République Algérienne Démocratique Populaire وزارة التعليم العالي و البحث العلمي Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique جامعة ابسن خلسدون - تيسارت Université Ibn Khaldoun – Tiaret



Faculté des Sciences de la Matière مسلية علسوم المسادة Département de Chimie قسم السكيمسياء

Mémoire

Présenté par :Melle MADANI KHALDIA Melle BERROUBA DHAOUIA

Pour obtenir le diplôme de

Master

Filière : Chimie Spécialité: Chimie organique Sujet :

Etude de la biodégradation de certains colorants textiles

Soutenu le: 11/06/2018

Devant le jury:

M^r DAHO Président **UNIV** .Tiaret **BOUABDELA** MAA M^{me} ABDELMALEK **MCB Examinatrice UNIV** .Tiaret **ILHAM** M^{elle} HENNI **MERIEM** MAA **Encadreur UNIV** .Tiaret M^{elle} BENNABI LAMIA **MCB** Invitée **UNIV** .Tiaret

Année Universitaire: 2017/2018

Remerciements

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au sein du laboratoire de Ecologie végétale, microbiologie, chimie, et génie physique de l'Université Ibn khaldoun Tiaret, sous la direction du Melle HENNI.

Je tiens à la remercier pour la confiance qu'elle a bien voulu m'accorder en me proposant ce sujet et pour son aide, ses encouragements, sa patience et ses précieux conseils tout au long de ce travail.

Nous tenons à remercier monsieur Mr B.DAHO maitre assistance A à l'université de Tiaret, pour avoir accepté de présider le jury de cette mémoire.

Je tiens à témoigner ici ma reconnaissance à **Mme I.Abd lmalek** maitre assistance A à l'université de Tiaret, d'avoir accepté d'évaluer ce modeste travail.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à **Melle L.BENNABI**, Chef de département de chimie pour ses aides précieuse, ses encouragements chaleureux

Nous tenons à remercier toute l'équipe de laboratoire de graduation de chimie et plus notamment: M^r A.Larbi et M^r Hadidi ainsi que M^{elle} Somia et M^{me} Nadia de nous avoir aidé pendant la réalisation de ce travail.

Nous tenons également à remercier toute l'équipe de laboratoire de microbiologie de l'Institut des sciences vétérinaires, notamment : **Mr Amine** pour leurs aides à réaliser ce travail.

Nous adressons nos remerciements à tous les ingénieurs des laboratoires de Faculté des Science de la Nature et de la Vie notamment M^{me} Fatima, M^{elle} Aicha, et M^{elle} Samira pour leurs aides à réaliser ce travail.

Finalement, nous tenons à exprimer nos remerciements vont à tout ce qui a participe à réaliser ce mémoire. Ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation.

Dédicace

Je remercie Allah de m'avoir donné le courage, la patience et par-dessus de tout la sante de mener à réaliser ce modeste travail

Je dédie ce mémoire,

A mes chers parents: Ma mère et Mon père

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements.

A mes frères et mes sœurs

A toute la famille <<Berrouba>> et la famille << Meslem>>

A mes chères amies et mes camarades

A toute personnes qui mont aidé de prés ou de loin.

A toute la promotion de master 2 <<chimie organique>>

A tous les professeurs qui m'ont enseigné.

«Berrouba Dhaouía»

Dédicace

Je dédie ce travail

A mes adorables parents: Ma mère et Mon père.

Qui toujours encouragé durant les années d'études, et pour leurs sacrifices.

A mes chères sœurs : Khaldia, Sarah

A mes frères: Mohamed, Hichem

A toute la famille <<Madani >> et la famille <<Bourahla>>

Ames chères amie et mes camarades

A tous qui m'ont encouragé lors de ma préparation

A toute la promotion de master 2 <<chimie organique>>

A tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin à la réalisation de ce travail.

A tous les professeurs qui m'ont enseigné.

«Madaní Khaldía»

Liste des abréviations

Abs Absorbance

Aw Activité en eau

BM Bleu de méthylène

CFU Unités formant colonies

D% Le pourcentage de décoloration

DBO La demande biochimique en oxygène

DBO₅ La demande biochimique en oxygène après 5 jours

DCO La demande chimique en oxygène

DL50 La dose létale

E. coli Escherichia.coli

GN Gélose nutritive

MES Les matières en suspension

MeO Méthyle orange

MMN Milieu Minéral Nutritif

pH Le potentiel hydrogène

RC Rouge Congo

S.aureus Staphylococcus aureus

STEP Station d'épuration

UV Ultra-violet

Liste des figures

Partie théorique

Chapitre I : Les eaux usées

Figure I.1	Déshuileur utilisé dans l'épuration des eaux usées	09
	Chapitre II : Généralité sur les colorants	
Figure II.1	Colorant C.I.mordant bleue 9	13
Figure II.2	Colorant C.I. Acide red27	13
Figure II.3	Colorant CI direct Bleue 1	14
Figure II.4	Colorant CI Basic green 4	14
Figure II.5	Colorant CI Disperse Yellow 3	14
Figure II.6	Pigment synthétique	15
Figure II.7	Structure chimique du Jaune AB	15
Figure II.8	Structure chimique du Jaune OB	16
Figure II.9	Molécule de bleu de méthylène	21
Figure II.10	Schéma de fonctionnement du spectromètre UV-Visible	24
Figure II.11	La loi de Beer Lambert.	24
	Chapitre III: Bactéries et Biodégradation	
Figure III.1	Différentes classes de microorganismes	25
Figure III.2	Organisation générale d'une bactérie	26
Figure III.3	La paroi bactérienne	26
Figure III.4	Escherichia Coli en division	27
Figure II.5	Staphylococcus aureus	28

Figure II.6	Courbe typique de la croissance d'une culture bactérienne	31
	Partie expérimentale	
Chap	oitre I : Etude de la biodégradation des colorants par des bactéries	
Figure I.1	Manipulation de repiquages des souches bactériennes	41
Figure I.2	Test de dégradation des trois colorants	43
Figure I.3	Cinétique de décoloration par Escherichia Coli	46
Figure I.4	Cinétique de décoloration par Staphylococcus aureus	47
Figure I.5	Effet du pH de la solution sur la décoloration	49
Figure I.6	Effet de la concentration initiale en colorant sur la décoloration	51
Figure I.7	Effet de la salinité sur la décoloration	53
Figure I.8	Effet de la concentration du glucose sur la décoloration	55
Chap	oitre II : Etude de biodégradation des colorants par la boue activée	
Figure II.1	Préparation des l'inoculum	56
Figure II.2	Test de dégradation des trois colorants.	57
Figure II.3	Cinétique de la décoloration par la boue activée	59
Figure II.4	Dispositif expérimentale de la biodégradation	60
Figure II.5	Cinétique de la décoloration en condition d'agitation	61
Figure II.6	Effet de la variation de pH sur la décoloration	62
Figure II.7	Effet de différentes concentrations de colorant sur la décoloration	63
Figure II.8	Effet de la salinité sur la décoloration	64
Figure II.9	Effet de la variation de la concentration du glucose sur la décoloration	65

Liste des tableaux

Partie théorique

Chapitre II	·:	Généralité	sur	les	colorants
-------------	----	------------	-----	-----	-----------

Tableau II.1	Les caractéristiques physico-chimiques du bleu de méthylène	21
Tableau II.2	Caractéristique chimique du Rouge Congo	22
Tableau II.3	Propriétés physico-chimiques du méthyle orange	23
	Chapitre III: Bactéries et Biodégradation	
Tableau III.1	Les aliments constitutifs des micro-organismes	30
Tableau III.2	Substituant influençant la biodégradabilité des substrats organiques	36
Tableau III.3	Classification physiologique des bactéries en fonction de la température	37
Tableau III.4	Teneurs en fonctions superficielles de charbon actif	50
	Partie expérimentale	
Chapit	tre I : Etude de la biodégradation des colorants par des bactéries	
Tableau I.1	Résultat cinétique de la décoloration par Ecoli($C_0 = 10 mg/l$)	44
Tableau I.2	Résultat cinétique de la décoloration par S.aureus($C_0 = 10 mg/l$)	44
Tableau I.3	Résultat cinétique de la décoloration par la souche $Ecoli(C_0 = 20mg/l)$	45
Tableau I.4	Résultat cinétique de la décoloration par S.aureus($C_0 = 20mg/l$)	45
Tableau I.5	Effet de pH sur la décoloration du colorant par S.aurse (C=10mg/l)	48
Tableau I.6	Effet de pH sur la décoloration des colorants par E coli (C=10mg/l)	49
Tableau I.7	Effet de la concentration en colorant sur la décoloration par E Coli.	50
Tableau I.8	Effet de la concentration en colorant sur la décoloration par S.aureus	
Tableau I.9	Effet de la salinité sur la décoloration par E.Coli .	52

Liste des tableaux

Tableau I.10	Effet de la salinité sur la décoloration par S.aureus	53
Tableau I.11	Effet de la concentration de glucose sur la décoloration.	54
Chapi	tre II : Etude de biodégradation des colorants par la boue activée	
Tableau II.1	Résultat cinétique de décoloration par la boue activée ($C_0 = 20 mg/l$)	58
Tableau II.2	Résultat cinétique de décoloration en condition statique ($C_0 = 10 mg/l$)	58
Tableau II.3	Résultat cinétique de décoloration en condition d'agitation ($C_0 = 5mg/l$)	60
Tableau II.4	Effet de la variation de pH sur la décoloration (C=10mg/l)	62
Tableau II.5	Effet de différentes concentrations de colorant sur la décoloration.	63
Tableau II.6	Effet de la salinité sur la décoloration.	64
Tableau II.7	Effet de différentes concentrations initiales de glucose sur la	65
	décoloration	

Sommaire

Introduction générale	1
Chapitre I : Les eaux usées	
1.1 Introduction	3
I.2 Définition des eaux usées	3
I.3 Les types des eaux usées	3
I.3.1 Les eaux usées domestiques	3
I.3.2 Les eaux usées industrielles	4
I.3.3 Les eaux usées urbaines	4
I.3.4 Les eaux usées pluviales	4
I.3.5 Les eaux usées agricoles	4
I.4 La pollution des eaux	5
I.4.2 Classification selon l'origine	5
1.4.1 Pollution minérale	5
1.4.2 Pollution organique	5
1.4.3 Pollution microbiologique	6
1.5 Principaux indicateurs de pollution des eaux usées	6
1.5.1 La température	6
1.5.2 La turbidité	6
1.5.3 La conductivité	6
1.5.4 La couleur et l'odeur	6
1.5.5 Les matières en suspension	6
1.5.6 Le potentiel hydrogène	6
I.5.7 La demande biochimique en oxygène	6
I.5.7 La demande biochimique en oxygène	7
I.5.8 La demande chimique en oxygène	7
I.5.9 La biodégradabilité	8
I.5.10 Les métaux lourds	8
I.5.11 Les matières colorantes	8
I.6 Epuration des eaux usées	8
I.6.1 Prétraitements	

Sommaire

I.6.1.1 Dégrillage	9
I.6.1.2 Dessablage	9
I.6.1.3 Déshuilage et dégraissage	9
I.6.2 Traitement primaire	10
I.6.3 Traitement secondaire	10
I.6.4 Traitement tertiaire	11
I.6.5 Traitement des boues	11
I.6.5.1 Epaississement	11
I.6.5.2 Stabilisation	12
I.6.5.3 Conditionnement	12
I.6.5.4 Elimination finale	12
Chapitre II : Généralité sur les colorants	
I.1 Généralité sur les colorants	13
I.2 Définition d'un colorant	13
I.3 Différents types de colorants	13
L3.1 Colorants utilisés dans le textile	14
I.3.2. Colorants utilisés dans l'alimentation	16
I.4 Utilisation des colorants	17
I.5 Toxicité des colorants	17
I.5.1 Toxicité par les rejets industriels	17
I.5.2 Toxicité par les colorants alimentaires	18
I.6. Méthodes du traitement les effluents textiles	19
I.6.1 Méthodes physiques de traitement	19
I.6.2. Méthodes physico- chimiques de traitement des textiles	20
I.6.3. Méthodes chimiques de traitement des textiles	20
I.6.4. Méthodes biologiques de traitement	20
I.7 Propriétés des colorants étudiés	21
I.7.1 Bleu de méthylène	21
I.7.2 Rouge Congo	22
I.7.3 Méthyle orange (MeO)	23
I.8 La méthode d'analyse des polluants	24
I.8.1. Spectroscopie UV-Visible	24

I.8.1.1Principe de fonctionnement du spectrophotomètre	24
Chapitre III: Bactéries et Biodégradation	
I.1 Introduction	26
I.2 Définition de microorganismes	26
I.3 Morphologie et Structure fine des bactéries	26
I.4 Les différents types de bactéries	27
I.4.1 Bactéries à gram négatif	28
I.4.1.1 Genre Escherichia	28
I.4.2 Bactéries à gram positif	29
I.4.2.1 Genre Staphylococcus	29
I.5 Nutrition et croissance microbienne	30
I.5.1 Nutrition des micro-organismes	30
I.5.2 Croissance des micro-organismes	32
I.6. Influence des paramètres environnementaux sur la croissance	33
I.6.1. Effet de la température	33
I.5.2. Effet du pH	33
I.5.3. Rôle de l'oxygène	34
I.7 Biodégradation des composés organiques	34
I.7.1 Définition de la biodégradation	34
I.7.2 Mécanismes de dégradation	35
I.7.2.1 Biodégradation gratuite	35
I.7.2.2 Cométabolisme	36
I.7.3 Les facteurs de la biodégradation	36
I.7.3.1 Causes chimiques	36
I.7.3.2 Causes physico-chimiques	37
1.7.3.3 Causes environnementales	37
I.7.3.4. Causes biologiques	39
Partie expérimentale	
Chapitre I : Etude de la biodégradation des colorants par des bactéries	
I. Méthodologie expérimentale	40
I.1 Préparation des solutions	40

Sommaire

I.2 Mesure de la densité optique	40
I. 3. Matériel biologique	40
I.3.1 Les micro-organismes	40
I.3.2 Milieux de culture	40
I.3.2.1 Les milieux solides	40
I.3.2.2 Le milieu liquide	41
I.3.3 Repiquage des souches bactériennes dans les milieux sélectifs	41
I.3.4 Préparation des suspensions bactériennes	42
I.4. Cinétique de la Biodégradation des colorants	43
I.2 Facteurs influençant la dégradation des colorants	49
I.2.1 Effet de pH sur la dégradation des colorants	49
I.2.2 Effet de la concentration initiale en colorant	51
I.2.3 Effet de la salinité sur la décoloration	53
I.2.4 Effet de la concentration de glucose	55
Chapitre II : Etude de biodégradation des colorants par la boue activée	
II.1 Teste de biodégradation des colorants par une boue activée	57
II.1.1. Origine de la Culture bactérienne	57
II.1.1.1Préparation de l'inoculum à partir des boues activées	57
II.2 Etude cinétique de la décoloration à des conditions statiques	57
II.3 Etude cinétique de la décoloration à des conditions d'agitation	61
II.4 Facteurs influençant la dégradation des colorants	62
II.4.1 Effet de pH sur la dégradation des colorants	62
II.4.2 Effet de la concentration initiale en colorant	63
II.4.3 Effet de la salinité sur la décoloration	64
II.4.4 Effet de la concentration de glucose sur la décoloration	66
II 5 Dégultat et discussion	
II.5 Résultat et discussion	67

Partie theorique

I.1 Introduction

Lorsque l'homme utilise l'eau, il ne fait pas que la consommer mais il en rejette une partie dans l'environnement. C'est ce que l'on appelle l'eau usée. Cette eau usée peut contenir différents polluants. On a donc tout d'abord commencé à la traiter pour des raisons sanitaires. Les premiers réseaux d'évacuation des eaux usées remontent à l'antiquité. Au XIXe siècle, les premiers systèmes de traitement de ces eaux ont vu le jour, les premiers objectifs étaient alors sanitaires hygiéniques et de confort. Les eaux usées quelque soit leur origine sont généralement chargées en éléments indésirables qui selon leur quantité et composition représentent un danger réel pour les milieux récepteurs ou leurs utilisateurs. L'élimination de ces éléments toxiques exige de concevoir une chaîne de traitement. Toute fois, avant de concevoir tout procédé d'épuration, il est impératif de caractériser l'effluent à traiter quantitativement et qualitativement [7].

I.2 Définition des eaux usées

Une eau usée est une eau qui a subi modification défavorable des propriétés physicochimiques et biologiques, produite directement ou indirectement par les activités humaines, les rendant impropres à l'utilisation normale établit [7]. Les eaux usées sont toutes les eaux des activités domestiques, agricoles et industrielles chargées en substances toxiques qui parviennent dans les canalisations d'assainissement. Les eaux usées englobent également les eaux de pluies et leur charge polluante, elles engendrent au milieu récepteur toutes sortes de pollution et de nuisance [7, 8].

I.3 Les types des eaux usées

Les eaux usées résultent de la pollution tant physico –chimique que bactériologique des eaux de consommation de bonne qualité, du fait des activités humaines, qu'elles soient domestiques, industrielles ou agricoles [9]. Ces eaux proviennent de cinq sources principales:

I.3.1 Les eaux usées domestiques

Elles proviennent des différents usages domestiques de l'eau. Elles sont constituées essentiellement d'excréments humains des eaux ménagères de vaisselle chargées de détergents, de graisses appelées eaux grises et de toilette chargées de matières organiques azotées ou phosphatées et de germes fécaux appelées eaux noires [10].

I.3.2 Les eaux usées industrielles

Elles sont très différentes des eaux usées domestiques. Leurs caractéristiques varient d'une industrie à l'autre. En plus des matières organiques, azotées ou phosphorées, elles sont chargées en différentes substances chimiques organiques et métalliques. Selon leur origine industrielle, elles peuvent également contenir [11] :

- ✓ Des graisses (industries agroalimentaires, équarrissage).
- ✓ Des hydrocarbures (raffineries).
- ✓ Des métaux (traitements de surface, métallurgie).
- ✓ Des acides ou des bases et divers produits chimiques (divers industries chimiques tanneries).
- ✓ De l'eau chaude (circuit de refroidissement des centrales thermiques).
- ✓ Des matières radioactives (centrales nucléaires, des déchets radioactifs) [12].

I.3.3 Les eaux usées urbaines

Ce sont les eaux des habitations et des commerces qui entrainent la pollution urbaine de l'eau. Les polluants urbains sont représentés par les rejets domestiques, les eaux de lavage collectif et de tous les produits dont se débarrassent les habitants d'une agglomération notamment des rejets industriels rejetés par les entreprises en quantités variables selon l'importance de l'agglomération et son activité [13, 14].

Le « tout –à- l'égout » est une expression significative ; elle exprime cette diversité. On trouve les excréments, les restes d'aliments, les déversements d'abattoirs, les déversements hospitaliers, les lessives, les détergents, les insecticides, les hydrocarbures, les déchets de la petite industrie et divers produits toxiques [15].

