

JOURNAL OF OASIS AGRICULTURE AND SUSTAINABLE DEVELOPMENT

www.joasdjournal.org

JOASD

p-ISSN: 2724 – 699X
e-ISSN: 2724-7007

Valorisation des microalgues cultivées sur des eaux usées : Potentiel de fertilisation et de production de méthane

Valorization of microalgae cultivated on wastewater: Fertilization potential and methane Production

Chéma Keffala [1]*, Ghofrane Jmii [1], Nermine Marzouk [1], Hanène Kara Mohamed [2], Amina Layssi [3], Ameni Mokhtar [3], Fouad Zouhir [3], Hugues Jupsin [3] & Bernard Tychon [3]

[1] *Laboratoire de recherche Agro-biodiversité et Ecotoxicologie, LR21AGRO2, Université de Sousse, Institut Supérieur Agronomique de Chott-Mariem, Sousse 4042, Tunisie*
[2]*Université de Mohamed El-Bachir El-Ibrahimi, Borj Bou Arreridj, Algérie*
[3] *Département des Sciences et Gestion de l'environnement, Unité de recherches SPHERES, Université de Liège, Avenue de Longwy 185, 6700 Arlon, Belgique.*

Article info

Article history:
Received: 20 Juin 2025
Accepted: 13 Octobre 2025

Mots clés : Algues, Eaux usées, Production de méthane, Chenal algal à haut rendement, Potentiel fertilisant.

***Auteur correspondant**
keffalachema@yahoo.fr

Résumé

Le recours aux microalgues cultivées sur des eaux usées urbaines comme intrants durables en agriculture ou pour produire de l'énergie peut offrir des perspectives prometteuses dans une démarche d'économie circulaire. Cependant, l'efficacité de leur valorisation dépend étroitement de l'espèce algale utilisée et des conditions de culture. Ce travail vise à évaluer le potentiel fertilisant d'une biomasse algale, composée de *Scenedesmus sp.* et *Chlorella sp.* issues d'eaux usées urbaines, sur la croissance de *Hordeum vulgare L.* ainsi que son aptitude à être valorisée comme substrat pour la méthanisation. La caractérisation de la biomasse algale montre des teneurs en métaux lourds conformes à la norme tunisienne (NT 10.44) relative aux amendements mais présentent certaines limites par rapport aux standards européens, en particulier pour le chrome. Cependant, les essais en pots ont montré que l'irrigation avec les extraits d'algues (10, 20, 40 g/L) entraine une amélioration significative des différents paramètres de croissance (poids sec, longueur des racines et des parties aériennes, teneur en chlorophylle) principalement pour la dose de 20 g/L. Le même traitement a aussi provoqué une amélioration des teneurs en N, P et K dans le sol. Le potentiel méthanogène de la biomasse algale révèle une production de 279,6 mL CH_4/g MV pour la biomasse non prétraitée, et de 430,08 mL /g MV pour une biomasse ayant subi un prétraitement à basse température. Cette étude confirme que les microalgues cultivées sur des eaux usées peuvent être utilisées en toute sécurité à des fins agricoles et énergétique dans le contexte méditerranéen, sous réserve d'évaluations expérimentales approfondies.

Article info

Article history:
Received: 20 June 2025
Accepted: 13 October 2025

Keywords: Algae, Wastewater, Methane production, High rate algal pond, Fertlization potential.

OPEN ACCESS

Copyright©2025 JOASD

***Corresponding author**
keffalachema@yahoo.fr

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Abstract

The use of microalgae cultivated in urban wastewater as sustainable inputs for agriculture and energy production offers promising approch within the framework of a circular economy. However, the efficiency of their valorization depends greatly on the algal species and the cultivation conditions. This study aims to assess both the fertilizing potential and biogaz production of an algal biomass (*Scenedesmus* sp. and *Chlorella* sp.) grown in urban wastewater. Analysis of the harvested biomass for heavy metals showed compliance with Tunisian standards (NT 10.44) for organic amendments, although chromium levels exceeded European limits. Pot trials conducted on *Hordeum vulgare* L. demonstrated that applying algal extracts at concentrations of 10, 20 and 40 g/L significantly enhanced various plant growth parameters, including dry weight, root and shoot length and chlorophyll content. The most effective concentration was found to be 20 g/L. This concentration also increased soil levels of nitrogen (N), phosphorus (P) and potassium (K). The methane production potential of the algal biomass reached 279.6 mL CH_4/g VS for untreated biomass and 430.08 mL CH_4/g VS following low-temperature thermal pretreatment. This study confirms that, subject to detailed experimental assessment, microalgae cultivated on wastewater can be safely used for agricultural and energy purposes in the Mediterranean context.

1. INTRODUCTION

Ces dernières années, les technologies basées sur les microalgues ont suscité un intérêt croissant et ont fait l'objet de nombreuses recherches en raison de leurs multiples applications dans divers domaines tels que l'agriculture, l'environnement, l'industrie et l'énergie. Grâce à leur potentiel biotechnologique, les microalgues peuvent jouer un rôle clé dans la production de produits durables, notamment des aliments, des engrais organiques, des biocarburants et d'autres bioproduits à haute valeur ajoutée (El-Moustaqim et al. 2023a ; Hermadi et al. 2021 ; Win et al. 2018). Cependant, les coûts et l'impact économique de l'utilisation des algues dépendent de la source de nutriments utilisée pour la culture des algues mais aussi des techniques de récolte et de concentration de la biomasse algale (Umamaheswari et Shanthakumar, 2021).

Une approche particulièrement avantageuse consiste à cultiver ces microalgues dans des eaux usées, combinant ainsi épuration et récupération des ressources. En effet, cette méthode permet de récupérer les nutriments (azote, phosphore) présents dans les effluents tout en réduisant l'empreinte environnementale liée au traitement conventionnel des eaux. Par rapport aux procédés traditionnels, cette stratégie circulaire minimise la consommation d'énergie et de produits chimiques, tout en générant une biomasse algale riche en éléments fertilisants. Ainsi, l'intégration du traitement des eaux usées dans la production de biofertilisants algaux ou dans la production d'énergie (méthane) représente une solution durable, à la fois économiquement viable et écologiquement vertueuse, pour l'agriculture moderne.

Les biofertilisants à base de microalgues optimisent particulièrement l'assimilation des macro- et micronutriments par les plantes, tout en augmentant la productivité agricole (El-Moustaqim et al. 2024). Leur efficacité repose non seulement sur leur richesse en éléments essentiels (potassium, phosphore, azote), mais aussi sur leur teneur en protéines et en métabolites bioactifs régulateurs de croissance végétale, tels que les auxines, les cytokinines et les gibbérellines (Savci, 2012).

Les microalgues présentent des fonctions agroécologiques multiples tels que la réduction de la matière oxydable dans le sol, la régulation du pH et de la salinité, la solubilisation des phosphates et l'amélioration de l'efficacité d'utilisation des nutriments (Umamaheswari et Shanthakumar, 2021). Leur capacité à produire des composés stimulants (hormones de croissance, polysaccharides, molécules antibactériennes) en fait des agents complets d'amélioration de la fertilité des sols, de la production des cultures, de la valeur nutritionnelle, du développement des plantes et de la germination des graines (Morillas-España et al. 2022 ; Tanumihardjo et al. 2020).

De plus, étant unicellulaires, les microalgues se minéralisent facilement dans le sol et libèrent des nutriments plus rapidement que d'autres formes d'engrais organiques tel que le fumier organique (Abideen et al. 2022 ; El-Moustaqim et al. 2024). L'impact des biofertilisants à base de microalgues dépend de leur mode d'application et de l'état de la biomasse (fraîche, sèche ou digérée) (Savci, 2012). Divers types de microalgues ont été utilisés comme biofertilisants pour une large gamme de cultures, y compris le riz, les tomates, le blé, le maïs, et d'autres (Zhao et al. 2024). Selon l'espèce végétale et le type de microalgues, l'utilisation de biofertilisants à base de microalgues peut produire des résultats variés (Li et al. 2024).

Coppens et al. (2016) ont observé que des microalgues issues d'eaux usées d'aquaculture, utilisées comme engrais sur des plants de tomates, induisaient une croissance végétale comparable à celle obtenue avec un engrais organique commercial. Une amélioration significative de la teneur en sucres et en caroténoïdes a également été observée au niveau des fruits (tomates). Sharma et al. (2021) ont démontré que *Chlorella* cultivée sur des eaux usées municipales pouvait servir de biofertilisant efficace, avec des rendements comparables à ceux des engrais minéraux conventionnels pour des cultures d'épinards et de maïs. De même, Renuka et al. (2017) ont pour leur part démontré que l'application de microalgues cultivées en eaux résiduaires augmentait la biodisponibilité et l'absorption des micronutriments du sol par les plants de blé. Enfin, *Scenedesmus obliquus* cultivé dans des eaux usées de brasserie a montré une activité biostimulante sur le cresson, le concombre et le haricot mungo, avec des effets similaires aux phytohormones (gibbérellines, auxines et cytokinines), favorisant la germination et le développement racinaire (Navarro-Lopez et al. 2020).

Bien que plusieurs études aient démontré le potentiel des biofertilisants à base de microalgues cultivées dans des eaux usées, peu d'entre elles se sont penchées sur leur teneur en contaminants tels que les métaux lourds, les pathogènes ou les polluants organiques. Ces substances, susceptibles de s'accumuler dans la biomasse algale, soulèvent des questions quant à la sécurité de leur utilisation. Les rares études analysant la composition de la biomasse algale montrent que les concentrations en métaux lourds respectent généralement les limites autorisées. Toutefois, certaines exceptions notables ont été observées (Ivanova et al. 2024).

