

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de L'enseignement Supérieur

et de la Recherche Scientifique

Université IBN KHALDOUN Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de mastère Académiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée à L'Environnement

THÈME :

Caractérisation physico-chimiques et microbiologiques des eaux usées de la
(SOFACT- TISSEMSILT), et essai de leur biodégradation.

Présenté par :

- M^{elle} Bouleghmame Horiya
- M^{elle} Chermat Nour Elhouda
- M^{elle} Chettah Khadidja

Membres de jury :

Examineur : Mme. Rezzoug. W

Promoteur : Mr. Sassi. M

Année universitaire : 2016-2017

Remerciements

*Tout d'abord nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à « Allah » qui nous donne
la patience et la volonté de faire ce travail.*

*Nous remercions notre promoteur **Mr Sassi .M** pour ses orientations, son aide et ses conseils.*

*Nous remercions les membres de jury Mme **Rezzoug .W** qui a bien voulu juger notre travail.*

Nous tenons à remercier particulièrement les responsables de l'usine de textile

***SOFACT de Tissemsilt** qui nous ont facilité les tâches tout au long de ce travail.*

*Nous associons à ces remerciements l'ensemble des membres du laboratoire, et à tout ceux qui
ont participé à la réalisation de notre travail de près et de loin.*

DEDICACE

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

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

A mes Sœurs : Fatima, Naima, Aicha, Kheira, Ahlem, Imen, Loubna, Kawthar.

*A mes frères : Ali, Brahim, Mohamed El Amin, Nassim, Abdenour,
Nabil, Oussama, Akram, Mohamed, Adam.*

A mes nièces : Amani et basma.

A mon fiancé : Abdessalem.

Aux membres de toute ma famille sans exception.

A mes collègues dans ce travail : Nour el Houda et Khadidja.

A tous mes amies et spécialement: Hassiba, Dalila, Asma, Zahira, fatima.

A ma promotion de 2^{ème} année master Microbiologie appliquée à l'environnement.

*Enfin, Je dédie ce travail à toute personne qui m'a aidée de le réaliser de près ou
De loin sans exception.*

HORIYA

DEDICACE

*Avant tout je remercie Dieu qui m'a guidé tout le long de ce chemin afin de
réaliser ce modeste travail.*

Je dédie ce modeste travail :

*A mes adorables parents, Mansour et Zohra Qui m'ont toujours encouragé
durant mes années d'étude.*

A mes chers frères et sœur, Kader, Fatteh, Amine, Didou, Martin, Nafissa, Nesrine, Marie, Nesrine.

*Je vous réserve la plus grande partie de ce travail .vous avez toujours été pour nous d'une aide très précieuse
.je vous remercie pour tous les bienfaits que chacun a pu faire pour moi.*

Pour les filles de ma sœur : Leny, Louisa.

A mon fiancé Boualem.

A toute ma famille Chermat sans exception.

A mes amies, Fatima, Khadidja, Saliha, Hadjira, Khadidja, Horiya.

Toutes les personnes qui ont une place spéciale dans mon cœur et dans ma vie.

Et tous les étudiants 2^{ème} année master de microbiologie appliquée à l'environnement.

NOUREL HOUDA

DEDICACE

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

*A 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 soeurs : Mohamed,
Fouad, Abd Errahman, Fatima, Hanan*

A toute la famille chettah.

A mon encadreur Mr Sassi M.

A mes collègues dans ce travail : Nour EL Houda et Horiya.

A mes copines : marok, Samya, Fatima, Hadjira, Rabiaa, Houda, Siham, Sabrine, Chahira

A mes amis : Fouad, Abd samad.

A ma promotion master 2 microbiologie appliquée à l'environnement

A tout ceux qui m'ont aidé dans ce travail de près ou de loin.

Khadija

La liste des abréviations

SOFACT	: Société de fabrication des couvertures textile
VF	: Viande Foie
TGEA	: Gélose à l'extrait de levure tryptonée
BCPL	: Brouillon au pampre de bromocésolé
SM	: Suspension mère
S/C	: Simple concentré
D/C	: Double concentré
ERI	: Eau résiduaire industriel
J.O	: Journal officiel
N	: Normalité
q.s.p	: Quantité suffisante pur
min	: minute
S	: Second
meq	: milliéquivalent
pH	: potentiel hydrogène
CE	: Conductivité électrique
Mox	: Matière Oxydable
MES	: Matière en suspension
TA	: Titre Alcalimétrique
DBO	: Demande biochimique en oxygène
DCO	: Demande chimique en oxygène

Introduction

Introduction

L'eau est à l'origine de la vie sur terre, elle est indispensable à la survie des êtres vivants, mais elle peut être un véhicule des maladies fatales et un élément de destruction environnementale si elle est polluée.

Actuellement on utilise quotidiennement une grande quantité d'eau pour l'industrie, l'agriculture et les activités ménagères. **(Chahbi. T et Tir ,2009).**

L'eau est le vecteur choisi par l'homme pour éliminer la majorité des déchets. Les multiples utilisations de l'eau par l'homme donne lieu à la formation d'eaux usées, présentes en différentes concentrations en polluants. Par ailleurs, presque tous les processus industriels et artisanaux consomment de l'eau et rejettent des eaux résiduaires. **(Emilian Koller, 2004).**

L'homme et son environnement sont actuellement menacés par les eaux usées en général et les eaux industrielles en particulier, ces dernières contiennent de nombreux microorganismes adaptés à ces milieux riches en matière organique. les eaux usées sont des liquides de composition hétérogène chargés de matière minérale ou organique, pouvant être en suspension ou en solution , et dont certaines peuvent avoir un caractère toxique. A cette charge s'associent presque toujours des matières grasses et des matières colloïdales. **(Emilian Koller ,2004).**

Les eaux résiduaires industrielles ont généralement une composition plus spécifique et directement lié au type d'industrie considéré. Indépendamment de la charge de la pollution organique ou minérale, de leur caractère putrescible ou non, elles peuvent présenter des caractéristiques de toxicité liée aux produits chimiques transportés. Etant donné la très grande variété des produits utilisés dans l'industrie, le travail de l'analyste sera toujours délicat et compliqué par la présence de matières organiques et minérales en quantité importante. **(Rodier, 2005).**

Le volume et la qualité des eaux résiduaires varient non seulement d'une usine à l'autre, mais peuvent aussi varier fortement au sein d'une même usine, selon la nature et le nombre des processus de fabrication. **(KOLSCHÜTTER.H et al, 1977).**

Le traitement des eaux résiduaires industrielles s'étudie au cas par cas. La composition chimique de l'effluent détermine le traitement adéquat.

