

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire
Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences
de la Nature et de la vie
Option : Ecosystèmes Aquatiques

Thème :

Isolement et identification des microorganismes à partir des
boues activées (Station d'épuration de Chenoua de la wilaya de
Tipaza)

Année universitaire : 2018/2019

Présenté par :

M^{elle} OUAKKAL Kheloud / M^{elle} TAMRABET Zineb

Date de soutenance :

10/07/2019

Soutenu devant le jury composé de :

Présidente	Mme KHETTAR S.	MAA à USDB
Examinatrice	Mme BELMESKINE H.	MCA à USDB
Promotrice	Mme MOHAMED MAHMOUD F.	MCB à USDB
Co-promoteur	Mr MEDJIAH	Chef d'exploitation de la STEP

Remerciement

En préambule à ce projet, nous souhaitons adresser tous nos remerciements au bon Dieu "ALLAH" qui nous a donné la santé, l'a volonté et le courage sans lesquels ce travail n'aurait pas été réalisé.

On souhaite, tout d'abord, remercier notre promotrice Madame MOHAMED MAHMOUD Fadhila, maitre de conférence classe B à université BLIDA 1, d'avoir accompli parfaitement leur rôle et pour ces orientations et sa patience, ainsi que ses suggestions à améliorer la qualité de ce mémoire.

On voudra remercier tous les membres du jury qui vont juger ce modeste travail et nous ont faits profiter de leurs connaissances et remarques constructives: Madame KHETTAR, maitre assistant classe A à université BLIDA 1, qui nous a fait l'honneur de présider le jury, Madame BELMESKINE, maitre de conférence classe A à université BLIDA 1, qui a spontanément eu la volonté et l'honneur d'examiner ce travail et l'intérêt qu'elle a porté pour nous faire profiter de leurs expériences. Leurs critiques et commentaires seront bénéfiques pour enrichir nos connaissances dans ce domaine.

Nous adressons également nos profonds remerciements à notre co-promoteur Mr MEDJIAH responsable de la station d'épuration des eaux usées de la ville de Tipaza pour vouloir co-diriger nos travaux.

Nous tenons à remercier Mme Hania ingénieur de laboratoire PFE de université BLIDA 1 Pour nous aider à compléter nos recherches en fournissant tous les matériels nécessaire.

Enfin, on tient à remercier de manière sincère et spéciale, toutes les personnes qui sont tout simplement intéressées à ce travail. Qu'elles trouvent en ces mots, l'expression de nos profondes gratitude même si leurs noms ne figurent pas dans cette brève série de reconnaissances.

Merci...



Dédicace

En premier lieu, je remercie ALLAH, le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la santé pour terminer ce modeste travail.

Je dédie ce travail

A Mes chers parents

Ma mère « Hadda », qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père « Slimane », qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit, Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A Mes frères « Miloude, Lhawas, Aymen, my angel Simo » et mes sœurs « Fadila, Fatiha, Ratiba » pour ces encouragements et ses prières pour moi tout le long de mes années d'étude. Et toute ma famille qui m'a toujours encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

A Mes amis « Mon binôme Zineb, Khadra, Hasna, Djamila, Soraya... ».

Merci pour tous ces agréables moments passés ensemble.

A Tous ceux et celles que j'ai rencontré et qui m'ont aidé durant 5 ans des études universitaires.

kheloud

Je tien à dédier ce modeste travail :



Dédicace

Avant tout, je remercie ALLAH tout puissant, de m'avoir accordé la force, le courage et les moyens pour la réalisation de ce travail.

Je dédie ce travail

A mes très chers parents

Ma mère « Sifia » et mon père « Ali » Aucune dédicace aussi parfaite et douce soit-elle, ne saurait exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte. Ce travail représente le fruit de votre soutien, vos sacrifices, et vos encouragements. Jamais il n'aurait vu le jour sans les conseils que vous avez consentis pour mon éducation. Que Dieu vous protège et vous accorde une longue vie pleine de santé et de bonheur.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, à tous mes sœurs Rekia, Manel, Amira, Meriem, Amina et mon frère Mohamed Ali, et à toutes ma famille, je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude, mon binôme Kheloud, Zehor, Rima, Hasna, Djamila.

Zineb

Résumé

Cette étude est basée sur la caractérisation microbiologique des boues activées à travers l'isolement et l'identification de bactéries de groupe de *Pseudomonas* spp. fluorescents et de quelques isolats fongiques. Le suivi des paramètres physico-chimiques des eaux usées brutes et traitées et les analyses physiques des boues activées ont été également réalisés pour vérifier l'efficacité du traitement d'épuration. Les résultats des analyses physicochimiques (DCO, DBO5, PT, PO_4^{3-} , NT, NO_3^- , NO_2^-) de deux échantillons d'eaux brutes et traitées et les MES de boues activées ont montré des valeurs respectant les normes de rejet à la sortie de la STEP de Chenoua. Soixante-trois bactéries ont été isolées à partir des boues activées dont 41 souches identifiées selon la clé de **Bossis (1995)** représentent les caractéristiques typiques de *Pseudomonas* spp. fluorescents. Ces souches sont réparties en deux groupes physiologiques distincts et sont affiliées aux espèces de : *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas aurefaciens*, *Pseudomonas putida* ainsi que le groupe des souches intermédiaires entre *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas fluorescens*. L'observation microscopique couplée à l'identification par les clés de détermination de **Watanabe (1994)** et **Elis et al. (2007)** des 14 isolats fongiques ont montré que les souches fongiques appartiennent aux trois genres différents: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, regroupés dans deux classes d'Ascomycète et Deutéromycète, et d'autres souches qui ne sont pas sporulées sont désignées comme mycélium stérile. L'essai d'antagonisme *in vitro* a montré que les souches bactériennes de *Pseudomonas* spp. fluorescents présentent des potentialités d'antagonisme considérables vis-à-vis des champignons *Aspergillus* sp, *Trichoderma* sp, *Penicillium* sp, sur les milieux King B et PDA (Potao Dextrose Agar). D'après ces résultats, on peut conclure que le traitement biologique par les boues activées présente une efficacité très importante ce qui signifie le bon fonctionnement de la station.

Mots clés : Station d'épuration, eaux usées, boues activées, microorganismes, champignons, *Pseudomonas* spp. fluorescents.

Abstract

This study is based on the microbiological characterization of activated sludge through the isolation and identification of *Pseudomonas* spp. fluorescents and some fungal isolates. The monitoring of the physicochemical parameters of raw and treated wastewater and the physical analysis of activated sludge were also carried out to check the effectiveness of the treatment. The Results of physico-chemical analyzes (DCO, DBO5, PT, PO_4^{3-} , NT, NO_3^- , NO_2^-) two samples of raw and treated wastewater and suspended matter MES of activated sludge have shown values meet the standards of rejection at the exit of the Chenoua WWTP. Sixty three bacteria were isolated from two activated sludge samples, of which 25 isolates were from the first sample and 38 from the second sample. After the identification of these strains according to the discriminative key of **Bossis (1995)**, 41 strains represent the typical characteristics of *Pseudomonas* spp. fluorescent. These strains are divided into two distinct physiological groups and are affiliated with : *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas aurefaciens*, *Pseudomonas putida* ainsi que le groupe des souches intermédiaires entre *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas fluorescens*. 14 fungal isolates from two activated sludge samples, of which 9 isolates are from the first sample and 5 isolates from the second sample. Microscopic observation coupled with identification by the determination keys of **Watanabe (1994)** and **Elis et al. (2007)** have shown that fungal strains belong to three different genera: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, grouped into two classes of Ascomycete and Deuteromycete, and other strains that are not sporulated are referred to as sterile mycelium. The *in vitro* antagonism assay showed that the bacterial strains of *Pseudomonas* spp. fluorescents have considerable potential for antagonism against *Aspergillus* sp, *Trichoderma* sp, and *Penicillium* sp fungi on King B and PDA media. From these results, it can be concluded that the biological treatment by activated sludge is very effective, which means that the station functions properly.

Keywords: Wastewater treatment plant, wastewater, activated sludge, microorganisms, fungi, *Pseudomonas* spp. fluorescents.

المخلص

هذه الدراسة تستند إلى التمييز الميكروبيولوجي للحمأة المنشطة من خلال عزل و تحديد البكتريا من مجموعة *Pseudomonas spp. fluorescents* وبعض من العزلات الفطرية . متابعة العوامل الفيزيو- كيميائية للمياه المستعملة الخامة و المعالجة وكذلك التحاليل الفيزيائية للحمآت المنشطة من اجل التحقق من فعالية المعالجة بالتثقية. نتائج هذه التحاليل الفيزيو-كيميائية (DCO, DBO₅, PT, PO₄³⁻, NT, NO₃⁻, NO₂⁻) لعينتين من المياه المستعملة الخام و المعالجة و المواد العالقة MES للحمأة المنشطة أظهرت قيم المياه المعالجة أنها تحترم معايير التفريغ أثناء خروجها من محطة تطهير المياه المستعملة STEP شنوة. ثلاثة و ستون بكتريامعزولة من الحمأة المنشطة منها 41 سلالة معرفة حسب مفتاح **Bossis (1995)** تظهر خصائص نموذجية ل *Pseudomonas spp. fluorescents*. تتقسم هذه السلالات إلى مجموعتين فسيولوجيتين متميزتين وترتبطان بهما : *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas aurefaciens*, *Pseudomonas putida* وكذلك مجموعة من السلالات الوسيطة بين *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas fluorescens*. الملاحظة المجهرية مرفقة بتحديد بواسطة مفتاح تمييزي ل **Watanabe (1994) et Elis et al. (2007)** ل 14 عزلة فطرية أظهرت أن السلالات الفطرية تنتمي إلى ثلاثة أجناس مختلفة: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* مصنفة إلى قسمين *Ascomycète* و *Deutéromycète*. وسلالات أخرى غير ميوغة تعرف بخيوط فطرية عقيمة. اختبار العداء في المخبر أظهر أن السلالات البكتيرية ل *Pseudomonas spp. fluorescents* لديها إمكانات عدائية تجاه الفطريات *Aspergillus sp*, *Trichoderma sp*, *Penicillium sp* في أوساط King B et PDA. من هذه النتائج ، يمكن أن نستنتج أن المعالجة البيولوجية بواسطة الحمأة المنشطة فعالة للغاية ، مما يعني أن المحطة تعمل بشكل صحيح.

الكلمات المفتاحية : محطة تطهير، المياه الحماة المنشطة، كائنات مجهرية، فطريات، *Pseudomonas spp. fluorescents*

Liste des tableaux

Tableau I: L'effet des virus des eaux usées.....	8
Tableau II : Les bactéries pathogènes dans les eaux usées.....	9
Tableau III : Les parasites pathogènes dans les eaux usées.....	10
Tableau IV : Populations des boues activées.....	18
Tableau V : Sélection des volumes des échantillons.....	27
Tableau VI: Propriétés physicochimiques des eaux usées prélevées à l'entrée et à la sortie.....	40
Tableau VII : Les résultats d'analyses des boues.....	44
Tableau VIII : Répartition des souches <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents dans des groupes physiologiques selon les tests biochimiques déterminatifs.....	47
Tableau IX : Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés	50
Tableau X Caractéristiques microscopiques des isolats purifiés	51
Tableau XI : Pourcentage d'inhibition de la croissance des champignons sur milieu PDA.....	56
Tableau XII : Pourcentage d'inhibition de la croissance des champignons sur milieu King B.....	57

Listes des figures

Figure 1 : La localisation de site d'implantation de la station (google earth).....	21
Figure 2 : Schéma générale de la S.T.E.P. de Chenoua (Medjiah, 2014).....	23
Figure 3: Clé dichotomique pour l'identification des souches appartenant aux espèces <i>P. fluorescens</i> et <i>P. putida</i> selon Bossis (1995).....	33
Figure 4 : Disposition de l'isolat fongique et des souches bactériennes sur le milieu de culture à l'intérieur du boîte de pétrie.....	39
Figure 5 : Aspect macroscopique de <i>Pseudomonas</i> fluorescent sur gélose King B, isolé à partir de la boue activée.....	45
Figure 6 : Aspect microscopique de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescent (G : X100).....	45
Figure 7 : Aspect des colonies de <i>Pseudomonas</i> spp fluorescents sous UV _(365nm)	46
Figure 8 : Test de l'oxydase.....	47
Figure 9 : Aspect macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus</i> sp. (a): Conidiophore. (b): Conidies. (c): Vésicule.....	52
Figure 10 : Aspect macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus</i> sp. (a): Conidiophore. (b): Conidies. (c): Vésicule	52
Figure 11 : Aspect macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus</i> sp. (a): Conidiophore. (b): Conidies. (c): Vésicule.....	52
Figure 12 : Aspect macroscopique et microscopique d' <i>Aspergillus</i> sp. (a): Conidiophore. (b): Conidies. (c): Vésicule.....	53
Figure 13 : Aspect macroscopique et microscopique de <i>Trichoderma</i> sp. (a): Conidiophore. (b): Conidies. (c) : Phialides.....	53
Figure 14: Aspect macroscopique et microscopique de <i>Trichoderma</i> sp. (a): Conidiophore. (b): Conidies. (c) : Phialides.....	53
Figure 15: Aspect macroscopique et microscopique de <i>Penicillium</i> sp. (a): Conidiophore. (b): Conidies. (c) : Phialides.....	54
Figure 16: Aspect macroscopique et microscopique de mycélium stérile.....	54
Figure 17 : Test d'antagonisme <i>in vitro</i> : confrontation entre <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents et <i>Trichoderma</i> sp.....	58

Liste des abréviations

CE : conductivité électrique.

CET : Centre d'enfouissement Technique.

DBO5 : Demande Biochimique en Oxygène.

DCO : Demande Chimique en Oxygène.

EPS : Substances Polymères Extracellulaires.

ERI: Eau Résiduaire Industriel.

ERU: Eau Résiduaire Urbain.

FAO : Food and Agriculture Organization.

HAP: Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques.

ISO : Organisation Internationale de normalisation.

JORA: Journal Officiel de la République Algérienne.

MES : Matière En Suspension.

MMS: Matières Minérales en Suspension.

MO: Matière Organique.

MOS : Matières Organiques Solubles.

MVS: Matières Volatiles en Suspension.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

ONA : Office National de l'Assainissement.

PHA : Polyhydroxyalcanoate.

SEAAL : Société des eaux et de L'assainissement.

STEP: Station d'épuration.

PDA : Potato Dextrose Agar

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	

Tables des matières

Introduction.....	01
--------------------------	-----------

Chapitre I : Partie bibliographique

I.1 Origine des eaux usées.....	04
I.1.1 Origine domestique.....	04
I.1.2 Origine industrielles.....	04
I.1.3 Origine agricoles.....	04
I.1.4 Origine pluviale.....	04
I.2 Caractéristiques des eaux usées.....	05
I.2.1 Les paramètres physico-chimiques.....	05
I.2.1.1 La température.....	05
I.2.1.2 Le potentiel d'Hydrogène (pH).....	05
I.2.1.3 La turbidité.....	05
I.2.1.4 Les matières en suspension (MES).....	05
I.2.1.5 La conductivité électrique (CE).....	06
I.2.1.6 La demande biochimique en oxygène (DBO5).....	06
I.2.1.7 La demande chimique en oxygène (DCO).....	06
I.3 Composition des eaux usées.....	06
I.3.1 Microorganismes.....	07
I.3.2 Les éléments traces.....	11
I.4 Les procédés de traitements des eaux usées.....	12

I.4.1 Prétraitement.....	12
I.4.2 Le traitement primaire.....	13
I.4.3 Traitement secondaires (ou traitement biologique).....	14
I.4.4 Le traitement tertiaire	15
I.4.5 Traitement et élimination des boues.....	16
I.5 Techniques d'épuration des eaux usées.....	17
I.6 Structure de la boue activée.....	17
I.6.2 Microorganismes responsables de la plupart des processus clés dans les boues activées.....	18
I.7 Présentation de la station d'épuration de chenoua(Tipaza).....	21

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1 Matériel et méthodes.....	22
II.2 Les analyses physico-chimiques des eaux usées (brutes et traitées).....	24
II.2.1 Détermination électrique de pH avec électrode combinée à une sonde de température.....	24
II.2.2 Détermination de la conductivité électrique.....	25
II.2.3 Mesure de la DCO par méthode Kit Hach LCK 114 /314.....	25
II.2.4 Mesure de la DBO5 par méthode BOD Trak II.....	25
II.2.5 Dosage de l'azote ammoniacal par méthode Kit Hach LCK.....	27
II.2.6 Dosage des nitrites (N-NO ₂) par méthode KIT Hach LCK 341 /342.....	27
II.2.7 Dosage des nitrates (N-NO ₃) par méthode kit Hach LCK339.....	28
II.2.8 Dosage d'azote Total (NT) par méthode Kit Hach LCK338/LCK238.....	28
II.2.9 Dosage de Phosphore Total (PT) par méthode Kit Hach LCK 350/348.....	29
II.2.10 Dosage des ortho- par méthode Kit Hach LCK 350/348.....	29
II.3 Caractérisation physique et microbiologique des boues activées.....	30
II.3.1 Analyse physique des boues activées.....	30
II.3.2 Analyse microbiologique des boues activées.....	30

II.3.2.1 Isolement de la flore fongique et <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents.....	30
II.3.2.2 Purification des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents et des isolats fongiques.....	32
II.3.2.3 Identification des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents et des isolats fongiques.....	32
II.3.2.3.1 Identification de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents.....	32
II.3.2.3.1.1 Caractères morphologiques.....	34
II.3.2.3.1.2 Caractères biochimiques.....	34
II.3.2.3.2 Identification des champignons.....	36
II.3.2.3.2.1 Aspect macroscopique.....	37
II.3.2.3.2.2 Aspect microscopique.....	37
II.3.2.4 Test d'antagonisme.....	38

Chapitre III: Résultats et discussion

III.1 Paramètres physico -chimiques des eaux usées (brutes et traitée).....	40
III.2 Caractérisation physique et microbiologique des boues activées.....	44
III.2.1 Analyse physique des boues activées.....	44
III.2.2 Analyses microbiologiques des boues activées.....	44
III.2.2.1 Identification des <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents et des isolats fongique.....	44
III.2.2.1.1 Identification de <i>Pseudomonas</i> spp. fluorescents.....	44
III.2.2.1.1.1 Caractères morphologiques.....	44
III.2.2.1.1.2 Caractères physiologique et biochimiques.....	46
III.2.2.1.2 Identification macroscopique et microscopique des isolats fongiques.....	49
III.2.2.3 Test d'antagonisme.....	56
Conclusion.....	59

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Des volumes de plus en plus importantes d'eaux usées sont rejetées dans les écosystèmes aquatiques du monde entier. De provenances diverses (foyers, capitaux, usines...). Ces eaux véhiculent des polluants en solution ou en suspension de nature chimique (molécules organiques, métaux lourds, sels nutritifs...) ou microbiologique (bactéries, parasites). Lorsqu'elles ne subissent aucun traitement préalable, ces eaux sont susceptibles de perturber l'équilibre des milieux récepteurs et de causer des problèmes d'ordre hygiénique comme la contamination des eaux de surface et souterraines. Une certaine dépollution est assurée par les sols, les rivières et autres systèmes hydriques. Mais la capacité de cette autoépuration est largement dépassée. Si bien que pour protéger la qualité des eaux naturelles comme toute dégradation excessive, de nombreuses eaux résiduaires sont traitées dans des stations d'épuration urbaines ou rurales. Ce traitement conduit à la réduction des matières oxydables, des matières en suspension et des bactéries (**Koren et Bisesi, 1996**).

Les procédés biologiques d'épuration sont multiples et de conceptions variées. Ils sont basés essentiellement sur la faculté des microorganismes à assimiler les substances polluantes. Le principe est le même que celui des milieux épurateurs naturels. On distingue les procédés intensifs à cultures libres (ex: boues activées), les procédés à cultures fixées (ex: lits bactériens, disques biologiques) et les procédés extensifs (lagunage). Le principal procédé utilise pour l'épuration des effluents pollués est celui dit : « boues activées» (**Edeline, 1998**). Il reproduit l'action d'une rivière avec une dynamique intense des populations microbiennes aérobies maintenues en suspension. L'effluent brut subit tout d'abord un prétraitement et une décantation primaire. L'effluent prétraité séjourne ensuite quelques heures (jusqu'à 24 heures pour un effluent urbain) dans un bassin d'aération on se produit le traitement secondaire (biologique). Dans ce compartiment, un brassage et une oxygénation, continus ou intermittents, sont indispensables pour l'activité des microorganismes épuratoires. En dernier lieu, le contenu de l'aérateur passe dans un autre bassin pour une décantation secondaire qui a pour but de séparer l'eau épurée et les boues produites. Dans certains cas, une étape supplémentaire est nécessaire, comme la désinfection, pour un rejet de haute qualité.

Plusieurs groupes d'organismes procaryotes et eucaryotes trouvent dans les eaux usées des stations d'épuration les conditions favorables pour se développer et proliférer. Ce sont les épurateurs des effluents pollués. Leur participation à la clarification du milieu est soit directe, soit indirecte. Dans tous les systèmes épuratoires, les bactéries représentent la plus grande

proportion de biomasse microbienne et jouent le rôle capital de l'épuration. Dans un réacteur à boues activées, leur densité atteint 10^9 cellules ml (**Montuelle, 1988**). Elles s'associent avec les molécules dissoutes ou colloïdales et avec les particules du milieu pour former des éléments insolubles ou floc, eux-mêmes composants des boues. Les genres dominants sont des Gram négatifs (*Pseudomonas, Flavobacterium, Achromobacter*). Le second grand groupe de microorganismes des stations d'épuration est celui des Protistes. Ce sont essentiellement des Protozoaires ciliés. Ils assurent la clarification de l'effluent par prédation des bactéries. Cette fonction a été montrée dans le cas des boues activées. Les Protozoaires ciliés sont des indicateurs de la qualité de l'effluent et du bon fonctionnement d'une installation (**Salvado et al., 1995**).