La teneur en contaminants des microalgues varie significativement selon l'espèce considérée et la provenance des eaux usées utilisées pour leur culture. Les principaux polluants identifiés incluent des pathogènes (bactéries, virus, champignons), des métaux lourds et divers polluants émergents (Markou et al. 2018, Singh et Singh, 2022). Cette variabilité nécessite une évaluation spécifique pour chaque cas afin de déterminer la pertinence d'une valorisation en biofertilisants. Ainsi, en fonction des caractéristiques des eaux usées, des coûts de traitement et des propriétés de la biomasse produite, une approche circulaire pourrait privilégier d'autres voies de valorisation, comme la production de biogaz ou de biométhane, plutôt que l'utilisation directe des microalgues comme fertilisants.

Dans un contexte de changement climatique et d'épuisement des ressources fossiles, les algues émergent comme une solution prometteuse pour concilier développement économique et préservation de l'environnement. Plusieurs études se sont penchées sur **l**a production de biogaz à partir de microalgues par digestion anaérobie. Les premières recherches dans ce domaine remontent aux travaux pionniers de Golueke et al. (1957). L'intérêt des microalgues réside principalement dans leur composition biochimique riche en protéines, glucides et lipides - des substrats idéaux pour la méthanisation - ainsi que dans leur capacité à fixer le CO_2 atmosphérique pendant leur croissance. Les microorganismes anaérobies peuvent en effet convertir ces trois classes de macromolécules en méthane. Cependant, leur valorisation à l'échelle industrielle se heurte à un obstacle majeur : la structure complexe de la paroi cellulaire des microalgues, qui limite considérablement leur biodégradabilité anaérobie. Comme l'ont démontré González et al. (2012), cette paroi résistante empêche les enzymes hydrolytiques d'accéder au contenu intracellulaire, réduisant ainsi la disponibilité des substrats nécessaires à une production optimale de biogaz. Par conséquent, l'étape d'hydrolyse représente un défi majeur du procédé, nécessitant le développement de prétraitements efficaces pour rendre cette filière pleinement compétitive à l'échelle industrielle.

De nombreuses recherches ont montré que divers prétraitements (thermique, enzymatiques et hydrothermiques et mécaniques) améliorent la digestion anaérobie des microalgues en facilitant la rupture de leur paroi cellulaire (Carrere et al. 2016). L'étude de Mussgnug et al. (2010) portant sur l'évaluation de l'aptitude de six espèces de microalgues à produire du méthane ainsi que l'étude de l'effet du prétraitement sur le potentiel méthanogène (PM) ont montré que la fermentation de *Chlamydomonas Reinhardtii* permet la production de 587 ml de biogaz par g de matière volatile (MV) tandis que la fermentation de *Scenedesmus Obliquus* était de seulement 287 ml de biogaz par g (MV). Cependant, le séchage (105°C pendant 24 h) en tant que prétraitement a réduit la production de biogaz à environ 80% en comparaison avec la biomasse fraiche. Ces auteurs suggèrent que le potentiel de biogaz dépend fortement de l'espèce et du prétraitement. D'autre part, d'autres études ont rapporté une augmentation des taux de production de méthane de 30 à70% après traitement thermique de la biomasse algale à des températures comprises entre 60 et 100°C et une durée de chauffage comprise entre 2 et 10 heures (Passos et al. 2013). De même, Schwede et al. (2013) ont observé une augmentation du taux de production de méthane de 108% après traitement de la biomasse à une température de 120°C et une durée de chauffage de 2h) et de 42% pour un traitement à 130°C pendant 15 min de la biomasse algale (*Nannochloropsis Salina* et *Oocystis*). En revanche, Alzate et al. (2012) qui ont étudié la digestion anaérobie de trois différentes cultures mixtes de microalgues prétraitées à 55 °C pendant 12 et 24 h ont montré que pour la biomasse algale composée de *Clamydomonas* et *Scenedesmus*, le rendement en méthane a été diminué après le prétraitement par rapport aux microalgues non traitées, tandis que pour la biomasse de *Microspora*, le rendement en méthane a été augmenté de 4 et de 5 %.

Malgré l'existence de travaux sur la valorisation agronomique et énergétique des souches cultivées en Europe ou en Asie, à notre connaissance, il existe peu ou pas d'études réalisées sur des microalgues issues d'eaux usées urbaines tunisiennes, où les conditions climatiques, la composition des effluents et les propriétés des microalgues pourraient influencer significativement leurs potentiels fertilisant et énergétique. L'objectif de cette étude est de caractériser des microalgues cultivées sur des eaux usées urbaines et d'évaluer leur double potentiel : (1) biofertilisant sur la croissance de l'orge et (2) pour la production de méthane (avec/sans prétraitement).

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Culture et caractérisation des microalgues

Cette étude porte sur des algues issues d'un pilote chenal algal à haut rendement (CAHR) mis en place à la station d'épuration de Hammam Sousse, en Tunisie. Ce système, illustré dans la Fig. 1, est alimenté en continu par l'effluent d'un décanteur primaire situé en amont d'une filière de traitement par boues activées. Le pilote possède les dimensions suivantes : 2,45 m de long, 1,05 m de large et 0,15 m de profondeur. Il s'agit d'un bassin rectangulaire comportant huit chenaux parallèles, pour un volume utile total de 288 L. Pendant la période d'expérimentation, le pilote fonctionne avec un débit d'alimentation de 96 L/j correspondant à un temps de séjour hydraulique de trois jours.

L'agitation et l'homogénéisation du milieu sont assurées par un système air lift situé dans une fosse sous le fond des chenaux. Cette fosse, divisée en deux compartiments, induit une circulation dirigée de l'eau. L'un des compartiments reçoit l'eau non aérée et l'autre est équipé d'un tuyau vertical dans lequel de l'air comprimé est injecté à sa base via un diffuseur en pierre poreuse. Un surpresseur à air assure l'injection de l'air comprimé. Le système air lift génère de fines bulles ascendantes qui créent une vitesse d'écoulement de l'eau comprise entre 10 cm/s et 15 cm/s, optimisant ainsi le mélange et la circulation.

Un mois après le démarrage du pilote CAHR, 20 litres d'eau contenant des algues ont été prélevés puis transférés au laboratoire. L'examen microscopique de ces échantillons a révélé une dominance des espèces *Scenedesmus sp.* et *Chlorella sp*. La séparation des algues a été réalisée par centrifugation pendant 10 min à 2500 rpm. Le surnageant a été soigneusement éliminé puis la biomasse algale a été récupérée. Cette dernière a été séchée à l'air libre puis broyée jusqu'à obtenir une poudre fine.

La biomasse algale a été caractérisée par analyse de sa composition élémentaire incluant les macroéléments tels que : l'azote Kjeldahal (N), phosphore (P), potassium (K), magnésium (Mg), calcium (Ca), soufre (S) et les oligoéléments tel que le fer (Fe). L'analyse des métaux lourds dans les algues a également été réalisée pour les éléments suivants : cobalt (Co), cadmium (Cd), cuivre (Cu), chrome (Cr), mercure (Hg), nickel

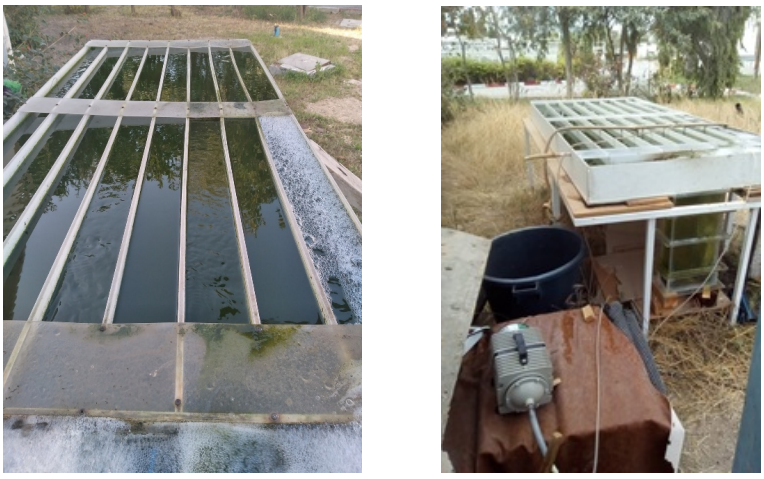

Fig. 1. Pilote chenal algal à haut rendement (CAHR).

Fig. 1. High Rate Algal Pond (HRAP) pilot system.

(Ni), plomb (Pb), zinc (Zn), sélénium (Se) et arsenic (As). L'analyse de ces éléments à l'exception de l'azote (N) et du phosphore (P) a été réalisée par ICP-MS selon la méthode EPA 3051A (USEPA, 1998), au sein du Département des Sciences et gestion de l'environnement, Unité de recherche SPHERES, Université de Liège (Belgique). L'azote a été analysée selon la méthode Kjeldahl et le phosphore a été déterminée par spectrophotomètre selon la méthode décrite dans Bray et Kurtz (1945).

La teneur en matière sèche (MS) des algues a été déterminée après séchage à 105°C pendant 24 heures, tandis que la matière volatile (MV) a été mesurée après calcination à 550°C pendant 2 heures. Par ailleurs, la demande chimique en oxygène (DCO) dans les algues a été quantifiée selon la méthode standard (APHA, 2005).

Toutes les analyses ont été effectuées sur des échantillons préparés en triple exemplaire (triplicatas) afin d'assurer la reproductibilité des résultats.

2.2. Potentiel fertilisant des microalgues

2.2.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude provient de la variété d'orge « Kounouz ». Les semences ont été collectées au laboratoire de production fourragère de l'Institut Supérieur Agronomique de Chott Mariem. Des tests de pré-germination ont été conduits préalablement pour évaluer leur capacité germinative. Les résultats ont révélé que les semences d'orge employées présentaient un taux de germination de 98 %.