Introduction

L'objectif principal du traitement est de caractériser et produire des effluents traités à un niveau approprié et acceptable du point de vue du 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 des effluents de qualité chimique et microbiologique exigé pour un certain usage spécifique. **(Berrim .w et Merzoug .f, (2011).**

Chapitre I

Matériel et Méthodes

1. L'objectif de travail

Notre travail consiste à caractériser les eaux usées industrielles de la société de fabrication des couvertures textiles (**SOFACT Tissemsilet**) du point de vue microbiologique et physicochimique. Dans une deuxième étape nous avons procédé à un test de traitement biologique en utilisant des microorganismes isolés à partir des eaux résiduaires non traitées de cette usine (*E. coli*, et les levures).

2. Zone d'étude

À partir d'un bassin primaire de l'usine de l'industrie textile on a fait un prélèvement des eaux résiduaires afin de faire un traitement.

Notre étude se déroule aux niveaux des laboratoires de microbiologie, de technologie alimentaire et de biochimie de la faculté des sciences de la nature et de la vie. (**IBN Khaldoun .Tiaret**).

3. Protocole expérimental

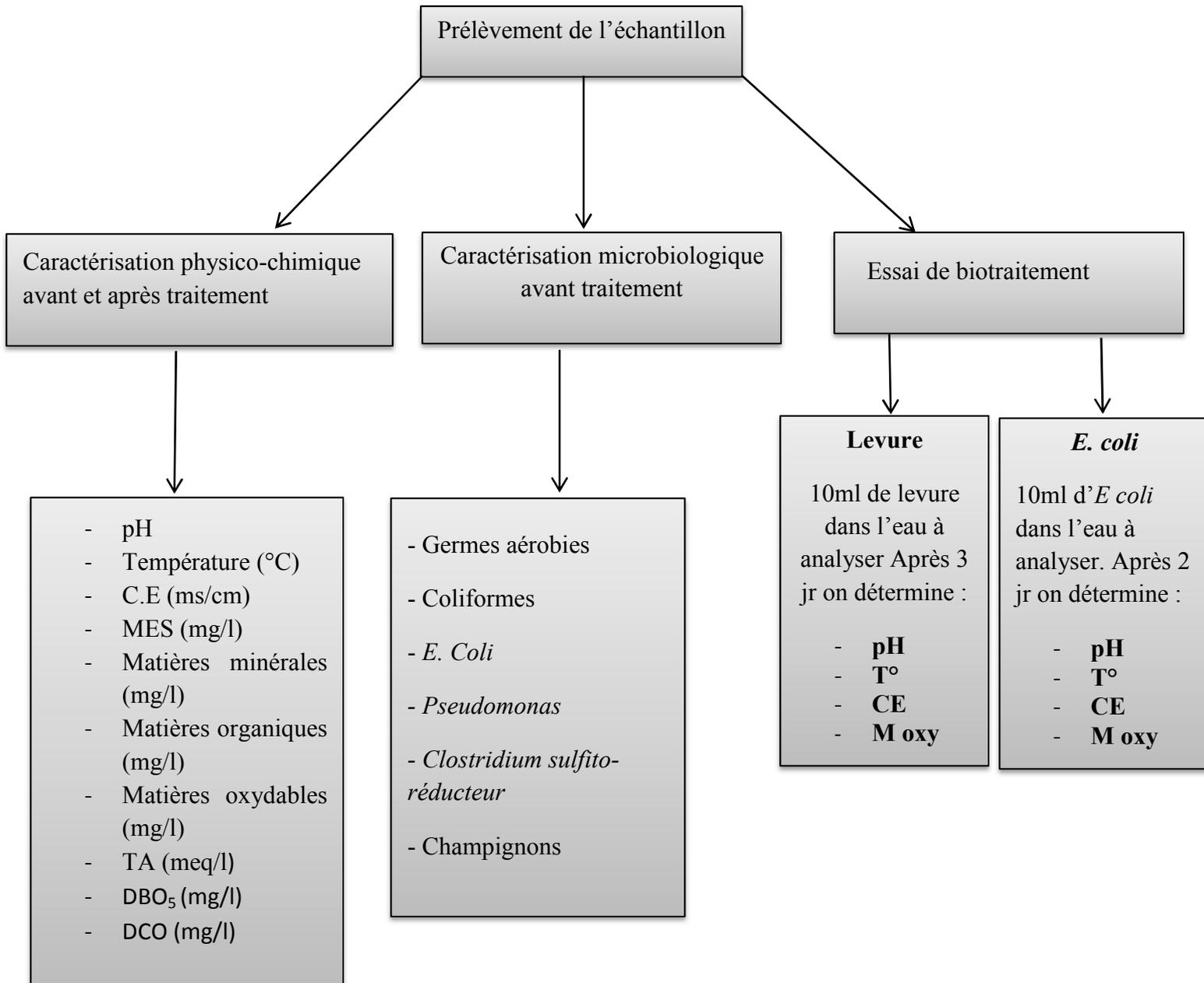


Figure N°01 : Schéma de protocole expérimental.

4. Matériels et méthodes

4.1. Matériels

4.1.1. Appareillages

- Bain marie.
- Etuve.
- Agitateurs.
- Autoclave.
- Bec Bensen.
- Thermomètre.
- Conductimètre.
- pH mètre.
- Dessicateur.
- Balance.

1.1.2. Les Verreries

- Pipette pasteur.
- Boite pétri.
- Anse de platine.
- Flacon.
- Tube à essais.
- Pipettes graduées.
- Bechers,
- Burette.
- Papier filtre.
- Eprouvette.
- Erlen meyer.

1.1.3. Les milieux de cultures et les reactifs

- TGEA.
- BCPL(DC /SC).
- VF.
- king A.
- King B.

- Mc conkey.
- Sabouraud.
- Solutin d'acide oxalique.
- Solution d'acide sulfurique.
- Solution de permanganate de potassium KMnO₄.
- Solution tampon (pH=4, pH=7).
- Eau distillée.
- Agar Agar.
- Sulfite de sodium.
- Solution d'alun de fer
- Les indicateures colorée :
 - Solution alcoolique de phénophtaline.
 - Solution de methyle orange.

