

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

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 Master académique

Domaine : **Sciences de la Nature et de la Vie**

Filière : **Biotechnologie**

Spécialité : **Biotechnologie microbienne**

Présenté par :

- Mostefai Mimouna

Thème

**Utilisation de lixiviat du centre d'enfouissement technique de Tiaret
pour produire de l'éthanol**

Soutenu publiquement le 27/06/2019, devant le jury composé de :

| | | | |
|-------------------|------------------------------|-------|----------------------|
| Présidente | : Mme. Ait Abderrahime Leila | M.C.B | Université de Tiaret |
| Examineur | : Mr. Sassi Mohammed | M.C.A | Université de Tiaret |
| Encadreur | : Mr. Ali-Nehari Abdelkader | M.C.B | Université de Tiaret |

Année Universitaire 2018-2019

Dédicaces

Je dédie ce travail à mon très cher papa et à ma regrettée maman.

A mon très cher mari, qui m'a soutenue tout au long de mon travail.

A mes frères et sœurs, nièces et neveux, qui se sont intéressés à mon objectif.

A tout les membres de ma famille, grands et petits.

A mes chers collègues.

A mes chers amis.

Remerciements

Je remercie Allah le tout puissant, qui m'a octroyé l'énergie nécessaire à l'accomplissement de mon travail.

Je remercie également tout le corps enseignant de ma filière universitaire, qui nous a dispensé la formation préalable à toute cette étude.

Je remercie de tout mon cœur Monsieur ALI NEHARI, qui a bien voulu se rendre disponible pour m'encadrer dans ce travail et qui en a permis l'aboutissement par un accompagnement assidu.

Monsieur SASSI et MADAME AIT ABDERAHIM, membres du jury m'ont fait l'honneur d'examiner mon travail. Je les remercie vivement pour leur disponibilité, leur aide et leurs précieux conseils.

Les membres du personnel du centre d'enfouissement de la ville de TIARET ont toute ma gratitude pour leur disponibilité, un grand merci.

RESUME

La production quotidienne des déchets ménagers engendre de sérieux problèmes de pollution; leurs nature, de plus en plus complexe et hétérogène implique des difficultés concernant leur traitement et leur gestion. Afin de protéger l'environnement et la santé publique, la biotechnologie procure des solutions efficaces non seulement pour la gestion de ces déchets mais aussi pour les valoriser. Dans notre étude, nous tentons de faire une caractérisation physico-chimique à travers l'évaluation de l'état minéral et organique du lixiviats obtenu du centre d'enfouissement technique de TIARET avant de montrer la possibilité de l'utiliser comme substrat pour produire de l'éthanol par les *Saccharomyces cerevisiae*. Les résultats des paramètres physico-chimiques de lixiviats ont montré que se sont comparables à des rejets industriels complexes contenant à la fois des substances contaminantes organiques et inorganiques. Les taux trouvés de Phosphates (PO_4^{3-}) et des nitrates (NO_3^-) ont dépassé les normes avec un taux de 189 mg/l et 71,1 mg/l respectivement. L'analyse des paramètres microbiologiques a montré une forte contamination bactériologique. Ainsi, une quantité non négligeable d'éthanol a été produite au court de l'incubation en utilisant la culture de *S. cerevisiae* et le NaOH aux distillats de lixiviats.

Mots clé : Décharge, lixiviats, éthanol, paramètre physicochimique, paramètres microbiologiques, *Saccharomyces cerevisiae*.

ملخص

إن الإنتاج اليومي من النفايات المنزلية يولد مشاكل تلوث خطيرة. طبيعتها، المعقدة وغير المتجانسة تنطوي عليها صعوبات تتعلق بمعالجتها وإدارتها. من أجل حماية البيئة والصحة العامة، توفر التكنولوجيا الحيوية حلولاً فعالة ليس فقط لإدارة هذه النفايات ولكن أيضاً لتثمينها. في دراستنا، نحاول إجراء توصيف فيزيائي-كيميائي من خلال تقييم الحالة المعدنية والعضوية للمادة المرشحة التي تم الحصول عليها من المكب الفني لولاية تيارت قبل إظهار إمكانية استخدامه كركيزة لإنتاج الإيثانول بواسطة خميرة *S. cerevisiae*. أظهرت نتائج المؤشرات الفيزيائية والكيميائية للمادة المرشحة أنها قابلة للمقارنة مع التصريفات الصناعية المعقدة التي تحتوي على كل من المواد الملوثة العضوية وغير العضوية. تجاوزت المستويات التي عثر عليها من الفوسفات (PO_4^{3-}) والنترات (NO_3^-) المعايير بمعدل 189 ملغ / لتر و 71.1 ملغ / لتر على التوالي. كما أظهر تحليل المؤشرات الميكروبيولوجية نسبة عالية من التلوث البكتيري. وفي الأخير، تم إنتاج كمية لا يستهان بها من الإيثانول خلال عملية التخمر باستخدام الخميرة وأكسيد الصوديوم بعد الحصول على نواتج التقطير المرشحة.

كلمات دالة: المفرغة، المادة المرشحة، الإيثانول، المؤشرات الفيزيائية والكيميائية، المؤشرات الميكروبيولوجية، الخمائر

Abstract

The daily production of household waste generates serious pollution problems; their nature, more and more complex and heterogeneous implies difficulties concerning their treatment and management. In order to protect the environment and public health, biotechnology provides effective solutions not only for the management of these wastes but also to valorize them. In our study, we attempt to make a physico-chemical characterization through the evaluation of the mineral and organic state of the leachate obtained from the technical landfill of TIARET, before showing the possibility of using it as a substrate to produce ethanol by *Saccharomyces cerevisiae*. The results of the physicochemical parameters of leachates have shown that they are comparable to the complex industrial discharges containing both organic and inorganic contaminating substances. The levels found of phosphates (PO_4^{3-}) and nitrates (NO_3^-) exceeded the norms with a rate of 189 mg / l and 71.1 mg / l respectively. Analysis of microbiological parameters has showed a high bacteriological contamination. Thus, a significant amount of ethanol was produced during incubation using *S. cerevisiae* culture and NaOH in leachate distillates.

Keywords: Discharge, leachate, ethanol, physicochemical parameter, microbiological parameters, *Saccharomyces cerevisiae*.

Tables des Matières

| | |
|-----------------------------|-----|
| Tables des matières..... | vii |
| Liste des Abréviations..... | ix |
| Liste des Tableaux..... | x |
| Liste des Figures..... | xi |
| Résumés..... | iii |

1^{ère} partie : Introduction Générale

| | |
|--------------------|---|
| Introduction | 1 |
|--------------------|---|

Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériel et Méthodes

| | |
|---|----------|
| I. Matériel et Méthodes..... | 3 |
| I. 1. Zone de travail | 3 |
| I. 2. Échantillonnage..... | 3 |
| I. 3. Matériels et produits..... | 4 |
| I. 4. Caractérisation du lixiviats..... | 4 |
| I. 4.1. Analyses des paramètres physico-chimiques..... | 5 |
| I. 4.1.1 Température | 5 |
| I. 4.1.2 Le potentiel d'hydrogène (pH) | 5 |
| I. 4.1.3 Conductivité | 5 |
| I. 4.1.4 Minéralisation globale..... | 5 |
| I.4.2. Analyses des paramètres microbiologiques..... | 5 |
| I. 4.2. 1. Dénombrement des Coliformes totaux..... | 6 |
| I. 4.2.2. Dénombrement des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 6 |
| I. 4.2.3. Recherche des salmonelles | 6 |
| I. 4.2.4. Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> | 6 |
| I. 4.2.5. Recherche des Streptocoques fécaux | 7 |
| I. 4.2.6. Recherche des bactéries anaérobies sulfito-réductrices..... | 7 |
| I.5. Production d'éthanol | 8 |
| I.5.1. Test d'identification de glucose | 8 |
| I.5.2. Fermentation | 9 |

| | |
|---|----|
| I.5.3. Test d'identification du CO ₂ | 11 |
| I.5.4. Distillation fractionnée..... | 11 |
| I.5.5. Test d'identification de l'éthanol..... | 12 |
| I.5.6. La distillation azéotrope..... | 12 |
| I.5.7.Décantation..... | 12 |
| I.6. Analyses statistiques..... | 13 |

Chapitre 2 : Résultats et discussions

| | |
|--|----|
| II. Résultats et Discussions | 14 |
| II. 1. Caractérisation du lixiviats | 14 |
| II. 2. Analyses des paramètres physico-chimiques | 14 |
| II. 2. 1. Température..... | 15 |
| II. 2.2. Le pH | 15 |
| II. 2.3. Conductivité..... | 16 |
| II. 2. 4. Minéralisation globale..... | 16 |
| II. 3. Analyse des paramètres microbiologiques | 16 |
| II. 4. Production d'éthanol | 18 |
| II. 4.1. Test d'identification de glucose | 18 |
| II. 4.2. Fermentation | 18 |
| II.4.3. Distillation fractionnée | 18 |
| II.4.5. Test d'identification de l'éthanol | 20 |
| II.4.5.1. Test de température d'ébullition | 20 |
| II.4.5.2. Test de densité | 21 |
| Conclusion | 22 |
| Références bibliographiques | 23 |
| Annexes | 25 |

Liste des abréviations

| | |
|------------------------|--|
| °C | : Degré Celsius |
| AND | : Agence Nationale des Déchets |
| ASR | : Anaérobies Sulfito-Réducteur |
| BEA | : Gélose Biliée à l'Esculine et à l'Azoture |
| CET | : Centre d'Enfouissement Technique |
| DBO | : Demande biologique en oxygène |
| DBO₅ | : Demande biologique en oxygène pendant 5 jours |
| DCO | : Demande chimique en oxygène |
| DMA | : Déchets Ménager et Assimilés |
| EPA | : Eau peptoene Alcaline |
| GTSC | : Gélose Nutritive Alcaline |
| ISD | : Installation de Stockage des Déchets |
| ISDND | : Installation de Stockage des Déchets Non Dangereux |
| MES | : Matière en suspension |
| MO | : Matière Organique |
| OM | : ordures ménagères |
| pH | : Potentiel d'hydrogène |
| T | : Température |
| TTC | : Chlorure de 2, 3, 5-Triphényletétrazolium |
| UFC | : Unité formant colonies |
| UV | : Ultraviolet |
| VF | : Viande foie |

