogas plants, National veterinary, institute, Uppsala, Sweden. *Water Research*, 39, 4879-4886.

Bahij J., Soudi B., 2003 : Réutilisation des eaux usées épurées en agriculture aux Maroc, Bilan de plusieurs années de recherche. Réutilisation des eaux usées traitées et des sous-produits de l'épuration : Optimisation, Valorisation & Durabilité, Séminaire international, Tunis, 24-25 Septembre 2003.

Bahri H., Rasse D.P., Rumpel C., Dignac M.F., Bardoux G., Mariotti A., 2008 : Lignin degradation during a laboratory incubation followed by ¹³C isotope analysis. *Soil Biology Biochemistry*, 40, 1916-1922.

Bailenger J., 1979: Mechanisms of parasitological concentration in coprology and their practical consequences. *Journal of American medical technology*, 41, 65-71.

Banoub J.H., Benjelloun-Mlayah B., Ziarelli F., Joly N., Delmas M., 2007: Elucidation of the complex molecular structure of wheat straw lignin polymer by atmospheric pressure photoionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry. *Rapid Communications Mass Spectrometry*, 21, 2867-2888.

Banoub J.H., Delmas M., 2003: Structural elucidation of the wheat straw lignin polymer by atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry and matrix assisted laser

desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 38, 900-903.

Barakate M., Ouhdouch Y., Oufdou K., Beaulieu C., 2002: Characterization of rhizospheric soil streptomycetes from Moroccan habitats and their antimicrobial activities. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18, 49-54.

Barceló D., 2003: Emerging pollutants in water analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 22, 14-16.

Bari Q.H., Koenig A., 2001: "Effect of air recirculation and reuse on composting of organic solid waste". *Resources, Conservation and Recycling*, 33, 93-111.

Barje F., Amir S., Winterton P., Pinelli E., Merlina G., Cegarra J., Revel JC., Hafidi M., 2008: Phospholipid fatty acid analysis to monitor the co-composting process of olive oil mill wastes and organic household refuse. *Journal of Hazardous Materials*, 154,682–687.

Barje F., 2010 : Biotransformation du mélange des déchets d’huileries d’olive - ordures ménagères : Approche physico-chimique, suivi biochimique, bilan humique et qualité agronomique. Thèse de 3^{ème} cycle, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech.

Barje F., El Fels L., El Hajjouji H., Amir S., Winterton P., Hafidi M., 2012: Molecular behaviour of humic acid-like substances during co-composting of olive mill waste and the organic part of municipal solid waste. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 74, 17-23.

Barnabé G.F., Schwindt T.T., Calcagnotto M.E., Motta F.L., Gilberto Martinez J.r., Allan C. Leda M. N., Vânia D'Almeida K., Mendez-Otero R., Mello L.E., 2009: Chemically-Induced RAT Mesenchymal Stem Cells Adopt Molecular Properties of Neuronal-Like Cells but Do Not Have Basic Neuronal Functional Properties. *PLoS ONE* 4(4): e5222. doi: 10.1371/journal.pone.0005222.

Barnabé S., Brar S.K., Tyagi R.D., Beauchesne I., Surampalli R.Y., 2009: Pretreatment and bioconversion of wastewater sludge to value-added products, Fate of endocrine disrupting compounds. *Science of the Total Environment*, 407, 1471- 1488.

Barrett J., 1976: Studies on induction of permeability in *Ascaris lumbricoides* eggs. *Parasitology*, 73, 109-121.

Barriuso E., Calvet R., Schiavon M., Soulas G., 1996: Les pesticides et les polluants organiques des sols – Transformations et dissipation. *Etude et gestion des sols*, 3, 279-295.

Bastida F., Kandeler E., Moreno JL., Ros M., Garcia C., Hernandez T., 2008: Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. *Applied Soil Ecology*, 40, 318–329.

Beck-Friis B., Smars S., Jonsson H., Kirchmann H., 2001: SE-structures and environment,gaseous emissions of carbon dioxide, ammonia and nitrous oxide from organic household waste in a compost reactor under different temperature régimes. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 78, 423-430.

- Benhassou M., 1998 : Contribution à la valorisation de boues de stations d'épuration et de déchets verts par compostage en mini-digesteur, Mémoire DESA, Université Caddi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia.
- Benveniste P., 1986: Sterol biosynthesis. *Annual Review of Plant Biology*, 37, 275-308.
- Bernal M.P., Navarro A.F., Sanchez-Monedero M.A., Roig A. & Cegarra J., 1998: Influence of sewage sludge compost stability and maturity on carbon and nitrogen mineralization in soil. *Soil biology and biochemistry*, 30 (3), 305-313.
- Bernat M.P., Paredes C., Sanchez-Monedero M.A., Cegarra J., 1998: Maturity and stability parameters of compost prepared with a wide range of organic wastes. *Bioresource Technology*, 63, 91-99.
- Bernhard M., Muller J., Knepper T.P., 2006: Biodegradation of persistent polar pollutants in wastewater : Comparison of an optimised lab-scale membrane bioreactor and activated sludge treatment. *Water Research*, 40, 3419-3428.
- Bernhard R., Verkleij, J.A.C., Nelissen, H.J.M., Vink, J.P.M., 2005: Plant-specific Responses to zinc contamination in a semi-field lysimeter and on hydroponics. *Environmental Pollution*, 138, 100–108.
- Berns A., Vinken R., Bertmer M., Breitschwerdt A., Schaffer A., 2005: Use of 15N-depleted artificial compost in bound residue studies. *Chemosphere*, 59, 5, 649-658.
- Bhatia A., Madan S., Sahoo J., Ali M., Pathania R., Kazmi A.A., 2013: Diversity of bacterial isolates during full scale rotary drum composting. *Waste Management*, 33, 1595–1601.
- Birkett J.W., Lester J.N., 2003: Endocrine disrupters in wastewater and sludge treatment processes, Lewis Pub.
- Bishop J.L., Pieters C.M., Edwards J.O., 1994: Infrared spectroscopic analysis on the nature of water in Montmorillonite. *Clays and Clay Minerals*, 42, 702–716.
- Bishop P.L., Godfey., 1983: Nitrogen transformations during sludge composting. *Biocycle*, 24, 34-39.
- Blanc M., Marilley L., Beffa T., Argon M., 1999: Thermophilic bacterial communities in hot composts as revealed by most probable number counts and molecular (16S rDNA) methods. *FEMS. Microbiol Ecology*, 28, 141-149.
- Block C., Peleg O., Minster N., Bar-oz B., Simhon A., Arad I., & Shapiro M., 2002: Cluster of neonatal infections in Jerusalem due to unusual biochemical variant of *Enterobacter sakazakii*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 21(8), 613-616.
- Bolan N. S., Adrianob D. C., Natesana R., Koob B.J., 2003: Effects of organic amendments on the Reduction and Phytoavailability of Chromate in Mineral Soil. *Journal of Environmental Quality*, 32, 120-128.
- Bonneau J.M., Souchier B., 1979 : Constituants et propriétés du sol, Tome 2, Ed Masson, P 459.

Boom A., Sinnige Damsté J.S., de Leeuw J.W., 2005: Cutan, a common aliphatic biopolymer in cuticles of drought-adapted plants. *Organic Geochemistry*, 36, 595–601.

Boopathy R., Melancon E., 2004: Metabolism of compounds with nitro-functions by *Klebsiella pneumoniae* isolated from a regional wetland. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 54, 269-275.

Borja J., Taleon D.M., Auresenia J., Gallardo S., 2005: Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. *Process Biochemistry*, 40, 1999-2013.

Bouam R., 2001 : Traitement et valorisation de sous-produits de tanneries traditionnelles par le procédé de compostage, Mémoire DESA, Université Caddi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech.

Bouhoum K., 1987 : Devenir des œufs d'helminthes au cours d'un traitement expérimental d'épuration par bassin de stabilisation , Thèse de 3^{ème} cycle, Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia, Marrakech, 95, 161p.

Bouhoum K., Schwartzbrod J., 1989: Quantification of helm inth eggs in wastewater, *Zbl, Hyg*, 188, 322-330.

Bouhoum K., Amahmid O., Asmama S., 2002: Wastewater reuse for agricultural purposes: Effects on population and irrigated crops Proceeding of International Symposium Environmental Pollution Control and Waste Management. EPCOWM. Tunis, Part II. P: 582-586.

Boulter J.I., Jack T. Trevors, Greg J. Boland: Microbial studies of compost, Bacterial identification and their potential for turf grass pathogen suppression. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18, 661- 671.

Bousslhaj K., 1996 : Etude du potentiel fertilisant (N, P) de deux boues de stations d'épuration par lagunage anaérobie et par boues activée. Thèse de 3eme Cycle, Université Caddi Ayyad, Faculté des Science Semlalia, Marrakech.

Bowman D.D., Little M.D., Reimers R.S., 2003: Precision and accuracy of an assay for detecting *Ascaris* eggs in various biosolid matrices. *Water Research*, 37 (9), 2063–2072.

Bracewell J.M., Pacey N., Robertson G.W., 1987: Organic matter in onshore cretaceous chalks and its variations, investigated by pyrolysis-mass spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 10, 199–213.

Bracewell J.M., Robertson G.W., Williams B.L., 1980: Polycarboxylic acids as the origin of some pyrolysis products characteristics of soil organic matter. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2, 53–62.

Brady N.C., Weil R. R., 2009: Elements of the nature and properties of soils, Third edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, USA.

Breitung J., Bruns-Nagel D., Steinbach K., Kaminski L., Gemsa D., von Low E., 1996: Bioremediation of 2, 4,6-trinitrotoluene-contaminated soils by two different aerated compost systems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 44, 795-800.

- Bresson L.M., Koch C., Le Bissonnais Y., Barriuso E., Lecomte V., 2001: Soil surface structure stabilization by municipal waste compost application. *Soil Science Society of America Journal*, 65, 1804-1811.
- Brewster J., Oleszkiewicz J., Bujoczek G., Reimers R.S., Abu-Orf M., Bowman D., Fogarty E., 2003: Inactivation of *Ascaris suum* eggs in digested and dewatered biosolids with lime and fly ash at bench scale and full scale. *Environmental Science and Technology*, 2, 395-400.
- Brooker S., 2010: Estimating the global distribution and disease burden of intestinal nematode infections: Adding up the numbers. *International Journal for Parasitology*, 40, 1137-1144.
- Bruns-Nagel D., Drzyzga O., Steinbach K., Schmidt T.C., von Low E., Gorontzy T., Blotevogel K.H., Gemsa D., 1998: Anaerobic/aerobic composting of 2,4,6-trinitrotoluene-contaminated soil in a reactor system. *Environmental Science and Technology*, 32, 1676-1679.
- Bulina T.I., Alferova I.V., Terekhova L.P., 1997: A novel approach to isolation of actinomycetes involving irradiation of soil samples with microwaves. *Microbiology*, 66, 231-234.
- Bull I.D., Lockheart M.J., Elhmmali M.M., Roberts D.J., Evershed R.P., 2002: The origin of faeces by means of biomarker detection. *Environment International*, 27, 647-654.
- Bundy A., (Ed.). (2004). *Australian and New Zealand information literacy framework: Principles, standards and Practice (2nd ed)*. Adelaide: Australian and New Zealand Institute for Information Literacy (<http://www.anziil.org/resources/Info%20lit%20nd%20edition.pdf>).
- Businelli M., Gigliotti G., Guisquiani I., 1996: Trace element fate in soil profile and corn plant after massive application of urban waste compost: a six-year study. *Agrochimica*, 4, 145-152.

C

- Cahyani V.R., Watanabe A., Matsuya K., Asakawa S., Kimura M., 2002: Succession of microbiota estimated by phospholipid fatty acid analysis and changes in organic constituents during the composting process of rice straw. *Soil Science Plant Nutrition*, 48, 735-743.
- Cappizzi-Banas S.C., Deloge M., Remy M., Schwartzbrod J., 2004: Liming as an advanced treatment for sludge sanitisation: helminth eggs elimination—*Ascaris* eggs as model. *Water Research*, 38, 3251-3258.
- Carballo M., Aguayo S., de la Torre A., Munoz M.J., 2005: Plasma vitellogenin levels and gonadal morphology of wild carp (*Cyprinus carpio* L.) in a receiving rivers downstream of Sewage Treatment Plants. *Science of the Total Environment*, 341, 71-9.
- Cardiergues B., 2000: *Boues d'épuration et microorganismes pathogènes: influence de différent traitement et du stockage*. Biologie et Santé. Nancy, Université Henri Poincaré, Nancy I : 240p.

- Cargouët M., Perdiz D., Mouatassim-Souali A., Tamisier-Karolak S., Levi., 2004: Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). *Science of the Total Environment*, 324, 55-66.
- Carrington E.G., Pike E.B., Auty D., Morris R., 1991: Destruction of fecal bacteria, enteroviruses and ova of parasites in wastewater sludge by aerobic thermophilic and anaerobic mesophilic digestion. *Water Science and Technology*, 24, 377-380.
- Casajus C., Abrego J., Marias F., Vaxelaire J., Sanchez J.L, Gonzalo A., 2009: Product distribution and kinetic scheme for the fixed bed thermal decomposition of sewage sludge. *Chemical Engineering Journal*, 145, 412-419.
- Castaldi P., Alberti G., Merella R., Melis P., 2005: Study of the organic matter evolution during municipal solid waste composting aimed at identifying suitable parameters for the evaluation of compost maturity. *Waste Management*, 25, 209–213.
- Castiglioni S., Bagnati R., Calamari D., Fanelli R., Zuccato E., 2005: A multiresidue analytical method using solid-phase extraction and high-pressure liquid chromatography tandem mass spectrometry to measure pharmaceuticals of different therapeutic classes in urban wastewaters. *Journal of Chromatography A*, 1092, 206–215
- Cayuela M.L, Sinicco T, Mondini C., 2009: Mineralization dynamics and biochemical properties during initial decomposition of plant and animal residues in soil. *Applied and Soil Ecology*, 41, 118-127.
- Celi L., Schnitzer M., Nègre M., 1997: Analysis of carboxyl groups in soil humic acids by wet chemical method, FTIR spectrometry and solution-state carbon-13 NMR, A comparative study. *Soil Science*, 162, 189-197.
- Chai X., Takayuki S., Cao X., Guo Q., Zhao Y., 2007: Spectroscopic studies of the progress of humification processes in humic substances extracted from refuse in a landfill. *Chemosphere*, 69 (9), 1446-1453.
- Chaminade R., 1944 : Les formes du phosphore dans le sol : nature et rôle des complexes phospho-humiques. *Ann Agron*, 1, 1–63.
- Chandra S., Chauhan L.K.S., Pande P.N., Gupta S.K., 2004 : Cytogenetic effects of leachates from tannery solid waste on the somatic cells of *Vicia faba*. *Environmental Toxicology*, 19(2), 129-133.
- Chang B.V., Yang C.M., Cheng C.H., Yuan S.Y., 2004: Biodegradation of phthalate esters by two bacteria strains. *Chemosphere*, 55, 533–538.
- Chapman S.J., Lynch J.M., 1983: The relative roles of micro-organisms and their metabolites in the phytotoxicity of decomposing plant residues. *Plant Soil*, 74, 457-459.
- Charnay F., 2005 : Compostage des déchets urbains dans les Pays en Développement, Elaboration d'une démarche méthodologique pour une production pérenne de compost, Thèse de Doctorat, Université de Limoges, p277.
- Chefetz B., Chen Y., Clapp E., Hatcher P.G., 2000: Characterization of organic matter in soils by thermochemolysis using tetramethylammonium hydroxide (TMAH). *Soil Science Society of America Journal*, 64, 583-589.

- Chefetz B., Ilani T., Schulz E., Chorover J., 2006: Wastewater dissolved organic matter: characteristics and sorptive capabilities. *Water Sciences and Technology*, 53 (7), 51-57.
- Chefetz B., Salloum M.J., Deshmukh A.P., Hatcher P.G., 2002: Structure components of humic acids as determined by chemical modifications and carbon-13 NMR, pyrolysis- and thermochemolysis-gas chromatography/mass spectrometry. *Soil Science Society of America Journal*, 66, 1159-1171.
- Chen G., White P.A., 2004: The mutagenic hazards of aquatic sediments: a review. *Mutation Research*, 567, 151–225.
- Chen J., Baohua G., Richard A.R., Burgos W.D., 2003: The roles of natural organic matter in chemical and microbial reduction of ferric iron. *The Science of the Total Environment*, 307, 167–178.
- Chen T.B., Zheng Y.M., Lei M., Huang Z.C., Wu H.T., Chen H., Fan K.K., Yu K., Wu X., Tian Q.Z., 2005: Assessment of heavy metal pollution in surface soils of urban parks in Beijing, China. *Chemosphere*, 60, 542–551.
- Chen Y., Knappe D.R.U., Barlaz M.A., 2013: The effect of aging on the bioavailability of toluene sorbed to municipal solid waste components. *Chemosphere*, 90, 251-259.
- Chenu C., Le Bissonnais Y., Arrouays D., 2000: Organic matter influence on clay wettability and soil aggregate stability. *Soil Science Society of America Journal*, 64, 1479-1486.
- Chiang K., Lim T.M., Tsen L., Lee C.C., 2004: Photocatalytic degradation and mineralization of bisphenol A by TiO₂ and platinumized TiO₂. *Applied Catalysis A*, 261, 225-237.
- Chikae M., Ikeda R., Kerman K., Morita Y., Tamiya E., 2006: Estimation of maturity of compost from food wastes and agro-residues by multiple regression analysis. *Bioresource Technology*, 97, 1979–1985.
- Chroni C., Kyriacou A., Georgaki I., Manios T., Kotsou M., Lasaridi K., 2009: Microbial characterization during composting of biowaste. *Waste Management*, 29, 1520-1525.
- Ciavatta C., Antisari L.V., Sequi P., 1988: A 1st approach to the characterization of the presence of humified materials in organic fertilizers. *Agrochimica*, 32(5-6), 510-517.
- Cissé M., N'Guessan F., Karamoko Y., Tigoli K., Dje Bi Dje F., Gourene G., 2011: Parasitic load of wastewater of the « gouro » collector crossing the municipalities of Abobo, Adjamé and Cocody (District of Abidjan), *Les technologies de laboratoire*, 6, N°25.
- Citterio S.R., Labra M., Ghiani A., Fumagalli P., Sgorbati S., Santagostino A., 2002 : Soil Genotoxicity Assessment: A New Strategy based on Biomolecular Tools and Plant Bioindicators. *Environmental Science and Technology*, 36 (12), 2748–2753.
- Clegg F., Breen C., Carter M.A., Ince C., Savage S.D., Wilson M.A., 2012: Dehydroxylation and Rehydroxylation Mechanisms in Fired Clay Ceramic A TG-MS and DRIFTS Investigation. *Journal of the American Ceramic Society*, 95 (1), 416–422.