C'est dans ce contexte que notre objectif a été réalisé à travers l'isolement et l'identification des microorganismes à partir de boues activée. Afin de déterminer la relation trophique entre la population bactérienne et fongique un test préliminaire de confrontation a été réalisé.

Le présent document comporte :

Chapitre I : Synthèse bibliographique sur les eaux usées, leurs origines, leurs caractéristiques et les différentes méthodes d'épurations, avec une généralité sur la communauté microbienne de boue activée.

Chapitre II : Matériel et méthodes employés pour la réalisation de cette étude.

Chapitre III : Des résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

Synthèse bibliographique

Généralité

Les eaux usées sont des milieux extrêmement complexes, altérées par les activités anthropiques à la suite d'un usage domestique, industriel, artisanal, agricole ou autre. Elles sont considérées comme polluées et doivent être donc traitées avant toute réutilisation ou injection dans les milieux naturels récepteurs (**Selghi, 2001**). C'est pourquoi, dans un souci de respect de ces différents milieux naturels récepteurs, des traitements d'abattement ou d'élimination de ces polluants sont effectués sur tous les effluents urbains ou industriels. Ces traitements peuvent être réalisés de manière collective dans une station d'épuration ou de manière individuelle également par des procédés intensifs ou extensifs (**Paulsrud et Haraldsen, 1993**).

La dépollution des eaux usées urbaines nécessite une succession d'étapes faisant appel à des traitements physiques, physico-chimiques et biologiques. En dehors des plus gros déchets présents dans les eaux usées, l'épuration doit permettre, au minimum, d'éliminer la majeure partie de la pollution carbonée. Le traitement des eaux usées est une alternative susceptible de résoudre les différents problèmes de pollution des milieux aquatiques récepteurs. Il s'agit essentiellement de réaliser l'élimination de composés organiques biodégradables. Certains procédés permettent la coélimination de l'azote et même du phosphore, une grande majorité de ces polluants est transférée de la phase liquide vers une phase concentrée boueuse (**Selghi, 2001**).

L'utilisation des eaux engendre un nouveau produit appelé effluent ou eau usée. Les problèmes liés aux eaux usées sont aussi anciens que ces eaux elles même et ils s'aggravent suivant la croissance démographique, l'amélioration de la qualité de vie des populations et le développement des activités industrielles. Les eaux usées se divisent en deux grandes catégories : les eaux résiduaires urbaines (ERU) et les eaux résiduaires industrielles (ERI). Les eaux résiduaires urbaines (ERU) regroupent les eaux ménagères, les eaux de vannes et les eaux de ruissellement. La composition et les caractéristiques d'une eau résiduaire urbaine sont peu variables par rapport aux eaux usées industrielles (**Salghi, 2010**).

Les eaux résiduaires urbaines (ERU), ou eaux usées, sont des eaux chargées de polluants, solubles ou non, provenant essentiellement de l'activité humaine. Une eau usée est généralement un mélange de matières polluantes répondant à ces catégories, dispersées ou dissoutes dans l'eau qui a servi aux besoins domestiques ou industriels (**Grosclaude, 1999**).

I.1 Origine des eaux usées

D'après **Rodier et al. (2009)**, On peut classer comme eaux usées, les eaux d'origine urbaines constituées par des eaux ménagères (lavage corporel et du linge, lavage des locaux, eaux de cuisine) et les eaux de vannes chargées de fèces et d'urines, toute cette masse d'effluents est plus ou moins diluée par les eaux de lavage de la voirie et les eaux pluviales et peuvent s'y ajouter suivant les cas les eaux d'origine industrielle et agricole.

I.1.1 Origine domestique

Les eaux usées d'origine domestique sont issues de l'utilisation de l'eau (potable dans la majorité des cas) par les particuliers pour satisfaire tous les usages ménagers. On distingue généralement deux « types » d'eaux usées domestiques qui arrivent toutes dans le réseau d'assainissement les eaux vannes, qui correspondent aux eaux de toilettes et les eaux grises qui correspondent à tous les autres usages : lave-linge, lave-vaisselle, douche/bain(**Baumontet al., 2004**).

I.1.2 Origine industrielle

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 peuvent également contenir des produits toxiques, des solvants, des métaux lourds, des micropolluants organiques ou des hydrocarbures (**El rhazi et al., 2007**).

I.1.3 Origine agricole

Les eaux d'origine agricoles sont constituées essentiellement des eaux de drainage des champs agricoles et des rejets de lavage des fermes d'élevage. Il s'agit d'un mélange de composés relativement biodégradable. Néanmoins, ces eaux sont parfois caractérisées par de fortes concentrations de pesticides et d'engrais artificiels(**Grosclaude, 1999**).

I.1.4 Origine pluviale

Ce sont des eaux de ruissellement qui se forment après une précipitation. Elles peuvent être particulièrement polluées surtout en début de pluie par deux mécanismes : Le lessivage des sols et des surfaces imperméabilisées. Les déchets solides ou liquides déposés par temps sur ces surfaces sont entraînés dans le réseau d'assainissement par les premières précipitations qui se produisent(**Rejsek, 2002**).

I.2 Caractéristiques des eaux usées

I.2.1 Les paramètres physico-chimiques

I.2.1.1 La température

La température est un facteur écologique important des milieux aqueux. Son élévation peut perturber fortement la vie aquatique (pollution thermique). Elle joue un rôle important dans la nitrification et la dénitrification biologique. La nitrification est optimale pour des températures variant de 28 à 32°C par contre, elle est fortement diminuée pour des températures de 12 à 15°C et elle s'arrête pour des températures inférieures à 5°C (**Rodier et al., 2005**).

I.2.1.2 Le potentiel d'Hydrogène (pH)

Les organismes sont très sensibles aux variations du pH, et un développement correct de la faune et de la flore aquatique n'est possible que si sa valeur est comprise entre 6 et 9. L'influence du pH se fait également ressentir par le rôle qu'il exerce sur les autres éléments comme les ions des métaux dont il peut diminuer ou augmenter leur mobilité en solution biodisponible et donc leur toxicité. Le pH joue un rôle important dans l'épuration d'un effluent et le développement bactérien. La nitrification optimale ne se fait qu'à des valeurs de pH comprises entre 7,5 et 9(**Rodier, 2005**).

I.2.1.3 La turbidité

La turbidité représente la mesure du niveau d'absorption ou de dispersion de la lumière par la matière en suspension contenue dans une eau usée (**Peavy et al., 1985**). Elle ne constitue donc pas une mesure quantitative exacte de la matière en suspension particulièrement à cause de sa méthode de détermination. Elle permet d'observer l'efficacité du traitement appliqué (**khaldi, 2017**).

I.2.1.4 Les matières en suspension (MES)

Elles représentent, la fraction constituée par l'ensemble des particules, organiques (MVS) ou minérales (MMS), non dissoutes de la pollution. Elles constituent un paramètre important qui marque bien le degré de pollution d'un effluent urbain ou même industriel. L'abondance des matières minérales en suspension dans l'eau augmente la turbidité, réduit la

luminosité et par ce fait abaisse la productivité d'un cours d'eau, entraînant ainsi une chute en oxygène dissous et freinant les phénomènes photosynthétiques qui contribuent à la réaération de l'eau. Ce phénomène peut être accéléré par la présence d'une forte proportion de matières organiques consommatrices d'oxygène (**Duguet et al., 2006**).

I.2.1.5 La conductivité électrique (CE)

La conductivité est la propriété que possède une eau à favoriser le passage d'un courant électrique. Elle fournit une indication précise sur la teneur en sels dissous (salinité de l'eau). La conductivité s'exprime en micro Siemens par centimètre et elle est l'inverse de la résistivité qui s'exprime en ohm par centimètre. La mesure de la conductivité permet d'évaluer la minéralisation globale de l'eau (**Rejsek, 2002**).

I.2.1.6 La demande biochimique en oxygène (DBO5)

C'est le test le plus populaire utilisé pour la détection de la pollution organique des eaux usées et des eaux potable. La DBO permet de mesurer l'oxygène dissous utilisé par les micro-organismes lors de la dégradation de la matière organique (**Metcalfet Eddy, 1980**).

La DBO détermine la force des eaux usées, des effluents et d'autres eaux polluées et fournit des données sur la charge de pollution dans toutes les eaux naturelles. Il est le plus souvent exprimé en milligrammes d'oxygène consommé par litre d'échantillon pendant 5 jours d'incubation à 20°C et est souvent utilisé comme un substitut robuste du degré de pollution organique de l'eau. La DBO peut être utilisée comme indicateur de l'efficacité des stations d'épuration (**khaldi,2017**).

I.2.1.7 La demande chimique en oxygène (DCO)

La Demande Chimique en Oxygène (DCO) est la mesure de la quantité d'oxygène nécessaire pour la dégradation chimique de toute la matière organique biodégradable ou non contenue dans les eaux à l'aide du bichromate de potassium à 150°C. Elle est exprimée en mg O₂/l. La valeur du rapport DCO/DBO indique le coefficient de biodégradabilité d'un effluent, il permet aussi de définir son origine (**SusckaetFerreira, 1986**).

I.3 Composition des eaux usées

La composition des eaux usées est extrêmement variable en fonction de leur origine (industrielle, domestique, etc...). Elles peuvent contenir de nombreuses substances, sous

forme solide ou dissoute, ainsi que de nombreux micro-organismes. En fonction de leurs caractéristiques physiques, chimiques, biologiques et du danger sanitaire qu'elles représentent, ces substances peuvent être classées en quatre groupes : les micro-organismes, les matières en suspension, les éléments traces minéraux ou organiques, et les substances nutritives (**Belaid, 2010**).

I.3.1 Microorganismes

Les eaux usées contiennent tous les microorganismes excrétés avec les matières fécales. Cette flore entérique normale est accompagnée d'organismes pathogènes. Ces microorganismes sont : les virus les bactéries, les champignons, les protozoaires et les helminthes (**Belaid, 2010**).

I.3.1.1 Les virus

Les virus sont des parasites intracellulaires obligatoires qui ne peuvent se multiplier que dans une cellule hôte. On estime leur concentration dans les eaux usées urbaines comprise entre 10^3 et 10^4 particules par litre. Leur isolement et leur dénombrement dans les eaux usées restent difficiles, ce qui conduit vraisemblablement à une sous-estimation de leur nombre réel. Les virus entériques sont ceux qui se multiplient dans le trajet intestinal. Parmi les virus entériques humains les plus nombreux il faut citer les entérovirus, les rotavirus, les retrovirus, les adénovirus et le virus de l'Hépatite A (**Tableau I.1**) (**Belaid, 2010**).

I.3.1.2 Les bactéries

Les bactéries sont les microorganismes les plus communément rencontrés dans les eaux usées. Les eaux usées urbaines contiennent environ 10^6 à 10^7 bactéries/100 ml dont la plupart sont *Proteus* et Entérobactéries, 10^3 à 10^4 Streptocoques et 10^2 à 10^3 *Clostridium*. La concentration en bactéries pathogènes est de l'ordre de 10^4 UFC/l (**Tableau I.2**) (**Belaid, 2010**).

Tableau I: L'effet des virus des eaux usées (Baumont et al., 2009).

Agent pathogène	Symptômes, maladie	Nombre pour un litre d'eau usée	Voies de contamination Principale
Virus de l'hépatite A	Hépatite A		Ingestion
Virus de l'hépatite E			
Rotavirus	Vomissement, diarrhée	400 à 85000	Ingestion
Virus de Norwalk	Vomissement, diarrhée		Ingestion
Adénovirus	Maladie respiratoire Conjonctivite, Vomissement, diarrhée.		Ingestion
Astrovirus	Vomissement, diarrhée		Ingestion
Calicivirus	Vomissement, diarrhée		Ingestion
Coronavirus	Vomissement, diarrhée		Ingestion / Inhalation
Réovirus	Affection respiratoire Bénigne et diarrhée.		Ingestion
Entérovirus			
Poliovirus	Paralysie, méningite, fièvre.	182 à 492000	Ingestion
Coxsackie A	Méningite, fièvre, Pharyngite, maladie respiratoire		Ingestion
Coxsackie B	Myocardite, anomalie congénitale du cœur, éruption cutanée, fièvre, maladie respiratoire, méningite		Ingestion
Echovirus	Méningite, rash, encéphalite, maladie respiratoire, diarrhée, fièvre.		Ingestion

Tableau II: Les bactéries pathogènes des eaux usées (**Baumont et al., 2009**)

Agent pathogène	Symptômes, maladie	Nombre pour un litre d'eau usée	Voie de contaminations principales
<i>Salmonella</i>	Typhoïde, paratyphoïde, salmonellose	23 à 80000	Ingestion
<i>Shigella</i>	Dysenterie bacillaire	10 à 10000	Ingestion
<i>E. coli</i>	Gastro-entérite		Ingestion
<i>Yersinia</i>	Gastro-entérite		Ingestion
<i>Campylobacter</i>	Gastro-entérite	37000	Ingestion
<i>Vibrio choléra</i>	Choléra	100 à 100000	Ingestion
<i>Leptospira</i>	Leptospirose		Cutanée/inhalation/ingestion
<i>Legionella</i>	Légionellose		Inhalation
<i>Mycobacterium</i>	Tuberculose		Inhalation

I.3.1.3 Les champignons

Les champignons constituent un groupe d'organismes extrêmement vaste (de l'ordre d'1.5 millions d'espèces dont 69000 identifiées) et très diversifié. On les rencontre dans de multiples habitats terrestres ou aquatiques. La majorité de ces microorganismes sont saprophytes, d'autres au contraire sont parasites de l'homme, des animaux et des plantes. Dotés de propriétés lytiques importantes, qui en font des agents de dégradation dangereux mais parfois des alliés utiles (production d'enzymes), les champignons jouent un rôle important dans l'équilibre biologique (**Belaid, 2010**).

I.3.1.4 Les protozoaires

Au cours de leur cycle vital, les protozoaires passent par une forme de résistance, les kystes, qui peuvent être véhiculés par les eaux résiduaires. Ces parasites sont très persistants. Ainsi, selon les conditions du milieu, ces organismes peuvent survivre plusieurs semaines voire même plusieurs années (**Tableau I.3**)(**Campos, 2008**).

Plusieurs protozoaires pathogènes ont été identifiés dans les eaux usées). Parmi les plus importants du point de vue sanitaire, il faut citer *Entamoeba histolytica*, responsable de la dysenterie amibienne, *Giardia lamblia* et *Cryptosporidium parvum*. En revanche, 10 à 30

kystes, est une dose suffisante pour causer des troubles sanitaires (**Gennaccaro et al., 2003., Campos, 2008**).

I.3.1.5 Les helminthes

Les helminthes sont des parasites intestinaux, fréquemment rencontrés dans les eaux résiduaires. Dans les eaux usées urbaines (**Toze, 2006**). Les helminthes pathogènes rencontrés dans les eaux usées sont : *Ascaris lumbricades*, *Oxyurisvermicularis*, *Trichuristrichuria*, *Taeniasaginata*. L'analyse des risques sanitaires liés aux agents pathogènes susceptibles d'être transportés par les eaux usées est le fondement des recommandations proposées par l'Organisation Mondiale de la Santé en 1989.

Tableau III : Les parasites pathogènes des eaux usées (**Baumont et al., 2009**)

Organisme	Symptômes, maladie	Nombre pour un litre	Voies de contamination principales
Protozoaire			
<i>Entamoebahistolytica</i>	Dysenterie amibienne	4	Ingestion
<i>Giardia lamblia</i>	Diarrhée, malabsorption	125 à 100000	Ingestion
<i>Balantidium coli</i>	Diarrhée bénigne, ulcère du colon	28-52	Ingestion
<i>Cryptosporidium</i>	Diarrhée	0.3 à 122	Ingestion
<i>Toxoplasma gondii</i>	Toxoplasmose : ganglions, faible fièvre		Ingestion/ inhalation
<i>Cyclospora</i>	Diarrhée, légère fièvre, perte de poids		Ingestion
<i>Microsporidium</i>	Diarrhée		Ingestion
Helminthes			
<i>Ascaris</i>	Ascariadiase : diarrhée, troubles nerveux	5 à 111	Ingestion

<i>Ancylostoma</i>	Anémie	6 à 188	Ingestion/cutanée
<i>Necator</i>	Anémie		cutanée
<i>Taenia</i>	Diarrhée, douleurs musculaires		Ingestion de viande mal cuite
<i>Trichuris</i>	Diarrhée, douleur abdominale	10 à 41	Ingestion
<i>Toxocora</i>	Fièvre, douleur abdominale		Ingestion
<i>Strongyloides</i>	Diarrhée, douleur abdominale, nausée		Cutanée

I.3.2 Les éléments traces

Dont les effets sanitaires à long terme sont moins connus, notamment leur implication potentielle dans la survenue de cancers. Les trois voies de contamination que l'on retrouve classiquement sont la contamination par ingestion, par inhalation et par voie cutanée (**Baumont et al., 2009**).

I.3.2.1 Les métaux lourds

Les métaux lourds que l'on trouve dans les eaux usées urbaines sont extrêmement nombreux les plus abondants (de l'ordre de quelques $\mu\text{g/l}$) sont le fer, le zinc, le cuivre (Cu) et le plomb (Pb). Les autres métaux (manganèse, aluminium, chrome, arsenic, sélénium, mercure, cadmium (Cd), molybdène, nickel, etc...) sont présents à l'état de traces. Leur origine est multiple : ils proviennent « des produits consommés au sens large par la population, de la corrosion des matériaux des réseaux de distribution d'eau et d'assainissement, des eaux pluviales dans le cas de réseau unitaire, des activités de service (santé, automobile) et éventuellement de rejets industriels » (**Baumont et al., 2009**).

I.3.2.2 Eléments toxiques organiques

Les eaux usées contiennent des composés chimiques toxiques très persistants et qui ont une grande lipophilicité. Parmi ces composés, on peut citer les hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAP), les alkyl-phénols, chlorophénols, phtalates, les pesticides et les résidus pharmaceutiques actifs (**Belgiorno et al., 2007**).

En effet plusieurs environnements aquatiques ont été pollués par ces composés en plus des autres substances pharmaceutiques dont la principale source est les eaux usées. Il s'est avéré que les stations d'épuration sont des sources potentielles de ces produits toxiques (Belaid, 2010).

I.3.2.3 Substances nutritives

Les nutriments se trouvent en grande quantité dans l'eau usée, et constituent un paramètre de qualité important pour la valorisation de ces eaux en agriculture et en gestion des paysages (Hamoda, 2004). Les éléments les plus fréquents dans les eaux usées sont l'azote, le phosphore et parfois le potassium, le zinc et le soufre. Ces éléments se trouvent en quantités appréciables, mais en proportions très variables que ce soit, dans les eaux usées épurées ou brutes (Belaid, 2010).

I.4 Les procédés de traitements des eaux usées

I.4.1 Prétraitement

D'après l'Office National de l'Assainissement (2011), les dispositifs de prétraitement sont présents dans toutes les stations d'épuration, quels que soient les procédés mis en œuvre en aval. Le prétraitement comporte une succession d'opérations physiques ou mécaniques destinées à séparer les eaux usées des matières volumineuses, en suspension ou flottantes, qu'elles véhiculent. Ces opérations consistent aux :

I.4.1.1 Dégrillage

Il consiste à faire passer les eaux usées à travers d'une grille dont les barreaux, plus au moins espacés, retiennent les éléments les plus grossiers: L'effluent passe pour cela entre les barreaux métalliques dont le nettoyage se fait soit automatiquement, soit manuellement, l'espacement de barreaux varie de 6 à 100 mm et sont placés verticalement ou inclinés de 60 à 80° sur l'horizontale. Le nettoyage de la grille est généralement mécanique, il est réalisé par un râteau solidaire d'un chariot qui se déplace de bas en haut le long d'une crémaillère ou entraîné par deux câbles. Après nettoyage des grilles, les déchets sont évacués avec les ordures ménagères (ONA, 2011).

I.4.1.2 Dessablage

Réalisé par décantation, le dessablage vise à éliminer les sables et les graviers. L'écoulement de l'eau à une vitesse réduite dans un bassin appelé « dessableur » entraîne leur dépôt au fond de l'ouvrage. Ces particules sont ensuite aspirées par une pompe. Les sables récupérés sont essorés, puis lavés avant d'être envoyés en décharge, soit réutilisés, selon la qualité du lavage (ONA, 2011).

I.4.1.3 Dégraissage-Déshuilage

Les opérations dégraissage-déshuilage consistent à séparer de l'effluent brut, les huiles et les graisses par flottation. Ces derniers étant des produits de densité légèrement inférieure à l'eau. L'injection des microbulles d'air permet d'accélérer la flottation des graisses. Souvent ces opérations sont combinées dans un même ouvrage où la réduction de vitesse dépose les sables et laisse flotter les graisses. On enlève ainsi de l'eau les éléments grossiers et les sables de dimension supérieure à 200 microns ainsi que 80 à 90 % des graisses et matières flottantes (ONA, 2011).

I.4.2 Le traitement primaire

Le traitement s'effectue par voie physico-chimique avec pour but d'extraire le maximum de matières en suspension et de matières organiques facilement décantables. Trois voies de traitement sont possibles :

- La décantation (processus physique) : le principe de séparation solide-liquide est la pesanteur, les matières en suspension ou colloïdales tendent à se séparer du liquide par sédimentation
- La flottation (processus physique) : par opposition à la décantation, la flottation est un procédé de séparation solide-liquide ou liquide-liquide qui s'applique à des particules dont la masse volumique réelle ou apparente (flottation assistée) est inférieure à celle du liquide qui les contient
- La décantation associée à l'utilisation d'un coagulant-floculant (voie physico-chimique) : le principe est ici de favoriser l'agrégation des molécules en suspension grâce aux techniques de coagulation et de floculation de façon à augmenter la sédimentation grâce à l'obtention de floccs plus gros.

