

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur

et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun de Tiaret

Faculté des Sciences de la nature et de la vie

Département de Science de la nature et de la vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de deuxième année master académique

Spécialité : Microbiologie Appliqué à L'environnement

THÈME :

*Etude de la biodégradabilité des eaux usées de SOFACT-TISSEMSILT
par quelques microorganismes.*

Présenté par :

-M^{elle} .Menhoudj Habiba

-Mme.Seffar Malika

Membre de jury :

Promoteur : Mr. Sassi.M

Examinatrice : Mme. Medjeber.N

Année universitaire : 2016 – 2017



Remerciements

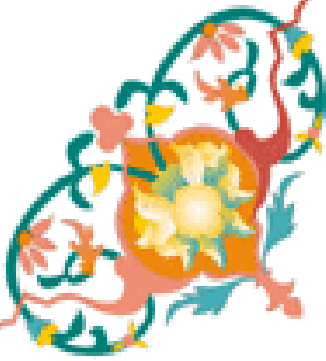

Tout d'abord, tout louange à ALLAH qui nous a éclairé le chemin du savoir et notre grand salut sur le premier éducateur notre prophète Mohamed.

*Nous adressons nos vifs remerciements et nos sincères gratitudees à notre promoteur
Mr : **Sassi.M.***

*Nous remercions chaleureusement M^{elle} : **Medjeber.N** qui à accepter de présider les membres de jury.*

*Nous tenons à remercier tout particulièrement monsieur le directeur de SOFACT- Tissemsilt qui à autorisé notre accès, ainsi que tout le personnel qui à facilité les taches tout au long de ce travail surtout **NADIA.***

Notre gratitude s'adresse également au chef de département et à tous nos professeurs pour leur aide logistique et technique.





DEDICACE

SEFFAR MALIKA

Je remercie DIEU le tout puissant, maître des cieux et de la terre, qui nous a éclairé chemin et permis de mener à bien ce travail.

Je dédie ce travail avec tous mes profonds respects

A ma chère mère

A mon cher père

A mes sœurs FADHILA RIM et ELALIA


A mes Frères: Daoud Bissal Bachir et Wali

A mon cher mari Kamel

Je n'oublie pas ma collègue Habiba

A tous les nombres de mes amis je pourrais tous le citer,

Enfin, A tout personne qui a eu l'énorme générosité d'accorder de son temps, partager un rire, son amour, un souvenir impérissable, communiquer le gout et la force de vivre pleinement, toute ma gratitude.





DEDICACE

MENHOUDJ HABIBA

Je remercie tout d'abord, Allah, le tout puissant et clément de m'avoir aidé à réaliser ce travail.

Mes parents, qu'ils trouvent ici toute ma gratitude pour leur soutien tout au long de mes études que Allah me les garde.

Je dédie également à tous ceux qui m'aiment et spécialement à mes adorables

Frères et sœurs (RACHID- SAID – HAKIM – HAFSA- DJAMILA – SOUMIA).


*A toute la famille **Menhoudj** sans exception.*

A ma collègue dans ce travail, m'ami et ma sœur : MALIKA

A ma promotion 2^{ème} année master : Microbiologie Appliqué à L'environnement.

A tous mes amis surtout : FADHILA.

Enfin, je dédie ce travail à toute personne qui m'a aidé de le réaliser de près ou de loin sans exception.



Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations.

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Liste des photos.

Liste des annexes.

Introduction

Chapitre I : matériel et méthodes

Première partie : étude expérimentale

1. Objectif de travail.....	1
2. La zone d'étude.....	1
3. Protocole expérimental.....	2
4. Matériels et méthodes.....	3
4.1. Matériels.....	3
4.1.1. Appareillage.....	3
4.1.2. Verreries.....	3
4.1.3. Milieux de cultures et produits chimiques utilisés.....	4
4.1.3.1. Milieux de culture.....	4
4.1.3.2. produits chimiques utilisés.....	4
4.2. Méthodes.....	5
4.2.1. Prélèvement de l'échantillon.....	5
4.2.2. Transport et conservation au laboratoire.....	5
4.2.3. Analyse physico-chimique.....	5
4.2.3.1 Détermination des paramètres physico-chimiques.....	5
4.2.3.1.1 Mesure de la température.....	5
4.2.3.1.2. Détermination du pH.....	6
4.2.3.1.3 Mesure de la conductivité électrique (CE).....	7
4.2.3.1.4. Détermination des matières en suspension (MES).....	7
4.2.3.1.5. Détermination des matières oxydables en milieu acide.....	8

4.2.3.1.6. Détermination de l'alcalinité (HCO ₃ ⁻).....	9
4.2.4. Analyse microbiologique.....	10
4.2.4.1. Recherche des bactéries.....	10
4.2.4.1.1. La recherche des germes aérobies.....	10
4.2.4.1.2. Recherche des spores des Clostridium sulfito-réducteurs.....	11
4.2.4.1.3. Recherche des coliformes.....	11
4.2.4.1.4 Recherche des <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
4.2.4.1.5. Recherche des <i>Escherichia coli</i>	12
4.2.4.1.7. Recherches des champignons (levures et moisissures).....	13
4.2.5. Essai de la biodégradation.....	13
4.2.5.1. Préparation de l'inoculum.....	13
4.2.5.2. Standardisation de l'inoculum.....	13
4.2.5.3. Préparation de la solution bactérienne.....	14
4.2.5.4. Traitement avec bactérie.....	14
4.2.5.5. Traitement avec champignon.....	14

Chapitre II : résultats et discussion

1. Discussion des paramètres physicochimiques.....	15
2. Discussion des paramètres microbiologiques.....	17
3. Discussion des résultats d'essai de la biodégradation.....	19

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

La liste des abréviations

% : pour cent.

°C : Degré Celsius

μS : Micro-siemens.

°F : Degré français.

T° : Température.

BCPL : Brouillon Lactose Porpre de Bromocésolé.

CE : Conductivité électrique.

D/C : Double/Concentration.

F : facteur de correction.

H: Heurs.

J.O : Journal Officiel.

M : masse.

M.E.S : Matière en suspension.

nm : Nanomètre.

N : Normalité.

P.E : prise d'essai de l'échantillon.

pH : potentiel hydrogène.

q.s.p : quantité suffisante pour.

S/C : Simple/Concentration.

TA : titre alcalimétrique.

TGEA : Gélose à l'extrait de levure tryptonée.

La liste des abréviations

V : volume.

VF : Viande foie.

La liste des tableaux

Tableau n°01 : les valeurs de quelques paramètres physicochimique de l'effluent industriel des prélèvements.....	15
Tableau n°02 : les valeurs de quelques paramètres microbiologique de l'effluent industriel des prélèvements.....	17
Tableau n°03 : les valeurs des matières oxydable des effluents industriels après traitement par des bactéries.....	19
Tableau n°04 : les valeurs de quelques paramètres physicochimiques des effluents industriels après traitement par des bactéries.....	19
Tableau n°05 : les valeurs des matières oxydable des effluents industriels après traitement par des champignons.....	20
Tableau n°06 : les valeurs de quelques paramètres physicochimiques des effluents industriels après traitement par des champignons.....	20

La liste des figures

Figure n°01 : Schéma de protocole expérimental

Liste des photos

Photo n°01 : Agitateur.

