

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologie Agro-écologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de master2

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Thème

Caractérisation de quelques champignons filamenteux dépolluants des eaux usées

Présenté par :

Date de soutenance : 12.07.2023

* ZEHARAOUI FATIMA EL ZAHRA

* TAILEB CHAIMA

Devant le jury composé de :

Membres	Grade	/ Lieu	Qualité
F.BENSAID	MCA	USDB1	Président
N.BENOUSAID	MCA	USDB1	Examinatrice
F.AMMAD	MCA	USDB1	Promotrice
M.CHADOULI	STEP	Benimered	CO-Promoteur

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

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

On souhaite, tout d'abord, remercier notre promotrice madame **AMMAD FAIZA**, maitre de conférence (MCA), à l'université de 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 **BENSAID** maitre de conférence (MCA), à l'université de BLIDA 1 qui nous a fait l'honneur de présider le jury, Dr **BENOUSSAID** maitre de conférence (MCA), à l'université de BLIDA 1,

Nous adressons également nos profonds remerciements à notre Co-promoteur monsieur **CHADOULI** responsable de l'aboratoire de la station d'épuration des eaux usées de la commune de BENI MERED la wilaya de BLIDA, pour vouloir codiriger nos travaux.

Nous tenons à remercier **Mr TEFAHI** ingénieur de laboratoire d'hygiène BLIDA Pour nous aider à compléter nos recherches en fournissant tous les matériels nécessaires.

Nous tenons à remercier tous les enseignant de la spécialité biotechnologie microbienne, pour tous leur efforts et pour tous les meilleurs moments que nous avons passé avec vous.

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.

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 " FARIDA " et mon père " RACHID " 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.

A L'inoubliable KHALED et ARAB *رحمهما الله*

A Mes frères " ABDELOUADOUD et HEVA et KHAOULÄ pour ces encouragements et ses prières pour moi tout le long de mes années d'étude.

A toute mes tantes " SAMIA , RADIA, AMEL, HADJIRA " et mes oncles " MOHAMED, HOUCINE, FATHI , LHADI, ABDERAHMANE " qui toujours encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire.

A Mes chères cousins les plus près dans mon cœur " WISSEM , HAFIDAH, CHERIF .

A Mes belles amies " SIRINE , ZOLA, YASMINE, WISSEM , HALA , RAOUNEK, MERIAM " .

A ma chère binôme " CHAÏMA " Merci pour tous ces agréables moments passés ensemble.

A tout la promotion de Master 2 Biotechnologie Microbienne

A tous ceux qui m'aiment et que j'aime

fatima el zahra

Dédicace

A ma chère mère "Khadidja"

Qui par ses sacrifices consentis et son affection profonde m'a toujours guidé sur la voie du succès,
Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance

A mon cher père "Lakhder"

Qui m'a toujours transmis l'amour du travail et le sens du perfectionnisme et Qui m'a toujours
encadré avec beaucoup d'amour et d'attention, Que Dieu le bénisse

A Mes frères "Ayoub, Amal, Safia, Nadia, Roumaïssa" pour ces encouragements et ses prières pour
moi tout le long de mes années d'étude.

A L'inoubliable "BABA CHIKH MOHAMED" رحمه الله

A ma belle sœur "loubna"

Pour ses soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

Ma nièce : MARIA

Pour leurs amours et leurs encouragements

A mes chères amies plus près dans mon cœur "FERIEL", "AHLAM", "HANA" et "FELLA"

Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

A ma chère binôme "FATIMA"

Pour sa entente et sa sympathie. Pour leurs indéfectibles soutiens et leurs patiences infinies.

A tout la promotion de master 2 Biotechnologie Microbienne

A tous ceux qui m'aiment et que j'aime

Chaima.

Résumé

Cette étude est basée sur la caractérisation des quelques champignons dépolluants des eaux usées de la STEP (Station d'épuration) de Benimered (wilaya de Blida, Algérie). Nous avons étudié quelques paramètres physico-chimiques des eaux usées brute et traitées, ainsi que quelques paramètres microbiologiques des boues activées (caractérisation macroscopiques, microscopiques) dans le but d'identifier la microflore fongique.