Liste des tableaux

| | | |
|-------------------|---|------|
| Tableau 1 | Matériel et produits utilisés dans les différents dosages et analyses. | P.04 |
| Tableau 2 | Propriétés physiques de l'éthanol (Kacimi, 2008) | P.08 |
| Tableau 3 | Conditions de fermentation des échantillons de lixiviat | P.09 |
| Tableau 4 | Teneurs des paramètres physico-chimiques du Lixiviat | P.15 |
| Tableau 5 | Taux des charges microbiennes recherchés dans lixiviats | P.17 |
| Tableau 6 | Résultats de filtration des échantillons E1, E2, E3 | P.18 |
| Tableau 7 | Paramètres de distillation des filtrats des échantillons ; E1, E2, E3 | P.19 |
| Tableau 8 | Les valeurs de la température d'ébullition des distillats des échantillons | P.20 |
| Tableau 9 | Les valeurs de la densité des distillats des trois échantillons | P.21 |
| Tableau 10 | Principales classes de CET (Directives Européennes 31/12/2001 N°1999/31/CE) | P.25 |
| Tableau 11 | Classification des lixiviats en fonction de leur âge | P.26 |
| Tableau 12 | Procédés de traitement des lixiviats. (Billard, 2001c) | P.38 |

Liste des figures

| | | |
|----------------|---|------|
| Fig. 1 | Photo du CET site SID EL ABED de Sougueur - TIARET | P.03 |
| Fig. 2 | Levure (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) utilisée comme agent de fermentation (Original) | P.10 |
| Fig. 3 | Le début de la fermentation de l'échantillon (Original) | P.10 |
| Fig. 4 | Le Montage de distillation (Original) | P.11 |
| Fig. 5 | Montage de la décantation du mélange azéotrope par l'ampoule a décanté (original) | P.12 |
| Fig. 6 | Culture d'identification des coliformes fécaux avant incubation | P.36 |
| Fig. 7 | Les colonies des <i>Staphylococcus aureus</i> présentes dans le lixiviat | P.36 |
| Fig. 8 | Les colonies d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs présentes dans le lixiviat | P.37 |
| Fig. 9 | Solution d'Ethanol avant purification (original) | P.19 |
| Fig. 10 | Comparaison de la température d'ébullition des distillats des échantillons par rapport à l'éthanol absolu | P.20 |
| Fig. 11 | Comparaison de la densité des distillats des échantillons par rapport à celle de l'éthanol absolu | P.21 |

Introduction Générale

Introduction

En Algérie, la production quotidienne croissante des ordures ménagères (OM) et des déchets industriels entraîne des problèmes de pollution critiques. La nature de plus en plus complexe et hétérogène de ces déchets implique des difficultés pour leur traitement et leur gestion. Une grande partie est mise en décharge, sans précautions, ce qui constitue une réelle et permanente menace pour l'environnement (Mokhtaria, 2007). D'après l'Agence Nationale des Déchets (AND), l'Algérie génère chaque année 10 à 12 millions tonnes de déchets ménagers. Chaque année 200 000 tonnes de déchets d'emballages sont rejetées dans notre pays, dont les plastiques constituent 95 % de ces emballages, et les métaux représentent les 5% restants (Saadi, 2013).

La gestion de ces déchets rencontre de très nombreuses difficultés, tant du point de vue technique, économique, que méthodologique et organisationnel. La percolation des eaux à travers ces déchets provoque la production des lixiviats qui se chargent en matières organiques, en bactéries, en composés minéraux et en métaux lourds. En revanche, l'organisation mondiale de la santé (OMS) considère que 80% des maladies qui affectent la population mondiale sont directement véhiculées par l'eau. Les lixiviats qui constituent le principal vecteur de transport de la pollution issue des sites de stockage des déchets, présente une composition très aléatoire et varie en fonction de la nature des déchets, l'âge de la décharge, la technique d'exploitation et les conditions climatiques (Mokhtaria, 2007).

Le centre d'enfouissement de TIARET, anciennement appelé décharge autorisée fait partie de ces lieux potentiellement nuisibles. Ce terme est désormais désuet, on parle maintenant d'Installation de Stockage des Déchets (ISD), et d'Installation de Stockage des Déchets Non Dangereux (ISDND) pour les sites dits de classe II, composés par les ordures ménagères et les déchets industriels banals.

Afin de protéger l'environnement et la santé publique, la biotechnologie procure des solutions efficaces non seulement pour la gestion de ces déchets mais aussi pour les valoriser (Saadi, 2013). Dans notre étude, nous tentons de faire une caractérisation physico-chimique à travers l'évaluation de l'état minéral et organique du lixiviat obtenu du centre d'enfouissement technique de TIARET avant de montrer la possibilité de l'utiliser comme substrat pour produire de l'éthanol autant que biocarburant.

Ainsi, les déchets amylacés, au regard des fermentations qu'ils génèrent, présentent des potentialités de valorisation non alimentaire parmi lesquelles la production de bioéthanol pourrait

Introduction générale

constituer une opportunité économique et technologique intéressante. En effet la production mondiale d'éthanol a beaucoup évolué à cause de ses nombreuses applications dans l'industrie chimique et pharmaceutique et surtout à cause de son utilisation comme carburant de substitution. L'avantage de ce type de carburant est qu'il ne contribue pas à l'accumulation des gaz à effet de serre (Kotaka et al, 2008) responsable de la dégradation de la couche d'ozone. 20 milliards de litres de ce biocarburant ont été produits en l'an 2000, avec un potentiel supérieur à 100 milliards en 2010.

La production d'éthanol à partir des matières amylacées nécessite généralement trois étapes, tels que ; la liquéfaction et la saccharification par les amylases, suivies de la fermentation du moût obtenu par la levure *Saccharomyces cerevisiae* (Shigechi et al, 2004).

L'objectif principal de ce mémoire est l'étude de la possibilité d'utiliser le lixiviat obtenu du centre d'enfouissement technique de Tiaret comme substrat pour la production de l'éthanol par les techniques de biotechnologie microbienne.

Pour pouvoir atteindre cet objectif, la présente étude s'articule autour de trois volets :

1. Échantillonnage du lixiviat:

2. Caractérisation du lixiviat

↗ *Analyses des paramètres physico-chimiques*

↗ *Analyses des paramètres microbiologiques*

3. Production d'éthanol

↗ *Confirmation de la présence de sucre*

↗ *Fermentation par des levures (*Saccharomyces cerevisiae*)*

↗ *Identification de l'éthanol*

***Partie
expérimentale***

Chapitre 1

Matériels et Méthodes

I. Matériel et Méthodes :**I. 1. Zone de travail :**

La décharge publique de la ville de Tiaret est située à 5 Km au sud du centre ville, dans la localité « Sid El Abed » à Sougueur. Le site abritant la décharge se présente sous la forme d'un terrain à pente faible ($< 3\%$) et s'étend sur une superficie de 28 hectares avec deux casiers réalisés et cinq prévus (Figure 1). Son altitude varie entre 850 m et 900 m. La pente favorise le déplacement des eaux de pluie pénétrant dans les déchets, contribuant ainsi à la formation des eaux de lixiviations qui s'infiltrent à travers les sols fissurés. Le choix de l'implantation de la décharge actuelle obéit aux critères de l'époque qui se résument en l'éloignement du site par rapport à la ville et à son accessibilité par la route.



Figure 1 : Photo du CET site SID EL ABED de Sougueur - TIARET

I. 2. Échantillonnage :

Les échantillons de lixiviats analysés ont été prélevés soigneusement afin d'obtenir un échantillon le plus représentatif possible. L'échantillon doit être homogène, représentatif et obtenue sans modification des caractéristiques physicochimiques de l'eau. Nous avons procédé à

l'échantillonnage au niveau de trois points de drainage bien déterminés. Le volume moyen de chaque échantillon est de 1 litre. Les échantillons de lixiviats sont recueillis dans des bouteilles en polyéthylène, préalablement lavées à l'acide nitrique puis à l'eau distillée (Rodier *et al*, 2009). et conservés dans une glacière pour limiter toute activité biologique, et transportés immédiatement au laboratoire. Il est à noter que l'échantillonnage a été réalisé durant le mois de Mars.

I. 3. Matériels et produits :

L'essentiel des matériels ainsi que les produits utilisés sont présentés dans le Tableau 01.

Tableau 01: Matériel et produits utilisés dans les différents dosages et analyses.

| | | |
|------------------|---------------------|---|
| Matériels | Appareillage | Réfrigérateur, Etuve, Spectrophotomètre ; Four pasteur ; Centrifugeuse ; PH mètre ; Thermométrie; Conductivité-mètre; Complexométrie ; Incubateur ;.. |
| | Autres | Boîtes de Pétri ; Tubes à essais stériles ; Bain marrie ;.. |
| Produits | Réactifs | Hcl ; HNO ₃ ; Salicylate de sodium; H ₂ SO ₄ ; NaoH; Réactif Kovacs ; Chlorure de baryum ; Salicylate de sodium ; .. |
| | Autres | Eau distillée ; Rouge de méthyle; Désinfectant (L'Alcool) ;.. |

I. 4. Caractérisation du lixiviats :

Il est évident que les lixiviats de décharges renferment de nombreux contaminants minéraux souvent très toxiques. Leur composition varie ainsi en fonction de la nature des déchets, l'âge de la décharge, la technique d'exploitation et les conditions climatiques. Les lixiviats proviennent de la percolation de l'eau du déchet, des précipitations météoriques et des eaux provenant de la nappe phréatique (Farquhar, 1989), qui se chargent en matières organiques, en bactéries, en composés minéraux et en métaux lourd. Dans notre étude, avant de tester la possibilité de production de l'éthanol à partir de notre échantillon, nous avons procédé à sa caractérisation à travers l'analyse de ces paramètres physico-chimiques et bactériologiques.