Photo n°02 : Conducti-mètre

Photo n°03 : Résultat de recherche d'*Escherichia coli* à 37°C dans l'eau à analyser.

Photo n°04 : Résultat de recherche des coliformes totaux à 37°C dans l'eau à analyser (BCPR S/C).

Photo n°05 : Résultat de recherche de coliformes totaux à 37°C dans l'eau à analyser (BCPR D/C).

Photo n°06: Résultat de recherche de clostridium sulfito-réducteur à 46°C dans à l'eau à analyser.

Photo n°07: Résultat de recherche des champignons à 37°C dans l'eau à analyser.

Photo n°08 : Résultat de recherche des germes aérobies révivifiables à 22°C dans l'eau à analyser.



Introduction

Introduction

L'histoire de l'eau est en quelque sorte l'histoire de la vie même, c'est un constituant essentiel de toute créature vivante sur terre et c'est l'élément le plus indispensable des aliments pour les êtres vivants.

L'eau sous sa forme liquide, constitue un milieu où l'ensemble des réactions et échanges chimiques et biochimiques sont facilités. En effet, l'écosystème aquatique représente le siège principal des premières étapes évolutives du monde vivant (**AROUYA, 2011**).

L'eau est une ressource limitée en quantité et de qualité vulnérable, ce qui en fait le bien le plus précieux. De plus en plus soumise aux interventions de l'homme, c'est une ressource naturelle qu'il est indispensable de gérer et de protéger, pour préserver la vie.

Certains corps disparaissent dans l'eau car ils y sont solubles, et cette solubilité donne à ce solvant un rôle vital en assurant le transport des éléments nutritifs dans la circulation sanguine et l'élimination des déchets par les urines, cette propriété d'excellent solvant peut naturellement s'avérer très négative, puisque l'eau peut devenir un véhicule efficace de pollution (**DEGREMONT, 2005**).

Le problème de la pollution des eaux représente sans aucun doute un des aspects les plus inquiétants de la crise globale de l'environnement, la présence des polluants d'origine bactériologique ou chimique (rejets industriels) est une grande cause de plusieurs maladies surtout celles des pathogènes.

Actuellement on utilise une grande quantité d'eau pour l'industrie, l'agriculture et les activités ménagères qui génèrent des rejets chargés de matières polluantes pour l'environnement (**KOLLER, 2004**).

Les industries textiles, en particulier, peuvent contenir une variété de micropolluants organiques tels que les colorants. Leur biodégradabilité est difficile à cause de leur origine synthétique et de la complexité de leurs structures moléculaires. Le non traitement de ces eaux et la faible biodégradabilité ainsi que la bio-toxicité de ces substances provoquent la pollution des écosystèmes, il faut donc effectuer des traitements avant leurs rejets dans les milieux naturels soit par voie physicochimique et/ou par voie biologique (**BENSFIA, 2011**).

Les eaux résiduaires industrielles sont les déchets liquides obtenus lors de l'extraction et de la transformation des matières premières en produits industriels **(DELOUAT, 2005)**.

Le traitement des eaux résiduaires industrielles s'étudie au cas par cas, la composition chimique de l'effluent détermine le traitement adéquat **(RODRIGUEZ GARCIA, 2004)**.

L'objectif principal du traitement est de produire des effluents traités à un niveau approprié et acceptable du point de vue de risque pour la santé humaine et l'environnement. A cet égard, le traitement des eaux résiduaires le plus approprié est celui qui fournit, avec certitudes les effluents de qualité chimique et microbiologique exigée pour un certain usage spécifique.

Les analyses de l'eau constituent une étape fondamentale de programme de surveillance des qualités, elles permettent d'identifier et de mesurer les différents paramètres physicochimiques et d'évaluer le niveau de pollution biologique sur un échantillon d'eau.

Notre travail consiste à caractériser les effluents industriels de la société de fabrication de couvertures textiles (SOFACT/TISEMSSILT) et d'appliquer un essai de la biodégradation par des microorganismes de ces eaux.

Partie

Expérimentale

Chapitre -I

Matériels et Méthodes

1. Objectif de travail

L'objectif de notre travail est :

-D'évaluer la qualité des eaux usées de la SOFACT-TISEMSSILT par la détermination de quelque paramètre physicochimique et microbiologique.

-D'évaluer la dégradation de la matière organique des eaux usées de la SOFACT-TISEMSSILT par quelques microorganismes.

1. La zone d'étude

Notre travail expérimental a été réalisé au niveau des laboratoires de technique alimentaire, microbiologie et biochimie du département des Sciences de la Nature et de la Vie de l'université IBN KHALDOUN de Tiaret.