I.3.4 Les eaux usées pluviales

Ce sont des eaux de pluies et de lavage des chaussées. Ces eaux sont caractérisées par la présence des matières en suspension en grande quantité ainsi que des hydrocarbures provenant de la circulation automobile. Les eaux de pluie ruissellent dans les rues où sont accumulées de polluants [16, 13].

I.3.5 Les eaux usées agricoles

Il s'agit de rejets liquides et agricoles issus du ruissellement d'eaux d'irrigation qui entraine des engrais et des pesticides, des herbicides ou des rejets organiques dus à un élevage important. Les pollutions dues aux activités agricoles sont de plusieurs natures :

✓ Apport aux eaux de surface de nitrates et de phosphates utilisés comme engrais, par suite de lessivage de terres perméables. Ces composés minéraux favorisent la prolifération des algues (phénomène d'eutrophisation) qui en abaissant la teneur en oxygène des eaux courantes, compromettent la vie des poissons et des animaux aquatiques.

- ✓ Apport des pesticides chlorés ou phosphorés, de désherbants et d'insecticides.
- ✓ En région viticole, apport de sulfates de cuivre, de composés arsenicaux destinés à la protection des vignes [9].

I.4 La pollution des eaux

La pollution ou la contamination de l'eau peut être définie comme la dégradation de celle-ci en modifiant ses propriétés physique, chimique et biologique par des déversements rejets des dépôts directs ou indirects de corps étrangers ou de matières indésirables telles que les microorganismes, les produits toxiques, les déchets industriels [17].

Ces substances polluantes peuvent avoir différentes origines : urbaine (activités domestiques ; eaux d'égout, eaux de cuisine) agricole (engrais, pesticides) industrielle (chimie-pharmacie, pétrochimie, raffinage), La pollution des eaux usées se manifeste sous forme minérale ou organique et microbiologiques [13].

I.4.1 Pollution minérale

Elle est constituée essentiellement des métaux lourds en provenance des industries métallurgiques de traitement de minerais. On peut citer le Plomb, le Cuivre, le Fer, le Zinc et le Mercure. Il y'a aussi le cas de certains sels à forte concentration, ces éléments sont non biodégradables et de ce fait un traitement tertiaire devient plus que nécessaire [18, 7].

I.4.2 Pollution organique

Les polluants organiques sont les plus nombreux et les plus dangereux. Certaines de ces substances sont même cancérigènes ou mutagènes, d'où l'importance de les éliminer. Ils peuvent être classés en phénols, hydrocarbures, colorants, détergents et pesticides formant de loin la première cause de pollution des ressources en eaux. Ces matières organiques sont notamment issues des effluents domestiques (déjections animales et humaines, graisses... etc.) mais également des rejets industriels [19]. Elles provoquent l'appauvrissement en oxygène des milieux aquatiques, avec des effets bien évidents sur la survie de la faune. Ce sont aussi tous les déchets carbonés tels que la cellulose produite par les papeteries, le sucre ou le lactosérum des industries agro-alimentaires [7, 20].

I.4.3 Pollution microbiologique

Le rejet urbain en général présente des conditions très favorables à la prolifération de certains germes pathogènes et d'organismes vivants. On peut citer les virus, les bactéries, les protozoaires, les vers et les microchampignons [20]. Ces différents éléments garantissent une masse permanente en germes utiles à l'épuration par biodégradation [18].

I.5 Principaux indicateurs de pollution des eaux usées

Les eaux usées sont des liquides de composition hétérogène, chargés de matières minérales ou organiques pouvant être en suspension ou en solution et dont certaines peuvent avoir un caractère toxique, les indicateur de pollution sont identifiés par les paramètres qui sont :

I.5.1 La température

Fondamentalement importante par son effet sur beaucoup propriétés, par exemple l'accélération des réactions chimiques, la réduction de la solubilité des gaz, l'amplification des goûts et des odeurs. etc [21]. Elle joue un rôle primordial dans la distribution des espèces aussi bien par ses niveaux extrêmes que par ses variations diurnes ou saisonnières [22].

I.5.2 La turbidité

La turbidité est inversement proportionnelle à la transparence de l'eau, la présence de matières en suspension et/ou de colloïdales donne un aspect trouble à l'eau. Elle dans l'eau peut être due à l'argile au limon, aux rejets industriels ou à la présence d'un grand nombre de micro-organismes [18, 21].

I.5.3 La conductivité

La mesure de la conductivité donne une idée sur la salinité de l'eau. Plus la concentration ionique des sels dissous est grande et plus la conductivité est importante [18].

I.5.4 La couleur et l'odeur

La couleur et l'odeur sont des indicateurs de la pollution de l'eau. La couleur d'une eau usée urbaine est grisâtre mais certains rejets industriels (teinture, papeteries) contiennent des colorants particulièrement stables. Ils existent plusieurs gaz qui donnent des odeurs particulières à l'eau résultant d'une fermentation ou décomposition, parmi lesquels on peut citer NH_3 , H_2S ... [18].

I.5.5 Les matières en suspension (M.E.S)

C'est la masse de matières insolubles ou colloïdales retenues par filtration quantitative ou séparées par centrifugation, elles s'expriment en milligramme par litre. Elles donnent également à l'eau une apparence trouble et souvent un mauvais goût et une mauvaise odeur. Elles sont fonction de la nature des terrains traversés, de la saison, de la pluviométrie, de régime d'écoulement des eaux, de la nature des rejets,... etc [23].

I.5.6 Le potentiel hydrogène (pH)

Les eaux superficielles constituent un système physico-chimique complexe tamponné par les divers équilibres entre les espèces moléculaires ou ionisées présentes dont les équilibres carboniques. Le pH indique la concentration en ions H^+ présent dans l'eau. Les micro-organismes autorisent une gamme de pH allant de 5 à 9 en milieu aérobie et de 6 à 8 en milieu anaérobie. En général, les effets du pH se font surtout sentir par l'influence qu'exerce ce paramètre sur les équilibres entre les autres composés du milieu (azote ammoniacal, sulfure de sodium , acide cyanhydrique...etc) lorsqu'ils ont une toxicité variable selon qu'ils se trouvent ou non sous forme ionisée [22].

I.5.7 La demande biochimique en oxygène (DBO)

La demande biochimique en oxygène DBO est par définition la quantité d'oxygène nécessaire aux microorganismes vivants présents dans le milieu pour assurer l'oxydation et la stabilisation des matières organiques présentes dans l'eau usée. Par convention la DBO est la valeur obtenue après cinq jours d'incubation DBO_5 . L'essai normalisé prévoit un ensemencement microbien à l'aide d'eau usée domestique, d'une eau de rivière ou d'un effluent de station, et une incubation à $20 \, {}^{\circ}C$ à l'abri de la lumière [24, 25].

I.5.8 La demande chimique en oxygène (DCO)

C'est la mesure de la quantité d'oxygène nécessaire qui correspond à la quantité des matières oxydables par oxygène renfermé dans un effluent exprimée en mg d'oxygéne O_2 par litre [26]. Elles représentent la plus part des composés organiques (détergents, matières fécales). Elle est mesurée par la consommation d'oxygène par une solution de dichromate de potassium en milieu sulfurique en présence de Sulfate d'argent et de sulfate de mercure II (complexant des chlorures) à chaud pendent 2h à $150 \circ C$ selon APHA [18, 27].

I.5.9 La biodégradabilité

Le rapport $K = DCO/DBO_5$ estime la biodégradabilité qui traduit l'aptitude d'un effluent à être décomposé ou oxydé par les micro-organismes qui interviennent dans le processus d'épuration biologique des eaux. La valeur du coefficient K détermine le choix de la filière de traitement à adopter, si l'effluent est biodégradable on applique un traitement biologique, sinon on applique un traitement physicochimique si :

- K < 1, 5 : Les matières oxydables sont constituées en grande partie de matières fortement biodégradables.
- 1, 5 < K < 2, 5: les matières oxydables sont moyennement biodégradables.
- 2, 5 < K < 3: les matières oxydables sont peu biodégradables.
- K > 3: les matières oxydables sont non biodégradables [28].

I.5.10 Les métaux lourds

Les métaux lourds se trouvent dans les eaux usées urbaines sous forme de trace. Des concentrations élevées sont en général révélatrices d'un rejet industriel sans aucun doute. Leur présence est nuisible pour l'activité des micro-organismes, elle va donc perturber le processus d'épuration biologique. Leur élimination se fait au cours de la phase de décantation- filtration du traitement [29–31].

I.5.11 Les matières colorantes

Dans la pollution de l'eau industrielle, la couleur produite par les petites concentrations de colorants synthétiques dans l'eau est importante, car en plus d'avoir les effets toxiques possibles, la couleur de l'eau est visiblement désagréable. Les effluents de la teinture textile sont généralement très colorés, avec de grandes quantités des matières en suspensions organiques. Les colorants synthétiques sont conçus pour être récalcitrants à la biodégradation et donc les processus de traitement biologique sont inefficaces pour éliminer la couleur des eaux usées [32].

I.6 Epuration des eaux usées

La station d'épuration (STEP) permet de traiter les eaux polluées de manière à réduire considérablement leur degré d'altération pour qu'elles puissent être réutilisées ou rejetées dans le milieu récepteur sans impacts. Les normes de rejet précisent les caractéristiques de ces eaux selon l'usage ultérieur et imposent par conséquent le niveau d'épuration à atteindre. Les procédés d'épuration les plus couramment utilisées reposent sur le principe

biologique (les micro-organismes absorbent la pollution), et se présentent selon deux systèmes différents :

- a) Systèmes intensifs (ou systèmes compacts) : font appel à des technologies appropriées et nécessitent plus d'énergie.
- **b)** Systèmes extensifs : font appel aux pouvoirs épurateur de la nature, mais nécessitent plus d'espace [33].

Une station d'épuration comprend en général les étapes de traitement suivantes :

- ✓ Prétraitements
- ✓ Traitements primaires
- ✓ Traitements physico-chimiques
- ✓ Traitements secondaires
- ✓ Traitements tertiaires
- ✓ Traitement des boues.

I.6.1 Prétraitements

L'objectif principal de cette étape est de séparer de la phase liquide les matières solides grossières, parmi les étapes de prétraitements on peut citer : le dégrillage, le dessablage, déshuilage et le dégraissage.

I.6.1.1 Dégrillage

Il a pour but d'éliminer toutes les impuretés qui pourraient, par obstruction, dans les pompes des difficultés de fonctionnement, cette étape est très importante parce qu'elle permet de soumettre les eaux usées aux traitements ultérieurs sans trop de problèmes.

I.6.1.2 Dessablage

Les dessableurs sont utilisés pour la sédimentation de particules minérales contenues dans les eaux usées et ayant une taille de 0,2 à 2 mm. Selon le principe de fonctionnement on distingue deux types de bassin de dessableurs longitudinaux et les dessableurs circulaires [34].

I.6.1.3 Déshuilage et dégraissage

Des séparateurs d'huiles spéciaux ont été réalisés pour séparer l'huile minérale et les produits pétroliers provenant des eaux résiduaires des raffineries. La séparation des huiles se fait dans cette étape par flottation c'est pourquoi, il faut nettoyer aussi bien la surface que le fond du bassin. Pour le nettoyage on utilise des ponts racleurs et des racleurs à chaîne et à lames [34],

la figure I-1 ci-dessous montre la photo d'un déshuileur utilisé dans l'épuration des eaux usées.



Figure I.1 : déshuileur utilisé dans l'épuration des eaux usées

I.6.2 Traitement primaire

Dans l'épuration des eaux usées, le traitement primaire est une simple décantation qui permet d'éliminer la majeure partie des matières en suspension. Les bassins de traitement primaire sont souvent de forme conique mais il existe d'autres types de décanteurs. Cette étape permet d'éliminer 70% environ des matières minérales et organiques en suspension qui se déposent au fond du bassin où elles constituent les boues dites "primaires".

Les performances de la décantation peuvent être améliorées en cas des eaux potables par l'ajout des produits chimiques (sulfate d'alumine, chlorure ferrique...) qui neutralisent les particules chargées, en augmentant ainsi la probabilité de collision entre les particules (coagulation floculation), ainsi que la formation des flocs par la suite facilement décantables. Cette étape permet d'éliminer 90 % des matières colloïdales [35].

I.6.3 Traitement secondaire

Il consiste à utiliser les bactéries pour éliminer les polluants restants. Cette étape est accomplie en forçant le mélange entre les eaux usées, les bactéries et l'oxygène, l'oxygène aide les bactéries à éliminer plus rapidement les polluants. L'eau est ensuite acheminée dans d'autres réservoirs où les particules solides se déposent à nouveau dans le fond, le traitement secondaire élimine entre 90 et 95% des polluants, soit un abattement de 85 à 90% de la DBO₅ et 90 à 99% des bactéries coliformes selon la réaction suivantes [36] :

Eau usée + biomasse + oxygène Eau épurée + accroissement de la biomasse + gaz

I.6.4 Traitement tertiaire

L'expression «Traitement tertiaire» peut désigner plusieurs types de traitements ou différentes fonctions en vue d'atteindre un niveau de traitement de qualité supérieure à ce que l'on pourrait normalement atteindre d'un traitement secondaire. Le traitement tertiaire peut viser un enlèvement plus poussé pour des paramètres conventionnels comme les matières en suspension ou encore certains paramètres pour lesquels il y a peu d'élimination dans un traitement secondaire comme le phosphore, les nitrates ...etc.

Parmi les étapes qu'on peut trouver dans un traitement tertiaire :

- ✓ La déphosphoration
- ✓ La désinfection
- ✓ La dénitrification

I.6.5 Traitement des boues

Les boues de stations d'épuration sont des produits résiduaires qui résultent du traitement des eaux usées dans les stations d'épuration. Au cours des traitements primaires et secondaires des boues sont produites. Elles sont classées en trois catégories :

- a)Les boues primaires : sont obtenues au niveau du décanteur primaire, après séparation physique des matières en suspension par décantation, de nature fortement organique.
- b) Les boues secondaires : proviennent des traitements biologiques des eaux usées.
- c) Les boues mixtes : correspondent au mélange des boues primaires et secondaires.

Les constituants des boues les plus importants sont :

- ✓ la matière organique
- ✓ Les nutriments
- ✓ Les pathogènes
- ✓ Les métaux
- ✓ Les composés organiques traces.

Les étapes de traitement des boues sont les suivantes [37] :

I.6.5.1 Epaississement

C'est une étape de réduction du volume des boues, elle est réalisée :

✓ **Soit par décantation** : les boues sont introduites dans un épaississeur où le temps de séjour est élevé.

✓ **Soit par flottation** : les microbulles d'air injectées se fixent aux particules de boues et remontent en surface puis elles sont raclées.

I.6.5.2 Stabilisation

A pour objectif de réduire le pouvoir fermentescible des boues et leur nuisance olfactive. Elle est effectuée soit par digestion anaérobie, soit par digestion aérobie thermophile, soit par stabilisation chimique (utilisation de la chaux), soit par compostage.

I.6.5.3 Conditionnement

C'est une étape qui conduit à l'élimination d'environ 40 à 50 % de la phase liquide, elle est réalisée par centrifugation, par filtration ou par séchage.

I.6.5.4 Elimination finale

✓ Les boues issues de traitement des eaux usées posent actuellement de réels problèmes environnementaux et économiques pour les collectivités locales, plusieurs filières d'élimination sont actuellement proposées aux producteurs de boues urbaines [38].

Chapitre II Généralité sur les colorants

I.1 Généralité sur les colorants

Les colorants constituent un groupe très diversifié ayant en commun la propriété de colorer d'une manière permanente les tissus, cuirs ou papiers. Tous ces colorants sont des composés aromatiques dont les électrons très délocalisés peuvent adsorber la lumière pour certaines longueurs d'ondes. Les propriétés colorantes des composés organiques dépendent de leur structure et de leur composition chimique. Les colorants rejetés par les industries textiles et les officines de nettoyage des vêtements, sont peu ou pas biodégradables et résistent bien aux traitements classiques d'épuration. Ils créent surtout une nuisance visuelle dans les eaux contaminés bien qu'un certain nombre d'entre eux est mutagène et cancérogène [39].

I.2 Définition d'un colorant

Un colorant est une substance colorée qui interagit avec le milieu dans lequel elle est introduite, et le colore en s'y dissolvant et/ou dispersant lui conférant la propriété de teindre. Cette propriété résulte d'une affinité particulière entre le colorant et la fibre. Selon le type d'application et d'utilisation, les colorants synthétiques doivent répondre à un certain nombre de critères afin de prolonger la durée de vie des produits colorés sur les quels ils sont appliqués. Ces critères sont : la résistance à l'abrasion, la stabilité photolytique des couleurs, la résistance à l'oxydation chimique (notamment les détergents) et aux attaques microbiennes [40].

I.3 Différents types de colorants

Le premier colorant synthétique, la mauveine a été obtenu par Perkin en 1856. Il a été utilisé sur la soie et le coton. Suivant cet exemple, beaucoup d'autres colorants ont été synthétisés et ont d'abord été désignés par des noms de plantes (Amarante, fuchsine, garance, mauvéine etc....), par des noms de minerais (vert de malachite, auramine etc....) puis finalement, selon leur structure chimique (bleu de méthylène, violet de méthylène etc...). Actuellement, les colorants sont répertoriés par leur couleur, par leur marque commerciale, par leur procédé d'application et par un code les caractérisant. Ce code est composé de chiffres et de lettres comme par exemple B=bleuâtre, R=rougeâtre, Y ou G ou J=Jaunâtre. Cette classification existe en détail dans la colour index. Outre cela, les colorants qui sont particulièrement utilisés dans le textile, sont classés sous un nom de code indiquant leur classe, leur nuance ainsi qu'un numéro d'ordre (par exemple C.I. acid yellow1). D'une manière générale, la classification des colorants peut être faite aussi sur la base de leur constitution chimique (colorants azoïques, anthraquinoniques, triaziniques ...) ou sur la base du domaine d'application. Pour ce dernier point, elle est liée directement à l'intérêt porté par le fabricant

pour les matières colorantes. Dans cette étude, nous exposerons les colorants utilisés dans le textile et l'alimentation [41-42].

I.3.1 Colorants utilisés dans le textile

Nous distingons essentiellement [41]:

✓ Les colorants à mordant, qui sont solubles et qui nécessitent un traitement de mordançage pour pouvoir être fixés sur les fibres textiles par l'intermédiaires d'oxydes de certains métaux (Al, Fe, Co et Cr). Il a été constaté que le Cr est le métal le plus utilisé et que pour ces raisons on les appelle « colorants chromatables ».Ils forment aussi des complexes avec les ions métalliques par exemple par l'intermédiaire de groupe hydroxyles voisins. Un exemple de ce type de colorant est représenté en figure (II.1).