Les résultats des analyses physico-chimiques montrent que les MES (matière en suspension) présentent une moyenne de 2 à 4 g/l, la demande biologique en oxygène (DBO5) avec une moyenne de 2,83 mg/l, la demande chimique en oxygène (DCO) avec une moyenne de 6,0 mg/l, et concernant les nitrates avec une moyenne, l'azote ammoniacal (NH₄⁺) avec une moyenne 1 à 12 mg/l, l'azote total avec une moyenne de 5 à 40 mg/l et le phosphore total avec une moyenne de 0.5 à 5 mg/l, diminuent d'une façon importante entre les eaux usées brute et les eaux usées traitées, ce qui indique un bon fonctionnement de la STEP. Les résultats des analyses fongiques montrent la présence de différentes espèces fongiques recherchées (*Alternaria sp*, *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Trichoderma sp*), à travers ces résultats, nous pouvons déduire que les boues activées jouent un rôle important dans le traitement biologique des eaux usées parce qu'elle englobe une microflore importante qui favorise la dégradation de la matière organique.

L'essai de synergie *in vitro* a montré que les champignons *Aspergillus sp*, *Trichoderma sp* présentent des potentialités de synergie considérables vis-à-vis des souches bactériennes de *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, sur les milieux MH (Mueller-Hinton) et PDA (Potao Dextrose Agar), par contre chez *Bacillus thuringiensis* n'a montré aucun résultats. 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 : Analyse physique-chimique, Boues activées, Eaux usées. Epuration. Microorganismes et Pollution.

Abstract

Characterization of some filamentous fungi depolluting wastewater

This study is based on the characterization of some depolluting fungi of wastewater from the STEP (Wastewater treatment plant) of Benimed (wilaya of Blida, Algeria). We studied some physico-chemical parameters of raw and treated wastewater, as well as some microbiological parameters of activated sludge (macroscopic, microscopic characterization) in order to identify the fungal microflora.

The results of the physico-chemical analyzes show that the SS (suspended matter) has an average of 2 to 4 g / l, the biological oxygen demand (BOD₅) with an average of 2.83 mg / l, the chemical oxygen demand (COD) with an average of 6.0 mg/l, and concerning nitrates with an average, ammoniacal nitrogen (NH₄⁺) with an average of 1 to 12 mg/l, total nitrogen with an average of 5 to 40 mg/l and total phosphorus with an average of 0.5 to 5 mg/l, decrease significantly between raw wastewater and treated wastewater, which indicates that the WWTP is functioning properly. The results of the analyzes fungal shows the presence of different fungal species sought (*Alternaria* sp, *Aspergillus* sp, *Penicillium* sp, *Trichoderma* sp), through these results, we can deduce that activated sludge plays an important role in the biological treatment of wastewater because it includes an important microflora that promotes the degradation of organic matter.

The in vitro synergy test showed that the fungi *Aspergillus* sp, *Trichoderma* sp have considerable synergy potential with respect to bacterial strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*, on MH (Mueller-Hinton) and PDA (Potao Dextrose Agar), on the other hand in *Bacillus thuringiensis* did not show any results. .

Keywords: Activated sludge, Microorganisms, Physico-chemical analysis, Pollution, Purification and Wastewater.