3. Protocole expérimental

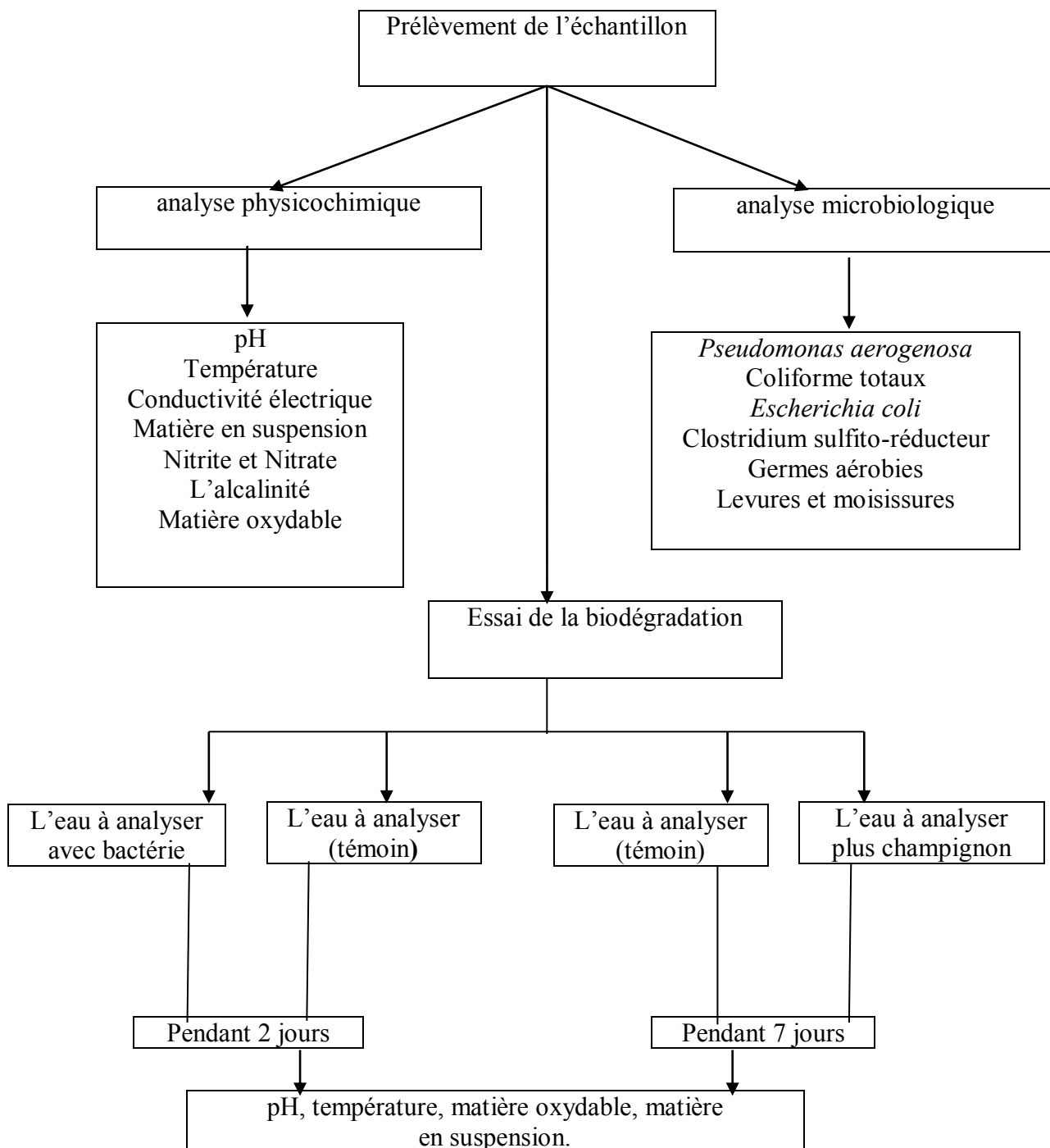


Figure n°01: schéma de protocole expérimental.

4. Matériels et méthodes**4.1. Matériels****4.1.1.Appareillages**

-Balance analytique, AND, GR-200, EC.

-Agitateur magnétique chauffant, FALC, F60.

-Conductimètre, HI9033.

-Plaque chauffant, PV250.

-Etuve incubateur.

-pH-mètre.

-Bain marie, memmert.

-Thermomètre.

-Autoclave.

- Stérilisateur.

-Bec bunsen.

4.1.2. Verreries

-Pipettes pasteur.

-Pipettes graduées.

-Tubes à essais.

-Béchers.

-Boite de Pétri.

-Cloche de durham.

-Fioles.

4.1.3. Milieux de cultures et produits chimiques utilisés**4.1.3.1. Milieux de culture**

-TGEA.

-VF.

-BCPL D/C et S/C.

-King A.

-Sabouraud.

-McConkey.

4.1.3.2. Produits chimiques utilisés

-Solution de KMnO_4 à 0.01 N.

-Solution d'acide oxalique à 0.01N.

-Acide sulfurique.

-Phénolphtaléine.

-L'acide HCl.

-Solution de KCl.

-Solution de sulfite de sodium.

-Solution d'alun de fer.

4.2. Méthodes

4.2.1. Prélèvement de l'échantillon

C'est une étape très importante dans l'analyse de l'eau. Notre prélèvement de l'effluent industriel se fait à partir du bassin primaire avant tout traitement afin de déterminer les polluants rejetés par cette industrie.

Nous avons effectués 03 prélèvements dans des conditions aseptiques :

- Le 1^{ère} prélèvement a été effectué le 12 mars 2017 dans un flacon stérile.
- Le 2^{ème} prélèvement a été effectué le 02 avril 2017 dans un flacon stérile.
- Le 3^{ème} prélèvement a été effectué le 16 avril 2017 dans un flacon stérile.

4.2.2. Transport et conservation au laboratoire

Les analyses de l'eau doivent être effectuées rapidement car la teneur initiale en germes de l'échantillon peut subir des modifications. Si le transport dépasse une heure et si la température extérieure est supérieure à 10°C le prélèvement doit se faire obligatoirement en glacière.

Les échantillons qui ne sont pas immédiatement analysés doivent être placés dans un réfrigérateur jusqu'au début de l'analyse (**RODIER, 2005**).

4.2.3. Analyses physico-chimiques

4.2.3.1 Détermination des paramètres physico-chimiques

4.2.3.1.1 Mesure de la température

Il est important de connaître la température de l'eau avec une bonne précision. En effet, celle-ci joue un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz. La mesure de la température doit être effectuée sur le terrain (**RODIER, 2005**).

Mode opératoire

La température est déterminée sur place à l'aide d'un thermomètre simple :

- Faire plonger le thermomètre dans l'eau de l'usine, à l'endroit du prélèvement.

- Effectuer la lecture de sorte que l'extrémité du thermomètre reste immergée dans l'eau.
- Le résultat est donné directement en °C.

4.2.3.1.2. Détermination du pH

Le pH est en relation avec la concentration des ions hydronium H_3O^+ présent dans l'eau ou les solutions.

Mode opératoire

Etalonnage de l'appareil

- Allumer le pH-mètre.
- Brancher l'électrode de pH.
- Rincer l'électrode avec l'eau distillée.
- Vérifier l'électrode (niveau de la solution KCl).
- Prendre dans un petit bécher la solution tampon pH=7.
- Tremper l'électrode de pH-mètre dans la solution tampon pH=7.
- Laisser stabiliser un moment.
- Affiner avec le bouton de droite à pH=7.
- Enlever l'électrode et la rincer abondamment avec l'eau distillée.
- Etalonner de la même manière avec la solution pH=4.
- Puis rincer abondamment l'électrode avec l'eau distillée.

Dosage de l'échantillon

- Prendre environ 100 ml d'eau à analyser.
- Tremper l'électrode dans le bécher.

-Laisser stabiliser un moment.

-Puis noter le pH.

4.2.3.1.3 Mesure de la conductivité électrique (CE)

La conductivité électrique d'une eau est la conductance d'une colonne d'eau comprise entre deux électrodes métalliques de 1 cm² de surface et séparées l'une de l'autre de 1 cm.

La conductivité s'exprime en micro-siemens par centimètre ($\mu\text{s/cm}$) (**RODIER, 2005**).

Mode opératoire

Opérer avec une verrerie rigoureusement propre et rincée avec l'eau distillée avant l'usage.

-Rincer plusieurs fois la cellule à conductivité, d'abord avec de l'eau distillée puis en la plongeant dans un récipient contenant de l'eau à examiner.

-Faire la mesure dans un deuxième récipient après rinçage de la cellule.

-Les résultats sont donnés directement en $\mu\text{s/cm}$.

4.2.3.1.4. Détermination des matières en suspension (MES)

La détermination des matières en suspension dans l'eau s'effectue par filtration ou par centrifugation (**RODIER, 2005**).

Principe

Il est basé sur la filtration de l'eau, la pesée des matières retenus par le filtre est déterminée par pesée différentielle (**RODIER, 2005**).

Mode opératoire

-Prendre un papier filtre.

-Faire la filtration avec l'eau distillée.

-Sécher le papier filtre dans l'étuve 105°C.

-Passer le papier filtre ou dessiccateur pendant 5 min.

-Peser le papier filtre.

-Faire la filtration avec 100 ml de l'échantillon.

-Sécher le papier filtre dans l'étuve 105°C.

-Passer le papier filtre ou dessiccateur pendant 5 min.

-Peser le papier filtre.

La masse de la matière en suspension est obtenue en appliquant la formule ci-après :

$$\text{MES (mg/l)} = \frac{M_0 - M_1}{V} \times 1000$$

Tel que :

M₀ : la masse du papier filtre avant utilisation (mg).

M₁ : la masse du papier filtre après utilisation (mg).

V : volume de l'eau à analyser.