Durant la phase de traitement primaire, une quantité importante de la pollution totale est éliminée (abattement des Matières En Suspension pouvant atteindre 90 % et de la demande biochimique en oxygène de l'ordre de 35 % (Cardot, 1999).

I.4.3 Traitement secondaires (ou traitement biologique)

Le traitement biologique des eaux usées est le procédé qui permet la dégradation des polluants grâce à l'action de micro-organismes (Rejsek, 2002).

Ils vont permettre ainsi d'éliminer la pollution soluble biodégradable et une partie de MES (Grosclaude, 1999).

Le principe général de ce procédé consiste à accélérer le processus d'oxydation naturelle de la matière organique qui survient dans les milieux récepteurs. Il est principalement mis en œuvre par la technique des boues activées. Cette technique consiste à mettre en contact les eaux usées avec un mélange riche en bactéries par brassage pour dégrader la matière organique en suspension ou dissoute. Il y a une aération importante pour permettre l'activité des bactéries et la dégradation de ces matières, suivies d'une décantation à partir de laquelle on renvoie les boues riches en bactéries vers le bassin d'aération (ONA, 2011).

I.4.3.1 Stratégie de mis en œuvre des micro-organismes

Les micro-organismes dans les traitements des eaux usées les plus actifs, sont les bactéries qui conditionnent en fonction de leur modalité propre de développement, deux stratégies pour la mise en œuvre : la stratégie aérobie et la stratégie anaérobie (Khaldi, 2017).

I.4.3.1.1 Stratégie de mise en œuvre des micro-organismes en aérobie

Dans cette stratégie on cherche à transformer la pollution en biomasse microbienne, c'est-à-dire en matière insoluble facile à récupérer par décantation. L'oxygène qui est apporté dans l'eau à traiter, va être consommé avec les matières polluantes pour la croissance microbienne. Cette réaction d'oxydation biologique conduit à la production de chaleur et de quantité de boue (dites « boues biologiques ») (Khaldi, 2017).

I.4.3.1.2 Stratégie de mise en œuvre des micro-organismes en anaérobiose

Les traitements anaérobies font appel à des bactéries n'utilisant pas de l'oxygène, en particulier, aux bactéries méthanogènes qui conduisent à la formation du méthane à partir de la matière organique et à un degré moindre de CO₂ (Khaldi, 2017).

I.4.4 Le traitement tertiaire

En général, les techniques d'épuration, même les plus sévères, laissent passer dans l'eau épurée des matières organiques difficilement biodégradables et échappent à la meilleure décantation. Ainsi même après un traitement secondaire l'eau véhicule presque toujours des micro-organismes et des micropolluants. La principale méthode utilisée est la désinfection par le chlore, qui doit être appliquée avec des doses très fortes et des temps de contact longs. Mais il convient de signaler suite à cette opération, des toxiques pour la vie aquatique peuvent être formés, il faut donc procéder à une opération de déchloration avant le rejet. A côté de la désinfection par le chlore, d'autres procédés existent également mais qui restent pratiquement inutilisables dans les domaines de l'épuration des eaux usées. Ceci s'explique par leurs coûts qui restent excessivement élevés, mais qui peuvent conduire une eau de qualité. On peut citer par exemple l'échange ionique et l'adsorption sur du charbon actif (**Gomella et Guerree, 1983**).

I.4.4.1 La déphosphatation :

L'élimination du phosphore concerne le traitement de déphosphatation, soit physicochimique soit biologique. La déphosphatation biologique, de développement récent, est basée sur la succession de phases anaérobies et aérobies au cours du traitement biologique mais son rendement est en générale moins bon que celui de la déphosphatation physico-chimique (**Rejsek, 2002**).

La déphosphatation peut aussi être réalisée par précipitation physico-chimique en présence de sels minéraux comme le sulfate d'ammonium ou le chlorure ferrique et en traitement s'effectuer soit simultanément aux réactions biologiques dans le bassin de boues activées, soit final (**Urios, 2005**).

I.4.4.2 La désinfection

I.4.4.2.1 Les traitements chimiques de désinfection

Le chlore : est un oxydant puissant qui réagit à la fois avec des molécules réduites et organiques, et avec les microorganismes (**Baumont et al., 2004**).

L'ozone(O₃) : est un oxydant puissant, la désinfection par l'O₃ est utilisée aux Etats Unis, en Afrique du Sud et au Moyen Orient essentiellement, Il permet l'élimination des

bactéries des virus et des protozoaires. C'est le seul procédé vraiment efficace contre les virus (**Lazarova, 2003**).

I.4.4.2 Les traitements physiques de désinfection :

Les rayons ultraviolets : qui consistent à utiliser des lampes à mercure disposée parallèlement ou perpendiculairement au flux d'eau. Leur rayonnement s'attaque directement aux microorganismes (**Baumont et al., 2004**).

I.4.5 Traitement et élimination des boues

Les boues sont en partie recyclées pour ensemercer les bassins de traitement biologique. L'excédent des boues est extrait et peut subir, selon sa destination finale, un ou plusieurs traitements : épaissement, déshydratation, séchage (**Isabelle et al., 2013**).

I.4.5.1 Epaissement des boues

L'épaissement permet de réduire le volume des boues de façon conséquente, par l'utilisation de procédés simples et rapides. Le plus souvent, un conditionnement préalable avec un polymère est indispensable. Cet épaissement peut se faire par décantation statique, séparation dynamique (grille et table d'égouttage...) ou flottation (boues remontées par de fines bulles d'air et récupérées par raclage) (**Isabelle et al., 2013**).

I.4.5.2 Déshydratation des boues

Les boues sont déshydratées pour réduire leur volume et les préparer à un éventuel séchage. La déshydratation peut se faire par centrifugation, filtre à bande, filtre-pressé, ou presse à vis. Lorsque ces boues sont destinées à l'amendement des sols, elles peuvent être mélangées à de la chaux (**Isabelle et al., 2013**).

I.4.5.3 Séchage des boues

Le séchage des boues peut se faire en serre ou par traitement thermique. Toute intervention sur ces procédés génère des poussières contenant des micro-organismes et des endotoxines à des niveaux particulièrement élevés (**Isabelle et al., 2013**).

I.5 Techniques d'épuration des eaux usées

Il existe plusieurs filières avec différents types de traitement, mais le choix des procédés de traitement doit être adéquat de point de vue climatique, des applications attendues et du

coût d'investissement. On distingue les procédés intensifs dont les boues activées, les disques biologiques, les lits bactériens et les procédés extensifs dont le lagunage et l'infiltration-percolation (**Eddabra, 2011**).

I.5.1 Les techniques intensives (boue activée)

Le procédé à boues activées est basé sur l'intensification des processus d'autoépuration présent dans le milieu naturel. En effet, il permet la dégradation et la minéralisation de la matière organique par les bactéries aérobies dans un espace réduit, grâce à un apport en oxygène assuré par un brassage de la liqueur mixte. Ce procédé est composé de deux bassins principaux. Le premier est un bassin d'aération, dans lequel les agrégats bactériens sont maintenus en suspension dans l'eau grâce à un brassage continu de la liqueur (**Metcalf et Eddy, 2003**).

Les microorganismes s'y développent et consomment la pollution organique des effluents en la transformant en dioxyde de carbone et eau. Le second bassin, appelé décanteur secondaire ou clarificateur, permet ensuite la séparation solide/liquide. Une partie de la boue décantée est recirculée dans le bassin aéré, augmentant ainsi la concentration en biomasse dans le réacteur biologique et amplifiant le taux d'épuration des eaux. La partie des boues en excès est envoyée vers la filière de traitement des boues (**Khaldi, 2017**).

I.6 Structure de la boue activée

La boue activée est constituée de l'ensemble « floc-eau interstitielle » (**Khaldi, 2017**). Les floes de boues activées sont formés par l'adhésion physico-chimique de cellules et de polluants provenant des eaux usées, ainsi que par la formation de colonies de microorganismes. Les bactéries constituent 5 à 20% des matières organiques dans les floes, les autres sont des substances polymères extracellulaires (EPS) (**Raszka et al., 2006**). Le liquide interstitiel représente dans la plupart des stations la qualité des eaux de sortie, c'est donc un indicateur du niveau de traitement. Ainsi, plus la charge massique est élevée, moins le niveau de traitement sera élevé et plus l'eau interstitielle contiendra de bactéries dispersées (**Khaldi, 2017**).

I.6.1 Présentation succincte de la biomasse épuratrice des boues activées

Les boues sont essentiellement composées de bactéries vivantes et mortes, aérobies facultatives de petite taille allant du micromètre au millimètre. A titre d'exemple, le

dénombrement de la population prélevée sur une station de boues activées donne le type de valeurs présentées dans le **Tableau I.4.**

Tableau IV: Populations des boues activées (d'après Canler et al, 1999).

Population par litre de boues	Espèces
De 1 à 5 10 ⁵ / L	Métazoaires (rotifères, nématodes)
10 ⁷ / L	Protozoaires (flagellés, ciliés)
10 ¹² / L	Bactéries (floculées, filamenteuses)

I.6.2 Microorganismes responsables de la plupart des processus clés dans les boues activées

I.6.2.1 Les microorganismes responsables de l'élimination du MOS

L'élimination des matières organiques solubles(MOS) est réalisée par des microorganismes utilisant une partie du carbone contenu dans les eaux usées comme substrat, en la convertissant en nouvelle biomasse et en convertissant le reste en dioxyde de carbone CO₂. Ce dernier est libéré sous forme de gaz et la biomasse est éliminée par sédimentation. *Aspergillus terreus*, *Aspergillus niger*, *Azotobacter* sp, *Chroococcum*sp, *Chrysosporium*sp, *Ferroxidans*, *Geotrichumcandidadum*, *Penicillum*, *Pleurotusostreatus*, *Pseudomonas putida*, *Rhodobactershaeroide*, *Thiobacillus*, sont les microorganismes responsables de la dégradation de la matière organique(Yan et al., 2007).

I.6.2.2 Les microorganismes responsables de l'élimination du phosphore

Le processus d'élimination biologique améliorée des phosphates montre que la libération de phosphate se produit au stade anaérobie, suivie d'un excès d'absorption du phosphate au stade aérobie. Lorsque des eaux usées entrent dans la phase anaérobie, des organismes spécialisés, appelés bactéries accumulatrices de polyphosphate, accumulent des sources de carbone telles que le polymère interne appelé polyhydroxyalcanoate ou PHA (Smolders et al., 1994).*Acinetobacterspp.* ont d'abord été proposés comme bactéries responsables de l'élimination biologique améliorée des phosphates. Les bactéries comme *Pseudomonassp.* *Lampropediasp.* *Moraxellasp.* *Mycobacteriumsp.* *Accumulibactersp.* *Acinetobactersp.**Aeromonashydrophila*, *Escherichia coli*, *Alcaligenesdenitrificans*, *Bacillus*

cereus, *Enterobacteragglomerans*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas mendocina*, *Moraxellaphenylpyrovica*, ont également la capacité d'accumuler du phosphore.

(Yan et al., 2007).

I.6.2.3 Microorganismes responsables de l'élimination de l'azote (nitrification et dénitrification)

L'azote présent dans les eaux usées sera converti en azote gazeux et rejeté dans l'atmosphère par le biais de trois transformations biologiques majeures lors de l'élimination de l'azote. Les trois transformations biologiques sont l'ammonification, la nitrification et la dénitrification. (Strous et al., 2002). *Acinobacteriasp*, *Bacteriodetes*, *Brocadiaanammoxidans*, *Fimicutes*, *Proteobacteriaplanctomycetes*, *Pseudomonassp*, *Nitrospira*, *Nitrosomonas oligotropha*, *Verrucomicrobia*, font partie des microorganismes responsables de l'élimination de l'azote (Yan et al., 2007).

D'après Gamble et al., (1977) les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont des bactéries dénitrifiantes. Capable de s'adapter au manque d'oxygène par l'utilisation des oxydes d'azote comme accepteurs alternatifs d'électrons (Stewart, 1988).

La majorité des études taxonomiques sur les *Pseudomonas* spp. fluorescents a révélé la complexité et la variabilité au niveau des différentes espèces appartenant à ce groupe (Palleroni et Stanier, 1964 ; Jessen, 1965 ; Stanier et al., 1966 ; Palleroni et Doudoroff, 1972 ; Champion et al., 1980 ; Digat et Gardan, 1987). L'hétérogénéité que l'on rencontre chez certaines espèces et leurs biovars laisse la classification des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescentes sujette à beaucoup de divergence (Bossis et al., 2000).

Le genre *Pseudomonas* appartient à la classe des *Proteobacteria*, à la sous classe γ *Proteobacteria* et à la famille des *Pseudomonaceae*. Il regroupe des espèces phytopathogènes fluorescentes (*P. cichorii*, *P. tolasii* et *P. marginalis*) (Young et al., 1992), et non phytopathogènes (*P. fluorescens*, *P. putida*, *P. chlororaphis*, *P. aureofaciens* et *P. aeruginosa*) et des espèces à cytochrome c-oxydase négative phytopathogènes fluorescentes (*P. syringae* et *P. viridiflava*) et non fluorescentes (*P. stutzeri*, *P. mendocina*, *P. alcaligenes* et *P. pseudoalcaligenes*) (Bossis et al., 2000).

Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont des bactéries Gram négatif, à cytochrome c-oxydase positive qui se caractérisent par un rapport de bases azotées (C + G) allant de 58 à 70%. Ces bactéries ont une forme plus au moins arrondie et présente un flagelle polaire. Elles sont de type organotrophe, strictement aérobies et fermentatives. Elles peuvent se développer dans un milieu de base riche en éléments organiques, à pH neutre et à une température comprise entre 4°C et 43°C

I.7 Présentation de la station d'épuration de Chenoua (Tipaza)

La S.T.E.P. de CHENUA est implantée à l'ouest de la ville de Tipaza à proximité de la méditerrané (chemin de wilaya N°109 Tipaza) située à 70Km à l'ouest de la capitale Alger (**Figure1**).

La station d'épuration de Tipaza a été certifiée selon la norme internationale ISO 14001 version 2004 cette distinction demeure la première en son genre à l'échelle nationale et africaine dans le domaine de la gestion et de l'exploitation du système d'assainissement . Elle a été mis en service en 2008 pour assurer l'épuration de la ville de Chenoua, Tipaza, Nador et Sidi Moussa avec une capacité de 11200 m³ /j pour 70000 eq/hab. La collecte des eaux usées vers la S.T.E.P. est assurée par un réseau principal qui développe une longueur de 11150 m dans 8000 gravitaires et 7 stations de relevage (Station de relevage CRF, station de relevage SIDI MOUSSA et station de relevage de port). Le système d'assainissement CHENUA de l'unité de Tipaza a été transféré à SEAAL, le 02/01/2012 (**ONA, 2012**).



Figure 1 : La localisation de site d'implantation de la station (Google Earth).

Matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée au sein du laboratoire de contrôle et rejets de Chenoua willaya de Tipaza et le laboratoire de microbiologie PFE (Projet de Fin Etude) de département de biologie et physiologie cellulaire de la faculté SNV de l'université de Blida 1, durant la période allant du 05/01/2019 au 29/05/2019. L'objectif de ce présent travail est basé sur la caractérisation microbiologique des boues activées à travers l'isolement et l'identification de bactéries de groupe de *Pseudomonas* spp. fluorescents et de quelque isolats fongiques. Le suivi des paramètres physico-chimiques des eaux usées brutes et traitée et les analyses physiques de boue activée ont été également analysés pour vérifier l'efficacité de traitement d'épuration.

II.1 Matériel et méthodes

II.1.1 Matériel

II.1.1.1 Matériel biologiques

Deux prélèvements ont été prélevés pour chaque échantillon d'eau usée brute, traité et de boue activé. Les prélèvements des échantillons sont effectués le 27 Février 2019 et le 05 mai 2019, à raison d'un seul prélèvement pour chaque mois.

II.1.1.2 Matériels non biologiques

Pour effectuer les analyses physico-chimiques et microbiologiques, nous avons utilisé des appareils, la verrerie, des réactifs et des milieux de culture (**annexes**).

II.1.2 Méthodes

II.1.2.1 Prélèvement des échantillons

Le prélèvement d'eau usée est effectué par un préleveur automatique (**figure II.1**) :

- Premier point : Prélèvement d'eau brute (EB) à l'entrée de la S.T.E.P, après le dessableur-deshuileur.
- Deuxième point : Prélèvement d'eau traitée (ET) à la sortie de la S.T.E.P, après la décantation secondaire.
- Le prélèvement de boue activée est effectué manuellement au niveau de bassin biologique.

Les échantillons de boue activée étaient homogène représentatif ont été analysés dans un délai de 24 heures au maximum, afin d'éviter toute modification des concentrations de l'échantillon. Ainsi, ces échantillons ont été conservés à une température de 4°C.

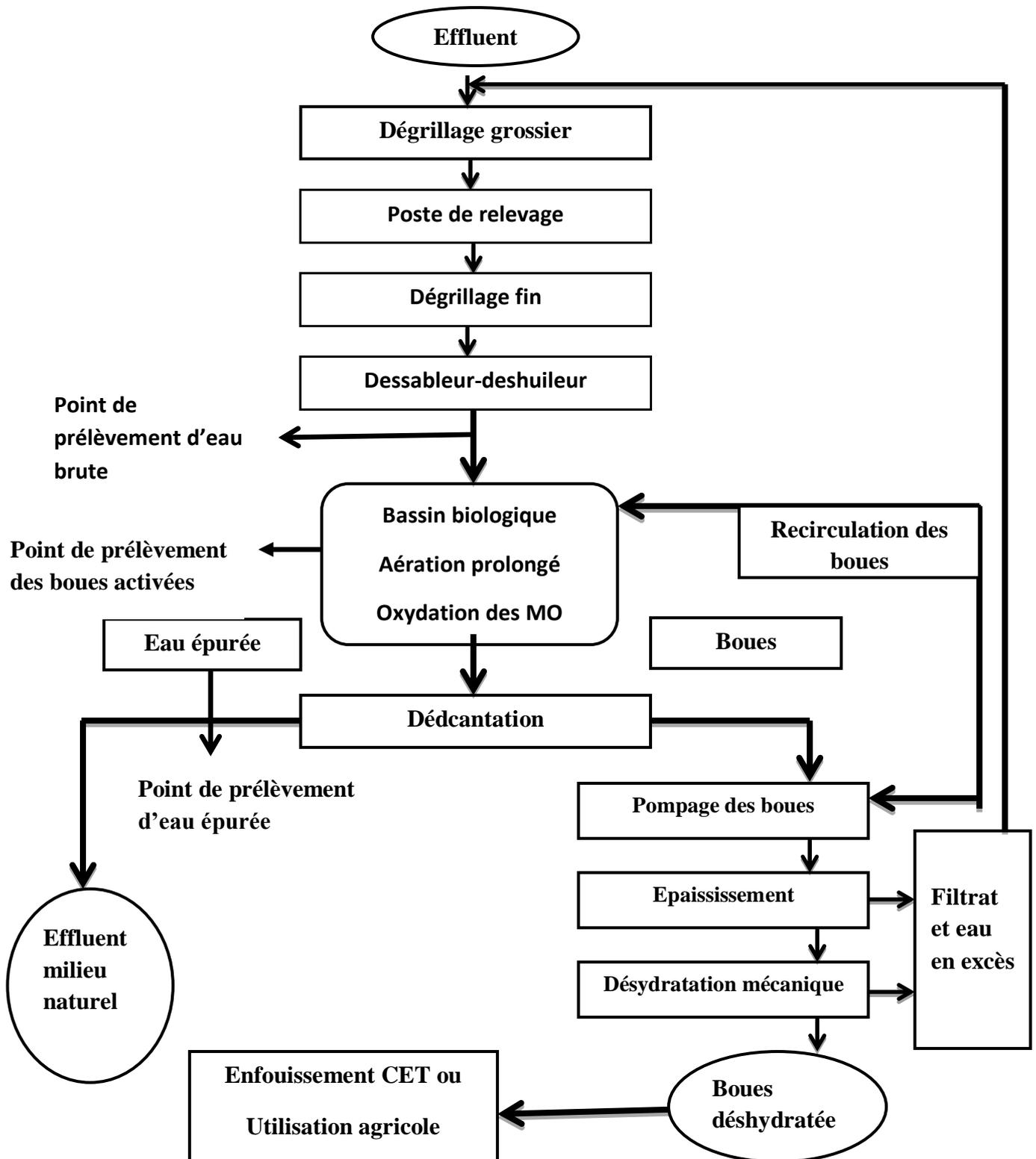


Figure 2 : Schéma générale de la S.T.E.P. de CHENOUA (Medjiah, 2014)

II.2 Les analyses physico-chimiques des eaux usées

Techniques d'analyse des eaux

Cette technique a été réalisé par le suivie des étapes qui sont mentionnée dans les boîtes des kits LCK. Une sécurité maximale des utilisateurs grâce à une analyse en système ferme avec une quantité réduite de réactifs. Un dosage facile et correct des réactifs, sans pipetage ni contact avec les réactifs, grâce au DOSICAP et au DOSICAP ZIP. Les bouchons de cuve sont pré-remplis avec la quantité exacte de réactif lyophilisé. Etiquetage détaillé de chaque cuve, avec notamment une étiquette à code-barres permettant l'identification automatique du test dans le photomètre conception minutieuse de l'emballage Familiarisation rapide grâce à des consignes d'utilisation détaillées et claires sur chaque emballage pour une plus grande clarté, quelques instructions sous forme de pictogrammes figurent également sur le couvercle de l'emballage.