2.2.2. Préparation de l'extrait aqueux d'algues et essais préliminaires

L'extrait algal a été préparé en mettant en suspension de la poudre d'algues séchée et broyée dans de l'eau distillée. Différentes concentrations ont été testées, correspondant à des rapports poids/volume (P/V) de 5, 10, 20, 40 et 60 g/L. Chaque mélange a été placé dans un bain marie à 35°C pendant 30 minutes sous agitation. Les mélanges ont ensuite été filtrés à l'aide d'un tissu en mousseline. Les filtrats obtenus ont été centrifugés à 8000 rpm pendant 10 minutes. Les surnageants ont été récupérés et immédiatement utilisés pour les essais en pots

Des essais préliminaires ont été réalisés afin de déterminer la plage de concentration de l'extrait aqueux à adopter durant les essais agronomiques en pots. Ainsi, dix graines d'orge ont été soigneusement rincées avec de l'eau distillée puis placées dans des boîtes de Pétri et irriguées avec 5 ml d'extrait d'algues à différentes concentrations : 5, 10, 20, 40 et 60 g/L. Un échantillon témoin a été irrigué avec 5 ml d'eau distillée. Trois répétitions ont été appliquées pour chaque concentration. Le suivi de la germination a duré 10 jours en dénombrant chaque jour le nombre des graines germées à une température ambiante. En se basant sur les taux de germination de 95%, 94,73%, 96,66%, 90% et 54,29% respectivement de 5, 10, 20, 40 et 60 g/L, les concentrations de 10, 20 et 40 g/L ont été sélectionnées.

2.2.3. Mise en œuvre des essais agronomiques

Dans le but de déterminer l'effet de l'extrait aqueux sur la croissance de l'orge (*H. vulgare*), un essai de culture en pots a été effectué durant les mois Mai et Juin. Des graines pré-germées en présence d'eau distillée ont été placées dans des pots contenant 1,4 kg de mélange composé de 50% de sol et 50% de sable, à une profondeur de 0.5 cm. L'irrigation a été réalisée tous les quatre jours avec 100 ml d'extrait d'algues à différentes concentrations (10, 20 et 40 g/l). Parallèlement, un témoin a été préparé dans les mêmes conditions et irrigué avec l'eau distillée à la même fréquence que les autres traitements.

Plusieurs paramètres de croissance ont été déterminés après récolte incluant les longueurs de la partie aérienne et racinaire, le poids sec (après séchage à 70°C pendant 48 heures) et la teneur en chlorophylle (indice SPAD). L'expérience a été conduite sous serre à l'institut Supérieur agronomique de Chott Mariem selon un dispositif en blocs aléatoires (n=3 répétitions par traitement) pendant une durée de 45 jours.

Après récolte, des échantillons de sol ont été prélevés à partir de chaque pot, y compris le témoin pour analyser les teneurs en N, P, K, Mg, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn.

2.3.Potentiel méthanogène des microalgues

2.3.1. Description du dispositif expérimental

Le potentiel méthanogène des algues produites par le CAHR a été évalué via des tests de potentiel méthanogène biochimique (BMP ou Biochemical Methane Potential) pour déterminer leur capacité à produire du méthane par digestion anaérobie. Des mélanges de substrat composés d'algues fraiches du CAHR et d'inoculum de boues digérées issues d'un

réacteur anaérobie industriel ont été incubés à 37°C pendant 54 jours dans un bain marie thermostaté, avec agitation manuelle quotidienne pour éviter tout dépôt. Le dispositif expérimental illustré dans la Fig. 2 comprend trois flacons de 500 ml (300 ml de volume utile) : (1) un flacon contenant le mélange algues-inoculum pour la mesure de la production totale de biogaz, (2) un flacon témoin avec uniquement l'inoculum pour quantifier la production endogène, et (3) un dernier flacon contenant le mélange algues-inoculum pour mesurer le volume de méthane produit. Le dispositif comprend également un système de piégeage de CO_2 utilisant une solution de NaOH de molarité 10 M et d'un dispositif de mesure du biogaz par déplacement de liquide dans une éprouvette graduée, permettant ainsi une caractérisation de la production gazeuse.

que la concentration finale en matière volatile (MV) du mélange soit de 20 g /l comme recommandé par (Vrieze et al. 2015). Après remplissage des flacons, ces derniers ont été purgés à l'azote liquide pour chasser l'air et favoriser l'anaérobiose.

Afin d'évaluer l'effet du prétraitement thermique des algues sur le potentiel méthanogène, deux tests BMP ont été réalisés dans les mêmes conditions (rapport substrat/inoculum, température et durée de suivi). Le premier essai a porté sur des algues sèches utilisées à l'état brut sans aucun prétraitement, tandis que le second a concerné des algues ayant subi un prétraitement par séchage dans une étuve réglée à 70°C pendant une durée de 2 heures.

La production de biogaz (ml) a été déterminée tous les jours par lecture directe de déplacement

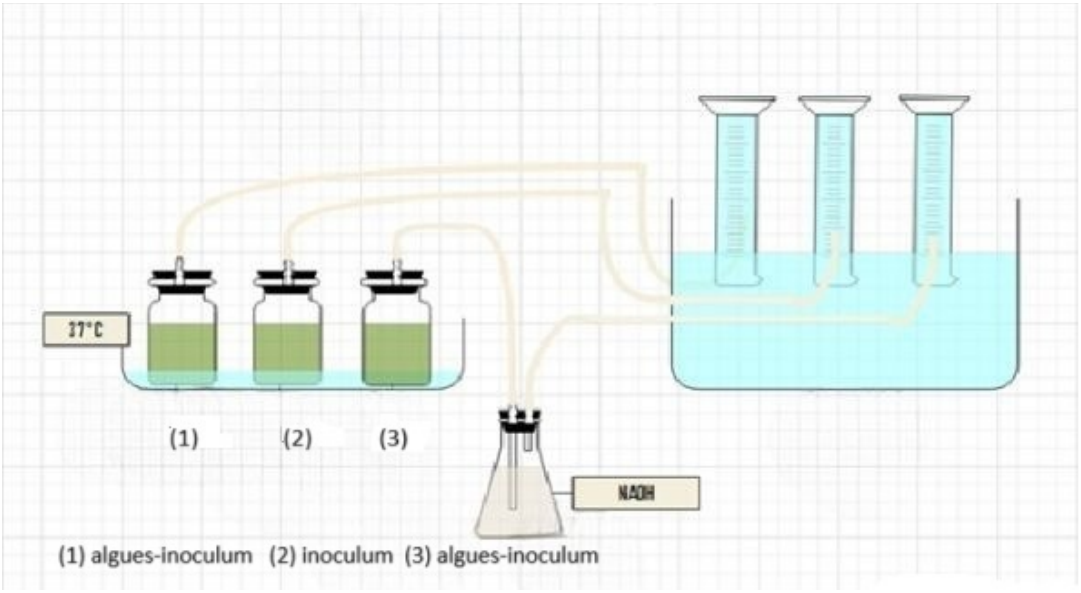

Fig. 2. Dispositif expérimental du test BMP

Fig. 2. Experimental design for BMP test

2.3.2. Mise en œuvre des essais

Des échantillons d'algues et d'inoculum ont été préalablement analysés en termes de matière sèche (MS), matière volatile (MV), et demande chimique en oxygène (DCO) avant le démarrage du test BMP. Les teneurs en MS, MV et DCO dans les algues sont respectivement de : 19,92 g/L, 17,30 g/L et 23,78 g/L. Les teneurs en (MS) et (MV) sont respectivement de 81,4 g/L et 43,3g/L pour l'inoculum. Un rapport substrat/inoculum de 0,5 g DCO/g MV défini par Passos et al. (2013) a été utilisé. La quantité d'inoculum introduite dans chaque flacon a été estimée de manière à ce

du liquide dans l'éprouvette graduée. La production nette de méthane (CH_4) exprimée dans les conditions standards de température et de pression (0°C, 1 atm) ont été obtenues en soustrayant la production endogène du flacon témoin (2) contenant uniquement l'inoculum à la production du flacon contenant le mélange algues-inoculum (1). La production spécifique de méthane exprimée en ml CH_4/ g MV est le rapport entre la production nette de méthane et la quantité de matière volatile (MV) introduite.

2.3.3. Analyses statistiques

L'analyse statistique des résultats de cette étude a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS 20. Les

comparaisons de moyennes ont été effectuées par le test de Duncan et une analyse de variance (ANOVA). Les différences ont été considérées comme statistiquement significatives pour un seuil de 5% ($p < 0,05$). Les données sont exprimées sous forme de moyenne ± écart-type.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Caractérisation des microalgues

La caractérisation chimique de la biomasse algale (tableau 1), principalement constituée des genres *Scenedesmus* sp. et *Chlorella* sp met en évidence une richesse notable en éléments minéraux, avec une prédominance marquée de l'azote (5,14 % de la matière sèche) suivi du calcium (3,88 %). La composition comprend également d'autres macronutriments essentiels tels que le phosphore et le potassium ainsi que des micronutriments importants, notamment le magnésium (0,80 %), le soufre (0,55 %) et le fer (0,15 %).

Ces résultats sont comparables avec ceux rapportés par Gonzalez et al. (2022), qui ont étudié des microalgues cultivées dans des eaux usées municipales (N : 7,6 % ; Ca : 5,99 % ; Mg : 0,42 % ; S : 0,86 %) et ceux de Castro et al. 2020 concernant la biomasse algale issue d'effluents agroalimentaires (N : 5,59 % ; P : 1,18% ; K : 0.14% ; Ca : 9,76 % ; Mg : 0,36 % ; S : 0,95 %). Cependant, les écarts observés entre les différentes études peuvent être attribués à plusieurs facteurs tels que : les conditions de culture des algues, la composition physico-chimique des eaux usées utilisées comme substrat de culture ainsi que les spécificités propres à chaque souche algale.