4.2.3.1.5. Détermination des matières oxydables en milieu acide

Principe

Oxydation par un excès de permanganate de potassium, en milieu acide et à ébullition (10 min), des matières oxydables contenues dans l'échantillon. Réduction de l'excès de permanganate par l'oxalate de sodium en excès et titrage en retour de l'excès d'oxalate par le permanganate de potassium.

Mode opératoire

-prendre 100 ml d'eau à analyser plus un microorganisme

-Ajouter 5 ml H₂SO₄ dilué (1/3) et porter à l'ébullition pendant 1min.

- Ajouter 15 ml de KMnO_4 à 0.01N puis 10min d'ébullition régulière et douce.
- Ajouter 15 ml d'acide oxalique à 0.01N.
- Titrer à chaud avec KMnO_4 à 0.01N jusqu'à coloration rose claire qui persiste 15 à 20 secondes.
- un essai à blanc est nécessaire.

Expression des résultats

$$\text{O}_2 \text{ (mg/l)} = \frac{(V - V_0) \times F \times 80}{\text{PE}}$$

V_0 : volume de KMnO_4 à 0.01 N nécessaire pour le dosage du blanc.

V : volume de KMnO_4 à 0.01 N nécessaire pour le dosage de l'échantillon.

F : facteur de correction du titre de KMnO_4 à 0.01N ($F= 1$).

P.E : prise d'essai de l'échantillon (100 ml).

4.2.3.1.6. Détermination de l'alcalinité (HCO_3^-)

L'alcalinité d'une eau correspond à la présence des hydrogénocarbonates, carbonates et hydroxydes (**RODIER**).

Mode opératoire

- Prendre 100 ml d'eau à analyser dans un bécher.
- Ajouter 1 à 2 gouttes de solution alcoolique de phénophtaléine, une coloration rose doit alors se développer.
- Dans le cas contraire le TA est nulle.
- Si le TA est positif, on verse ensuite doucement l'acide (HCl) à 0,1 N dans un bécher à l'aide d'une burette, en agitant constamment, et ceci jusqu'à décoloration complète de la Solution (pH=8,3).

Le TA est calculé selon la formule : $\text{TA (}^\circ\text{F)} = V \times 5$

Tel que :

V : le volume de millilitres d'acides versés pour obtenir le virage.

4.2.4. Analyse microbiologique

4.2.4.1. Recherche des bactéries

4.2.4.1.1. La recherche des germes aérobies

Préparation des dilutions

-Prendre 06 tubes stériles numérotés de 1 à 6 contenant chacun 9 ml de milieu pour dilution (l'eau physiologie), à l'aide d'une pipette graduée stérile prélever 1ml de l'échantillon ou de la suspension on mère est mélanger avec 9ml de milieu de dilution (tube n°1) : 1 /10.

-Eviter tout contact entre la pipette contenant l'inoculum et le diluant stérile.

-Transférer 1ml de la dilution ou 1 /10 dans 9ml de milieu de dilution (tube n°2):agiter la dilution.

-Transférer 1ml de la dilution ou 1 ; /100 dans 9ml de milieu de dilution (tube n°3):agiter la dilution.

-Transférer 1ml de la dilution ou 1 /1000 dans 9ml de milieu de dilution (tube n°4):agiter la dilution.

-Transférer 1ml de la dilution ou 1 /10000 dans 9ml de milieu de dilution (tube n°5):agiter la dilution.

- ❖ Homogénéiser bien chaque dilution pendant 5 à 10 secondes avant chaque prélèvement.
- ❖ Changer la pipette entre chaque dilution.

Mode opératoire

-A partir de l'eau à analyser (solution mère) et/ou différentes dilutions porter aseptiquement 1ml en double dans deux boites de Pétri vide.

-Compléter ensuite avec environ 19ml de TGEA fondue et refroidie à $45 \pm 2^\circ\text{C}$.

-Faire ensuite des mouvements circulaires et en forme de 8 pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose.

- laisser solidifier puis rajouter une deuxième couche d'environ 5ml de TGEA.
- marquer sur chacune des boites de Pétri le numéro d'enregistrement de l'eau à analyser, la température d'incubation et la dilution.
- les boites seront partagées en deux séries distinctes :
 - la première série sera incubée à $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 68 ± 4 heures.
 - la seconde série incubée à $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 24 heures.

4.2.4.1.2. Recherches des spores de Clostridium sulfito-réducteurs

La recherche des spores de Clostridium sulfito-reductourices permet de mettre en évidence un groupe de bactéries anaérobies par la résistance de leurs spores et par un équipement enzymatique réduisant les sulfites en sulfures.

Définition

Les Clostridium sulfito-réducteurs sont des germes fécaux également telluriques considérés comme des témoins de pollution fécale (DELARRAS, 2007).

Mode opératoire

- Agiter soigneusement l'eau à analyser.
- porter aseptiquement 1 fois 5ml d'eau à analyser dans un tube à essai stérile.
- Porter 5 minutes à 80°C au bain-marie.
- Refroidir rapidement (effectuer un choque thermique).
- Ajouter à chaque tube :
 - 1 ml d'une solution de sulfite de sodium cristallisée à 10%.
 - 4gouttes d'une solution d'alun de fer à 5%.
- Ajouter environ 20 ml de gélose VF.
- Mélanger soigneusement sans faire des bulles d'air.
- Laisser solidifier sur paillasse puis incubé à : 46°C , pendant 24heures.

4.2.4.1.3. Recherche des coliformes

Cette méthode, consiste à la recherche des coliformes dans les eaux usées, en milieu liquide.

Définition

Ce sont des bacilles à gram négative, non sporulés, aéro-anaérobies ou anaérobies facultatifs. Ils peuvent se développer en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface équivalents.

En pratique courante, ils correspondent aux coliformes c'est dire à des espèces fécales qui constituent des germes indicateurs de contamination fécale en bactériologie alimentaire (DELARRAS, 2007).

- Le test de présomption : pour les coliformes.
 - la technique se fait comme suit :
 - Ensemencer 03 tubes bouillon de BCPL D/C avec chacun 10ml d'eau à analyser
 - Ensemencer 03 tubes bouillon de BCPL S/C avec chacun 1ml d'eau à analyser, puis suivre le même protocole avec les autres 03 tubes simples concentration, ensemencer chacun par 0,1ml d'eau à analyser
 - l'incubation se fait à 37°C pendant 24 heures.
- ❖ Seront considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :
 - Un dégagement de gaz (supérieur au 1/10^{ème} de hauteur de la cloche).
 - Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune.

4.2.4.1.4 Recherche des *Pseudomonas aeruginosa*

- **Définition**

-*Pseudomonas aeruginosa* ou bacille pyocyanique est une bactérie ubiquiste, saprophyte dans les eaux douces et marines, dans l'air, dans les sols humides ou sur les végétaux (DELARRAS, 2007).

Mode opératoire

-A partir de l'eau à analyser (solution mère) et/ou différentes dilutions porter aseptiquement 1ml.

Dans une boîte de Pétri ajouter le milieu de culture (milieu king A). Laisser solidifier sur la paillasse pendant quelque minute, ou refroidir rapidement sous courant d'eau froide.

- Incuber à 37°C pendant 24 heures retourner et refermer la boîte.