4.2. Méthode

4.2.1. Prélèvement des échantillons

- Nous avons effectué deux prélèvements dans des conditions aseptiques.
 - Le 1^{er} prélèvement a été effectué le 08 Mars 2017. Il contient l'échantillon avant traitement à l'aide de flacons stériles.
 - Le 2^{ème} prélèvement a été fait le 24/04/2017 comporte l'échantillon après traitement.

4.2.2. Transport et conservation des échantillons :

Les analyses microbiologiques doivent être commencées moins de six heures après le prélèvement, si le transport dépasse une heure et si la température extérieure est supérieure à 10°C. Le prélèvement doit se faire obligatoirement en glacière.

En fin, les prélèvements sont placés au froid de leur arrivée au laboratoire avant le début des analyses généralement 4 °C.

4.2.3. Analyses physico-chimiques

4.2.3.1. Détermination du pH

La mesure du pH doit s'effectuer sur place de préférence, par la méthode potentiométrique. La mesure électrique quoique délicat peut seule donner une valeur exacte car elle est indépendante du potentiel d'oxydo-réduction (**Rodier, 2005**).

Mode opératoire

- Allumer l'appareil.
- Brancher l'électrode de verre.
- Rincer l'électrode avec l'eau distillée.
- Etalonner l'appareil par deux solutions Tampon pH=04 et pH=07.
- Tremper l'électrode de pH mètre dans la solution.
- Laisser stabiliser un moment.
- Enlever l'électrode et rincer à l'eau distillée.
- Prendre environ 100 ml d'eau à analyser.
- Tremper l'électrode dans le bécher.
- Laisser stabiliser un moment.
- Puis noter le pH.

4.2.3.2. Détermination 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 faite sur place (**Rodier, 2005**).

4.2.3.3. Mesure de la conductivité électrique

La conductivité, qui varie en fonction de la température, est étroitement liée à la concentration des substances dissoutes et à leur nature, l'unité de conductivité est le siemens par mètre (S/m). (**Rodier, 2005**).

Mode opératoire

Rincer plusieurs fois l'électrode, d'abord avec l'eau distillée Puis en les plongeant dans un récipient contenant de l'eau à examiner, en prenant soin que l'électrode de platine soit complètement immergée. (Boutiba et benelhadj djelloul, 2011).

4.2.3.4. Détermination de la matière en suspension (totale, organique et minérale)

Les MES désignent toutes les matières minérales ou organiques qui ne se solubilisent pas dans l'eau et la troublent. (Emilian, 2004).

La détermination des matières en suspension dans l'eau s'effectue par filtration sur fibre. Les teneurs en M.E.S sont obtenues après séchage à 105°C (Rodier, 2005).

Principe

D'après Rodier(2005), L'eau est filtrée et le poids de matières retenues par le filtre est déterminé par pesée différentielle.

Mode opératoire

Laver le disque de filtration à l'eau distillée, le sécher (105°C) jusqu'à masse constante, puis le peser après passage au dessiccateur. Le mettre en place sur l'équipement de filtration. Verser l'échantillon sur le filtre. Rincer la fiole ayant contenu l'eau à analyser avec 10 mL d'eau permutée.

Laisser essorer le filtre, sécher à (105°C). Laisser refroidir au dessiccateur et le peser jusqu'à masse constante (Rodier, 2005).

Expression des résultats

La teneur de l'eau en matières en suspension (mg/L) est donnée par l'expression :

$$\frac{M_1 - M_0}{V} \times 1000$$

M_0 = masse du disque filtrant avant utilisation (mg).

M_1 = masse du disque filtrant après utilisation (mg).

V = volume d'eau utilisé (mL).

4.2.3.5. Détermination des matières oxydables en milieu acide

Ce paramètre Présente dans l'eau quelle que soit leur origine organique ou minérale, biodégradable ou non (Ouali, 2001).

Principe

Le test consiste à mesurer en milieu acide la quantité d'oxygène utilisée pour la réduction du permanganate de potassium par les matières oxydables contenues dans une eau. (Rodier, 2005).

Réactifs

- **Solution d'acide oxalique à 0,1N :**
 - $C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O$6,3033 g.
 - H_2SO_4 (d=1,84).....50 ml.
 - H_2O distillée.....q.s.p.1000 ml.
- **Solution d'acide oxalique à 0,01N :**
 - $H_2C_2O_4$ à 0,1N.....100 ml.
 - H_2SO_4 concentré.....50 ml.
 - H_2O distillée.....q.s.p.1000 ml.
- **Solution d'acide sulfurique diluée:**
 - H_2SO_41 volume.
 - H_2O distillée.....3 volume.
- **Solution de permanganate de potassium à 0,1N :**
 - $KMnO_4$3.1608 g.
 - H_2O distillée bouillante.....q.s.p.1000 ml.
- **Solution de permanganate de potassium à 0,01N :**
 - Solution de $KMnO_4$ à 0,1N.....100 ml.
 - H_2O distillée.....q.s.p.1000 ml.

Mode opératoire

- Prendre 100 ml d'eau à analyser.
- Ajouter 5 ml H₂SO₄ diluée et porter à l'ébullition pendant 1min.
- Ajouter 15 ml de KMnO₄ à 0,01N avec 10min d'ébullition régulière et douce.
- Ajouter 15 ml d'acide oxalique à 0,01N.
- Titrer à chaude avec KMnO₄ à 0,01N jusqu'à coloration rose claire qui persiste 15 à 20 secondes.
- Un essai à blanc est nécessaire.

Expression du résultat

On indique les résultats comme oxydabilité (consommation de permanganate de potassium) en mg KMnO₄/l, aussi en mg/ d'O₂/l.

$$\text{mg KMnO}_4/\text{l} = \frac{(V-V_0) \times f \times 316}{PE}$$

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

V₀ : ml KMnO₄ à 0,01N nécessaire pour le dosage du blanc.

V : ml de KMnO₄ à 0,01N nécessaire pour le dosage de l'échantillon.

f : facteur de correction du titre de KMnO₄ à 0,01N (f=1).

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

4.2.3.6. Titre Alcalimétrique

Le titre alcalimétrique (TA) correspond à la teneur de l'eau en ions hydroxydes et carbonates, il est défini par l'équation suivante :

$$\text{TA} = [\text{OH}] + [\text{CO}_3^{-2}]$$

Principe

La détermination du TA est basée sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par acide dilué en présence d'un indicateur coloré.