II.2.1 Détermination électrique de pH avec électrode combinée à une sonde de température

Ce protocole opératoire a pour objectif la description de la mesure du pH des eaux par une méthode potentiométrique à l'aide d'une électrode en platine combinée à une sonde de température.

II.2.1.1 Mesure du pH

- Introduire l'électrode du pH-mètre, préalablement rincée avec de l'eau distillée, dans un bécher contenant l'échantillon à analyser.
- Agiter doucement avec un barreau magnétique.
- Appuyer sur la touche (Read/Enter), la valeur du pH et de la température évoluent jusqu'à se stabiliser, un bip sonore indique la stabilité de la valeur, noter cette dernière.
- La valeur du pH est donnée directement par l'appareil ainsi que la température.
- La valeur du pH donnée est celle correspondante à une température de 25°C, elle est donnée à deux chiffres après la virgule.
- A la fin de la mesure, rincer l'électrode avec de l'eau distillée et la placer dans la solution de conservation KCL.

II.2.2 Détermination de la conductivité électrique

Ce protocole opératoire décrit la méthode de mesure de la conductivité en utilisant un conductimètre électrique.

La mesure de ce paramètre consiste à :

- Prendre un échantillon conservé dans de bonnes conditions (température ambiante –hygiène).
- Remplir un bécher avec une quantité d'eau suffisante pour l'immersion de l'électrode de la conductivité.
- Mettre l'électrode dans le bécher, puis appuyer sur la touche READ, la valeur de la conductivité s'affiche sur l'écran de l'appareil avec une unité de micro Siemens par centimètre ($\mu\text{S/cm}$) ou bien milli Siemens par centimètre (mS/cm).

II.2.3 Mesure de la DCO par méthode Kit Hach LCK 114 /314

Ce mode opératoire décrit la méthode de mesure de la demande chimique en oxygène pour les deux gammes : 150 à 1000 mg d' O_2 par litre (haute gamme : LCK 114) et 15 à 150 mg d' O_2 par litre (basse gamme : LCK 314).

La mesure de ce paramètre consiste à :

- Ajouter 2 ml d'échantillon en tube de réactif DCO.
- Agiter et placer le tube fermé dans le thermostat (réacteur) puis chauffer l'échantillon jusqu'à 148 °C pendant 2 heures.
- Laisser refroidir l'échantillon à l'air libre pendant 15 minutes à température ambiante.
- Placer le tube dans le spectrophotomètre DR 2800 et lire la teneur de la DCO en mg/l.

II.2.4 Mesure de la DBO5 par méthode BOD Trak II

Ce protocole a pour objet la mesure de la demande biochimique en oxygène consommé par les bactéries qui oxydent les matières organiques dans un échantillon d'eau.

La mesure de ce paramètre consiste à :

- Chauffer ou refroidir l'échantillon à température de 19 à 21°C.
- Homogénéiser l'échantillon dans un mixeur s'il contient de gros solide en suspension.
- Choisir la taille de l'échantillon correcte pour la plage d'échantillon. Le mesurer dans une éprouvette graduée (**Tableau II.1**).
- Verser le contenu d'un sachet de substance nutritive dans l'éprouvette.
- Transférer l'échantillon préparé de l'éprouvette dans une bouteille BOD Trak II.
- Mettre l'agitateur BOD Trak II dans la bouteille pour le transfert de l'oxygène de l'air à l'échantillon, la fermer avec un couvercle hermétique.
- Mettre deux pastilles d'hydroxyde de potassium dans le couvercle hermétique qui permettent l'absorption du CO₂ produit par les micro-organismes. Cet oxygène est consommé par les bactéries, pendant la période de mesure, pour oxyder les matières organiques. Mettre les bouteilles sur le châssis du BOD Trak II.
- Connecter le tube avec la bouteille échantillon correspondante et serrez le couvercle. Mettre l'instrument dans l'incubateur qui devra être à 20±1°C.
- Appuyer sur le numéro de canal correspondant à la bouteille. Appuyer sur la touche ON, le menu de sélection de la page apparait.
- Utiliser les touches fléchées <et> pour choisir la plage du test. Appuyer et continuer à appuyer sur ON pour démarrer le test, un graphique s'affichera.

Détermination des résultats :

- A la fin de la durée du test (5jours), l'afficheur indique END.
- Pour la sélection de la gamme, on divise la valeur de la DCO (Mesurée au préalable) par le facteur de biodégradabilité de l'échantillon pour estimer la valeur de la DBO5.

Tableau II.1: Sélection des volumes des échantillons

Plage de la DBO5(mg/l)	Volume de l'échantillon en (ml)
0 à 35	420
0 à 70	355
0 à 350	160
0 à 700	95

Au-delà de 700mg/l, procéder par dilution.

II.2.5 Dosage de l'azote ammoniacal par méthode Kit Hach LCK303/LCK 305.

Ce mode opératoire décrit une méthode d'analyse pour la détermination de la concentration de l'Azote Ammoniacale allant de 2-47 mg/l, 1-12mg/l, NH₄-N.

L'évaluation de la quantité d'ammonium consiste à :

- Enlevez délicatement la feuille de protection du DOSICAP ZIP détachable - Dévissez le DOSICAP ZIP.
- Pipeter 0,2 ml de d'échantillon.
- Vissez immédiatement le DOSICAP ZIP dirigeant le cannelage vers le haut.
- Secouer énergiquement.
- Agiter et refroidir l'échantillon à l'air libre pendant 15 minutes.
- Bien nettoyer l'extérieur de la cuve et Placer le dans le spectrophotomètre DR 2800 et lire la teneur de NH₄⁺ en mg/l.

II.2.6 Dosage des nitrites (N-NO₂) par méthode KIT Hach LCK 341 /342

Ce mode opératoire d'écrit une méthode d'analyse pour la détermination de la concentration des nitrites allant de 0,015-0.6 mg/l, 0,6 – 6,0 mg/l NO₂-N.

L'évaluation de la quantité de nitrite consiste à :

- Enlevez délicatement la feuille de protection du DOZICAP ZIP détachable.
- Dévissez le DOSICAP ZIP.
- Pipeter 2 ml d'échantillon.
- Vissez immédiatement le DOSICAP ZIP dirigeant le cannelage vers le haut.
- Secouer énergiquement jusqu'à dissolution du lyophilisat.
- Attendre 10 min, nettoyer l'extérieur de la cuve et placer le dans le spectrophotomètre DR 2800 et lire la teneur de NO₂-N en mg/l.

II.2.7 Dosage des nitrates (N-NO₃) par méthode kit Hach LCK339

Ce mode opératoire décrit une méthode d'analyse pour la détermination de la concentration des nitrates de 0,23–13,5 mg/l NO₃-N.

L'évaluation de la quantité de nitrite consiste à :

- Pipeter lentement 1 ml d'échantillon.
- Pipeter lentement 0,2 ml de la solution.
- Fermer la cuve et mélanger le contenu en la retournant plusieurs fois de suite jusqu'à ce que le mélange soit complet.
- Attendre 15 minutes, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et placer le dans le spectrophotomètre DR 2800 et lire la teneur de NO₃-N en mg/l.

II.2.8 Dosage d'azote Total (NT) par méthode Kit Hach LCK338/LCK238

Ce mode opératoire décrit une méthode d'analyse pour la détermination de la concentration d'azote total pour les deux gammes : 20 – 100 mg/l (haute gamme) et 5 – 40 mg/l (basse gamme).

L'évaluation de la quantité d'azote total consiste à :

- Pipeter l'échantillon et ajouter la solution A et une pastille B.
- Pour LCK 338 : Pipeter 0,2 ml d'échantillon dans le tube à essai sec puis ajouter 2,3 ml de la solution A et une pastille B.
- Pour LCK 238 : Pipeter 0,5 ml d'échantillon dans le tube à essai sec puis ajouter 2 ml de la solution A et une pastille B.
- Fermer immédiatement le tube et ne pas mélanger.
- Chauffer le tube à essai 60 minute à température 100°C à l'aide de thermostat.
- Laisser refroidir le tube pendant 15 minutes jusqu'à atteindre 20°C.
- Ajouter 1MicroCap C.
- Bien mélanger le tube à essai.
- Pipeter du tube à essai 0,5 ml dans la cuve à code barre.
- Ajouter à la cuve à code barre 0,2 ml de la solution D.
- Bien mélanger la cuve à code barre.
- Attendre 15 minutes, nettoyer la cuve et procéder à la mesure.
- Placer le dans le spectrophotomètre DR 2800 et lire la teneur de NT en mg/l.

II.2.9 Dosage de Phosphore Total (PT) par méthode Kit Hach LCK 350/348

Ce mode opératoire décrit une méthode d'analyse pour la détermination de la concentration des phosphores allant de 2 – 20mg/l, 0,5 – 5mg/l PO₄-P.

L'évaluation de la quantité de phosphore total consiste à :

- Enlever délicatement la feuille de protection du DOSICAP ZIP.
- Dévisser la DOSICAP ZIP.
- Pipeter 0,4ml de l'échantillon.
- Visser le DOSICAP ZIP en dirigeant le cannelage vers le haut.
- Secouer énergiquement.
- Chauffer dans le thermostat à 100°C pendant 60mn.
- Visser un DOSICAP ZIP (LCK350) gris sur cuve.
- Mélanger le contenu de la cuve en retournant plusieurs fois de suite.
- Nettoyer bien l'extérieure de la cuve et mesurer en appuyant sur le menu code a barre, le spectrophotomètre (DR2800) indique des résultats en mg/l.

II.2.10 Dosage des ortho-phosphates par méthode Kit Hach LCK 350/348

Ce mode opératoire décrit une méthode d'analyse pour la détermination de la concentration des ortho phosphates allant de 2-20 mg/l, 0,5-5 mg/l PO₄-P

L'évaluation de la quantité de ortho phosphate consiste à :

- Enlever délicatement la feuille de protection du DOSICAP ZIP.
- Dévisser la DOSICAP ZIP.
- pipeter 0.4ml de l'échantillon.
- Pipeter dans la cuve une fois refroidie: 0,5 ml de réactif B (LCK 348 B).
- Visser un DOSICAP C (LCK 348 C) gris sur la cuve.
- Mélanger le contenu de la cuve en la retournant plusieurs fois de suite.
- Nettoyer bien l'extérieure de la cuve et mesurer en appuyant sur le menu code a barre, le spectrophotomètre (DR2800) indique des résultats en mg/l.

II.3 Caractérisation physique et microbiologique des boues activées.

II.3.1 Analyse physique de boue activée

II.3.1.1 Détermination des matières en suspension (MES)

Les matières en suspension (exprimé en g/L) représentent la fraction non dissoute des effluents responsables de la turbidité de l'eau.

Pour déterminer ce paramètre, on doit procéder par une centrifugation d'un volume V de l'échantillon à analyser, en raison de 3000 tour/min pendant 15 minutes.

- On récupère ensuite le culot et on l'étuve à 105°C pendant 24 heures dans un creuset de masse M_0 préalablement séché à 105°C.
- On mesure la masse M_1 de l'ensemble creuset contenant le culot séché.
- La MES est calculée de la façon suivante :

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

Avec M_0 : masse (en g) du creuset vide.

M_1 : masse (en g) du creuset après étuvage.

V : volume (en ml) de l'échantillon.

II.3.2 Analyse microbiologique des boues activées

II.3.2.1 Isolement de la flore fongique et des *Pseudomonas* spp. fluorescents

II.3.2.1.1 Préparation des dilutions

La dilution décimale consiste à diminuer la densité de l'eau en microorganismes, d'abords à 10^{-1} puis à 10^{-2} et ainsi de suite jusqu'à obtenir d'une faible concentration microbienne de l'échantillon mère.

Avant d'entamer le travail, il est important de créer une zone stérile, par la flamme du bec Bunsen, sur une paillasse soigneusement nettoyée.

La préparation des dilutions consiste à :

- Homogénéiser l'échantillon mère par agitation du flacon de prélèvement.

- Procéder tout d'abord à la numérotation des tubes en les étiquetant respectivement de 10^{-1} à 10^{-10} cellules/ml pour les différentes dilutions.
- Prélever à l'aide d'une micropipette, 1ml d'échantillon mère, puis l'ajouter à 9ml d'eau physiologique stérile dans un tube à essai, permettant ainsi d'obtenir une suspension microbienne diluée à 10^{-1} par rapport à la suspension mère
- Prélever 1 ml de la suspension 10^{-1} agitée, à l'avance à l'aide d'un vortex, avec une micropipette et diluer dans un second tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, pour arriver à une dilution de 10^{-2} , et ainsi de suite, à chaque dilution, pour arriver à diminuer la charge microbienne de l'échantillon mère à l'exponentiel de 10^{-10} .

II.3.2.1.2 Ensemencement et incubation

La méthode utilisée est celle de l'ensemencement en surface par étalement d'une 0,1 ml de la suspension préparée sur le milieu de culture refroidi (**Botton et al, 1990**) décrite ci-dessous tout en respectant les conditions d'asepsie et en manipulant toujours dans la zone stérile.

- Bien homogénéiser le contenu du tube à essai contenant la suspension diluée
- Prélever à l'aide d'une micropipette une 0,1 ml de cette suspension, un volume de 0,1ml de chacune de ces dilutions a été étalé sur :
- Milieu King B (**King et al., 1954**) (**annexe 1**), pour l'isolement des bactéries du genre *Pseudomonas* spp. fluorescent, les boîtes ensemencées sont incubées à 30°C pendant 48 heures.
- Milieu PDA (**Potato Dextrose Agar**) (**Johnston et Booth, 1982**) (**annexe 1**), pour l'isolement des champignons, les boîtes sont incubées pendant 7 à 10 jours à une température de 28°C.
- Sur les boîtes ensemencées, indiquer le numéro de l'échantillon, la dilution ainsi que la date d'ensemencement. Il est à noter que trois répétitions sont réalisées pour chaque dilution.

II.3.2.2 Purification des *Pseudomonas* spp. fluorescents et des isolats fongique

Avant d'entamer l'identification, procéder à la purification des souches isolées à l'aide d'une série de repiquage qui consiste à transférer aseptiquement une culture microbienne (bactérie ou champignon) dans un milieu neuf et stérile pour avoir à la fin une culture pure.

II.3.2.2.1 Purification des *Pseudomonas* spp. fluorescents

Après 48 heures d'incubation, les colonies qui caractérisent le genre *Pseudomonas* spp. fluorescents (pigmentation jaune - verdâtre) ont été purifiées sur milieu King B et incubées par la suite à 28°C pendant 48 heures.

La sélection des bactéries est basée sur l'aspect macroscopique des colonies à savoir la couleur, la forme, le diamètre et l'opacité. Une colonie de chacun des isolats a été prélevée et ensuite purifié par des repiquages successifs selon la méthode de stries.

II.3.2.2.2 Purification des champignons

Après un bon développement des colonies, effectuer des repiquages de chaque colonie pour purifier les champignons et minimiser les risques de contamination, jusqu'à arriver à isoler sur chaque boîte de Pétri une seule colonie d'un champignon donné (**Guiraud,1998**).

Le repiquage se fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une aiguille stérile tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boîte sur le milieu PDA. Ce fragment est déposé au centre d'une nouvelle boîte. Le repiquage se fait aseptiquement près du bec Bunsen et les boîtes sont incubées à 28°C pendant 10 jours jusqu'à l'obtention des souches pures.

I.3.2.3 Identification de la microflore isolée de groupe de *Pseudomonas* spp. fluorescents et de population fongique

II.3.2.3.1 Identification de *Pseudomonas* spp. fluorescents

Colonies d'aspects différents, fluorescentes sous UV (365nm), sont purifiées sur le milieu solide de King B, puis désignées par un code. L'identification de ces souches isolées est déterminée à base de l'aspect phénotypique de colonies, de l'examen microscopique et des caractères biochimiques spéciaux. L'identification des *Pseudomonas* spp. fluorescents a été réalisé on suivant une clé dichotomique proposée par **Bossis (1995)**.



Figure 3: Clé dichotomique pour l'identification des souches appartenant aux espèces *P. fluorescens* et *P. putida* selon Bossis (1995).

P. aureo.: *Pseudomonas aureofaciens*; P. chloro: *P. chlororaphis*; P. fluo: *P. fluorescens*; P. put: *P. putida*; L-ara: L- arabinose; Den: Denitrification; Lev: Levan; L(+)-tart.: L(+)-tartrate; L-trp: L-tryptophane.

II.3.2.3.1.1 Caractères morphologiques

A. Observation macroscopique

L'observation macroscopique a été réalisée après 24 heures d'incubation à 28°C. Elle permet d'observer la taille, la forme, la couleur, l'aspect et la pigmentation des colonies. Ceci nous permet de prélever et de sélectionner seulement les colonies possédant les caractéristiques culturales des *Pseudomonas* spp. fluorescents.

B. Observation microscopique et coloration de Gram

Nous faisons une observation microscopique des bactéries à l'état frais, pour voir leur mobilité. La taille, la forme et le type de regroupement des cellules bactériennes sont appréciés après coloration de Gram, Elle permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne car les bactéries qui seront dites « Gram négatif » ont une paroi pauvre en peptidoglycane donc plus fine qui va laisser passer l'alcool (molécule lipophile) et qui décolorera le cytoplasme en éliminant le violet de Gentiane.

Technique de coloration de Gram

La coloration de Gram a été réalisée selon la méthode décrite par **Hildebrand et al., (1988)**. La fixation se réalise à la chaleur et en présence de quelques gouttes d'alcool à 90° après la préparation du frottis par étalement de la crème bactérienne âgée de 24 heures sur une lame. Le frottis ainsi fixé est d'abord coloré par le violet de gentiane suivi par l'application d'une solution de lugol. La décoloration est ensuite effectuée par un lavage à l'alcool des lames jusqu'à la disparition de la couleur violette. Après un lavage abondant avec un jet d'eau distillée stérile, le frottis subit une deuxième coloration à l'aide d'une solution de fuschine basique. On réalise ensuite une observation microscopique des frottis après un lavage à l'eau et un séchage au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen. Les bactéries colorées en rose sont dites Gram négatif, alors que celles colorées en violet sont Gram positif.

II.3.2.3.1.2 Caractères biochimiques

II.3.2.3.1.2.1 Production de pigment fluorescent

La production du pigment fluorescent a été recherchée sur le milieu King B. Après une incubation de 24 à 48 heures entre 27 à 28°C, le développement du pigment fluorescent a été révélé à l'œil nu ou sous UV (254 et 366nm).

II.3.2.3.1.2.2 Test d'arginine dihydrolase (ADH)

Ce test sert à déterminer la présence ou l'absence d'enzyme : Arginine dihydrolase. Pour réaliser ce test le bouillon d'arginine dihydrolase a été ensemencé par la culture à tester. Le tube est recouvert de vaseline stérile afin de créer une anaérobiose relative. La lecture des résultats se fait après 24 à 48 heures d'incubation à 28 °C.

Une bactérie qui possède l'enzyme dihydrolase elle dégrade le glucose du milieu et produira des acides, au pH acide le milieu deviendra jaune, Une fois le milieu acidifié, l'enzyme arginine dihydrolase est activée, la culture est incubée pendant 24 heures supplémentaires à une température de 28°C pour permettre à la bactérie d'utiliser l'arginine comme source d'azote et d'énergie.

Le résultat positif se traduit par virage de couleur de jaune au violet, donc la bactérie est ADH+.

Si le milieu ne pas jaunir après 24 heures ou de redevenir violet après 48 heures indique un résultat négatif.

II.3.2.3.1.2.3 Test d'oxydase

L'oxydase a été recherchée sur papier filtre selon la technique de **Kovacs (1956)** : une colonie est étalée sur un disque imprégné de diméthyl-p-phénylène diamine préalablement trempé dans de l'eau distillée stérile. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'une couleur rouge violacée au bout de 10 secondes, la réaction est tardive entre 10 et 60 secondes, et elle est négative après 60 secondes.

II.3.2.3.1.2.4 Test de gélatine

L'hydrolyse de la gélatine sous l'action d'une enzyme extracellulaire conduit à la libération des acides aminés, cette réaction se traduit par une transformation du milieu de l'état semi solide à l'état liquide.

Dans des tubes à essai contenant le milieu gélatine (**annexe 1**), une crème bactérienne âgée de 24 heures a été ensemencé par piqure centrale les tubes à essai, ensuite incubés à 25°C pendant 5 à 15 jours. Après incubation, les tubes ensemencés ainsi que les témoins non ensemencés sont déposés au réfrigérateur à 4°C pendant 10 minutes pour favoriser la prise du gel. La gélatinolyse se traduit par liquéfaction du milieu.

II.3.2.3.1.2.5 Test de levane sucrase

Ce test est réalisé selon la technique décrit par **Hildebrand et al., (1988)**, la recherche de levane sucrase a été effectuée sur milieu levane (**annexe1**).

Après ensemencement du milieu, et incubation de 3 à 5 jours à température ambiante, le développement de colonies blanchâtres, convexes et brillantes indique la présence de levane sucrase.

II.3.2.3.1.2.6 Test de dénitrification

Sur bouillon nitraté (**annexe1**), ensemencé avec la souche à étudier et incubé à 28°C pendant 18 à 24 heures. Ajouter successivement 5 gouttes de chacun des réactifs : Nitrate réductase 1 (solution d'acide sulfanilique) et Nitrate réductase 2 (solution d'alpha-naphtylamine).

- Le milieu devient rouge : présence de nitrites. Donc la bactérie possède un nitrite réductase. résultat NR+.
- Le milieu reste inchangé : on ajoute alors de la poudre de zinc qui joue le même rôle que le nitrate réductase vis-à-vis des nitrates.