4.2.4.1.6. Recherche des *Escherichia coli*

- **Définition**

Existe plusieurs espèces d'*Escherichia* mais la plus importante est *Escherichia coli*. Il s'agit d'une Entérobactérie lactose positive, gazogène réalisant une fermentation acide mixte elle produit de l'indole (DELARRAS, 2007).

Mode opératoire

- Dans une boîte de Pétri mettre le milieu de culture (milieu McConkey).
- Laisser solidifier sur la paillasse pendant quelque minute, ou refroidir rapidement sous courant d'eau froide, puis ajoute 0,1ml d'eau à analyser.
- Incuber à 37°C pendant 24 heures, retourner et refermer la boîte.

4.2.4.1.7. Recherches des champignons (levures et moisissures)**• Définition**

Les levures et les moisissures sont des champignons, ce sont des organismes eucaryotes unicellulaires ou multicellulaires. La structure de la cellule est celle d'un eucaryote classique (LAHLOUH, 2010).

Mode opératoire

- Dans une boîte de Pétri stérile, couler à 15 ml de milieu en surface. Saboraud refroidir. Homogénéiser et laisser solidifier, puis étaler 0,1 ml de l'échantillon à analyser (l'eau industriel).
- Incuber les boîtes à 22 C° pendant 3à5 jours.

4.2.5. Essai de la biodégradation

Pour étudier la comparaison entre la biodégradation de matière organique avant traitement de l'eau brute et après traitement avec un microorganisme, nous avons mélangé une quantité de microorganisme avec un volume de l'eau à analyser, puis laisser le microorganisme dans l'eau jusqu'à son développement (temps variable selon le microorganisme), après le développement nous avons déterminé la matière oxydable.

4.2.5.1. Préparation de l'inoculum

La préparation de l'inoculum doit être en conditions optimum (pH=6, T°=45°C), incubation 22 à 24 h.

4.2.5.2. Standardisation de l'inoculum

La standardisation de l'inoculum permet la détermination de la taille de l'inoculum (de 10^6 à 10^7 germe/ml) afin d'avoir une bonne croissance bactérienne (croissance logarithmique).

Pour la détermination de la taille de l'inoculum la technique la plus pratique et celle de Mac Farland (première échelle 0,5ml(BaCl₂) +99 ; 5ml(H₂SO₄)) qui consiste à une comparaison visuelle entre la solution Mac Farland et la solution qui contient la suspension bactérienne.

4.2.5.3. Préparation de la solution bactérienne

- Prendre 10ml de solution de Mac Farland dans un tube à essai.
- D'un autre côté prendre 10ml d'eau distillée et ensemencement la suspension bactérienne et agiter jusqu'à ce que obtienne une solution similaire à celle de Mac Farland (solution de Mac Farland et solution bactérienne même aspect)

Donc la taille initiale de l'inoculum est de 10^7 à 10^8 .

4.2.5.3. Traitement avec bactérie

Nous avons pris 5 béchers contenant avec 100 ml de l'échantillon brute, Nous avons ajouté dans chaque bécher une quantité de 1 ml de bactérie à partir de solution de Mac Farland. Après 2 jours (temps de développement de bactérie) nous avons déterminé la matière oxydable.

4.2.5.4. Traitement avec champignon

Nous avons pris 3 bécher contenant avec 100 ml de l'échantillon brute, Nous avons ajouté dans les béchers une quantité de champignon à l'aide d'une spatule.

Après 7 jours (temps de développement de champignon) nous avons déterminé la matière oxydable.

Chapitre –II

Résultats et Discussion

1. Résultats de la caractérisation de l'effluent brute

1.1. Résultats des analyses physicochimiques

Les résultats de la caractérisation physicochimique de l'effluent industriel sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau n°01 : valeurs de quelques paramètres physicochimique de l'effluent industriel des prélèvements.

Paramètres	Premier prélèvement	Deuxième prélèvement	Troisième prélèvement	Normes (J.O 2006)
pH	7,2	7,1	7,7	6,5-8,5
Températures	12	10	9	30°C
Conductivité électrique	2553 μS/cm	2540 μS/cm	2562 μS/cm	
Matière en suspension	49 mg/l	43 mg/l	47 mg/l	30mg/l
L'alcalinité	31°F	35°F	40 °F	
Matière oxydable	8,8 mg/l	7,2 mg/l	8mg/l	120mg/l

1.1.1.pH

Selon **RODIER, (2005)**, la variation de pH d'un échantillon à un autre peut être attribuée à la nature des terrains traversés, étant donné le pouvoir tampon de l'eau dans le cas de rejets industriels particuliers.

La valeur du pH des solutions des 3 prélèvements varie entre 7,1 et 7,7 avec une moyenne de 7,33. Ces valeurs sont conformes à la norme algérienne des rejets industriels qui se situe entre 6,5 et 8,5 (**J.O. N°06-141, 2006**).

1.1.2. Température

Nous avons remarqué que la température de l'effluent industriel varie entre 9 et 12. Ces valeurs sont conformes à la norme algérienne des rejets industrie (**J.O. N°06-141,2006**).

1.1.3. Conductivité électrique

Selon **RODIER, (2005)**, la mesure de la conductivité permet d'évaluer rapidement la minéralisation globale de l'eau et d'en suivre l'évolution. Plus la conductivité est élevée, plus l'eau est minéralisée et donc dure.

La conductivité électrique à 20°C se situe entre 2540 et 2562 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Ces valeurs qui sont un peu élevées peuvent être expliquées par la présence des matières chargées électriquement et notamment la minéralisation globale des eaux.

1.1.4. Matière en suspension

Nous avons trouvé des teneurs de chaque prélèvement de matière en suspension de 49mg/l, 43mg/l et 47mg /l. Ces valeurs sont conformes à la norme algérienne qui est de 30 mg/l.

1.1.5. Matière oxydable

Nous avons trouvé que la valeur moyenne des matières oxydables, donnée en mg d'O₂ est de 8 mg/l. Ces valeurs sont conformes à la norme algérienne des rejets industriels (**J.O. N°06-141,2006**).

1.1.6 .L'alcalinité (TA)

Les valeurs de TA des 03 prélèvements sont comprises entre 31°F et 40°F ce qui indique une forte présence des bicarbonates.

1.2. Résultats des analyses microbiologiques :

Tableau n°2: valeurs de quelques paramètres microbiologique de l'effluent industriel des prélèvements.

Microorganisms	premier prélèvement	deuxième prélèvement	troisième prélèvement
Germes aérobies revivifiabiles à 37c°	Présence	Présence	Présence
Germes aérobies revivifiabiles à 22c°	Présence	Présence	Présence
<i>Pseudomonas aeroginosa</i> 37c°	Présence	Absence	Absence
Coliformes totaux à 37c°	Présence	Présence	Présence
<i>Escherichia Coli</i> à 37c°	Absence	Absence	Présence
Clostridium sulfito- réducteur à 46c°	Absence	Absence	Absence
Champignons	Présence	Présence	Présence

A partir le tableau n°2, nous observons dans le premier prélèvement la présence des germes aérobies à 37°C et 22°C, *Pseudomonas aeroginosa*, les coliforme totaux, les champignons et l'absence *Escherichia coli* et Clostridium sulfito- réducteurs.

Dans le deuxième prélèvement, nous observons la présence des germes aérobies à 37°C et 22°C, coliforme totaux les champignons et l'absence *Pseudomonas aeroginosa*, *Escherichia coli* et Clostridium sulfito- réducteur.