I. 4.1. Analyses des paramètres physico-chimiques :

Pour les analyses physico-chimiques chaque élément possède une méthode d'analyse spécifique. Nous avons effectué trois déterminations pour chaque élément sur le même échantillon, et on prend comme résultat la moyenne arithmétique des valeurs mesurées.

↪ **Température :**

La détermination de ce paramètre a été faite par mesure directe avec Thermométrie

↪ **Le potentiel d'hydrogène (pH) :**

La mesure de l'acidité de l'échantillon s'effectue directement à l'aide d'un pH-mètre étalonné.

↪ **Conductivité :**

La détermination de ce paramètre a été faite par mesure directe avec un Conductivité-mètre multi-paramètres HACH.

↪ **Minéralisation globale :**

La mesure de la teneur des nitrates (NO_3^-), Nitrites (NO_2^-), Ammonium (NH_4^+), et Phosphates (PO_4^{3-}) a été faite par spectrophotométrie, au niveau du laboratoire de chimie à l'Université de Tlemcen. Quant aux Cations Ca^{2+} , Mg^{2+} ; le dosage se fait par Complexométrie.

Les détails des modes opératoires et réactifs des différents dosages des paramètres physico-chimiques sont présentés dans l'annexe 02.

I.4.2. Analyses des paramètres microbiologiques :

A fin de caractériser le niveau de contamination microbiologique du lixiviat, nous avons essayé de connaître la charge microbienne de certains germes susceptibles d'être présent dans les décharges selon les études effectuées (Aouane et Bradai, 2016). Il s'agit de Coliformes totaux, Coliformes fécaux, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus*, Streptocoques fécaux, et Anaérobies Sulfite-Réductrice.

Dans le domaine des polluants, il est important d'identifier le type de polluant et le quantifier. Les analyses microbiologiques ont été réalisées dans des conditions d'asepsie, devant un bec bunsen dans un périmètre de 25 cm. Nous avons effectué une série de dilutions. Les différentes analyses microbiologiques effectuées sont issues des normes ISO et normes NF.

I. 4.2. 1. Dénombrement des Coliformes totaux:

Parmi ces coliformes, nous avons la bactérie *Escherichia Coli* qui est un bâtonnet à Gram négatif asporulé. Elle est aérobie ou anaérobie facultative. Sa température optimale de croissance est entre les 35°C et 37°C, mais elle est aussi capable de croître à une température de 44.5°C. Raison pour la quelle elle fait partie du groupe des coliformes thermotolérants, aussi appelés ; coliformes fécaux, qui est lui-même inclus dans le groupe des coliformes totaux. Elle est en mesure de fermenter le lactose avec dégagement de gaz. La recherche des coliformes sont réalisés par la méthode de filtration sur membrane, Norme N F en ISO 9308-1.

I. 4.2.2. Dénombrement des *Pseudomonas aeruginosa* :

Le *Pseudomonas aeruginosa* est un bacille à Gram négatif, aérobie strict, au métabolisme respiratoire, ne fermentant pas le glucose, capable de produire de l'ammoniac à partir de l'acétamide (Elyajouri, 2012). La recherche et dénombrement de *Pseudomonas aeruginosa* sont réalisés par la méthode de filtration sur membrane, selon la norme NF en 12780.

I. 4.2.3. Recherche des salmonelles :

Les salmonelles sont des bactéries qui se présentent sous forme de bacilles à Gram négatif et qui, en se développant à température de 37°C en 24 heures, sur milieu Hektoen, forment de petites colonies, lisses à contours réguliers, pigmentées en jaune (Guiraud, 2009). La recherche et dénombrement de salmonella sont réalisés par la méthode de filtration sur membrane, selon la norme NF EN 12780.

I. 4.2.4. Recherche de *Staphylococcus aureus* :

Le germe *Staphylococcus aureus* est une bactérie de la famille des Micrococcaceae de forme sphérique (coque), de 0,8 µm à 1,0 µm de diamètre. Ces coques à Gram positif se présentent généralement en grappes, par paires ou en cellules individuelles compte tenu de l'âge de la culture. C'est une bactérie non mobile, asporulée et aérobie facultatif possédant une catalase. *Staphylococcus aureus* est un microorganisme pathogène (Guiraud, 1998). La recherche et dénombrement de staphylocoques sont réalisés par la méthode de filtration sur membrane, selon la norme NF T 90 421.

I. 4.2.5. Recherche des Streptocoques fécaux :

Les streptocoques fécaux sont des colonies de couleur rose ou rouge foncé. Appelés aussi streptocoques intestinaux, des bactéries qui se présentent sous forme de cocci, Gram positive, sphériques ou ovoïdes formant des chaînettes, ne possédant pas de catalase mais possédant l'antigène du groupe D. Ils sont capables de se développer en 24 à 48 heures à 37°C sur un milieu sélectif à l'azoture de sodium en donnant des colonies caractéristiques réduisant le Chlorure de 2, 3, 5-Triphénylététrazolium (TTC) et qui de plus hydrolysent l'esculine en 2 heures à 44°C après repiquage d'une colonie sur une gélose biliée à l'esculine et à l'azoture (Guiraud, 1998). La recherche et dénombrement de streptocoques fécaux sont réalisés par la méthode de filtration sur membrane, selon la norme ISO 7899-2 et Norme NF T 90-416.

I. 4.2.6. Recherche des bactéries anaérobies sulfito-réductrices :

Les bactéries anaérobies sulfito-réductrices sont des bactéries qui se présentent sous forme de bacilles à Gram positif et qui, en se développant à température de $36 \pm 2^\circ\text{C}$ en 24 à 48 heures en gélose profonde de type Gélose Tryptose Sulfite Cyclosérine (GTSC) ou Tryptose Sulfite Néomycine (TSN) ou encore gélose Viande Foie (VF), donnent des colonies caractéristiques qui sont de couleur blanche entourées d'une auréole noire. Cette dernière est le témoin de la réduction du sulfite de sodium (Na_2SO_3) qui se trouve dans le milieu, en sulfure qui en présence de Fe^{2+} donne FeS (Sulfure de Fer) de couleur noire. La présence de spores de bactéries ASR dans les eaux, sans flore d'accompagnement, constitue généralement un véritable indice de contamination ancienne, du fait de la longue survivance des spores dans le milieu extérieur (Aouane et Bradai, 2016).

La recherche et dénombrement d'anaérobies sulfito-réducteur sont réalisés par la méthode de filtration sur membrane. La méthode est donnée selon la norme : ISO 6461-2.

Les détails des modes opératoires et milieux de cultures de différentes recherches bactériologiques sont présentés dans l'annexe 03.

I.5. Production d'éthanol :

L'éthanol, l'alcool ou encore l'alcool éthylique sont toutes les trois des appellations qui désignent la même molécule qui est composée de deux atomes de carbone (C), six atomes d'hydrogène (H) et d'un atome d'oxygène (O). Les formules brutes et semi développées de la molécule d'éthanol sont respectivement le C_2H_6O , le C_2H_5OH et le CH_3-CH_2-OH (Kacimi, 2008). Les propriétés physiques de l'éthanol sont présentées sur le tableau 02.

L'éthanol est obtenu à partir d'un processus de fermentation anaérobie des sucres naturels, généralement retrouvés dans les produits biologiques, suivi d'une distillation sous l'action des levures pour la fabrication notamment de boissons alcoolisées tel que le vin ou encore la bière. Ainsi, la production d'éthanol à partir des matières amylacées nécessite généralement trois étapes: la liquéfaction et la saccharification par les amylases commerciales, suivies de la fermentation du moût obtenu par la levure de distillerie *Saccharomyces cerevisiae* (Shigechi et al, 2004).

Tableau 2 : Propriétés physiques de l'éthanol (Kacimi, 2008)

| <i>Masse molaire</i> | <i>Point de fusion</i> | <i>Point d'ébullition</i> | <i>Densité</i> | <i>Densité de vapeur</i> |
|--------------------------|------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|
| 46,07 | - 114 °C | 78,5 °C | 0,789 | 1,59 |
| <i>Tension de vapeur</i> | | | <i>Points d'éclair</i> | |
| 20 °C | 34,9 °C | 63,5 °C | Coupelle fermée | Coupelle ouverte |
| 5.85 kPa | 13,3 kPa | 53,3 kPa | 12,8 | 16 |

La fermentation alcoolique est la fermentation de sucre en éthanol sous un processus anaérobie. Le but de cette recherche est de transformer la liqueur sucrée présente dans lixiviats en éthanol. Pour réaliser ce type de fermentation, nous aurons recours à l'utilisation de levures. Nous avons choisi de travailler avec la levure de boulanger ; *Saccharomyces cerevisiae*. (Figure 2)

I.5.1. Test d'identification de glucose :

Avant de procéder à la fermentation, nous avons testé d'abord la présence des sucres dans lixiviat. Le test d'identification de glucose a été réalisé en utilisant de la liqueur de Fehling.

Ce test repose sur la démarche suivante (Daniel, 2006). :

- ⇨ On prélève environ 10mL du lixiviat obtenu à l'aide d'une pipette jaugée de 10 mL, pour le verser dans un tube à essai.
- ⇨ Puis, on y ajoute quelques gouttes de liqueur de Fehling, de couleur bleue.
- ⇨ Ensuite, on passe le tube au-dessus d'un bec bunsen afin de chauffer la solution.
- ⇨ On remarque que la liqueur de Fehling bleue produit un dépôt rouge brique. Cela signifie qu'il y a bien une présence de sucre dans la solution.

Après la confirmation de la présence des sucres qui vont être le substrat de la fermentation, nous avons procédé aux différentes étapes de la production de l'éthanol.

I.5.2. Fermentation :

Dans ce travail nous avons procédé à la fermentation de trois (3) échantillons comme il est indiqué sur le tableau 3 selon la méthode utilisée par Daniel, 2006.