- Cofie O.O., Agbottah S., Strauss M., Esseku H., Montangero A., Awuah E., Kone D., 2006: Solid-liquid separation of faecal sludge using drying beds in Ghana: Implications for nutrient recycling in urban agriculture. *Water Research*, 40, 75-82.
- Corradi M.G., Bianchi A., Albasini A., 1993: Chromium toxicity in *Salvia sclarea*: I Effects of hexavalent chromium on seed germination and seedling development. *Environmental and Experimental Botany*, 33, 405-413.
- Costa M., 1991: DNA protein cross-links induced by chromate and other carcinogens. *Environmental Health Perspectives*, 92, 45-52.
- Cotelle S., Masfarau J.F., Férard J.F., 1999: Assessment of the genotoxicity of contaminated soil with the *Allium/Vicia*-micronucleus and the *Tradescantia*-micronucleus assays, *Mutat, Res*, 426, 167-171.
- Critter S.A.M., Freitas S.S., Airoidi C., 2004: "Comparaison of microbial activity in some Brazilian soils by microcalorimetric and respirometric methods. *Thermochimica Acta*, 410, 35-46.
- Cotxarrera L., Trillas-Gay M.I., Steinberg C., Alabouvette C., 2002: Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress *Fusarium* wilt of tomato. *Soil Biology Biochemistry*, 34, 467-476.
- Cranwell P.A., 1984: mid chain ketones and fatty acids in late glacial and postglacial lacustrine sediments. *Organic Geochemistry*, 6, 115-124.
- Crecchio C., Curci M., Pizzigallo M.D.R., Ricciuti P., Ruggiero P., 2004: Effects of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 1595-1605.
- Cunha-Queda A.C., H.M. Ribeiro, A. Ramos, F. Cabral., 2007: Study of biochemical and microbiological parameters during composting of pine and eucalyptus bark. *Bioresource Technology*, 98, 3213-3220.

D

- Dagley S., 1975: A biochemical approach to some problems of environmental Pollution. *Essays Biochemistry*, 11, 81-138.
- Dallüge J., Beens J., Brinkman U.A.T., 2003: Comprehensive two-dimensional Gas chromatography, a powerful and versatile analytical tool. *Journal of Chromatography A*, 1000, 69-108.
- Darwano H., 2013: Développement d'une méthode d'extraction des contaminants émergents dans les solides particuliers par LDTD-APCI-MS/MS, Mémoire de Maître ès sciences (M. Sc.) en chimie, Faculté des études supérieures et postdoctorales, Université de Montréal.
- David E.D., Lindquist W.D., 1982: Determination of the specific gravity of certain helminth eggs using sucrose density gradient centrifugation. *Parasitology*, 68 (5), 916-919.
- De Bertoldi M., Vallini G., Pera A., 1983: The biology of composting: a review. *Waste Management Research*, 1, 167-175.

De Marco A., Paglialong S., Rizzoni M., Testa A., Trinca S., 1988 : Induction of Micronuclei in *Vicia faba* root tips treated with heavy metals (cadmium and chromium) in the presence of NTA. *Mutation Research*, 206, 311-315.

De Simone C., Tomati U., Galli E., Owczarek M., De Marco A., D'Ambrosio C., Alianiello F., Cortellini L., 2000: Evaluation of toxic and genotoxic activity of some composts from different origin. *Fresenius Environmental Bulletin*, 9, 683–690.

De wever H., Weiss S., Reemtsma T., Vereecken J., Muller J., Knepper T., Roden O., Gonzalez S., Barcelo D Hernando M.D., 2007: Comparison of sulfonated and other micropollutants removal in membrane bioreactor and conventional wastewater treatment. *Water Research*, 41, 935-945.

Dec J., Bollag J.-M., 1994: Dehalogenation of chlorinated phenols during oxidative coupling. *Environmental Science and Technology*, 28, 484-490.

Deiana S., Gessa C., Manunza C., Rausa R., Seeber R., 1990: Analytical and spectroscopic characterization of humic acids extracted from sewage sludge, manure, and worm compost. *Soil Science*, 150, 419-424.

Del Rio J.C., Hatcher P.G., 1998: Analysis of aliphatic biopolymers using thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxide (TMAH) and gas chromatography-mass spectrometry. *Organic Geochemistry*, 29, 1441–1445.

Delahay R.J., Clifton-Hadley R.S., Gettinby G., Gilks P., Hewinson R.G., McInerney J.P., Morrison W.I., 2006: Culling and Cattle Controls Influence Tuberculosis Risk for Badgers. *Proceedings of the National Academy of Science*, 103, 14713–14717.

Deloraine A., Hedreville L., Arthus C., 2002 : Étude bibliographique sur l'évaluation des risques liés aux bio-aérosols générés par le compostage des déchets, Angers, France, Ademe & Careps, Mars, 163.

Deportes I., Benoit-Guyod J.L., Zmirou D., Bouvier M.C., 1998 : Microbial disinfection capacity of municipal solid waste (MSW) composting. *Applied Microbiology*, 85, 238–246.

Derenne S., Largeau C., 2001: A review of some important families of refractory macromolecules: composition, origin, and fate in soils and sediments. *Soil Science*, 166, 833-847.

Dörfler U., Haala, R., Matthies M., Scheunert I., 1996: Mineralization kinetics of chemicals in soils in relation to environmental conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 34, 216-222.

Dhal B., Das N.N., Thatoi H.N., Pandey B.D., 2013: Characterizing toxic Cr(VI) contamination in chromite mine overburden dump and its bacterial remediation. *Journal of Hazardous Materials*, 260, 141-149.

Dignac M.F., Houot S., Francou C., Derenne S., 2005 : Pyrolytic study of compost and waste organic matter. *Organic Geochemistry*, 36, 1054-1071.

Dignac M.F., Houot S., Derenne S., 2006: How the polarity of the separation column may influence the characterization of compost organic matter by pyrolysis-GC/MS. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 75, 128-139.

- Dinel H., Lévesque P.E.M., Jambu P., Righi D., 1992: Microbial activity and long-chain aliphatics in the formation of stable soil aggregates. *Soil Science Society of America Journal*, 56, 1455-1463.
- Dinel H., Schnitzer M., Dumontet S., 1996: Compost maturity, Extractable lipids as indicators of organic matter stability. *Compost Science and Utilization*, 4, 6-12.
- Dix N.J., Webster J., 1995: *Fungal Ecology*, Chapman and Hall eds, pp, 549, Cambridge.
- Dixit V., Pandey V., Shyam R., 2002: Chromium ions inactivate electron transport and enhance superoxide generation in vivo in pea (*Pisum sativum* L.cv. Azad) root mitochondria. *Plant Cell Environ*, 25, 687–693.
- Doerr S.H., Shakesby R.A., Walsh R.P.D., 2000: Soil water repellency: its causes, characteristics and hydro-geomorphological significance. *Earth-Science Reviews*, 51, 33–65.
- Donn J., Mendoza M., Pritchard J., 2008: Pharmaceuticals found in drinking water, affecting wildlife and maybe humans, The associated Press. Dörfler U., Haala R., Matthies M. & Scheunert I., 1996: Mineralization kinetics of chemicals in soils in relation to environmental conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 34, 216-222.
- Dorfman R., Batsch G., 1985: *Les résidus urbains: Traitement et valorisation*, p. 437, Eddition, Technique et Documentation, Paris.
- Doukyu N., Shibata K., Ogino H., Sagermann M., 2008: Purification and Characterization of *Chromobacterium* sp. DS-1 Cholesterol Oxidase with Thermal, Organic Sol- vent, and Detergent Tolerance. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 80, 59-70.
- Dousset S., Morel J.L., Wiart J., 1999 : Influence du chaulage sur la biodisponibilité des ETM incorporés au sol lors de l'épandage de boues de traitement. *Etudes et gestion des sols*, 6, 105-114.
- Drennan M.F., DiStefano T.D., 2010: Characterization of the curing process from high-solids anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 101, 537-544.
- Dumontet S., Dinel H., Balada S.B., 1999: Pathogen reduction in sewage sludge by composting and other biological treatment, a review, *Biological Agriculture and Horticulture*, 16, 409-430.
- Dumontet S., 2001: The importance of pathogenic organisms in sewage and sewage sludge. *Journal of the Air and Waste Management Association*, 51, 848-860.

E

- Eggen T., Vethe O., 2001: Stability indices for different composts. *Compost Science and Utilization*, 9, 19-36.

- Eghball B., Pwer J.F., Gilley J.E., Doran J.W., 1997: Nutrient, Carbon and Mas Mass Loss during composting of Beef Cattle Feedlot Man. *Journal of environmental quality*, 26,189-193.
- Eglinton G., Hamilton R.J., 1967, Leaf cuticular waxes. *Science*, 156, 1322-1334.
- Ehsan S., Prasher S.O. Marshall W.D., 2007: Simultaneous Mobilization of heavy metals and polychlorinated biphenyl (PCB) Compounds from soil with cyclodextrin and EDTA In admixture. *Chemosphere*, 68, 150–158.
- Eiland F., Klamer M., Lind A., Leth M., Baath E., 2001: Influence of initial C/N ratio on chemical and microbial composition during long-term composting of straw. *Microbial Ecology*, 41,272–280.
- El Fels L., 2010 : Valorisation et traitement de boues de step de Marrakech par la filière de compostage. Mémoire Master, Faculté des sciences Agadir.
- El Fels L., Zamama M., El asli A., Hafidi M., 2014a: Assessment of biotransformation of organic matter during co-composting of sewage sludgelignocelulosic waste by chemical, FTIR analyses, and phytotoxicity tests. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 87, 128-137.
- El Fels L., EL Ouaquoudi F. Z., Lemee L., Winterton P., Merlina G., Ouhdouch Y., Pinelli E., Ambles A., Hafidi M., 2014b: Identification and assay of the microbial fatty acids during co-composting of active sewage sludge with palm waste by TMAH-thermochemolysis coupled with GC-MS. *Chemistry & Ecology*. DOI:10.1080/02757540.2014.932782
- El Hajjouji H., Pinelli E., Guiresse M., Merlina G., Revel JC., Hafidi M., 2007: Assessment of the genotoxicity of olive mill waste water (OMWW) with the *Vicia faba* micronucleus test. *Mutation Research*, 634, 25-31.
- EL Ouazzani D.C., Bouamrane A., Mansouri K., Fokam C.B., 2012 : Valorisation des boues de papeterie dans le BTP: analyses minéralogiques de l'incidence des conditions d'incinération. *Journal of Materials and Environmental Science*, 3, 628-635.
- Elkins K.M., Donald J., Nelson., 2002: Spectroscopic approaches to the study of the interaction of aluminum with humic substances. *Coordination Chemistry Reviews*, 228, 205 - 225.
- Ellerbrock R.H., Gerke H.H., Bachmann J., Goebel M.O., 2005: Composition of organic matter fractions for explaining wettability of three forest soils. *Soil Science Society of America Journal*, 69, 57–66.
- Engbretson R.R., Wandruszk R.V., 1997: The effect of molecular size on humic acid associations. *Organic Geochemistry*, 26, 759–767.
- Eom I.C., Rast C., Veber A.M., Vasseur P., 2007: Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67,190–205
- Epstein E., 1997: The science of composting Lancaster. Technomic Publishing Company.
- Erhart E., Burian K., Hartl W., Stich K., 1999: Suppression of *Pythium ultimum* by biowaste composts in relation to compost microbial biomass, activity and content of phenolic compounds. *Journal of Phytopathology*, 147, 299-305.

Eyssen H.J., Parmentier G.G., Compennolle F.C., De Pauw G., Maria Pikssxns-Den M., 1973: Biohydrogenation of Sterols by Eubacterium ATCC 2 1, 408-ova Species. *European Journal of Biochemistry*, 36, 411-421.

Ezatpour B., Chegeni A.S., Abdollahpour F., Aazami M., Alirezaei M., 2013: Prevalence of parasitic contamination of raw vegetables in Khorramabad, Iran. *Food Control*, 34, 92-95.

Ezelin D.S.K., 1998 : Contribution à la valorisation de la bagassepar transformation biologique et chimique. Valeur agronomique des composts et propriétés suppressives vis -à-vis du champignon phytopathogène *Fusarium solanum*. PhD, Institut National Polytechnique de Toulouse. p. 386.

F

Fabrizi D., 2001: Use of pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry to study environmental pollution caused by synthetic polymers, a case study, the Ravenna Lagoon. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 58-59, 361-370.

Fahmi R., Bridgwater A.V., Thain S.C., Donnison I.S., Morris P.M., Yates N., 2007: Prediction of Klason lignin and lignin thermal degradation products by Py-GC/ MS in a collection of lolium and festuca grasses. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 80, 16-23.

Fairbairn D., Passey B.I., 1955: The lipid components in the vitelline membrane of *Ascaris lumbricoides* eggs. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 33, 130-134.

Fakharedine N., El Hajjouji H., Ait Baddi G., Revel J.C., Hafidi M., 2006: Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformation during aerobic digestion of olive-mill waste-waters. *Process Biochemistry*, 41, 398–404.

Farré M., Ferrer I., Ginebreda A., Figueras M., Olivella L., Tirapu L., Vilanova M., Barceló D., 2001: Determination of drugs in surface water and wastewater samples by Liquid chromatography–mass spectrometry, methods and preliminary results including Toxicity studies with *Vibrio fischeri*. *Journal of Chromatography A*, 938, 187-197.

Farrington J.W., Quinn J.G., 1973: Biogeochemistry of fatty acids in recent sediments from Narragansett Bay, Rhode Island. *Geochimica and Cosmochimica Acta*, 37, 259-268.

Faust E.C., D'Antoni S., Odom V., Miller M.J., 1938: A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of proto-zoan cysts and helminth eggs in feces. *American journal of tropical medicine and hygiene*, 1E:169-18.

Feachem R.G., Bradley D.J., Garelick H., Mara D.D., 1983: Sanitation and Disease Health Aspects of Excreta and Wastewater Management, Wiley, Chichester.

Feng G.L., Letey J., Wu L., 2001: Water Ponding Depths Affect Temporal Infiltration Rates in a Water-Repellent Sand. *Soil Science Society of America*, 65, 315-320.

- Feretti D., Zerbini I., Zani C., Ceretti E., Moretti M., Monarca S., 2006: *Allium cepa* chromosome aberration and micronucleus tests applied to study genotoxicity of extracts from pesticide-treated vegetables and grapes. *Food Additives and Contaminants*, 24, 561-572.
- Fernandez I., Cabeneiro A., Carballas T., 2001: Thermal resistance to high temperatures of different organic fractions from soils under pine forest. *Geoderma*, 104 (3-4), 281-298.
- Fernandez M., Cagigal E., Vega M.M., Urzelai A., Babín M., Pro J., Tarazona J.V., 2005: Ecological risk assessment of contaminated soils through direct toxicity assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 62, 174-184.
- Fernandez J.M., Sensi N., Plaza C., Brunetti G., Polo A., 2009: Effects of Composted and Thermally Dried Sewage Sludges on Soil and Soil Humic Acid Properties. *Pedosphere*, 19, 281-291.
- Fernandez R., Nebreda B., de la Villa R.V., García R., Frías M., 2010: Mineralogical and chemical evolution of hydrated phases in the pozzolanic reaction of calcined paper sludge. *Cement and Concrete Composites*, 32, 775-782.
- Ferrara G., Loffredo E., Senesi N., 2000: Aquatic humic substances inhibit clastogenic events in germinating seed of herbaceous plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 1652-1657.
- Ferreira C.S.G., Nunes B.A., Henriques-Almeida J.M.d.M., Guilhermino L., 2007: Acute toxicity of oxytetracycline and florfenicol to the microalgae *Tetraselmis chuii* and to the crustacean *Artemia parthenogenetica*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67, 452-458.
- Filip Z., James J. Alberts., 1993: Formation of humic-like substances by fungi epiphytic on *spartina alterniflora*. *Estuaries*, 16, 3A, 385-390.
- Filippi C., Bedini S., Levi-Minzi R., Cardelli R., Saviozzi A., 2002: Cocomposting of olive oil mill by products: chemical and microbiological evaluations. *Compost Science and Utilization*, 10, 63-71.
- Finstein M.S., Morris M.L., 1975: Microbiology of municipal solid waste composting. *Advances in Applied Microbiology*, 19, 113-151.
- Flaig W., 1964: Effects of microorganisms in the transformations of lignin to humic substances. *Geochim and Cosmochem Acta*, 28, 1523-1535.
- Flaig W., Beutelspacher H and Rietz E., 1975: Chemical composition and physical properties of humic substances, In *Soil components, Organic Components*, 1, Gieseking J.E., Ed., Springer Verlag, New York, USA.
- Focht D.D., 1987: Ecological and evolutionary consideration on the metabolism of xenobiotic chemicals in soils, American Soc, Agron, 50th year anniversary comm. Found, Soil Science Society of America Journal.
- Foltete A.S., 2010: Effets génotoxiques et systèmes de détoxification chez *Vicia faba* (Fabaceae) dans le cadre de l'évaluation des sols pollués. Université Paul Verlaine – Metz Laboratoire des Interactions Écotoxicologie, Biodiversité, Écosystèmes LIEBE UMR CNRS 7146.

Forster J.C., Zech W., Würdinger E., 1993: Comparison of chemical and microbial methods for the characterization of the maturity of composts from contrasting sources. *Biology and Fertility of Soils*, 16, 93-99.