Dans le troisième prélèvement, nous observons la présence des germes aérobies à 37°C et 22°C, coliforme totaux, *Escherichia coli*, les champignons et l'absence *Pseudomonas aeroginosa* et Clostridium sulfito- réducteur.

Discussion des résultats microbiologique

Les résultats obtenus montrent la présence des micro-organismes révivifiables et coliformes totaux, champignons et l'absence de quelque germes tels que *Clostridium sulfito-réducteurs* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces résultats peuvent être expliqués par le contact entre l'eau et les sols qu'il traverse avant son arrivée au bassin et par son contact permanent avec l'air, ce qui peut constituer l'origine des germes présents. D'autre part l'absence de streptocoque et de *Clostridium sulfito-réducteurs* peut être justifiée par le non déversement des eaux sanitaires dans le bassin, car ces germes sont d'origine fécale.

La présence des champignons peut être due aux conditions favorables qui ont permis leur croissance.

1.3. Résultats de l'essai de la biodégradation

1.3.1. Résultats de traitement avec des bactéries

1.3.1.1. Matière oxydable

A partir du tableau n°3, nous remarquons une diminution des matières oxydables après le traitement par toutes les bactéries testées. Le cas de l'eau usée traitée par *E. coli* par exemple est de 5,2 mg/l alors que la matière oxydable du témoin est de 8,7 mg/l.

Tableau n°3 : les valeurs des matières oxydables des effluents industriels après traitement par des bactéries.

Paramètre	Témoin (sans microorganismes)	Germes aérobie	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Coliformes Totaux	<i>Escherichia coli</i>
Matière oxydable	8,7 mg/l	4,8 mg/l	4,4 mg/l	6,8 mg/l	5,2 mg/l

Tableau n°4: les valeurs de quelques paramètres physicochimiques des effluents industriels après traitement par des bactéries.

Paramètres	Témoin (sans microorganisme)	germe aérobie	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	coliforme totaux	<i>Escherichia coli</i>
pH	7,7	7,4	6,6	7,4	7,4
Température	17°C	17°C	17°C	17°C	17°C
Matière en suspension	40 mg/l	36.2mg/l	36mg/l	39.4 mg/l	38 mg/l

1.3.1.1. pH

A partir du tableau n°4 les valeurs du pH de l'échantillon avant et après traitement sont comprises entre 7,7 et 6,6 ces valeurs sont conformes à la norme Algérienne des rejets industriels (J.O. N°06-141,2006).

1.3.1.2. Température

Nous avons remarqué que la température de l'effluent industriel est de 17°C ces valeurs répondent effectivement à la norme algérienne des rejets industriels (**J.O.N° 06-141,2006**).

1.3.1.3. Matière en suspension

A partir de la diminution des matières oxydables, nous avons trouvé des teneurs en matière en suspension avant traitement de 40mg/l, pour les valeurs après traitement elles sont comprises entre 36mg/l et 39.4 mg /l. Ces valeurs sont conformes à la norme algérienne fixent une valeur de 30 mg/l.

1.3.2. Résultats de traitement avec champignon

1.3.2.1. Matière oxydable

A partir du tableau n°5, nous remarquons une diminution des matières oxydables après le traitement par tous les champignons testés. Le cas de l'eau usée traitée par *Aspergillus Niger* par exemple est de 5,6 mg/l alors que la matière oxydable du témoin est de 6,8 mg/l.

Tableau n°5 : les valeurs des matières oxydable des effluents industriels après traitement par des champignons.

Paramètre	Témoin (sans microorganisme)	Levure	Moisissure	<i>Aspergillus Niger</i>
Matière oxydable	6,8 mg/l	6,6 mg/l	6,4 mg/l	5,6 mg/l

Tableau n°6 : les valeurs de quelques paramètres physicochimiques des effluents industriels après traitement.

Paramètres	Témoin (sans microorganisme)	Levure	Moisissure	<i>Aspergillus Niger</i>
pH	7,8	7,2	7,7	6,8
Température	18°C	18°C	18°C	18°C
MES	39 mg/l	38.5mg/l	38 mg/l	36 mg/l

1.3.1.1. pH

A partir du tableau n°6 les valeurs du pH de l'échantillon avant et après traitement sont comprises entre 7,7 et 6,8. Ces valeurs sont conformes à la norme Algérienne des rejets industriels (**J.O. N°06-141,2006**).

1.3.1.2. Température

Nous avons remarqué que la température de l'effluent industriel est de 18°C ces valeurs répondent effectivement à la norme algérienne des rejets industriels (**J.O.N° 06-141,2006**).

1.3.1.3. Matière en suspension

A partir de la diminution des matières oxydables, nous avons trouvé des teneurs en matière en suspension avant traitement de 39 mg/l, pour les valeurs après traitement elles sont comprises entre 36 mg/l et 38.5 mg /l. Ces valeurs sont conformes à la norme algérienne fixent une valeur de 30 mg/l.

Conclusion

Conclusion :

Les eaux usées industrielles sont des eaux chargées par les polluants, elles véhiculent différentes maladies dangereuses et menacent les êtres vivants et l'environnement. Ces eaux contiennent de nombreux microorganismes adaptés à ce milieu riche en matière organique.

Notre travail a pour but d'abord de caractériser les eaux usées d'une industrie textile (SOFACT-TISEMSSILT) en suite de procéder à un test de traitement biologique.

Les résultats des analyses physicochimiques au cours de notre travail répondent aux normes algériennes. Ces analyses soulignent également que les eaux résiduaires de la SOFACT présentent de la matière organique à faible biodégradabilité, d'où l'inefficacité des traitements biologiques.

On peut dire que la caractérisation microbiologique a révélé beaucoup des microorganismes.

Les résultats de caractérisation microbiologique des eaux résiduaires industrielles textiles (SOFACT) permettent de réaliser les essais de biodégradation par quelques microorganismes.

Les résultats obtenus montrent une faible biodégradation de ces eaux. Ce qui confirme que les rejets de cette industrie sont difficilement biodégradables.

En fin, Ces eaux usées étudiées peuvent être réutilisées après leur traitement dans différents secteurs (agricole, municipale...).