Mode opératoire

On prélève 100 ml d'eau dans un bécher, on ajoute 1 à 2 gouttes de solution alcoolique de phénophtaléine ; une coloration rose doit persister. Si cette coloration n'apparaît pas, le TA est nul. On verse ensuite doucement l'acide (HCL) dans le bécher à l'aide d'une burette, en agitant constamment et ceci jusqu'à la décoloration complète de la solution.

Le résultat est exprimé par la formule suivante :

$$TA = V / C \text{ meq/l}$$

Cette formule exprime le titre alcalimétrique en milliéquivalents par litre. Ou bien TA=V qui exprime le titre alcalimétrique en degré français (**1°F correspond à 10g de CaCO₃**).

4.2.3.7. Détermination de la demande biochimique en oxygène (DBO)

La DBO est la quantité d'oxygène exprimé en mg/l nécessaire aux micro-organismes pour assurer l'oxydation et la stabilisation des matières organiques présente dans l'eau usées, par convention la DBO est la valeur obtenue après cinq jours d'incubation (**BENARBIA 1992**).

Réactifs

1. Iodide acide
2. Théosulfate de sodium (Na₂S₂O₃·5H₂O)
3. Sulfate de Manganèse (MnSO₄·H₂O)
4. Acide sulfurique H₂SO₄

Mode opératoire

Prélèver 148 ml d'eau distillée avec 2ml d'eau à analyser, ajouter 01 ml de solution sulfate de manganèse puis 01 ml d'iodide acid.

Laisser 10 min puis ajouter 0,5 ml d'acide sulfurique (H₂SO₄).

Titre 100 ml de solution par Thiosulfate de sodium.

4.2.3.8. Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO)

La DCO est la quantité d'oxygène consommée par les matières existant dans l'eau et oxydables dans des conditions opératoires définies. En fait la mesure correspond à une estimation des matières oxydables présentes dans l'eau, quelle que soit leur origine organique ou minérale. (Rodier, 2005).

Réactifs

1. $\text{Ag}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$ (solution sulfurique de sulfate d'argent)
2. $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 + \text{Eau}$ distillée (dichromate de potassium)
3. Sel de mohr $\text{H}_8\text{Fe}_2\text{O}_8 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (pour titrage)
4. HgSO_4 (sulfate de mercure)

Mode opératoire :

Ajouter 01g de HgSO_4 dans 50ml d'eau à analyser et ajouter 05 ml de solution sulfurique de sulfate d'argent.

Ajouter 25 ml de dichromate de potassium ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) puis ajouter 70 ml de solution sulfurique de sulfate d'argent

Chauffer pendant 2heures à 148 °C

Laisser refroidir et ajouter l'eau distillée jusqu'à 350 ml de solution

Titration : Ajouter quelques gouttes de réactif ferroïne et titrer jusqu'à obtenir le virage au rouge.

4.2.4. Analyse microbiologique

4.2.4.1. Recherche des Bactéries

Préparation des dilutions

La technique générale des dilutions en milieu liquide est réalisée suivant le protocole à dessous :

- Prendre Cinq tubes stériles contenant chacun 09 ml de milieu de dilution (**Eau physiologique**), à 01ml de l'échantillon ou de la suspension mère et mélanger avec 09 ml de milieu de dilution au **1/10** dans 9 ml de milieu de dilution (**tube N° 01**): **dilution 1/10**.
- Transférer 01 ml de la dilution au **1/10** dans 09 ml de milieu de dilution (**tube N° 02**), agiter la dilution.
- Homogénéiser bien chaque dilution pendant 5 à 10 secondes avant chaque prélèvement.
- Changer la pipette entre chaque dilution.
- Transférer 01 ml de la dilution au **1/100** dans 09 ml de dilution (**tube N°03**), agiter la dilution.
- Transférer 01 ml de la dilution dans 09 ml de dilution (**Tube N°04**), agiter la dilution.
- Transférer 01 ml de dilution au **1/10000** dans 09 ml de dilution (**Tube N°05**), agiter la dilution.

4.2.4.1.1. Recherche des germes aérobies

Définition

Dans sens de cette méthode, on entend par micro-organismes, exemple : Bactéries, Levures, moisissures, se développant en anaérobie, lorsque l'essai est effectué selon la méthode spécifique. (**RODIE et coll, 2005**).

Mode opératoire

A partir des dilutions décimales allant de 10^{-5} à 10^{-1} , porter aseptiquement 0,1 ml dans une boîte de pétri vide et numérotée, compléter ensuite avec environ 20 ml de gélose (**TGEA**), laisser solidifier sur la paillasse quelques minutes.

- La première série contient **05** boîtes est incubée à **22 °C** pendant 3 à 5 jours.
- La seconde série contient **05** boîtes est incubée à **37 °C** pendant 24 heures.

4.2.4.1.2. Recherche des coliformes et coliformes thermo tolérants (*E. coli*)

Définition

Ce sont des bacilles à gram négatif, non sporulés, oxydase négatif, aéro-anaérobies ou anaérobie facultatifs.

Ils peuvent se développer en présence de sels biliaires ou d'autres agents de surface équivalents.

Ils fermentent le lactose avec production d'acides et de gaz en 48 heures à une température de 35 à 37°C. Elles appartiennent à la famille des *Entérobacteriacees* et sont surtout représentées par quatre genres dans les échantillons naturels : *Citobacter*, *Escherichia*, *Entérobacter* et *Klebsiella*.

Mode opératoire

- Cette méthode consiste à la recherche des coliformes et coliformes thermo tolérants (**coliformes fécaux**) dans les eaux en milieu liquide.

- Ensemencer 03 tubes de bouillon de **BCPL D/C** avec chacun 10 ml d'eau à analyser.
- Ensemencer 03 tubes de bouillon de **BCPL S/C** avec chacun 01 ml d'eau à analyser, puis suivre le même protocole avec les autres 03 tubes simple concentration, ensemencer chacun par 0,1 ml d'eau à analyser. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 heures.

- **Lecture** : Seront considéré comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- ✓ Un dégagement de gaz (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche).
- ✓ Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune.

4.2.4.1.3. Recherche des *E. Coli*

Définition

Escherichia coli ou « colibacille » est l'hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud ; c'est un coliforme fécal, germe indicateur de contamination fécale dans les eaux et les aliments.

Les souches d'*Escherichia coli* responsables d'infections chez l'homme sont différentes de celles qui constituent l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie des adultes et des enfants.