Figure II.1: colorant C.I.mordant bleue 9

✓ Les colorants acides, qui permettent de teindre certaines fibres (polyamides par exemple) en bain acide. Ils sont constitués de chromophores (responsable de l'effet de coloration) et de groupe sulfonates qui permettent leur solubilisation dans l'eau .Cette classe de colorants est importante pour les nuances. La figure (II.2) illustre un exemple de ce colorant.

Figure II.2: colorant C.I. Acid red 27

✓ Les colorants directs (ou substantifs), qui sont solubles dans l'eau et qui présentent une grande affinité pour les fibres cellulosiques. Cette affinité est due à leur forme linéaire et à la coplanarité des noyaux aromatiques. Ainsi, le rouge Congo est capable de teindre directement le coton sans la participation d'aucun mordant. En outre, Ils permettent d'obtenir une grande variété de coloris et sont d'une application facile. Ils présentent néanmoins, une faible solidité au mouillé. Un exemple de structure est donné en Figure (II.3).

Figure.II.3: colorant CI direct Bleue 1

✓ Les colorants cationiques (ou basiques), qui sont caractérisés par une grande vivacité des teintes. Cependant ils résistent mal à l'action de la lumière et de ce fait, ils ne peuvent pas être utilisés pour la teinture des fibres naturelles. On note qu'avec les fibres synthétiques, par exemple, les fibres acryliques, ils donnent des coloris très solides. (Un modèle de structure est représenté dans la figure (II.4).

$$CH_3$$
 CH_3
 CH_3
 CH_3
 CH_3

Figure II.4: Colorant CI Basic green 4

✓ Les colorants azoïques insolubles, qui sont générés à partir des réactions de diazotationcopulation. Ils permettent d'obtenir, sur fibres cellulosiques des nuances vives et résistantes. Un exemple est représenté en figure (II.5).

$$H_3C$$
— CO — HN — N = N — $CH3$

Figure II.5: Colorant CI Disperse Yellow 3

Les pigments sont des molécules insolubles dans l'eau, très utilisés dans la coloration des peintures et des matières plastiques. Cependant, ils ne présentent aucune affinité pour les fibres textiles. Etant donné cette caractéristique, les pigments nécessitent un liant pour pouvoir être fixés à la surface des fibres. On les trouve généralement soit, sous forme de produits minéraux (oxydes, sulfures, blanc de zinc) soit, sous forme de produits organiques. Un exemple de pigment synthétique est montré dans la figure (II.6).

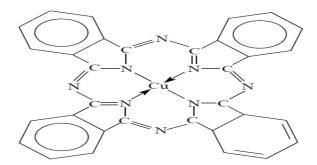


Figure II.6: Pigment synthétique

I.3.2. Colorants utilisés dans l'alimentation

Etant donné l'emploi massif de colorants dans l'alimentation (particulièrement les azoïques) et devant les risques de toxicité qu'ils peuvent engendrer chez l'être humain, les pouvoirs publics se sont attachés à légiférer leur utilisation et à les classifier. Ainsi, depuis longtemps, un effort a été consentis dans le but d'établir une classification des différents colorants. La plus ancienne est la C.X-Rose Colour Index de 1924; est apparue ensuite celle de shültz en 1931 et enfin celle de la D.F.G en 1957. Actuellement, les pays de la communauté européenne ont intégré les colorants dans la classification générale des additifs. Ils sont numérotés de100 à199 et sont précédés des deux lettres CE (par exemple CE.100 à 199). Cependant, cette classification ne tient compte que des colorants utilisés actuellement où depuis peu de temps. Leur utilisation touche des domaines tels que [42]:

- La confiserie pour les bonbons, dragées, pâtes de fruits.
 - La liquorie telles que les liqueurs vertes, mauves, roses, etc....
 - La pâtisserie tant pour les gâteaux et les tartes que pour les biscuits secs.
 - La siroperie et la limonaderie.
 - La fromagerie, le beurre et la margarine (coloration en jaune).
 - Les figures (II.7) et (II.8) représentent les structures chimiques de deux variétés du colorant
 - jaune (structure azoïque) utilisé dans les beurres et les margarines.

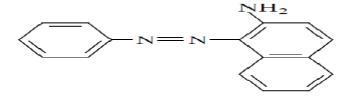


Figure II.7: Structure chimique du Jaune AB

$$CH_3$$
 NH_2 $N=N$

Figure II.8: Structure chimique du Jaune OB

I.4 Utilisation des colorants

L'industrie des colorants constitue un marché économique considérable car de nombreux produits industriels peuvent être colorés, principalement :

- ✓ Pigments (industrie des matières plastiques) ;
- ✓ Encre, papier (imprimerie);
- ✓ Colorants alimentaires (industrie agro-alimentaire);
- ✓ Pigments des peintures, matériaux de construction, céramiques (industrie du bâtiment);
- ✓ Colorants capillaires (industrie des cosmétiques) ;
- ✓ Colorants et conservateurs (industrie pharmaceutique)
- ✓ Carburants et huiles (industrie automobile etc.,...);
- ✓ Colorants textiles à usage vestimentaire, de décoration, du bâtiment, du transport, colorants textiles à usage médical etc [43].

I.5 Toxicité des colorants

I.5.1 Toxicité par les rejets industriels

Les rejets d'effluents des industries textiles, chargés en colorants, dans les rivières, peuvent nuire considérablement aux espèces animales, végétales ainsi qu'aux divers microorganismes vivant dans ces eaux. Cette toxicité, donc, pourrait être liée à la diminution de l'oxygène dissout dans ces milieux. Par ailleurs, Leur très faible biodégradabilité, due à leur poids moléculaire élevé et à leurs structures complexes, confère à ces composés un caractère toxique pouvant être élevé ou faible. De ce fait, ils peuvent persister longtemps dans ce milieu, engendrant ainsi des perturbations importantes dans les différents mécanismes naturels existant dans la flore (pouvoir d'auto épuration des cours d'eau, inhibition de la croissance des végétaux aquatiques...) et dans la faune (destruction d'une catégorie de poissons, de microorganismes...). Dans ces conditions la dose létale (DL50) reste le meilleur paramètre pour évaluer les effets toxiques causés par ces déversements. Ainsi, une DL50 signifie la mort de 50% des espèces animales testées en expérimentation [43].

Le colorant "noir de l'uxanthol G" est très nocif pour les jeunes guppies à la concentration de

5mg/l [39-41].

- ✓ La fuchsine inhibe la croissance des algues et des petits crustacés pour des concentrations minimales de 1mg/l et 20mg/l respectivement [43-45].
- ✓ Le bleu de méthylène est toxique pour les algues et les petits crustacés à partir des concentrations de 0,1 mg/l et 2 mg/l respectivement [43-45].
- ✓ Le bleu de victoria, le violet de méthyle, le noir anthracite BT et le vert diamant sont très toxiques pour la faune et la flore à partir de concentrations de 1mg/l [45].
- ✓ Les colorants cationiques (ou basiques) sont généralement très toxiques et résistent à toute oxydation. En effet, d'autres études ont montré que le colorant cationique (sandocryl orange) est très toxique pour les micro-organismes [43-46].

Donc, le traitement des effluents chargés en colorants s'avère indispensable pour la sauvegarde de l'environnement.

I.5.2 Toxicité par les colorants alimentaires

L'emploi des colorants dans l'industrie alimentaire, particulièrement les synthétiques, se pose depuis plus d'un siècle. L'histoire a montré que l'usage de ces produits répondait à des considérations socio-psychologiques (l'homme a cherché toujours à se vêtir et à se nourrir selon ses goûts) et économiques. Pour ce dernier point, il faut signaler que le profit qui est pratiquement l'unique objectif du producteur, a poussé ce dernier à intégrer plusieurs colorants dans les divers procédés de fabrication des aliments. Ceci a engendré des problèmes de santé à l'être l'humain, à cause de la toxicité de ces composés. Les exemples qui vont être cités illustrent bien ce fait [42] :

L'erythrosine est un colorant utilisé abondamment pour colorer les confiseries de toutes sortes. CLEMENT a montré que ce composé a provoqué des cas importants d'allergie chez les personnes sensibles et chez celles qui en font un large produit de consommation (les enfants par exemple).

Le Jaune AB et le Jaune OB utilisés dans la coloration du beurre et de la margarine sont assez toxiques. Ils se manifestent par certains symptômes tels que :

- Irritation du tube digestif.
- Diminution de la croissance.
- Augmentation du poids des reins et du foie.

Les colorants cationiques qui peuvent également exercer des actions néfastes sur l'organisme humain :

✓ Le bleu de méthylène peut entraîner des cas d'anémie après une absorption prolongée.

✓ Les dérivés du triphénylméthane provoquent l'eczéma et des troubles gastriques (diarrhées).

I.6. Méthodes du traitement les effluents textiles

Au cours des différentes étapes de teintures, des quantités plus ou moins importantes de colorants sont perdues par manque d'affinité avec les surfaces à teindre ou à colorer (tableau II.2). Ces rejets organiques sont toxiques et nécessitent une technique de dépollution adaptée. Le traitement des rejets textiles, compte tenu de leur hétérogénéité de composition, conduira toujours à la conception d'une chaîne de traitement assurant l'élimination des différents polluants par étapes successives. La première étape consiste à éliminer la pollution insoluble par l'intermédiaire de prétraitements (dégrillage, dessablage, déshuilage...) et/ou de traitements physiques ou physico-chimiques assurant une séparation solide - liquide.

Les techniques de dépollution intervenant le plus couramment en deuxième étape dans les industries textiles d'après Barclay et Buckley [47], kurbus *et al*. [48] se divisent en trois types: (physique, chimique et biologique).

I.6.1 Méthodes physiques de traitement

a) Filtration sur membrane

La filtration sur membrane pilotée par pression hydraulique se décline en microfiltration, ultrafiltration, nanofiltration et osmose inverse. L'effluent passe à travers une membrane semi- perméable qui retient en amont les contaminants de taille supérieure au diamètre des pores, pour produire un perméat purifié et un concentré qui reçoit les impuretés organiques. Parmi les quatre types de procédés, la nanofiltration et l'osmose inverse sont les plus adaptés à la réduction partielle de la couleur et des petites molécules organiques, mais l'osmose inverse reste la plus répandue [49].

Ces procédés limités dans leurs applications, nécessitent des investissements importants en capitaux et le retraitement du concentré est jusqu'à six fois plus cher que celui de l'effluent originel [50].

b) Adsorption sur charbon actif (ou sur un autre adsorbant) :

Lors de l'adsorption, le polluant est transféré de la phase liquide vers la phase solide. Le charbon activé est l'adsorbant le plus communément utilisé pour la réduction de la couleur, mais il reste très onéreux et nécessite en plus une régénération. C'est dans ce contexte que l'ont intéressé à la valorisation d'un rejet de l'industrie alimentaire, qui est le grignon d'olive pour l'utiliser comme adsorbant pour la décoloration des rejets de l'industrie textile.

D'autres recherches ont opté pour valoriser ou utiliser d'autres matières naturelles (sciure, écorce et farine de bois) moins onéreuses pour l'extraction des colorants par adsorption [51].

I.6.2. Méthodes physico- chimiques de traitement des textiles

✓ Coagulation – floculation

Sous le terme de coagulation-floculation, on entend tous les processus physicochimiques par lesquels des particules colloïdales ou des solides en fine suspension sont transformés par des floculants chimiques en espèces plus visibles et séparables (les flocs). Les flocs formés sont ensuite séparés par décantation et filtration puis évacués. Les coagulants inorganiques tels que l'alun donnent les résultats les plus satisfaisants pour la décoloration des effluents textiles contenant des colorants dispersés, de cuve et au soufre, mais sont totalement inefficaces pour les colorants réactifs, azoïques, acides et basiques [47,52]. Par ailleurs, la coagulation - floculation ne peut être utilisée pour les colorants fortement solubles dans l'eau. D'importantes quantités de boue sont formées avec ce procédé : leur régénération ou réutilisation reste la seule issue mais demande des investissements supplémentaires.

I.6.3. Méthodes chimiques de traitement des textiles

Les techniques d'oxydation chimique sont généralement appliquées pour le traitement des composés organiques dangereux présents en faibles concentrations, en prétraitement avant des procédés biologiques, le traitement d'eaux usées chargées de constituants résistant aux méthodes de biodégradation et en post-traitement pour réduire la toxicité aquatique [53]. Les deux réactifs les plus souvent énumérés pour ce type de traitement sont H2O2 et le Chlore. Le peroxyde d'hydrogène est un oxydant fort et son application pour le traitement des polluants organiques et inorganiques sont bien établis [53]. Mais l'oxydation seule par H2O2 n'est pas suffisamment efficace pour de fortes concentrations en colorant. Hamada *et al* [54]. ont proposé de traiter les colorants azoïques par l'hypochlorite de sodium mais, même si la molécule initiale est détruite, les halogènes sont susceptibles de former des trihalométhanes cancérigènes pour l'homme avec les sous-produits de dégradation.

I.6.4. Méthodes biologiques de traitement

Par épuration biologique des eaux, on entend la décomposition des polluants organiques dans l'eau par les microorganismes. Les procédés biologiques se partagent en deux catégories : les traitements aérobies en présence d'oxygène et anaérobies sans oxygène.

a) Traitement aérobie

Les polluants sont décomposés dans une unité biologique constituée d'un bassin de boue activée par des bactéries aérobies et autres microorganismes en une boue qui sédimente. Dans le cas idéal, les polluants organiques sont oxydés jusqu'au dioxyde de carbone. Après épuration la boue est séparée des eaux usées par sédimentation dans un décanteur ; une partie est recyclée et le surplus est évacué après pressage ou centrifugation.

b) Traitement anaérobie

À l'inverse de la biodégradation aérobie, la digestion anaérobie des composés organiques s'effectue en l'absence d'oxygène et forme du dioxyde de carbone, du méthane et de l'eau. C'est un procédé efficace pour le traitement de déchets très chargés en matières organiques et le méthane formé peut être utilisé comme énergie de chauffage. Les conditions de réduction dans la digestion anaérobie sont adaptées à la décoloration des colorants azoïques par clivage de la liaison azo entraînant une destruction subséquente du groupe chromophore, mais une minéralisation complète est impossible dans ce type de procédé La dégradation des molécules initiales entraîne souvent la formation d'amines plus toxiques que la molécule initiale, qui finissent dans les sédiments aquifères peu profonds et les eaux souterraines.

Les méthodes de bio-traitement conventionnelles sont sans effet sur la plupart des colorants synthétiques à cause de leur structure polyaromatique complexe et leur nature réfractaire. Venceslau *et al.* (1994) ont estimé à seulement 10-20 % la réduction de la coloration par les procédés biologiques [55].

I.7 Propriétés des colorants étudiés

I.7.1 Bleu de méthylène

Le colorant de bleu de méthylène a été employé pour déterminer la surface spécifique des minéraux argileux pendant plusieurs décennies. La formule chimique est $C_{16}H_{18}ClN_3S$, avec un poids moléculaire correspondant à 373,91 g/mol. La figure (I.14. a) montre qu'à l'état aqueux, le bleu de méthylène est un colorant cationique, $C_{16}H_{18}ClN_3S$. La molécule de bleu de méthylène peut être considérée comme un volume prismatique de dimensions 17,0 Å x 7,6 Å x 3,25 Å. La surface projetée de la molécule, c'est-à-dire lorsque la molécule de Bleu de méthylène se trouve à plat sur sa plus grande face (Figure I.14. b) a donné 135 Å² , 132 Å ² , et 130 Å² .En général, on admet que la surface couverte par une molécule de bleu de méthylène (ABM) est 130 Å² [56].

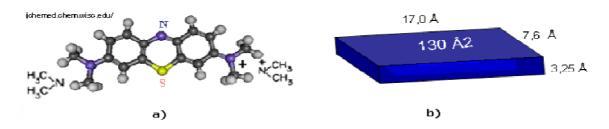


Figure II.9: Molécule de bleu de méthylène; a) Structure chimique b) Volume rectangulaire

Tableau I.1: les caractéristiques physico-chimiques du bleu de méthylène

Nom	Bleu de méthylène (BM)		
Famille	Colorants basique		
Formule brute	C ₁₆ H ₁₈ N ₃ SCl		
Appellatione chimique	3,7-bis-(dimethylamino) phenazathionium		
Température de fusion	180 °C		
Masse molaire (g/mol)	320 g/mol		
$\lambda_{ m max}$	660nm		
Forme physique	Poudre verte		
pKa	2.6 , 11.2		
Solubilité à 20°C	50 g/l et 0,14mol/l		
Structure	H ₃ C N CH ₃		

I.7.2 Rouge Congo

Le rouge Congo est un colorant qui fait partie de la catégorie des polyazoïques parce qu'il possède deux chromophores (région de la molécule qui est principalement responsable de la teinte) de type azoïque, c'est-à-dire formés chacun de deux atomes d'azote doublement liés, et diversement substitués [57]. L'ensemble des propriétés est récapitule dans le tableau (II.2)

Tableau I.2 : Caractéristique chimique du Rouge Congo [58]

Nom	Rouge Congo (RC)			
Famille	Azoïque			
Formule brute	$C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$			
Appellation chimique	Acide benzidinediazo-bis-1-naphtylamine-4-sulfonique			
Masse molaire	696.66 g/mol			
Dimensions (A°)	17.5x 5.0x2.8			
$\lambda_{ m max}$	498 nm			
Solibilite dans l'eau	25 g/l à 20°C			
PKa	4			
Température de fusion	> 360°C			
Structure				
	$\begin{array}{c c} & & & & & & & & & \\ & & & & & & & & \\ & & & &$			

I.7.3 Méthyle orange (MeO)

Le méthyle orange (MO) appelé aussi hélianthine appartient à la famille des colorants azoïques car il contient le groupe azoïque -N=N-. C'est un indicateur coloré, utilisé dans les dosages acide-base. Il est rose-rouge en milieu acide et jaune-orange en milieu basique. Il a un pKa voisin de 3,4[59, 60]

Les propriétés physico-chimiques du méthyle orange sont regroupées dans le tableau II.3.

Nom	Méthyle Orange		
Famille	Colorants acide		
Formule brute	$C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$		
Structure	$\begin{array}{c c} H_3C \\ \hline \\ H_3C \\ \end{array}$		
Masse moléculaire (g.mol ⁻¹)	327.34		
рКа	3.7		
solubilité	5.2 g.l ⁻¹ dans l'eau à 20°C		
	1.0g.l ⁻¹ dans éthanol à 20°C		
$\lambda_{ m max}$	466nm		
Couleur	Rouge orange à pH<3.2 et jaune à pH>4.4		
Fonction	Sulfonate de sodium (SO ₃ Na). Groupement Azo		
	(N=N) et amine tertiaire		

Tableau II. 3: Propriétés physico-chimiques du méthyle orange [61]

I.8 La méthode d'analyse des polluants

La détermination de la concentration des colorants à différents temps de dégradation est effectuée par dosage spectrophotométrique dans le domaine du visible, Le spectromètre utilisé est du type (JENWAY 7305). Les longueurs d'onde du Maximum d'absorption qui sont 660, 498 et 466 nm respectivement pour le bleu de méthylène ,le Rouge Congo et le méthyle orange.