Références

Bibliographiques

Références bibliographiques

- **AROUYA.K, (2011):** Pollution des eaux (impact des eaux usées sur la qualité des eaux de surface), Editions universitaires européennes, 75p.
- **BENSFIA.DJ ET BOUKNINE.R, (2011) :** Etudes comparative de traitement des eaux résiduaires d'une industrie textile (SOFACT-TISEMSSILT) par une boue de laiterie et le charbon actif, Thèse d'ingénieur d'état en sciences biologique, Tiaret, 1p.
- **DEGREMONT, (2005) :** Memento technique de l'eau, Tome1, Dixième édition, 13p.
- **DELARRAS.C, (2007) :** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de control sanitaire, Ed LAVOISIER, paris, 230p, 231p, 254p, 341p.
- **DELOUAT.B, (2005):** Etude de la dynamique des métaux lourds dans les eaux industrielles de Tiaret, thèse d'ingénieur, université Tiaret, 11p.
- **KOLLER.E, (2004):** Traitement des pollutions industrielles (eau, air, déchets, sol, boues), Ed : DOUND, Paris, 4p.
- **LAHLOUH.M ET NAIMA.KH, (2010) :** Évaluation du traitement des eaux effectuées au niveau de la station de traitement de Kodiète Rosfa-Tissemsilt, Thèse d'Ingénieur d'état en Nutrition et Technologie Agro-alimentaire, tiaret, 12p, 13p.
- **LOUIS CHAUSSADE.J ET PELLAY.M, (2012):** Les 100 mots de l'eau, 1ère édition, Paris, 4P.
- **RODIER.J, (1978) :** L'analyse de l'eau. 6èmeEd DUNOD, Paris. 1136P.
- **RODIER.J ET COLL, (2005) :** L'analyse de l'eau. 8^{ème}Ed DUNOD, Paris. 1384P.
- **RODRIGUEZ GARCIA.A, (2004):** Etude de la congélation comme technique du traitement des eaux: applications spécifiques, Thèse de doctorat, Institut national des sciences appliquées de Toulouse, 146p.
- **TIR.H ET CHAHBI T, (2009) :** Caractérisation et essai de traitement des eaux résiduaires d'une industrie textile (SOFACT- Tissemsilt.) par une boue de laiterie, Thèse d'ingénieur d'état Agro-nomiques, Tiaret.

Annexes

Annexe n°01 : Appareillage d'analyse effectuée.

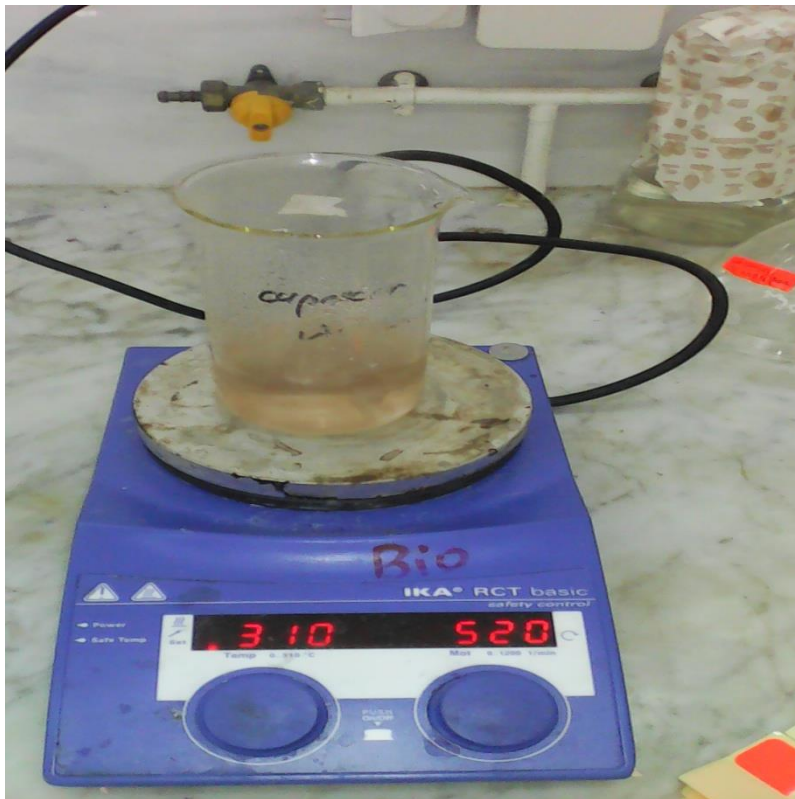


Photo n°01: Agitateur.



Photo n°02: Conducti-mètre.

Annexe n°02 : Résultat de la caractérisation microbiologique.

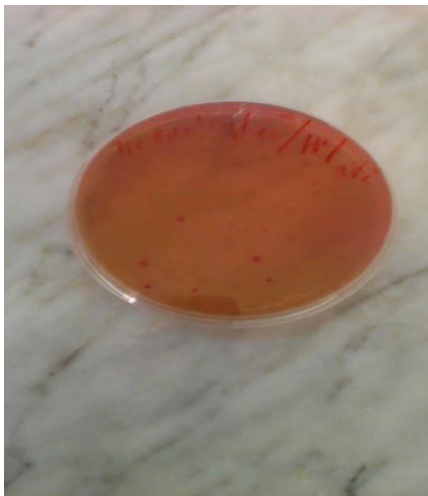


Photo n°03: Résultat de recherche d'Escherichia coli à 37°C dans l'eau à analyser.

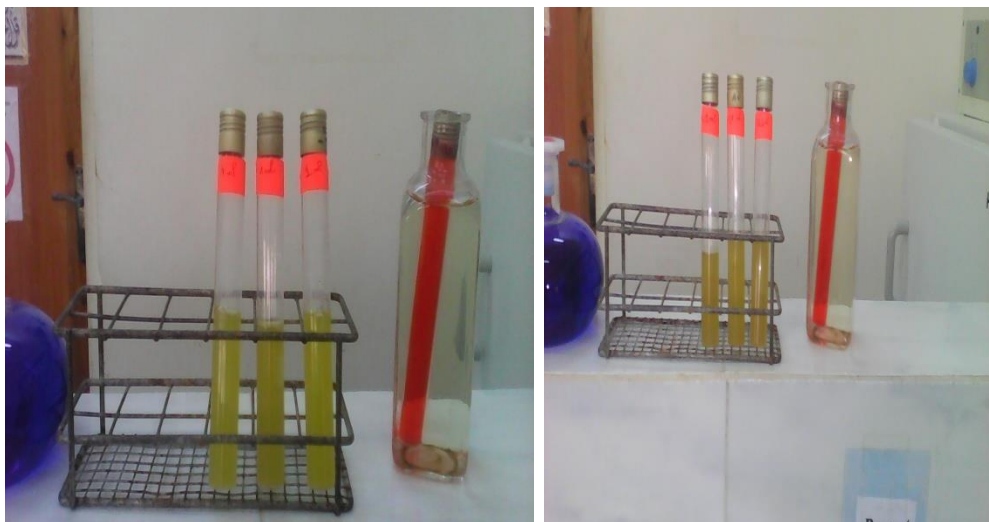


Photo n°04: Résultat de recherche des coliformes totaux à 37°C dans l'eau à analyser (BCPR S/C).



Photo n°05: Résultat de recherche de coliformes totaux à 37°C dans l'eau à analyser (BCPR D/C).



Photo n°06: Résultat de recherche de clostridium sulfite-réducteur à 46°C dans l'eau à analyser.



Photo n°07: Résultat de recherche des germes aérobies révivifiables à 22°C dans l'eau à analyser.