Francou C., 2003 : Stabilisation de la matière organique au cours du compostage de déchets urbains, Influence de la nature des déchets et du procédé de compostage, Recherche d'indicateurs pertinents, Paris, Grignon, Institut National de recherche agronomique.

Frank S.N., Bard A.J., 1977: Heterogeneous photocatalytic oxidation of cyanide ion in aqueous solutions at titanium dioxide powder. *Journal of the American Chemical Society*, 99, 303-304.

Frías M., García R., Vigil R., Ferreiro S., 2008: Calcination of art paper sludge waste for the use as a supplementary cementing material. *Applied Clay Science*, 42, 189–193.

Fritsche W., Hofrichter M., 2000: Aerobic degradation by microorganisms, *Bioresource Technology*, 11b, 145-167.

Frostegard A., Baath E., 1996: The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils*, 22, 59–65.

Fu J.M., Qing K.Z., 1995: The Geochemistry of Kerogen, 171-182, Guangdong Science and Technology Press, pp. 297-358, 376.

Fujishima A., Zhang X., Tryk D.A., 2008: TiO₂ photocatalysis and related surface phenomena. *Surface Science Reports*, 63, 515-582.

Fujisawa N., Fukushima M., Yamamoto N., Iwai H, Komai T., Kawab Y., Liu D., 2012: Structural alterations of humic acid fractions in a steel slag-compost fertilizer during fertilization, Analysis by pyrolysis/methylation-gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 95, 126–133.

Fukahori S., Ichiura H., Kitaoka T., Tanaka H., 2003: Photocatalytic Decomposition of Bisphenol A in Water Using Composite TiO₂-Zeolite Sheets Prepared by a Papermaking Technique. *Environmental Science and Technology*, 37, 1048–1051.

Fukushima M., Yamamoto M, Komai T., Yamamoto K., 2009: Studies of structural alterations of humic acids from conifer bark residue during composting by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry using tetramethylammonium hydroxide (TMAH-py-GC/MS). *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 86, 200–206.

Fukushima M., Furubayashi K., Fujisawa N., Takeuchi M., Komai T., Ootsuka K., Yamamoto M., Kawabe Y, Horiya S., 2011: Characterization of humic acids in sediments from dam reservoirs by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry using tetramethylammonium hydroxide: influence of the structural features of humic acids on iron(II) binding capacity. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 91, 323–331.

Fukuyama M., Miyake Y., 1979: Purification and Properties of Cholesterol Oxidase from *Schizophyllum* with Co- valently Bound Flavin. *Journal of Biochemistry*, 85, 1183-1193.

G

Gan D.R., Berthouex P.M., 1994: Disappearance and crop uptake of PCBs from sludge amended farmland. *Water Environment Research*, 66, 54-69.

Gantzer C., Gaspard P., Galvez L., Huyard A., Dumouthier N., Schwartzbrod J., 2001: Monitoring of bacterial and parasitological contamination during various treatment of sludge. *Water Research*, 35, 3763–3770.

Gao N., Li J., Qi B., Li A., Duan Y., Wang Z., 2014: Thermal analysis and products distribution of dried sewage sludge pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 105, 43-48.

Garcia B., Marco J.A., Seoane E., Amparo Tortajada A., 1981: Triterpenes, Waxes and Tricin in *Phoenix canariensis*. *Journal of Natural Products*, 44 (1), 111–113.

Garcia C., 1991: Study on water extract of sewage sludge composts. *Soil Science Plant Nutrition*, 37, 399 – 408.

García-Peña I., Ortiz I., Hernández S., Revah S., 2008: Biofiltration of BTEX by the fungus *Paecilomyces variotii*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 62, 442-447.

Garrec N., 2003 : Détection et étude de la survie de *Listeria monocytogenes* dans les boues d'épuration destinées à l'épandage. Thèse de microbiologie fondamentale et appliquée. Angers, Ecole doctorale d'Angers : 169p.

Gaspard P.G., Wiart J., Schwartzbrod J., 1997: Sludge hygienization: helminth eggs (*Ascaris ova*) destruction by lime treatment. *Recent Research Developments in Microbiology*, 1, 77-83.

Gaspard P.G., Schwartzbrod J., 2003: Parasite contamination (helminth eggs) in sludge treatment plants: definition of a sampling strategy. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 206, 117-122.

Gavala H.N., Yenal U., Ahring K., 2004: Thermal and enzymatic pretreatment of sludge containing phthalate esters prior to mesophilic anaerobic digestion. *Biotechnology and Bioengineering*, 85, 561-567

Gea T., Ferrer P., Alvaro G., Valero F., Artola A., Sanchez A., 2007: Co-composting of sewage sludge, fats mixtures and characteristics of the lipases involved. *Biochemical Engineering Journal*, 33, 275–283.

Getoff N., 1992: Radiation processing of liquid and solid industrial wastes. Radiation physic and chemistry. In *Application of Isotopes and Radiation in Conservation of the Environment*, pp. 153-169. IAEA, Vienna, Austria

Ghiglietti R., Genchi C., DiMatteo L., Calcaterra E., Colombi A., 1997: Survival of *Ascaris suum* eggs in ammonia-treated wastewater sludges. *Bioresource Technology*, 59, 195-198.

Ghoshroy K.B., Zhu W., Sampson N.S., 1997: Investigation of Membrane Disruption in the Reaction Catalyzed by Cholesterol Oxidase. *Biochemistry*, 36, 6133-6140.

- Gichner T., Patková Z., Száková J., Demnerová K., 2004: Cadmium induces DNA damage in tobacco roots, but no DNA damage, somatic mutations or homologous recombination in tobacco leaves. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 559, 49-57.
- Gichner T., Patková Z., Száková J., Demnerová K., 2006: Toxicity and DNA damage in tobacco and potato plants growing on soil polluted with heavy metals. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65, 420-426.
- Gichner T., Lovecka P., Vrchotova B., 2008: Genomic damage induced in tobacco plants by chlorobenzoic acids-Metabolic products of polychlorinated biphenyls. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 657, 140-145.
- Giger W., Alder A.C., Golet E.M., Kohler H.P.E., McArdell C.S., Molnar E., Siegrist H., Suter M.J.F., 2003: Occurrence and Fate of Antibiotics as Trace Contaminants in Wastewaters, Sewage Sludges, and Surface Waters. *Chimia International Journal for Chemistry*, 57, 485-491.
- Gleixner G., Poirier N., Bol R., Balesdent J., 2002: Molecular dynamics of organic matter in a cultivated soil. *Organic Geochemistry*, 33, 357-366.
- Gobat J., Arango M., Mathey W., 2003: *Le sol vivant, base de pédologie, biologie des sols*, 568p.
- Godden B., 1986: Les tests enzymatiques et chimiques de maturité des composts. *Compost Information*, 22, 20-24.
- Golet E.M., Xifra I., Siegrist H., Alder A.C., Giger W., 2003: Environmental exposure assessment of fluoroquinolone antibacterial agents from sewage to soil. *Environmental Science and Technology*, 37, 3243-9.
- Golod B.I., 1968: Formation of substances which are toxic for plants during the decomposition of straw in soil. *Dokl Akad Skha*, 133, 373-376.
- Golueke C.G., 1991: Principles of Composting. In: *The Biocycle Guide to the Art and Science of Composting*. Eds. The Biocycle Staff. pp. 14-39. JG Press, Inc. Emmaus, Pa.
- Gomes R.L., Avcioglu E., Scrimshaw M.D., Lester J.N., 2004: Steroid-estrogen determination in sediment and sewage sludge: a critique of sample preparation and chromatographic/mass spectrometry considerations, incorporating a case study in method development. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23, 737-744.
- Gonzalez J.A., Gonzalez-Vila F.J., Almendros G., Zancada M.C., Polvillo O., Martin F., 2003: Preferential accumulation of selectively preserved biomacromolecules in the humus fractions from a peat deposit as seen by analytical pyrolysis and spectroscopic techniques. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 68-69, 287-298.
- Gonzalez-Perez J.A., Arbelo C.D., Gonzalez-Vila F.J., Rodriguez A., Almenderos G., Armas C.M., Polvillo O., 2007: Molecular features of organic matter in diagnostic horizons from andosols as seen by analytical pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 80, 369-382.

- González-Pérez M., Martin-Neto L., Saab S.C., Novotny E.H., Milori D.M.B.P., Bagnato V.S., Colnago L.A., Melo W.J., Knicker H., 2004: Characterization of humic acids from a Brazilian Oxisol under different tillage systems by EPR, ¹³C NMR, FTIR and fluorescence spectroscopy. *Geoderma*, 118, 181-190.
- Gonzalez-Vila F.J., Almendros G., Tinoco P., Rodriguez J., 2001, Nitrogen speciation and pyrolytic patterns of ¹⁵N-labelled soil and compost fractions. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 58–59, 329–339.
- Goodfellow M., Williams S.T., 1983: Ecology of actinomycetes. *Annual Review of Microbiology*, 37, 189-216.
- Gootas H.B., 1959 : Compostage et assainissement document préparé pour l’OMS Genève. 206p.
- Gossart P., 2001: contribution à l’étude des interactions de la matière organique des sols avec les métaux lourds Etude structurale et analytique de molécules modèles. Thèse de doctorat de l’université des sciences et technologies de Lille .P 134.
- Grasset L., Guignard C., Amblès A., 2002: Free and esterified aliphatic carboxylic acids in humin and humic acids from a peat sample as revealed by pyrolysis with tetramethylammonium hydroxide or tetraethylammonium acetate, *Organic Geochemistry*, 33,181–188.
- Guittonny-Larcheveque M., 2004 :Valorisation d’un compost de boues urbaines en garrigue pour le reboisement,Comportement des jeunes arbres d’une plantation et modifications de la dynamique de la végétation naturelle après amendement, Doctoral thesis, Université Paul Cezanne Aix-Marseille III, France, 227 p.
- Gunawardena G.S.A., Karunaweera N.D., Ismail M.M., 2004: Wet days: are they better indicators of *Ascaris* infection levels?, *Journal of Helminthology*. 78, 305–310.
- Gunsch C.K., Cheng Q., Kinney K.A., Szaniszló P.J., Whitman C.P., 2005 : Identification of a homogentisate-1,2-dioxygenase gene in the fungus *Exophiala lecanii-corni*, analysis and implications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 68, 405-411.
- Günzler H., Bôck H., 1990: IR-spektroskopie, Verlag Chemie, Weinheim, Germany.
- Guo Z.G., Sheng L.F., Feng J.L., Fang M., 2003: Seasonal variation of solvent extractable organic compounds in the aerosols in Qingdao. *China Atmospheric Environmental*, 37, 1825–1834.
- Gupta N., Khan D.K., Santra S.C., 2009: Prevalence of intestinal helminth eggs on vegetables grown in wastewater-irrigated areas of Titagarh, West Bengal, India. *Food Control*, 20, 942–945.
- Gurtner C., Heyrman J., Pinar G., Lubitz W., Swings J., Rolleke S., 2000: Comparative analyses of the bacterial diversity on two different biodeteriorated wall paintings by DGGE and 16S rDNA sequence analysis. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 46, 229-239.

H

- Haas C.N., Kaplan B.M., 1985: Toluene-humic acid association equilibria, isopiestic Measurements. *Environmental Science and Technology*, 19, 643-645.
- Haberhauer G., Rafferty B., Strebl F., Gerzabek M.H., 1998: Comparison of the composition of forest soil litter derived from three different sites at various decompositional stages using FTIR spectroscopy. *Geoderma*, 83 (3-4), 331-342.
- Hachicha R., Hachicha S., Trabelsi I., Woodward S., Mechichi T., 2009: Evolution of the fatty fraction during co-composting of olive oil industry wastes with animal manure, Maturity assessment of the end product. *Chemosphere*, 75, 1382-1386.
- Hafidi M., Amir S., Jouraiphy A., Winterton P., El Gharous M., Merlina G., Revel J.C., 2008: Fate of polycyclic aromatic hydrocarbons during composting of activated sewage sludge plus green waste. *Bioresource Technology*, 99, 8819-8823.
- Hagel I., Giusti T., 2010: *Ascaris lumbricoides*: An Overview of Therapeutic Targets. *Infectious Disorders - Drug Targets (Formerly Current Drug Targets - Infectious Disorders)*, 10(5), 349-367.
- Haider K., Martin J.P., Rietz E., 1977: Decomposition in soil of ¹⁴C-labelled coumaryl Alcohols, free and linked to dehydropolymer and plant lignins and model humic acids. *Soil Science Society of America Journal*, 41, 556-562.
- Halling-Sørensen B., Nors Nielsen S., Lanzky P.F., Ingerslev F., Holten Luthøft H.C., Jørgensen S.E., 1998: Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment a review. *Chemosphere*, 36, 357-393.
- Hamer G., 2003: Solid waste treatment and disposal: effects on public health and environmental safety. *Biotechnology Advances*, 22, 71-79.
- Hammouda G.H.H., Adams W.A., 1989: The decomposition, humification and fate of nitrogen during the composting of some plant residues, In *Compost, Production, Quality and Use*, M pp. 245-253.
- Hamscher G., Pawelzick T.H., Höper H., Nau H., 2005: Different behaviour of tetracyclines and sulfonamides in sandy soils after repeated fertilization with liquid manure. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24, 861-868.
- Hancock R.D., Martell A.E., 1995: Lewis acid – base behavior in aqueous solution, some implications for metal ions in biology. *Advances in Inorganic Chemistry*, 42, 89-146.
- Hao X., Stanford K., McAllister T.A., Larney F.J., Xu S., 2009: Greenhouse gas emissions and final compost properties from co-composting bovine specified risk material and mortalities with manure. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 83, 289-299.
- Harada Y., Inoko A., Tadaki M., Izawa T., 1981: Maturing process of city refuse compost during piling. *Soil Science and Plant Nutrition*, 27, 357-364.

- Harper S.M., G.L. Kerven, D.G Edwards, Z. Ostatek-Boczynski., 2000: Characterisation of fulvic and humic acids from leaves of *Eucalyptus camaldulensis* and from decomposed hay. *Soil Biology and Biochemistry*, 32, 1331-1336.
- Harrison E.Z., Oakes S.R., Hysell M., Hay A., 2006: Organic chemicals in sewage Sludges. *Science of the Total Environment*, 367, 481-497.
- Hartmann A., Golet E.M., Gartiser S., Alder A.C., Koller T., Widmer R., 1999: Primary DNA damage but not mutagenicity correlates with ciprofloxacin concentrations in German hospital waste waters. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 36, 115-119.
- Haruta S., Nakayama T., Nakamura K., Hemmi H., Ishii M., Igarashi Y. & Nishino T., 2005: Microbial diversity in biodegradation and reutilization processes of garbage. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 99, 1-11.
- Harwoode J.L., Russell N.J., 1984: *Lipids in plants and microbes*, London, George Allen & Unwin, Ltd.
- Halling-Sørensen B., Nors Nielsen S., Lanzky P.F., Ingerslev F., Holten Lützhøft H.C., Jørgensen S.E., 1998: Occurrence, fate and effects of pharmaceutical substances in the environment- A review. *Chemosphere*, 36, 357-393.
- Hassen A., Belguith K., Jedidi N., Cherif A., Cherif M., Boudabous A., 2001: Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Bioresource Technology*, 80, 217-225.
- Hatakka A., 2001: Biodegradation of lignin. In: Hofrichter, M., Steinbuchel, A. (Eds.), *Biopolymers, Lignin, Humic Substances and Coal*, vol, 1, Wiley-VCH, Weinheim. Germany, pp. 129-180.
- Haug R.T., 1993: *The Practical Book of Compost Engineering*. Lewis Publishers, Boca Raton,
- Haugr T., 1993: *The practical handbook of compost engineering*. Boca Raton, Florida, 717.
- Hay JC., 1996: Pathogen destruction and biosolids compost. *Biocycle*, 37, 67-77.
- Hayes M.H.B., MacCarthy R.L., Swift R.S., 1989: Structures of humics substances, the emergence of forms. In: *Humic Substances II, in Search of Structure*, Wiley, Chichester, pp. 689-733.
- He X.T., Traina S.J., Logan T.J., 1992: Chemical Properties of Municipal Solid Waste Composts. *Journal of Environmental Quality*, 21, 318-329.
- Heberer T., 2002: Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment, a review of recent research data, *Toxicology Letters*, 131, 5-17.
- Heim A., Schmidt M.W.I., 2007: Lignin turnover in arable soil and grassland analysed with two different labelling approaches. *European Journal of Soil Science*, 58, 599-608.
- Heinonen-Tanski H., Mohaibes M., Karinen P., Koivunen J., 2006: Methods to reduce Pathogen microorganisms in manure, Departement of environmental sciences, University of Kuopio, Kuopio, Finland. *Livestock Science*, 102, 248-255.