Les analyses des teneurs en métaux lourds contenues dans les microalgues ont été comparées aux limites prescrites par le règlement UE 2019/1009 établissant les règles relatives à la mise à disposition sur le marché des fertilisants UE ainsi que la norme tunisienne NT 10.44 relative aux amendements d'origine animale et/ou végétale (tableau 2). La biomasse présente des concentrations globalement inférieures aux limites fixées par la norme tunisienne NT 10.44 et le règlement européen 2019/1009. Cependant, des variations sont observées, notamment pour le chrome, dont la teneur (9,99 mg/kg) dépasse la limite européenne fixée à 2 mg/kg mais restant bien en dessous du seuil de la norme tunisienne (120 mg/kg). Cette divergence normative souligne l'importance du contexte réglementaire dans l'évaluation des biofertilisants. Les travaux de Keffala et al. (2025) sur une station pilote de traitement des eaux usées (campus de Chott Mariem) utilisant un chenal algal à haut rendement comme traitement secondaire a révélé des teneurs en chrome dans la biomasse algale de 5,26 mg/kg MS dépassant la norme UE 2019/1009 (2 mg/kg MS), malgré une concentration initiale modérée dans l'eau brute (2,19 mg/L). Les microalgues présentent une capacité remarquable à éliminer les métaux lourds des eaux usées grâce à divers mécanismes. Leur potentiel d'absorption étudié sur des eaux usées synthétiques varie significativement selon les espèces : 13,5–44,5 mg/g MS pour le cadmium, 226–333 mg/g MS pour le chrome et 9,2–15,1 mg/g MS pour le mercure (Markou et al. 2018).

L'ensemble des éléments analysés (Cd, Pb, Hg, As, etc.) respectent les normes en vigueur. Les teneurs particulièrement faibles en mercure (0,05 mg/kg) et cadmium (0,17 mg/kg) confirment l'innocuité de cette biomasse, tandis que les concentrations en zinc (88,71 mg/kg) et cuivre (27,32 mg/kg), bien que plus élevées, restent largement inférieures aux seuils

Tableau 1. Comparaison des teneurs en nutriments des microalgues cultivées en eaux usées avec des valeurs de la littérature.
Table 1. Comparison of nutrient contents in microalgae cultivated in wastewater with values reported in the literature.

	Cette étude	Castro et al. (2020)	Gonzalez et al. (2022)
Azote Kjeldahl (%)	5,14±1,1	5,59	7,60
Phosphore (%)	1,30±0,4	1,18	1,60
Calcium (Ca) (%)	3,88±0,6	9,76	5,99
Soufre (S) (%)	0,55±0,08	0,95	0,86
Fer (Fe) (%)	0,15±0,05	-	0,46
Magnesium (Mg) (%)	0,80±0,12	0,36	0,42
Potassium (K) (%)	0,55±0.09	0,14	-

Les résultats sont exprimés en moyennes ± écart-type, avec n=3.

autorisés. Ces résultats suggèrent que la biomasse étudiée présente un profil chimique adapté à une utilisation comme biofertilisant, conformément à la réglementation tunisienne. Néanmoins, pour une conformité totale avec les standards européens, une attention particulière devrait cependant être portée sur la teneur en chrome, dont l'origine mériterait d'être investiguée pour d'éventuelles optimisations.

42,3% pour K. Ces résultats suggèrent que l'incorporation de la biomasse algale peut augmenter la teneur des nutriments dans le sol avec un effet dose-dépendant particulièrement marqué pour le phosphore. Ces résultats corroborent avec ceux rapportés par Pietrzak et Urbaniak (2024) qui ont montré que l'incorporation de *Chlorella vulgaris* dans les sols agricoles entraine une augmentation

Tableau 2. Teneurs en métaux lourds (mg/ kg MS) de la biomasse algale comparées avec la norme tunisienne relative aux amendements d'origine animale et/ou végétale NT 10.44 (2013) et le règlement UE 2019/1009 .
Table 2. Heavy metal contents (mg/kg DW) in algal biomass compared with the Tunisian standard NT 10.44 (2013) for amendments of animal and/or plant origin and the EU Regulation (EU) 2019/1009.

Elément	Microalgues mg/kg MS	UE 2019/1009 mg/kg MS	NT10.44 mg/kg MS
Cr	9,99±1,05	2,00	120
Co	2,40±0.8	*Pas de valeurs limites*	*Pas de valeurs limites*
Ni	5,38±1,4	50,00	60
Cu	27,32±11	600,00	300
Zn	88,71±7	1500,00	600
Se	1,32±0,8	*Pas de valeurs limites*	12
Cd	0,17±0,05	3,00	3
Hg	0,05±0,04	1,00	2
Pb	25,67±2	120,00	180
As	1,61±1	40,00	18

Les résultats sont exprimés en moyennes ± écart-type, avec n=3.

3.2.Effet de l'ajout d'extrait d'algues sur les propriétés chimiques du sol

Le tableau 3 présente les teneurs moyennes en micronutriments et macronutriments des sols analysés à la fin des essais agronomiques après ajout de l'extrait algale à différentes concentrations. Les résultats montrent que les traitements à 20 et 40 g/L ont entrainé globalement une augmentation significative des teneurs en nutriments dans le sol par rapport au témoin, à l'exception du cuivre et du fer. L'application d'extraits d'algues à 10, 20 et 40 g/L n'a pas induit une variation significative des concentrations en cuivre dans les sols analysés. En revanche, une différence significative de la teneur en fer n'a été observée que pour le traitement à 40 g/L.

Dans le cas de NPK, le traitement à 20 g/L a entrainé des augmentations de 38% pour N, 101,8% pour P et 48.6% pour K. Ces observations ont été plus marquées pour le traitement à 40 g/L avec des augmentations atteignant 55,4% pour N, 132,7% pour P et

significative de la concentration de l'azote total et une réduction du lessivage des nitrates et du potassium. En effet, les algues peuvent assimiler et stocker différentes formes d'azote telles que les nitrates (NO_3^-), l'ammonium (NH_4^+) et les nitrites (NO_2^-). Ces éléments sont ensuite relargués progressivement dans le sol (Taha et Youssef, 2015). Parallèlement, l'utilisation de *C.* vulgaris a permis également d'améliorer la biodisponibilité du phosphore assimilable par les plantes. En présence d'ions calcium (Ca^{2+}), le phosphore libéré par la minéralisation de la biomasse algale peut être stabilisé dans des formes moins mobiles, réduisant ainsi les pertes par lessivage. Ce mécanisme contribue à maintenir une meilleure efficience de l'utilisation du phosphore, un élément souvent limitant en agriculture (Nichols et al. 2020 ; Gougoulias et al. 2018). Ainsi, l'apport de microalgues comme C. vulgaris ne se limite pas à un simple enrichissement du sol en nutriments, mais permet également d'optimiser leur disponibilité tout en limitant leur lessivage vers les compartiments environnementaux sensibles.

Tableau 3. Effet de l'extrait d'algues appliqué à 10, 20 et 40 g/l sur les teneurs en éléments nutritifs du sol, en comparaison avec un sol témoin irrigué à l'eau du robinet.
Table 3. Effect of algal extract applied at 10, 20, and 40 g/L on soil nutrient contents compared to the control (soil irrigated with tap water).

	Témoin	10 g/L	20 g/L	40 g/L
Mg	124,54±11,8^{a}	148,84±7,91^{b}	159,34±6,52^{b}	157,52±1,89^{b}
K	109,68±15,04^{a}	147,07±13,98^{b}	162,94±6,17^{b}	156,09±2,8^{b}
Ca	1924,94±24,05^{a}	2096,79±73,41^{b}	2056,74±47^{b}	2205,21±48,53^{c}
Mn	5,58 ±0,2^{a}	5,35± 0,39^{a}	6,04 ±0,58^{ab}	6,33 ±0,16^{b}
Fe	71,43± 15,42^{a}	83,09± 10,14^{a}	81,78 ±15,03^{a}	128,47 ±7,13^{b}
Cu	1,20 ±0,17^{a}	1,49± 0,36^{a}	1,33± 0,12^{a}	1,41 ±0,13^{a}
Zn	4,07± 0,12^{a}	6,55± 0,64^{b}	6,61 ±1,11^{b}	5,78 ±0,58^{b}
N	609,33± 33,61^{a}	617,33 ±50,01^{a}	840,67 ±72,95^{b}	947±139,37^{b}
P	18,33± 1,53^{a}	24,33 ±1,15^{a}	29 ±2^{b}	30 ±2,65^{b}

Les résultats sont exprimés en moyennes ± écart-type, avec n=3.

Dans le cas de cette étude, des concentrations élevées en fer (jusqu'à 128,47 mg/kg MS) ont été enregistrées, suggérant un potentiel intéressant des extraits d'algues pour corriger les carences en oligo-éléments tel que le fer. Ce micronutriment est crucial pour les processus de la photosynthèse et la respiration cellulaire.

Cependant, les teneurs en fer dans le sol, aussi bien pour le témoin que pour les différents traitements varient entre 71,43 (témoin) et 128,47 mg/kg MS (traitement 40 g/L), excédant ainsi la plage généralement considérée comme optimale pour les sols agricoles, qui se situe entre 10 et 50 mg/kg MS (Mengel et al. 2001). Une différence significative comparée au témoin a été observée uniquement pour le traitement à 40 g/L. Bien que l'extrait algal ait contribué à cette augmentation, la teneur initiale élevée du sol témoin suggère une particularité locale. L'augmentation de la teneur en fer peut être bénéfique à court terme pour des sols déficients, néanmoins la gestion à long terme de ce micronutriment pourrait être problématique. Des apports répétés sans suivi agronomique adéquat pourraient conduire à une accumulation excessive, susceptible d'induire des déséquilibres nutritionnels pour les plantes (compétition avec le manganèse, le zinc ou le cuivre) ou de poser des risques écotoxicologiques, notamment dans les sols à faible capacité de rétention ou à pH acide. Ces résultats soulignent l'importance de caractériser préalablement le statut pédogéochimique des sols avant tout amendement algal intensif (Ryan et al. 2013) et de coupler l'utilisation de biofertilisants riches en oligo-éléments à un suivi régulier des teneurs en micronutriments dans le sol. Des études à plus long terme de l'utilisation des biofertilisants algales seraient nécessaires pour évaluer durablement leurs impacts.