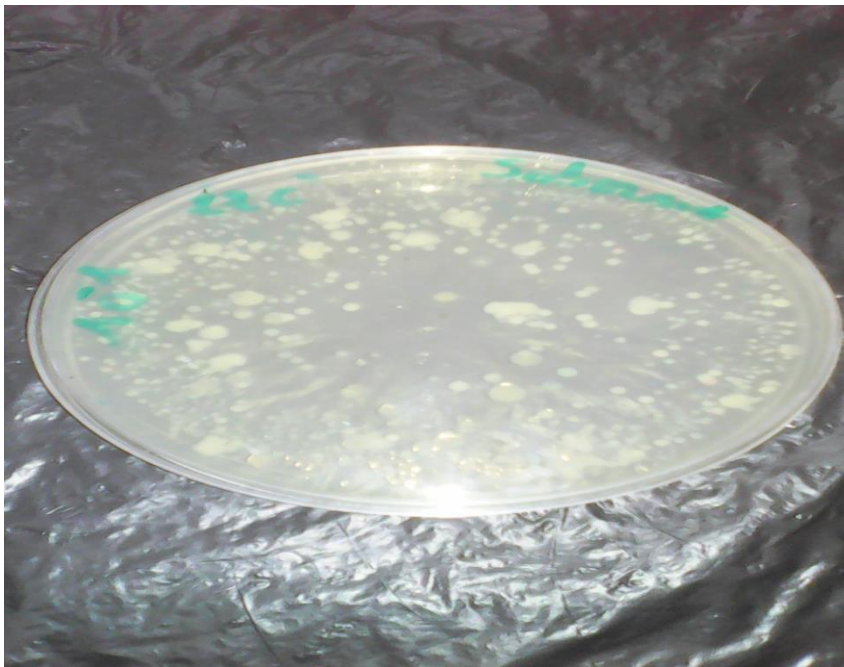


Photo n°08: Résultat de recherche des champignons à 37°C dans l'eau à analyser.

Annexe n°03 : Composition des milieux de culture.

**Composition du milieu VF- sulfite – réducteurs (gélose viande –foie pour germes sulfite-
réducteurs) :**

Extrait viande foie.....30g

Glucose.....2g

Amidon.....2g

Gélose.....12g

pH 7,6 .Autoclave 20minutes à 115°C .Ajouter 0,5ml de sulfite de sodium et 4 gouttes de citrate de fer ammoniacal (alun de fer).

Composition du milieu TGEA (Tryptone Glucose Extract Agar) :

Peptone de caséine5g

Extrait de viande 3g

Glucose1g

Agar –agar15g

pH 7. Autoclave 15 mn à 120 °C.

Composition du milieu BCPR:

BCPR(S/C) :

Peptone.....5g

Extrait de viande.....5g

Glucose.....5g

BCP.....25mg

PH finale.....6,9

Eau distillée.....1000ml

BCPR (D/C) :

Peptone.....10g

Extrait de viande.....10g

Glucose.....10g

BCP.....50mg

PH finale.....6,9

Eau distillée.....1000ml

Composition de milieu King A :

Bacto-peptone (Difco) ou gelysate (BBL).....	20g
Glycérol.....	10g
Sulfate de potassium anhydre.....	10g
Chlorure de magnésium.....	1.4g
Gélose (agar).....	15g
Eau distillée.....	1000ml
pH.....	7.2

Composition de milieu McConkey :

Peptone.....	10g
Lactose.....	10g
Sels biliaires.....	1g
Chlorure de sodium.....	5g
Rouge neutre.....	0.03g
Gélose.....	15g
Eau distillée.....	1000ml
Cristal violet.....	0.001g
pH.....	7.1

Composition de milieu Sabouraud :

Glucose ou maltose.....	40g
Peptone.....	10g
Agar.....	5g
Eau distillée.....	1000ml

Annexe n°04: Norme algérienne des paramètres physico-chimiques des rejets industriels.

Tableau n°01: Valeurs limites des paramètres de rejets d'effluents liquides industrielles.

N°	Paramètres	Unité	Valeurs limites	Tolérances aux valeurs limites anciennes installations
1	Température	°C	30	30
2	pH		6.5-8.5	6.5-8.5
3	MES	mg/l	35	40
4	Azote kjeldahl	mg/l	30	40
5	Phosphore Total	mg/l	10	15
6	DCO	mg/l	120	130
7	DBO ₅	mg/l	35	40
8	Aluminium	mg/l	3	5
9	Substances toxiques bioaccumulables	mg/l	0.005	0.01
10	Cyanures	mg/l	0.1	0.15
11	Fluor et composés	mg/l	15	20
12	Indice de phénols	mg/l	0.3	0.5
13	Hydrocarbures totaux	mg/l	10	15
14	Huiles et graisses	mg/l	20	30
15	Cadmium	mg/l	0.2	0.25
16	Cuivre total	mg/l	0.5	1
17	Mercure Total	mg/l	0.01	0.05
18	Plomb total	mg/l	0.5	0.75
19	Chrome total	mg/l	0.5	0.75
20	Etain total	mg/l	2	2.5
21	Manganèse	mg/l	1	1.5
22	Nickel total	mg/l	0.5	0.75
23	Zinc total	mg/l	3	5
24	Fer	mg/l	3	5
25	Composés organiques chlorés	mg/l	5	7

pH : Potentiel d'hydrogène.

DBO₅ : Demande biologique en oxygène pour une période de cinq (5) jours.

DCO : Demande chimique en oxygène.

MES : Matière en suspension.

Tableau n°02: Tolérance a certaines valeurs limites des paramètres de rejets d'effluents liquides industriels textiles.

Paramètres	Unité	Valeurs limites	Tolérances aux valeurs limites anciennes installations
Température	°C	30	30
pH		6.5-8.5	6-9
DBO ₅	mg/l	150	200
DCO	mg/l	250	300
Matière décantable	mg/l	0.4	0.5
Matière non dissoute	mg/l	30	40
Oxydabilité	mg/l	100	120
Permanganate	mg/l	20	25

Résumé

Les eaux usées industrielles sont des milieux favorables au développement de nombreux microorganismes à cause de leur richesse en matières polluantes.

Notre travail porte sur l'analyse microbiologique et physicochimique des eaux usées de l'usine de SOFACT-TISSEMSILT, pour connaître les différentes espèces microscopiques vivant dans ces eaux.

Les résultats que nous avons trouvés nous ont permis de caractériser les eaux usées de cette usine en déterminant un certain nombre de paramètres physico-chimiques (pH, Température, Conductivité électrique, Matière en suspension, Matière oxydable et l'alcalinité) et microbiologiques (*Escherichia coli*, les germes aérobies, les Coliformes totaux et les champignons). Dans un deuxième temps nous avons testé un biotraitement au niveau du laboratoire en utilisant certains germes (*Escherichia coli*, les germes aérobies, les Coliformes totaux et les champignons). Les résultats obtenus après traitement montrent une diminution de certains paramètres (pH, Température, Matière en suspension et Matière oxydable).

Mots clé :

Bio-traitement, Les eaux usées, Analyse microbiologique, Analyse physicochimique.

الملخص

- إن المياه الملوثة الصناعية هي الوسط الملائم للعديد من الكائنات الحية المجهرية كونها غنية بالمواد الملوثة

- عملنا يركز على التحليل الميكروبيولوجي والفيزيوكيميائي للمياه الملوثة لمصنع النسيج لولاية تيسمسيلت لمعرفة مختلف الكائنات الحية الموجودة في هذه المياه.

-النتائج التي تحصلنا عليها سمحت لنا بتحديد المياه الملوثة للمصنع عن طريق تكلمة بعض العوامل الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجيا. من جهة ثانية قمنا باختبار معايرة على مستوى المخبر استعملنا بعض الأنواع للكائنات الحية المجهرية
النتائج المحصل عليها تبين انخفاض بعض العوامل.

الكلمات المفتاحية : علم المعالجة- المياه الملوثة – تحليل الميكروبيولوجية. الفيزيوكيميائية –تحليل الميكروبيولوجية.