Tableau 3 : Conditions de fermentation des échantillons de lixiviat

| Echantillons | Lixiviat (ml) | levure boulangère (g) | NaOH (g) | Eau distillée (ml) | Tps (jours) | T (°C) |
|--------------|---------------|-----------------------|----------|--------------------|-------------|--------|
| E1 | 20 | 10 | 3 | 50 | 7 | 25 |
| E2 | 25 | 15 | 3 | 50 | 7 | 25 |
| E3 | 30 | 15 | 3 | 50 | 7 | 25 |

Il y a deux paramètres très importants qui ont un impact sur le rendement de la fermentation; la température et le pH. En effet, la température ne doit pas être trop élevée, car sinon les levures vont être moins actives ou vont tout simplement mourir lorsque la température excède 35 °C. De plus, la vitesse de réaction augmente avec la température car le site actif des enzymes heurte plus fréquemment le substrat (Daniel, 2006). . C'est pourquoi nous avons décidé d'opérer à une température optimale de 25 °C.

Aussi, le pH n'est pas à négliger car un pH trop acide dénature les enzymes. Nous avons donc utilisé l'hydroxyde de sodium. Toutefois, il est bon d'agiter le mélange car les sites actifs auront plus de chance de trouver les molécules de D-glucose. Puis, la fermentation sera terminée lorsqu'il n'y aura plus de sucre fermentescible disponible ou encore lorsque le pH sera trop bas. En effet, le pH diminuera tout au long de la fermentation jusqu'à ce que les enzymes se dénaturent (Daniel, 2006).

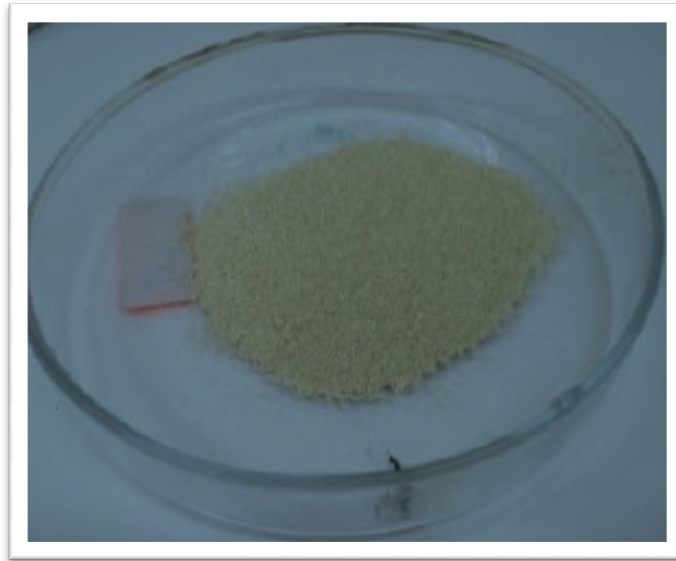


Figure 2: Levure (*Saccharomyces servisiae*) utilisée comme agent de fermentation (Original)

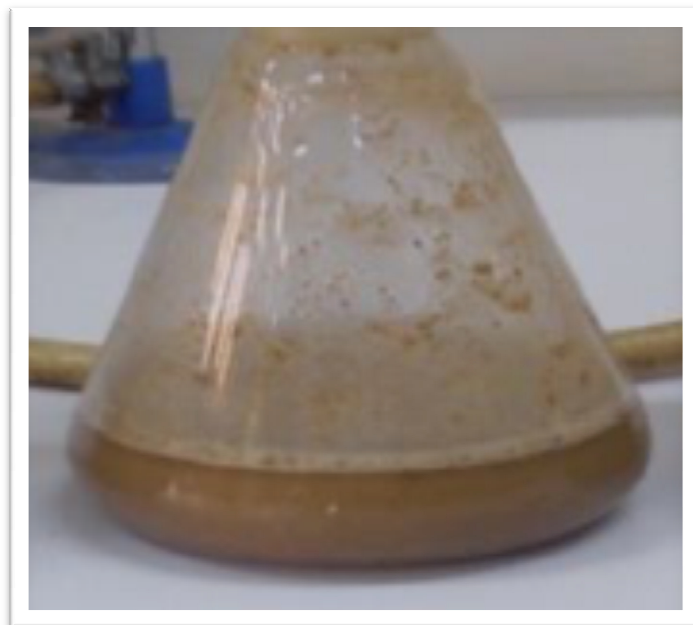


Figure 3 : Le début de la fermentation de l'échantillon (Original)

I.5.3. Test d'identification du CO₂ :

Afin de pouvoir tester la présence du CO₂ autant que produit de la fermentation, nous avons mis dans un tube à essai les levures en contact avec la solution de lixiviat dans les mêmes conditions de celles des trois échantillons. Seulement, il est renversé sans que le gaz ne s'échappe. Après la fermentation ; On récupère le tube à essai renversé, en prenant soin de placé le pouce sur l'extrémité du tube à essai, on le retourne en le sortant de l'eau. On y verse quelques mL d'eau de chaux puis on rebouche le tube à essai en l'agitant. On remarque que l'eau se trouble : il s'agit bien de dioxyde de carbone (CO₂). Nous sommes donc bien en présence d'une réaction de fermentation.

I.5.4. Distillation fractionnée :

Cette étape est une purification de notre mélange éthanol-eau. D'abord, ce mélange sera placé dans un récipient chauffé à environ 80°C. La vapeur s'élèvera dans la colonne à distiller, se condensera (passage de vapeur à liquide) et redescendra en début de colonne pour s'évaporer à nouveau. Ce déplacement gazeux, appelé reflux, se répétera quelques fois selon le pourcentage d'éthanol obtenu par la fermentation. La partie du distillat qui aura une concentration d'environ 95 % d'éthanol va être récupérée (Daniel, 2006). Il est primordial de mentionner qu'étant donné la miscibilité de l'eau et de l'éthanol, il faut utiliser une technique de séparation qui tient compte de leurs différents points d'ébullition. La distillation est un procédé intéressant pour ce genre de traitement mais est tout de même limité car l'eau et l'éthanol forment un azéotrope (Daniel, 2006).



Figure 4 : Le Montage de distillation (Original)

I.5.5. Test d'identification de l'éthanol :

Afin de démontrer que l'on a produit de l'éthanol, il suffit de tester si le liquide obtenu dans le tube à essai utilisé pour le test d'identification du CO_2 s'évapore à 80° (Point d'ébullition). Il ne s'agit pas de l'eau, c'est donc de l'éthanol.

Aussi, nous avons utilisé la densité comme paramètre pour tester la production de l'éthanol. La densité des filtrats, mesuré a été comparé avec celle de l'éthanol absolu.

I.5.6. La distillation azéotrope :

La purification d'éthanol se fait par un procédé sous le nom de « la distillation azéotrope » à la température d'ébullition (78°C) pour un mélange azéotrope éthanol + toluène (Daniel, 2006). Le toluène et l'éthanol sont des dissolvants généralement utilisés dans les produits chimiques et les industries pharmaceutiques dues à leurs excellentes capacités de dissolution. (Luyben, 2013).

↪ Décantation :

Afin de récupérer l'éthanol produit, on verse le distillat (mélange éthanol et toluène) dans une ampoule à décanter et à la fin de l'opération ; on récupère la phase supérieure (Daniel, 2006). Cette décantation se fait sur la base de la densité des deux solvants (éthanol $0,7 \text{ kg/l}$) et (toluène $0,8 \text{ kg/l}$).



Figure 5 : Le montage de la décantation du mélange azéotrope par l'ampoule a décanté (original)

I.6. Analyses statistiques :

Tous les dosages et analyses des échantillons ont été réalisées en triplet dans un ordre aléatoire et des moyens ont été considérées (sous forme de moyenne \pm écart type). L'analyse statistique est effectuée en utilisant le logiciel statistique informatisé STATISTICA.

Chapitre 2

Résultats et Discussion

II. Résultats et Discussions :

Cette partie, consiste à présenter et interpréter les résultats obtenus de la partie expérimentale afin d'évaluer les paramètres physico-chimiques et microbiologiques du Lixiviats et de confirmer la possibilité de produire de l'éthanol.

II. 1. Caractérisation du lixiviats :

Il est à signaler que la difficulté d'avoir un échantillon représentatif des déchets, de sa charge minérale et organique, fait en sorte que l'on obtient plutôt des ordres de grandeurs que des valeurs strictes en concentrations. Les valeurs moyennes de certains paramètres physico-chimiques et microbiologiques du lixiviat du CET de Tiaret sont données ci-dessous :

II. 2. Analyses des paramètres physico-chimiques :

Les recherches réalisées sur les lixiviats ont montré ces derniers sont comparables à des rejets industriels complexes contenant à la fois des substances contaminantes organiques et inorganiques (Parveau, 1993 ; Keenan et al., 1983) . En revanche, les travaux de Mokhtaria et al., 2007 sur des lixiviats bruts de la décharge publique de Tiaret ont montré une double pollution : une pollution organique traduite par une forte charge de la demande chimique en oxygène (DCO) de l'ordre de 1136 mg/l d'O₂ et la demande biochimique en oxygène (DBO) de l'ordre de 200 mg/l d'O₂ .

Pour les résultats de notre recherche, les teneurs de quelques paramètres caractérisant les échantillons du lixiviat sont résumées sur le tableau 04.

Tableau 04 : Teneurs des paramètres physico-chimiques du Lixiviat

| Paramètre | Moyenne des résultats | Norme (règlementation Algérienne) |
|---|-----------------------|-----------------------------------|
| <i>Température (°C)</i> | 25 | 30 |
| <i>PH</i> | 8,22 | 6,5 -8,5 |
| <i>Conductivité (ms /cm)</i> | 159,3 | 2,8 |
| <i>NO₃⁻ (mg/l)</i> | 71,1 | 50 |
| <i>NO₂⁻ (mg/l)</i> | 0,8 | 50 |
| <i>NH₄⁺ (mg/l)</i> | 13 | 20 |
| <i>PO₄³⁻ (mg/l)</i> | 189 | 20 |
| <i>Mg₂⁺ (mg/l)</i> | 149,15 | 1,5 |
| <i>Ca₂⁺ (mg/l)</i> | 83,17 | - |

☞ **Température :**

La température joue un rôle très important dans l'augmentation de l'activité chimique et favorise le développement des micro-organismes dans les lixiviats. La température mesurée du lixiviats était de l'ordre de 25°C, proches de la température du milieu environnant, ce qui signifie la présence des réactions exothermiques. Toutefois, elle reste inférieure à la norme de rejet qui est de 30°C, édictée par le Décret exécutif N°06-141 du 19 Avril 2006 définissant les valeurs limites des rejets d'effluents liquides industriels.