ملخص

توصيف بعض الفطريات الخيطية التي تظهر تلوث مياه الصرف الصحي

تستند هذه الدراسة إلى توصيف بعض الفطريات المسببة للتلوث في مياه الصرف الصحي من محطة معالجة مياه الصرف الصحي STEP (محطة معالجة مياه الصرف الصحي) في بنيميد (ولاية البلدية ، الجزائر). درسنا بعض المعايير الفيزيائية والكيميائية لمياه الصرف الصحي الخام والمعالجة ، وكذلك بعض المعايير الميكروبيولوجية للحماة المنشطة (التوصيف الميكروسكوبي) من أجل التعرف على البكتيريا الفطرية. تظهر نتائج التحليلات الفيزيائية والكيميائية أن SS (المادة المعلقة) لديها متوسط 2 إلى 4 مغ / لتر ، والطلب البيولوجي للأكسجين (BOD5) بمتوسط 2.83 مغ / لتر ، والطلب الكيميائي للأكسجين (COD) بمتوسط 6.0 مغ / لتر ، وهذه عبارة عن نترات بمتوسط نيتروجين أمونيا (NH₄ +) بمتوسط 1 إلى 12 مغ / لتر ، إجمالي النيتروجين بمتوسط 5 إلى 40 مجم / لتر وإجمالي الفوسفور مع كمية من 0.5 إلى 5 مغ / لتر ، دائمًا بشكل كبير بين جميع أنواع الحيوانات الوحشية وجميع أنواع الصفات ، لأن هذا يشير إلى التشغيل السليم لـ *Trichoderma sp* ، *Penicillium sp* ، *Aspergillus sp* ، *Alternaria sp* ، من خلال هذه النتائج ، لا نحتاج إلى معرفة أنشطة الحماة التي تعني دورًا مهمًا في المعالجة البيولوجية لجميع استخداماتها. العضو المادي.

أظهر اختبار synergy في المختبر أن الفطريات *Trichoderma sp* و *Aspergillus sp* لديها إمكانات كبيرة للتفاعل فيما يتعلق بالسلاسل البكتيرية من *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* على (MH (Mueller-Hinton) و (PDA (Potao Dextrose Agar) ، من ناحية أخرى في لم تظهر *Bacillus thuringiensis* أي نتائج.

الكلمات المفتاحية: التحليل الفيزيو-كيميائي ، التلوث، الحماة المنشطة ، الكائنات الدقيقة، طهارة مياه الصرف الصحي.

Listes des tableaux

Tableau 1	Analyses physico-chimiques des eaux usées prélevées à l'entrée et à la sortie (pH, T, CE)	22
Tableau 2	Analyses physico-chimiques des eaux usées prélevées à l'entrée et à la sortie (DCO, DBO5)	23
Tableau 3	Analyses physico-chimiques des eaux usées prélevées à l'entrée et à la sortie (NO ₂ ⁻ , NO ₃ ⁻ , NH ₄ +NT, PO ₄ , PT)	25
Tableau 4	Les résultats d'analyses des boues activées	26
Tableau 5	Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés	26
Tableau 6	Caractéristiques microscopiques des isolats purifiés	29

Listes des figures

Figure 1	Station d'épuration de Béni Mered.....	11
Figure 2	Aspect macroscopique de <i>Altenaria</i> sur milieu PDA, isolé à partir de la boue activée.....	27
Figure 3	Aspect macroscopique de <i>Aspergillus sp</i> sur milieu sabouraud+clorphénicol, isolé à partir de la boue activée.....	27
Figure 4	Aspect macroscopique de <i>Aspergillus sp</i> sur milieu sabouraud+clorphénicol, isolé à partir de la boue activée.....	28
Figure 5	Aspect macroscopique de <i>Penicillium</i> sur milieu PDA, isolé à partir de la boue activée.....	28
Figure 6	Aspect macroscopique de <i>Trichoderma sp</i> sur milieu sabouraud+clorphénicol, isolé à partir de la boue activée.....	28
Figure 7	Aspect microscopique de <i>Alternaria sp</i> (G : X100).....	29
Figure 8	Aspect microscopique <i>Aspergillus sp</i> (G : X100).....	30
Figure 9	Aspect microscopique de <i>Aspergillus sp</i> (G : X100).....	30
Figure 10	Aspect microscopique de <i>Penicillium sp</i> (G : X100).....	30
Figure 11	Aspect microscopique de <i>Trichoderma.sp</i> (G : X100).....	31
Figure 12	Résultat de cynergie de souche fongiques <i>Aspergillus sp</i> et souche bactérienne <i>Bacillus thuringiensis</i> par technique des cylindres.....	33
Figure 13	Résultat de cynergie de souche fongiques <i>Aspergillus sp</i> et souche bactérienne <i>E.coli</i> par technique de cylindres.....	33
Figure 14	Activité de cynergie de souche fongiques <i>Aspergillus niger</i> et souche bactérienne <i>P.aeruginosa</i> par technique des cylindres.....	34
Figure 15	Activité antagonisme de souche fongiques <i>Trichoderma sp</i> et souche bactérienne <i>Bacillus thuringiensis</i> par technique des cylindres.....	34
Figure 16	Activité de cynergie de souche fongiques <i>Trichoderma sp</i> et souche bactérienne <i>E.coli</i> par technique des cylindres.....	35