Mode opératoire

A partir des dilutions décimales 10^{-5} à 10^{-1} , porter aseptiquement 0,1 ml dans une boîte de pétri contenant la gélose Mac conkey.

Etaler les gouttes à l'aide d'un râteau stérile, puis incuber à 37 °C pendant 24 h.

- **Lectures** : après l'incubation sur ce milieu de culture ;
- ✓ Les colonies rose à rouge, parfois entourées d'un halo opaque de sels biliaires précipités sont lactose (+).
- ✓ Les colonies incolores ou faiblement colorées à beige sont lactose (-).

4.2.4.1.4. Recherche des *Pseudomonas*

Définition

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie Gram négative qui se développe sur des milieux sélectifs contenant du cétrimide et qui produit de la pyocyanine, pigment bleu-vert. La plupart des souches (98%) produisent un pigment jaune-vert fluorescent soluble dans l'eau.

Mode opératoire

A partir des dilutions décimales allant de 10^{-5} à 10^{-1} , porter aseptiquement 0,1ml dans une boîte de pétri vide et numérotée, compléter ensuite avec environ 20 ml de gélose King A / King B, laisser solidifier sur la palliasse pendant quelques minutes.

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

- **Lecture** : l'absence des colonies après incubation de 24 h de la boîte pétrie, est considérée comme négatifs (**l'absence de *Pseudomonas aeruginosa***).

Les résultats sont considéré comme positifs lorsque les apparaissent verts. (C'est-à-dire les colonies pigmentées en bleu vert donc productrices de pyocyanine sont considérés d'emblée comme les colonies).

4.2.4.1.5. Recherche des *clostridium Sulfito-réducteur*

Définition

Ces bactéries sont considérées comme des témoins de pollution fécale. Les formes sporulées, plus résistantes, que les formes végétatives, mettent en évidence une contamination ancienne. Parmi les *clostridium sulfito-réducteurs*, une espèce *clostridium perfringens* est plus spécifiquement d'origine fécale.

Mode opératoire

A partir de l'eau à analyser transférer environ 25ml dans une boîtes stériles, qui sera par la suite soumis à un chauffage de l'ordre de 75 °C pendant 15 minutes ,dont le but de détruire toutes les formes végétatives des bactéries anaérobies *sulfito-réductrices* éventuellement présente .Un autre flacon rempli d'une autre eau survira de témoin de température.

- Après chauffage, refroidir immédiatement le flacon destiné à l'analyse sous l'eau de robinet.
 - Porter aseptiquement 4 fois 5ml d'eau à analyser dans 4 tubes à essai stérile.
 - Ajouter environ 20 ml de la gélose viande foie, fondue puis refroidie à 47 ≠ 1°C, (+ additifs) ajouter à chaque tube 1 ml de la solution de sulfite de sodium et 04 gouttes de la solution d'alun de fer.
 - Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant d'introduire des bulles d'air et de l'oxygène.
 - Laisser solidifier sur la paillasse pendant 30mn environ, puis incuber à 36±2 °C pendant 44±4 heures.
- ✓ **Lecture** : se manifeste par l'apparition des colonies noires de *clostridium*.

4.2.4.2. Recherche des champignons

Définition

Les champignons sont des microorganismes filamenteux, dont l'élément structural est l'hyphe, plusieurs hyphes formant le mycélium ou thalle.

Les champignons microscopiques ou mycètes comprennent :

- Les levures ; champignons unicellulaires.
- les moisissures ; champignons filamenteux.

Mode opératoire

A partir des dilutions décimales, 10^{-5} à 10^{-1} ; porter aseptiquement 0,1 ml dans une boîte de pétri contenant de la gélose OGA ou sabouraud.

Etaler à l'aide d'un râteau stérile, puis incuber à 37 °C pendant 24 heures.

✓ **Lecture** : Après l'incubation à 24 h on observe des colonies développées.

4.2.5. Essai de biotraitement**4.2.5.1. Préparation de la solution de Mac farland****Mode opératoire****Matriels utilisés**

- Eprouvette.
- Pipette graduée.
- Becher.
- Bec bensen.
- Burette.
- Tube à essai.

✓ Préparation de l'inoculum

La preparation de l'inoculum doit être en conditions optimum (**pH =06 ; T°=45°C**), incubation **22-24 h**.

✓ Standardisation de l'inoculum

La standardisation de l'inoculum permet la determination de la taille de l'inoculum [**de 10^7 à 10^8 germe /ml**] afin d'avoir une bonne croissance bacterienne (**croissance logarithmique**).

Pour la determination de la taille de l'inoculum la technique la plus pratique est celle de Mac farland (**premiere echelle 0,5 ml (BaCl₂) +99,5 ml(H₂So₄)**) qui consiste à une comparaison visuelle entre la solution de Mac farland et la solution qui contient la suspension bacterienne.

✓ **Préparation de solution de Mac Farland**

On prend 1% de H_2SO_4 puis on ajoute 17,5 % de $BaCl_2$.

❖ **Solution de $BaCl_2$:**

1 ml \longrightarrow X

100 ml \longrightarrow 17.5g $X = \frac{17,5 \times 1}{100} = 0,175g (BaCl_2)$.

❖ **Solution de H_2SO_4 :**

On prend 50 ml de H_2SO_4 dans une éprouvette, on ajoute 50 ml puis on prélève 0,5 ml pour avoir 99,5 ml.

On prend 10 ml de solution de Mac Farland dans un tube à essai, D'un autre côté, on prend 10ml d'eau distillée ; on ensemence la suspension bactérienne, et on agite jusqu'à ce qu'on obtient une solution similaire à celle de Mac Farland "solution de Mac Farland : solution bactérienne" donc la taille initiale de l'inoculum est de 10^7 à $10^8 \longrightarrow Do : [0,08 \text{ à } 0,13]$.

4.2.5.2. Biotraitement par *E. coli* et les levures**Mode opératoire**

Prendre 200 ml de l'échantillon (l'eau à analyser) dans un erlenmeyer.

Verser 10 ml de l'inoculum (suspension qui contient *E. coli* ou levures) puis agiter.

Laisser pendant 2 jours puis déterminer les paramètres.

Chapitre II

Résultats et Discussion

1. Résultats des Analyses physico-chimiques

Les résultats de la caractérisation physico-chimique de l'effluent industriel avant et après traitement au niveau de l'usine, réalisés au niveau du laboratoire de Technologie Alimentaire, sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau N°01 : Valeurs de quelques paramètres physico-chimiques de l'effluent industriel avant et après traitement.