Après l'addition de la poudre de zinc :

- Coloration rouge orangé: on a donc eu transformation des nitrates en nitrites par le zinc. La bactérie ne possédait pas cette enzyme. Résultat NR-.
- Pas de coloration : les nitrates ont été transformés par la bactérie au-delà des nitrites. La bactérie possède cette enzyme. Résultat NR+.

II.3.2.3.2 Identification des champignons :

Les clés d'identification décrites par **Watanabe, (1994)** et **Elis et al., (2007)** ont été suivies pour la classification des champignons isolés. Les échantillons ont été prélevés aussi bien dans les bordures des colonies ou les structures fertiles jeunes et le nombre de spores est peu, et du centre des colonies pour prélever les structures renfermant des spores et ou les spores sont beaucoup plus matures.

II.3.2.3.2.1 Aspects macroscopiques

L'examen des boîtes s'effectue à l'œil nu et avec la loupe binoculaire. On observe attentivement, dans un endroit bien éclairé, l'aspect du champignon, en vérifiant que toutes les colonies soient identiques, il faut noter :

- **La couleur** : du recto et du verso de la boîte de Pétrie. Blanche, crème ou colorée verte, brune, orangée, violette, grises...etc.
- **La taille** : en mesurant le diamètre de la colonie: Petite, étendue ou envahissante.
- **La consistance de la colonie**: duveteuse, cotonneuse, floconneuse, poudreuse...etc.
- **La pigmentation** : présence ou absence d'un pigment diffusible dans le milieu
- **Le relief** : Plat, plissé ou cérébriforme.
- **La forme du contour** : régulier, irrégulier, lobé, dentelé, filamenteux...etc.

II.3.2.3.2.2 Aspect microscopique

Lors de l'analyse microscopique des colonies, plusieurs structures des champignons filamenteux sont observées comme l'appareil végétatif, les organes de fructification et les spores :

- **Le thalle végétatif** : septé (diamètre étroit et régulier de 2 à 5 μm) ou siphonné (filaments peu ou pas ramifiés, diamètre large et irrégulier de 5 à 15 μm), paroi pigmentée (mélanisée) ou non (hyaline).
- **Les organes de fructifications** : présence ou non d'organes protecteurs des conidies, modes de formation des conidies (issues directement du thalle, solitaires (aleuriospores) ou en chaînes (arthrospores), ou produites par bourgeonnement et regroupées soit en grappes, en masse, en têtes ou en chaînes basipètes ou acropètes), modes d'implantation des cellules conidiogènes [indifférenciée ou peu différenciée, différenciées (sur le filament végétatif, porté sur les conidiophores dispersés ou groupés)].
- **Les spores** : endogènes (endospores) ou exogènes (conidiospores ou conidies), l'aspect des spores : didymospores (bicellulaires) phragmospores (pluricellulaires à cloisons transversales), dictyospores (pluricellulaires à cloisons transversales et longitudinales), scolécospores (étroites et effilées), présence ou non de chlamyospores.

Dans des conditions d'hygiène et d'asepsie, la préparation du matériel fongique pour l'observation microscopique est réalisée comme suit :

1. Prélever un fragment du thalle de la colonie à l'aide d'une aiguille flambée à la flamme du bec Bunsen, puis le déposer dans une goutte d'eau physiologique sur une lame stérile.
2. Dilacerer le fragment mycélien avec l'aiguille pour le rendre moins dense et mieux observable, sans autant l'abîmer complètement.
3. Recouvrir la préparation à l'aide d'une lamelle.

II.3.2.3.2.3 Conservation des isolats fongiques

Les isolats obtenus ont été conservés soit par dépôt de quelques fragments de mycélium dans des tubes Eppendorfs stériles, soit par l'utilisation de la méthode de **Maciavente et al., (2008)** qui consiste à cultiver chaque isolat dans le milieu PDA en présence de bouts de papier filtre stériles, après croissance des champignons sur le papier filtre, ce dernier est prélevé et déposé dans des enveloppes transparentes stériles.

La conservation des Eppendorfs et des enveloppes est réalisée à -20°C dans le congélateur du laboratoire de la PFE du département de BPC de l'université de Blida (Algérie).

II.3.2.4 Test d'antagonisme

Nous avons effectué le test d'antagonisme avec 3 souches bactériennes de *Pseudomonas* spp. fluorescents vis à vis 3 champignons. Le pouvoir antagoniste a été testé sur deux milieux différents : PDA (favorable au développement des champignons), KB (favorable aux *Pseudomonas*).

La méthode utilisée est celle décrite par **Vincent et al., (1991)**. Les souches bactériennes, âgées de 24 heures, sont étalées en ligne sur une distance de 1,5 cm à partir des deux bords d'une boîte de Pétri. Après 24 h d'incubation, un disque fongique de 6 mm (âgé de 5 jours) est déposé au centre de la boîte. L'ensemble est incubé à 28°C pendant trois à cinq jours (**figure**).

La réduction du diamètre des colonies mycéliennes du champignon, en présence des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents comparé au témoin non inoculé, indique la présence d'une activité antagoniste.

Les diamètres de la croissance des champignons ont été mesurés et comparé par rapport au témoin. Les pourcentages d'inhibition (%) sont calculés selon la formule :

$$(\%) \text{ Inhibition} = (R_{\text{témoin}} - R_{\text{test}}) / R_{\text{témoin}} * 100$$

$R_{\text{témoin}}$: distance radiale max de la croissance du champignon.

R_{test} : distance radiale sur une ligne en direction de l'antagoniste.

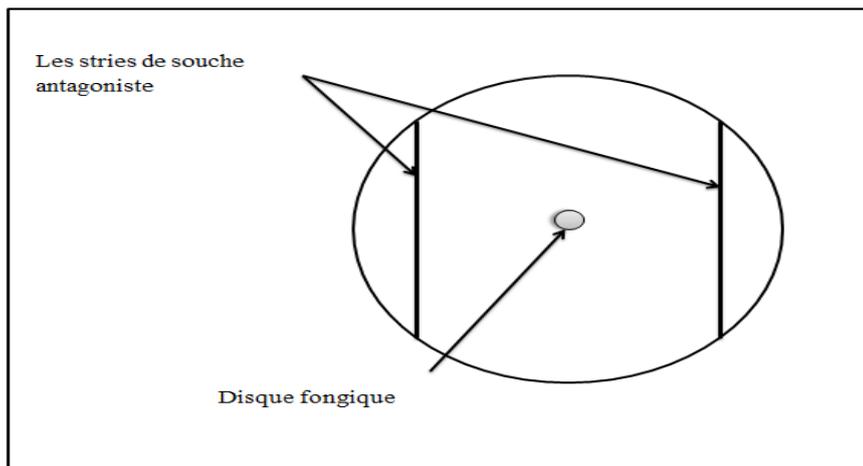


Figure 4 : Disposition de l'isolat fongique et des souches bactériennes sur le milieu de culture à l'intérieur du boîte de pétrie.

Résultats et discussion

Ce chapitre présente les résultats et la discussion des analyses physico-chimiques et microbiologiques effectuées durant la période allant du 05/01/2019 au 29/05/2019, selon les méthodes décrites dans le chapitre précédent, nous avons obtenu les résultats suivants :

III.1 Paramètres physico-chimiques des eaux usées (brutes et traitées)

Les résultats physico-chimiques des eaux usées brutes et traitées sont regroupés dans le **tableau III.1**.

Tableau VI: Analyses physico-chimiques des eaux usées prélevées à l'entrée et à la sortie.

Les analyses	1 ^{ère} échantillon (27/2/2019)		2 ^{ème} échantillon (05/05/2019)		Normes JORA
	Eau usée brute	Eau usée traitée	Eau usée brute	Eau usée traitée	
Ph	7.12	7.42	7.45	7.89	6,5-8,5
T (°C)	15.2	14.0	22.4	20.6	<30
CE (µS/cm)	1532	1503	1421	1255	ND
NO ₂ ⁻ (mg/l)	0.329	0.602	0.129	0.217	ND
NO ₃ ⁻ (mg/l)	0.969	10.9	0.662	0.932	ND
NH ₄ ⁺ (mg/l)	39.1	2.20	25.3	1.23	ND
NT (mg/l)	28.8	19.2	29.6	8.00	30
PO ₄ (mg/l)	2.00	1.21	2.81	1.00	2
PT (mg/l)	5.05	1.37	4.09	1.10	10
DCO (mg/l)	303	28.9	319	25.8	<120
DBO5 (mg/l)	162	6.1	192	6.0	<35

ND : Non déterminé

III.1.1 Température

D'après les résultats obtenus. Les valeurs de la température indiquent une légère diminution de l'entrée vers la sortie (**Tableau III.1**).

Selon **Journal Officiel de la République Algérienne (2006)** la température d'une eau épurée ne doit pas dépasser 30°C. Les eaux épurées des stations d'épuration Chenoua de la wilaya de Tipaza sont donc dans les normes.

Les températures de l'effluent traité restent toujours inférieures à celles enregistrées au niveau des eaux brutes. Ces valeurs sont en fonction de l'heure de prélèvement et des conditions météorologiques, ainsi que l'augmentation de la température favorise l'autoépuration et accroissent la vitesse de sédimentation, ce qui présente un intérêt dans les stations d'épuration. Par ailleurs, les réactions chimiques et biochimiques s'accroissent.

III.1.2 Potentiel hydrique (pH)

Les valeurs du pH révèlent une augmentation de l'entrée à la sortie au niveau de la station d'épuration. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Bounoud (2006)**. De même, ces valeurs sont généralement comprises entre 6,5 et 8,5 considérées comme valeurs limites de rejets directs dans le milieu récepteur (**JORA, 2006**).

Le pH, indique l'alcalinité des eaux usées, son rôle est capital pour la croissance des microorganismes qui ont généralement un pH optimum variant de 6,5 à 7,5. Lorsque le pH est inférieur à 5 ou supérieur à 8,5. La croissance des microorganismes est directement affectée. En outre, le pH est un élément important pour l'interprétation de la corrosion dans les canalisations des installations de l'épuration (**Driss et al., 2009**).

III.1.3 La conductivité électrique

Les valeurs de conductivité électrique relèvent une diminution des valeurs de l'entrée vers la sortie de la STEP qui est probablement due au traitement biologique de l'eau usée, Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Bounoud (2006)**.

La conductivité électrique est probablement l'une des plus simples et des plus importantes pour le contrôle de la qualité des eaux usées. Elle traduit le degré de minéralisation globale, elle nous renseigne sur le taux de salinité de ces eaux. Ces valeurs de conductivité électrique élevées traduisent selon **Gaujous (1995)** une minéralisation importante indique une certaine richesse en sels, expliquant les valeurs élevées enregistrées toujours à l'entrée.

III.1.4 Nitrites (NO₂⁻)

D'après les résultats obtenus, au cours de notre étude, la teneur en nitrites des eaux, à savoir l'eau brute et traitée est très faible. Ainsi, la différence de ces valeurs entre l'entrée et la sortie nous renseigne sur une légère augmentation, ceci s'explique par un manque d'oxygène pour se transformer tous nitrites en nitrate (la nitrification) par les microorganismes.

Les nitrites représentent la forme la moins oxygénée et la moins stable des composés azotés. Leur présence est due, soit à l'oxydation bactérienne de l'ammoniaque, soit à la réduction des nitrates (**Rejsek, 2002**).

III.1.5 Nitrates (NO_3^-)

La quantité de l'azote nitrique N-NO_3^- à l'entrée de la station est inférieure à celle existée à la sortie, ce qui explique le déroulement de la réaction de nitrification de l'azote qui continuera sa transformation en N-NO_3^- dans le bassin d'aération. Le traitement d'épuration par boue activée dans le bassin d'aération prolongé n'arrive pas à éliminer l'azote nitrique NO_3^- . Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Bounoud (2006)**.

III.1.6 Ammonium (NH_4^+)

Une réduction des valeurs de l'azote ammoniacal (NH_4^+) a été observée dans les eaux traitées. En effet, l'azote ammoniacal est oxydé par nitrification en nitrite NO_2^- un état intermédiaire, puis ce dernier est rapidement oxydé en nitrate NO_3^- . Cette transformation est effectuée en présence d'oxygène par des bactéries autotrophes nitrifiantes en deux étapes, la première étant assurée par des bactéries *Nitrosomonas* et la deuxième par des bactéries *Nitrobacter* d'après **Aubry (2003)**. L'ammonium est la forme d'azote la plus toxique. Sa présence dans l'eau est liée soit aux rejets urbains et industriels, soit par réduction des formes azotées (nitrates et nitrites) en conditions réduites (**Debieche, 2002**).

III.1.7 Azote total

Une réduction des valeurs de l'azote total a été observée dans les eaux traitées, la diminution des concentrations de la NT à la sortie s'interprète par la décantation de la matière organique et l'oxydation de l'ammonium NH_4^+ . Les valeurs obtenues après traitement sont conformes à la norme algérienne qui est de 30 mg/l.

Selon l'**Agences de l'eau et Ministère de l'Environnement (1994)** ; dans l'eau usée domestique, l'azote est essentiellement à l'état soluble et il se trouve sous les deux formes suivantes l'azote organique, qui provient surtout des déjections animales et humaines et des rejets d'industries agro-alimentaires, l'azote ammoniacal, qui peut provenir des rejets industriels ou de la transformation de l'azote organique par ammonification.

III.1.8 Ortho phosphate PO_4^{3-} et phosphore total

La teneur d'orthophosphate et de phosphore des eaux traitées semble inférieure à celle enregistrée dans les eaux brutes, la diminution des teneurs de l'entrée de la station vers la sortie est due à sa consommation par les bactéries au cours du processus d'épuration. Les teneurs obtenues des orthophosphates et de phosphore dans les eaux usées traitées ne

dépassent pas la valeur limitée acceptable d'un rejet direct dans le milieu récepteur (2 mg/l pour l'ortho phosphate et 10 mg/l pour le phosphore (**JORA, 2006**)).

Selon **Rodier et al., (2005)**, le phosphore peut se trouver sous différentes formes oxydées; sous la forme acide, on trouve l'acide méta (HPO_3), pyro ($\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$) et ortho (H_3PO_4). En milieu aqueux, les acides métras et pyro tendent vers une forme plus stable: l'ortho phosphate. Pratiquement, c'est sous cette forme qu'on le rencontre dans les eaux superficielles dont le pH est compris entre 5 et 8.

III.1.9 La demande chimique en oxygène (DCO)

Nous pouvons voir que la pollution carbonée DCO diminue de l'entrée à la sortie, ce qui s'explique par une bonne dégradation des matières chimiquement oxydables présentes dans l'eau ajoutée à une bonne oxygénation du milieu, Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Bounoud (2006)**.

Selon **JORA (2006)**, cette valeur est conforme à la norme algérienne de rejet (<120 mg/l), donc on peut dire qu'une grande concentration a été éliminée par ce procédé car il y a une dégradation importante de la charge polluante.

III.1.10 La demande biologique en oxygène (DBO5)

La valeur DBO5 diminue de l'entrée à la sortie. D'après **Bliefert et Perraud (2001)**, elle est associée au maximum du développement de l'abondance bactérienne et une diminution de la teneur en oxygène suite à la consommation de ce dernier par les microorganismes.

Selon **JORA (2006)**, la qualité de l'eau en DBO5 est inférieure aux normes algériennes de rejet (35mg O_2 /l). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Bounoud (2006)**.

La DBO5 représente plus particulièrement une mesure de la charge polluante d'origine carbonée (Pollution organique biodégradable). Elle fournit donc une des indications importantes permettant de juger la qualité d'une eau et de son degré de pollution.

III.2 Caractérisation physique et microbiologique des boues activées

III.2.1 Analyse physique des boues activées

Tableau VII : Les résultats d'analyses des boues activées

Analyses physique	1 ^{ère} échantillon (27/2/2019)		2 ^{ème} échantillon (05/05/2019)	
	Bassin d'aération 1	Bassin d'aération 2	Bassin d'aération 1	Bassin d'aération 2
MES (g/l)	2	2	3,5	3,1
Norme	2-4 g/l			

La boue épuratrice présente une concentration de MES varié entre 2-3,5 g/l dans les deux bassins d'aération. Ces valeurs ne dépassent pas le seuil fixé par le manuel d'exploitation de la STEP (2 et 4 g/l), ce qui montre le bon fonctionnement de la STEP.

III.2.2 Analyses microbiologiques des boues activées

III.2.2.1 Identification de *Pseudomonas* spp. fluorescents et des isolats fongiques

III.2.2.1.1 Identification de *Pseudomonas* spp. fluorescents

Les méthodes de caractérisation phénotypique décrites ont permis une identification préliminaire des souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents. La sélection a été basée sur la production d'un pigment vert fluorescent et les caractères macromorphologiques sur le milieu King B. Les résultats obtenus après plusieurs purifications, ont permis d'isoler 63 isolats dont 25 isolats proviennent du 1^{er} échantillon et 38 de 2^{ème} échantillon.

III.2.2.1.1.1 Caractères morphologiques

A. Observation macroscopique

Sur le milieu King B la présence des colonies de 0,6 - 1 mm de diamètre de forme renflée, foncée, circulaire, muqueuse et homogène, avec une pigmentation fluorescente de couleur jaune verdâtre diffusible dans le milieu, ces mêmes caractéristiques ont été constatées chez les *Pseudomonas* fluorescent selon **Itim et El bar (2013) (figure III.1)**.

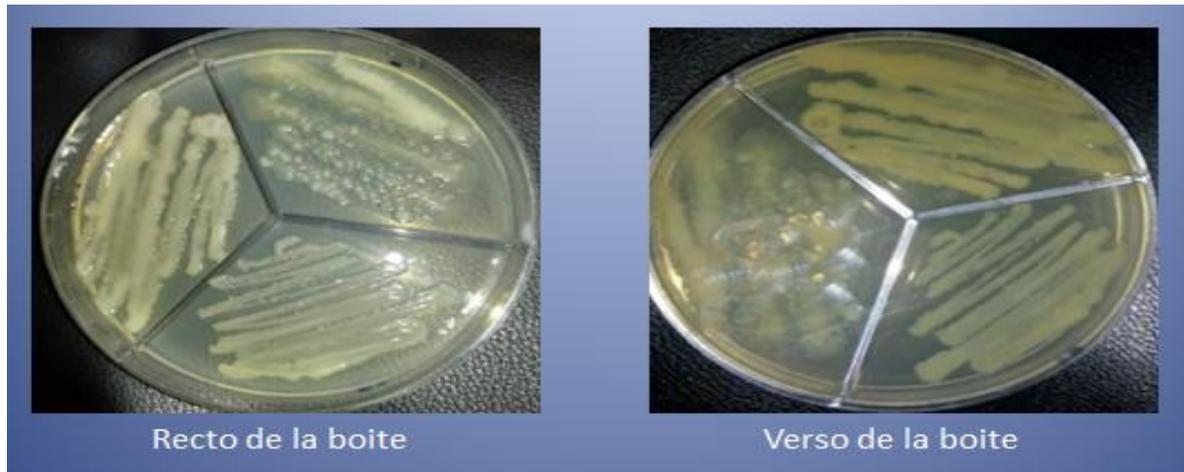


Figure 5 : Aspect macroscopique de *Pseudomonas* spp. fluorescents sur milieu King B, isolé à partir de la boue activée.

B. Observation microscopique :

B.1. Examen à l'état frais

Les bactéries examinées à l'état frais, apparaissent mobiles sous microscope. La présence des flagelles polaires permet à ces bactéries de se déplacer facilement dans leurs environnements.

B.2. Coloration de Gram

L'observation des frottis a été réalisée sous microscope optique et à émergence au (grossissement X100), qui montre des cellules roses distinctes de *Pseudomonas* spp. fluorescents qui sont des bacilles à Gram négatif de 0,5 à 1 μm de diamètre sur 1,5 à 5 μm de long, mobiles et asporulées (Bell-Perkins et Lynch, 2002).

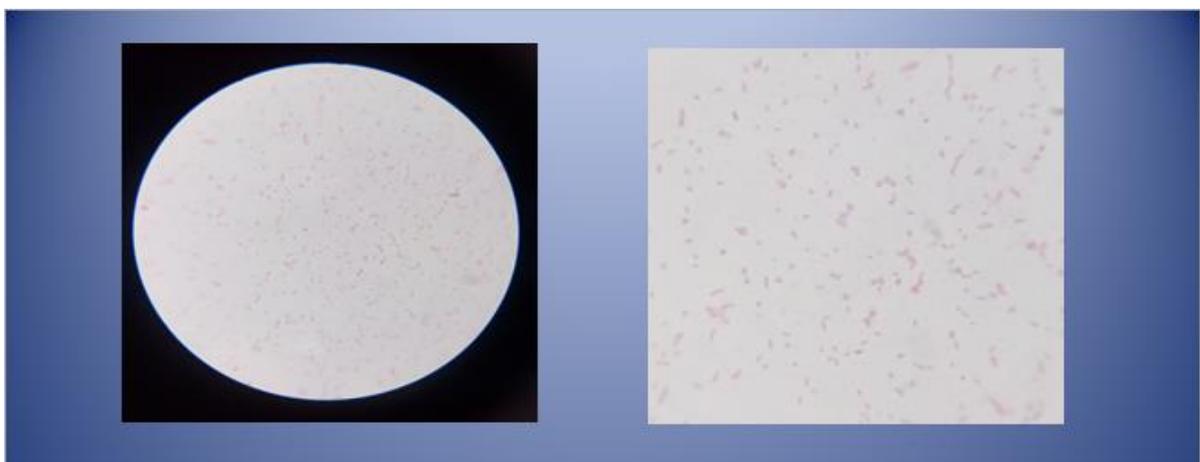


Figure 6: Aspect microscopique de *Pseudomonas* spp. fluorescents (G : X100)

III.2.2.1.1.2 Caractéristiques physiologiques et biochimiques

II.2.2.1.1.2.1 Production de pigment fluorescent :

Les souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents isolées se multiplient rapidement (en 24heures) sur milieu King B en donnant des colonies crème à blanchâtres. Elles sont capables d'élaborer un pigment jaune-vert fluorescent sous UV (365nm) diffusible dans le milieu. Les pigments fluorescents émis sont d'une intensité variable d'une souche à une autre. Les membres de ce groupe se caractérisent par l'aptitude à synthétiser en situation carencée en fer des sidérophores (Palloroni, 1984 et 1992) (figure III.3).