Figure 17	Activité de synergie de souche fongiques <i>Trichoderma</i> sp et souche bactérienne <i>P.aeruginosa</i> par technique des cylindres.....	35
Figure 18	Activité de synergie de filtra d' <i>Aspergillus</i> sp souche bactérienne <i>Bacillus thuringiensis</i> sur milieu MH.....	36
Figure 19	Activité de synergie de filtra d' <i>Aspergillus</i> sp souche bactérienne <i>E.coli</i> sur milieu MH.....	37
Figure 20	Activité de synergie de filtra d' <i>Aspergillus</i> sp souche bactérienne <i>P.aeruginosa</i> sur milieu MH.....	37
Figure 21	Activité de synergie de filtra de <i>Trichoderma</i> sp souche bactérienne <i>Bacillus thuringiensis</i> sur milieu MH.....	38
Figure 22	Activité de synergie de filtra de <i>Trichoderma</i> sp souche bactérienne <i>E.coli</i> sur milieu MH.....	38
Figure 23	Activité de synergie de filtra de <i>Tricoderma</i> .sp etsouche bactérienne <i>P.aeruginosa</i> sur milieu MH.....	39

Liste des abréviations

BA : boue activé
CE : conductivité électrique.
EB : d'eau usée brute
ET : eau usée traité
DBO5 : Demande Biochimique en Oxygène.
DCO : Demande Chimique en Oxygène.
ERI: Eau Résiduaire Industriel.
ERU: Eau Résiduaire Urbain.
EPS : substances polymères extracellulaires
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.
NH₄⁺ Ammonium
NH₂- Nitrite
NH₃- Nitrate
O₃ : ozone
OMS: Organisation Mondiale de la Santé.
ONA : Office National de Assainissement.
PHA: Polyhydroxyalcanoate.
STEP: Station d'épuration.

Remerciements

Dédicace

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Tables des matières

Introduction02

Chapitre I : parti bibliographique

I.1.Origine des eaux usée05

I.2 Caractéristiques des eaux usées.....05

I.3.Composition des eaux usée.....05

I.3.1. Les substrats polluants des eaux usées.....05

I.3.2.La flore microbienne des eaux usée06

I.3.3 Les processus métaboliques de la flore microbienne des eaux usée06

I.4 Les procédés de traitements des eaux usées.....06

I.5.Téchnique d'épuration des eaux usées.....07

I.5.1. Structure de la boue activée.....07

I.5.2. Les techniques intensives (boue activée)08

I.6.Microorganismes responsables de la plupart des processus clés dans les boues activée..... 08

I.6.1.Les microorganismes responsables de l'élimination du MOS08

I.6.2.2.Les microorganismes responsables de l'élimination du phosphore.....08

I.6.2.3.Microorganismes responsables de l'élimination de l'azote (nitrification et dénitrification)09

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1.Présentation de la station d'épuration de (STEP) de Béni Mered (Blida, Algerie).....11