Paramètres		Avant traitement	Après traitement	Normes (J.O, 2006)
01	pH	7,5	8	6,5-8,5
02	Température	16 °C	17,1 °C	30 °C
03	Conductivité électrique	59,8 mS	41,2 mS	-
04	MES	99 mg/l	-	30 mg/l
05	Matières minérales	78,5 mg/l	-	-
06	Matières organiques	20,5 mg/l	-	-
07	Matières oxydables	18,96 mg/l	20 mg/l	20 mg/l
08	Titre alcalimétrique	0,18 meq/l	-	-
09	DBO ₅	340 mg/l	20 mg/l	150 mg/l
10	DCO	510 mg/l	80 mg/l	250 mg/l

1.1. pH

Nous avons remarqué que dans l'eau usée avant traitement la valeur de pH est 7.5, cette valeur tend à augmenter dans les eaux usées après traitement à 8, ces valeurs sont conformes à la norme algérienne des rejets industriels et qui situent entre 6,5 et 8,5 (**Le décret exécutif N°06-141,2006**).

1.2. Température

Nous avons remarqué que la température de l'effluent industriel varie entre 16°C (avant traitement) et 17,1°C (après traitement). Ces valeurs répondent effectivement aux normes algériennes de rejets industriels (**Le décret exécutif N° 06- 141, 2006**).

1.3. Conductivité électrique

Le résultat que nous avons obtenus pour l'eau usée avant traitement est de 59,8 mS/cm, cette valeur peut être expliquée par la présence des matières chargées électriquement notamment la minéralisation globale des eaux, pour les eaux usées après traitement cette valeur s'abaisse à 41,2 mS /cm.

1.4. Matière en suspension

La teneur des MES avant traitée est de 99 mg/l, cette valeur de l'effluent avant traitement est plus élevée par rapport aux normes algérienne des rejets industriels et qui se situent entre 30 et 34,33 mg/l. **(Le décret exécutif N°06-141,2006).**

1.5. Matières oxydables

Nous avons trouvé que la valeur moyenne des matières oxydables, donnée en mg d'O₂/l est de 18,96 mg/l pour l'eau non traitée et qui est inférieure à celle de l'eau après traitement qui est de 20 mg/l. Les valeurs trouvées montrent qu'il n'y a pas de différence avant et après traitement et elles sont conformes aux normes des rejets industriels.

1.6. Demande biochimique et chimique en oxygène (DBO et DCO)

La DBO₅ de l'eau de l'entrée est de 340 mg/l, cette valeur est plus grande que la norme des rejets industriels textiles qui est de 150 mg/l. Alors que la DCO est de 510 mg/l, ce qui dépasse la norme algérienne qui est de 250 mg/l.

Par contre pour l'eau de sortie les valeurs de ces deux paramètres tendent à diminuer dont la DBO₅ qui est de 20 mg/l et la DCO de 80 mg/l, ces deux valeurs sont conformes aux normes des rejets industriels.

3. Résultats de l'analyse microbiologiques

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

Tableau N° 02 : Valeurs de paramètres microbiologiques de l'effluent industriel.

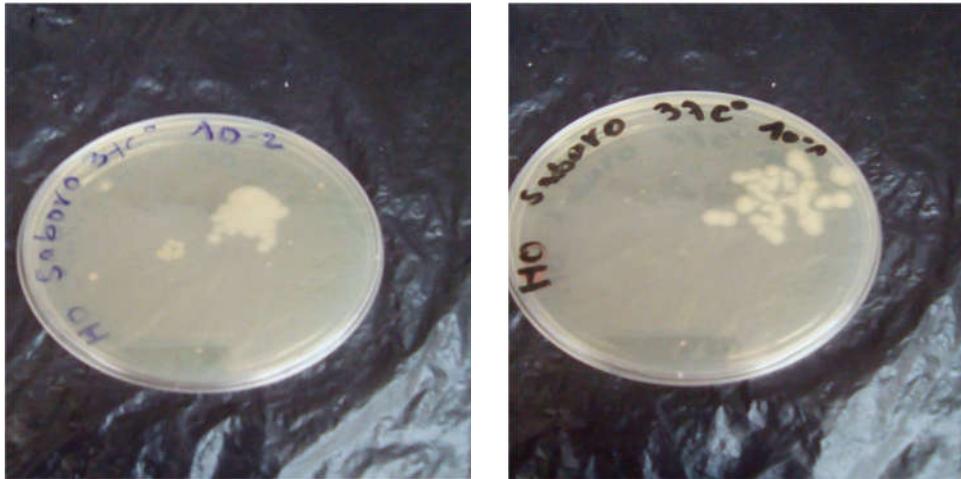
Micro-organisme	Eau usée avant Traitement
Germes aérobies à 37 c°	Présence
Germes aérobies à 22 c°	Présence
Coliformes et coliformes fécaux	Présence
Clostridium sulfito-réducteur	Absence
E. coli	Présence
Champignons	Présence
Pseudomonas aeruginosa	Absence

Ces résultats sont obtenus lors des prélèvements avant traitement.

- ✓ La présence des coliformes fécaux, germes aérobies, *Escherichia coli*, et les champignons (levures et moisissures).
- ✓ L'absence des clostridium *sulfito-réducteur* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Discussion

- ✓ La présence des germes aérobies peut être expliquée par le contact entre les eaux du bassin et l'air.
- ✓ La présence des colonies développées des champignons dans le prélèvement est due aux conditions favorables qui ont permis leur croissance.
- ✓ Les levures et moisissures sont naturellement présentes dans les processus de l'épuration (à la surface ou en bordures des décanteurs).
- ✓ La présence des coliformes peut être due à une contamination par des eaux sanitaires.



Présence des champignons (Levures et moisissures)



Présence des coliformes et coliformes thermo tolérant



Présence d'*E.coli*

Figure °N 02 : Résultats de quelques paramètres microbiologiques.

3. Résultats de l'essai de biotraitement

Les résultats obtenus après l'essai de biotraitement par des microorganismes (*E. Coli* et Levures) sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau N° 03 : Valeurs de quelques paramètres physico-chimiques après l'essai de biotraitement par *E. Coli* et les levures.