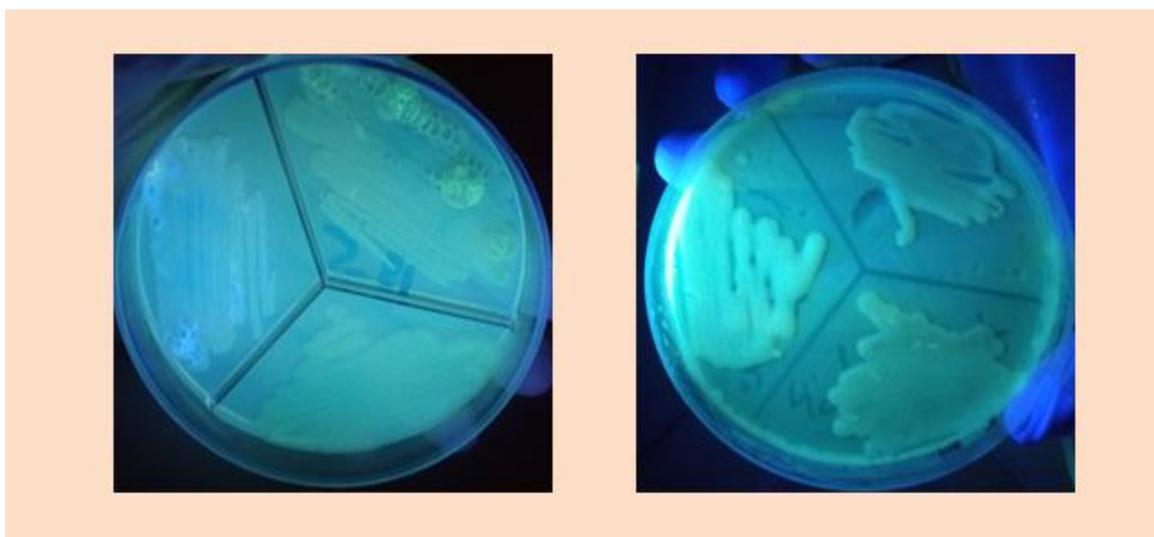


Figure 7 : Aspect des colonies de *Pseudomonas* spp. fluorescents sous UV (365nm)

II.2.2.1.1.2.2 Test d'oxydase :

La mise en évidence d'un cytochrome oxydase qui oxyde le cytochrome c présent dans la chaîne respiratoire, grâce à des réactifs ayant le même potentiel d'oxydoréduction (Nméthylé du paraphénylène diamine), montre que les bactéries testées sont oxydase positive se traduit par l'apparition d'une couleur violette très foncée (figure III.4).

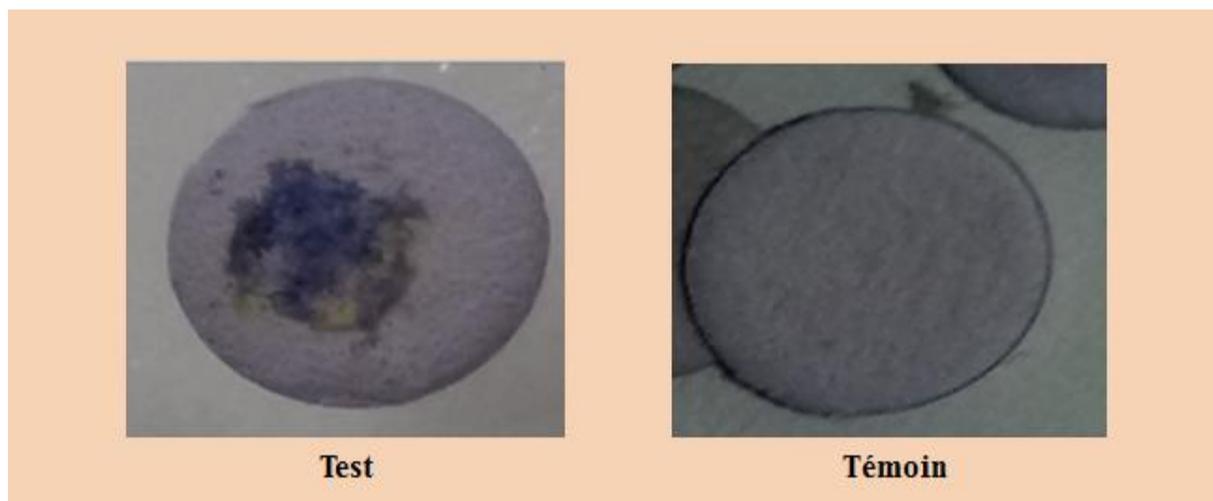


Figure 8 : Test de l'oxydase

Répartition des souches en groupes physiologiques :

Les tests physiologiques et biochimiques réalisés selon la clé proposée par **Bossis (1995)**, a permis de constater que les souches bactériennes isolées réagissent différemment vis à vis le test de gélatine et d'une façon similaire vis à vis d'autres. Ces réactions ont abouti à leur classement en 2 groupes physiologiques distincts. Les 41 souches identifiées sont de Gram négatif, pourvues de cytochrome oxydase et hydrolysent l'arginine ainsi qu'elles sont fluorescentes. Par ailleurs, les réponses diffèrent d'un groupe à un autre pour le reste des tests. (**Tableau III.3**).

Tableau VIII : Répartition des souches *Pseudomonas* spp. fluorescentes dans des groupes physiologiques selon les tests biochimiques déterminatifs.

Tests	Groupe 1 27 souches	Groupe 2 14 souches
Fluorescens	+	+
ADH	+	+
Oxydase	+	+
Gélatine	+	-
Levane sucrase	+	+
Nitrate réductase	+	+

+ : Réaction positive

- : Réaction négative

Le genre *Pseudomonas* est caractérisé par un métabolisme oxydatif et non fermentatif, utilisant l'oxygène comme accepteur final d'électrons, et même quelques souches utilisent la dénitrification (les nitrates sont parfois utilisés comme accepteurs d'électrons ce qui permet une croissance en anaérobiose). Les *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes possèdent tous un cytochrome oxydase, ayant un maximum d'absorption caractéristique à 552/554 nm, qui peut être mise en évidence par l'oxalate de N, N-diméthyl-paraphénylène-diaïne (**Lelliot et al., 1966**).

L'arginine représente une source d'azote intéressant dans les milieux riches en matière organique. La complexité du catabolisme de l'arginine révèle l'intérêt de ce substrat pour les micro-organismes (**Cunin et al., 1986**). La dégradation de l'arginine est une voie caractéristique des *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes (**Thornley, 1960**), elle fonctionne seulement en absence de l'oxygène et sous conditions dénitrifiantes (**Shoosmith et Sherris, 1960 ; Mercenier et al., 1980**).

27 souches appartenant au premier groupe physiologique hydrolysent la gélatine, par contre 14 souches appartenant au deuxième groupe physiologique n'arrivent pas à hydrolyser cette substance. La gélatine est utilisée par les *Pseudomonas* spp. fluorescents comme source protéique, sa dégradation conduit à la formation d'acides aminés qui sont assimilables par ces bactéries. Ce groupe bactérien présente une capacité d'utilisation de nombreux acides aminés comme source énergétique de carbone et d'azote (**Palleroni, 1984**). L'utilisation de la gélatine permet de distinguer les souches de *P. putida* des autres espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents (**Bossis, 1995**) (tableau III.3).

Parmi les souches testées, 41 souches, regroupées dans 2 groupes physiologiques distincts (groupe 1 et groupe 2), possèdent le levane sucrase. Le milieu levane contient le saccharose, ce diholoside non réducteur est utilisé par certaines souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents comme source de carbone (**Latour et Lemanceau, 1997**). Les 2 groupes physiologiques distincts possèdent l'enzyme nitrate réductase. Les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont capables de s'adapter au manque d'oxygène par l'utilisation des oxydes d'azote comme accepteurs alternatifs d'électrons (**Stewart, 1988**).

Les caractères physiologiques et biochimiques des isolats bactériens, selon les réactions obtenues dans les tests discriminatifs proposés par **Bossis (1995)** ; ont permis d'affilier les souches du groupe 1 aux trois espèces de *Pseudomonas* spp. fluorescents : *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas chlororaphis* et *Pseudomonas aurefaciens*. Les souches du groupe 2

appartiennent aux *Pseudomonas putida* et un groupe de souches intermédiaires entre *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas fluorescens*.

Il y a des tests qui figurent dans la clé de **Bossis (1995)** qui n'ont pas été réalisés à cause de manque des produits. Dans des conditions anoxiques les *Pseudomonas* spp. fluorescents sont capables d'utiliser les nitrates et les nitrites en tant qu'accepteur d'électrons finaux pour la respiration cellulaire à la place d'oxygène.

Les travaux de **Drysdale et al. (1999)**, montrent également la présence de bactéries hétérotrophes dénitrifiant au cours du traitement par les boues activées qui sont des *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas* spp. Cela se traduit par une oxydation de la matière organique ainsi que par la réduction des nitrates et des nitrites en oxydes d'azote (**Wanner et Grau, 1988**).

III.2.2.1.2 Identification macroscopique et microscopique des isolats fongiques

III.2.2.1.2.1 La caractérisation macroscopique

Après l'isolement, des purifications ont permis d'obtenir des 14 isolats dont 9 isolats proviennent du 1^{er} échantillon et 5 isolats de 2^{ème} échantillon.

L'étude macroscopique des isolats purifiés a permis de dénombrer 14 morphotypes à savoir le morphotype cotonneux et poudreux avec une variabilité de colonies. La couleur varie entre le blanc, le vert, le gris, le noir et le marron. La variation de la couleur et de l'aspect des colonies, nous a permis de classer les isolats en 4 groupes (**tableau III.4**).

III.2.2.1.2.2 La caractérisation microscopique

L'observation microscopique a montré la présence des conidiophores, des conidies, des phialides. La description de leurs caractéristiques microscopiques est résumée dans le **tableau III.5**.

Tableau XI : Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés

Groupe	Code	Forme de la colonie	Couleur de la colonie		Aspect	Durée d'incubation	Figure
			Recto	Verso			
Groupe n° 1 : 9 souches <i>Aspergillus sp</i>	A1	Irrégulière	Noir	Jaune pale	Granuleux	5 jours	III.5
	A2		Verte	Jaune	Poudreux	7 jours	III.6
	A3						
	A4						
	A7						
	A8		Marron	Brun	Poudreux	7 jours	III.7
	A9						
	A5						
A'1	Noir	Jaune	Poudreux	5 jours	III.8		
Groupe n° 2 : Deux souches <i>Trichoderma sp</i>	T6	Circulaire	Vert	Brun	Cotonneux	5 jours	III.9
	T'5		Vert bleuâtre	Jaune	Cotonneux	5 jours	III.10
Groupe n° 3 : Une seule souche <i>Penicillium sp</i>	P'2	Circulaire	Vert -gris	Jaune	Cotonneux	5 jours	III.11
Groupe n° 4 : Deux souches <i>Mycélium stérile</i>	C'3	Circulaire	Vert-gris	Brun foncé	Cotonneux	7 jours	III.12
	C'4	Circulaire	Blanc	Rouge	Cotonneux	7 jours	III.13

Tableau X: Caractéristiques microscopiques des isolats purifiés

Groupe	Phénotype	Mycélium et Conidiophore	Vésicule	Phialide	Conidies	Tête aspergillaire	Figure
Groupe n° 1 : 9 souches <i>Aspergillus sp</i>	A1	Mycélium : cloisonné	Globuleuse	Directement insérées sur la vésicule	Globulaires, brun, disposés en chaîne	Radiée, noire à maturité	III.5
	A2						III.6
	A3						
	A7						
	A8	Conidiophore : Hyalin, siphonné	Sphérique	Radiée	III.7		
	A9		Globuleuse	Radiée, noire	III.8		
	A5						
	A'1						
Groupe n° 2 : 2 <i>Trichoderma sp</i>	T6	Mycélium : cloisonné	Dépourvu	Forme de quille groupée en trois	Globulaire	Dépourvu	III.9
	T'5	Conidiophore : Hyalin, Septé					III.10
Groupe n° 3 : 1 souche <i>Penicillium sp</i>	P'2	Mycélium : cloisonné Conidiophore : Hyalin, lisse, ramifié, septé	Dépourvu	Disposées en pinceaux	Rond, pigmenté	Dépourvu	III.11
Groupe n° 4 : 2 Mycélium stérile	C'3	Mycélium : Stérile de Couleur transparent	Dépourvu	Dépourvu	Dépourvu	Dépourvu	III.12
	C'4						III.13

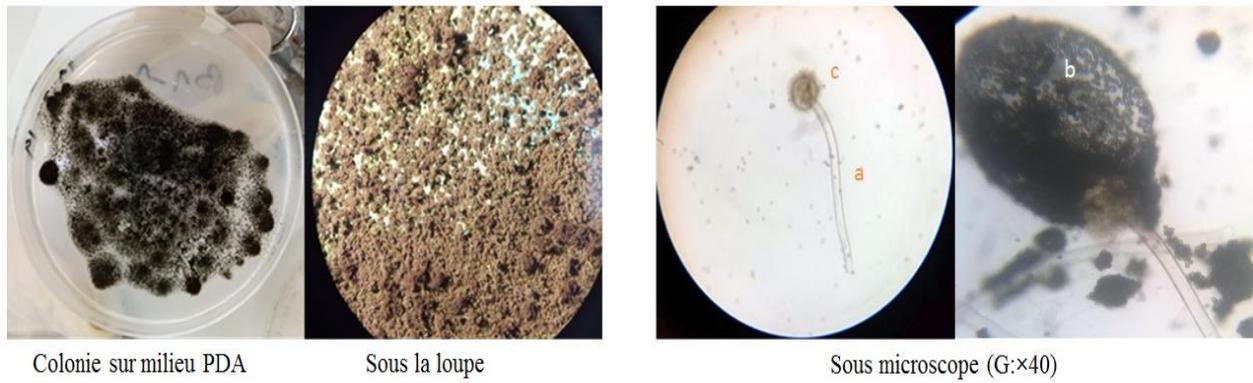


Figure 9 : Aspect macroscopique et microscopique d'*Aspergillus* sp. (a): Conidiophore. (b): Conidies. (c): Vésicule.

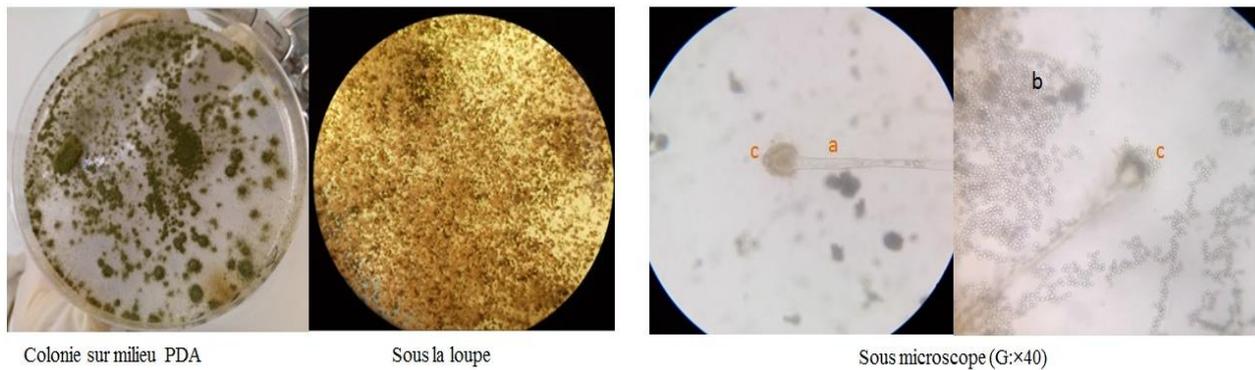


Figure 10 : Aspect macroscopique et microscopique d'*Aspergillus* sp. (a): Conidiophore. (b): Conidies. (c): Vésicule.

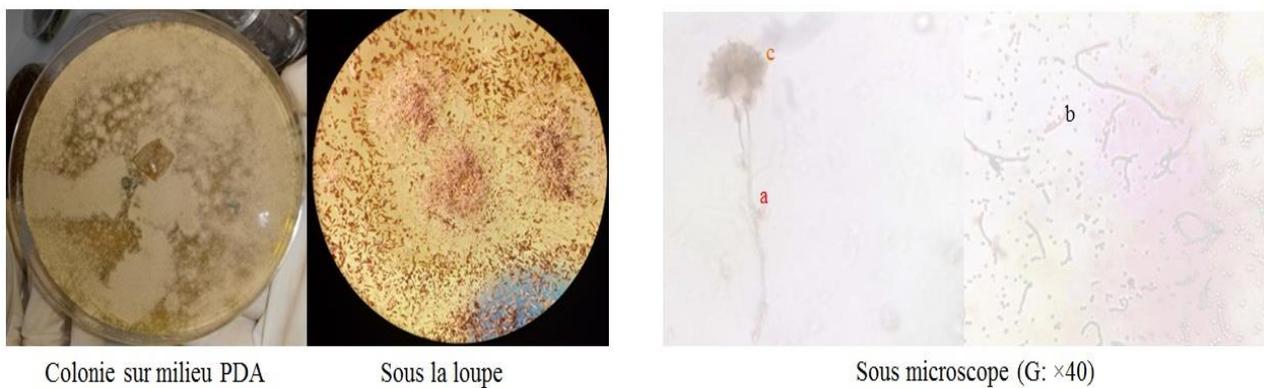


Figure 11 : Aspect macroscopique et microscopique d'*Aspergillus* sp. (a): Conidiophore. (b): Conidies. (c): Vésicule.

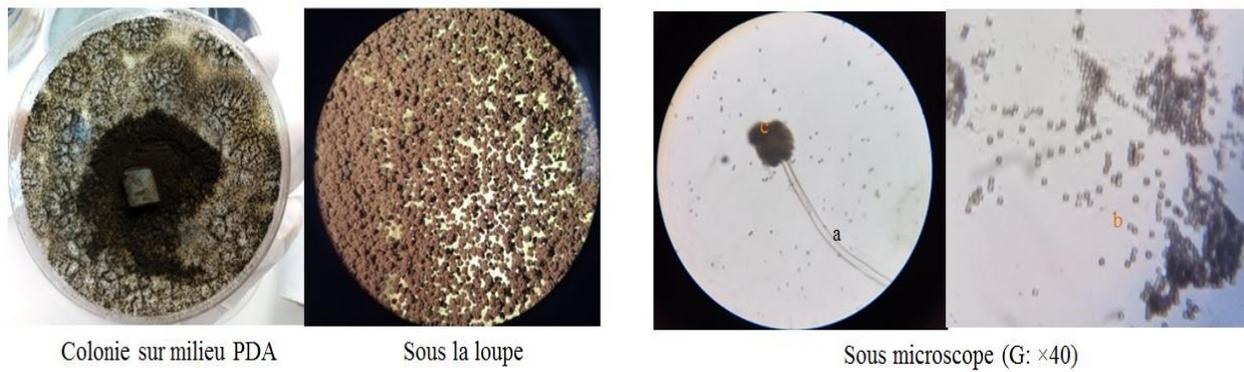


Figure 12 : Aspect macroscopique et microscopique d'*Aspergillus* sp. (a): Conidiophore. (b): Conidies. (c): Vésicule.

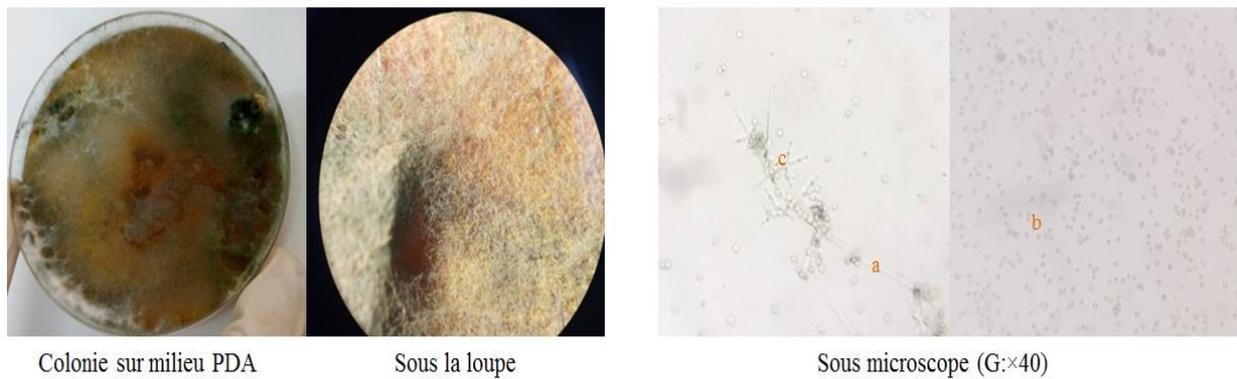


Figure 13 : Aspect macroscopique et microscopique de *Trichoderma* sp. (a): Conidiophore. (b): Conidies. (c) : Phialides.