II.2.Matériel et méthode.....12

II.3.Les analyses physico-chimiques des eaux usées.....	12
II. 3.1.Mesure de la température.....	12
II.3.2.Mesure du potentiel d'hydrogène (pH).....	13
II.3.3.Mesure de la conductivité électrique.....	13
II.3.4.Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO).....	13
II.3.5.Détermination de la demande biochimique en oxygène(DBO5).....	13
II.3.6.Dosage de l'azote ammoniacal par méthode Kit Hach LCK303/LCK 305.....	13
II.3.7.Dosage des nitrites (N-NO ₂) par méthode KIT Hach LCK 341.....	13
II.3.8.Dosage des nitrates (N-NO ₃) par méthode kit Hach LCK339.....	14
II.3.9.Dosage d'azote Total (NT) par méthode Kit Hach LCK338/LCK238.....	14
II.3.10.Dosage de Phosphate Total (PT) par méthode Kit Hach LCK 350/348.....	14
II.4.Caractérisation physique et microbiologique des boues activées	14
II.4.1.Analyse physique de boue activée.....	14
II.4.1.1.Détermination des matières en suspension (MES)	14
II.4.2.Analyse microbiologique des boues activée.....	15
II.4.2.1.Isolement des champignons dépolluant (<i>Alternaria,Aspergillus</i> <i>sp, Penicillium.sp,Trichoderma.sp</i>).....	15
II.4.2.3.Purification des souches	15
II.5.Caractérisation macroscopique et microscopique.....	15
II.5.1.Caractérisation macroscopique.....	16
II.5.2.Caractérisation microscopique.....	16
II.6.Test de synergie	16
II.6.1.Préparation des bactéries tests.....	16
II.6.2.Préparation des champignons	17
II.6.3.Technique des cylindres d'agar	17
II.6.4.Techniques des disques	17
II.6.4.1.Fermentation(PDB)	17
II.6.4.2.L'application de techniques des disques.....	18

II.7.Conservation des isolats.....	18
II.7.1.Conservation courte durée.....	18
II.7.2. Conservation longue durée.....	18

Chapitre III: Résultats et discussion

III.1.Paramètres physico-chimiques des eaux usées (brutes et traitées).....	20
III.2.Caractérisation physique et microbiologique des boues activées.....	25
III.2.1.Analyse physique des boues activées (MES).....	25
III.2.2.Analyses microbiologiques des boues activées	26
III.2.2.1.Identification des souches fongiques	26
III.2.2.1.1.Caractères morphologiques	26
III.2.2.1.1.1.Observation macroscopique	26
III.2.2.1.1.2.Observation microscopique	29
III.2.2.2. Les résultats d'activité de synergie par technique des cylindres	33
III.2.2.2.1. La mise en évidence de activité de synergie	36
III.2.2.3. Les résultats d'antagonisme par technique des disques	36
III.2.2.3.2. L'application de technique des disques.....	39
Conclusion.....	42
Références bibliographique	
Annexe	

Introduction

Introduction

INTRODUCTION

Les eaux usées sont des milieux extrêmement complexes qui sont altéré par l'activité humaine après des usages domestiques, industriels, artisanaux, agricoles ou autres. Des volumes de plus en plus importantes d'eaux usées sont rejetées dans les écosystèmes aquatiques dans le monde entier de provenances diverses. Ces eaux véhiculent des polluants en solution ou en suspension de nature chimique (métaux lourds, sels nutritifs et autres...) ou microbiologique (Bactéries, Champignons, parasites et autres). Lorsqu'elles ne subissent aucun traitement au 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. Elles doivent donc être éliminées avant d'être réutilisés ou injectés dans le milieu naturel récepteur. Une certaine dépollution est assurée par les sols, les rivières et autres systèmes hydriques (**Koren et Bisesi, 1996**), mais la capacité de cette autoépuration est largement dépassée. C'est pourquoi toutes les eaux usées municipales ou industrielles sont traitées pour réduire ou éliminer ces polluants afin de respecter ces différents milieux récepteurs naturels. Ces traitements peuvent être réalisés collectivement dans des stations d'épuration ou individuellement par des procédés intensifs ou extensifs (**Selghi, 2001**). Ces traitements conduits à la réduction des matières oxydables, des matières en suspension et des micro-organismes pathogènes (**Bassompierre, 2007**).

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 d'épuration 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).

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 bio-épuration (**Bassompierre, 2007**).

Introduction

Les bactéries qui 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. Le deuxième grand groupe de microorganismes des stations d'épuration est celui des champignons, ils assurent la clarification de l'effluent par prédation cette fonction a été montrée dans le cas des boues activées. Un autre groupe celui des Protozoaires ciliés ce sont des indicateurs de la qualité de l'effluent et du bon fonctionnement d'une installation de la step d'épuration (**Fertas et al 2015**).