3.3. Potentiel biofertilisant de l'extrait algal sur la culture de l'orge

Les Fig. 3a et 3b montrent l'effet des extraits d'algues sur la croissance de l'orge à différentes concentrations (10, 20 et 40 g/L). Les résultats révèlent que les concentrations de 10 et 20 g/L améliorent significativement les paramètres de croissance (longueur des parties aériennes et racinaires, et poids sec) par rapport au témoin, avec une efficacité optimale à 20 g/L. À cette concentration, on observe une augmentation de 34% du poids sec atteignant 0,44 g/plante comparé à 0,33 g/plante pour le témoin, de 39,13 % de la longueur des parties aériennes (46,1 cm contre 33,2 cm chez le témoin) et de 47,8 % du système racinaire (35,9 cm contre 24,3 cm pour le témoin). En revanche, le traitement appliqué à la concentration la plus élevée à 40 g/L ne présente pas d'effet significatif, une stimulation à 8% pour les parties aériennes et à 13% pour les racines a été notée. Ces résultats suggèrent une relation dose-réponse non linéaire, où la concentration de 20 g/L représente le seuil optimal pour la stimulation de croissance. Cependant, une diminution relative de la stimulation est observée à 40 g/L, traduisant un effet de saturation où l'augmentation de la dose n'entraîne plus un accroissement de la réponse, bien que la stimulation reste supérieure à celle du témoin. Cette étude met ainsi en évidence l'effet bénéfique des algues pour améliorer la croissance des parties aériennes et racinaires mais aussi souligne l'importance d'optimiser la concentration des extraits algaux pour

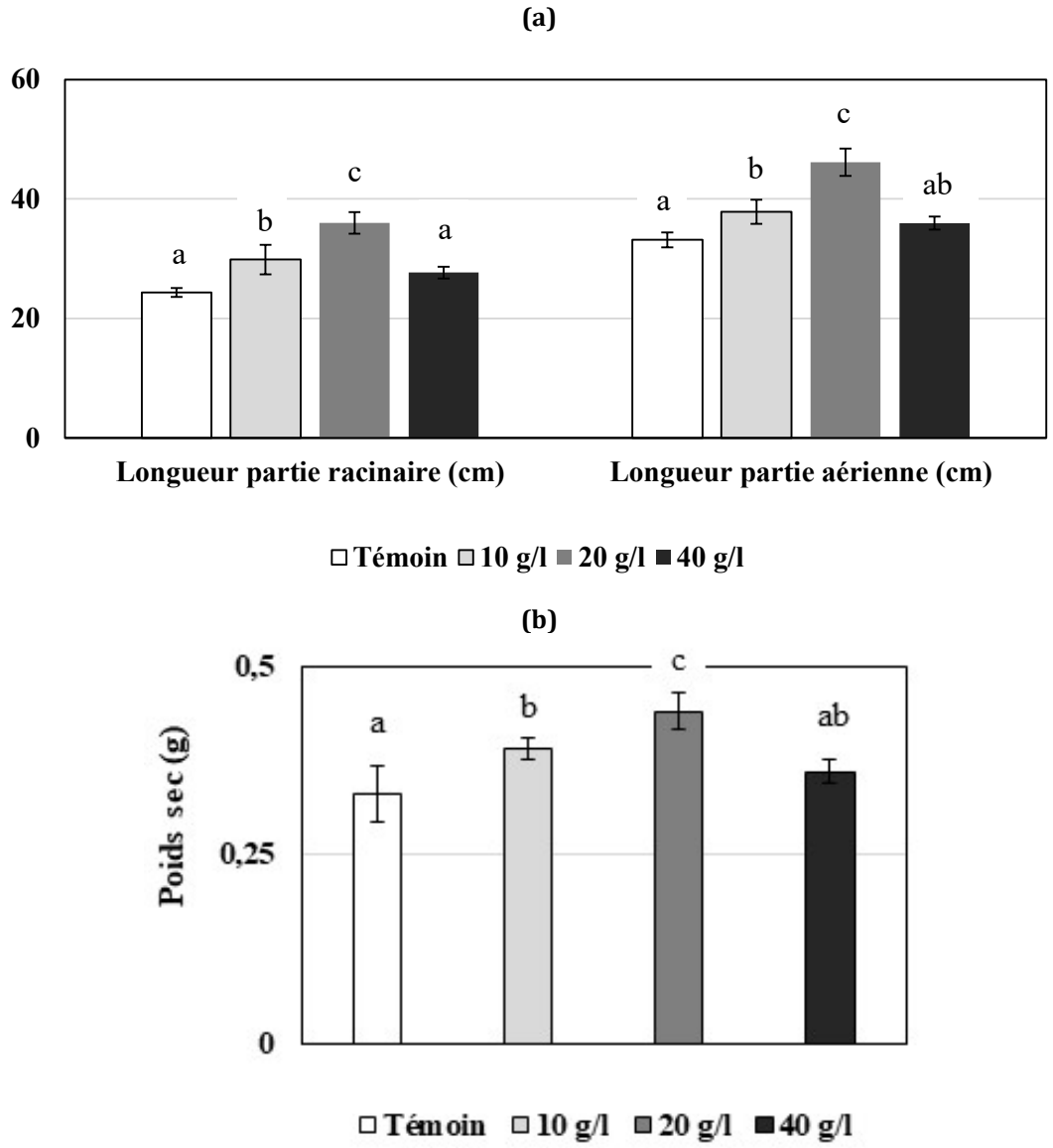

Fig. 3. Effet de différentes concentrations d'extrait aqueux d'algues sur la croissance (longueur racines et parties aériennes (a), poids sec (b)) de *Hordeum vulgare* L. en culture en pots. Les pots irrigués à l'eau de robinet servent de témoin.

Les différentes lettres sur les colonnes indiquent des différences significatives entre les concentrations à p<0.05 (test de Duncan). Les valeurs sont la moyenne de trois mesures ± écart-type

Fig. 3. Effect of different concentrations of algal aqueous extract on the growth (root and shoot length (a), dry weight (b)) of Hordeum vulgare L. grown in pots. Pots irrigated with tap water served as controls.

Different letters on the columns indicate significant differences between concentrations at p < 0.05 (Duncan's test). Values represent the mean of three replicates ± standard deviation.

maximiser leur efficacité en tant que biofertilisants. Dans la littérature plusieurs études ont révélé l'efficacité des biofertilisants à base de microalgues en fonction de plusieurs facteurs clés tels que : l'espèce végétale cible, l'espèce de microalgues utilisé et la méthode d'application employée. L'étude de Sharma et al. (2021) a évalué l'efficacité d'une fertilisation algale comparée aux engrais minéraux conventionnels sur la production d'épinards. Ces résultats ont montré que l'apport de la dose recommandée d'azote sous forme de biomasse algale par application directe comme amendement permet d'obtenir des rendements équivalents à ceux de la fertilisation minérale standard. Par ailleurs, l'utilisation de *Chlorella Vulgaris* (algue verte) cultivée sous lumière continue comme amendement du sol a permis d'améliorer la croissance, le rendement, les teneurs en composants biochimiques et minéraux, ainsi que la capacité germinative des graines de maïs (Dineshkumar et al. 2019). De

même, *Haematococcus Pluvialis* (algue verte) utilisée en milieu liquide et appliquée par imbibition de graines a permis d'améliorer et de protéger les cultures du palmier dattier (Sani et al. 2022). L'extrait aqueux de l'algue verte *Acutodesmus dimorphus*, appliqué selon deux méthodes distinctes : la pulvérisation foliaire et l'imbibition des semences a démontré des effets bénéfiques sur la culture de tomates. Ces applications ont permis d'améliorer simultanément plusieurs paramètres agronomiques : le taux de germination des graines, la croissance des plants, et la productivité en fruits (Garcia-Gonzalez et Sommerfeld, 2016 ; Sani et al. 2022). Ces résultats mettent en évidence la polyvalence d'application de ce biostimulant algal, efficace aussi bien en traitement des semences qu'en application foliaire.

Une approche innovante récemment étudiée consiste à ajouter de la matière organique en particulier la biomasse algale aux engrais chimiques (Castro et al. 2020 ; Gonzalez et al. 2022). La matière organique algale influence doublement la dynamique du phosphore (P) dans le sol : d'une part, son caractère anionique favorise la rétention du P via des cations comme Al, Fe et Ca, et d'autre part, elle peut inhiber l'adsorption du P en bloquant les sites actifs du sol (Novais et al. 2007). Une étude récente sur le basilic (Gonzalez et al. 2022) a révélé que l'association entre engrais minéraux et biomasse algale entraînait de meilleures performances de croissance que l'utilisation exclusive d'engrais inorganiques. Selon ces auteurs, ces résultats pourraient être liés à plusieurs mécanismes complémentaires : la réduction des pertes de P par fixation au sol, la libération progressive de nutriments par les microalgues, et l'apport de composés bioactifs stimulant la croissance végétale. Ces travaux soulignent le potentiel des combinaisons engrais-microalgues pour une fertilisation plus efficace.