I.8.1. Spectroscopie UV-Visible

La spectroscopie ou spectrométrie ultra-violet est une technique mettant en jeu les photons dont la longueur d'onde sont le domaine des UV (200-400nm), du visible et jusqu'au proche infrarouge (750-1400nm). Un spectromètre mesure la lumière absorbée par une solution (échantillon) à une longueur d'onde donnée [62].

I.8.1.1Principe de fonctionnement du spectrophotomètre

Dans une molécule, les transitions électroniques UV-visibles mettent en jeu les énergies les plus importantes de la chimie (environ de 13000 à 50000 cm⁻¹ soit 160 à 665 kJ·mol⁻¹). L'ordre de grandeur des énergies mises en jeu est celui des énergies de liaison des molécules et ces rayonnements peuvent parfois provoquer des ruptures de liaisons. Plus

généralement, ils provoquent des transitions électroniques entre les différents niveaux d'énergie des molécules [63].

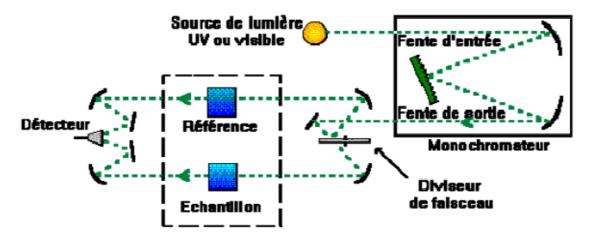


Figure II.10 : Schéma de fonctionnement du spectromètre UV-Visible [62].

> La loi de Beer Lambert

Lorsqu'un faisceau de rayonnement monochromatique incident d'intensité I_0 traverse une substance colorée, une absorption d'énergie a lieu de sorte que l'intensité du faisceau incident émergent I est plus faible (figure II.11).

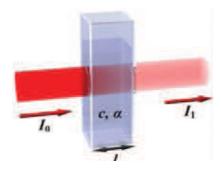


Figure II.11: La loi de Beer Lambert.

Cette absorption monochromatique suit la loi de Beer Lambert qui s'exprime comme suit:

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \varepsilon C l \tag{II.1}$$

Avec:

A: absorbance;

I : intensité du faisceau émergent (A) ;

I₀: intensité du faisceau incident (A);

ε: Coefficient d'extinction (mol⁻¹.cm⁻¹.l).

C : concentration massique du composé dosé (g/l) ;

1 : épaisseur de la cuve (cm) [64].

Chapitre III Bactéries et Biodégradation

I.1 Introduction

vit dans un environnement peuplé d'un grand nombre de microorganismes qui sont présents dans l'air, dans le sol, dans les eaux douces, dans les eaux marines, à la surface de la peau et les muqueuses ainsi qu'au niveau du tube digestif, de l'arbre respiratoire et de l'appareil urinaire. Ces microorganismes sont constitués par les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Ils sont soit des hôtes naturels de l'homme et donc saprophytes (flore digestive par exemple), soit ils déterminent une infection et donc pathogènes.

Le monde bactérien est très vaste et les bactéries peuplent notre environnement. Elles assurent à la surface du globe, sur le sol et dans les eaux d'innombrables fonctions; elles exercent des actions bénéfiques (ex: bactéries fertilisantes du sol), mais d'autres peuvent provoquer des infections chez les plantes, les animaux et également chez l'homme [65].

I.2 Définition de microorganismes

Les microorganismes sont définis historiquement comme des organismes vivants trop petits pour être distingués à l'oeil nu et généralement formés d'une seule cellule. Ce terme est donc utilisé pour désigner des organismes unicellulaires ou constitués d'un nombre limité de cellules (figure III.1).

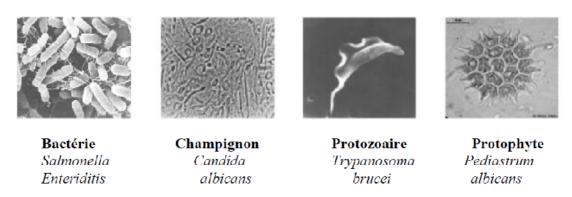


Figure III.1 : Différentes classes de microorganismes [66]

I.3 Morphologie et Structure fine des bactéries

Durant de longues années, la bactérie a été considérée comme "un sac d'enzymes" car le pouvoir de résolution du microscope optique était insuffisant pour révéler les détails de structure. L'observation des bactéries, alors, permet seulement de reconnaître la forme des cellules (sphérique ou coccoïde, cylindrique ou bâtonnet, spiralée ou hélicoïdale), leurs dimensions (qui varient selon les espèces de 0.1µm à 600µm; les Entérobactéries 2 à 3 µm de long, certaines Spirochaeta entre 30 et 500 µm) et les arrangements ou les groupements

qu'elles constituent entres elles (en grappe, en chaînette, en paire ou diplocoque, en palissade ou paquet d'épingles chez les Corynébactéries...). Ce sont les caractéristiques qui définissent la morphologie bactérienne, et qui étaient les critères essentiels de reconnaissance et d'identification, et qui ont un rôle très important dans le diagnostic [67, 68].

Les caractères morphologiques sont une stratégie d'adaptation et de survie; dans l'environnement aquatique ou tellurique il existe des bactéries qui sont amorphes, ovoïdes, cubiques, étoilées, filamenteuses; elles peuvent être groupées en amas, en paires, et aussi en rosettes en réseau, en cubes, en corps fructifiants [67].

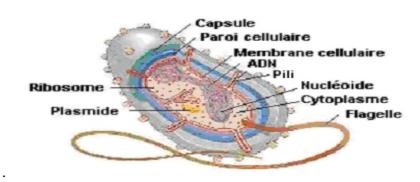


Figure III.2 : Organisation générale d'une bactérie [69]

I.4 Les différents types de bactéries

Les bactéries se divisent en deux groupes majeurs: bactéries à gram positif, bactéries à gram négatif.

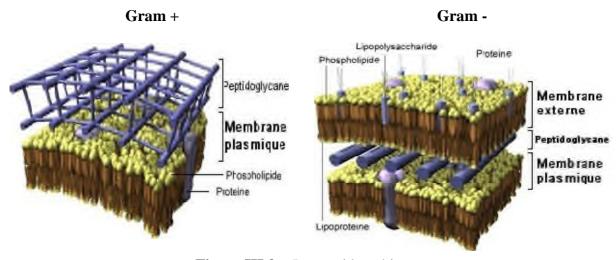


Figure III.3: La paroi bactérienne

I.4.1 bactéries à gram négatif

I.4.1.1 Genre Escherichia

Ce genre comprend 5 espèces, mais E.coli est la plus importante. Cette espèce est subdivisée en sérotypes sur la base des antigènes présents [67].

a) Habitat : C'est l'espèce dominante de la flore aérobie du tube digestif. Eschirichia coli ou colibacille est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers [70].

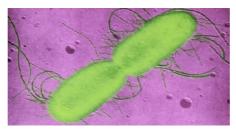


Figure III.4: Escherichia Coli en division

b) Classification

Domaine: Eubacteria.

Phylum: proteobacteria.

Classe: Gammaproteobacteria.

Ordre: Enterobacterieles.

Famille: Enterobacteriaceae.

Genre: Escherichia.

Espèce: Escherichia coli.

c) Caractères principaux : Bacille, Gram négatif, mobile (à ciliature péritriche) aéroanaérobie facultatif, température optimal: 37°C[69-72]

d) Pouvoir pathogène

- ✓ **Infection urinaire**: plus fréquente chez la femme en raison de la brièveté, chez l'homme l'infection est généralement secondaire à un obstacle sur les voies urinaires.
- ✓ **Infection intestinale:** responsable de gastro-entérites.
- ✓ **Infection néonatale:** peut se traduire par une méningite ou une septicémie.
- ✓ **Infection diverses:** Escherichia coli est impliqué dans de nombreuses infection à point de départ digestif ou urinaire: suppurations localisées ou septicémies, il peut s'agir d'infections communautaires ou nosocomiales.

e) Sensibilité aux antibiotiques

La bactérie était initialement sensible à beaucoup d'antibiotiques, mais l'acquisition de résistances est fréquente, surtout en milieu hospitalier [70].

Cependant la résistance aux amino et aux carboxipénicillines par production de pénicillinase défasse 40 des souches, une partie de ces souches résistent à l'association amoxicilline–acide clavulainique pour les autres antibiotiques, les fréquences de résistance, sont faible à l'exception des sulfamides (50%), et tétracyclines (40%) et du chloromphimcol (25%) [73].

I.4.2 bactéries à gram positif

I.4.2.1 Genre Staphylococcus

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques, qui se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylos), ils sont immobiles et cultivent sur des milieux contenant 5% de Na Cl et pour certains jusqu'à 10 et même 15%. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs [67].

a) Habitat : C'est un germe ubiquitaire, retrouvé dans le sol, l'air. C'est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme.

On le trouve à l'état normal dans l'oropharynx, les fosses nasales, dans les selles, au niveau du périnée ou des aisselles[73].



Figure III.5: Staphylococcus aureus

b) ClassificationDomaine: Bacteria.

Phylum: Firmicutes.

Classe: Bacilli.

Ordre: Bacillales.

Famille: Staphylococcaceas.

Genre: Staphylococcus.

Espèce: Staphylococcus aureus[72]

c)Caractères principaux : Cocci à gram positif, immobile, pigmenté à jaune, non sporulé, grouper en amas (grappes de raisin), G+C%: 30-39%, température optimal à 37°C, pH optimal: 7.2-7.4, NaCl: 7.5%, Anaérobie facultatif [70-73].

d) Pouvoir pathogène

Les manifestations pathologiques dues à staphylococcus aureus sont très nombreuses, elles sont suppurations, nécrotiques ou entériques :

- ✓ Les suppurations localisées,
- ✓ Les septicémies et les endocardites,
- ✓ Les manifestations digestives,
- ✓ Le syndrome de choc toxique [72]

e) Sensibilité aux antibiotiques

Les souches communautaires sont généralement résistantes aux pénicillines G et A, mais sensibles aux pénicillines M. Elles sont souvent sensibles aux macrolides, aux synergistines, aux fluoroquinolones [72]. Les Staphylococcus aureus développe rapidement des résistances aux antibiotiques et les souches hospitalières ne sont souvent sensibles qu'aux glycopeptides [72].

I.5 Nutrition et croissance microbienne

Les micro-organismes se développent et se divisent pour donner naissance à des bactéries filles qui héritent de la cellule-mère du même potentiel d'activité. La croissance microbienne n'est possible que dans le cas ou les micro-organismes peuvent satisfaire leur besoins nutritifs dans leur environnement.

I.5.1 Nutrition des micro-organismes

Leurs exigences nutritives aussi variées que la nature des habitats où ils vivent : sol, eau. Les substances élémentaires sont les matériaux constitutifs de la cellule. Les substances énergétiques permettent à la cellule de réaliser la synthèse de ses propres constituants. Il existe donc un certain nombre de contraintes nutritionnelles pour permettre un optimum de croissance des microorganismes.

- ✓ Les aliments constitutifs pour leurs constituants cellulaires: eau. C, H, N. O, S. P, etc.
- ✓ Les sources d'énergies: lumière ou substances chimiques (organiques et/ou inorganiques)
- ✓ Les nutriments spécifiques, appelés facteurs de croissance car ce sont des substances indispensables, les micro-organismes étant incapables de les synthétiser eux-mêmes. Ainsi, grâce aux aliments qu'on lui fournit et qu'elle dégrade, la bactérie synthétise ses propres

constituants organiques. L'ensemble des échanges chimiques qui se produisent alors au niveau cellulaire constitue le métabolisme. Les multiples réactions assurant la dégradation d'un substrat libèrent simultanément de l'énergie qui servira à la biosynthèse, à la croissance et à la reproduction. Les aliments constitutifs des microorganismes sont présentés dans le tableau (III.1) suivant.

Tableau III.1: Les aliments constitutifs des micro-organismes.

Constituant	Rôle			
Eau	75% du poids cellulaire			
Lau	Si teneur < 50% développements limité			
	45-50% du poids sec cellulaire			
	Micro-organisme autotrophes : capables de synthétiser leurs			
Carbone	constituants organiques à partir de CO ₂ ou de bicarbonates			
	Micro-organismes hétérotrophes : besoin de substances organiques			
	pour se développer (la majorité des bactéries)			
	5-10% du poids sec cellulaire.			
	Quelques bactéries fixatrices d'azote (N2) Rizobium sp, Azotobacter sp			
Azote	Azote utilisé sous la forme de nitrates nitrites (Nitrobacter sp) ou			
	ammonium, mais principalement, utilisation de l'azote sous forme			
	organique(R-NH ₂)			
Posphore	3% du poids sec cellulaire			
	Constituant des acides nucléiques (ADN), phospholipides et des			
	substances énergétiques telles que ATP.			
Soufre	1-2% du poids sec cellulaire			
	Constituant des acides aminés des protéines (cystéine et méthionine,			
	S.sous forme de groupements thiols-SH). Assimilation sous la forme de			
	sulfures (S ²⁻)			
Na, K, Mg , Cl	Rôle dans l'équilibre physico-chimique des cellules.			
Fe, Mg,	Constituants de certains enzymes et coenzymes (cytochromes,			
	chlorophylles)			
Ca, Mg, Mn, Cu,	Oligo-éléments indispensables sous ferme de traces comme cofacteur			
	ou activateur d'enzymes			

I.5.2 Croissance des micro-organismes

La croissance est définie comme l'accroissement ordonné de tous les composants d'un organisme. Dans le cas de micro-organismes unicellulaires tels que les bactéries et les levures, le phénomène de croissance se caractérise par une augmentation du nombre d'individus, entraînant progressivement une modification des caractéristiques du milieu de culture (appauvrissement en nutriments. Enrichissement en métabolites, variation du pH, du potentiel d'oxydo-réduction ou de la conductivité).

Sans renouvellement du milieu, on assiste à un appauvrissement du substrat consommable et à un enrichissement en métabolites (produits intermédiaires ou finals du métabolisme). Dans un milieu liquide homogène, agité et non renouvelé, la courbe de croissance microbienne présente six phases successives.

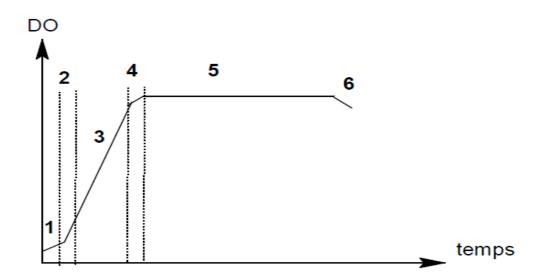


Figure III.6 : Courbe typique de la croissance d'une culture bactérienne

- ✓ La phase 1 correspond à une phase de latence durant laquelle les micro-organismes s'adaptent au milieu de culture en synthétisant les enzymes dont ils auront besoin pour coloniser ce substrat. La durée de cette phase dépend de la nature du substrat et de la qualité de l'ensemencement.
- ✓ **Durant la phase 2 (de démarrage**), le nombre d'organismes et la vitesse spécifique de croissance (ou taux de croissance) augmentent.
- ✓ Phase 3 (exponentielle). Au-delà d'une certaine concentration en substrat (Loi de Monod, 1942). Le taux de croissance t demeure constant tandis que le nombre d'individus continue d'augmenter. (Phase 3).

- ✓ Au cours de la phase 4 (de ralentissement), on assiste à un épuisement du substrat et à une accumulation de métabolites pouvant être toxiques.
- ✓ La phase 5 (stationnaire) est une phase stationnaire durant laquelle le nombre d'organismes nouveaux est en équilibre avec le nombre de cellules mortes.
- ✓ **Phase 6** est une phase de déclin [74]

I.6. Influence des paramètres environnementaux sur la croissance

La croissance microbienne est influencée par les constituants du milieu de culture et par les facteurs physico-chimiques (température, pH, oxygène, etc...). Donc la connaissance de ces facteurs environnementaux pour une levure donnée va permettre de connaître sa distribution écologique et de contrôler son développement.

I.6.1. Effet de la température

La température est un facteur qui affecte profondément les micro-organismes, comme tous les êtres vivants. En effet, les micro-organismes sont particulièrement sensibles à la température parce qu'ils sont unicellulaires et que leur température varie avec celle du milieu extérieur. Il est donc important de connaître les effets de la température sur la croissance du microorganisme et la thermosensibilité des réactions catalysées par les enzymes. Aux faibles températures, l'activité cellulaire microbienne peut être totalement bloquée. Par contre, une élévation de la température va augmenter la vitesse de croissance. En effet, on considère généralement qu'à chaque augmentation de 10°C la vitesse de réaction catalysée par une enzyme sera doublée. Alors, le métabolisme cellulaire sera plus actif aux températures plus élevées et le micro-organisme se développera plus vite. Cependant, au-delà d'un certain point, de nouvelles augmentations diminuent la croissance et des températures trop élevées sont létales, puisqu'elles endommagent les micro-organismes en dénaturant les enzymes, les systèmes de transport et d'autres protéines. Les membranes microbiennes sont aussi détruites par la chaleur [75].

I.5.2. Effet du pH

Le pH est un autre facteur important de la croissance des levures, car il va déterminer l'activité métabolique des cellules. La valeur du pH a un effet sur la solubilité des nutriments et sur la perméabilité de la membrane cellulaire (Martinez et coll., 1999 ; Sanchez et coll., 1997). Les pH alcalins sont, d'une façon générale, préjudiciables aux micro-organismes, la limite de leur développement se situant pour des valeurs d'ordre de 9 à 9.5. On observe pour les valeurs de pH entre 0 et 8 différents types de comportement liés à l'aptitude des

microorganismes à tolérer et/ou métaboliser les acides organiques (ou minéraux) présents dans le milieu. Ainsi, les bactéries, en règle générale, sont neutrophiles, présentant une meilleure croissance pour les pH voisins de 7 et sont partiellement inhibées à une valeur de pH inférieure à 5[76].

I.5.3. Rôle de l'oxygène

L'oxygène est une molécule nécessaire pour la biosynthèse de molécules indispensables pour la cellule tout particulièrement celle des acides gras insaturés et des stérols qui protègent les levures du stress alcoolique [77].

L'oxygène est un substrat particulier puisque il est impossible de le dissoudre à l'avance comme d'autres substrats. Son apport doit donc être continu tout au long de la culture. Cependant, lorsque la concentration levurienne dans le milieu devient importante, le transfert de l'oxygène dans le milieu devient limitant, les besoins de la biomasse étant supérieurs aux flux transférés. La concentration d'oxygène dissous dans le milieu de culture a été identifiée comme l'un des principaux facteurs contrôlant la capacité des levures à se développer en métabolisme oxydatif [78].