☞ **Le pH :**

Le pH est un bon paramètre pour différencier la phase acidogène et la phase méthanogènes. En effet, lors de la fermentation acide, première phase de la décomposition anaérobie des déchets, les percolâts jeunes sont riches en composés organiques volatiles, au cours de cette phase, les valeurs de pH enregistrées sont souvent inférieures à 4. Au fur et à mesure du vieillissement de la décharge, le lixiviat s'appauvrit en composés organiques volatiles, ceci va alors entraîner une augmentation du pH à 7 ou plus (Aouane et Bradai, 2016).

Les résultats obtenus pour le pH de notre lixiviat ont donné une moyenne de de 8,22 ; ce qui montre qu'ils sont en période de méthanogènes, cette valeur moyenne trouvée respecte la norme qui est comprise entre 6,5 et 8,5.

↗ Conductivité :

Comme il est indiqué sur le tableau 04, l'échantillon de lixiviats est fortement chargé en ions Ca_2^+ et Mg_2^+ avec des valeurs qui atteignent les 83,17 mg/l et 149,15 mg/l respectivement. Ces valeurs dépassent largement les normes. D'autre part, la mesure de la conductivité apporte une information globale sur la quantité des cations et anions présentes dans le lixiviat. C'est un paramètre qui permet l'évaluation de la charge minérale polluante présente dans l'effluent (Aouane et Bradai, 2016). La conductivité élevée trouvée (159,3 ms/cm) reflète les grandes concentrations en calcium, magnésium et nitrates trouvées.

↗ Minéralisation globale :

Il a été rapporté que les eaux usées en générale contiennent des (NO_3^-) et souvent très peu de (NO_2^-). Ces derniers, constituent une étape importante dans la métabolisation du composé azoté et s'insèrent dans le cycle de l'azote entre les ions (NH_4^+) et les (NO_3^-) (Sophie V., 2006). Leur présence est due soit à l'oxydation bactérienne de l'ammoniac, soit à la réduction de nitrates. Ils ne représentent qu'un stade intermédiaire et sont facilement oxydés en nitrates (Aouane et Bradai, 2016). Les résultats montrent un taux élevé des (NO_3^-) avec une valeur moyenne de 71,1 mg/l. Une valeur qui dépasse celle de la norme. Cette concentration élevée peut être due à l'utilisation abusive des fertilisants azotés pour les cultures agricoles.

Quant au phosphore, il est présent dans les lixiviats sous forme organique et minérale. Et l'ensemble des deux formes organiques et minérales constitue le phosphore total. Le dosage des Ortho phosphates a révélé un taux de 189 mg/l, alors que la norme est fixée à 20 à mg/l.

II. 3. Analyse des paramètres microbiologiques :

Après avoir suivi le mode opératoire relatif à la recherche des germes choisis comme paramètres microbiologiques du lixiviat en l'occurrence ; les coliformes totaux, coliformes fécaux, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus*, streptocoques fécaux, et anaérobie sulfite-réductrice. Une lecture des boîtes de pétris a été faite pour observer l'apparition ou non de colonies bactériennes. Un test de confirmation a été fait avant de procéder au dénombrement des germes.

Cette méthode est une estimation statistique du nombre de germe supposés répartis dans l'échantillon analysé d'une manière aléatoire. Le tableau 05 présente l'estimation de la charge microbienne des germes recherchés.

L'estimation de la densité bactérienne est obtenue selon l'équation suivante (Aouane et Bradai, 2016) :

$$n = x * d$$

Où :

n : Nombre des germes

x : Nombre de colonies

d : Facteur de dilution

Tableau 05 : Taux des charges microbiennes recherchés dans les lixiviats

| Paramètre microbiologique (UFC /100ml) | Résultats | Résultats (Aouane et Bradai, 2016) |
|---|------------------|---|
| Coliforme totaux | 824 000 | 912 000 |
| Coliforme fécaux | 37 000 | 22 000 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 65 000 | 54 000 |
| Salmonelle | - | - |
| <i>Staphylocoques aureus</i> | 17 0000 | 300 |
| Streptocoque fécaux | 21 0000 | 44 000 |
| Anaérobies sulfito-réductrices | 31 000 | 22 000 |

Les figures 6, 7, et 8 (en annexe 05) montrent les colonies des germes identifiés après incubation. Mise à part les Salmonelles qui n'ont pas été trouvées dans les dilutions de l'échantillon de lixiviats, tous les autres germes recherchés ont été observés sur les cultures. L'étude comparative de ces résultats avec ceux trouvés par Aouane et Bradai, 2016 qui ont travaillé sur le lixiviat du CET de Corso, Boumerdes a montré une similitude des charges microbiennes dans les deux résultats.

II. 4. Production d'éthanol :

II. 4.1. Test d'identification de glucose :

Le résultat du test a révélé que la liqueur de Fehling bleue a généré un dépôt rouge brique. Ce qui confirme qu'il y a bien une présence de sucre dans l'échantillon de la solution.

II. 4.2. Fermentation :

Après fermentation, les trois échantillons subissent l'opération de filtration. Il s'avère que la filtration, est une étape nécessaire à la suite de la fermentation, la solution d'éthanol, d'eau et de levures résiduelles doivent être filtré pour enlever les particules solides de la solution (Khawla et al, 2014). Les résultats de cette étape sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Résultats de filtration des échantillons E1, E2, E3

| Echantillons | Filtre 1 « passoire » (ml) | Filtre 2 « papier filtre » (ml) |
|---------------------|---------------------------------------|--|
| E1 | 70 | 8 |
| E2 | 88 | 14 |
| E3 | 93 | 22 |

D'après les résultats nous remarquons que le taux d'éthanol produit dans les échantillons E1, E2 et E3 diffère en fonction du volume de lixiviat et par conséquent de la quantité de substrat. Il a été démontré aussi que pour obtenir un extrait claire qui ne contient pas des impuretés, deux filtrations sont nécessaires, voir même trois selon d'autres études (Aouane et Bradai, 2016). Le papier filtre utilisé pour l'obtention du filtre 2 est de diamètre de 130 nm.

II.4.3. Distillation fractionnée :

Après avoir obtenu les filtrats nous avons procédé à la distillation des solutions obtenues, des échantillons E1, E2 et E3. Les paramètres de cette opération sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Paramètres de distillation des filtrats des échantillons ; E1, E2, E3

| Distillation des échantillons | Température (°C) | La durée de distillation (min) | La durée d'obtention d'éthanol (min) | Le volume d'éthanol obtenu (ml) | Couleur d'éthanol |
|-------------------------------|------------------|--------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|-------------------|
| E1 | 80 | 25 | 20 | 04 | Jaunâtre |
| E2 | 80 | 75 | 65 | 06 | Jaunâtre |
| E3 | 80 | 85 | 65 | 08 | Transparent |

**Figure 9** : Solution d'Ethanol (E3) avant purification (original)

II.4.5. Test d'identification de l'éthanol :

Afin de confirmer l'identification de l'éthanol produit par fermentation des sucres présents dans les lixiviats par les *Saccharomyces cerevisiae*, nous avons procédé à deux tests en utilisant deux paramètres physico-chimiques ; il s'agit de la température d'ébullition et la densité. Les valeurs trouvées sont comparées par la suite avec celles de l'éthanol absolu.

↻ Test de température d'ébullition :

Les valeurs de la température d'ébullition des distillats des trois échantillons sont présentées sur le tableau 8.

Tableau 8 : Les valeurs de la température d'ébullition des distillats des échantillons

| Les distillats | La température d'ébullition (°C) |
|-----------------------|----------------------------------|
| <i>E1</i> | 65 |
| <i>E2</i> | 76 |
| <i>E3</i> | 76 |
| <i>Ethanol absolu</i> | 78 |

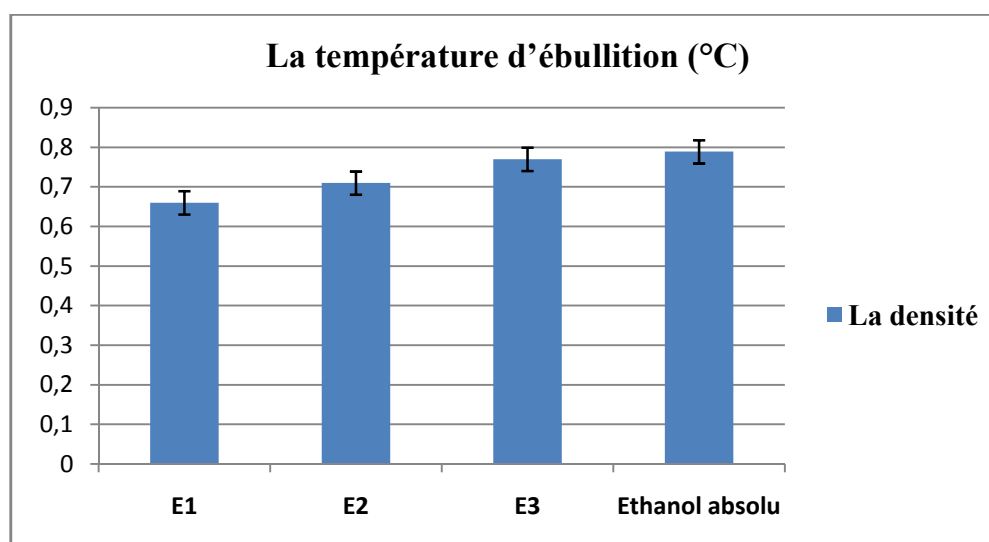


Figure 10 : Comparaison de la température d'ébullition des distillats des échantillons par rapport à l'éthanol absolu

La figure 10 montre que la température d'ébullition des distillats est presque identique à celle du témoin (éthanol absolu). Nos résultats trouvés sont conformes à ceux de Aouane et Bradai, (2016).