L'analyse de la chlorophylle dans les plants d'orge révèle des résultats concordants avec ceux mesurés pour la longueur des parties racinaire et aérienne, avec un meilleur rendement pour la dose de 20 g/L (Fig. 4). La concentration moyenne en chlorophylle est significativement plus élevée ($p<0,05$) que celle du témoin ainsi que des traitements à 10 et 40 g/L. Les pourcentages de stimulation sont de 20, 44,7 et 10,5 % respectivement pour les traitements 10, 20 et 40 g/L. Cette augmentation pourrait être expliquée par une meilleure assimilation d'azote lié à un meilleur développement racinaire. Garcia-Gonzalez et Sommerfeld (2016) ont établi un lien entre la concentration de microalgues et l'augmentation du nombre de racines latérales, améliorant ainsi l'absorption des nutriments. D'autre part, les microalgues sont une source de biostimulants capables d'augmenter la teneur en chlorophylle en stimulant sa biosynthèse et en limitant sa

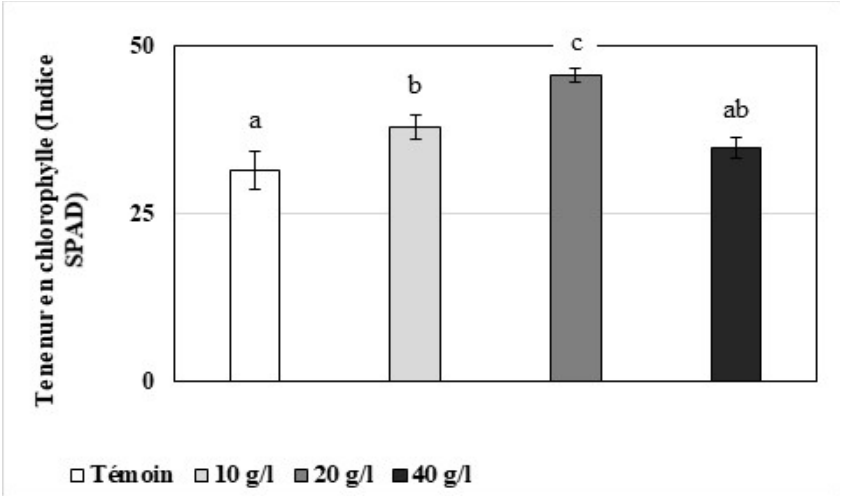

Fig. 4. Effet de l'extrait algal sur la teneur en chlorophylle (Indice SPAD) de *Hordeum vulgare* L. en culture en pots. Les pots irrigués à l'eau de robinet servent de témoin.
Les différentes lettres sur les colonnes indiquent des différences significatives entre les concentrations à p<0.05 (test de Duncan). Les valeurs sont la moyenne de trois mesures ± écart-type.

Fig. 4. Effect of algal extract on chlorophyll content (SPAD index) of *Hordeum vulgare* L. grown in pots. Pots irrigated with tap water served as controls.
Different letters on the columns indicate significant differences between concentrations at p < 0.05 (Duncan's test). Values represent the mean of three replicates ± standard deviation.

dégradation (Kapoore et al. 2021). Des extraits de microalgues peuvent également modifier l'expression des gènes impliqués dans les métabolismes primaire et secondaire des plantes, optimisant ainsi leur capacité d'assimilation nutritionnelle (Barone et al. 2018).

En revanche, la teneur en chlorophylle des plantes d'orge traitées à 40 g/L est significativement plus faible que celle observée chez les plantes traitées à 10 et 20 g/L, mais elle demeure supérieure à celle du témoin. Il apparaît que la dose de 40 g/L induit un effet de saturation, se traduisant par une atténuation de la stimulation des paramètres de croissance. Cette diminution de la stimulation pourrait être attribuée à la composition des algues en acides organiques et en métaux lourds, provoquant un stress oxydatif chez la plante. Par ailleurs, un apport excessif en azote organique ou en micronutriments peut en effet perturber l'absorption d'autres nutriments essentiels.

Cependant, au regard de la composition chimique des microalgues utilisées dans cette étude, les métaux lourds ne semblent pas être à l'origine de l'atténuation de la stimulation des paramètres de croissance observée pour la concentration de 40 g/L, en revanche, compte tenu des caractéristiques chimiques du sol (tableau 3) analysés après 45 jours pour les différents traitements, la teneur élevée en Fe pourrait être à l'origine de cette réduction. Des travaux récents ont par ailleurs démontré que les matières organiques d'origine algale peuvent complexer le fer sous des formes moins phytotoxiques que les sels minéraux (Nakiguli et al. 2018). Cette propriété pourrait expliquer l'absence de symptômes de phytotoxicité observée dans notre étude, bien qu'un suivi à plus long terme soit nécessaire pour confirmer cette hypothèse.

Les résultats de cette étude suggèrent que les extraits de microalgues semblent jouer un rôle bénéfique dans l'efficacité photosynthétique et la croissance des plantes. En plus de leur rôle fertilisant, ils agissent comme des biostimulants végétaux compte tenu de leur composition en régulateurs de croissance, notamment les auxines, les gibbérellines, les cytokinines, les bétaïnes, ainsi que des macro et micronutriments essentiels (Blunden et al. 1991). Cependant, l'efficacité du biofertilisant est variable en fonction de la dose appliquée. Des études approfondies s'avèrent nécessaires afin de mieux comprendre les mécanismes d'action des fertilisants à base de microalgues issues des eaux usées urbaines, ainsi que pour déterminer les seuils critiques propres à chaque espèce végétale.

3.4. Potentiel méthanogène des microalgues

L'utilisation des microalgues pour le traitement des eaux usées couplé à la production de biogaz représente une approche prometteuse en économie circulaire. Dans le cadre de cette étude, des tests de BMP ont été effectués afin d'évaluer la capacité de production de méthane par les algues cultivées dans des eaux usées mais aussi d'étudier l'effet du prétraitement sur la biodégradabilité de la biomasse et par conséquent sur la capacité de produire du méthane.

La production spécifique de méthane correspond au volume net de méthane produit par gramme de matière volatile d'algues (mL CH_4/g MV) après 54 jours d'incubation. La figure 5 illustre l'évolution de cette production, calculée dans des conditions standard, pour des microalgues soumises à un prétraitement thermique (2 h à 70 °C) et pour des algues non traitées. Le potentiel méthanogène des algues non traitées obtenu dans cette étude (279,6 mL CH_4/g MV) se situe dans la plage des valeurs rapportées dans la littérature. Par exemple, Mussgnug et al. (2010) ont mesuré des potentiels (BMP) de 217 et 177 mL CH_4/g MV respectivement pour des souches de *Chlorella* et *Scenedesmus* après 32 jours d'incubation à 38°C. Des résultats comparables ont été observés par Gutiérrez et al. (2015) qui ont reporté une production de 163 mL CH_4/g MV à partir d'un mélange d'algues incubé à 35°C pendant 55 jours, tandis que Córdova et al. (2017) ont obtenu un taux de 317,7 mL CH_4/g MV pour une souche de *Chlorella* après 34 jours d'incubation à 37°C. Ces études révèlent des variations significatives du taux de production de méthane entre les différentes souches algales, confirmant que le potentiel méthanogène constitue une propriété intrinsèque spécifique à chaque espèce. Par ailleurs, comme le soulignent Mussgnug et al. (2010), la classification taxonomique des microalgues ne permet pas de prédire leur aptitude à la méthanisation, ce qui suggère l'influence d'autres facteurs sur le taux de production.

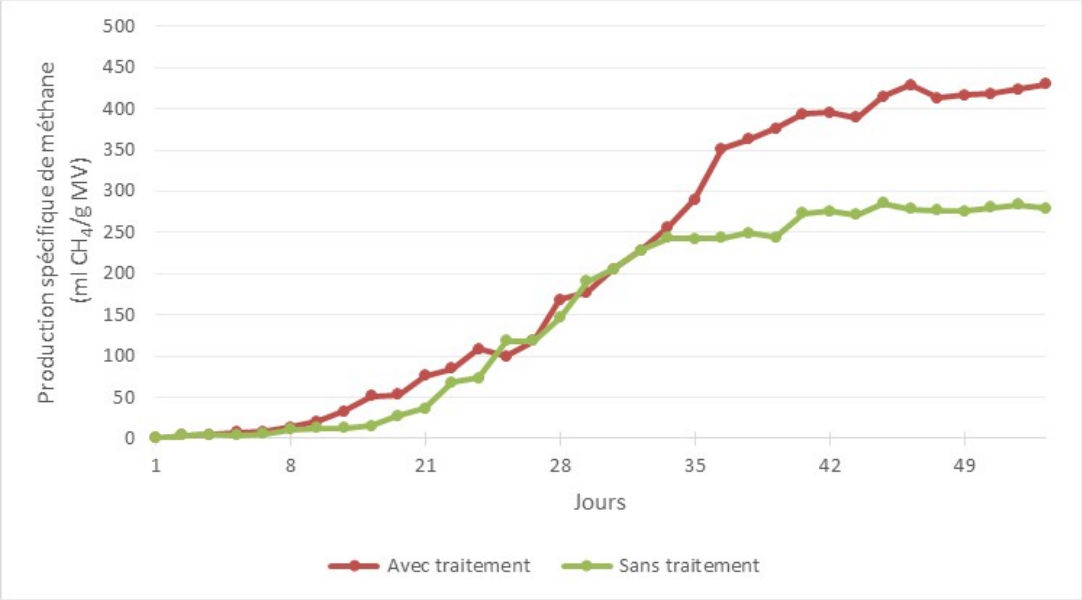

Fig. 5. Production spécifique de méthane des algues prétraitées et non prétraitées.
Fig. 5. Specific methane yield of pretreated and untreated algae.

D'autre part, l'analyse de la production spécifique de méthane révèle que le prétraitement améliore le rendement méthanogène. Les valeurs obtenues s'élèvent à 430,08 mL CH_4/g MV pour les microalgues prétraitées contre 279,6 mL CH_4/g MV pour les microalgues non traitées, soit une augmentation de 53 % du potentiel de production.