I.7 Biodégradation des composés organiques

I.7.1 Définition de la biodégradation

Les composés organiques sont souvent classés comme biodégradables, persistants ou récalcitrants. Le terme biodégradation signifie tout simplement la transformation biologique d'un composé organique en une autre forme [79]. Ce procédé peut donc convertir un composé inoffensif en composé toxique, changer une substance immédiatement métabolisable en substance difficile à détruire, ou altérer la toxicité du composé.

Cependant, lorsqu'on dit qu'un composé est biodégradable, cela signifie habituellement qu'il peut être minéralisé (conversion en dioxyde de carbone, eau et différentes formes inorganiques). La biodégradation primaire, tant qu'à elle, est utilisée pour indiquer une simple transformation alors que le terme de biodégradation partielle signifie n'importe quelle transformation entre la biodégradation primaire et la minéralisation [80]. La transformation la plus avantageuse serait la dégradation totale du composé toxique accompagnée par sa conversion en matière ayant une valeur commerciale [81].

I.7.2 Mécanismes de dégradation

Les microorganismes peuvent seulement faire les choses pour lesquelles ils ont une « programmation » génétique. De plus, les microorganismes ne peuvent pas tout faire et l'environnement demeure un facteur déterminant dans la réaction pouvant être effectuée par un organisme apte à le faire. Par conséquence, il n'est pas garanti qu'un composé sera dégradé dans un environnement particulier. D'abord, un organisme susceptible de dégrader doit être présent; ensuite une opportunité doit exister pour que les enzymes nécessaires soient synthétisées; enfin, les conditions environnementales doivent être appropriées pour que les réactions enzymatiques s'effectuent à une vitesse significative [79].

Ils existent deux types de mécanismes ou métabolismes de dégradation : la biodégradation gratuite (" gratuitous biodegradation ") et le cométabolisme.

I.7.2.1 Biodégradation gratuite

De façon générale, le composé chimique supporte la croissance et sert comme source de carbone et d'énergie aux microorganismes [81].

Le succès de ce type de métabolisme dépend entre autre de la capacité du composé à induire la synthèse de l'enzyme requise. On met souvent l'emphase sur la spécificité des enzymes comme catalyseurs. Cependant, il n'est pas rare pour les enzymes de se lier à des substrats contenant des groupements fonctionnels xénobiotiques analogues aux substrats naturels. Cela dépend du degré de similarité de la structure entre le composé xénobiotique et le substrat naturel [73]. Si le composé xénobiotique est incapable d'induire l'enzyme nécessaire, alors la biodégradation se produira seulement en présence de l'inducteur naturel. Cela peut sévèrement limiter les applications de la capacité enzymatique.

Pour que les microorganismes d'une seule espèce effectuent continuellement la dégradation gratuite du composé organique en tant que seule source de carbone et d'énergie, ils doivent être absolument en mesure de soutirer cette énergie. S'ils en sont incapables, ils ne pourront pas maintenir leur intégrité cellulaire causant ainsi la mort éventuelle de la culture. Dans cette situation, la seule façon pour que les microorganismes puissent dégrader constamment le composé xénobiotique est l'utilisation d'une source additionnelle de carbone ajoutée au milieu ou l'action de d'autres organismes dans une communauté mixte [79].

I.7.2.2 Cométabolisme

Le cométabolisme est défini comme la transformation d'un substrat ne servant pas à la division cellulaire en présence obligatoire d'un substrat de croissance ou d'un autre composé assimilable [83]. Cet aspect de présence obligatoire d'un substrat pour la croissance a été ajouté par Dalton et Stirling (1982) pour faire une distinction entre le cométabolisme et la biodégration gratuite. Bref, le composé chimique, bien que métabolisé ne sert pas de source de nutriments pour les microorganismes. McClure [81] suggère que la présence d'un substrat facilement assimilable peut permettre à un organisme de dégrader un composé récalcitrant en fournissant l'énergie ou en réduisant l'activité enzymatique nécessaire

I.7.3 Les facteurs de la biodégradation

Le caractère biodégradable d'un matériau solide organique ou d'une molécule organique dépend d'un certain nombre de facteurs externes et de paramètres caractéristiques intrinsèques au matériau. Ainsi, en 1992, un rapport de l'association Record (Association RECORD, 1992) proposait une série de quatre grandes causes pour expliquer le caractère récalcitrant de certaines molécules à la biodégradation.

Globalement les deux premières causes rejoignent ce qu'on a désigné précédemment par "paramètre intrinsèque", les deux dernières par le terme "facteur externe". Plus que de rechercher la biodégradabilité d'un matériau, beaucoup d'études s'efforcent de mettre en avant les critères qui empêchent une molécule, un matériau, de se dégrader sous l'action de microorganismes dans un délai donné.

I.7.3.1 Causes chimiques

- a) Poids moléculaire, structure, charge : les composés à faible masse moléculaire et/ou à structure chimique linéaire sont plus facilement biodégradables. De même l'adhésion des microorganismes peut être favorisée par l'existence de forces de type Van der Waals et les interactions électrostatiques.
- **b)** Nature, nombre et position des substituants : Le tableau III.2 donne quelques exemples de substituant influençant favorablement ou non la biodégradabilité de la molécule.

Substituants favorisant la dégradation

OH

COOH

NH2

OCH3

Substituants genant la dégradation

F

Cl

NO2

CF3

SO3H

Tableau III.2 : Substituant influençant la biodégradabilité des substrats organiques.

I.7.3.2 Causes physico-chimiques

- ✓ Solubilité,
- ✓ Aptitude à former ou non des émulsions.
- ✓ Etat physique inadapté (solide, liquide, gazeux).
- ✓ Aptitude à s'adsorber sur des surfaces.
- ✓ Aptitude à former des liaisons ioniques ou covalentes avec les supports.

D'une manière générale. Toutes les caractéristiques physico-chimiques qui tendent à augmenter la disponibilité et la surface de contact entre le substrat et les microorganismes facilitent la Biodégradation dudit substrat. Par exemple un corps soluble sera plus facilement mis à disposition de micro-organismes présents dans l'environnement aqueux.

I.7.3.3 Causes environnementales

a) Concentration trop faible, trop grande ou trop variable

En effet si le substrat à dégrader n'est présent qu'en très petite quantité. Sa disponibilité auprès des micro-organismes sera limitée. A l'opposé, s'il est surabondant, la faune bactérienne ne pourra plus répondre efficacement, la syntrophie nécessaire au bon fonctionnement des processus de dégradation, abordée dans le paragraphe précédent sera brisée.

- **b) pH**: le pH optimal pour les champignons est compris entre 3 et 6. En revanche la plupart des bactéries se développent à un pH proche de la neutralité. Ainsi, par exemple. L'activité acétogène est optimale pour des valeurs de pH 7 à 7,4 [80]. Seules les bactéries acidogènes supportent des pH inférieurs à 6 et s'adaptent facilement à des pH de l'ordre de 4 [85].
- c) Température : on peut distinguer quatre classes d'organisme selon leur tolérance à une certaine plage de température. Les psychrophiles dont la température optimale est inférieure à 1°C. psychrotrophes entre 5 et 15°C. Les inésophiles entre 20 et 40°C et les thermophiles puis thermophiles extrêmes au-delà de 60°C.

Tableau III.3 : Classification physiologique des bactéries en fonction de la température.

Type physiologique	Température de croissance			
Type physiologique	Minimale	Maximale		
Psychropile	0	20		
Mésophile	> 20	< 40		
Thermophile modéré facultatif	>41	>55		
Thermophile modéré obligatoire	>55	75		
Thermophile extrême	>60	>80*		
(hypentermopiles)		(*optimum>80)		

Selon Hartz et al. (1982). la température mésophile optimale pour la dégradation des ordures ménagères est comprise entre 35 et 41°C. La méthanogène et plus généralement la croissance anaérobie est relativement lente à une température inférieure à 20°C. La température est donc un facteur important à surveiller lors de la dégradation de la matière organique, mais il convient de noter que l'évolution de la température peut être aussi une conséquence de cette activité microbienne.

d) activité de l'eau: toutes les bactéries ont besoin d'eau pour leur croissance et leur reproduction. La disponibilité de l'eau est un facteur important de la croissance bactérienne. Par définition, l'eau distillée pure a une activité en eau (Aw) de 1,0.

Le paramètre A est un indicateur de la quantité d'eau qui est disponible pour les réactions. Elle est équivalente à la notion d'humidité relative dans l'atmosphère. Des phénomènes d'adsorption ou de solubilisation peuvent réduire la disponibilité de l'eau et donc Aw. Par exemple, une solution saturée de NaCl a une activité en eau de 0,8. L'eau de mer de 0,98. La plupart des bactéries ont besoin d'une activité en eau supérieure à 0,9 pour leur métabolisme [70]. Un développement microbien n'est possible que dans des milieux ayant des activités en eau comprises entre 0,6 et 0,99 environ [86].

e) Potentiel rédox : selon le potentiel oxydant ou réducteur du milieu étudié, certaines réactions pourront se réaliser ou, au contraire, seront impossibles. Cela joue donc également un rôle important dans la biodégradation de la matière organique. Mais, comme pour la température, il faut noter que l'activité microbienne peut faire varier ce potentiel. Ainsi, une

croissance extensive de bactéries hétérotrophes utilisant l'oxygène disponible fait baisser le potentiel redox du milieu de manière significative [74].

- f) Nutriments: certains composés comme le calcium, le magnésium, le sodium ou le potassium stimulent la méthanogènes [87]. De même certains métaux à l'état de trace comme le fer, le cobalt, le molybdène, le sélénium ou le tungstène stimulent la méthanogènes. En 1990, Graindorge montrait que le nickel était indispensable à la croissance des bactéries méthanogènes [88].
- g) Présence d'inhibiteurs: certaines molécules étrangères aux réactions étudiées mais présentes dans le milieu peuvent limiter la capacité métabolique de la micro-faune. Il convient alors de distinguer les substances interdisant totalement ces réactions de celles qui ne font que les ralentir. En 1982. Taylor indiquait comme principaux inhibiteurs potentiels de la méthanogènes. Les métaux lourds. Les hydrocarbures chlorés, les détergents. Les substances analogues au méthane (chloroforme etc). L'ammoniaque, les oxydants tels que l'oxygène. Un même composé pouvant être toxique ou non (voire même bénéfique et indispensable à l'état de trace) en fonction de sa concentration et de sa disponibilité dans le milieu.

I.7.3.4. Causes biologiques

- ✓ Absence de la microflore appropriée,
- ✓ Absence d'enzymes exocellulaires ou d'agents émulsifiants,
- ✓ Incapacité des micro-organismes à métaboliser le produit par impossibilité d'induire les enzymes, les systèmes transporteurs nécessaires ou par production d'intermédiaires métaboliques terminaux toxiques.

Enfin le facteur temps est largement à prendre en compte dans ces phénomènes de biodégradation. Beaucoup de molécules peuvent subir une dégradation par des microorganismes. Mais parfois à très long terme. La notion de biodégradabilité sera donc à nuancer en la confrontant à la durée d'incubation nécessaire à la dégradation de la molécule ou du déchet envisagé. Notons toutefois ici que le caractère "acceptable" d'un délai de dégradation est largement déterminé par les contraintes économiques ou environnementales du scénario considéré[89].

Partie expérimentale

Chapitre I Etude de la biodégradation des colorants par des Bactéries

I.1 Introduction

Les tests réalisés pour mesurer la biodégradabilité différent généralement par le choix de l'environnement (liquide, solide) et de la méthode employée (qualitative, quantitative). Ces tests sont menés au laboratoire d'ou le matériau testé est placé dans un milieu qui simule à l'environnement naturel ou le matériau est placé in situ (sol, compost, décharge, eau de mer, effluent de rejet). Les tests au laboratoire sont mieux maitrises et plus reproductibles que ceux réalisés en milieu naturel qui se déroulent en conditions connues (température, pH, humidité) mais non maitrisées.

I.2 Matériel et méthode

I.2.1 Matériels utilisés

L'ensemble de matériels, verreries et réactif sont représenter dans te tableau ci-après

Tableau I.1: Matériel et produits chimiques

Appareillages	Verrerie	Solutions et réactifs		
Agitateur magnétique Bain marie Balance Autoclave Bec bunsen Etuve PH mètre Chauffe ballon Barreau aimanté Broyeur à couteaux	Fioles jaugées 100ml Verres de montre Entonnoirs. Creusé Erlenmeyer (500ml) Pipettes graduées Pipettes pasteur Des flacons Bêcher	Glycérol HCl (0,1M) NaOH (0,1M) Acide sulfurique H ₂ SO ₄ L'amidon de mais		

I.3 Préparation des fibres

Les tiges d'alfa sont lavé à l'eau de robinet pour se débarrasser des substances étrangères collées a la surface, puis séchée dans une étuve à 50°C pendant 48 heures jusqu'à un poids constant, ensuite le matériau est broyée à l'aide d'un broyeur à couteaux (modèle SM100) puis tamisée à un diamètre 0,25 mm.

I.3.1 Traitement chimique des fibres

On mélange chaque fois 250 cm^3 de la solution d'acide sulfurique H_2SO_4 (1N) ou une solution de soude (1N) avec 50 g des fibres dans un ballon de 500 cm^3 . A l'aide d'un chauffe ballon on laisse le mélange bouillir pendant une heure à reflue. Après refroidissement le mélange est filtré, puis lavé à l'eau distillée jusqu'à neutralité du filtrat, a la fin du traitement chimique les échantillons sont désigné par :

AH : fibre d'Alfa traité avec l'acideAN: fibre d'Alfa traité avec la soude

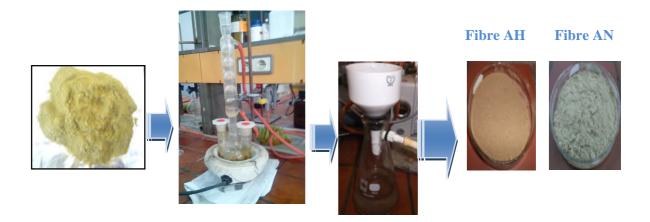


Figure I.1 : Montage expérimentale de Traitement des fibres

I.3.2Caractérisation des fibres par spectroscopie d'absorption infrarouge

Pour déterminer l'ensemble des changements de la structure causée par le traitement acide et alcalin de la fibre on a effectué une analyse par IR, les spectres des fibres traitées sont représentés sur les figures suivantes :

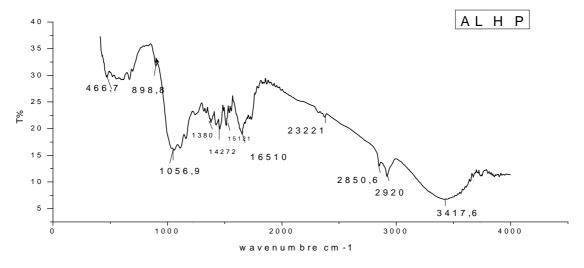


Figure I.2: Spectre IR des fibres AH

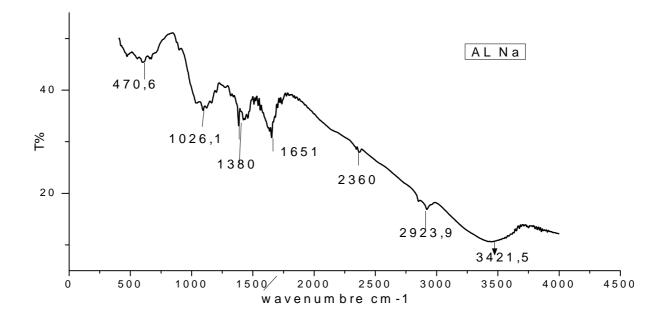


Figure I.3: Spectre IR des fibres A N

I.3.3Caractérisation d'amidon par spectroscopie infrarouge

Pour déterminer l'ensemble des groupements fonctionnelle qui existe sur la surface d'amidon de mais on a effectué une analyse par IR, le spectre obtenu est représenté sur la figure suivante :

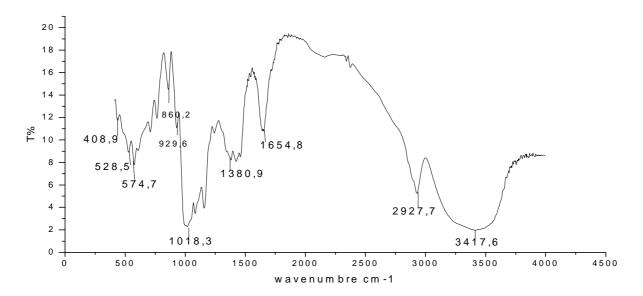


Figure I.4 : Spectre IR d'amidon de mais

On observe une large bande à 3417 cm⁻¹ de groupement hydroxyle OH, un bande à 2927cm⁻¹ correspond aux vibrations des chaines aliphatiques C-H,'une bande à 1018cm^{-1} correspond aux vibrations des liaisons simple C-O , et deux bandes situées à 860 cm ⁻¹et 929cm^{-1} qui peuvent être attribuées aux liaisons de vibration déformation $\delta_{\text{C-H}}$ aromatique)

I.3.4 Interprétation des résultats

> le spectre de fibre traité Avec l'acide AH

On observe une large bande à 3500 cm⁻¹ elle est du principalement aux groupements OH existants dans la structure des fibres .on note également la présence d'une bande à 1056cm⁻¹ et une seconde bande à 1651 cm⁻¹ ce qui traduit l'existence des liaison simple C-O et double C=O ,le nombre d'onde 2920 cm⁻¹ correspond aux vibrations des chaines aliphatiques C-H.

> le spectre de fibre traité Avec l'acide AN

On observe une large bande à 3421 cm⁻¹ elle est du principalement aux groupements OH existants dans la structure des fibres.une bande à 2923 cm⁻¹ correspond à la vibration d'élongation des laissons C-H, on remarque une bande à 1026 cm⁻¹ et un autre bande à 1651 cm⁻¹ ce qui traduit l'existence des liaison simple C-O et double C=O.

I.4 Préparation des films selon la méthode de coulée

On introduire dans un bécher 2,5 g d'amidon de maïs 0.8 g de fibre d'alfa traité (AH ou AN), 2 ml de glycérol (à 50 % en volume), 3 ml d'acide chlorhydrique 0.1 M et 25 ml d'eau distillée. La solution est mise sous agitation sur une plaque chauffante (réglée à 150 °C) pendant 15 minutes, de façon à ce que la solution ne soit pas à ébullition.

A la moitié du temps, ajouter 1 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium à 0,1 mol/L. neutraliser avec 2 ml de solution d'hydroxyde de sodium 0.1 M restant pour diminuer la viscosité du mélange. Verser la solution dans une boîte de pétri en étalant avec une spatule. Sécher dans l'étuve à 50°C pendant 2 heures puis finir le séchage à l'air libre. On obtient alors des films plastiques notés FAH et FAN.