- Helleur R.J., Hayes E.R., Jamieson W.D., Craigie J.S., 1985. : Analysis of polysaccharide pyrolysate of red algae by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 8, 333-347.
- Hellmann B., Zelles L., Palojarvi A., Bai Q., 1997: Emission of climate-relevant trace gases and succession of microbial communities during open-windrow composting, *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 1011–1018.
- Herrmann R.F., Shann J.F., 1997: Microbial community changes during the composting of municipal solid waste. *Microbial Ecology*, 33, 78-85.
- Higashikawa F.S., Silva C.A., Nunes C.A., Sánchez-Monedero M.A., 2014: Fourier transform infrared spectroscopy and partial least square regression for the prediction of substrate maturity indexes. *Science of the Total Environment*, 470–471, 536–542.
- Hignite C., Azarnoff D.L., 1977: Drugs and drug metabolites as environmental Contaminants, Chlorophenoxyisobutyrate and salicylic acid in sewage water Effluent, *Life Sciences*, 20, 337-341.
- Hofrichter M., Vares T., Kalsi M., Galkin S., Scheibner K., Fritsche W., Hatakka A., 1999: Production of manganese peroxidase and organic acids and mineralization of ¹⁴C-labelled lignin (¹⁴C-DHP) during solidstate fermentation of wheat straw with the white rot fungus *Nematoloma frowardii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 1864-1870.
- Hogan J.A. 1997: Composting for soil remediation. In *Biological treatment of hazardous wastes*. Edited by G.A. Lewandowski and L.J. De Filippi. John Wiley & Sons, New York, N.Y., pp. 373–395.
- Hoitink H.A.J., Fahy P.C., 1986: Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Annual Review of Phytopathology*, 24, 93–114.
- Hoitink H.A.J., Madden L.V. Dorrance A.E., 2006: Systemic resistance induced by *Trichoderma* spp., interactions between the host, the pathogen, the biocontrol agent, and soil organic matter quality. *Phytopathology*, 96, 186-189.
- Holden H.E., Barrett J.F., Hutington C.M., Muehebauer P.A., Wahrenburg M.G., 1989: Genetic profile of nalidixic acid and analog, a model for the mechanism of sister chromatid exchange induction. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 13, 238–252.
- Hoppe T., Peters K., Schmidt F., 2011: *Methylobacterium bullatum* sp. Nov, a methylotrophic bacterium isolated from *Funaria hygrometrica*. *Systematic and Applied Microbiology*, 34, 482–486.
- Horak P., 1992: Helminth eggs in the sludge from three sewage treatment plants in Czechoslovakia. *Folia Parasitologica*, 39, 153-157.
- Horwath W.R., Elliott L.F., Churchill D.B., 1995: Mechanisms regulating composting of high carbon to nitrogen ratio grass straw. *Compost Science and Utilization*, 3, 22-30.
- Hou J., Liu G.N., Xue W., Fu W.J., Liang B.C., Liu X.H., 2014: Seed germination, root elongation, root-tip mitosis, and micronucleus induction of five crop plants exposed to chromium in fluvo-aquic soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33, 671–676.

Houot S., Francou C., Lineres M et Le villio M., 2002: "Gestion de la maturité des composts, conséquence sur leur valeur amendante et la disponibilité de leur azote - seconde partie" *Echo MO*, 35, 3-4.

Hsu J.H., LO S.L., 1999: Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformations during composting of pig manure. *Environmental Pollution*, 104, 189-196.

Hsu J.H., Lo S.L., 2001: Effect of composting on characterization and leaching of copper, manganese, and zinc from swine manure. *Environmental Pollution*, 114, 119-127.

Hu X., Zheng H., Kruse D.E., Sutcliffe P., Stephens D.N., Ferrara K.W., 2010: A Sensitive TLRH Targeted Imaging Technique for Ultrasonic Molecular Imaging. *Browse Journals & Magazines > Ultrasonics. Ferroelectrics*, 57(2), 305 - 316.

Huang G.F., Wu, Q.T., Wong, J.W. C., Nagar, B.B., 2006: Transformation of Organic matter during co-composting of pig manure with sawdust. *Bioresource Technology*, 97, 1834-1842.

Huang Z., Xu Z., Chen C., Boyd S., 2008: Changes in soil carbon during the establishment of a hardwood plantation in subtropical Australia. *Forest Ecology and Management*, 254, 46–55.

Hurrab J., Schaumann G.E., 2006: Properties of soil organic matter and aqueous extracts of actually water repellent and wettable soil samples. *Geoderma*, 222-236.

I

Ifzal R., Azmat S., Rasheed M., ValiMohamed F., Uddin-Ahmed V., 2010: GC-MS Analysis of n-hexane extract from Seed and leaves of phoenis dactylifera L. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 32, 672-676.

Iglesias-Jimenez E., Perez-Garcia, V., 1989: Evaluation of city refuse compost Maturity. *Biological Wastes*, 27, 115-142.

Iglesias-Jimenez E., Perez Garcia V., Espino M., Hernadez J.M., 1993: City refuse compost as a phosphorus source to overcome the P-fixation capacity of sesquioxide-rich soils. *Plant and Soil*, 148,115-127.

Ikan R., Iosetis P., Rubinsztain Y., Aizenshtat Z., 1986: Carbohydrate Origin of Humic substances, *Naturwissenschaften*, 73, 150-151

Inbar Y., Chen, Y., Hadar Y., 1990: Humic substances formed during the composting of organic matte. *Soil Science Society American Journal*, 54, 1316-1323.

Insam H., Amor K., Renner M., Crepaz C., 1996: Changes in functional abilities of the microbial community during composting of manure. *Microbial Ecology*, 31, 77-87.

Ishii K., Fukui M., Takii S., 2000: Microbial succession during a composting process as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Journal of Applied Microbiology*, 89 768-777.

Ishii K., Takii S., 2003: Comparison of microbial communities in four different composting processes as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Journal of Applied Microbiology*, 95, 109-119.

Itoh S., Shimada H., 1997: Clastogenicity and mutagenicity of hexavalent chromium in lacZ transgenic mice. *Toxicology Letters*, 91, 229-233.

Izquierdo J.I., Machado G., Ayllon F., d'Amico V.L., Bala L.O., Vallarino E., Elias R. Garcia-Vazquez E. 2003: Assessing pollution in coastal Ecosystems, a preliminary survey using the micronucleus test in the mussel *Mytilus edulis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55, 24-29.

J

Jain T.K., Varshney M., Maitra A., 1989: Structural studies of aerosol OT reverse micellar aggregates by FT-IR spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry*, 93, 7409–74016.

Jakobsen S.T., 1995: Aerobic decomposition of organic wastes 2. Value of compost as fertilizer. *Resources Conservation and Recycling*, 13, 57-71.

Janeckso A., Urbany L 1931: Méthode d'enrichissement coprologique. *General Medicine Veterinary*, 41, 496 - 497.

Jard E., Mansuy L., Faure P., 2003: Characterization of the macromolecular organic content of sewage sludges by thermally assisted hydrolysis and methylation gas chromatography-mass spectrometer (THM-GC/MS). *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 68-69, 331-350.

Jardé E., 2002 : Composition organique de boues résiduaires de stations d'épuration Lorraines, Caractérisation moléculaire et effets de la biodégradation, Thèse de l'Université Henri Poincaré, Nancy 1.

Jeng W.L., Huh C.A., Chen C.L., 1997: Alkanol and sterol degradation in a sediment core from the continental slope off southwestern Taiwan. *Chemosphere*, 35, 2515-2523.

Jenkins M.B., Bowman D.D., Ghiorse W.C., 1998: Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts by ammonia. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 784-788.

Jerzykiewicz M., 2004: Formation of new radicals in humic acids upon interaction Pb(II) ions. *Geoderma*, 122, 305-309.

Jiang W., Pelaez M., Dionysiou D.D., Entezari M.H., Tsoutsou D., O'Shea K., 2013: Chromium(VI) removal by maghemite nanoparticles. *Chemical Engineering Journal*, 222, 527–533.

Jimenez E., Garcia V.P., 1989: Evaluation of city refuse compost maturity. A Review, *Biological Wastes*, 27, 115-142.

Jimenez E.I., Garcia V.P., 1991: Composting of domestic refuse and sewage-sludge, 1. Evolution of temperature, pH, C/N ratio and cation-exchange capacity. *Resources Conservation Recycling*, 6, 45-60.

Jinabhai C.C., Taylor M., Coutsoydis A., Coovadia H.M., Tomkins A.M., Sullivan K.R., 2001: Epidemiology of helminth infections: implications for parasite control programmes, a south African perspective. *Public Health Nutrition*, 4, 1211–1219.

Jokela J., Pellinen J., Salkinoja-Salonen M., 1987: Initial steps in the pathway for bacterial degradation of two tetrameric lignin model compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 53, 2642-2649.

Jokic A., Frenkel A.I., Vairavamurthy M., Huang P.M., 2001: Birnessite catalysis of the Maillard reaction, its significance in natural humification. *Geophysical Research Letters*, 28, 3899–3902.

Jouraiphy A., Amir S., El Gharous M., Revel J.C., Hafidi M., 2005: Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformation during composting of sewage sludge and green plant waste. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 56, 101-108.

Jouraiphy A., 2007: Compostage des boues activées déchets verts, analyse physicochimiques, microbiologiques, toxicologiques, bilan humique et valorisation agronomique, Thèse de doctorat, Université Caddi Ayyad, Faculté des sciences Semlalia, Marrakech.

Jouraiphy A., Amir S., Winterton P., El Gharous M., Revel J.C., Hafidi M., 2008: Structural study of the fulvic fraction during composting of activated sludge plant matter, elemental analysis, FTIR and ¹³C NMR. *Bioresource Technology*, 99, 1066-1072.

Juhasz A.L., Naidu R., 2000: Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbon, a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 45, 57-88.

Junga I.G., Park C.H., 2005: Characteristics of styrene degradation by *Rhodococcus pyridinovorans* isolated from a biofilter. *Chemosphere*, 61, 451-456.

Juvonen R., Martikainen E., Schultz E., Joutti A., Ahtiainen J., Lehtokari M., 2000: A battery of toxicity tests as indicators of decontamination in composting oily waste. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 47, 156–166.

K

Kaiser M., Ellerbrock R.H., 2005: Functional characterization of soil organic matter fractions different in solubility originating from a long-term field experiment. *Geoderma*, 127, 196-206.

Kalbitza Karsten, David Schwesiga, Juliane Schmerwitz, Klaus Kaiser, Ludwig Haumaier, Bruno Glaser, Ruth Ellerbrock, Peter Leinweber., 2003: Changes in properties of soil-derived dissolved organic matter induced by biodegradation. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 1129–1142.

Kanchana R., Correia D., Sarkar S., Gawde P., Rodrigues A., 2011: Production and Partial Characterization of Cholesterol Oxidase from *Micrococcus* sp. Isolated from Goa, India. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2, 393-398.

Kaneco S., Rahman M.A., Suzuki S., Ohta K., 2004: Optimization of solar Photocatalytic degradation conditions of bisphenol A in water using titanium dioxide. *Journal of Photochemistry and Photobiology A, Chemistry*, 163, 419-424.

- Kapanen A., Vikman M., Rajasarkka J., Virta M., Itavaara M., 2013: Biotests for environmental quality assessment of composted sewage sludge. *Waste Management*, 33, 1451–1460.
- Kapoor A., Viraraghavan T., 1995: Fungal biosorption — an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters. *Bioresource Technology*, 53, 195–206.
- Karroum M., Guillet B., Lottier N., Disnar J.R., 2004: Importance et devenir des biopolymères (lignines et polysaccharides) dans les sols d'une chronoséquence de hêtraies (*Fagus sylvatica*), en forêt de Fougères (France). *Annals of Forest Science*, 6, 1, 221–233.
- Kato K., Miura N., 2008: Effect of matured compost as a bulking and inoculating agent on the microbial community and maturity of cattle manurecompost, *Bioresource Technology*.
- Kawni A., 1999 : Assainissement liquide, Manuel de référence destiné aux élus et techniciens communaux du Maroc, USAID, 106 p.
- Keeling A.A., Paton I.K., Mullett J.A.J., 1994: Germination and growth of plants in media containing unstable refuse-derived Compost. *Soil Biology and Biochemistry*, 26, 767-772.
- Khadra A., Pinelli E., Lacroix M.Z., Bousquet-Melou A., Hamdi H., Merlina G., Guiresse M., Hafidi M., 2012: Assessment of the genotoxicity of quinolone and fluoroquinolones contaminated soil with the *Vicia faba* micronucleus test. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76,187–192.
- Khalil A.I., Beheary M.S., Salem E.M., 2001: Monitory of microbial population and their cellulolytic activities during the composting of municipal solid wastes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 17, 155-161.
- Kiikkila Oili, Veikko Kitunen, Aino Smolander., 2005: Degradability of dissolved soil organic carbon and nitrogen in relation to tree species. *FEMS Microbiology Ecology*, 53, 1, 33-40.
- Kim C., Zhou Q.H., Deng B.L., Thornton E.C., Xu H.F., 2001: Chromium (VI) reduction by hydrogen sulfide in aqueous media: stoichiometry and kinetics. *Environmental Science and Technology*, 35, 2219–2225.
- Kim K., Owens G., Kwon S., 2010: Influence of Indian Mustard (*Brassica Juncea*) On rhizosphere soil solution chemistry in long-term contaminated soils: a rhizobox study. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 22, 98–105.
- Kinney C.A., Furlong E.T., Kolpin D.W., Burkhardt M.R., Zaugg S.D., Werner S.L., Bossio J.P., Benotti M.J., 2008: Bioaccumulation of pharmaceuticals and other anthropogenic waste indicators in earthworms from agricultural soil amended with biosolid or swine manure. *Environmental Science and Technology*, 42, 1863-1870.
- Kirk T.K., Farrell R.L., 1987: Enzymatic "combustion": the microbial degradation of lignin. *Annual Review of Microbiology*, 41, 465-505.
- Klamer M., Baath E., 1998: Microbial community dynamics during composting of straw material studied using phospholipid fatty acid analysis. *FEMS Microbiology Ecology*, 27, 9-20.

- Klamer M., Baath E., 2004: Estimation of conversion factors for fungal biomass determination in compost using ergosterol and PLFA 18, 2v6, 9. *Soil Biology Biochemistry*, 36, 57–65.
- Klammer S., Knapp B., Insam H., Dell'Abate M.T., 2008: Ros M: Bacterial community patterns and thermal analyses of composts of various origins. *Waste Management and Research*, 26, 173–187.
- Klap V.A., Boon J.J., Hemminga M.A., van Soelen J., 1998: Chemical characterization of lignin preparations of fresh and decomposing *Spartina anglica* by pyrolysis mass spectrometry. *Organic Geochemistry*, 28, 707-727.
- Knicker H., 2004: Stabilization of N-compounds in soil and organic-matter-rich Sediments what is the difference?. *Marine Chemistry*, 92, 167-195.
- Knopp S., Steinmann P., Keiser J., Utzinger J., 2012: Nematode Infections: Soil-Transmitted Helminths and Trichinella. *Infectious Disease Clinics of North America*, 26 (2), 341-358.
- Kochtitzky O.W., Seaman W.K., Wiley J.S., 1969: Municipal composting research at Johnson city, Tennessee. *Compost Science and Utilization*, 9, 5-16.
- Kogel-Knabner I., de Leeuw J.W., and Hatcher P.G., 1992: Nature and distribution of alkyl carbon in forest soilprofiles: Implications for the originand humification of aliphatic biomacromolecules. *Science of the Total Environment*, 117-118, 175-185.
- Kogel-Knabner I., 2000: Analytical approaches for characterizing soil organic Matter. *Organic Geochemistry*, 31, 609-625.
- Kogel-Knabner I., 2002: The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 34, 139-162.
- Kok M.D., Rijpstra W.I.C., Robertson L., Volkman J. K., Sinninghe Damsté J., 2000: Early steroid sulfurisation in surface sediments of a permanently stratified lake (Ace Lake, Antarctica). *Geochimica and Cosmochimica Acta*, 64, 1425-1436.
- Kolek K., 1999: Biotransformation XLVII: Transformations of 5-ene steroids in *Fusariumculmorum* culture. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 71, 83-90.
- Konaté Y., Maiga A.H., Basset D., Casellas C., Picot B., 2013: Parasite removal by waste stabilisation pond in Burkina Faso, accumulation and inactivation in sludge. *Ecological Engineering*, 50, 101– 106.
- Kone´ D., Cofie O., Zurbrugg C., Gallizzi K., Moser D., Drescher S., Strauss M., 2007: Helminth eggs inactivation efficiency by faecal sludge dewatering and co-composting in tropical climates. *Water Research*, 41, 4397- 4402.
- Koppen G., Verschaeve L., 1996: The alkaline comet test on plant cells, A new Genotoxicity test for DNA strand breaks in *Vicia faba* root cells. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 360, 193-200.

- Korner I., Braukmeier J., Herrenklage J., Leikam K., Ritzkoski M., Schlegelmilch M., Stegmann R., 2003: Investigation and optimization of composting processes - test systems and practical examples. *Waste Management*, 23, 17-26.
- Kowal N.E., 1982: Health effects of land treatment, microbiological rapport U.S. EPA 600/1 - 82-007 (Cincinnati).
- Kowal N. E., 1985: Health effects of land application of municipal Sludge, Rapport U.S. EPA 600/1-85-015, 33-38 (Cincinnati).
- Krull E.S., Baldock J. A., Skjemstad J. O., 2002: Importance of mechanisms and processes of the stabilisation of soil organic matter for modelling carbon turnover. *Functional Plant Biology*, 30, 207– 222.
- Kumar L., Rathore V.S., Srivastava H.S., 2001: 14C-[lignine] lignocelluloses biodegradation by bacteria isolated from polluted soil, *Ind. The Journal of Experimental Biology*, 39, 584-589.
- Kumari L., Kanwar S.S., 2012: Cholesterol Oxidase and Its Applications. *Advances in Microbiology*, 2, 49-65.
- Kurola J.M., Arnold M., Kontro M.H., Talves M., Romantschuk M., 2011: Wood ash for application in municipal biowaste composting. *Bioresource Technology*, 102, 5214–5220.
- Kuster M., Jose Lopez De Alda M., Barcelo D., 2004: Analysis and distribution of estrogens and progestogens in sewage sludge, soils and sediments. *Trends in Analytical Chemistry*, 23, 790-798.

L

- Ladisch M.R., Lin K.W., Voloch M., Tsao G.T., 1983: Process considerations in the enzymatic hydrolysis of biomass. *Enzyme and Microbial Technology*, 5 (2), 82-102.
- Laguirtati A., Ait Baddi G., ElMousadik A., Gilard A., Revel J.C., Hafidi M., 2005: Analysis of humic acids from aerated and non-aerated urban landfill composts. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 56, 8–16.
- Lai K.M., Scrimshaw M.D., Lester J.N., 2002: Biotransformation and Bioconcentration of Steroid Estrogens by *Chlorella vulgaris*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 859-864.
- Lakshmina rayana J.S.S., Abdulappa M.K., 1969: The effect of sewage stabilization ponds on helminths. In C.A. Sastry (Ed.), *Low cost waste treatment*, Nagpur, India.
- Lambkin D., Nortcliff S., White T., 2004: The importance of precision in sampling sludges, biowastes and treated soils in a regulatory framework. *Trends Analytical Chemistry*, 23, 10-11.