➤ **Test de densité :**

Les valeurs de la densité des distillats des trois échantillons sont présentées sur le tableau 9. La densité du distillat de l'échantillon 3 qui contient 30 ml de lixiviat a été trouvée presque identique avec celle du témoin (l'éthanol absolu).

Tableau 9: Les valeurs de la densité des distillats des trois échantillons

| Les distillats | La densité |
|-----------------------|------------|
| <i>E1</i> | 0,66 |
| <i>E2</i> | 0,71 |
| <i>E3</i> | 0,74 |
| <i>Ethanol absolu</i> | 0,789 |

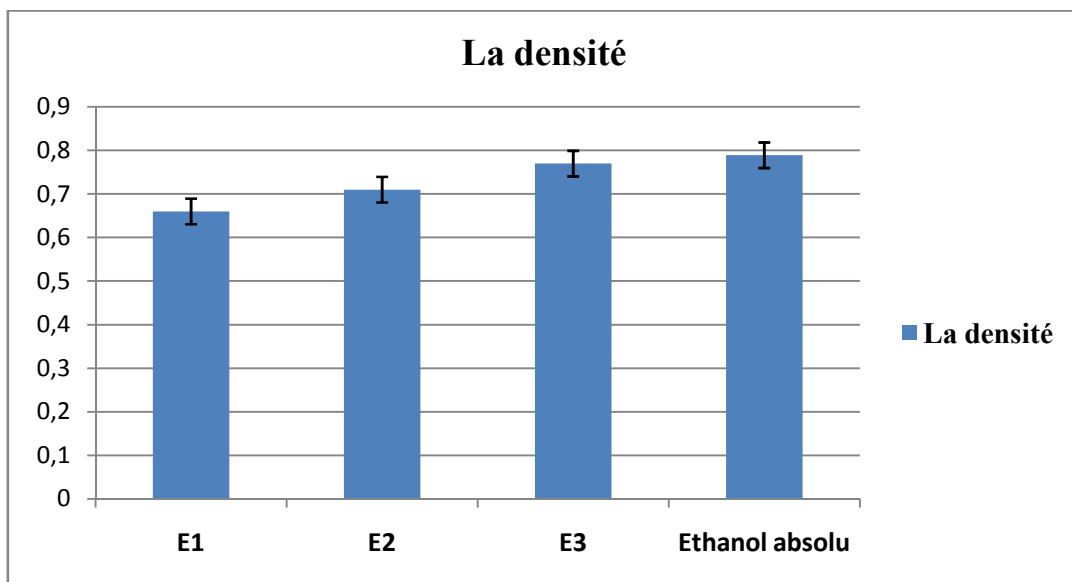


Figure 11 : Comparaison de la densité des distillats des échantillons par rapport à celle de l'éthanol absolu

Conclusion

Conclusion

Les résultats obtenus à l'issue de ce travail confirment l'intérêt d'étudier les différentes possibilités de la valorisation des déchets publics. D'une part, pour réduire leur quantité énorme et par conséquent leur impact négatif sur l'environnement et la santé publique. Et d'autre part, pour les utiliser comme substrat afin de les transformer en produits d'intérêt économique.

Néanmoins, l'enfouissement des déchets reste une filière d'élimination très économique dans le cadre de la gestion des déchets. La composition des lixiviats est une photographie de l'état de ces déchets à un certain moment de leur dégradation. Dans notre étude des analyses pour la caractérisation de lixiviats du CET de Tiaret a été réalisé. Les résultats des paramètres physico-chimiques de lixiviats ont montré que se sont comparables à des rejets industriels complexes contenant à la fois des substances contaminantes organiques et inorganiques. Les taux trouvés de Phosphates (PO_4^{3-}) et des nitrates (NO_3^-) ont dépassé les normes avec un taux de 189 mg/l et 71,1 mg/l respectivement. Les teneurs élevés des différents paramètres ont donné une idée sur la mauvaise qualité avec des concentrations qui dépassent la norme.

En effet, l'analyse des paramètres microbiologiques du lixiviat brut montre une forte contamination bactériologique avec des valeurs comparables avec celles citées dans la littérature. Mise à part les Salmonelles qui n'ont pas été trouvées dans les dilutions de l'échantillon de lixiviats, tous les autres germes recherchés ont été observés sur les cultures.

Une quantité non négligeable d'éthanol a été produite au court de l'incubation en utilisant la culture de *S. cerevisiae* et le NaOH aux distillats de lixiviats. D'après les résultats, on pourrait conclure que les déchets de CET est une matière attrayante pour la production d'éthanol avec une réduction simultanée des déchets circonvenant ainsi que la pollution environnementale.

La production de bioéthanol est considérée comme une énergie alternative qui s'inscrit dans le cadre de la stratégie des énergies renouvelables au même titre que l'énergie éolienne. Une énergie qui vient apporter, en partie, une solution à la forte dépendance des différents secteurs, particulièrement le secteur du transport à l'égard des produits d'hydrocarbures dont les impacts sur l'environnement sont dénoncés par la communauté internationale. Cette source d'énergie alternative ouvre la voie à de nouveaux horizons.

***Références
Bibliographiques***

Références Bibliographiques

- 📖 AOUANE M. et BRADAI H. (2016). Analyse bactériologique de lixiviat issu du centre d'enfouissement technique de corso avant et après traitement par osmose inverse (OI). Mémoire de Master. Université Mhamed Bougara de Boumerdès, Algérie
- 📖 Daniel B.,(2006). Les biocarburants. 1^{éd}. Technip, Paris, p.p. 81-82.
- 📖 Elyajouri A. (2012). Actualités des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat. Université Mohammed V-Souissi faculté de médecine et de pharmacie – Rabat.
- 📖 Guiraud J. P., (2009). Microbiologie alimentaire, édition Dunod (France).
- 📖 JORAD. P, Décret exécutif N°06-141 du 19 Avril 2006 définissant les valeurs limites des rejets d'effluents liquides industriels.
- 📖 Kacimi M M., 2008- Analyse du secteur de l'éthanol selon les principes du développement durable. Mem. Ing. Envi., Sherbrooke, Canada, p. 76.
- 📖 Keenan J.D and al. (1983). Chemical-physical leachate treatment. Journal of Environmental Engineering, vol.109, N° .6, December, 1983, pp.1371-1384.
- 📖 Khawla B J., Sameh M., Imen G., Donyes F., Dhouha G., Raoudha E G., Oumèma N E., (2014). Potato peel as feedstock for bioethanol production: a comparison of acidic and enzymatic hydrolysis. Crops Prod.volume1 (52) : 144–149.
- 📖 LuybenW L., (2013). Distillation Design and Control Using Aspen Simulation. 2^{éd}. John Wiley & Sons, Canada, p. 510.
- 📖 Mokhtaria M.M., Eddine B.B., Larbi D., Azzedine H., Rabah L. (2007). Caractéristiques de la décharge publique de la ville de Tiaret et son impact sur la qualité des eaux souterraines, Courrier du savoir, n°8 : 93-99.OMS, 112 p.
- 📖 Parveau M. (1993). Le traitement des lixiviats par osmose inverse, L'eau,

L'industrie, Les nuisances, N°162, pp.48-50.

- 📖 RODIER J. (1996). L'analyse de l'eau naturelle, eaux résiduaires, eau de mer, 8ème Edition, Dunod, Paris, 1383 p.
- 📖 Saadi S., Sbaa M., El Kharmouz M. (2013). Caractérisation physico-chimique de lixiviats du centre d'enfouissement technique de la ville d'Oujda (Maroc oriental), Science Lib., Editions Mersenne, Vol. 5, n° 130517, ISSN 2111-4706, 1-12
- 📖 Shigechi H., Koh J., Fujita Y., Matsumoto T., Bito Y., Ueda M., Satoh E., Fukuda H., Kondo A., (2004). Direct production of ethanol from raw corn starch via fermentation by use of a novel surface-engineered yeast strain codisplaying glucoamylase and alpha-amylase. AEM, volume 70 (8):5037-40.
- 📖 Sophie V. (2006). Etude comparative de l'efficacité des traitements d'épuration des eaux usées pour l'élimination des micro-organismes pathogènes. Institut de Gestion de l'Environnement et d'Aménagement du Territoire, Université Libre de Bruxelles,

Annexes

Annexe : 01

Tableau 10 : Principales classes de CET (Directives Européennes 31/12/2001 N°1999/31/CE)

| Catégorie | Déchets Admissibles | Perméabilité K | Caractérisation du site |
|-------------------|--|---|---|
| Classe I | Déchets spéciaux | K < 10 ⁻⁹ m/s Sur 5m Site imperméable | 1. Fond imperméable, 2. Conception de l'alvéole garantissant les écoulements vers un point bas, 3. Implantation d'un ouvrage, de contournement évitant l'entrée des eaux superficielles, 4. Couverture en pente, favorisant le Ruissellement |
| Classe II | Ordures ménagères et déchets assimilés | 10 ⁻⁹ < K < 10 ⁻⁶ m/s Sur 1 m Site semi imperméable | 1. Capacité du site à s'assurer une épuration des lixivats, 2. Infiltrations modérées, écoulements vers un point bas, 3. Protection des eaux souterraines contre les risques de pollution. |
| Classe III | Déchets inertes | Site perméable K > 10 ⁻⁶ m/s Sur 1m | Migration trop rapide des lixivats constituant un risque élevé de la pollution des nappes phréatiques. |

Annexe : 2

Tableau 11 : Classification des lixiviats en fonction de leur âge (Alvarez-Vazquez et al., 2004 ; Renou et al., 2008a ; Li et al., 2010)

| | Jeune | Intermédiaire | Stabilisé |
|--|------------|----------------|-----------|
| Age (années) | < 5 | 5-10 | > 10 |
| pH | < 6,5 | 6,5-7,5 | > 7,5 |
| DCO (mg.L ⁻¹) | > 10 000 | 4 000-10 000 | < 4 000 |
| DBO/DCO | 0,5-1 | 0,1-0,5 | < 0,1 |
| Composés organiques | 80 % AGV | 5-30%AGV+AH+AF | AH+AF |
| NH ₄ -N (mg.L ⁻¹) | < 400 | 400 | > 400 |
| COT/DCO | < 0,3 | 0,3-0,5 | > 0,5 |
| N Kjeldahl (mg.L ⁻¹) | 100-200 | nd | Nd |
| ETM (mg.L ⁻¹) | < 2 000 | nd | < 50 |
| Biodégradabilité | importante | moyenne | Faible |

AGV : acides gras volatils ; AH : acides humiques ; AF : acides fulviques ; nd : non disponible

Annexe : 3

Modes opératoires et réactifs utilisés pour le dosage des paramètres physico-chimiques

1. Dosage des Nitrites (NO₂-) ISO 6777-1984

▪ **Principe**

Les nitrites réagissent avec la sulfanilamide pour former un composé diazoïque qui, après copulation avec la N-1-Naphtyléthylène diamine dichlorure donne naissance à une coloration rose mesurée à 543 nm.