FAH: film à base fibre traité avec l'acide sulfurique.

FAN: film à base fibre traité avec la soude

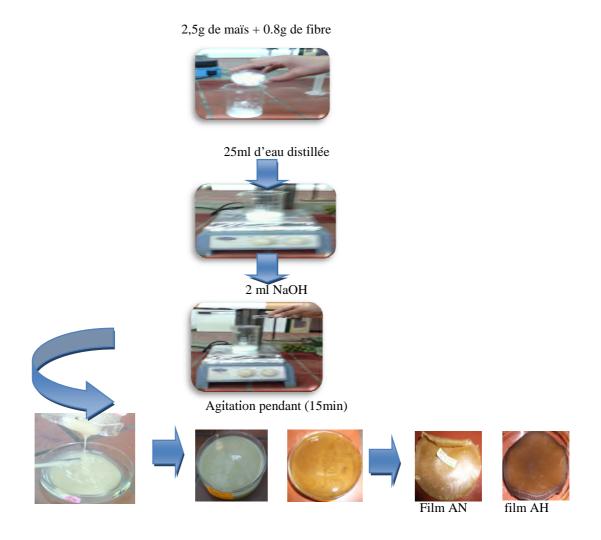


Figure I.5 : Synthèse des films d'amidon/fibre

I.4.1 Caractérisation des films par spectroscopie d'absorption infrarouge

L'analyse des polymères par spectroscopie infrarouge (IR) a été réalisée au Laboratoire des génie physique, afin d'identifier le plus complètement possible Les principales fonctions chimiques présentes à la surface des films d'amidon fibre.

Les spectres Infrarouge obtenus sont présentés ci-dessous :

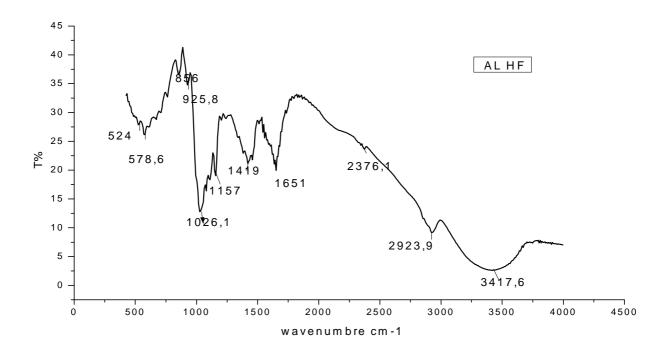


Figure I.6: Spectre IR du film FAH

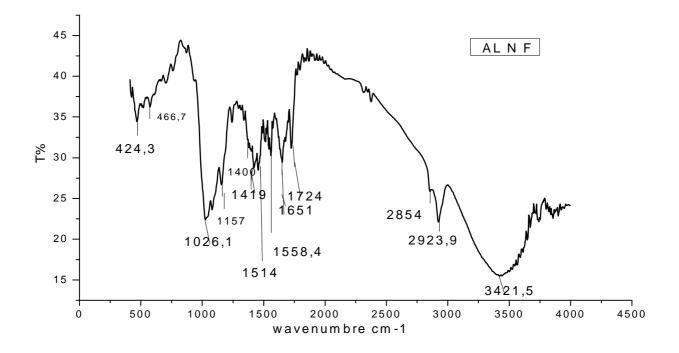


Figure I.7: Spectre IR du film FAN

I.4.2 Interprétation des résultats

- a) Le spectre du film FAH est caractérisé par la présence des pics suivants
- Un forte bande situé 1050 à 1419 cm ⁻¹ qui est attribuée a la vibration d'élongation vC-O ester, présent dans les fibres.

- Une band d'absorption situées à 1651 cm $^{-1}$ correspond a la vibration élongation $(_{vC=O})$;
- Une faible bande faible située à 2923 cm $^{-1}$ correspond a la vibration élongation V_{CH2} .
- Une large bande à 3417 cm ⁻¹ est caractéristique des fonctions hydroxyle v_{OH}. présent dans l'amidon, glycerol et dans les fibres.

b)Le spectre du film FAN est caractérisé par la présence

- Une large bande à 3425 cm $^{-1}$ est caractéristique des fonctions hydroxyle v_{OH} présent dans l'amidon, glycérol et les fibres.
- Une bande située à 2923cm⁻¹ résultant de la vibration élongation du groupe C-H présent dans l'amidon et les fibres.
- Une band d'absorption situées à 1651 cm⁻¹ correspond a la vibration élongation du groupe Carbonyl C = O. ($_{VC=O}$); présent dans les fibres.
- des bandes d'absorption caractéristiques des fonctions ester situées à 1050-1380cm⁻¹
 élongation vC-O ester.

I.5 biodégradation en milieu solide

Le but de cette partie est de présenter les différents matériaux utilisés, le processus expérimental et la méthode employée pour l'évaluation du taux de biodégradation des films d'amidon/fibre après enfouissement dans les milieux solide, cela est réalisé en calculant la perte de masse des résidus de dégradation au fil du temps

I.5.1 Protocole

Les milieux choisis pour cette étude ont été tamisés avec un tamis à mailles de 2 mm. Les films sont coupés en bondes (30 x 30mm), la dégradation de film amidon/fibre a été évaluée dans trois milieux :

- 1. un sol agricole (pH =8,6)
- 2. sable (pH = 8.5)
- 3. une boue activée

Les films plastiques ont été enterrés dans le sol, sable et la boue activée de 10 cm de profondeur durant différents période 7 , 14 ,21 et 28 jours à la température ambiante T= 13°C dans des pots. L'addition de l'eau de robinet a été effectuée une fois chaque semaine pour maintenir l'humidité du sol constante pendant la phase expérimentale.

Après cette période de temps, les films ont été retirés du sol rincé avec l'eau du robinet, en suite séché dans l'étuve à 50°C pendant 20 min. La biodégradation de polymère à été évaluée en mesurant le pourcentage de perte de masse des films (la masse de chaque échantillon à été mesurée avant et après la dégradation).

Le pourcentage de perte de poids dans le milieu est calculé on utilisant la relation suivante :

$$P\% = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100$$

m_i: masse des films avant la biodégradation.

m_f: masse des films après la biodégradation.

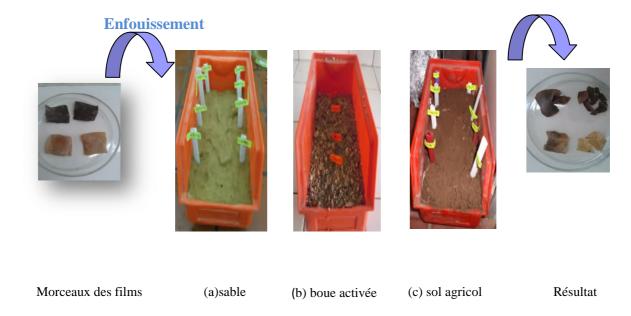


Figure I.8: L'enfouissement des films d'amidon/fibres dans les milieux solides

Les résultats sont donnés dans les tableaux (annexe I.1) et représentés sur les figures suivantes

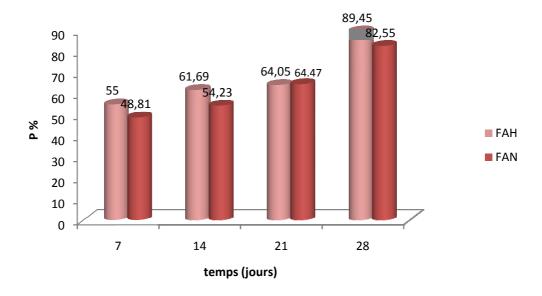


Figure I.9 : Le pourcentage de biodégradation des films enfouis dans le sol

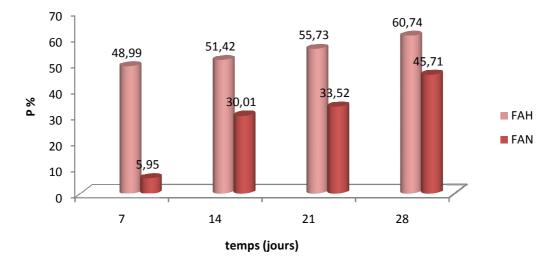


Figure I.10: Le pourcentage de biodégradation des films enfouis dans le sable

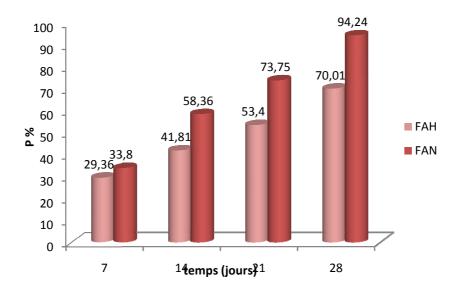


Figure I.11:Le pourcentage de biodégradation des films enfouis dans la boue activée

I.5.2 Résultats et discutions

- Les différentes données expérimentales obtenues indiquant clairement que le pourcentage de perte de masse des films augmente en fonction du temps pour tous les polymères enterrés dans le sol, sable et la boue activée.
- ➤ On constate que les taux de biodégradation des polymères sont variables selon la nature du milieu solide et la nature des films.
- ➤ On note que la biodégradation des films dans la boue activée se manifeste d'une manière considérable, qui atteint une valeur maximale de 94.24% au bout de 28 jours pour le film FAN, cette efficacité du milieu est due à la grande activité de ces microorganismes dans ce milieu.
- > On mentionne que la dégradation des films FAH dans Le sol est notable avec un
- > pourcentage de 89,45% au bout de 28 jours.
- La différence dont le taux de biodégradation des deux films pourrait s'expliquer par l'hétérogénéité de la structure des films, ainsi que par la densité des microorganismes qui existe dans le milieu solide.

I.5.3 Caractérisation des Produits de dégradation par spectroscopique IR

Les résidus des films enfouis dans le sol après quatre semaines ont été analyse par spectroscopique Infrarouge.

Les spectres IR obtenus sont présentés ci-dessous :

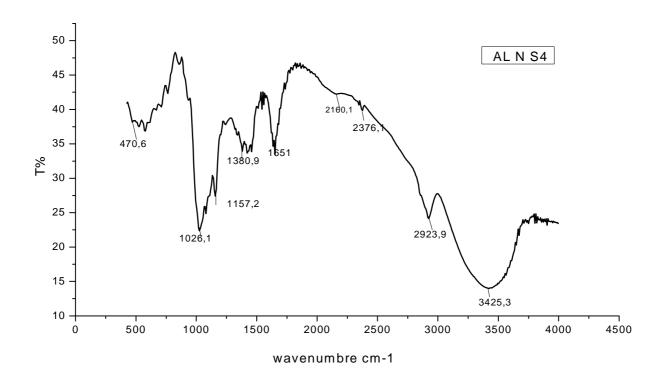


Figure I.12: Spectre IR du film dégradé FAN S4

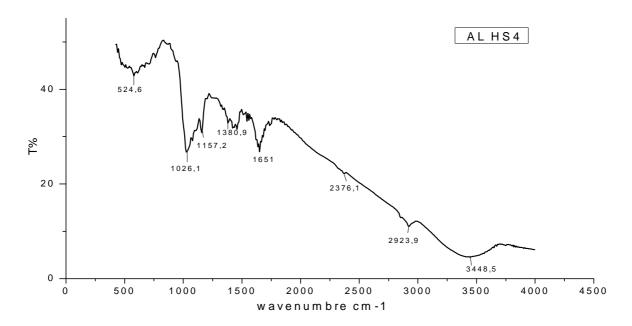


Figure I.13: Spectre IR du film dégradé FAH S4

I.5.3.1 Interprétation des résultats

➤ Le spectre IR du film FAH dégradé est caractérisé par une forte diminution des bandes d'absorption caractéristiques des esters situées à 1651 cm ⁻¹ (vc=o) ,cette diminution traduit l'hydrolyse enzymatique de la fonction ester,

Une diminution dans la zone de 1050-1450 cm $^{-1}$ (ν C-O) et des bandes d'absorption fonctions hydroxyle ν_{OH} situées à 3448cm $^{-1}$.

➤ Le spectre IR du film FAN dégradé est caractérisé par une forte diminution des bandes d'absorption caractéristiques de fonction ester à 1651c^{m-1} et dans la zone de 1026-1480 cm ⁻¹ (υC-O).cette diminution des pics peut être expliquée l'hydrolyse enzymatique de la fonction ester, suivi par une chaut des masse de polymère.

I.6 Etude comparative de biodégradation des films PVC

I.6.1 Préparation des films

Dans un bécher on ajoute 0.5g de PVC poudre plus 15ml de THF, on place un barreau magnétique, ensuite on le chauffe à 40 - 45°C jusqu'à obtention d'un mélange homogène, puis on verse le mélange homogène au fond d'une boite de pétri et on étale dessus à l'aide d'une spatule, on laisse sécher à l'étuve à 60°C pendant une trentaine de minutes. On obtient alors un film plastique.

I.6.2 Tests de biodégradation

Les films plastiques de polychlorure de vinyle PVC (2 x 2 cm)ont été enterrés dans le sol et dans la boue activée de 10 cm de profondeur durant différents période 30, 60 et 90 jours à la température ambiante T= 13°C dans des pots. L'addition de l'eau de robinet a été effectuée une fois chaque semaine pour maintenir l'humidité du sol constante pendant la phase expérimentale. Après cette période de temps, les films ont été retirés du sol rincer avec l'eau du robinet, en suite séché dans l'étuve à 40°C pendant 20 min. Le suivi de la dégradation des polymères dans le milieu solide à été évaluée par les mesures de pourcentage de la perte de masse. Les résultats obtenus sont représentés dans les tableaux (2,3) et sur la (figure 14).

Tableau I.2: Pourcentage de perte de masse des films PVC enfouis dans le sol

Temps (jours)	30		60		90	
Masse initiale m _i (g)	0.0803	0.0836	0.1123	0.1019	0.2192	0.2106
Masse finale m _f (g)	0.0764	0.0771	0.1027	0.0948	0.1902	0.1951
P%	4.85	7.77	8.3036	6.96	13.23	7.36
P% moy	6.31		7.75		10.29	

Temps (jours)	30	60	90
Masse initiale m _i (g)	0.0948	0.1139	0.2870
Masse finale m _f (g)	0.0880	0.0709	0.06334
P%	7.17	37.75	77.93

Tableau I.3: Pourcentage de perte de masse des films PVC enfouis dans la boue activée

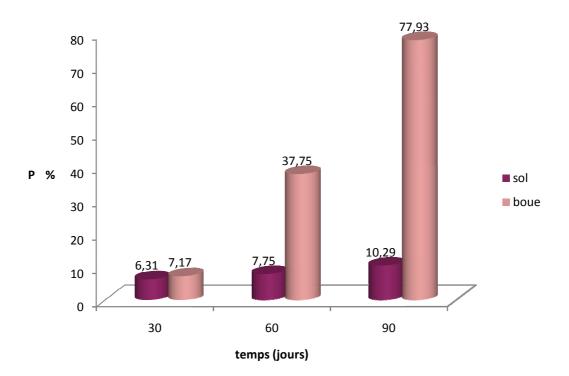


Figure I.14: Le pourcentage de dégradation des films PVC enfouis dans les milieux solides

I.6.3 Interprétation des résultats

- ➤ On constate que les milieux solides testé ont approuvé leur aptitude à dégradée les films plastique PVC à des taux de biodégradation variable.
- ➤ On note que la dégradation des films de PVC est plus grand dans la boue activée ce la est due à la grande activité des micro-organismes qui renferme ce milieu.
- ➤ D'après les résultats obtenus du taux de biodégradation, on constate que la vitesse de dégradation des films PVC est très lente dans le sol.

Chapitre II Etude de la biodégradation des colorants par la boue activée

II.1 Teste de biodégradation des colorants par une boue activée

Le but de cette partie est de quantifier la biodégradation de ces colorants en milieu aqueux (chargée en microorganisme). A l'issue de la synthèse bibliographique réalisée sur les tests de biodégradation en milieu liquide, certains paramètres ont été arbitrairement fixés selon les normes et les tests décrits tels que la méthode de détection de la biodégradation, le pH, la température et la composition du milieu minéral.

II.1.1. Origine de la Culture bactérienne

Une Boues activées collectées de la station d'épuration biologique des eaux de "L'OROLAIT "de TIARET est utilisée comme source d'inoculum mère dans la présente étude.

II.1.1.1Préparation de l'inoculum à partir des boues activées

Une masse de 2g de la boue activée à été mise dans 120ml de l'eau distillée stérile, la solution est incubée pendant 24h à 72h à température 30°C, ensuite elle sera filtrée pour récupérer le filtrat. Ce dernier dépourvu de matières en suspension et d'aspect limpide, est utilisée comme inoculum pour réaliser les tests de biodégradation en milieu liquide.

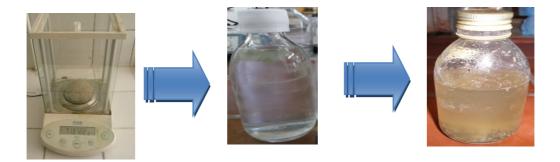


Figure II.1 : Préparation des l'inoculum

II.2 Etude cinétique de la décoloration à des conditions statiques

Environ 5 ml de la suspension de la boue activée a été inoculé des flacons contenant 120 ml de milieu minéral nutritif. Les colorants bleu de méthylène, rouge Congo et méthyle orange ont été ajouté aux flacons à une concentration de (10 mg / 1 à 20mg/l) puis incubé à 30 ° C. Ensuit 3 ml du milieu de culture ont été prélevés à différents intervalles de temps et analysée par un spectrophotomètre UV visible. Le pourcentage de décoloration (D%) a été calculé par l'équation suivante Eq. (I.1) :

$$D\% = (A^{\circ} - A_{t}) / A^{\circ} \times 100$$
 (I.1)

Les conditions de stérilisation doivent être respectées, à savoir : ne pas dépasser les 20 cm du bec bunsen et utiliser du matériel stérile.



Préparation des solutions



inoculée avec 5 ml de suspension de boue activée



incubées à 30 °C



Analyse par spectrophotomètre UV-visible

Figure II.2 : Test de dégradation des trois colorants.

Les résultats sont exposés dans les tableaux et sur les figures suivantes.