- Lane S., Lloyd D., 2002: Current trends in research into the waterborne parasite Giardia, Crit. Microbiology, 28, 123–147.
- Langford K.H., Lester J.N., 2003: Fate and behaviour of endocrine disrupters in Wastewater Treatment Processes, In, Birkett J.W, Lester J.N, editors, Endocrine disrupters in wastewater and sludge treatment processe, London, CRC Press LLC and IW A publishing, p 103-43.
- Lapworth D.J., Baran N., Stuart M.E., Ward R.S., 2012: Emerging organic contaminants in groundwater, A review of sources, fate and occurrence. Environmental Pollution, 163, 287-303.
- Larsen K.L., McCarteney D.M., 2000: Effect of CN ration on microbial activity and N retention in benchscale study usine pulp and paper biosolids. Compost Science and Utilization, 8 (2), 147-159.
- Lashermes G., 2010: Evolution des polluants organiques au cours du compostage de déchets organiques, Approche expérimentale et modélisation, Thèse de doctorat de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech).
- Lashkarian H., Raheb J., Shahzamani K., Shahbani H., Shamsara M., 2010: Extracellular Cholesterol Oxidase from *Rhodococcus sp.*: Isolation and Molecular Characteriza-tion. Iranian Biomedical Journal, 14, 49-57.
- Laurent J., Pierra M., Casellas M., Dagot C., 2009: Fate of cadmium in activated sludge after changing its physicochemical properties by thermal treatment. Chemosphere, 77, 771-777.
- Lavoie J., Marchand G., 1997: Détermination des caractéristiques à considérer d'un point de vue de santé et sécurité des travailleurs dans les centres de compostage des déchets domestiques Etudes et Recherches, Rapport IRSST, Institut de recherches en santé et en sécurité du travail du Québec, pp. 1-37.
- Leeming R., Ball A., Ashbolt N., Nichols P., 1996: Using faecal sterols from humans and animals to distinguish faecal pollution in receiving waters. Water Research, 30, 2893–2900.
- Leenheer J.A., Wershaw R.L., Brown G.K., Reddy M.M., 2003: Characterization and diagenesis of strong-acid carboxyl groups in humic substances. Applied Geochemistry, 18, 471-482.
- Lei F., VanderGheynst J.S., 2000: The effect of microbial inoculation and pH on microbial community structure changes during composting. Process Biochemistry, 35: 923-929.
- Leinweber P., Schulten H.R., 1999: Advances in analytical pyrolysis of soil organic Matter. Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, 49, 359-383.
- Levanon D., Pluda D., 2002: Chemical, physical and biological criteria for maturity in composts for organic farming. Compost Science and Utilization, 10, 339-346.
- Levy J., Simone Barry R., Taylor., 2003: Effects of pulp mill solids and three composts on early growth of tomatoes. Bioresource Technology, 89, 397-305.
- Lhadi E.K., Tazi H., Aylaj M., Genevini P.L., F. Adani., 2006: Organic matter evolution during co composting of the organic fraction of municipal waste and poultry manure. Bioresource Technology, 97, 2117-2123.

- Li L.Y., Li R.S., 2000: The role of clay minerals and the effects of H⁺ ions on removal of Heavy metals (Pb²⁺) from contaminated soils. *Canadian Journal of Geotechnology*, 37(2), 296-307.
- Liang C., Das K.C. McClendon R.W., 2003: The influence of temperature and moisture contents regimes on the aerobic microbial activity of a solids composting blend. *Bioresource Technology*, 86, 131-137.
- Lichtfouse E., Chenu C., Baudin F., Leblond C., Da Silva M., Behar F., Derenne S., Largeau C., Wehrung P., Albrecht P., 1998: A novel pathway of soil organic matter formation by selective preservation of resistant straight-chain biopolymers: chemical and isotope evidence. *Organic Geochemistry*, 28, 411–415.
- Lienert J., Güdel K., Escher B.I., 2007: Screening Method for Ecotoxicological Hazard Assessment of 42 Pharmaceuticals Considering Human Metabolism and excretory Routes. *Environmental Science and Technology*, 41 (12), 4471–4478.
- Lin A.J., Zhang X.H., Chen M.M., Cao Q., 2007: Oxidative stress and DNA damages induced by cadmium accumulation. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 19(5), 596-602.
- Lin C.J., Wang S.L, Huang P.M., Tzou Y.M., Liu J.C., Chen C.C., Chen J.H., Lin C., 2009: Chromate reduction by zero-valent Al metal as catalyzed by polyoxometalate. *Water Research*, 43, 5015–5022.
- Liu C.F., Xu F., Sun J.X., Ren J.L., Curling S., Sun R.C., Fowler P., Baird M.S., 2006: Physicochemical characterization of cellulose from perennial ryegrass leaves (*Lolium perenne*). *Carbohydrate Research*, 341(16), 2677-2687.
- Liu S., Chen L., Gao Y., 2013: Hexavalent Chromium Leaching Influenced Factors in the Weathering Chrome Slag. *Procedia Environmental Sciences*, 18, 783–787.
- Liu W.H., Meng M.H., Chen K.S., 1988: Purification and Some Properties of Cholesterol Oxidases Produced by an Inducible and a Constitutive Mutant of *Arthrobacter simplex*. *Agricultural and Biological Chemistry*, 52, 4130-4138.
- Lock K., Janssen C.R., 2001: Cadmium Toxicity for Terrestrial Invertebrates: Taking Soil parameters Affecting Bioavailability Into Account. *Ecotoxicology*, 10, 315-322.
- López M., Huerta-Pujol O., Martínez-Farré F.X., Soliva M., 2010: Approaching compost stability from Klason lignin modified method: Chemical stability degree for OM and N quality assessment. *Resources Conservation and Recycling*, 55, 171–181.
- López-Luna J., González-Chávez M.C., Esparza-García F.J., Rodríguez-Vázquez R., 2009: Toxicity assessment of soil amended with tannery sludge, trivalent chromium and hexavalent chromium, using wheat, oat and sorghum plants. *Journal of Hazardous Materials*, 163, 829–834.
- Lorenz K., Lal R., Preston C.M., Nierop, K.G.J., 2007: Strengthening the soil Organic carbon pool by increasing contributions from recalcitrant aliphatic bio(macro)molecules. *Geoderma*, 142, 1–10.

Lozano R., 2012: Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*, 380 (9859), 2095–2128.

Lung A.J., Lim C.M., Kim J.M., Marshall M.R., Nordstedt R., Thompson N.P., Wei C.I., 2001: Destruction of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enteritidis* in cow manure composting. *Journal of Food Protection*, 64, 1309-1314.

Lynch J.M., Wood D.A., 1985: Controlled microbial degradation of lignocelluloses, the basis for existing and novel approaches to composting, In, Gasser, J.K.R. (Ed.), *Composting of Agricultural and Other Wastes*. Elsevier Applied Science, 183-193.

M

Ma T.H., Xu Z., Xu C., McConnell H., Rabago E.V., Arreola G.A., Zhang H., 1995: The improved *Allium/Vicia* root tip assay for clastogenicity of environmental pollutants. *Mutation Research*, 334, 185–195.

Madari B.E., Reeves III J.B., Machado P.L.O.A., Guimarães C.M., Torres E., McCarty G.W., 2006: Mid-and near-infrared spectroscopic assessment of soil compositional parameters and structural indices in two ferralsols. *Geoderma*, 136, 245-259.

Madeline M., 2003: Evaluation du risqué sanitaire (parasitaire et virologie) des boues résiduaires urbaines en agriculture et des eaux épurées dans l'environnement. *Sciences pharmaceutiques*, Université de Caen.

Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., 2005 : In *Les composés phénoliques des végétaux*, vol, 192, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes (PPUR) Science.

Machinet G. E., Bertrand I., Barrière Y., Chabbert B., Recous S., 2011: Impact of plant cell wall network on biodegradation in soil: Role of lignin composition and phenolic acids in roots from 16 maize genotypes. *Soil Biology and Biochemistry*, 43, 1544–1552.

Maikai B.V., Elisha I.A., Baba-Onoja E.B.T., 2012: Contamination of vegetables sold in markets with helminth eggs in Zariametropolis, Kaduna State, Nigeria. *Food Control*, 28, 345-348.

Marcato-Romain C.E, Guiresse M., Cecchi M., Cotelle S., Pinelli E., 2009: New direct contact approach to evaluate soil genotoxicity using the *Vicia faba* micronucleus test. *Chemosphere*, 77(3), 345-350.

Marche T., Schnitzer M., Dinel H., Paré T., Champagne P., Schulten H.R., Facey G., 2003: Chemical changes during composting of a paper mill sludge-hardwood sawdust mixture, *Geoderma* 116, 345-356. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016706103001083>- AFF 1.

Maroga Mboula V., 2012: Devenir des polluants émergents lors d'un traitement photochimique ou photocatalytique sous irradiation solaire, Thèse de doctorat, de l'Université Nantes Angers Le Mans.

- Marshall M.N., Reddy A.P., VanderGheynst J.S., 2004: Microbial ecology of compost. In: Lens, P., Hamelers, B., Hoitink, H., Bidlingmaier, W. (Eds.), Resource Recovery and Reuse in Organic Solid Waste Management. IWA Publishing, London, pp. 193-224.
- Martens D.A., 2000: Management and crop residue influence soil aggregate stability. *Environmental Quality*, 29, 723-727.
- Martin F.L., Pearce T.G., Hewer A., Phillips D.H., Semple K.T., 2005: A biomarker model of sublethal genotoxicity (DNA single-strand breaks and adducts) using the sentinel organism *Aporectodea longa* in spiked soil. *Environmental Pollution*, 138, 307-315.
- Martin J.P., Haider K., Kassim G., 1980: Biodegradation and stabilization after 2 years of specific crop, lignin, and polysaccharide carbons in soils. *Soil Science Society of America Journal*, 44, 1250-1255.
- Martinez-Wilson H.F., Tamayo R., Tischler A.D., Lazinski D. W., 2008: Camilli A., The *Vibrio cholerae* Hybrid Sensor Kinase VieS Contributes to Motility and Biofilm Regulation by Altering the Cyclic Diguanylate Level. *Journal of Bacteriology*, 190, 6439-6447.
- Mathur S.P., Owen G., Dinel H., Schnitzer M., 1993: Determination of compost maturity, II optical density of water extracts of composts as a reflection of their maturity. *Biological Agriculture and Horticulture*, 1993, 10, 87-108.
- Matejka G., Rinke M., Mejbri R., Brill H., 1994 : Pollution engendrée par un lixiviat de décharge d'orduresménagères: Bilan hydrique et caractérisation. *Environmental Technology*, 15, 313-322.
- Maurer V., Amsler Z., Perler E., Heckendorn F., 2009: Poultry litter as a source of gastrointestinal helminth infections. *Veterinary Parasitology*, 161, 255-260.
- Mayer S.E., McArthur E.D., Jorgensen G.L., 1989: variation in germination response to temperature in rubber rabbitbrush (*Chrysothamnus nauseosus*: asteraceae) and its ecological implications. *American Journal of Botany*, 76, 981-991.
- Mbuligwe S.E., Kassenga G.R., Kaseva M.E., Chaggu E.J., 2002: Potential and constraints of composting domestic solid waste in developing countries, findings from a pilot study in Dar es Salaam. *Resources Conservation and Recycling*, 36, 45-59.
- McBride M.B., 2003: Toxic metals in sewage sludge-amended soils, has promotion of beneficial use discounted the risks. *Advances in Environmental Research*, 8, 5-19.
- McDonald R.A., Delahay R.J., Carter S.P., Smith G.C., Cheeseman C.L., 2008: Perturbing Implications of wildlife ecology for disease control. *Trends in Ecology and Evolution*, 23, 53-56.
- McQueen C.A, Way B.M., Queeney S.M., Schluter G., Williams G.M., 1991: Study of potential in vitro and in vivo genotoxicity in hepatocytes of quinolone antibiotics. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 111, 255-262.
- Meekings H.J., Stentiford E.I., Lee D.L., 1996: The Effect of Sewage Sludge Compost On the Viability of the Eggs of a Parasitic Nematode. *Compost Science and Utilization*, 4, 46-54.

- Mendez A., Fidalgo J.M., Guerrero F., Gascó G., 2009: Characterization and pyrolysis behaviour of different paper mill waste materials. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 86, 66-73.
- Mendez J.M., Jimenez B.E., Barrios J.A., 2002: Improved alkaline stabilization of municipal wastewater sludge. *Water Science Technology*, 46, 139-146.
- Mermoud F., Wünsche L., Gulaçar F.O., Buchs A., 1984: Steroidal ketones in the early diagenetic transformations of D5 sterols in different types of sediments. *Organic Geochemistry*, 6, 25-29.
- Mercanoglu Taban B., Halkman A.K., 2011: Do leafy green vegetables and their ready-to eat [RTE] salads carry a risk of food borne pathogens. *Anaerobe*, 17, 286-287.
- Meyers P.A., Ishiwatari R., 1993: Lacustrine organic geo-chemistry - an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. *Organic Geochemistry*, 20, 867-900.
- Minotti G., Menna P., Salvatorelli E., Cairo G., Gianni L., 2004: Anthracyclines: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity. *Pharmacological Reviews*, 56, 185-229.
- Monarca S., Rizzoni M., Gustavino B., Zani C., Alberti A., Feretti D., Zerbini I., 2003: Genotoxicity of surface water treated with different disinfectants using in situ plant tests. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 41, 353-359.
- Monnier G., 1965: Action des matières organiques sur la stabilité structurale des sols. *Annales Agronomiques*, 16, 327-400.
- Monod G., 1983: Etude de la contamination chimique du lac Léman par les résidus organochlorés, Polychlorobiphényles et DDT, Thèse, Laboratoire de pharmacietoxicologie. Ecole Nationale vétérinaire de Lyon, 15.
- Monpoého S., 2001: Quantification génomique de 2 virus entériques (entérovirus et HAV) dans les boues de stations d'épuration. Nantes, Faculté de Pharmacie, 177.
- Moreda J.M., Arranz A., Fdezde Betono S., Cid A., Arranz J.F., 1998: Chromatographie determination of aliphatic hydrocarbons and polyaromatic hydrocarbons (PAHs) in a sewage sludge. *The Science of the Total Environment*, 220, 33-43.
- Morel J.L., 1982: L'évaluation de la maturité des composts urbains par une méthode colorimétrique. *Compost Information*, 10, 2-4.
- Morel J.L., Guckert A., Nicolardot B., Benistant D., Catroux G., Germon J.C., 1986: Etude de l'évolution des caractéristiques physicochimiques et de la stabilité biologique des ordures ménagères au cours du compostage. *Agronomie*, 6, 8, 693-701.
- Mouchacca J., 1997: Thermophilic fungi, biodiversity and taxonomic status. *Cryptogam Mycol*, 18, 19-69.
- Mouchet F., Gauthier L., Mailhes C., Jourdain M.J., Ferrier V., Triffault G., Devaux A., 2006: Biomonitoring of the genotoxic potential of aqueous extracts of soils and bottom ash resulting from municipal solid waste incineration, using the comet and micronucleus

tests on amphibian (*Xenopus laevis*) larvae and bacterial assays (Mutatox and Ames tests). *Science of the Total Environment*, 355, 232-246.

Mougin C., 2002: Bioremediation and phytoremediation of industrial PAH-polluted Soils. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 22(5), 1011-1043.

Mougin C., Jolivald C., Briozzo P., Madzak C., 2003: Fungal laccases, from structure-activity studies to environmental applications. *Environmental Chemistry Letters*, 1(2), 145-148.

Müller K., Linkies A., Vreeburg R.A.M., Fry S.C., Krieger-Liszkay A., Leubner-Metzger G., 2009: In Vivo Cell Wall Loosening by Hydroxyl Radicals during Cress Seed Germination and Elongation Growth. *Plant Physiology*, 150, 4 1855-1865.

Murphy E.M., Zachara J.M., Smith S.C., Phillips J.L., Wietsma T.W., 1994: Interaction of hydrophobic organic compounds with mineral-bound humic substances. *Environmental Science & Technology*, 28, 1291-1299.

Mustin M., 1987 : *Le compost, gestion de la matière organique*, Ed.François Dubusc, Paris, 954p.

MA.200- CrHex 1.0 2dition : 2001-04-24, Révision : 2006-09-20 (4). Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec.

N

Nadziakiewicz J., Koziol M., 2003: Co-combustion of sludge with coal. *Applied Energy*, 75, 239-248.

Nakasaki K., Tran L.T.H., Idemoto Y., Abe M., Rollon A.P., 2009: Comparison of organic matter degradation and microbial community during thermophilic composting of two different types of anaerobic sludge. *Bioresource Technology*, 100, 676-682.

Nakashima T., Okada T., Asahi J., Yamashita A., Kawai K., Kasai H., Matsuno K., Gamou S., Hirano T., 2008: 8-hydroxydeoxyguanosine generated in the earthworm *Eisenia fetida* grown in metalcontaining soil. *Mutation Research*, 654(2), 138-144.

Nancie., 2000: Micropolluants organiques et germs pathogènes dans les boues d'eaux résiduaires.

Nash D., Leeming R., Clemow L., Hannah M., Halliwell D., Allen D., 2005: Quantitative determination of sterols and other alcohols in overland flow from grazing land and possible source materials. *Water Research*, 39, 2964-2978.

Neutelings G., 2011: Lignin variability in plant cell walls: Contribution of new models. *Plant Science*, 181, 379-386.

Nicolardot B., Germon J.C., Chaussod R. et Catroux G., 1982: Une technique simple pour déterminer la maturité des composts urbains. *Compost Information*, 10, 4-8.