▪ **Réactifs**

- Réactifs mixte
- Sulfanilamide
- Acide phosphorique
- N-1- Naphtyléthylène diamine
- Eau distillé

▪ **Appareillage**

Spectrophotomètre UV-Vis

▪ **Mode opératoire**

- Dans une fiole jaugée introduire 1ml de l'échantillon à analyser
- Ajouter de l'eau distillée pour amener le volume à environ 40ml.
- Prévoir une fiole avec 40ml d'eau distillée pour le blanc réactif.
- Ajouter 5ml d'acide phosphorique
- Ajouter 1 ml du réactif mixte
- Compléter jusqu'au 50ml avec de l'eau distillée
- Au moins 20mn après l'ajout du réactif.
- L'apparition de la coloration rose indique la présence des nitrites.

▪ **Expression des résultats**

Effectuer la lecture sur le photomètre à $\lambda = 543$ nm.

La teneur en nitrates est déduite du graphe d'étalonnage.

2. Dosage des Nitrates (NO₃-) - Méthode au réactif Sulfophinique (Norme AFNOR NF T 90 102)

▪ Principe

En présence de salicylate de sodium et après traitement en milieu alcalin, les nitrates donnent du paranitrosalicylate de sodium coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique.

▪ Réactifs

- Acide sulfurique.
- Solution de NaOH.
- Salicylate de sodium.
- Solution de tartrate.

▪ Appareillage

Photomètre UV-visible

▪ Mode opératoire

- Prendre 10 ml de l'échantillon à analyser, ajouter 2 à 3 gouttes de NaOH et 1 ml de
- Salicylate de sodium, et faire évaporer à sec à 88°C.
- Laisser refroidir et ajouter 2 ml d'acide sulfurique puis attendre 10 min.
- Ajouter 15 ml d'eau distillée et 15 ml de solution tartrate double qui développe
- couleur jaune.
- Compléter à 50 ml avec de l'eau déminéralisée.
- Effectuer la lecture sur le photomètre à $\lambda = 415 \text{ nm}$.
- La teneur en nitrates est déduite du graphe d'étalonnage.

3. Dosage des l'Azote Ammoniacal (NH₄⁺) ISO 7150/1-1984

▪ Principe

Mesure spectrophotométrique à 655nm du composé bleu formé par réaction de l'ammonium avec les ions salicylate et hypochlorite en présence de nitroprussiate de sodium comme catalyseur.

▪ Réactifs

Réactif A

- Acide dichloroisocyanurique.
- Hydroxyde de sodium.
- Eau distillée

Réactif B

- Tri citrate de sodium.
- Salicylate de sodium.
- Nitroprussiate de sodium.
- Eau distillée

▪ **Appareillage**

Spectrophotomètre UV-V

▪ **Mode opératoire**

- Faire une dilution de l'échantillon à analyser (dilution à 100).
- Prélever 40 ml de cette dernière solution et ajouter 4ml de réactif A+ 4 ml de réactif B
- Compléter jusqu'à 50 ml par de l'eau distillée
- Prévoir une fiole avec 50 ml d'eau distillée pour le blanc réactif
- Laisser reposer pendant 1h 30 mn
- Effectuer la lecture spectre photométrique à 655 nm.
- Expression des résultats : le résultat est donné directement en mg/l.

4. Dosage des Ortho phosphates (PO_4^{3-}) ISO 6878/1-1986

▪ **Principe**

Cette méthode est basée sur le fait que les ions (SO_4^{2-}) se précipitent en milieu acide et en présence du chlorure de baryum ($BaCl_2$) pour former ($BaSO_4$).

▪ **Réactifs**

- Chlorure de baryum.

▪ **Réactif mixte**

- Heptamolybdate d'ammonium.
- Eau distillée
- Tartrate de potassium d'antimoine hemihydraté.
- Eau distillée.
- Acide sulfurique pur.
- Eau distillée

▪ **Mode opératoire**

- Prélever 20 ml de l'échantillon à analyser dans une fiole de 25ml, après une dilution
- à 100ml.

- Ajouter 1ml de l'acide ascorbique et bien agiter.
- Rajouter 4ml de réactif mixte
- Attendre 30 minutes pour effectuer la lecture sur le photomètre à $\lambda=880$ nm.
- La teneur en ortho phosphates est déduite du graphe d'étalonnage.
- **Expression des résultats** : le résultat est donné directement en mg/l.

5. Détermination de calcium (Ca^{2+}) et de magnésium (Mg^{2+})

▪ **Principe**

Le calcium est dosé avec une solution aqueuse d'E.D.T.A à pH compris entre 12-13. Ce dosage se fait présence de MUREXIDE.L'E.D.T.A réagit tout d'abord avec les ions de calciums libres, puis avec les ions calcium combiné avec l'indicateur qui vire alors de la couleur rouge à la couleur violet.

▪ **Réactifs**

- EDTA (3,725g) après déshydratation à 80°C pendant 2h.
- Eau distillée

▪ **Solution d'hydroxyde de sodium(NaOH) 2N**

- NaOH (pastilles) 80g
- Eau distillée

▪ **Solution d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH) pH=10,1**

- Chlorure d'ammonium (67.5g)
- NaOH (25%) 570ml
- HCl concentré
- Eau distillée

▪ **Solution mère de Ca^{+2} à 100mg/l. 729,6 ml→32%**

▪ **Mode opératoire**

Ca^{+2} :

- Prendre 50ml d'eau à analyser
- Ajouter 2 ml de NaOH à 2N
- Ajouter du murexide

Mg^{2+} :

- Et titre avec l'E.D.T.A jusqu'au virage (violet)
- Prendre 50 ml d'eau à analyser
- Ajouter noir Eriochrome
- Et titrer avec l'E.D.T.A. jusqu'au virage (bleu).

Annexe : 04

Modes opératoires des analyses bactériologiques, milieux de culture et réactifs utilisés

1. Recherche des bactéries coliformes :

▪ **Matériel**

- Membrane poreuse
- Entonnoir gradué
- Pince stérile
- Flacons
- Pompe à vide
- Papier filtre de porosité 0,45 µm
- Plaque gélose Tergitol 7
- Bec bunsen
- Incubateur

▪ **Réactifs et milieu de culture**

- L'échantillon (lixiviat) 100 ml
- Milieu Tergitol 7
- Urée indole
- Réactif Kovacs

▪ **Mode opératoire**

La méthode consiste à filtrer à travers une membrane, un volume déterminé de l'échantillon et d'incuber ensuite cette membrane sur une gélose Tergitol 7(T7) pendant 24 heures à 37°C. Dans ces conditions, E. Coli forme des colonies jaunes, alors que quelques autres espèces bactériennes forment des colonies jaune orange. La sélectivité du milieu est assurée par la présence de sels biliaires qui inhibent la croissance de la majorité des organismes à Gram positif. La température élevée d'incubation 37°C est aussi un élément sélectif de la méthode, car elle ne permet pas la croissance de la majorité des bactéries coliformes. Seul E. coli et quelques souches des autres espèces de bactéries coliformes arrivent à se multiplier sur le milieu de culture Tergitol 7(T7) à cette température. La recherche des bactéries coliformes par filtration sur membrane nécessite une préparation au préalable, qui se déroule selon les étapes suivantes :

- Stériliser la membrane poreuse à l'aide d'un bec bunsen ainsi que l'entonnoir gradué
- Refroidir l'entonnoir avec l'eau à analyser

- Mettre en place de façon aseptique la membrane (papier filtre) de porosité nominale de 0.45µm entre la membrane poreuse et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile.
- Homogénéiser bien la solution
- Remplir l'entonnoir avec 100 ml de notre échantillon dilué
- Actionner ensuite la pompe à vide pour absorber l'eau à travers la membrane (Filtre).
- Déposer le papier filtre sur la surface d'une plaque de gélose Tergitol 7
- Incuber à 37°C pendant 24 heures

- **Test de présomption (recherche des coliformes fécaux)**

Pour chaque flacon positif (flacons utilisés pour la recherche de coliformes totaux), on prélève 1 ml et on l'introduit dans un tube contenant l'urée indole, l'ensemble est placé dans un incubateur à 44°C pendant 24h. Après l'incubation on ajoute au tube 3 à 4 gouttes du réactif de Kovacs.

2. Recherche des *Pseudomonas aeruginosa*

- **Matériels**

- Flacons
- Boîtes pétris
- Incubateur

- **Réactifs et milieu de culture**

- L'échantillon (lixiviat) 100 ml
- Milieu cétrimide

- **Mode opératoire**

La méthode de la membrane filtrante consiste à recueillir, identifier et énumérer, à la surface d'une membrane filtrante stérile de porosité 0.45 µm, les *Pseudomonas aeruginosa* présents dans un échantillon d'eau de 100 ml, les résultats sont exprimés en UFC /100 ml (unités formant des colonies). Pour ce faire, il faut de filtrer à travers la membrane un volume déterminé de 100 ml d'échantillon et d'incuber ensuite cette membrane pendant 44 heures ± 4 heures à 37°C sur la gélose cetrimide. Etant donné la température élevée, il en résulte une croissance sélective des *Pseudomonas aeruginosa* caractérisée par des colonies beiges, vertes ou marrons avec ou sans centre vert-brun.