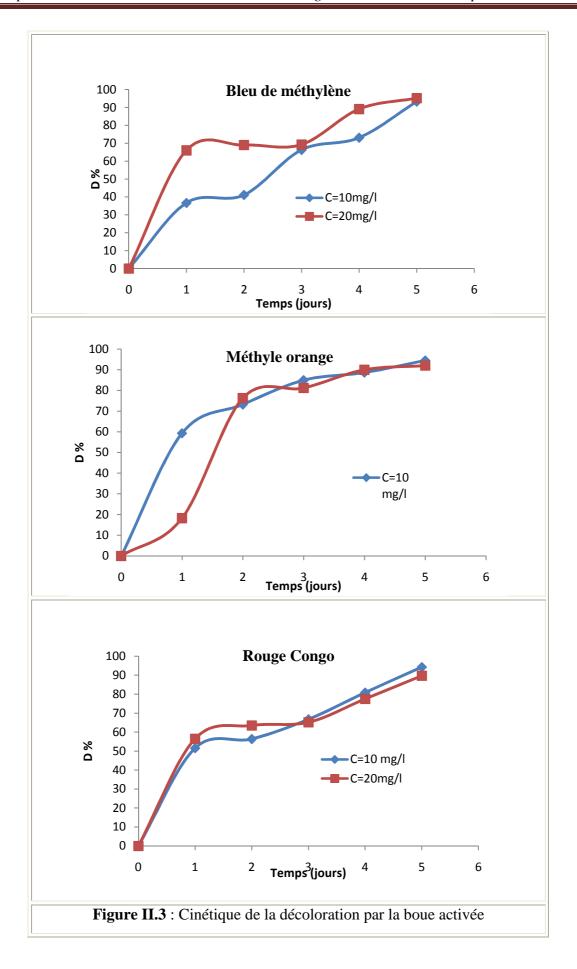
58

 $\textbf{Tableau II.1:} \ R\'esultat\ cin\'etique\ de\ la\ d\'ecoloration\ en\ condition\ statique\ (C_0=20mg/l)$

Colorants	Temps (jours)	1	2	3	4	5
	Abs	1.019	0.930	0.922	0.327	0.144
BM	D %	66.03	69.00	69.26	89.10	95.20
D.C.	Abs	0.371	0.311	0.297	0.192	0.088
RC	D %	56.45	63.49	65.14	77.46	89.67
MO	Abs	0.319	0.267	0.212	0.113	0.09
WIO	D %	18.28	76.28	81.17	89.96	92.00

Tableau II.2 : Résultat cinétique de la décoloration en condition statique (C₀ =10mg/l)

Colorants	Temps (jours)	1	2	3	4	5
	Abs	1.139	1.059	0.606	0.484	0.122
BM	D %	36.65	41.10	66.29	73.08	93.21
D.C.	Abs	0.220	0.198	0.151	0.087	0.026
RC	D %	51.54	56.38	66.74	80.83	94.27
MO	Abs	0.354	0.233	0.131	0.099	0.048
МО	D %	59.31	73.20	84.94	88.62	94.48



II.3 Etude cinétique de la décoloration à des conditions d'agitation

La capacité de décoloration de la suspension de boue activée a été testée dans les conditions d'agitation et statique à pH 7,0 avec une concentration initiale en colorants 5mg/l. Des flacons contenant chacune 120 ml de milieu liquide ont été inoculés avec 5 ml de suspension de boues activée puis homogénéisée dans un bain-marie (MEMMERT de type GFL 1083) réglé à 30°C sous agitation moyenne. Chaque culture est réalisée en duplicata. Des prélèvements stériles à l'aide des seringues jetables sont effectués chaque heure, puis analysée à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau et la figure suivante.

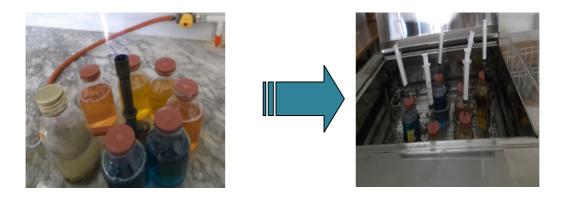


Figure II.4 : Dispositif expérimentale de la biodégradation

Tableau II.3: Résultat cinétique de la décoloration en condition d'agitation ($C_0 = 5 \text{mg/l}$)

Colorants	Temps (heurs)	1	2	3	4	5	6
	Abs	0.861	0.757	0.661	0.632	0.621	0.612
BM	D %	12.23	22.83	32.61	35.57	36.69	37.61
RC	Abs	0.253	0.203	0.181	0.167	0.105	0.093
RC	D %	15.38	32.10	39.46	44.14	64.88	68.89
MO	Abs	0.621	0.551	0.518	0.472	0.421	0.370
MO	D %	6.89	17.39	22.33	29.23	36.88	44.52

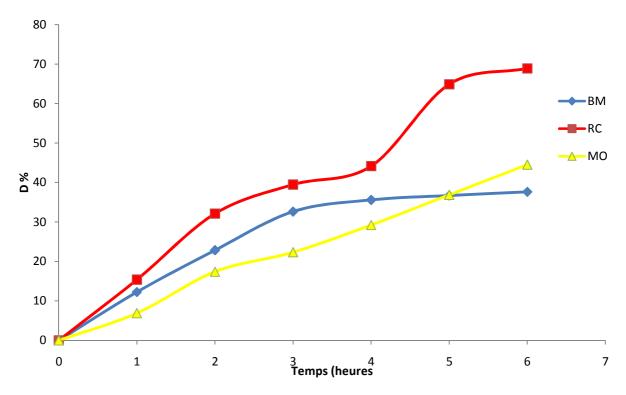


Figure II .5 : Cinétique de la décoloration en condition d'agitation ($C_0 = 5 \text{mg/l}$)

II.4 Facteurs influençant la dégradation des colorants

II.4.1 Effet de pH sur la dégradation des colorants

Le pH a un effet majeur sur l'efficacité de la décoloration du colorant. Les expériences ont été réalisées dans des flacons contenant un volume le 45ml du milieu liquide à une concentration en colorant de 10 mg/l .Le pH de la solution a été ajusté à 4, 5, 7, 8 et 11 avec une solution de l'acide chlorhydrique 1 N ou de hydroxyde de sodium. Ces flacons ont été inoculés avec 5 ml de suspension de boue activée puis incubé à 30°C pendant 3 jours. Toutes les expériences ont été réalisées en double. Ensuite 3 ml du milieu de culture ont été prélevés et analysée à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible.

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau et la figure suivante.

Colorants	рН	4	5	7	8	11
	Abs	1.573	1.153	0.606	0.939	0.820
BM	D %	12.51	35.87	66.29	47.77	54.39
D.C.	Abs	0.424	0.298	0.151	0.195	0.06
RC	D %	6.60	34.36	66.74	57.04	86.78
MO	Abs	0.595	0.314	0.131	0.241	0.120
МО	D %	31.60	63.90	84.94	72.29	86.20

Tableau II.4 : Effet de la variation de pH sur la décoloration (C=10mg/l)

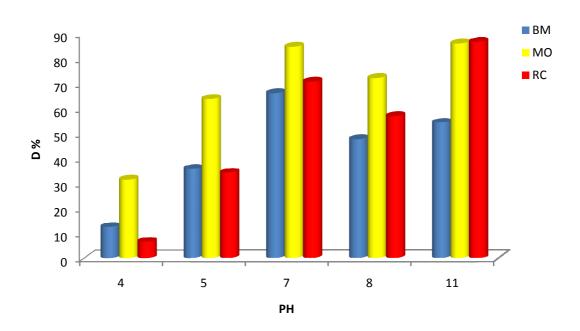


Figure II. 6 : Effet de la variation de pH sur la décoloration

II.4.2 Effet de la concentration initiale en colorant

La capacité maximale de décoloration par la suspension de la boue activée a été étudiée avec différentes concentrations du colorant (5- 30mg .1⁻¹). Des flacons contenant 45ml de milieu de culture ont été inoculés avec 5ml d'une suspension de la boue activée. La décoloration a été analysée après 3 jours d'incubation en mesurant l'absorbance avec un spectrophotomètre UV-visible.

Colorants	Concentration (mg/l)	5	10	20	30
	Abs	0.710	0.951	1.529	1.331
ВМ	D %	27.62	45.71	49.90	68.30
D.C.	Abs	0.265	0.391	0.432	0.430
RC	D %	44.67	55.05	61.63	81.48
MO	Abs	0.232	0.256	0.312	0.161
МО	D %	22.4	43.61	63.38	86.89

Tableau II.5: Effet de différentes concentrations de colorant sur la décoloration.

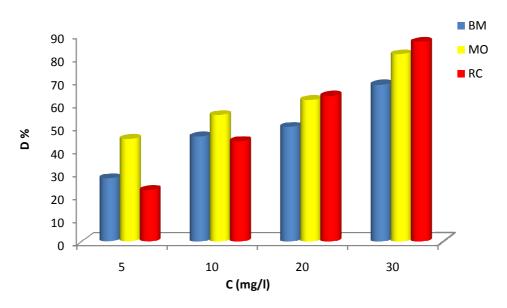


Figure II.7 : Effet de différentes concentrations de colorant sur la décoloration.

II.4.3 Effet de la salinité sur la décoloration

La suspension de la boue activée à été également testée pour leur capacité à décolorer Rouge Congo bleu de méthylène et méthyle orange en présence de NaCl. Différentes concentrations (0.1% -0.5%) de NaCl ont été ajoutées aux milieux. Des flacons contenant 45ml de milieu de culture à une concentration initiale en colorants de 10mg/l. Les flacons étaient incubés à 30°C avec 5ml d'inoculum de la boue activée. La décoloration a été analysée après 3 jours d'incubation en mesurant l'absorbance avec un spectrophotomètre UV-visible à la longueur d'onde maximale. λmax, de 660nm pour le bleu de méthylène,

498nm pour le rouge Congo, et 466 nm pour méthyle orange. Le taux de décoloration a été calculé en utilisant l'équation (I.1).Les résultats obtenus sont représentées dans le tableau et la figure suivante.

Tableau II.6 : Effet de la salinité sur la décoloration.

Colorants	NaCl (%)	0.1	0.2	0.4	0.42	0.5
	Abs	0.904	0.120	1.212	1.350	1.435
BM	D %	49.72	37.70	32.59	24.91	20.18
D.C.	Abs	0.131	0.250	0.298	0.327	0.360
RC	D %	71.14	44.93	34.36	27.97	20.70
MO	Abs	0.163	0.182	0.252	0.258	0.449
МО	D %	81.26	79.08	71.03	70.22	48.39

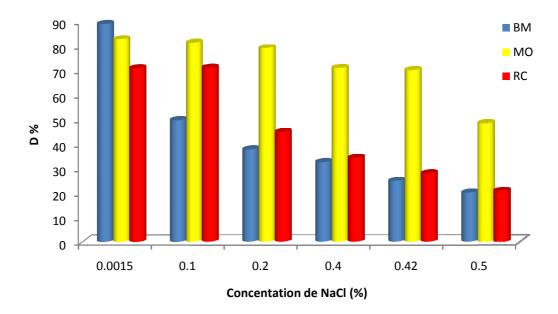


Figure II.8: Effet de la salinité sur la décoloration

II.4.4 Effet de la concentration du glucose sur la décoloration

Pour trouver la concentration optimale du glucose pour la décoloration de méthyle orange, bleu de méthylène et rouge Congo par la suspension de la boue activée, des milieux sans glucose ont été complétés avec diverses concentrations initiales du glucose (0.2-0.6%).

Des flacons contenant 45 ml de milieu de culture à une concentration initiale des colorants 10mg/l.ces flacons ont été inoculé par 5ml de suspensions de la boue activée. La décoloration a été analysée après 3 jours d'incubation en mesurant l'absorbance avec un spectrophotomètre UV-visible.

Colorants	Glucose(%)	0.2	0.4	0.6
DM	Abs	0.430	0.520	0.643
BM	D %	76.08	71.07	64.23
D.C.	Abs	0.159	0.282	0.369
RC	D %	64.97	37.88	18.72
MO	Abs	0.522	0.770	0.859
МО	D %	40	11.49	1.26

Tableau II.7: Effet de différentes concentrations initiales du glucose sur la décoloration.

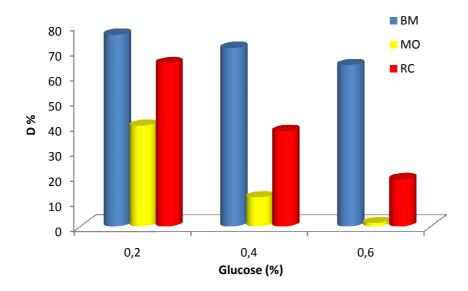


Figure II. 9 : Effet de la variation de la concentration du glucose sur la décoloration

II.5 Résultat et discussion

- Les résultats cinétiques de la décoloration (figure II.3) par la suspension de la boue activée affirme une augmentation rapide du taux de dégradation avec la période d'incubation et avec la concentration initiale en colorant, une élimination maximale à été observés après 5 jours d'incubation qui atteint 93%-94% pour le bleu de méthylène, le rouge Congo et le méthyle orange respectivement au bout de 5 jours pour une concentration initiale de 10mg/l.
- Les expériences en mode d'agitation (figure II.5) révèlent que la suspension de boue activée était plus efficace dans la décoloration en condition d'agitation qui atteint un taux de 37%,44% et 68% au bout de 6h pour le BM, MO et RC respectivement. Ces résultats indiquant clairement que les conditions d'agitation donnent une meilleure croissance des microorganismes. L'étendue du pourcentage de décoloration peut être augmentée par traitement dans des conditions d'agitation, car les secousses facilitent le transfert et la répartition des nutriments et de l'oxygène entre le milieu et les cellules microbiennes [95].
- Les résultats présentés sur la figure II.6 indiquent que le pH optimal pour l'élimination des colorants pour le rouge Congo et le méthyle orange se situe entre 7 et 11. Ce pondant, la décoloration maximale du bleu de méthylène a été atteint à pH 7,0 avec 66.29% en 72 heures. Alors que l'environnement acide (pH = 4) réduit l'activité de ces microorganismes, produisant une élimination entre 6% ,12% et 31% pour le RC, BM et MO respectivement. Donc le pH optimal nécessaire à la croissance de ces microorganismes était neutre.
- ➤ La variation des concentrations en colorants (figure II.7) montre que le pourcentage d'élimination augmente avec l'augmentation de la concentration initiale en colorant. Le taux de dégradation du colorant était de 68%, 81% et 86% pour le bleu de méthylène, le méthyle orange et le rouge Congo respectivement pour une concentration initiale de 30mg/l.
- ➤ Les données du tableau II.6 et la figure II.8 indiquent que le processus de décoloration est significativement inhibé par la présence d'une concentration élevée de NaCl dans le milieu, c'est-à-dire que seulement un taux d'élimination de 20 % à été observés à une concentration de 0.5% de NaCl pour le bleu de méthylène et le rouge Congo. La

croissance des microorganismes qui se produit dans les conditions de 0,1 et 0.2% de NaCl, peut être liée au niveau de décoloration à la fin de la période d'incubation. Une croissance relativement remarquable a été observée jusqu' a 0.42% de NaCl pour le méthyle orange.

➤ Dans la présente étude, la décoloration maximale de Bleu de méthylène était de 94,27% avec 0.2% du glucose dans le milieu, ce pendant pour le rouge Congo et le méthyle orange les rendements de décoloration est seulement (40 % - 64.97%). Tandis que l'ajout d'une quantité supplémentaire du glucose entraîne une diminution de la décoloration du colorant d'environ (1.26% - 18.72%) en 72 h. De tels résultats confirment l'utilisation du glucose par ces microorganismes comme source de carbone et d'énergie pour leur croissance.

Conclusion Générale

Conclusion générale

Notre travail a été réalisé en deux parties, la première partie est consacrée à l'étude de la dégradation des trois colorants bleu de méthylène, rouge Congo et méthyle orange par deux souches bactériennes (Staphylococcus aureus et Escherichia coli) en milieu liquide. L'influence de divers paramètres opérationnels à savoir la concentration du glucose, la salinité, le pH et la concentration initiale en colorant a été examinée.

La deuxième partie consiste à examiner la décoloration par une boue activée, en premier lieu, on a fait un suivi cinétique de dégradation, suivi par l'étude de l'effet du pH, de la salinité, concentration initiale en colorant et concentration initiale en glucose a été étudiée dans le but de déterminer les conditions optimales nécessaires pour une décoloration maximales.

A la lumière des résultats expérimentaux obtenus, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

- Le suivi cinétique révèle que les deux bactéries sélectionnées ont un pouvoir à dégrader les colorants testés à des taux d'élimination variable.
- L'examen de l'effet du pH confirmé que la dégradation des colorant est maximale à pH neutre.
- L'augmentation de la salinité dans le milieu inhibe l'activité décolorante de rouge Congo, bleu de méthylène et méthyle orange.
- La présence du glucose dans le milieu conduit a une diminution de taux d'élimination des colorants.
- Les résultats cinétique de la biodégradation par la suspension de la boue activée confirme que ces microorganismes ont une grand capacité à dégrader ces colorants.
- Les expériences de décoloration en mode agitation présente un meilleur taux de dégradation durant cette phase d'incubation.

Annexes

I. Matériel et méthode

I.1 Matériels utilisés

L'ensemble de matériels, verreries et réactif sont représenter dans te tableau ci-après

Tableau I.1: Matériel et produits chimiques

Appareillages	Verrerie	Solutions et réactifs
Agitateur magnétique Bain marie Balance Autoclave Bec bunsen Etuve PH mètre Barreau aimanté Spectrophotomètre	Fioles jaugées 100ml Verres de montre Entonnoirs. Tubes à essai Erlenmeyer (500ml) Pipettes graduées Pipettes pasteur Des flacons Bêcher Boîtes de pétri	Eau physiologie HCl (0,1M) NaOH (0,1M) Gélose nutritif Gelose chapman

Références bibliographiques

- [1] Gowri Shyamala R, Vijayaraghavan R and Meenambigai P (2014)," Microbial Degradation of Reactive Dyes- A Review", Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci, 3(3): 421-436.
- [2] Praveen Kumar G.N. And Sumangala K. Bhat (2012), "Fungal Degradation of Azo Dye-Red 3BN and Optimization of Physico-Chemical Parameters", ISCA J. Biological Sci., Vol. 1(2), 17-24.
- [3] Joshni Chacko. T., Kalidass Subramaniam, (2011), "Enzymatic Degradation of Azo Dyes A Review", International Journal of Environmental Sciences Volume 1, No 6.
- [4] Jadhav, J. P., Parshetti, G. K., Kalme, S. D. and Govindwar, S. P. (2007). Decolourization of azo dye methyl red by Saccharomyces cerevisiae MTCC-463. Chemosphere, 68: 394-400
- [5] Pearce, C. I., Lloyd, J. R. and Guthie, J. T. (2003). The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: A review. Dyes Pigments, 58: 179-196.
- [6] Ozdemir, G., Pazarbasi, B., Kocyigit, A., Omeroglu, E. E., Yasa, I. and Karaboz, I. (2008). Decolorization of Acid Black 210 by Vibrio harveyi TEMS1, a newly isolated bioluminescent bacterium from Izmir Bay, Turkey. World J. Microbiol. Biotechnol., 24: 1375-1381.
- [7] George Tchobanoglous, Franklin L Burton, and H David Stensel (2003). Metcalf & eddy, inc. Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, Reuse.
- [8] Angélique Léonard (2007). Etude du séchage convectif de boues de station d'épuration-Suivi de la texture par microtomographie à rayons X. PhD thesis, Université de Liége.
- [9] Richard C. (1996); Les eaux, les bactéries, les hommes et les animaux. Ed. Scientifiques et médicale Elsevier. Paris.
- [10] Abdelbaki Reffas(2010). Etude de l'adsorption de colorants organiques (Rouge Nylosan et Bleu de Méthylène) sur des charbons actifs préparés à partir du marc de café. PhD thesis, Chambéry.
- [11] Grégorio Crini and Pierre-Marie Badot(2007). Traitement et épuration des eaux industrielles polluées : procédés membranaires, bioadsorption et oxydation chimique. Presses Univ. Franche-Comté.
- [12] Fritz Meinck, Hans Stooff, Heinrich Kohlscgütter, and André Gasser(1977). Les eaux résiduaires industrielles. Masson.
- [13] Bernard Chocat, Jean-Luc Bertrand-Krajewski, and Sylvie BARRAUD(2007). Eaux pluviales urbaines et rejets urbains par temps de pluie. Techniques de l'ingénieur. Technologies de l'eau, 2(W6800).