- Niemeyer J., Chen Y., Bollag J.M., 1992: Characterization of humic acids, composts, and peat by diffuse reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal*, 56, 135–140.
- Nierop K.G.J., Pulleman M.M., Marinissen J.C.Y., 2001: Management induced organic matter differentiation in grassland and arable soil, a study using pyrolysis techniques. *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 755-764.
- Nierop K.G.J., van Bergen P.F., Buurman P., van Lagen B., 2005: NaOH and Na₄P₂O₇ extractable organic matter in two allophonic volcanic ash soils of the Azores Islands e a pyrolysis GC/MS study. *Geoderma*, 127, 36-51.
- Nip M., Tegelaar E.W., Brinkhuis H., de Leeuw J.W., Schenck P.A., Holloway P.J., 1986: Analysis of modern and fossil plant cuticles by Curie point Py–GC and Curie point Py–GC–MS: Recognition of a new, highly aliphatic and resistant biopolymer. *Organic Geochemistry*, 10, 769–778.
- Nishimura M., 1977: The geochemical significance in early sedimentation of geolipids obtained by saponification of lacustrine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 41, 1817-1823.
- Nkana J.C.V., Demeyer A., Verloo M.G., 1996: Chemical fertility constraints in some acid soils of the tropical forest zone of central cameroon ,Med. Fac. Landbouwn University, Gent, 60 (1), 53-61.
- Noguchi T., Fujioka S., Takatsuto S., Akira SakuraiA., Shigeo Yoshida S., Li J., Chory J., 1999: Arabidopsis det2 Is Defective in the Conversion of (24R)-24-Methylcholest-4-En-3-One to (24R)-24-Methyl-5 α -Cholestan-3-One in Brassinosteroid Biosynthesis. *Plant Physiology*, 120, 833-840.
- Novoa-Munoz J.C., Simal-Gandara J., Fernandez-Calvino D., Lopez-Periago E., Arias-Estevez M., 2008: Changes in soil properties and in the growth of *Loliummultiflorum* in an acid soil amended with a solid waste from wineries. *Bioresource Technology*, 99, 6771-6779.
- Novotný Č., Svobodová K., Erbanová P., Cajthaml T., Kasinath A., Lang E., ašek V., 2004: Ligninolytic fungi in bioremediation: extracellular enzyme production and degradation rate. *Soil Biology and Biochemistry*, 36, 1545–1551.
- Nowakowski D.J., Jones J.M., 2008: Uncatalysed and potassium-catalysed pyrolysis of the cell-wall constituents of biomass and their model compounds. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 83, 12-25.

O

- O’Leary N.D., O’Connor K.E., Dobson A.D.W., 2002: Biochemistry, genetics and physiology of microbial styrene degradation. *FEMS Microbiology Reviews*, 26, 403-417.
- O’Leary T., Leeming R., Nichols P.D., Volkman J.K., 1999: The Distribution and Concentrations of Biomarkers for Sewage, Primary Producers and Bacteria in the Major

Sediment types of Port Phillip Bay. Technical Report No.17. CSIRO Institute of Natural Resources and Environment, Port Phillip Bay Environmental Study.

Olk D.C., Brunetti G., Senesi N., 1999: Organic matter in double-cropped lowland rice soils: chemical and spectroscopical properties. *Soil Science*, 164, 649 – 663.

Olson E.H., 1968: Actinomycetes isolation agar. In: Difco: supplementary literature. Difco Lab., Detroit, Michigan.

OMS: Organisation mondiale de la santé 2006, Guidelines for the Safe Use of Wastewater, Excreta and Greywater, vol. 4. WHO, Geneva.

Oshima M., Miyagawa A., 1974: Comparative studies on the fatty acid composition of moderately and extremely thermophilic bacteria. *Lipids*, 9, 476–480.

Ostling O., Johanson K.J., 1984: Micro electrophoretic study of radiation induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 123(1), 291-298.

Otto A., Simpson M.J., 2006: Sources and composition of hydrolysable aliphatic lipids and phenols in soils from western Canada. *Organic Geochemistry*, 37, 385–407.

Ouatmane A., Provenzano M.R., Hafidi M., Sensi N., 2000: Compost maturity assessment using calorimetry, spectroscopy and chemical analysis. *Compost Science and Utilization*, 8, 124-134.

Ouhdouch Y., Barakate M., Finance C., 2001: Actinomycetes from Moroccan habitats: screening for antifungal activities. *European Journal of Soil Biology*, 37, 1–6.

Oves M., Saghir Khan M., Zaidi A., 2013: Chromium reducing and plant growth promoting novel strain *Pseudomonas aeruginosa* OSG41 enhance chickpea growth in chromium amended soils. *European Journal of Soil Biology*, 56, 72-83.

P

Pagliai M., Vignozzi N., Pellegrini S., 2004: Soil structure and the effect of management Practices. *Soil and Tillage Research*, 79, 131-143.

Pagnout C., Rast C., Veber A-M., Poupin P & Férard J-F., 2006: Ecotoxicological assessment of PAHs and their dead-end metabolites after degradation by *Mycobacterium* sp, strain SNP11. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65, 151-158.

Pagnout C., Frache G., Poupin P., Maunit B., Muller J.F. & Férard J.F., 2007: Isolation and characterization of a gene cluster involved in PAH degradation in *Mycobacterium* sp, strain SNP11, Expression in *Mycobacterium smegmatis* mc²155. *Research in Microbiology*, 158, 175-186.

Pajaczkowska J., Sułkowska A., Sułkowski W.W., Jedrzejczyk M., 2003: Spectroscopic study of the humification process during sewage sludge treatment. *Journal of Molecular Structure*, 651-653, 141-149.

- Pallo F.J.P., Lemée L., Amblès A., 2011: Contribution to the study by PY/GC-MS of organic matter linked to fine particles (0e50 mm) in some soils under long-term natural formations in Burkina Faso. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 15 (4), 553-566.
- Palmisano A.C., Barlaz M.A., 1996: *Microbiology of solid waste*. Boca Raton: CRC Press.
- Paniel N., Rousseaux S., Gourland P., Poitrenaud M., Guzzo J., 2010: Assessment of survival of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella infantis* and *Enterococcus faecalis* artificially inoculated into experimental waste or compost. *Journal of Applied Microbiology*, 108, 1797-1809.
- Paré T., Diné H., Schnitzer M., 1999: Extractability of trace metals during co composting of biosolids and municipal solid wastes. *Biology and Fertility of Soils*, 29, 31-37.
- Paredes C., Bernal M.P., Cegarra J., Roig A., Novarro A.F., 1996: Nitrogen Transformation During the Composting of Different Organic Wastes. In: Van Cleemput, O., Hofman, G., Vermoesen, A. (Eds.), *Progress in Nitrogen Cycling Studies*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 121-125.
- Paredes C., Bernal M.P., Cegarra J., Roig A., 2002: Biodegradation of Olive Mill Wastewater Sludge By Its Co-Composting With Agricultural Wastes. *Bioresource Technology*, 85, 1, 1-8.
- Parkes R.J., 1987: Analysis of microbial communities within sediments using biomarkers. In: Fletcher M, Gray TRG, Jones JG, editors, *Ecology of microbial communities*, Cambridge, Cambridge University Press, p 147–177.
- Partanen P., Hultman J., Paulin L., Auvinen P., Romantschuk M., 2010 : Bacterial diversity at different stages of the composting process. *BMC Microbiology*, 10, 94.
- Paul E.A., Clark F.E., 1996: In: 2nd ed. *Soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, San Diego, Calif.
- Pecson B.M., Nelson K.L., 2005: Inactivation of *Ascaris suum* eggs by ammonia. *Environmental Science and Technology*, 39, 7909-7914.
- Pereira-Neto T.J., Stentiford E.I., Smith D.V., 1986: Survival of faecal indicator micro-organisms in refuse/ sludge composting using aerated static pile system. *Waste Management and Research*, 4, 397-406.
- Perez J., Dorado E.J., Rubia T.D., Martinez E.J., 2002: Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicelluloses and lignin: an overview. *International Microbiology*, 5, 53-63.
- Pérez S., Guillamón M., Barceló D., 2001: Quantitative analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludge from wastewater treatment plants. *Journal of Chromatography A*, 938, 57-65.
- Peters S., Koschinsky S., Schweiger F., Tebbe C.C., 2000: Succession of microbial communities during hot composting as detected by PCR- single-strand conformation polymorphism-based genetic profiles of small-subunit rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 930-936.
- Petrović M., Gonzalez S., Barceló D., 2003: Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water. *Trends in Analytical Chemistry*, 22, 685-696.

- Pfirter A., Von, H.A., Ott P., Vogtmann H., 1982: Le compostage, introduction à l'utilisation rationnelle des déchets organiques. Migros-S Production, p. 46.
- Piccolo A., 1996- Humus and Soil conservation- In Humic Substances in Terrestrial Ecosystems, Ed Piccolo, 225-264.
- Piccolo A., Mbagwu J.S.C., 1999: Role of hydrophobic components of soil organic matter in soil aggregate stability. Soil Science Society of America Journal, 63, 1801-1810.
- Piccolo A., Cozzolino A., Conte P., Spaccini R., 2000: Polymerization of humic substances by an enzyme-catalyzed oxidative coupling. Naturwissenschaften, 87, 391-394.
- Piccolo A., 2002: The supramolecular structure of humic substances: a novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. Advances in Agronomy, 75, 57-134.
- Pierson M.D., Gomez R.F., Martin S.E., 1978: The Involvement of Nucleic Acids in Bacterial Injury. Advances in Applied Microbiology, 23, 263-285.
- Pietro M., Paola C., 2004: Thermal analysis for the evaluation of the organic matter evolution during municipal solid waste aerobic composting process. Thermochimica Acta, 413, 209–214.
- Pietronave S., Fracchia L., Rinaldi M., Martinotti M.G., 2004: Influence of biotic and abiotic factors on human pathogens in a finished compost. Water Research, 38, 1963-1970.
- Pike E.B., 1983: Indicators of pollution and efficacy of treatment: significance and methodology In : Processing and use of sewage sludge, 213-219 Ed. L'HERMITE P., OTT H., Publ' REIDEL (Brighton).
- Pikul J.L., Chilom G., Rice J., Eynard A., Schumacher T.E., Nichols K., Johnson J.M.F., Wright S., Caesar T., Ellsbury M., 2009: Organic matter and water stability of field aggregates affected by tillage in South Dakota. Soil Science Society of America Journal, 73, 197–206.
- Pillay A.E., Williams J.R., Hassan S.M., El Mardi M.O., Al-Hamdi A., 2005: Boron and the alternate-bearing phenomenon in the date palm (*Phoenix Dactylifera*). Journal of Arid Environments, 62, 199-207.
- Piotrowska A., Iamarino G., Rao M.A., Gianfreda L., 2006: Short-term effects of olive mill waste water (OMW) on chemical and biochemical properties of a semiarid Mediterranean soil. Soil Biology and Biochemistry, 38, 600–610.
- Plaza C., Senesi N., Brunetti G., Mondelli D., 2007: Evolution of the fulvic acid fractions during co-composting of olive oil mill wastewater sludge and tree cuttings. Bioresource Technology, 98, 1964–1971.
- Plaza G., Nalecz-Jawecki G., Ulfing K & Brigmon R.L., 2005: Assessment of genotoxic activity of petroleum hydrocarbon-bioremediated soil. Ecotoxicology and Environmental Safety, 62, 415-420.
- Plym-Forshell L., 1995: Survival of *Salmonella* and *Ascaris suum* eggs in a thermophilic biogas plant. Acta Veterinaria Scandinavica, 36, 79-85.

Poerschmann J., Parsi Z., G'orecki T., Augustin J., 2005: Characterization of non-discriminating tetramethylammonium hydroxide-induced thermochemolysis capillary gas chromatography–mass spectrometry as a method for profiling fatty acids in bacterial biomasses. *Journal of Chromatography A* , 1071, 99–109.

Poerschmann J., Trommler U., Fabbri D., Gorecki T., 2007: Combined application of non-discriminated conventional pyrolysis and tetramethylammonium hydroxide-induced thermochemolysis for the characterisation of the molecular structure of humic acid isolated from polluted sediments from the Ravenna Lagoon. *Chemosphere*, 70, 196–205.

Polak J., Sułkowski W.W., Bartoszek M., Papiez W., 2005: Spectroscopic studies of the progress of humification processes in humic acid extracted from sewage sludge. *Journal of Molecular Structure*, 744–747, 983–989.

Polak J., Bartoszek M., Sułkowski W.W., 2009: Comparison of some spectroscopic and physico-chemical properties of humic acids extracted from sewage sludge and bottom sediments. *Journal of Molecular Structure*, 924-926, 309-312.

Polak J., Sułkowski W.W., Bartoszek M., Luty A., Pentak D., Sułkowski A., 2007: Spectroscopic study of the effect of biological treatment on the humification process of sewage sludge. *Journal of Molecular Structure*, 834-836, 229-235.

Potin O., Rafin C., Veignie E., 2004: Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 54, 45–52.

Pouwels A.D., Tom A., Eijkel G.B., Boon J.J., 1987: Characterisation of beech wood and its holocellulose and xylan fractions by pyrolysis-gas chromatography mass spectrometry, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 11, 417-436.

Prevot H., La récupération de l'énergie issue du traitement des déchets. Rapport du Conseil général des mines, Juillet 2000. <http://www.environnement.gouv.fr/telch/2001-t3/010731-rapport-prevot-dechetsenergie.pdf>.

Prke E.B., 1983: Indicators of pollution and efficacy of treatment, significance and methodology In, *Processing and use of sewage sludge*, ?13-2L9' Ed, L'hermite P, OTT H, Publ' REIDEL (Brighton).

Provenzano M.R., Sensi N., Piccone G., 1998: Thermal and spectroscopic characterization of composts from municipal solid waste. *Compost Science and Utilization*, 6 (3), 67-73.

Q

Quyum A., Achari G., Goodman R.H., 2002: Effect of wetting and drying and dilution on moisture migration through oil contaminated hydrophobic soils. *Science of the Total Environment*, 296, 77–87.

R

- Raaijmakers J.M., Vlami M., de Souza J.T., 2002: Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Anton Leeuw*, 81, 537-47.
- Rai U.N., Shukla O.P., Singh N.K., 2006: Development of Integrated Phytoremediation System for Cr Loaded Waste. Department of Science and Technology, New Delhi. remediation. *Plant Soil*, 249, 139-156.
- Raj A., Reddy M.M.K., Chandra R., 2007: Identification of low molecular weight aromatic compounds by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) from kraft lignin degradation by three *Bacillus* sp. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 59, 292-296.
- Rama R., Sigoillot J.C., Chaplain V., Asther M., Jolivalt C., Mouglin C., 2001: Inoculation of filamentous fungi in manufactured gas plant site soils and PAH Transformation. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 18(4), 397-414.
- Ranalli G., Bottura G., Taddei P., Garavani M., Marchetti R., Sorlini C., 2001: Composting of solid and sludge residue from agricultural and foods industries, Bioindicators of monitoring and compost maturity. *Journal of Environmental Science and Health*, 36 A (4), 415-436.
- Rasse D.P., Mulder J., Moni C., Chenu C., 2006: Carbon turnover kinetics with depth in a French loamy soil. *Soil Science Society of America Journal*, 70, 2097-2105.
- Rathod P.H., Patel J.C., Shah M.R., Jhala A.J., 2009: Recycling gamma irradiated sewage sludge as fertilizer: A case study using onion (*Allium cepa*). *Applied Soil Ecology*, 41, 223-233.
- Redlinger T., Graham J., Corella-Barud V., Avitia R., 2001: Survival of faecal coliforms in dry-composting toilets. *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 4036-4040.
- Reimers R.S., Little M. D., Englande A. J., McDonell D. B., Bowman D.D., Hughes J. M., 1985: Investigation of parasites in sludges and disinfection techniques, U.S. Environmental Protection Agency.
- Reimers R.S., Desocio E.R., Bankston W.S., Oleszkiewicz J.A., 1998: Current/future advances in biosolids disinfection processing. *Proceedings Weftec '98*, Orlando, pp. 445-459.
- Reimers R.S., Bowman D.D., Schafer P.L., Tata P., Leftwich B., Atique M.M., 2001: Factors affecting lagoon storage disinfection of biosolids. *WEF/AWWA/CWEA Joint Residual and Biosolids Management Conference Biosolids*.
- Réveillé V., Mansuy L., Jardé E., Garnier-Sillam E., 2003: Characterisation of sewage sludge-derived organic matter: lipids and humic acids. *Organic Geochemistry*, 34, 615-627.
- Rhee C.H., Kim K.P., Park H.D., 2002: Two Novel Extracellular Cholesterol Oxidases of *Bacillus* sp. Isolated from Fermented Flatfish. *Biotechnology Letters*, 24, 1385-1389.
- Rhee G.Y., Bush B., Brown M.P., Kane M., Shane, L., 1989: Anaerobic Biodegradation of polychlorinated biphenyls in Hudson river sediments and dredged sediments in clay encapsulation. *Water Research*, 23, 957.