Par ailleurs, l'examen du profil de la courbe durant les onze premiers jours de digestion montre que la production de méthane par les algues non traitées semble être inhibée, probablement en raison de leur nature physico-chimique. Ces résultats suggèrent que le traitement thermique pourrait améliorer à la fois le temps d'initiation du processus de digestion anaérobie mais aussi l'accessibilité des bactéries hydrolytiques à la matière organique contenue dans les algues. En effet, la structure et la composition de la paroi cellulaire des microalgues limitent leur biodégradabilité anaérobie, ce qui peut entraver la production de biogaz et constitue donc un frein pour ce procédé (González-Fernández et al. 2018 ; González-Fernández et al. 2012).

Dans la littérature, les résultats concernant l'effet du traitement thermique sur la fermentation méthanogène sont contrastés. Certaines études ont révélé un effet négatif du séchage de la biomasse algale (*Chlamydomonas reinhardtii*) sur la production de biogaz, avec une réduction de 20 % du potentiel méthanogène, probablement liée à la perte de composés organiques volatils à haut potentiel fermentescible lors du séchage (Mussgnug et al. 2010). Cette algue (*Chlamydomonas reinhardtii*) possède une paroi protéique dépourvue de cellulose et d'hémicellulose, elle fait partie des espèces facilement biodégradables. À l'inverse, dans le cas de *Chlorella sorokiniana* dont la paroi est riche en polysaccharides et donc constitue une barrière à la biodégradation, un prétraitement thermique modéré (60-80°C) a permis d'augmenter la production de méthane de 15 à 25% (Córdova et al. 2017). En revanche, une hydrolyse thermique de *Chlorella sorokiniana* par autoclave (100–132°C) a entrainé des rendements en méthane inférieurs, probablement en raison de la production de composés inhibiteurs affectant la biocénose bactérienne du fermenteur (Schlüter et al. 2008). Ometto et al. (2014), qui ont évalué l'effet d'un traitement thermique plus intense (165°C, 7 bars, 30 min), ont quant à eux observé une augmentation de 107 % de la production de méthane. Ces observations soulignent l'importance d'adapter les stratégies de prétraitement à la composition biochimique spécifique de chaque souche algale, en privilégiant soit la méthanisation directe de biomasse humide pour les espèces fragiles, soit des prétraitements thermiques à faible température 60 à 80 °C ou enzymatiques pour les microalgues à paroi rigide, afin d'optimiser le rendement énergétique global du procédé.

En conclusion, le potentiel méthanogène des microalgues dépend de plusieurs facteurs, notamment l'espèce et la composition

biochimique des algues, leurs conditions de culture, les prétraitements appliqués avant la digestion anaérobie mais aussi la communauté microbienne. Par conséquent, une évaluation expérimentale systématique de ce potentiel s'avère indispensable pour envisager une valorisation énergétique à grande échelle par production de méthane. Enfin, l'optimisation des prétraitements visant à maximiser la production de biogaz doit également prendre en compte des critères de viabilité énergétique et économique.

Toutefois, la viabilité économique de ces procédés demeure conditionnée par le coût énergétique associé au chauffage. Par ailleurs, bien que certains traitements thermiques intenses puissent, selon la littérature, doubler le rendement méthanogène, leur application doit être envisagée avec prudence. En effet, ces procédés peuvent entraîner un impact environnemental significatif, lié notamment aux émissions générées lors de la production de chaleur et à la formation éventuelle de sous-produits toxiques nécessitant une gestion spécifique.

Ainsi, un équilibre entre performance énergétique, coût opérationnel et impact environnemental doit être recherché, en privilégiant les procédés à faible intensité énergétique (60 à 80°C) ou la valorisation couplée (exemple avec la cogénération) pour assurer la durabilité du processus de méthanisation des biomasses algales.

4. CONCLUSION

Cette étude met en évidence le double potentiel des microalgues cultivées sur des eaux usées urbaines tunisiennes, à la fois comme biofertilisants et comme substrats pour la production de méthane. Leur composition chimique est globalement conforme aux normes tunisiennes, bien que certains éléments, comme le chrome, dépassent les seuils européens, soulignant la nécessité d'un suivi de la qualité de la biomasse.

Sur le plan agronomique, l'application d'extraits aqueux d'algues à 20 g/L a significativement amélioré la croissance de l'orge, la teneur en chlorophylle et les concentrations en N, P et K dans le sol, grâce à la richesse minérale et aux composés bioactifs des algues. Cependant, une optimisation des doses est indispensable pour éviter leur surdosage.

Sur le plan énergétique, un prétraitement thermique modéré de la biomasse a permis d'augmenter la production spécifique de méthane de 53 %, confirmant l'intérêt des prétraitements pour améliorer les rendements de biogaz, sous réserve d'une analyse coûts/bénéfices.

En conclusion, la valorisation des microalgues issues de milieux contaminés représente une stratégie prometteuse pour l'agriculture durable et la production d'énergie, à condition de maîtriser les risques liés aux contaminants et de poursuivre les recherches sur leur comportement à long terme dans les sols et les cultures

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la Wallonie Bruxelles International (WBI) pour le soutien financier apporté tout au long de cette étude et lui témoignent leur vive reconnaissance pour sa confiance. Nos sincères remerciements vont également à l'équipe de recherche SPHERES pour son assistance précieuse et sa contribution aux analyses des échantillons.

REFERENCES

Abideen, Z., Waqif, H., Munir, N., El-Keblawy, A., Hasnain, M., Radicetti, E., Mancinelli, R., Nielsen, B. L., & Haider, G. (2022). Algal-mediated nanoparticles, phycochar, and biofertilizers for mitigating abiotic stresses in plants : a review. *Agronomy*, 12(8), 1788. https://doi.org/10.3390/agronomy12081788

Alvarez-González, A., Uggetti, E., Serrano, L., Gorchs, G., Ferrer, I., & Díez-Montero, R. (2022). Can microalgae grown in wastewater reduce the use of inorganic fertilizers?. *Journal of Environmental Management*, 323, 116224. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116224

Alzate, M. E., Muñoz, R., Rogalla, F., Fdz-Polanco, F., & Pérez-Elvira, S. I. (2012). Biochemical methane potential of microalgae: influence of substrate to inoculum ratio, biomass concentration and pretreatment. *Bioresource Technology*, 123, 488–494. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.06.113

APHA (Eds.). (2005). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st ed. American Public Health Association, Washington, DC.

Barone, V., Baglieri, A., Stevanato, P., Broccanello, C., Bertoldo, G., Bertaggia, M., Cagnin, M., Pizzeghello, D., Moliterni, V. M. C., Mandolino, G., Fornasier, F., Squartini, A., Nardi, S., & Concheri, G. (2018). Root morphological and

molecular responses induced by microalgae extracts in sugar beet (Beta vulgaris L.). Journal of Applied Phycology, 30, 1061–1071. https://doi.org/10.1007/s10811-017-1283-3

Blunden, G., Jenkins, T., & Liu, Y. W. (1996). Enhanced leaf chlorophyll levels in plants treated with seaweed extract. Journal of Applied Phycology, 8, 535–543. https://doi.org/10.1007/BF02186333

Bray, R. H., & Kurtz, L. T. (1945). Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science*, 59, 39–46.

Carrere, H., Antonopoulou, G., Affes, R., Passos, F., Battimelli, A., Lyberatos, G., & Ferrer, I. (2016). Review of feedstock pretreatment strategies for improved anaerobic digestion : from lab-scale research to full-scale application. *Bioresource Technology*, 199, 386–397. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.09.007

Castro, J. S., Calijuri, M. L., Mattiello, E. M., Ribeiro, V. J., & Assemany, P. P. (2020). Algal biomass from wastewater: soil phosphorus bioavailability and plant productivity. *Science of the Total Environment*, 711, 135088. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135088

Coppens, J., Grunert, O., Van Den Hende, S., Vanhoutte, I., Boon, N., Haesaert, G., & De Gelder, L. (2016). The use of microalgae as a high-value organic slow-release fertilizer results in tomatoes with increased carotenoid and sugar levels. *Journal of Applied Phycology*, 28, 2367–2377. https://doi.org/10.1007/s10811-015-0775-2

Córdova, O., Passos, F., & Chamy, R. (2018). Physical pretreatment methods for improving microalgae anaerobic biodegradability. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 185, 114–126.

De Vrieze, J., Raport, L., Willems, B., Verbrugge, S., Volcke, E., Meers, E., Angenent, L. T., & Boon, N. (2015). Inoculum selection influences the biochemical methane potential of agro-industrial substrates. *Microbial Biotechnology*, 8(5), 776–786. https://doi.org/10.1111/1751-7915.12268

Dineshkumar, R., Subramanian, J., Gopalsamy, J., Jayasingam, P., Arumugam, A., Kannadasan, S., & Sampathkumar, P. (2019). The impact of using microalgae as biofertilizer in maize (Zea mays L.). *Waste and Biomass Valorization*, 10, 1101–1110. https://doi.org/10.1007/s12649-017-0123-7

El-Moustaqim, K., El Bakraoui, H., Mabrouki, J., Fouad, Y., Slaoui, M., Hmouni, D., Benyeogor, M. S., & Igbigbi, T. L. (2023a). Combination of microalgae method, decantation, and filtration for domestic wastewater treatment. *Sustainability*, 15(22), 16110. https://doi.org/10.3390/su152216110

El-Moustaqim, K., Sbai, S. E., El Yousfi, Y., Mabrouki, J., & Hmouni, D. (2024). New strategy for the advancement of modern agriculture through the use of microalgae as biofertilizers. *Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration*, pp. 1–15.