Paramètres		pH	Température	Conductivité	Matières oxydables
M.O					
Avant traitement au niveau de l'usine		7,5	16 °C	59,8 mS	18,96 mg/l
Après traitement au niveau de l'usine		8	17,1 °C	41,2 mS	20 mg/l
Biotraitement	Levure	7,1	21 °C	8,06 mS	22,4 mg/l
	<i>E.coli</i>	8	20 °C	6,5 mS	21 mg/l

Pour les paramètres pH et température la variation est minime. Nous avons noté une légère augmentation des matières oxydables qui peut être expliquée par l'ajout de la biomasse microbienne. La forte diminution de la CE pourrait être due à une forte déminéralisation.

Conclusion

Conclusion

Les eaux usées sont toutes les eaux qui parviennent dans les canalisations dont les propriétés naturelles, sont transformées par les utilisations domestiques, les entreprises industrielles, agricoles et autres. On englobe aussi, les eaux de pluie qui s'écoulent dans ces canalisations. **(Bliefert et peraud ,2001).**

Plusieurs études ont été faites sur les eaux résiduaires de l'industrie textile pour diminuer le degré de pollution en réalisant des caractérisations physicochimiques et microbiologiques qui nous permettent d'envisager un traitement biologique organisé par un microorganisme ciblé.

Les résultats obtenus après la détermination de ces paramètres microbiologiques et physicochimiques sont les suivants : on observe la présence des germes aérobies, et les *coliformes fécaux*, *Escherichia coli*, et les champignons (levures et moisissures), par contre l'absence des *clostridium sulfito-réducteur* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Pour les paramètres physicochimiques les résultats obtenus après traitement montrent une forte déminéralisation : La CE passe de 59,8 à 6 – 8 mS/cm. Cette diminution est plus importante que celle obtenu au niveau de l'usine. Les MOX ne montrent pas une grande variation.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- [01]- **AIT ABDERRAHIM. L et CHENNA. N, (2006)** : Biosorption du bleu de méthylène et de la fuschine en solution dans l'eau par une boue de laiterie thèse de magister . Université Ibn Khaldoun, Tiaret, **3p.**
- [02]- **BERRIM. W et MERZOUG. F, (2011)** : caractérisation microbiologique des eaux résiduaires industrielles de l'usine de textile (SOFACT- TISSEMSILT).Mémoire de master. Université Ibn Khaldoun, Tiaret, **18p.**
- [03]-**BOUTIBA. N et BENELHADJ. D, (2011)** : caractérisation et essai de traitement des eaux usées de SOTREFIT par une boue de laiterie. Mémoire de Master. Université Ibn Khaldoun, Tiaret, **47, 58, 61pp.**
- [04]- **CHAHBI.T et TIR. E (2009)** : caractérisation et essai de traitement des eaux résiduaires d'une industrie textile (SOFACT- tissemsilt.) par une boue de laiterie. Mémoire de master. Université Ibn Khaldoun, Tiaret.
- [05]- **DELARAS.C, (2007)** : Microbiologie pratique pour le laboratoire, ED. LAVOISIER, Paris, **230, 248, 254,317, 318pp ,342p.**
- [06]-**Emilian.K, (2004)** : traitement des pollutions industrielles. Dunod, Paris, **21pp ,23p.**
- [07]-**GAID.A, (1984)** : Epuration des eaux usées urbaines, tome 2 : office des publications Universitaires, centrale de Ben Aknoun. Alger, **262p.** **BENSFIA D et BOUKNINE R, (2011)** : Etude comparative de traitement des eaux résiduaires d'une industrie textile (SOFACT-Tissemsilt).par une boue de laiterie et le charbon actif. Mémoire de Master. Université Ibn Khaldoun, Tiaret **11p.**
- [08]-**KOHL SCH UTTER. H , (1977)** : les eaux résiduaires industrielles.2^{ème} édition, Paris, **669 p.**
- [09]- **MAHAMMED.Z et SAMI .N, (2010)** : La décoloration des eaux résiduaire d'une industrie textile (SOFACT-Tissemsilt) par une boue de laiterie traitée chimiquement (NaOH).Mémoire de master. Université Ibn Khaldoun, Tiaret, **27P.**
- [10]- **OUALI M.S (2001)** : cours de procédés unitaires biologiques et traitement des eaux. EDOPU, **156p.** **BENSFIA D et BOUKNINE R, (2011)** : Etude comparative de traitement

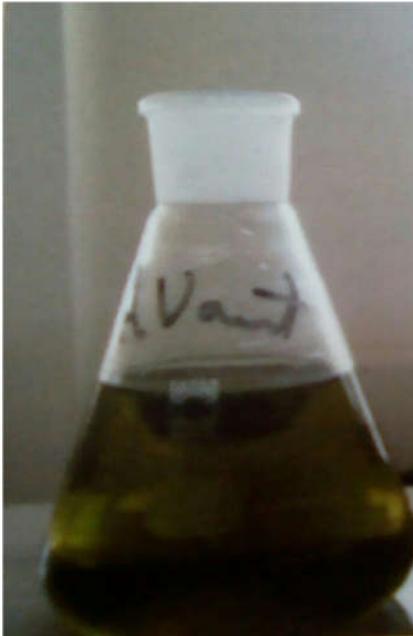
des eaux résiduaires d'une industrie textile (SOFACT-Tissemsilt). Par une boue de laiterie et le charbon actif. Mémoire de Master. Université Ibn Khaldoun, Tiaret **13p.**

[11]- **Rodier J, (2005)** : L'analyse de l'eau. 8^{ème} édition, ED DUNOD ,Paris , **23, 36, 37, 57, 66, 166,545 , 546PP, 564P.**

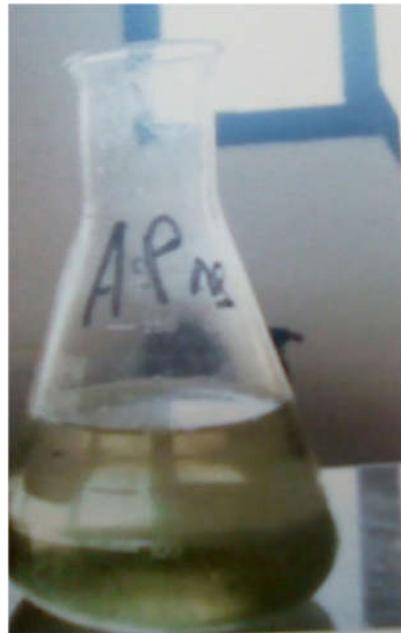
[12]- **SELEM ATTIA. S, (2006)** : Effet de traitement sur la qualité physicochimique des eaux industrielles de l'unité ORSIM de OUED RHIOU W. Relizane **40p.**

Annexe

Annexe 01 : eau à analyser



Eau usée avant traitement



Eau usée après traitement par *E.coli*.