3. Recherche de salmonelles :

▪ Matériels

- Flacons
- Incubateur
- Pipette pasteur
- Boîte pétris
- Tubes à essais

▪ Réactifs et milieu de culture

- L'échantillon (lixiviats) 100 ml
- Milieu d'enrichissement
- Disques bouillon au sélénite au sodium (SFB/DC) double concentré
- Milieu hektoen
- Milieu bouillon au sélénite au sodium (SFB/SC) simple concentré

▪ Mode opératoire

Dans le mode opératoire de salmonelle, on filtre 500 ml de lixiviat, à travers une membrane poreuse. Le papier filtre est transféré en suite dans un flacon de 500 ml, auquel on ajoute après, 20 disques (SFB/DC). On incube le mélange à 37°C pendant 24 heures, après le virage de la couleur jaune claire vers l'orange, on applique deux autres étapes en parallèles :

1ere étape : Enrichissement

On mélange le filtre dans un tube contenant (SFB/SC +1disque SFB), le tout incubé à 37°C pendant 24 heures, après isolement sur milieu Hektoen, on incube encore une fois ce dernier à 37°C pendant 24 heures.

2eme étapes : Isolement sur milieu Hektoen

Isolement à l'aide de la pipette pasteur sur le milieu Hektoen et incubé le mélange à 37°C pendant 24 heures.

4. Recherche de *Staphylococcus aureus* :

▪ Matériel

- Flacons
- Pipette de 0,2 ml
- Incubateur

▪ Réactifs et milieu de culture

- L'échantillon (lixiviats) 100 ml

- L'eau distillée
- Milieu Chapman

- **Mode opératoire**

La méthode de la membrane filtrante consiste à recueillir, identifier et énumérer à la surface d'une membrane filtrante stérile les bactéries recherchées dans un échantillon d'eau à analyser. Pour les Staphylocoques, il s'agit de filtrer à travers la membrane, d'une porosité de 0.45µm, un volume déterminé (100 ml) de l'échantillon et d'incuber ensuite cette membrane pendant 48 heures à 37°C sur milieu Chapman couvercle en bas. Dans ces conditions, les Staphylocoques forment des colonies de 1.0 mm à 1.5 mm, entourées d'un halo jaune à centre noir.

5. Recherche des Streptocoques fécaux :

- **Matériel**

- Flacons
- Pipette pasteur
- Incubateur (marque)

- **Réactifs**

- L'échantillon (lixiviat) 100 ml
- L'eau distillé
- Milieu slanetz
- BEA (Biliée à l'Esculine et à l'Azoture)

- **Modes opératoire**

Après filtration de 500 ml de lixiviat dilué, on dépose le filtre sur le milieu slanetz puis incubé à 37°C pendant 48 heures. On remarque l'apparition de colonies rouges. On ajoute par la suite un milieu d'enrichissement BEA et on aboutit à un virage de couleur.

6. Recherche des bactéries anaérobies sulfite-réductrices :

- **Matériels**

- Tubes à essai
- Flacons
- Incubateur
- Chauffage
- Bain marrie

▪ **Réactifs et milieu de culture**

- L'échantillon (lixiviats) 100 ml
- Eau distillé
- Viande foie (VF)

▪ **Mode opératoire**

On prélève 0,2 ml d'échantillons analysés dilués dans un tube. On ajoute après 19,8 d'eau distillée. On chauffe le tout pendant 10mn à 80°C, puis on le refroidit. On répartit ensuite le contenu du tube en 4 à raison de 5 ml pour chaque tube, puis on ajoute 15 ml de la Viande Foie (VF) dans chaque tube. On incube enfin à 37°C pendant 48 heures.

Annexe 05

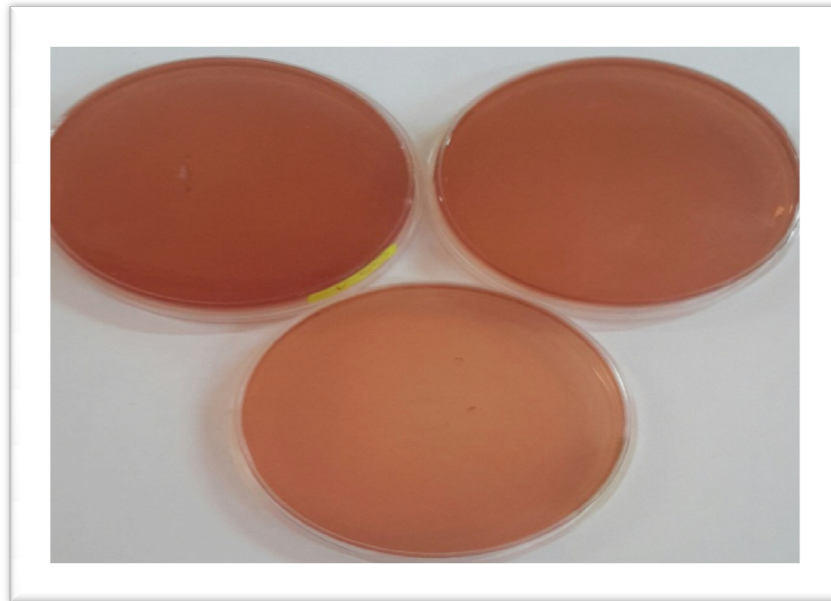


Figure 6: Culture d'identification des coliformes fécaux avant incubation

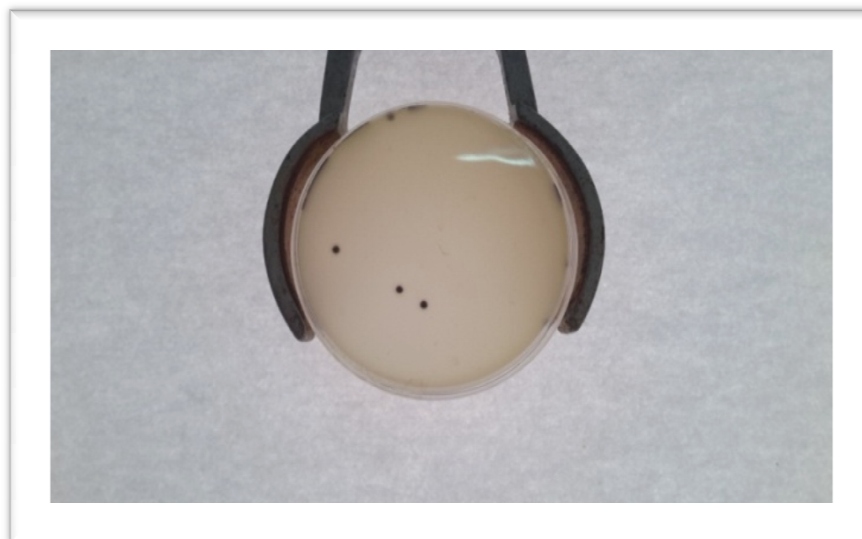


Figure 7: Les colonies des *Staphylococcus aureus* présentes dans le lixiviat



Figure 8: Les colonies d'Anaérobies Sulfito-Réducteurs présentes dans le lixiviat

Annexe 05

Tableau 12: Procédés de traitement des lixiviats. (Billard, 2001c)

| | PROCEDES | AVANTAGES | INCONVENIENTS | SOUS-PRODUITS |
|----------------------------|--|--|---|----------------------------|
| Procédés biologiques | Lagunage aéré | Elimination de la DBO ₅ et de l'azote | Dénitrification difficile, encombrement important | Boues biologiques en excès |
| | Boues activées | Elimination de la DBO ₅ et de l'azote global | Consommation énergétique pour l'apport d'oxygène | Boues biologiques en excès |
| | Bioréacteur à membranes | Elimination de la DBO ₅ , azote, DCO résiduelle, MES, bactéries, virus Faible encombrement | Consommation énergétique | Boues biologiques en excès |
| | Culture fixée | Elimination de la DBO ₅ et de l'azote Faible consommation énergétique | Faible rendement épuratoire | - |
| Procédés physico-chimiques | Coagulation-floculation | Débit de traitement Réduction de 40 à 50 % de la DCO dure Agglomération des MES | Production importante de boues (20 % du volume traité) | Boues |
| | Précipitation | Précipitation des métaux, diminution des MES, élimination d'une partie de la matière organique | Production des boues d'hydroxydes métalliques | Boues |
| | Filtration sur charbon actif | Elimination de la DCO résiduelle, réduction des organo-halogènes et de la couleur | Renouvellement des absorbeurs | - |
| | Ozonation (H₂O₂ et / ou UV) | Elimination de la DCO dure, décolorisation et augmentation du caractère biodégradable | Sensible aux variations de charges. Consommation énergétique | - |
| Procédés thermiques | Evaporateur | Concentration maximale de la pollution Utilisation du biogaz | Dissipation partielle à l'atmosphère Dépend de la qualité et de la quantité du | Concentrat. |

| | | | Biogaz | |
|------------------------------|--|---|---|-------------------------------|
| | Evapocondensateur | Concentration maximale de la pollution Utilisation du biogaz | Dépend de la qualité et de la quantité du biogaz | Concentrat. |
| | Sécheur isoflash | Elimination de la charge polluante du lixiviat Utilisation du Biogaz | Dépend de la qualité et de la quantité du biogaz | Extrait sec pulvérulent |
| Procédés membranaires | Nanofiltration | Rétention de la DCO dure, des sels, des métaux | Consommation énergétique | Rétentats de nanofiltration |
| | Osmose inverse | Rétention de la DCO dure, des sels, des métaux et des nitrates | Consommation énergétique | Rétentats d'osmose (saumures) |
| Autre | Traitement en station d'épuration externe | Pas d'investissement sur le site | Coût parfois très élevé Dépendance à un "tiers traiteur" Solution non pérenne | - |