European Regulation (EC) No 2019/1009 (2019). Regulation of the European Parliament and of the Council of 5 June 2019 laying down rules on the making available on the market of EU fertilising products and amending Regulations (EC) No 1069/2009 and (EC) No 1107/2009 and repealing Regulation (EC) No 2003/2003. Official Journal of the European Union, L 170.

Golueke, C. G., Oswald, W. J., & Gotaas, H. B. (1957). Anaerobic digestion of algae. *Applied Microbiology*, 5(1), 47–55.

González-Fernández, C., Sialve, B., Bernet, N., & Steyer, J. P. (2012). Impact of microalgae characteristics on their conversion to biofuel. Part I: focus on cultivation and biofuel production. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 6(3), 246–256. https://doi.org/10.1002/bbb

Gonzalez-Fernandez, C., Barreiro-Vescovo, S., de Godos, I., Fernandez, M., & Ballesteros, M. (2018). Biochemical methane potential of microalgae biomass using different microbial inocula. *Biotechnology for Biofuels*, 11, 1–11.

Gougoulias, N., Papapolymerou, G., Karayannis, V., Spiliotis, X., & Chouliaras, N. (2018). Effects of manure enriched with algae Chlorella vulgaris on soil chemical properties. *Soil and Water Research*, 13, 51–59. https://doi.org/10.17221/260/2016-SWR

Gutiérrez, R., Passos, F., Ferrer, I., Uggetti, E., & García, J. (2015). Harvesting microalgae from wastewater treatment systems with natural flocculants: effect on biomass settling and biogas production. *Algal Research*, 9, 204–211.

Hermadi, I., Setiadianto, I. R., Al Zahran, D. F., Simbolon, M. N., Saefurahman, G., Wibawa, D. S., & Arkeman, Y. (2021). Development of smart algae pond system for microalgae biomass production. *IOP Conference Series : Earth and Environmental Science*, 749(1), 012068.

INNORPI (2013). Norme tunisienne NT 10.44. Amendements organiques – Dénominations, spécifications et marquage. Édition juin 2013, Institut National de la Normalisation et de la Propriété Industrielle, 22 p.

Ivanova, J., Gigova, L., & Alexandrov, S. (2024). Successful practices for valorization of microalgal biomass for inclusion in circular economy. *South African Journal of Botany*, 175, 408–425. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.03.025

Kapoore, R. V., Wood, E. E., & Llewellyn, C. A. (2021). Algae biostimulants : a critical look at microalgal biostimulants for sustainable agricultural practices. *Biotechnology Advances*, 49, 107754. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107754

Keffala, C., Jmii, G., Mokhtar, A., Zouhir, F., Liady, N. D., Tychon, B., & Jupsin, H. (2025). Diagnosis and assessment of a combined oxylag and high rate algal pond (COHRAP) for sustainable water reuse: Case study of the university campus in Tunisia. *Water*, 17, 1326. https://doi.org/10.3390/w17091326

Li, X., Wu, J., Cheng, X., Cai, Z., Wang, Z., & Zhou, J. (2024). Biodegradable microplastics reduce the effectiveness of biofertilizers by altering rhizospheric microecological functions. *Journal of Environmental Management*, 352, 120071. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120071

Markou, G., Wang, L., Ye, J., & Unc, A. (2018). Using agro-industrial wastes for the cultivation of microalgae and duckweeds. contamination risks and biomass safety concerns. *Biotechnology Advances*, 36(4), 1238–1254. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.04.004

Mengel, K., Kirkby, E. A., Kosegarten, H. & Appel, T. (Eds.). (2001). Principles of Plant Nutrition (5e éd.). Dordrecht, Netherlands : Springer.

Morillas-España, A., Lafarga, T., Sánchez-Zurano, A., Acién-Fernández, F. G., & González-López, C. (2022). Microalgae-based wastewater treatment coupled to the production of high-value agricultural products: current needs and challenges. *Chemosphere*, 291, 132968. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132968

Mussgnug, J. H., Klassen, V., Schlüter, A., & Kruse, O. (2010). Microalgae as substrates for fermentative biogas production in a combined biorefinery concept. *Journal of Biotechnology*, 150(1), 51–56. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.07.030

Nakiguli, C. K., Namakula, B., Odda, J., Wasswa, J., & Ntambi, E. (2018). Heavy metal accumulation in maize (**Zea mays** L.) grown on chromated copper arsenate (CCA) contaminated soil amended with treated composted sewage biosolid. Journal of Environmental Protection**,** 9(11), 1196.

Navarro-López, E., Ruíz-Nieto, A., Ferreira, F. A., Acién, G., & Gouveia, L. (2020). Biostimulant potential of Scenedesmus obliquus grown in brewery wastewater. *Molecules*, 25(3), 664. https://doi.org/10.3390/molecules25030664

Nichols, K., Olson, M., & Ayers, A. D. (Eds.). (2020). Microalgae as a beneficial soil amendment. Arizona: MyLand Company LLC.

Novais, R. F., Smyth, T. J., & Nunes, F. N. (2007). *Fósforo*. In *Soil Fertility* ed. R. F. Novais, V. H. Alvarez, N. F. Barros, R. L. F. Fontes, R. B. Cantarutti, and J. C. L. Neves, 471-550. Viçosa: SBCS (pp. 471–550). Viçosa : SBCS.

Ometto, F., Quiroga, G., Psenicka, P., Whitton, R., Jefferson, B., & Villa, R. (2014). Impacts of microalgae pre-treatments for improved anaerobic digestion: thermal treatment, thermal hydrolysis, ultrasound and enzymatic hydrolysis. **Water Research**, 65, 350–361. https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.07.040

Passos, F., García, J., & Ferrer, I. (2013). Impact of low temperature pretreatment on the anaerobic digestion of microalgal biomass. *Bioresource Technology*, 138, 79–86. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.114

Pietrzak, S., & Urbaniak, M. (2024). Quantification of nitrates leaching from grassland soils in winter using the Burns model. *Journal of Water and Land Development*, 60, 39–49. https://doi.org/10.24425/jwld.2023.148458

Renuka, N., Prasanna, R., Sood, A., Bansal, R., Bidyarani, N., Singh, R., Shivay, Y. S., Nain, L., & Ahluwalia, A. S. (2017). Wastewater-grown microalgal biomass as inoculants for improving micronutrient availability in wheat. *Rhizosphere*, 3, 150–159. https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.04.005

Ryan, P., Forbes, H., & Rees, D. (2013). Soil fertility management in organic farming: The role of algae-based amendments. *Journal of Sustainable Agriculture*, 37(5), 542–560.

Sani, I., Kurnia, Y. W., Sinthya, H. C., Anthony, R., Situmorang, E. C., Utomo, C., & Liwang, T. (2022). Exploring the potency of microalgae-based biofertilizer and its impact on oil palm seedlings growth. *AGRIVITA Journal of Agricultural Science*, 44, 139–151. https://doi.org/10.17503/AGRIVITA.V44I1.3102

Savci, S. (2012). An agricultural pollutant: chemical fertilizer. *International Journal of Environmental Science and Development*, 3, 73-

80. https://doi.org/10.7763/IJESD.2012.V3.191

Schlüter, A., Bekel, T., Diaz, N. N., Dondrup, M., Eichenlaub, R., Gartemann, K. H., Krahn, I., Krause, L., Kromeke, H., Kruse, O., Mussgnug, J. H., Neuweger, H., Niehaus, K., Puhler, A., Runte, K. J., Szczepanowski, R., Tauch, A., Tilker, A., Viehover, P., & Goesmann, A. (2008). The metagenome of a biogas-producing microbial community of a production-scale biogas plant fermenter analysed by the 454-pyrosequencing technology. Journal of Biotechnology, 136, 77–90.

Schwede, S., Rehman, Z. U., Gerber, M., Theiss, C., & Span, R. (2013). Effects of thermal pretreatment on anaerobic digestion of *Nannochloropsis salina* biomass. *Bioresource Technology*, 143, 505–511.

Sharma, G. K., Khan, S. A., Shrivastava, M., Bhattacharyya, R., Sharma, A., Gupta, D. K., Kishore, P., & Gupta, N. (2021). Circular economy fertilization: phycoremediated algal biomass as biofertilizers for sustainable crop production. *Journal of Environmental Management*, 287, 112295. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112295

Taha, T. M., & Youssef, M. A. (2015). Improvement of growth parameters of *Zea mays* and properties of soil inoculated with two *Chlorella* species. *Reports and Opinions*, 7, 22–27.

Tanumihardjo, S. A., McCulley, L., Roh, R., Lopez-Ridaura, S., Palacios-Rojas, N. & Gunaratna, N. S. (2020). Maize agro-food systems to ensure food and nutrition security in reference to the Sustainable Development Goals. *Global Food Security*, 25, 100327. https://doi.org/10.1016/j.gfs.2019.100327

Umamaheswari, J. & Shanthakumar, S. (2021). Paddy-soaked rice mill wastewater treatment by phycoremediation and feasibility study on use of algal biomass as biofertilizer. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 96(2), 394–403. https://doi.org/10.1002/jctb.6551

USEPA. (1998). *SW-846 Method 3051A: Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils.* In: *Test Methods for Evaluating Solid Waste, 3rd Update*, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, pp. 1–30.

Win, T. T., Barone, G. D., Secundo, F., & Fu, P. (2018). Algal biofertilizers and plant growth stimulants for sustainable agriculture. *Industrial Biotechnology*, 14(4), 203–211. https://doi.org/10.1089/ind.2018.0010

Zhao, G., Zhu, X., Zheng, G., Meng, G., Dong, Z., Baek, H., Jeon, C. O., Yao, Y., Xuan, Y. H., Zhang, J., & Jia, B. (2024). Development of biofertilizers for sustainable agriculture over four decades (1980–2022). *Geography and Sustainability*, 5(1), 19–28. https://doi.org/10.1016/j.geosus.2023.09.006