Annexe 02 : Tolérance à certaines valeurs limites des paramètres de rejets d'effluents liquides industriels textiles (J.O, 2006) (24 Rabie El Aouel 1427 23 avril 2006)

PARAMETRES	UNITE	VALEURS LIMITES	TOLERANCE AUX VALEURS LIMITES ANCIENNES INSTALLATIONS
Température	°C	30	35
pH	-	6,5-8,5	6-9
DBO₅	mg /l	150	200
DCO	"	250	300
Matière décantable	"	0,4	0,5
Matière non dissoute	"	30	40
Oxydabilité	"	100	120
Permanganate	"	20	25

Annexe 03 :

Préparation des milieux de culture

Bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL) (coliformes et coliformes fécaux) : (Iddou, 1999)

❖ double concentré

Extrait de viande.....	6 g.
Peptone.....	10 g.
Lactose.....	10 g.
Pourpre de bromocrésol.....	0,06 g.
Eau distillée.....	1000 ml.
pH.....	6,7.

❖ Simple concentré

Extrait de viande	3 g.
Peptone.....	5 g.
Lactose.....	5 g.
Pourpre de bromocrésol.....	0,03 g.
Eau distillée.....	1000 ml.
pH.....	6,9.

❖ Gélose McConkey (*Escherichia coli*)

Peptone.....	10 g.
Lactose.....	10 g.
Sels biliaires.....	1 g.
Chlorure de sodium	5 g.

Rouge neutre.....	0, 03 g.
Gélose.....	15 g.
Eau.....	1000 ml.
Cristal violet.....	0,001g.
pH.....	7, 1.

Si la préparation est envisagée, il est préférable de stériliser par autoclavage à 120°C pendant 20 min le milieu de base (peptone, chlorure de sodium, gélose et eau), puis d'ajouter les autres ingrédients, de répartir en flacons de 25ml et de stériliser à nouveau à 110°C pendant 30min.

(MARCHAL et BOURDON ,1973).

❖ Gélose TGEA (germes aérobies) ; (Iddou, 1999)

Agar.....	15 g.
Tryptone.....	5 g.
Glucose.....	1 g.
Extrait de levure.....	2.5 g.
Eau distillée.....	1000 ml.
pH.....	7.

❖ Gélose King A (*Pseudomonas aeruginosa*)

Bacto-peptone(Difco) ou gelysate(BBL).....	20 g.
Glycérol.....	10 g.
Sulfate de potassium anhydre.....	10 g.
Chlorure de magnésium.....	1, 4 g.
Gélose (agar).....	15 g.
Eau distillée	1000 ml.
pH.....	7, 2

Faire chauffer doucement en agitant fréquemment. Laisser bouillir pendant une à deux minutes. Répartir et stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 min. laissé refroidir de manière à obtenir une pente et un petit culot. (MARCHAL et BOURDON, 1973).

Gélose sabouraud (levures et moisissures) ; (Raymond, 1979)

Glucose ou maltose.....40 g.
Peptone.....10 g.
Agar.....5 g.
Eau distillée.....11 ml.

❖ **Gélose VF (viande-foie) (*clostridium sulfitoréducteur*)**

Extrait viande-foie.....30 g.
Glucose.....2 g.
Amidon.....2 g.
Gélose.....12 g.
pH.....7, 6.

Répartir en tubes à essais (20 ml). Autoclaver 20min à 115°C. Ajouter avant emploi par tube de milieu en suspension 0.5 ml de sulfite de sodium à 5% et 4 gouttes de citrate de fer ammoniacal à 5%. Stériliser par filtration ou par ébullition. (Guiraud, 1998).

RESUME

Les eaux résiduaires contenant des rejets d'activités urbaines et industrielles, peuvent provoquer ou accroître la pollution du milieu naturel dans lequel elles sont rejetées.

Notre objectif est d'évaluer la qualité des eaux usées d'une industrie textile de la SOFACT Tissemsilt, par la détermination de quelques paramètres de pollution physicochimiques et microbiologiques et d'un autre côté de faire un test de biodégradabilité par un microorganisme ciblé.

Lors de ce travail on a déterminé les paramètres microbiologiques afin de rechercher quelques microorganismes comme les coliformes, les *Pseudomonas*, les germes aérobies, les *clostridium*s sulfite-réducteurs, *E. coli*, et les champignons. Pour les paramètres physico-chimiques on a déterminé la température, le pH, la matière en suspension, la matière oxydable, le titre alcalimétrique, et on a mesuré la conductivité électrique.

Le biotraitement effectué au niveau de laboratoire s'est montré plus efficace que celui effectué au niveau de l'usine du moins pour le paramètre CE.

Mots clés :

SOFACT, paramètres physico-chimiques, paramètres microbiologiques, biodégradabilité, microorganisme, Levure, *E.coli*.

الملخص:

المياه المستعملة المحتوية على بقايا النشاطات العمرانية والصناعية, تستطيع خلق التلوث في الوسط الطبيعي الذي ترمى فيه.

هدفنا هو تقييم نوعية المياه الملوثة الناتجة من مصنع الاغطية, عن طريق تحديد بعض مميزات التلوث الفيزيائية الكيميائية والميكروبيولوجية, ومن جهة اخرى عمل اختبار تحليل بيولوجي بواسطة كائن مجهري منتقى.

على مستوى هذا العمل قمنا بتحديد العوامل الميكروبيولوجية من اجل البحث عن بعض الكائنات المجهرية. بالنسبة للعوامل الفيزيائية الكيميائية قمنا بقياس الحرارة ومعدل الحموضة, المادة المترسبة, المادة المؤكسدة وقمنا ايضا بقياس الناقلية الكهربائية.

العلاج البيولوجي المحقق على مستوى المخبر اعتبر اكثر فعالية من العلاج المحقق على مستوى المصنع بالاعتماد على الناقلية الكهربائية.

الكلمات المفتاحية :

مصنع الاغطية لولاية تيسمسيلت, المعايير الفيزيائية الكيميائية, المعايير الميكروبيولوجية, التحليل البيولوجي, كائن مجهري, ايشيريشيا كولي, خميرة.