- Rhee S.K., Lee S.G, Hong S.P, Choi Y.H, Park J.H, Kim C.J, Sung M.H., 2000: A novel Microbial interaction, obligate commensalism between a new gram-negative thermophile and a thermophilic Bacillus strain. *Extremophiles Biomedical and Life Sciences*, 4(3), 131-136.
- Ribechini E., Pérez-Arantegui J., Colombini M.-P., 2011: Gas chromatography/mass spectrometry and pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry for the chemical characterisation of modern and archaeological figs (*Ficus carica*). *Journal of Chromatography A*, 1218, 3915-3922.
- Ribeiro H.M., Romero A.M., Pereira, H., Borges P., Cabral F., Vasconcelos E., 2007: Evaluation of a compost obtained from forestry wastes and solid phase of pig slurry as a substrate for seedlings production. *Bioresource Technology*, 98, 3294-3297.
- Richard T.L., Hamelers H. V. M., Veeken A., and Silva T., 2002: Moisture relationships in composting processes. *Compost Science and Utilization*, 10, 4, 286-302.
- Richnow H.H., Annweiler E., Michaelis W., Meckenstock R.U., 2003: Microbial in situ degradation of aromatic hydrocarbons in a contaminated aquifer monitored by carbon isotope fractionation. *Journal of Contaminant Hydrology*, 65, 101-120.
- Riddech N., Klammer S., Insam H., 2002: Characterisation of microbial communities during composting of organic wastes. In: Insam, H., Riddech, N., Klammer, S. (Eds.). *Microbiology of Composting*, 43-52.
- Righi D., Dinel H., Schulten H.-R., Schnitzer M., 1995: Characterization of clayorganic matter complexes resistant to oxidation by peroxide. *European Journal of Soil Science*, 46, 423-429.
- Ritsema C.J., Dekker L.W., Neiber J.L., Steenhuis T.S., 1998: Modeling and field evidence of finger formation and finger recurrence in a water repellent sandy soil. *Water Research*, 34, 555-567.
- Rivero C., Chirenje T., Mal Q., & Martinez G., 2004: Influence of compost on soil organic matter quality under tropical conditions. *Geoderma*, 123 (3-4), 355-361.
- Rodilla V., 1993: Origin and evolution of binucleated cells and binucleated cells with micronuclei in cisplatin-treated CHO cultures. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 300 (3-4), 281-291.
- Rodríguez E.M., Fernández G., Klammerth N., Maldonado M.I., Álvarez P.M., Malato S., 2010: Efficiency of different solar advanced oxidation processes on the oxidation of bisphenol A in water. *Applied Catalysis B Environmental*, 95, 228-237.
- Roletto E., Barberis R., Consiglio M., Jodice R., 1985: Chemical parameters for evaluating compost maturity. *BioCycle*, 26, 46-47.
- Rudolphi C., 1819: *Entozoorum Synopsis, cui Accedunt manissa duplex et indices locupletissimi*. Augusti Rücker Berlin. Germany, 811 pp.
- Ruggieri Luz., Gea Teresa., Mompeo Marisol., Sayara Tahseen., Sanchez Antoni., 2008: Performance of different systems for the composting of the source-selected organic fraction of municipal solid waste. *Biosystems Engineering*, 101, 78-86.

Russo J., Hasan Lareef M., Tahin Q., Hu Y., Slater C., Ao X., Russo I.H., 2002: 17 β -Estradiol is carcinogenic in human breast epithelial cells. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 80, 149-162.

Ryckeboer J., Mergaert J., Coosemans J., Deprins K., Swings J., 2003: Microbiological aspects of biowaste during composting in a monitored compost Bin. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 127–137.

S

Sabini M.C., Cariddi L.N, Escobar F.M., Mañas F., Comini L., Reinoso E., Sutil S.B., Acosta A.C., Núñez Montoya S., Contigiani M.S., Zanon S.M., Sabini L.I., 2013: Evaluation of the cytotoxicity, genotoxicity and apoptotic induction of an aqueous extract of *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 463–470.

Sacher F., Lange F.T., Brauch H.J., Blankenhorn I., 2001: Pharmaceuticals in groundwaters: Analytical methods and results of a monitoring program in Baden-Württemberg, Germany. *Journal of Chromatography A*, 938, 199–210.

Sadaka S., EL Taweel A., 2003: Effect of aeration and C/N ratio on household wastecomposting in Egypt. *Compost Science and Utilization*, 11, 1, 36-40.

Saebo A., Ferrini F., 2006: The use of compost in urban green areas – A review for practical application. *Urban Forestry and Urban Greening*, 4, 159-169.

Sahlström L., 2003: A review of survival of pathogenic bacteria inorganic waste used in biogas plants. *Bioresource Technology*, 87, 161–166.

Said-Pullicino D., Kaiser K., Guggenberger G., Gigliotti G., 2007: Changes in the chemical composition of water-extractable organic matter during composting, Distribution between stable and labile organic matter pools. *Chemosphere*, 66 (21), 66- 76.

Saifullah Zia, M.H., Meers E., Ghafoor A., Murtaza G., Sabir M., Zia-ur- Rehman M., Tack F.M.G., 2010: Chemically Enhanced phytoextraction of Pb By wheat in texturally different soils. *Chemosphere*, 79, 652–658.

Saiz-Jimenez C., De Leeuw J.W., 1987: Chemical structure of a soil humic acid as revealed by analytical pyrolysis. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 11, 367-376.

Saiz-Jimenez C., Senesi N., de Leeuw J.W., 1989: Evidence of lignin residues in Humic acids isolated from vermicomposts. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 15, 121-128.

Sammon C., Mura C., Yarwood J., Everall N., Swart R., Hodge D., 1998: FTIR-ATR studies of the structure and dynamics of water molecules in polymeric matrices. *Journal of Physical Chemistry B*, 102(18), 3402–3411.

Sanchez-Monedero M.A., Roig G.A., Cegarra J., Bernal M.P., 1999: Relationships between water soluble carbohydrate and phenol fractions and the humidification indices of different organic wastes during composting. *Bioresource Technology*, 70, 193-201.

- Sanchez-monedero M.A., Roig A., Paredes C. & Bernal M.P. 2001: Nitrogen transformation during organic waste composting by the Rutgers system and its effects on pH, Ec and maturity of the composting mixtures. *Bioresource Technology*, 78, 301-308.
- Sanguinetti G.S., Tortul C., Garcia M.C., Ferrer V., Montangero A., Strauss M., 2005: Investigating helminth eggs and Salmonella sp in stabilization ponds treating septage. *Water Science and Technology*, 51, 239–247.
- Santos F.J., Galceran M.T., 2002: The application of gas chromatography To environmental analysis. *Trends in Analytical Chemistry*, 21, 672-685.
- Sarwar N., Saifullah Malhi SS, Zia M.H., Naeem A., Bibi S., Farid G., 2010: Role of mineral nutrition in minimizing cadmium accumulation by plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(6), 925-937.
- Sasek V., Bhatt M., Cajthaml T., Malachova K., Lednicka D., 2003: Compost mediated removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 44, 336-342.
- Saviozzi A., Riffaldi R., Levi-Minzi R., 1987: Compost maturity by water extract Analysis, L'hermite, Luxembourg, In, Merillot, J. (Ed.), *Composting and Compost Quality Assurance Criteria*. Commission of the European Communities, Brussels, pp. 359-367.
- Saviozzi A., Levi-Minzi R., Riffaldi R., 1988: Maturity evaluation of organic Waste. *BioCycle*, 29, 54-56.
- Sawalha M.F., Peralta-Videa J.R., Saupe G.B., Dokken K.M., Gardea-Torresdey J.L., 2007: Using FTIR to corroborate the identity of functional groups involved in the binding of Cd and Cr to saltbush (*Atriplex canescens*) biomass. *Chemosphere*, 66, 1424–1430.
- Scaglia B., Adani F., 2008: An index for quantifying the aerobic reactivity of municipal solid wastes and derived waste products. *Science of the Total Environment*, 394, 183-191.
- Schatz A., Savard K., Pinter I. J., 1949: The Ability of Soil Microorganisms to Decompose Steroids. *Journal of Bacteriology*, 58, 117-125.
- Scheuerell S.J., Mahaffee W.F., 2004: Compost Tea as a Container Medium Drench for Suppressing Seedling Damping-Off Caused by *Pythium ultimum*. *Phytopathology*, 94, 1156-1163.
- Schnitzer M., Khan S.U., 1972 : Humic substances in the environnement, *Pédologie: Chimie du sol, Fertilisation*, MRCEL DEKKER, INC, 29 – 51.
- Schuh R., Philipp W., Strauch D., 1985: Influence of sewage sludge with and without lime treatment on the development of *Ascaris suum* eggs, In: *Inactivation of Microorganisms in Sewage by Stabilisation Processes*, eds D. Strauch, A. H. Havelaar and P. L. L'Hermite, 100–113.
- Schulten H.R., Leinweber P., 1996: Characterization of humic and soil particles by pyrolysis and computer modeling analytical. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 38, 1-53.
- Schulten H.R., Leinweber P., 2000: New insights into organic-mineral particles composition properties and models of molecular structure. *Biology and Fertility of Soils*, 30, 399–422.

- Schulten T., 2001: On the Way towards downward Competition? Collective Bargaining under the European Monetary Union, in: Thorsten Schulten and Reinhard Bispinck (eds.), Collective Bargaining under the Euro. Experiences from the European metal Industry, Brussels: ETUI, 17-36.
- Schwartzbrod J., Mathieu C., Thevenot M.T., Baradel J.M., Schwartzbrod L., 1987, Wastewater sludge: Parasitological and virological contamination. Water Science Technology, 19, 30–40.
- Schwartzbrod J., 2003: Quantification and Viability Determination for Helminth Eggs in Sludge (Modified EPA Method 1999), University of Nancy.
- Schwartzbrod J., Banas S., 2003: Parasite contamination of liquid sludge from urban wastewater treatment plants. Water Science Technology, 47, 163-166.
- Scoccianti V., Crinelli R., Tirillini B., Mancinelli V., Speranza A., 2006: Uptake and toxicity of Cr(III) in celery seedlings. Chemosphere, 64, 1695–1703.
- Scrimshaw M.D., Lester J.N., 2003: Fate and behaviour of endocrine disrupters in sludgetreatment and disposal, In, Birkett J.W, Lester J.N, editors, Endocrine disrupters in wastewater and sludge treatment processes, London, CRC Press LLC and IV/A publishing, pp, 145-176.
- Senesi N., Loffredo E., 1999: The chemistry of soil organic matter, Donald L, Sparks (Eds), CRC Press LLC USA.
- Senesi N., D’Orazio V., Ricca G., 2003: Humic acids in the first generation of Eurosoils, Geoderma, 116, 325-344.
- Sengupta M.E., Keraita B., Olsen A., Boateng O.K., Thamsborg S.M., Palsdottir G.R., Dalsgaard A., 2012: Use of Moringa oleifera seed extracts to reduce helminth egg numbers and turbidity in irrigation water. Water Research, 46, 3646-3656.
- Serra-Wittling C., 1995 : Valorisation de compost d’ordures ménagères en protection des cultures, Influence de l’apport de composts sur le développement de maladies d’origine tellurique et le comportement de pesticides dans un sol, Thèse de doctorat de l’INAPG, 221P.
- Serra-Wittling C., Houot S., Alabouvette C., 1996: Increased soil suppressiveness to Fusarium wilt of flax after addition of municipal solid waste compos. Soil Biology and Biochemistry, 28, 1207-1214.
- Seth C.S., Misra V., Chauhan L.K.S., Singh R.R., 2008: Genotoxicity of cadmium on root meristem cells of Allium cepa: cytogenetic and Comet assay approach. Ecotoxicology and Environmental Safety, 71, 711–716.
- Shahid M., Pinelli E., Pourrut B., Silvestre J., Dumat, C., 2011: Lead-induced genotoxicity to *Vicia faba* L, roots in relation with metal cell uptake and initial speciation. Ecotoxicology and Environmental Safety, 74, 78–84.
- Shahid M., Arshad M. Kaemmerer M., Pinelli E. Probst A Baque D., Pradere P. Dumat C., 2012: Long Term field metal extraction by pelargonium: phytoextraction efficiency in relation with plant maturity. International Journal of Phytoremediation, 14, 493–505.

Shakesby R.A., Doerr S.H., Walsh R.P.D., 2000: The erosional impact of soil Hydrophobicity, current problems and future research directions. *Journal of Hydrology*, 231, 178-191.

Shannon C.E., Weaver W., 1963: *The Mathematical Theory of Communication*. University of Illinois Press, Urbana. Shevchenko S.M., Bailey G.W., 1996: Life after death, ligninehumic relationships Reexamined. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 26, 95-153.

Sherblom P.M., Henry M.S., Kelly D., 1997: Questions remain in the use of coprostanol and epicoprostanol as domestic waste markers: examples from coastal Florida. In: Eganhouse, R.P. (Ed.), *Molecular Markers in Environmental Geochemistry*, Vol. 671. ACS Symposium Series, Washington D.C.

Shevchenko S.M., Bailey G.W., 1996: Life after death: ligninehumic relationships reexamined. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 26, 95-153.

Shirling E.B, Gottlieb D., 1966: Methods for characterization of Streptomyces species. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 16, 313-340.

Shukla O.P., Rai U.N., Singh N.K., Dubey S., Baghel V.S., 2007: Isolation and characterization of chromate resistant bacteria from tannery effluent. *Journal of Environmental Biology*, 28 (02), 399-403.

Shukla O.P., Rai U.N., Smita Dubey., 2009: Involvement and interaction of microbial communities in the transformation and stabilization of chromium during the composting of tannery effluent treated biomass of *Vallisneriaspiralis* L. *Bioresource Technology*, 100, 2198-2203.

Shuval H.I., 1977: *Water renovation and reuse*, Ed, Shuval M.I, Academ'ic Press Publish' New York'.

Shuval H.I., Adin A., Fattal B., Rawitz E., Yekutieli P., 1986: *Wastewater irrigation in developing countries* 'World Bank Publ, Technical paper series n" 51.

Sidhu J., Gibbs R.A., Ho G.E., Unkovich I., 2000: The role of indigenous microorganisms in suppression of *Salmonella*-growth in composted biosolids. *Water Research*, 35, 913-20.

Simkovic I., Dlapa P., Doerr S.H., Mataix-Solera J., Sasinkova V., 2008: Thermal destruction of soil water repellency and associated changes to soil organic matter as observed by FTIR spectroscopy. *Catena*, 74, 205-211.

Singh J., Kalamdhad A.S., 2012: Reduction of Heavy Metals during Composting- A Review. *International Journal of Environmental Protection*, 2 (9), 36-43.

Singh K.P., Mohan D., Sinha S., Dalwani R., 2004: Impact assessment of treated/untreated wastewater toxicants discharged by sewage treatment plants on health, agricultural, and environmental quality in the wastewater disposal area. *Chemosphere*, 55, 227-255.

Singh N.P., McCoy MT., Tice R.R., Schneider EL., 1988: A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, 175(1), 184-191.

- Sinninghe-Damst J.S., Eglinton T.I., de Leeuw J.W., 1992: Alkylpyrroles in a kerogen pyrolysate, evidence for abundant tetrapyrrole pigments, *Geochimica Cosmochimica Acta* 56, 1743-1751.
- Smidt E., Meissl K., Schmutzer M., Hinterstoisser B., 2008: Co-composting of lignin to build up humic substances - Strategies in Waste management to improve compost quality. *Industrial Crops and Products*, 27 (2), 196-201.
- Smith S.R., Lang N.L., Cheung K.H.M., Spanoudaki K., 2005: Factors controlling pathogen destruction during anaerobic digestion of biowaste, centre for environmental control and waste management, department of civil and environmental engineering, South Kensington campus, London, UK. *Waste Management*, 25, 417-425.
- Sneath P.H.A., 1986: Endospore-forming Gram-positive rods and cocci. In: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, vol. 2, William & Wilkins, USA, pp.1104-1207.
- Snyder S.A., Westerhoff P., Yoon Y., Sedlak D.L., 2003: Pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disruptors in water, Implications for the water industry. *Environmental Engineering Science*, 20, 449-469.
- Solbraa K., 1979: Composting of Bark, IV, Potential Growth reducing Compounds and Elements in Bark, *Meddelelser fra Norsk Institutt for Skogforskning*, pp. 443-508.
- Som M.P., 2006: Etude moléculaire des composés organiques de compost formation transformation dans les sols action sur les propriétés des sols, Thèse de doctorat d'université, Université de Poitiers, France.
- Song Y.F., Gong P., Wilke B.M., Zhang W., Song X.Y., Sun T.H., Ackland M.L., 2007: Genotoxicity assessment of soils from wastewater irrigation areas and bioremediation sites using the *Vicia faba* root tip micronucleus assay. *Journal of Environmental Monitoring*, 9, 182-186.
- Sophonsiri C., Morgenroth E., 2004: Chemical composition associated with different particle size fractions in municipal industrial and agricultural wastewaters. *Chemosphere*, 55, 691-703.
- Souguir D., Ferjani E., Ledoigt G., Goupil P., 2008: Exposure of *Vicia faba* and *Pisum sativum* to copper-induced genotoxicity. *Protoplasma*, 233(3), 203-207.
- Spillmann S.T., Traub F., Schwyzer M., Wyler R., 1987: Inactivation of animal viruses during sewage sludge treatment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53(9), 2077-2081.
- Staples C.A., Dorn P.B., Klecka G.M., O'Block S.T., Branson D.R., Harris L.R., 2000: Bisphenol a concentrations in receiving waters near US manufacturing and processing facilities. *Chemosphere*, 40, 521-525.
- Stasta P., Boran J., Bebar L., Stehlik P., Oral J., 2006 : Thermal processing of sewage sludge. *Applied Thermal Engineering*, 26, 1420-1426.
- Steeling C., 1983: Humic substance in soil, sediment, and water, John Wiley, NewYork, 456-476.

- Steenhuis T.S., Hunt A.G., Parlange J.Y., Ewing Tammo R.P., 2005: Assessment of the application of percolation theory to a water repellent soil. *Australian Journal of Soil Research*, 43, 357–360.
- Steffen K.T., Hofrichter M., Hatakka A., 2000: Mineralisation of ¹⁴C labelled synthetic lignin and ligninolytic enzyme activities of litter decomposing *basidiomycetous fungi*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54, 819-825.
- Steger K., Asa J, Sven S., Ingvar S., 2003: Comparison of signature lipid methods to determine microbial community structure in compost, *Journal of Microbiological Methods*, 55, 371–382.
- Steger K., Sjogren A.M., Jarvis A., Jansson J.K., Sundh I., 2007: Development of compost maturity and Actinobacteria populations during full-scale composting of organic household waste. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 487-498.
- Steger-Hartmann T., Kümmerer K., Hartmann A., 1997: Biological Degradation of Cyclophosphamide and Its Occurrence in Sewage Water/ Ecotoxicology and Environmental Safety, 36, 2, 174-179.
- Steinkellner H., Mun-Sik K., Helma C., Ecker S., Ma T-H., Horak O., Kundi M., Knasmüller S., 1998: Genotoxic effects of heavy metals, Comparative investigation with plant Bioassays. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 31(2), 183-191.
- Stevenson F.J., 1965: *Methods of soil analysis*, American society of Agronomy, Madison, pp 1409-1421.
- Stevenson F.J., 1982: In *Humus Chemistry, Genesis, Composition, Reactions*, vol. 443, John Wiley and Sons, Inc., New York.
- Stevenson F.J., He X.T., 1990: Nitrogen in humic substances as related to soil fertility. In: *Humic Substances in Soil and Crop Sciences: Selected Readings*. P. McCarthy, C. E. Clapp, R. L. Malcolm and P. R. Bloom (Eds.) Madison, WI: Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin , 91–109.
- Stevenson F.J., 1994: *Humus chemistry*, John Wiley and Sons, New York, NY.
- Stien J.L., 1989: Oeufs d'helminthes et environnement : le modele oeufs d'ascari. Thèse de doctorat de l'université de Metz Mention « Chimie et Microbiologie de l'Eau ».
- Stollenwerk K.G., Grove D.B., 1985: Adsorption and desorption of hexavalent chromium in an alluvial aquifer near Telluride, Colorado. *Journal of Environmental Quality*, 14, 150–155.
- Stone A.G., Scheuerell S.J., Darby H.M., 2004: Suppression of soilborne diseases in field agricultural systems: organic matter management, cover cropping, and other cultural practices. *Soil Organic Matter In Sustainable Agriculture*, 131-177.
- Stott D.E., Kassim G., Jarrel W.M., Martin J.P., Haider K., 1983: Stabilization and incorporation into biomass of specific plant carbons during biodegradation in soil. *Plant Soil*, 70, 15-26.
- Su D.C., Wong J.W.C., Jagadeesan H., 2004: Implications of rhizospheric heavy metals and nutrients for the growth of alfalfa in sludge amended soil. *Chemosphere*, 56, 10, 957-965.