- [14] Jean R Vaillant(1974). Perfectionnements et nouveautés pour l'épuration des eaux résiduaires: eaux usées urbaines et eaux résiduaires industrielles. Editions Eyrolles,.
- [15] Olivier Atteia(2005). Chimie et pollutions des eaux souterraines. Tec & doc.
- [16] Peter Steen Mikkelsen, G Weyer, C Berry, Y Waldent, V Colandini, S Poulsen, D Grotehusmann, and R Rohlfing. Pollution from urban stormwater infiltration. Water Science and Technology, 29(1-2):293–302, 1994.
- [17] S Takahide (1999). Kurita handbook of water treatment. Kurita Water Industries, Ltd., Tokyo.
- [18] Jean Rodier, Bernard Legube, Nicole Merlet, and Régis Brunet(2009). L'analyse de l'eau-9^{ème} édition-Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. Dunod.
- [19] Olivier Lefebvre and Rene Moletta(2006). Treatment of organic pollution in industrial saline wastewater: a literature review. Water research, 40(20):3671–3682.
- [20] Natalija Koprivanac and Hrvoje Kuši′c(2009). Hazardous organic pollutants in colored wastewaters. Nova Science Publishers, Inc.
- [21] THY Tebutt(1998). Principles of water quality control, butter worth.
- [22] Gérard Grosclaude(1999). L'eau : usages et polluants, volume 2. Editions Quae.
- [23] M Makhoukh, M Sbaa, A Berrahou, M Van, et al(2013). Contribution a l'étude physicochimique des eaux superficielles de l'oued moulouya (maroc oriental). Larhyss journal, 6(1):149–169.
- [24] Víctor Alcaraz González(2001). Estimation et commande robuste non-linéaires des procédés biologiques de dépollution des eaux usées : application à la digestion anaérobie. PhD thesis, Université de Perpignan.
- [25] Samorn Muttamara(1996). Wastewater characteristics. Resources, conservation and recycling, 16(1):145–159.
- [26] Dinesh Mohan, Kunwar P Singh, and Vinod K Singh(2008). Wastewater treatment using low cost activated carbons derived from agricultural byproducts—a case study. Hazardous materials, 152(3):1045–1053.
- [27] American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, and Water Environment Federation(1913). Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association.
- [28] Mohammed Said METAHRI(2012). Elimination simultanée de la pollution azotée et phosphatée des eaux usées traitées par des procédés mixtes, cas de la STEP est de la ville de Tizi-Ouzou. Ph D thesis, Université Mouloud Maameri de Tizi Ouzou.

- [29] J Mayet(1994). La pratique de l'eau. traitements aux points d'utilisation. Paris : Le Moniteur.
- [30] Nasim Ahmad Khan, Shaliza Ibrahim, Piarapakaran Subramaniam, et al(2004). Elimination of heavy metals from wastewater using agricultural wastes as adsorbents. Malaysian Journal of Science, 23(1):43–51.
- [31] E Radha Krishnan, Ph W Utrecht, AN Patkar, JS Davis, SG Pour, and ME Foerst(1993). Recovery of metals from sludges and wastewaters. Noves Data Corporation Park Ridge, NJ, .
- [32] Md. Tamez Uddin, Md. Akhtarul Islam, Shaheen Mahmud, Md. Rukanuzzaman, (2009). "Adsorptive removal of methylene blue by tea waste", Journal of Hazardous Materials 164, 53–60.
- [33] Guide d'assainissement : Direction Assainissement et Environnement de l'ONEP.
- [34] Institut fresenius GmbH Taunusstein-Neuhof W.Fresenius et W.Schneider Forschungsinstitut fur Wassertechnologie an der RWTH Aachen (FiW) B.Bohnke et K.Poppinghaus: Technologie des eaux résiduaires (production, collecte, traitement et analyse des eaux résiduaires), *Book*
- [35] Henri Aussel, Graziella Dornier (2004): le traitement des eaux usées (Institut national de recherche et de sécurité) .Paris.
- [36] Fondation de l'eau potable sure (FEPS) : Traitement des eaux usées, Canada.
- [37] Arodi Bernal-Martinez(2005): Elimination des hydrocarbures aromatiques polycycliques présents dans les boues d'épuration par couplage ozonation-digestion anaérobie. Thèse en génie des procèdes, Montpellier II France.
- [38] Duvand, E.Mugnier, E.Gazzo, A.Aubain, P.et Wiart (1999) : Situation du recyclage agricole des boues d'épuration urbaines en Europe et dans divers autres pays du monde. Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie.ADEME.Centre Angers.
- [39] Benaissa Asma(2012), Etude de la faisabilité d'élimination de certains colorants textiles par certains matériaux déchets d'origine naturelle, Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en Chimie, Université Abou BakrBalkaid, Tlemcen.
- [40] Djelal H, Rigail M., Boyer L., (2008).Les effluents industriels et leur traitement, Management & Avenir: 275-288.
- [41] Recueil des nomes françaises de textiles(1985). Code de solidité de teinture et impression. Tome $4^{\text{ème}}$ édition AFNOR .
- [42] Jean Lederer(1986). Encyclopédie de l'hygiène alimentaire Tome IV Edition Nauewelearts. Malone S.A. Edition .

- [43] Kebiche Ounissa.(1996), Biodégrabilité, adsorbabilité et échange ionique de quelques colorants cationiques présents dans les effluents liquides de la teinturerie de l'unité couvertex de Ain.DJASSER. Thèse de Magistère Université Mentouri Constantine.
- [44] Walsh G.E., Bahner L. H. and Houninig W. B(1980)., Env. Pollut. Ser., A, 21, 169-179.
- [45] Meink F; Stoof H; Kohschuter H.(1977), Les eaux résiduaires industrielles. Masson $2^{\text{ème}}$ édition.
- [46] Balakina T.D and Baktueva L. A.(1987) Plerum Publishing Corporation, 1264-1267.
- [47]. S. Barclay, C. Buckley, (2000), Waste minimization guide for the textile industry, a step towards cleaner production, The pollution research group, University of Natal Durban, South Africa, For the south African. Water Research Commission, 1.
- [48] T. Kurbus, Y.M. Slokar, A.M(2002). Le Marechal, Dyes Pigments P 67-78.
- **[49]** Taylor et Jacobs (1996)
- [50] E. Zawlotzki Guivarch(2004), Traitement des polluants organiques en milieu aqueux par procédé électrochimique d'oxydation avancée, électro-fenton, application à la minéralisation des colorants synthétiques, thèse de Doctorat, Université de Marne- La- Vallée.
- [51] N. Yeddou, A. Bensmaili(2005), Kinetic models for the sorption dye from aqueous solution by clay-wood sawdust mixture, Desalination, Vol. 185, pp. 499-508.
- [52] P.C. Vendevivere, R. Bianchi, W. Verstraete(1998), J. Chem. Technol. Biotechnol. 72, 289-302.
- [53] E. Neyens, J. Baeyens, M. Weemaes, B. De Heyder (2003), J. Hazard. Mat. 98, 91-106.
- [54]. K. Hamada, M. Nishizawa, D. Yoshida, M. Mitsuishi(1998), Dyes Pigments 36, 313-322.
- [55]. E. Zawlotzki Guivarch(2004), Traitement des polluants organiques en milieu aqueux par procédé électrichimique d'oxydation avancée, electro-fenton, application à la minéralisation des colorants synthétiques, thèse de Doctorat, Université de Marne- La- Vallée.
- [56] K. Jean (2008), Caractérisation des particules fines d'un matériau granulaire de fondation par l'essai au bleu de méthylène, Thèse de Doctorat, Université Lava.
- [57] Nikfar, S.; Jaberidoost, M (2014). Dyes and Colorants A2 Wexler, Philip. In Encyclopedia of Toxicology (Third Edition), Academic Press: Oxford; pp 252-261.
- [58] Venkat S., Vijay Babu P.V., (2013). Kinetic and equilibrium studies on the removal of Congo red from aqueous solution using Eucalyptus wood (Eucalyptus globulus) saw dust, Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, Vol 44, p. 81–88.

- [59] J. Fan, X. Shen, J. Wang(1998), Dissociation constants of methyl orange in aqueous alcohol solvents, Analytica Chimica Acta 364, 275.
- [60] K. Tawarah, H. Abu-Shamleh (1991), A spectrophotometric determination of the formation constants of the inclusion complexes of α and β -cyclodextrins with the azonium and ammonium tautomers of methyl orange and methyl yellow, Journal of inclusion phenomena and molecular recognition in chemistry 11, 29.
- [61] Nour Bouanimba (2009); Modelisation et optimisation de la cinetique de degradation photocatalytique de polluants Organiques en solution aqueuse ; thèse de doctorat, Spécialité : Chimie physique et analytique ; Universite Mentouri-Constantine.
- [62] Diane Djoumessi Lekeufack(2010), Synthese et fonctionnalisation des nanoparticules d'or pour des applications en optique : perspective en photocatalyse, Diplôme de Doctorat, Université de Claude Bernard Lyon I, French.
- [63] Norman L Alligner, (1900) « Chimie organique », Ediscience International.
- [64] F. Roussac et A.Roussac, (1994)« Analyses chimique, méthodes et technique instrumentales modernes », 2^{ème} édition, Edition Masson.
- [65] Khiati M (1998) Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger.
- [66] Hart T, Shears P (1997). Atlas de poche de microbiologie Médecine-Sciences-Flammarion 4, rue, Casinir-Delarigne, 75006 Paris ISBN: 2-257-10125-1.
- [67] Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M (1995) Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.
- [68] Madigan MT, Martinko JM, Parker J (1997) Brock Biology of Microorganisms. Prentice Hall International Editions
- [69] Sandra Lefaux(2005); Biodégradation de films polymères a usage agricole : Caractérisation physico-chimique des résidus et identification biomoleculaire des bacteries actives thèse de doctorat Université de MAINE .
- [70] Nuciel C; Vildé J. L, (2005); Bactériologie médicale. 2^{eme} éd Masson. Paris, ISBN: 2-294.
- [71] Tony H.; Paul S.; (1997); Atlas de poche de microbiologie. 1^{eme} éd Flammarion médecines sciences-75006, Paris : 117-240.
- [72] Delarras C,(2007); Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Lavoisier, ISBN: 2-7430.476p
- [73] Fauchère J. L. ; Avril J. L, (2002) ; Bactériologie générale et médicale. Elleipses edition Marketing, ISBN : 2-7298-0747-0
- [74] Atlas, R.M; (1988). Priciples of microbiology, Ed, Mosby, 1994.

- [75] Prescott, M., Harley, J. P., Klein, D. (1995); Microbiologie, De Boeck Université (Eds), Bruxelles, 1014 pages.
- [76] LIU, S., LIN, C., XIE, L., CAO, Z. (2003); Intrecellular pH and Metabolic Activity of long-chain dicarboxylic acid-producing yeast Candida tropicalis. Journal of Bioscience and Bioengineering. 96-4, 349-353.
- [77] Scheffers, W. A. (1992); Contaminants in Baker's yeast, proceeding of the Commet course on Microbial Contaminants. Helsinki 1991 and 1992. Ed. By M. Korhola and V. Bacstrom. Research. 7, 19-36.
- [78] Oura, E. (1974); Effect of aeration intensity on the biochemical composition of baker's yeast. I. Factors affecting the type of metabolism. Biotechnology and Bioengineering. 16-9, 1197-1212.
- [79] Grady, C.P.L (1985); Biodegradation: its measurement and microbiological basis Biotechol. Bioeng, 27; 660-674.
- [80] Harder, W. (1981). In Microbial Degradation of xenobiotics and recalcitrant compounds, T. Leisenger, R. Hutter, A.M. Cook et J. Nuesch Eds., Academic Press, New York, pp. 77-96.
- [81] FEMS Symposium, (1980). Microbial degradation of xenobiotics and recalcitrant compounds: FEMS Symposium no.12 Leisinger, T.ed., London: Academic Press for the Swiss Academy of Sciences and the Swiss Sociaty of Microbiology on behalf of the Federation of European Microbiological Societies, 415p.
- [82] Alexander, M. (1973); Nonbiodegradable and other recalcitrant molecules.Biotechnol. Bioeng., 15, 611-615.
- [83] Dalton, H. et Stirling, D.I. (1982); Co-metabolism. Phil. Trans. Roy. Soc. Lond. B.,297: 481-496.
- [84] Gourdon,R ;(2001). Traitement Biologique des déchets ; Technique de l'Ingénieur, traité Environnement G2,16p.
- [85] Dales, R. & Raizenne, M; (2004); Residential exposure to volatile organic compounds and asthma. J Asthma. n°3, pp 259-70.
- [86] Gourdon,R;Bayard,R;Valla,G ;(1996). Biodégradation microbienne des déchets :définition,principes et méthodes d'évaluation. Déchets,Sciences et Techniques no 1,1 er trimestre 1996,p. 13 à 21.
- [87] Gendebien, A. et al; (1992). Ladfill Gas: from Environment to Energy. Sate of the Art in the European Community Context. In Proceedings of Sardinia 91, The Third International Ladnfill Symposium, 1991, Cargliari, Sardinia, Italy: Vol. 1, p. 69-75.

- [88] Graindorge,P. Contribution à l'étude du traitement des déchets urbains par fermentation métanique : a) cinétiques de la fermentation et application au contrôle d'un réacteur ouvert ; b) modélisation de l'étape acétaste du processus biologique. Thèse Doct. Montpelier II , Univ. des Sciences et Techniques du Languedoc.156p.
- [89] Bouziane Mokhtar (2009); biodegradation du methanol en reacteur Batch et etude de l'infuence des parametres Physico- chimique sur la cinetique; mémoire de magister en chimie physique et analytique; universite Mentouri constantine.
- [90] Mohammedi Z., (2006); Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse magistère, Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen, 155p.
- [91] Duraffourd C., Dhervicourt L. et Laparaz J.C., (1990); Examen de laboratoire galémique, Eléments thérapeutiques synérgiques, T.1.2éme édition, Masson, Paris, p.10.
- [92] Parshetti GK, Telke AA, Kalyani DC, Govindwar SP (2010); Decolorization and detoxification of sulfonatedazo dye methyl orange by Kocuria rosea MTCC 1532. J Hazard Mater 176(1–3):503–509
- [93] S. K. Garg, M. Tripathi, S. K. Singh, J. K. Tiwari, (2012); "Biodecolorization of textile dye effluent by Pseudomonas putida SKG-1 (MTCC 10510) under the conditions optimized for monoazo dye orange II color removal in simulated minimal salt medium", International Biodeterioration & Biodegradation, Vol. 74, pp. 24-35.
- [94] Neha D. Parmar and Sanjeev R. Shukla (2017); Biodegradation of anthraquinone based dye using an isolated strain Staphylococcus hominis subsp. hominis DSM 20328, J.Environmental progress et sustainable energy ,Vol. 37(N°1): 203-214
- [95] Ali H, Muhammad SK (2008); Biodecolorization of acid violet 19 by Alternaria solani. African J Biotechnol 7: 831-833.

Résumé : La présente étude est axée sur la valorisation de la méthode biologique pour l'élimination des colorants des eaux usées. Le travail est divisé en deux parties, dans la première partie nous avons étudié la biodégradation de trois colorants à savoir le Bleu de méthylène, le Rouge Congo et le méthyle Orange, par deux souches bactériennes (Staphylococcus aureus et Escherichia coli). Les résultats ont montré qu'une décoloration maximale est obtenue avec la souche Ecoli après 7 jours d'incubation à une concentration initiale en colorant de 10 mg.l⁻¹. L'activité de décoloration de ces bactéries sur ces colorants a été testé en utilisant différents paramètres tels que le pH, la salinité et la concentration initiale en colorant. La deuxième partie est consacrée à examiner le potentiel de la suspension des boues activées à dégrader ces colorants, ces teste révèle une forte capacité de ces microorganismes à dégrader ces composées.

Mots clés: Bactéries, biodegradation, microorganisme, boue activées, colorants.

Abstract : The present study focuses on the valorization of the biological method for the elimination of dyes from wastewater. The work is divided into two parts, in the first part we studied the biodegradation of three dyes namely methylene blue, Congo red and methyl orange, by two bacterial strains (Staphylococcus aureus and Escherichia coli). The results showed that maximum discoloration is obtained with the Ecoli strain after 7 days of incubation at an initial dye concentration of 10 mg.l⁻¹. The bleaching activity of these bacteria on these dyes was tested using different parameters such as pH, salinity and initial dye concentration. The second part, devoted to examining the potential of activated sludge suspension to degrade these dyes, these tests reveal a strong capacity of these microorganisms to degrade these compounds.

Key words: Bacteria, biodegradation, microorganism, activated sludge, dyes.

منخص: تركز هذه الدراسة على تقييم الطريقة البيولوجية لإزالة الأصباغ من مياه الصرف الصحي ينقسم العمل إلى قسمين ، في الجزء الأول درسنا التحلل البيولوجي لأصباغ ثلاثة هي الميثيلين الأزرق ، الأحمر الكونغو والبرتقال الميثيل بسلالتين بكتيرية (Staphylococcus aureus و Escherichia coli و Escherichia coli). أظهرت النتائج أنه تم الحصول على تلون أقصى مع سلالة الحنائة عند تركيز صبغة مبدئي قدره 10 مليجرام/لتر.. تم اختبار نشاط التحلل لهذه البكتيريا على هذه الأصباغ باستخدام معلمات مختلفة مثل الرقم عامل للارتباط. الهيدروجيني ، والملوحة وتركيز الصبغة الأولي. الجزء الثاني مخصص لدراسة إمكانية تعليق الحمأة المنشطة لتخفيض هذه الأصباغ ، تكشف هذه الاختبارات عن قدرة قوية لهذه الكائنات الدقيقة على تحطيم هذه المركبات.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا ، التحلل البيولوجي ، الكائنات الحية الدقيقة ، الحمأة المنشطة ، الأصباغ.