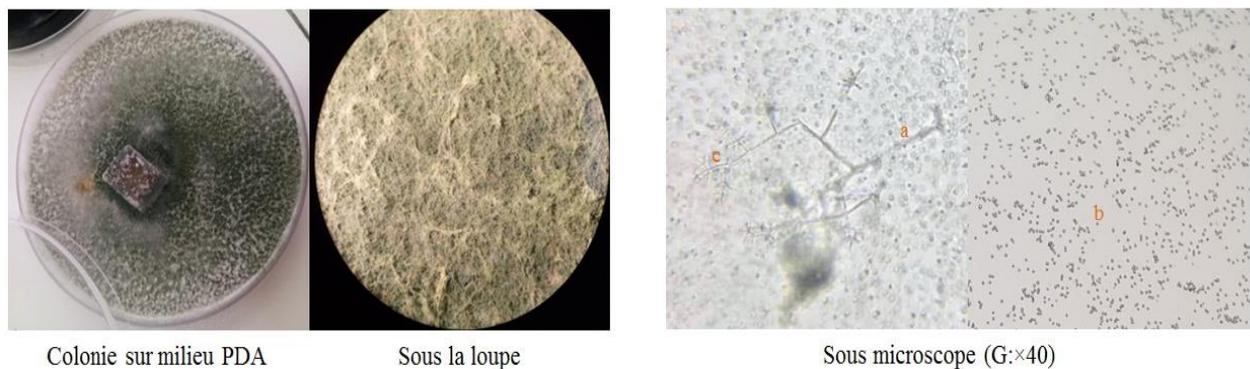


Figure 14: Aspect macroscopique et microscopique de *Trichoderma* sp.(a): Conidiophore. (b): Conidies. (c) : Phialides.

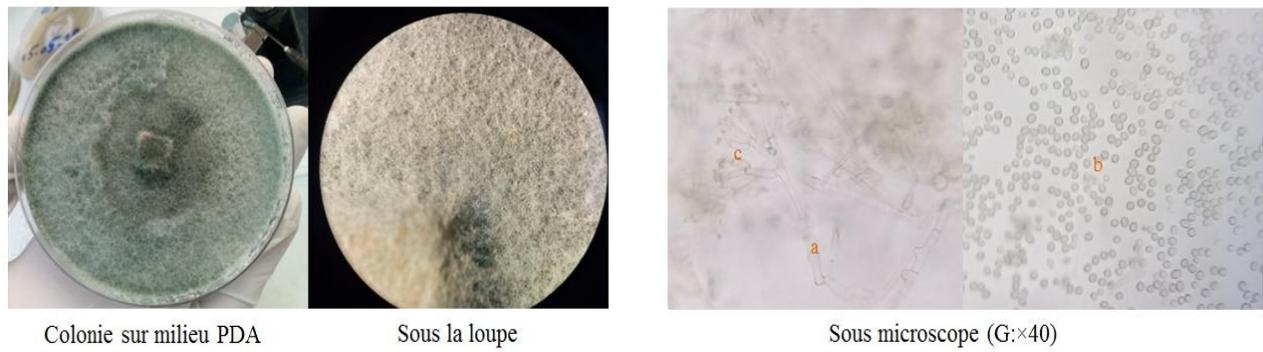


Figure 15: Aspect macroscopique et microscopique de *Penicillium* sp. (a): Conidiophore. (b): Conidies. (c) : Phialides.

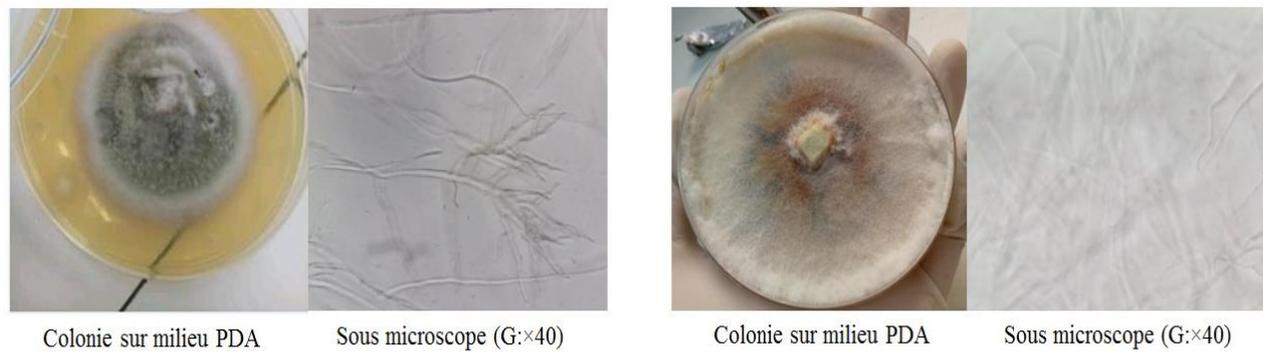


Figure 16: Aspect macroscopique et microscopique de mycélium stérile.

L'identification macroscopique et microscopique des champignons isolée de boue activée a mis en évidence 14 souches fongiques représentant trois genres différents: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, regroupés en deux classes d'Ascomycète et Deutéromycète.

Le groupe le plus abondant et fréquemment détecté dans la boue activée est le groupe 1 qui inclut 9 genres d'*Aspergillus* appartenant à la classe des Ascomycètes ont une large répartition géographique, mais sont plus souvent associés aux régions à climat chaud (**Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002**). Ils se développent sur la matière organique en décomposition (**Morin, 1994**).

Certaines espèces d'*Aspergillus* jouent un rôle dans l'épuration des eaux usées. Les études ont montré qu'*Aspergillus niger* avait un grand potentiel pour traiter les boues en améliorant les caractéristiques de dégradation, de sédimentation et de déshydratation des boues (**Fakhru'l-Razi et al., 2002 ; Alam et al., 2003 ; Alam et Fakhru'l-Razi, 2003; Jamal et al., 2005 ; Mannan et al., 2005 ; Fleury, 2007**).

Akhtar et Mohan (1995), ont signalé qu'*Aspergillus niger* avait une excellente capacité à concentrer les ions argent.

Le groupe 2 avec deux isolats de genre *Trichoderma* sp, ce genre appartenant à la classe des Deutéromycètes qui sont des saprophytes.

D'après **Felczak et al. (2016)**, Les espèces de *Trichoderma* sont capables de dégrader des contaminants complexes, tels que les insecticides, le polyéthylène et la cellulose, en utilisant des enzymes extracellulaires.

Le groupe 3 comprend le genre *Penicillium* sp, ce genre réunit des champignons filamenteux, appartenant au phylum des Ascomycètes (**Pitt, 1988**). Les espèces de *Penicillium* se développent normalement dans des milieux où l'activité de l'eau est plus élevée.

Selon (**Mannan et al., 2005**), le genre *Penicillium* sp peut produire l'antibiotique pénicilline, qui peut contribuer au contrôle des bactéries pathogènes présentes dans les boues activées. Les hyphes penicillium ont également une grande capacité à améliorer la bioconversion et à améliorer la déshydratation et la filtrabilité des boues activées. La plupart de ces champignons produisent des enzymes extracellulaires pour assimiler les hydrates de

carbone complexes sans hydrolyser, ce qui permet de dégrader divers polluants (**Novarina, 2015**).

Les résultats indiquent que la boue activée constituée un habitat pour la croissance et la sporulation de différents groupes de champignons, à la fois saprophytes, pathogènes et bénéfiques, nos résultats sont semblables avec celle de **Diener et al., (1976)**.

Par ailleurs le groupe 4 est un mycélium stérile, il n'a formé aucune forme de spores sexuée ou asexuée et son identification doit se faire par des techniques moléculaires.

Les informations sur les communautés fongiques dans les stations d'épuration des boues activées restent largement inexplorées (**Awad et Kraume, 2011**).

III.2.2.3 Test d'antagonisme

Trois souches (P'2, P'31, P'33) exercent une action inhibitrice vis-à-vis des champignons *Penicillium sp*, *Trichoderma sp*, *Aspergillus sp*. Le diamètre des colonies mycéliennes des champignons a été réduit fortement en présence des souches antagonistes de *Pseudomonas spp.* fluorescents, comparé au témoin non inoculé.

La croissance mycélienne enregistrée chez les témoins est nettement supérieure à celle enregistrée en interactions avec les souches bactériennes. En moyenne, le témoin *Penicillium sp*, *Trichoderma sp*, *Aspergillus sp* présentent des colonies dont le diamètre est de 8cm.

Tableau XI : Pourcentage d'inhibition de la croissance des champignons sur milieu PDA

<i>Pseudomonas. spp</i> fluorescents	<i>Trichoderma sp</i>	<i>Aspergillus sp</i>	<i>Penicillium sp</i>
<i>P'2</i>	52,5%	0%	0%
<i>P'31</i>	48%	0%	0%
<i>P'33</i>	45%	0%	0%

Tableau XII : Pourcentage d'inhibition de la croissance des champignons sur milieu King B

<i>Pseudomonas. spp</i> fluorescents	<i>Trichoderma sp</i>	<i>Aspergillus sp</i>	<i>Penicillium sp</i>
<i>P'2</i>	38,5%	29,6%	45%
<i>P'31</i>	38,5%	29,6%	42,5%
<i>P'33</i>	35,7%	29,6%	43,75%

Les souches bactériennes (P'2, P'31, P'33) testées vis-à-vis de *Penicillium sp*, *Trichoderma sp*, *Aspergillus sp* ont induit un taux d'inhibition varié de 29,6% à 45% sur le milieu King B.

Sur le milieu PDA les souches bactériennes (P'2, P'31, P'33) ont montré une activité antagoniste importante vis-à-vis de *Trichoderma sp* dans les proportions variantes de 45 à 52.5%, mais aucune inhibition des *Aspergillus sp* et *Penicillium sp* n'a été observé sur le milieu PDA.

La souche P'2 a présenté une activité antagoniste importante vis-à-vis de *Penicillium sp* sur le milieu King B et vis-à-vis de *Trichoderma sp* sur le milieu PDA.

Nous avons noté que l'inhibition de la croissance mycélienne par l'isolat P2 observée sur le milieu PDA suggère qu'elle n'est pas due à l'action des sidérophores, mais à d'autres mécanismes développés par la bactérie, à la différence de l'inhibition sur le milieu B de King, qui peut être liée à la synthèse de sidérophores.

L'activité antagoniste des *Pseudomonas spp.* fluorescents impliqué la production de pyoverdine.

Cette production est dépendante de la nature du milieu (**king et al., 1954**), en cas de carence en ions ferriques, la synthèse de pyoverdine est stimulé (**Ravel et Cornelis, 2003**). le milieu King B est un milieu carencé en fer, favorise la synthèse de la pyoverdine par les *Pseudomonas* fluorescents afin de chélater les ions ferriques et de les transporter (**Eyquem et al., 2000**), cette chélation réduit la disponibilité du fer pour les agents pathogènes, ce qui

provoque une diminution de leurs croissances (**Bloemberg et Lugtenberg ,2001; Persillo-Cartieux et al.,2003**). La différence dans l'activité antagoniste exercée par ces bactéries peut être expliquée par la production d'une ou plusieurs substances antimicrobiennes. Cela dépend de l'espèce, de la nature du métabolite ainsi que la quantité libérée dans le milieu utilisé (**Kamilova, Validov et al. 2005**).



Figure 17 : Test d'antagonisme *in vitro* : confrontation entre *Pseudomonas* spp. fluorescents et *Trichoderma* sp :(A) sur milieu **PDA**, (B) sur milieu **King B**

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Notre étude portée d'une part sur la caractérisation phénotypique de quelques souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents et des champignons isolées à partir des boues activées, ainsi que la mise en évidence de l'activité antagoniste de *Pseudomonas* spp. fluorescents *in vitro* vis-à-vis des souches fongiques isolés et d'autre part sur les analyses physico-chimiques des eaux usées (brutes et traitée) de la station d'épuration de la ville de Tipaza (Chenoua).

Concernant les résultats d'isolement et identification *Pseudomonas* spp. fluorescents à partir des boues activées, nous avons isoler 63 isolats dont 25 isolats proviennent du 1^{er} échantillon et 38 de 2^{ème} échantillon, après l'identifications de ces souches, nous avons obtenues 41 souches réparties en deux groupes physiologiques distinct, qui ont répondu d'une manière similaire par rapport aux trois premiers tests de la clé de **Bossis (1995)**.

l'identification biochimiques des 41 souches selon la clé discriminative, a permis d'identifier les espèces : *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Pseudomonas aurefaciens*, *Pseudomonas putida* ainsi que le groupe des souches intermédiaires entre *Pseudomonas putida* et *Pseudomonas fluorescens*.

L'isolement et identification des 14 isolats fongique dont 9 isolats proviennent du 1^{er} échantillon et 5 isolats de 2^{ème} échantillon isolés à partir des boues activées, selon la clé d'identification de **Watanabe, (1994) et Elis et al., (2007)**, les 14 souches fongiques représentant trois genres différents : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, regroupés en deux classes d'Ascomycète et Deutéromycète, et d'autres souches sont des mycéliums stérile.

L'essai d'antagonisme *in vitro* a montré que les souches bactériennes de *Pseudomonas* spp. fluorescents présentent des potentialités d'antagonisme considérables vis -à- vis des champignons *Aspergillus* sp, *Trichoderma* sp, *Penicillium* sp, sur les milieux King B et PDA. La réalisation de ce test a montré que nos souches antagonistes (P'2, P'31, P'33) inhibent la croissance mycélienne de façon significative sur le milieu King B, ce qui confirme que l'activité antagoniste dépend non seulement des souches bactériennes mais aussi des milieux de culture.

Les différents paramètres mesurés pour l'eau usée brute indiquent évidemment une pollution importante. Cette eau usée présente une température moyenne et un pH légèrement alcalin favorable à un traitement biologique. Elle se caractérise par une conductivité excessive, une DBO5 élevée ainsi que des fortes teneurs en azote organique.

Conclusion

Après le traitement biologique (eau usée traitée), la température et le pH ne varient pratiquement pas. Mais par contre on note une diminution de la conductivité électrique. Les paramètres relatifs à la pollution (DBO5, DCO, NH_4^+ , PT, PO_4^{-3} , NT) diminuent de façon importante entre les eaux usées brutes (où on enregistre les valeurs les plus élevées) et les eaux usées traitées (où on enregistre les valeurs les plus faibles), par contre les teneurs des nitrites et nitrates augmentent de l'entrée vers la sortie à cause du processus de nitrification qui transforme l'azote ammoniacal (d'où sa diminution) en nitrates (d'où leur augmentation), ce qui démontre un dysfonctionnement de traitement en terme d'élimination du nitrates. Les phosphates de l'eau usée sont utilisés, durant le traitement biologique, dans la métabolisation bactérienne, ce qui provoque la diminution des teneurs en phosphates de l'entrée à la sortie de la station d'épuration. Pour l'analyse physique des boues activées la quantité de MES dans les deux bassins d'aération ne dépassent pas le seuil autorisé, ce qui indique le bon fonctionnement de la STEP.

Les souches fongiques et les *Pseudomonas* spp. fluorescents isolées à partir des boues activées exercent un effet antagoniste et d'autres vivent en symbiose. Toute cette population joue un rôle important dans la nitrification et la dénitrification ainsi que la solubilisation de phosphate ce qui influence l'épuration des eaux par les boues activées.

Le traitement biologique par boues activées présente une efficacité très importante car les résultats de nos analyses ont largement confirmé le bon fonctionnement de la station.

Comme perspective, il serait souhaitable :

- De créer un bassin d'anoxie où se déroule la réaction de dénitrification pour permettre l'élimination des nitrates et nitrites.
- Améliorer la flore autochtone de boue activée par injection des populations microbiennes hautement épuratrices.
- Effectuer un traitement tertiaire permettant l'élimination des composés restant après le traitement secondaires.
- Explorer les recherches d'identification des microorganismes de boue activée basée sur les techniques de biologie moléculaire pour améliorer le processus de bio remédiation des boues.
- Compléter les analyses physicochimiques des effluents par un suivi de la qualité microbiologique au niveau de la STEP de Chenoua.

Référence bibliographique

Références bibliographiques

Akhtar, N.M.D., Mohan, P.M. (1995). Bioremediation of toxic metal ions from polluted lake waters and industrial effluents by fungal biosorbent. *Current Science* 69, 1028–1038.

Alam, M.Z., Fakhru'l-Razia, A. and Molla, A.H. (2003). Biosolids accumulation and biodegradation of domestic wastewater treatment plant sludge by developed liquid state bioconversion process using a batch fermenter. *Water Res* 37: 3569–3578.

Aubry, G. (2003). Enlèvement de l'azote des eaux usées par procédé à culture fixée immergée. Mémoire du grade maître des sciences. Québec. 161p.

Awad, M.F. and Kraume, M. (2011). Mycological survey of activated sludge in MBRs. 1 Blackwell Verlag GmbH. *Mycoses* 54. 493–498.

Baumont, S., Camard, J.P. et Lefranc, A. (2009). Réutilisation des eaux usées épurées : risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France. École nationale supérieure agronomique de Toulouse (ENSAT). 222p.

Baumont, S., Jean, P., Lefranc, A., Franconi, A. (2004). Réutilisation des eaux usées épurées : risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France. Institut d'aménagement et d'urbanisme de la région Ile-de-France. 169 P.

Belaid, N. (2010). Evaluation des impacts de l'irrigation par les eaux usées traitées sur les plantes et les sols du périmètre irrigué d'El Hajeb-Sfax: salinisation, accumulation et phytoabsorption des éléments métalliques. Thèse de doctorat. Université de Limoges. 236p.

Belgiorno, V., Luigi, R., Despofatta Claudio, D.R., Giusy, L., Anastasia N., Vincenzo, N. and Sureyya, M. (2007). Review on endocrine disrupting emerging compounds in urban wastewater: occurrence and removal by photocatalysis and ultrasonic irradiation for wastewater reuse. *Desalination*, 215: 166–176.

Bell-Perkins, L. J. et Lynch, J.M. (2002). Rhizosphere microbiology. In G. Bitton (ed.). *Encyclopedia of environmental microbiology*. A Wiley-Interscience Publication, Canada. p. 2713-2728.

Bliefert, C., Perraud, R. (2001). Chimie de l'environnement : Air, Eau, Sols, Déchets. Edition de Boeck.

Bloemberg, G.V. and Iugtenberg, B.j.j. (2001). Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4pp.343-350.

Bossis, E. (1995). *Les Pseudomonas fluorescents* de la rhizosphère : Etude taxonomique et effet sur la croissance de la tomate et du maïs, de la germination à la levée. Thèse doctorat. Université de Nante. France. 143p.

Bossis, E., Lemanceau, P., Latour, X. and Gardan, L. (2000). The taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas putida*: current status and need for revision. *Agronomie* .20: 51-63.

Botton, B., Breton, A., Fever, M., Gauthier, S., Guryplarpent, P., Reymondj, P., Sanglier, J.J., Vayssier, Y. et Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisible importance industrielle .Ed . MASSON 2 ème édition, Paris.

Bounoud, R. (2014). Contribution à l'étude physico-chimique et bactériologique des eaux de la station d'épuration du CHENOUA (W.TIPAZA) et possibilité de réutilisation après traitement. Mémoire de master. Université de Blida 1. 38p.

Campos, C. (2008). New perspectives on microbiological water control for wastewater reuse. *Desalination*, 218, 34–42.

Canler, J.P., Perret, J.M., Duchène, P., Cotteux, E. (1999). Aide au diagnostic des stations d'épuration par observation microscopique des boues activées. Cemagref Editions. Paris.

Cardot, C. (1999). Les traitements de l'eau – Procédés physico-chimiques et biologiques. Paris : Ellipses. 247 p.

Castegnaro, M., Pfohl-Leszkowicz, A. (2002). Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans La sécurité alimentaire du consommateur. Lavoisier. Tec et Doc.

Champion, A.B., Barrett, E.L. and Palleroni, N.J. (1980). Evolution in *Pseudomonas fluorescens*, *microbiology*, 485-511.

Cunin, R., Glansdorff, N., Pierarad, A. and Stalom, V. (1986). Biosynthesis and metabolism of arginine in bacteria. *Microbiology. Revue* 50:314-350.

Debieche, T. H. (2002). Évolution de la qualité des eaux (salinité, azote et métaux lourds) sous l'effet de la pollution saline. Agricole et industrielle. Thèse de doctorat. Université de Constantine. 235p.

Diener, U.L., Morgan-Jones, G., Hagler, W.M., Davis, N.D. (1976). Mycoflora of activated sewage sludge. *Mycopathologia* 58(2):115–116.

Digat, B. and Gardan, L. (1987). Caractérisation, variabilité et sélection des souches bénéfiques de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*. *Bull OEPP*. 17: 559-568.

Driss, B., Youssef, E., Ghizlane, Z., Okada, T., Lahcen, O., Brahim, J., Abdelatif, H., Hammou, A., Ouafae, B., Khadija, E., and Hamid, B. (2009): Caractérisation physico-chimique des eaux usées d'abattoir en vue de la mise en œuvre d'un traitement adéquat : cas de Kénitra au Maroc. *Afrique SCIENCE.*, 148, 199-216.

Drysdale, G.D., Kasan, HC, Bux, F. (1999). Denitrification by heterotrophic bacteria during activated sludge treatment. ISSN 0378-4738 .*Water SA* Vol. 25 No. 3.357-361.

Duguet, J.P., Bernazeau, F., Cleret, D., Gaid, A., Laplanche, A., Moles, J., Montiel, A., Riou, G., Simon, P. (2006). Réglementation et traitement des eaux destinées à la consommation humaine. 1ère édition. ASTEE (Association Scientifique et Technique pour l'environnement).

Eddabra, R. (2011). Evaluation de la contamination bactériologique des eaux usées des stations d'épuration des Grands Agadir : Isolement, caractérisation moléculaire et antibiorésistance des espèces de genre *Vibrio*. Stasbourg.