Sugahara K., Ionoko A., 1981: Composition analysis of humus and characterization of humic acid obtained from city refuse compost. *Soil Science Plant Nutrition*, 27, 213-224.

Sundberg C., Franke-Whittle I., Kauppi S., Yu D., Romantschuk M., Insam H., Jönsson H., 2011: Characterisation of source-sorted household waste intended for composting. *Bioresource Technology*, 102, 2859-2867.

Sushchik N.N., Kalacheva G.C., Zhila N.O., Gladyshev M.I., Volova T.G., 2003: A temperature dependence of the intra-and extracellular fatty-acid composition of Green Algae and Cyanobacterium, *Russian Journal of Plant Physiology*, 50, 374–380.

Swift R.S., 2001: sequestration of carbon by soil. *Soil Science*, 166, 858-871.

Sylla I., Belghyti D., 2008 : Analyse parasitologique des eaux usées brutes de la ville de Sidi Yahia du Gharb (Maroc), *Revue Mondiale de la Recherche Biologique*, 1.

T

Takada H., Eganhouse R.P., 1998: Molecular markers of anthropogenic waste. In: *Encyclopedia of Environmental Analysis and Remediation* (Edited by R.A. Meyers), pp 2883-2940, John Wiley and Sons.

Tang J.C., Kanamori T., Inoue Y., Yasuta T., Yoshida S., Katayama A., 2004: Changes in microbial community structure in thermophilic composting process of manure detected by quinone profile method. *Process Biochemistry*, 39, 1999– 2006.

Tang J.C., Shibata A., Zhou Q., Katayama A., 2007: Effect of Temperature on Reaction Rate and Microbial Community in Composting of Cattle Manure with Rice Straw. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 104, 321–328.

Tarradellas J., 1984: Ecologie des micopolluants, Monographie d'écologie des polluants 1, EPF-Lausanne, Suisse, 77.

Tate R.L., 1987: In, *Soil Organic Matter, Biological and Ecological Effects*, Wiley, New York, 291 pp.

Tautorius T.E., Townsley P.M., 1983: Biological control of olive green mold in *Agaricus bisporus* cultivation. *Applied and Environmental Microbiology*, 45, 511-515.

Tyagi P., Edwards D. R., Coyne M.S., 2007: Use of selected chemical markers in combination with a multiple regression model to assess the contribution of domesticated animal sources of fecal pollution in the environment. *Chemosphere*, 69, 1617–1624.

Taylor C.D., Smith S.O., Gagosian R.B., 1981: Use of microbial enrichments for the study of the anaerobic degradation of cholesterol. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 45, 2161-2168.

Tegelaar E.W., de Leeuw J.W., Saiz-Jimenez C., 1989: Possible origin of aliphatic moieties in humic substances. *The Science of the Total Environment*, 81/82, 1-17.

- Tejada M., García C., González J., Hernández M., 2006: Use of organic amendment as a strategy for salines soil remediation: influence of the physical, chemical and biological properties of soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 1413-1421.
- Ternes T.A., Stumpf M., Mueller J., Haberer K., Wilken R.D., Servos M., 1999: Behavior and occurrence of estrogens in municipal sewage treatment plants I. Investigations in Germany, Canada and Brazil. *Sci Total Environ.* 225 (1/2), 81–90.
- Tewari A., Chauhan L.K.S., Kumar D., Gupta S.K., 2005: Municipal sludge leachate-induced genotoxicity in mice—a subacute study. *Mutation Research*, 587, 9–15.
- Thevenot M.T., Larbaigt G., Collomb J., Bernard C., Schwartzbrod J., 1985: Recovery of helminth eggs in compost in the course of composting, In: *Inactivation of Microorganisms in Sewage Sludge by Stabilisation Processes*. Elsevier Science Publishing Co., New York., pp. 158-167.
- Tiquia S.M., Wan J.H.C., Tam N.F.Y., 2002: Microbial population dynamics and enzyme activities during composting. *Compost Science and Utilization*, 10, 150-161.
- Tiquia S.M., Tam N.F.Y., Hodgkiss I.J., 1996: Effect of composting on phyto-toxicity of spent pig manure saw dust litter. *Environmental Pollution*, 93, 249-256.
- Tomati U., Galli E., Pasetti L., Volterra E., 1995: Bioremediation of olive-mill wastewaters by composting. *Waste Management and Research*, 13, 509-518.
- Tønner-Klank L., Møller J., Forslund A., Dalsgaard A., 2007: Microbiological assessments of compost toilets, in situ measurements and laboratory studies on the survival of fecal microbial indicators using sentinel chambers. *Waste Management*, 27, 1144–1154.
- Trémier A., Teglia C., Suzelle B., 2009: Effect of initial physical characteristics on sludge compost performance. *Bioresource Technology*, 100, 3751–3758.
- Tsai W., Lee M., Su T., Chang Y., 2009: Photodegradation of bisphenol-A in a batch TiO₂ suspension reactor. *Journal of Hazardous Materials*, 168, 269-275.
- Tsuge S., Matsubara H., 1985: High-resolution pyrolysis-gas chromatography of proteins and related materials. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 8, 49-64.
- Tulve N.S., Jones P.A., Nishioka M.G., Fortmann R.C., Croghan C.W., Zhou J.Y., Fraser A., Cave C., Friedman W., 2006: Pesticide Measurements from the first national environmental health survey of child care centers using a multi-residue GC/MS analysis method. *Environmental Science and Technology*, 40, 6269–6274.
- Tumuhairwe J.B., Tenywa J.S., Otabong E., Ledin S., 2009: Comparison of four low-technology composting methods for market crop wastes. *Waste Management*, 29, 2274-2281.
- Tuomela M., Vikman M., Hatakka A., Itavaara M., 2000: Biodegradation of lignin in a compost environment, a review. *Bioresource Technology*, 72, 169-183.
- Turfitt G.E., 1944: The Microbiological Degradation of Steroids. Oxidation of Cholesterol by *Proactinomyces sp.* *Journal of Biochemistry*, 38, 49-62.

U

US EPA's Pathogen Equivalency Committee (PEC). Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge., 1999: USEPA Environmental Regulations and Technology, Office of Research and Development EPA/625/R-92/013, Washington, DC., p.177.

Utzinger J., N'Goran E.K., Caffrey C.R., Keiser J., 2011: From innovation to application: social-ecological context, diagnostics, drugs and integrated control of schistosomiasis. *Acta Tropica*, 120, s121-s137.

V

Vaglenov A., Nosko M., Georgieva R., Carbonell E., Creus A., Marcos R., 1999: Genotoxicity and radioresistance in electroplating workers exposed to chromium. *Mutation Research*, 446, 23-34.

Van der Marel H.W., Beutelspacher H., 1976: *Atlas of Infrared Spectroscopy of Clay Minerals and Their Admixtures*, Elsevier, Amsterdam, p. 194.

Van Schooten F.J., Maas L.M., Moonen E.J.C., Kleinjans J.C.S., Van DerOost R., 1995: DNA dosimetry in biological indicator species living on PAH contaminated soils and sediments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 30,171-179.

Vanloon, Stephen J.D., 2000: *Environmental chemistry, a global perspective*, Oxford University press, 515 p.

Varma R., Nene S., 2003: Biosynthesis of cholesterol oxidase by *Streptomyces lavendulae* NCIM 2421. *Enzyme and Microbial Technology*, 33, 286-291.

Veeken A., Nierop K., de Wilde V., Hamelers B., 2000: Characterisation of NaOH extracted Humic acids during composting of a biowaste. *Bioresource Technology*, 72, 33-41.

Venkata Ramana V., Sasikala C., Takaichi S., Ramana C., 2010: *Roseomonasa estuarii* sp, nov, a bacterio chlorophylla containing alpha proteobacterium isolated from an estuarine habitat of India. *Systematic and Applied Microbiology*, 33, 198-203.

Venkatramesh M., Karunanandaa B., Sun B., Gunter C.A., Boddupalli S., Kishore G.M., 2003: Expression of a *Streptomyces* 3-hydroxysteroid oxidase gene in oilseeds for converting phytosterols to phytostanols. *Phytochemistry*, 62, 39-46.

Vergnoux A., Guiliano M., Le Dréau Y., Kister J., Dupuy N., Doumenq P., 2009: Monitoring of the evolution of an industrial compost and prediction of some compost properties by NIR spectroscopy. *Science of the Total Environment*, 407, 2390-2403.

Vestal J.R., White D.C., 1989: Lipid analysis in microbial ecology: quantitative approaches to the study of microbial communities. *Bioscience*, 39, 535-541.

Vieira R.H.S.F., Volesky B., 2000: Biosorption: A solution to pollution?. *International Microbiology*, 3, 17-24.

Vinneras B., Björklung A., Jönsson H., 2003: Thermal composting of faecal matter as treatment and possible disinfection method- laboratory-scale and pilot-scale studies. *Bioresource Technology*, 88, 47-54.

Viti C., Giovannetti L., 2001: The impact of chromium contamination on soil heterotrophic and photosynthetic microorganisms. *Annals of Microbiology*, 51, 201-213.

Vivas A., Moreno B., García-Rodríguez S., Benítez E., 2009: Assessing the impact of composting and vermicomposting on structural diversity of bacterial communities and enzyme activities of an olive-mill waste. *Bioresource Technology*, 100, 1319–1326.

Vosta J., 1958: The importance of helminthoses. *Cs. Epid., Mikrobiol.imunol*, 340-343, (in Czech).

Vuorinen A.H., Saharinen M.H., 1997: Evolution of microbiological and chemical parameters during manure and straw co-composting in a drum composting system. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 66, 19-29.

W

W.R.A.P 2004: Summary of the BSI specification for composted materials -Introduction to BSI PAS 100, The Waste and Resources Action Programme (W.R.A.P).

Waksman S.A., 1932: *Humus, Origin, Chemical Compositions and Importance in nature*, Baltimore, Williams &Wilkins Co, Baltimore, USA. Wallis M.G., Horne D.J., 1992: Soil water repellency. *Advances in Soil Science*, 20, 91-146.

Waksman S.A., 1936: *Humus: Origin, Chemical Composition and Importance in nature*, first ed. Bailliere, Tindall and Cox, Covent Garden, London.

Wang J., Chen C., 2009: Biosorbent for heavy metal removal and their future. *Biotechnology Advances*, 27, 195–226.

Wani P.A., Khan M.S., Zaidi A., 2007: Effect of metal tolerant plant growth Promoting Bradyrhizobium sp. (vigna) on growth, symbiosis, seed yield and metal uptake by greengram plants. *Chemosphere*, 70, 36–45.

Warman P.R., Termeer W.C., 2005: Evaluation of sewage sludge, septic waste and sewage sludge compost applications to corn and forage, Yields and N, P, and K content of crops and soils. *Bioresource Technology*, 96, 955–961.

Warne M.S.J., Heemsbergen D., McLaughlin M., Bell M., Broos K., Whatmuff M., Barry G., Nash D., Pritchard D., Penney N., 2008: Models for the field-based toxicity of copper and zinc salts to wheat in 11 Australian soils and comparison to laboratory-based models. *Environmental Pollution*, 156, 707-714.

Watson D.C., Satchi, Iell M., JONES C.E., 1983: A study of prevalence of parasitic helminth eggs and cysts' in sewage sludges disposed to the agricultural land. *Water Pollution Control*, 82, 285-289.

Weast R.C., 1980: *CRC Handbook of chemistry and physic*, CRC press, Boca Raton, Florida, U.S.A.

Wei Z., Xi B., Zhao Y., Wang S., Liu H., Jiang Y., 2007: Effect of inoculating microbes in municipal solid waste composting on characteristics of humic acid. *Chemosphere*, 68, 368–374.

Werther J., Ogada T., 1999: Sewage sludge combustion. *Progress in Energy and Comustion Science*, 25 55-116.

White D.C., Davis W.M., Nickels J.S., King J.D., Bobbie R.J., 1979: Determination of sedimentarymicrobial biomass by extractable lipid phosphate, *Oecologia* 40, 51–62.

Wiesenberg G.L.B., Schneckenberger K., Schwark L., KuzyakovY., 2012: Use of molecular ratios to identify changes in fatty acid composition of *Miscanthus × giganteus* (GreefetDeu) plant tissue, rhizosphere and root-free soil during a laboratory experiment. *Organic Geochemistry*, 46, 1–11.

Wilson D., Hrutfiord B., 1975. The fate of turpentine in aerated lagoons. *Pulp Paper Can*, 76, 91-93.

Wilson M.A., Gillam A.H., Collin P.J., 1983: Analysis of the structure of dissolved marine humic substances and their phytoplanktonic precursors using ¹H and ¹³CNMR. *Chemical Geology*, 40, 187-201.

Wobeser G., 2002: Disease management strategies for wildlife, *Revue Scientifique et Technique*, 21, 159-178.

Wu C., Witter J.D., Spongberg A.L., Czajkowski K.P., 2009: Occurrence of Selected pharmaceuticals in an agricultural landscape, western Lake Erie basin. *Water Research*, 43, 3407-3416.

X

Xiangjiu H., Bo L., Guanghui W., Xinluan W., Lina S., Gexia Q., Xinsheng Y., 2006: Microbial metabolism of methyl protodioscin by *Aspergillusniger* culture A new androstenedione producing way from steroid. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 100, 87–94.

Xiao Y., Zeng G.M., Yang Z.H., Ma Y.H., Huang C., Xu Z.Y., Huang J., Fan C.Z., 2011: Change in actinomycetal communities during continuous thermophilic composting as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis. *Bioresource Technology*, 102, 1383-1388.

Xu X.R., Li H.B., Li X.Y., Gu J.D., 2004: Reduction of hexavalent chromium by ascorbic acid in aqueous solutions. *Chemosphere*, 57, 609-613.

Y

Yang H.H., Effland M.J., Kirk T.K., 1980: Factors influencing fungal degradation of lignin in a representative lignocellulosic, thermomechanical pulp, *Biotechnology and Bioengineering*, 22 (1), 65-77.

Yangui T., Dhouib A., Rhouma A., Sayadi S., 2009: Potential of hydroxytyrosol-rich composition from olive mill wastewater as a natural disinfectant and its effect on seeds vigour response. *Food Chemistry*, 117, 1–8.

Ying G., Kookana R.S., Ru Y., 2002: Occurrence and fate of hormone steroids in the environment. *Environment International*, 28, 545-551.

Yu X.Z., Gu J.D., 2008: The role of EDTA in phytoextraction of hexavalent and trivalent chromium by two willow trees. *Ecotoxicology*, 17, 143–152.

Yurkow E.J., Hong J., Min S., Wang S., 2002: Photochemical reduction of hexavalent chromium in glycerol-containing solutions. *Environmental Pollution*, 117, 1–3.

Z

Zayed A.M., Terry N., 2003: Chromium in the environment: factors affecting biological. *Plant and soil*, 249, 139-156.

Zebarth B.J., McDougall R., Neilsen G., Neilsen D., 2000: Availability of nitrogen from municipal sewage sludge for dryland forage grass. *Canadian Journal of Plant Science*, 80, 575–582.

Zegouagh Y., Derenne S., Largeau C., Bardoux G. and Mariotti A., 1998 : Organic matter sources and early diagenetic in Arctic surface sediments (Lena Riverdelta and Laptev Sea, Eastern Siberia) II, Molecular and isotopic studies of hydrocarbons. *Organic Geochemistry*, 28, 571-583.

Zenjari B., El Hajjouji H., Ait Baddi G., Bailly J.R., Revel J.C., Nejmeddine A., Hafidi M., 2006: Eliminating toxic compounds by composting olive mill wastewater straw mixtures, *Journal of Hazardous Materials*, 138, 433-437.

Zhao J., Peng P.A., Song J., Ma S., Sheng G., Fu J., Yuan D., 2012: Characterization of humic acid-like substances extracted from atmospheric falling dust using Py-GC-MS. *Aerosol and Air Quality Research*, 12, 83-92.

Zheng G.D., Gao D., Chen T.B., Luo W., 2007: Stabilization of nickel and chromium in sewage sludge during aerobic composting. *Journal of Hazardous Materials*, 142, 216–221.

Zmora-Nahum S., Markovitch O., Tarchitzky J., Chen Y., 2005: Dissolved organic carbon (DOC) as a parameter of compost maturity. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 2109-2116.

Zucconi F., Pera A., Forte M., de Bertoldi M., 1981: Evaluating toxicity of immature Compost. *BioCycle*, 22, 54-57.

Zucconi F., De Bertoldi M., 1987: Compost specifications for the production and characterization of compost from municipal solid waste. In *Compost: production, quality and*

use, ed. M. de Bertoldi, M.P. Ferranti, P. l'Hermitte, F. Zucconi. Elsevier Applied Science, Essex, pp. 30-50.