Edeline, F. (1988). L'épuration biologique des eaux résiduaires. Théorie et technologie. 3^{ème} éd. Cebedoc. Liège. Tee ET Dot-Lavoisier. Paris.

Elis, D., Davis, S., Alexiou, H., Handke, R. and Bartley, R. (2007). Description of medical fungi. 2^{ème} édition. South Australia. 204p.

EL Rhazi, O., Habib, R. (2007). L'utilisation des eaux usées épurées en irrigation. université cadi ayyad. faculté des sciences – Semlalia. Maroc. P23.

Ewquem, A., Montagnier, L. (2000). Traité de microbiologie clinique :deuxièmes mises à jour et compléments. PiccinNouvaLibraria. Italie. 238 p.

Fakhru'l-Razi, A., Alam, M.Z., Idris, A., Abd-Aziz, S., Molla, A.H. (2002). Filamentous fungi in Indah Water Konsortium (IWK) sewage treatment plant for biological treatment of domestic wastewater sludge. *Journal of Environmental Science and Health* 37 (3), 309–320.

Felczak, A., Bernat, P., Rozalska ,S., Lisowska ,K. (2016) .Quinoline biodegradation by filamentous fungus *Cunninghamella elegans* and adaptive modifications of the fungal membrane composition. *Environ SciPollutRes Int* 23:8872–8880.

Fleury, S. (2007). Method for Treatment of Sewage Plant Sludge by a Fungal Process. United States Patent, US007270751B2.

Gamble, T. N., Betlach, M. R. and Tiedje, J. M. (1977). Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils. *Applied and Environmental Microbiology* 33, 926-939.

Gaujous, D. (1995). La pollution des milieux aquatiques. aide-mémoire. Ed. Techniques et documentations. Lavoisier. Paris. 220p.

Gennaccaro, A.L., McLaughlin, M.R., Quintero-Betancourt, W., Huffman, D.E. and Rose, J.B. (2003). Infectious *Cryptosporidium parvum* oocysts in final reclaimed effluent. Application. *Environment. Microbiology.* 69, 4983–4984.

Gomella, C. Guerre. H. (1982). Les eaux usées dans les agglomérations urbaines ou rurales. Tomes I : La collecte. Edition : Eyrolles. Paris. 512 p.

Grosclaude, G. (1999). L'eau : usage et polluant. Tome II. 4eme Edition: INRA. Paris. 11p.

Guiraud, J. P. (1998). Microbiologie alimentaire. Ed DUNOD, Paris p25-380.

Hamoda, M.F. (2004). Water strategies and potential of water reuse in the south Mediterranean countries. *Desalination*, 165, 31-41.

Hildebrand, D., Schroth. M.N et Sand, D. C. (1988). Laboratory guide for identification of plants pathogens bacteria *pseudomonas.spp.* In Schaad N.W. Second edition. St. paul. Minnosota. APS. 60-77.

Hildebrand, D.C. (1988). Pectate and pectin gel for differentiation of *Pseudomonas sp.* And otherbacterial plant pathogens*Phytopathol.* 61: 1430- 1439.

Isabelle, B., Véronique, C., Michel, C., Jérôme, C., Christine, D., Hubert, D., Philippe, D., Brigitte, F., Elise, L., Roland, R., Olivier, S., Philippe, S. et Roland, W. (2013). Station d'épuration des eaux usées prévention des risque biologique.

Itim, M., El bar, Z. (2013).Caractérisation phénotypique de quelques souches de *Pseudomonas* spp. fluorescents et la mise en évidence de leur activité antagoniste vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f. sp. Lycopersici. Mémoire de master. Université de Blida 1. 49p.

Jacques, M. A. (1994). Ecologie quantitative et physiologie de la communauté bactérienne épiphyllé de *Cichorium endive* var. *latifoly*. Thèse de doctorat. Université Paris-sud-Orsay.France.111p.

Jamal, P., Alam, M.Z., Salleh, M.R.M., Akib, M.M. (2005). Sewage treatment plant sludge: a source of potential microorganism for citric acid production. American Journal of Applied Sciences 2 (8), 1236–1239.

Jonsthor, A. and Booth, C. (1982). Plants pathologist's pocket book, second edition, commonwealth mycological institue Kew. Surrey. England. 439p.

JORA. (2006). journal officiel de la république algérienne. Décret Exécutif n° 06-141 du 20 Rabie El Aouel 1427 correspondant au 19 Avril 2006. Section 1. Article 3.

Kamilova, F., Validov, S. (2005). Enrichment for enhanced competitive plant root tip colonizers selects for a new class of biocontrolbacteria.Environmental Microbiology 7(11): 1809-1817.

Khaldi, H. (2017). Etude de possibilité d'épuration des eaux usées par un mélange boues-micro-algues. Cas de la station d'épuration de Tiaret. Thèse de doctorat, Université Ibn Kheldoun de Tiaret. 151p.

King, E.D., Ward, M.K. and Raney, D.E. (1954). Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. J. Lab. Clin. Med. 44: 301-307.

Koren, H., Bisesi, M. (1996). Handbook of environmental health and safety. Principles and practices. Volume II. 3rd Edition. CRC Press. Boca Raton. Fl. Stats-Unis.

Kovacs, N., (1956). Identification of *Pseudomonas* pyocyanea by the oxidase reaction. Nature, 178-703.

Lattor, X. (1996). Effet de la plante et du sol sur la biodiversité des populations telluriques de *Pseudomonas spp.* Thèse de doctorat. Université de Bourgogne. 70p.

Lazarova, V., Gaid, A., Rodriguez-Gonzalez, J., AldayAnsola, J. (2003). L'intérêt de la réutilisation des eaux usées : analyses d'exemples mondiaux. TSM. Techniques science méthodes. Génie urbain génie rural 64-85.

Lelliot, R.A. and Stead, D.E. (1987). In: T.F. Preece (Ed). Methods in Plant pathology. Vol 2: Methods for diagnosis of Bacterial Diseases of Plants. Blackwell. Oxford. UK. 212p.

Macia-Vicente, J.G., Jansson, H.B., Mendgen, K. and Lopez-Lorca, L.V. (2008). Colonization of barely roots by endophytic fungi and their reduction of take-all caused by *Gaeumannomycesgraminis*var. tritici. Canadian journal of microbiology 54:600-709.

Mannan, S., Fakhru'l-Razi, A., Alam, M.Z. (2005). Use of fungi to improve bioconversion of activated sludge. Water Res 39:2935–2943.

Medjjah, T. (2014). Manuel d'auto surveillance. Société des eaux et d'assainissement d'Alger : station d'épuration CHENUA. SEAAL. 25p.

Metaclf, W., Eddy, C. (2003). Wastewaterengineering.4th.McGraw-Hill Inc, New york.

Metaclef, W., Tchobangulos, G. et Eddy, C. (1980). Wastewater engineering: treatment diesposal reuse. Central book company.

Mercenier, A., Simon, I.P., Vander wauven, C., Haas, D. and Stalon, V. (1980). Regulation of enzyme synthesis in the arginine deiminase path way of *Pseudomonas aeroginosa*. Bacveriol, revue 144: 159-163.

Merlin, C., Devers, M., Crouzet, O., Heraud, C., Steinberg, C. (2014) .Characterization of chlordecone-tolerant fungal populations isolated from long-term polluted tropical volcanic soil in the French West Indies. Environ SciPollut Res Int 21:4914–4927.

Montuelle, B. (1988). Application de la dégradation aérobie de la matière organique des eaux résiduaires-aspects microbiologiques. In : Biologie des eaux : méthodes et techniques. Masson. Paris.

Morin, O. (1994). *Aspergillus* et aspergilloses: biologie.Ed. Techniques Encyl. Med. Chir. (Elsevier, Paris). Maladies infectieuses 8-600-A-10.

Novarina, I. (2015). Identification of fungi in the activated sludge unit for the treatment of liquid waste in the textile processing industry. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON 1* (5): 993-997.

OMS. (1989). L'utilisation des eaux usées en agriculture et aquiculture. recommandation a visées sanitaires. Organisation Mondiale de la Santé. Genève.

ONA. (2011). Descriptif de fonctionnement et d'exploitation de la station d'épuration de Guelma. Ministère des Ressources en Eaux. Office National de l'Assainissement. Algérie. 64p.

Palleroni, N.J. (1984). Gram-negative aerobic rods and cocci: Family I: *Pseudomonadaceae*, Kreig, Holt, William and Wilkings. Eds., *Bergey's manual of bacteriology*, William and Wilkings, Baltimore, p 141-168.

Palleroni, N.J. (1992). Introduction to the family *Pseudomonadaceae*. The procaryotes. Springer verlag. New York, 3071-3085.

Paulsrud, B. et Haraldsen, S. (1993). Experiences with the Norwegian approval system for small waste water treatment plants. *Wat. Sc. Techn.* vol. 28. n° 10. pp. 25-32.

Peavy, H.S., Rowe, D.R. and Technology, G. (1985). *Environmental Engineering* Mc Graw Hill Publishing Company Ltd, pp11-46.

Persello-Cartieaux, F., Nussaume, L. and Robaglia, C. (2003). Tales from the underground : Molecular plant-rhizobacteria interaction. *Plant cell Environ.* 26p. 189-199.

Pitt, J.I. (1988). An appraisal of identification methods for *Penicillium* species. Novel taxonomic criteria based on temperature and water relations. *Mycology* 65, 1135-1157.

Ravel, J. and Cornelis, P. (2003). Genomics of pyoverdine mediated iron uptake in Pseudomonads. *Trends Microbiol.* 11p. 195-200.

Raszka, A., Chorvatova, M., Wanner, J. (2006). Le rôle et l'importance des polymères extracellulaires dans les boues activées. Partie I: revue de la littérature. *Acta Hydrochim Hydrobiol* 34: 411-424.

Resjeck, F. (2002). Analyse des eaux, aspects réglementaires et techniques. Edition: SCERENE. p. 166-198.

Rodier, J. (2005). L'analyse de l'eau: eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8ème Edition. Dunod. Paris.

Rodier, J., Bazin, C., Broutin, J.P., Chambon, P., Champsaur, H. et Rodi, L. (2005). L'analyse de l'eau. Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 8ème édition. Ed. Dunod, Paris. 1383p.

Rodier, J., Legube, B., Merlet, N., Brunet, R. (2009). L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 9^{ème} Édition. 1383 P.

Salghi, R. (2001). Différentes filières de traitement des eaux. Université Ibn Zohr Rabat. p22.

Salghi, R. (2010). Différents filières de traitement des eaux université Ibn Zohr Ecole Nationale des Sciences Appliquées d'Agadir. 220p.

Salvado, H., Gracia, M.P., Amigo, J.M. (1995). Capability of ciliated protozoa as indicators of effluent quality in activated sludge plants. Water Res. 29. 1041-1050.

Smolders, G. J. F., Van der Meij, J., Van Loosdrecht, M. C. M., and Heijnen, J. J. (1994). "Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process: Stoichiometry and pH influence." Biotechnol. Bioeng., 43, 461–470.

Shoesmith, J. G. and Sherris, J. C., (1960). Studies on the mechanism of arginine-activated motility in a *Pseudomonas* strain. J Gen. Microbiol. 22: 10- 24.

Stanier, R.Y., Palleroni, N.J. and Doudoroff, M. (1966). The aerobic pseudomonads, a taxonomic study. J. Gen. Microbiol. 43: 159-271.

Stewart, M. (1988). Computer image processing of electron micrographs of biological structures with helical symmetry. J. Electron. Microsc. Tech. 9(4):325-358.

Strous, M., Kuenen, J. G., Fuerst, J. A., Wagner, M. and Jetten, M. S. M. (2002). The anammox case A new experimental manifesto for microbiological eco-physiology. Antonie van Leeuwenhoek, 81, 693–702.

Suschka, J., Ferreira, E. (1986). Activated sludge respirometric measurements. Water Research. 20. 2. 137-144.

Thornely, M.J. (1960). Differentiation of *Pseudomonas* from other Gram-negative bacteria in the basis of arginine metabolism. Application bacteriology. Revue 23: 37-52.

Toze, S. (2006). Reuse of effluent water benefits and risks. *Agricultural Water Management* 80, 147–159.

Urios, L. (2005). *Technique D'épuration des eaux usées*. Technique et documentation. Paris.

Vincent, M.N., Harrison, L.A., Brackin, J.M., Kovacevich P.A., Mukerji, P. and Weller, D.M. (1991). Genetic analysis of the antifungal activity of a soil borne *Pseudomonas aureofaciens* strain. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 2928–2934.

Wanner, J. and Grau, P. (1988). Filamentous bulking in activated sludge systems. *Water Sci. Tech.* 20(4/5) 1-8.

Watanabe, T. (2011). Pictorial atlas of soil and seed fungi, second edition, morphologies of cultured fungi and key to species, 484p.

Yan, S., Bala, S., Surampalli, R.Y., Narasiah, S. and Tyagi, R.D. (2007). Isolation, Characterization, and Identification of Bacteria from Activated Sludge and Soluble Microbial Products in Wastewater Treatment Systems. *Pract. Period.Hazard.Toxic Radioact. Waste Manage.* 240-258.

Annexes

ANNEXES

Annexes

Annexe 01

❖ Les milieux de cultures :(Composants g/ litre)

PDA (Potato Dextrose Agar) (Johnston et Booth, 1982)

Glucose	20,0 g
Agar	15,0 g
Pommes de terre	200 g
Eau distillée	1000ml

pH=7, Autoclavé pendant 20min à 120°C

Milieu King B (King et al., 1954)

Agar purifié	15 g
Peptone bactériologique	20 g
Glycérol	15 g
K ₂ HPO ₄	1, 5 g
MgSO ₄	1, 5 g
Eau distillée	1000ml

pH=7,2 Autoclavé pendant 20min à 120°C

Milieu levane (Hildbrandet *al.*, 1988)

Extrait de levure	2 g
BactoPeptone	5 g
NaCl	5 g
Saccharose	50 g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml

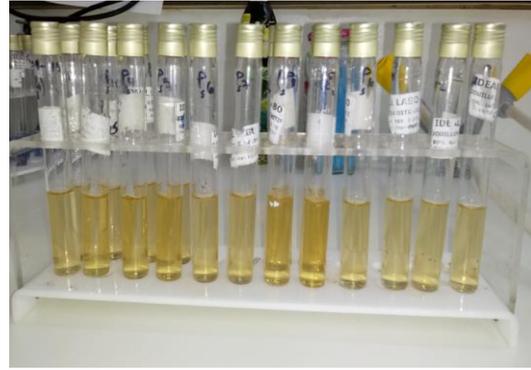
pH=7 Autoclavé pendant 20min à 120°C



Annexes

Milieu gélatine (Gardan et Luisetti, 1981).

Extrait de levure	3 g
Bacto Peptone	5 g
Gélatine	120 g
Eau distillée	1000 ml
pH=7 Autoclavé pendant 20min à 120°C	



Milieu nitrate (Eau peptonée nitraté) (Gardan et Luisetti, 1981)

Bactopeptone	10 g
Nitrate de potassium	1 g
Eau distillée	1000 ml
pH=7,2 Autoclavé pendant 20min à 120°C	

- Réactif A :

Acide sulfurique	3 g
Acide acétique	5N/100M

- Réactif B :

Naphtylamine	0.6 ml
Acide acétique	5N/100M



Annexes

Annexe 02

Tableau 01 : Liste des produits chimiques

Nom	Utilisé pour	Image
<p>LCK 314 gamme (15 à 150 mg/l DCO)</p> <p>LCK 114gamme (150 à 1000 mg/l DCO)</p>	<p>Les faibles concentrations de DCO</p> <p>Les fortes concentrations de DCO</p>	
<p>LCK 339 gamme(0.23 à13.50 mg/l NO₃-N)</p>	<p>Déterminer la teneur de NO₃-N</p>	
<p>LCK 341 gamme (0.015 à0.6 mg/l NO₂-N)</p> <p>LCK 342 gamme (0.6 à6.0 mg/l NO₂-N)</p>	<p>Déterminer la faible concentration de NO₂-N</p> <p>Déterminer la forte concentration de NO₂-N</p>	

Annexes

<p>LCK 303gamme (2 à 47 mg/l NH₄-N) LCK 305gamme (1 à 12 mg/l NH₄-N)</p>	<p>Déterminer la forte concentration de NH₄-N Déterminer la faible concentration de NH₄-N</p>	
<p>LCK 348gamme (0.5-5 mg/l PT) LCK 350gamme (2-20 mg/l PT)</p>	<p>Déterminer la faible concentration de PT Déterminer la forte concentration de PT</p>	
<p>LCK338gamme (20-100 mg/l NT) LCK238gamme (5-40 mg/l NT)</p>	<p>Déterminer la forte concentration de NT Déterminer la faible concentration de NT</p>	
<p>Solution étalon PH4 Solution étalon pH 7 Solution étalon pH 9</p>	<p>Calibrage du pH mètre</p>	

Annexes

Nitrate réductase 1 Nitrate réductase 2	La recherche de l'enzyme nitrate réductase	
Réactif de Kovacs	La mise en évidence de la production d'indole	
Pastilles hydroxyde de sodium	Absorber le CO ₂ dégagé par le microorganisme	
Solution chlorure de potassium	Calibrage les appareillages des mesure	

Tableau 2: les appareillages de laboratoire de contrôle des rejets CHENOUA –TIPAZA-

 <p>A spectrophotometer with a grey and black body and a blue screen. The model number 'DR 3900' is visible on the top right of the screen area.</p>	 <p>A black thermostat with two clear plastic reservoirs on top and a digital display on the front showing '18.00'.</p>	 <p>A white pH meter with a digital display showing '8.10' and several control buttons below the screen.</p>
Spectrophotométrie	Thermostat	pH mètre

Annexes



Balance analytique



Centrifugeuse



Conductimètre



Dessiccateur



Distillateur



Etuve



Four à moufle



Incubateur



Pompe sous vide

Annexes

Tableau 03 : Les appareils de laboratoire de microbiologie PFE (Projet de Fin d'étude)

 <p>A blue magnetic stirrer with a black stir bar and a power cord, sitting on a white surface.</p>	 <p>A large, white, cylindrical autoclave with a lid and various control knobs and handles.</p>	 <p>A white digital precision balance with a stainless steel weighing pan, placed on a white lab bench.</p>
Agitateur magnétique	Autoclave	Balance de précision
 <p>A glass Bunsen burner with a metal base and a glass chimney, sitting on a white surface.</p>	 <p>A white and red BINDER incubator with a black handle and a control panel on top.</p>	 <p>A green metal UV lamp with two black rectangular viewing windows and a handle.</p>
Bec bunsen	Etuve	Lampe UV
 <p>A white binocular loupe with two eyepieces and a lens, sitting on a white surface.</p>	 <p>A black optical microscope with a base labeled 'OPTIKA', sitting on a white surface.</p>	 <p>A red digital heating plate with a stainless steel top and a digital display on the front.</p>
Loupe	Microscope optique	Plaque chauffante

Annexes

❖ Les verreries

- Bécher
- Pipettespasteur
- Pipette stérile
- Eprouvette graduée
- Fiole
- Entonnoir
- Erlenmeyer
- Flacons stérile
- Portoir
- Seringue stérile
- Boîtes de pétries
- Creuset
- Support de séchage
- Pince
- Bouteilles BOD Trak II
- Micropipette
- Tubes à essai
- Spatule
- Anse de platine
- Barreau magnétique
- Lames et lamelles



Verreries utilisées

Annexes

Tableau 4 : Les valeurs limite des paramètres de rejet dans un milieu récepteur (journal officiel de la république algérienne, 2006)

Paramètre	Unité	Valeur limite
Température	C°	30
pH	-	6,5 à 8,5
DBO5	mg /l	35
DCO	mg /l	120
Azote	mg /l	30
Phosphates	mg /l	2
Phosphore total	mg /l	10

Tableau 5 : Répartition des souches *pseudomonas* spp. fluorescents dans des groupes physiologiques selon les tests biochimiques déterminatifs

	code	fluorescence	oxydase	Gélatine	levane	ADH	NR
1^{ere} échantillon	Ps2	+	+	+	+	+	+
	Ps4	+	+	+	+	+	+
	Ps5	+	+	+	+	+	+
	Ps8	+	+	+	+	+	+
	Ps10	+	+	-	+	+	+
	Ps11	+	+	-	+	+	+
	Ps12	+	+	+	+	+	+
	Ps13	+	+	+	+	+	+
	Ps14	+	+	-	+	+	+
	Ps15	+	+	-	+	+	+
	Ps19	+	+	-	+	+	+
	Ps20	+	+	-	+	+	+
	Ps23	+	+	-	+	+	+
	Ps25	+	+	-	+	+	+
	Ps27	+	+	+	+	+	+
	Ps28	+	+	+	+	+	+
Ps29	+	+	+	+	+	+	
2^{eme} échantillon	P'1	+	+	+	+	+	+
	P'2	+	+	-	+	+	+
	P'3	+	+	+	+	+	+
	P'4	+	+	-	+	+	+
	P'5	+	+	+	+	+	+
	P'11	+	+	+	+	+	+
	P'13	+	+	+	+	+	+
	P'16	+	+	+	+	+	+
	P'17	+	+	+	+	+	+
	P'18	+	+	-	+	+	+
	P'19	+	+	+	+	+	+
	P'20	+	+	+	+	+	+
P'21	+	+	+	+	+	+	

Annexes

P'22	+	+	+	+	+	+
P'23	+	+	+	+	+	+
P'24	+	+	+	+	+	+
P'25	+	+	+	+	+	+
P'26	+	+	+	+	+	+
P'27	+	+	-	+	+	+
P'29	+	+	+	+	+	+
P'31	+	+	+	+	+	+
P'33	+	+	+	+	+	+
P'36	+	+	-	+	+	+
P'38	+	+	-	+	+	+

NR : Nitrate réductase

ADH : Arginine dihydrolase