Cette étude s'intéresse à l'isolement et l'identification de quelques champignons dépolluants à partir de boues activées.

L'objectif de cette étude vise à :

1. Analyser les paramètres physicochimiques des eaux usées (brute et traitée) dans la station d'épuration de BeniMered wilaya de Blida.
2. Isoler quelques champignons dépolluants à partir de boues activées dans la station d'épuration de BeniMered wilaya de Blida.
3. Identifier à travers une caractérisation macroscopique et microscopique d'une flore fongique ciblée.
4. Déterminer la relation trophique entre la flore microbienne épuratrice obtenue à travers des Tests de synergies .
5. Conserver les champignons identifiés.

Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique

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 Co élimination l'azote et même du phosphore, une grande majorité de ces polluants est transférée de la phase liquide vers une phase concentrée boueuse (**Selghi, 2010**).

I.1. Origine des eaux usées

Les eaux usées peuvent avoir plusieurs origines : domestique, industrielle, agricoles et pluviale.

I.2. Caractéristiques des eaux usées

Ces paramètres **physico-chimiques** sont des facteurs très importants qui gèrent la qualité d'eau usées nous citons :

- La température.
- Le potentiel dihydrogène (pH)
- La demande biochimique en oxygène (DBO5)
- La demande chimique en oxygène (DCO)

I.3. Compositions des eaux usées

I .3.1. Les substrats polluants des eaux usées

A la différence de divers phénomènes de pollution, celle des eaux se traduit par les effets particuliers liés aux spécificités écologiques propres aux milieux aquatiques (**Pronots et al 2002**). On distingue quatre catégories principales liées aux différentes caractéristiques de ces substances qui déterminent le type de procédé efficace pour leur purification : matières décan tables ou flottantes, matières fines en suspension, matières colloïdales, matières solubles, **matières biodégradables** (matières aisément

Synthèse bibliographique

dégradables et matières lentement dégradables) et **matières non-biodégradables** (Matières organiques et Matières inorganiques).

I.3.2. La flore microbienne des eaux usée

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 tel que (*Virus de l'Hépatite* ,*Poliovirus*....) Les bactéries (*Salmonella*,*Escherichia coli*....), Les champignons la majorité de ces microorganismes sont saprophytes, d'autres au contraire sont parasites de l'homme (Belaid, 2010), et les organismes libres (Les protozoaires et Les helminthes).

I.3.3. Les processus métaboliques de la flore microbienne des eaux usée

Les composants chimiques consommés par les micro-organismes sont soumis à de nombreuses réactions biochimiques qui font partie d'un des deux mécanismes métaboliques fondamentaux pour le développement des bactéries par le Catabolisme et Anabolisme (**Berland et al 2001**)

I.4. Les procédés de traitements des eaux usées

D'après **ONA(2011)**, les dispositifs de traitement 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 (Dégrillage, Dessablage, Dégraissage-Déshuilage).

Le traitement primaire s'effectue par voie physico-chimique avec pour but d'extraire le maximum de matières en suspension et de matières organiques. Trois voies de traitement sont possibles ☺(La décantation (processus physique), La flottation (processus physique) et La décantation associée à l'utilisation d'un coagulant- flocculant (voie physico- chimique) (**Cardot, 1999**).

Le Traitement biologique, ce traitement 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,**

Synthèse bibliographique

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. (ONA, 2011).

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).

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 (Prescott et al. 2003).

I.5. Technique 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 d'un 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. Structure de la boue activée

La boue activée est constituée de l'ensemble « floc-eau interstitielle » (Khaldi, 2017). Les bactéries constituent 5 à 20% des matières organiques dans les floes, les autres sont des substances polymères extracellulaires (EPS) (Raszka et al. 2006). Plus la charge massique est élevée, moins le niveau de traitement sera élevé et plus l'eau interstitielle contiendra de bactéries dispersées (Khaldi, 2017).

Synthèse bibliographique

I.5.2. 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).

I.6. Microorganismes responsables de la plupart des processus clés dans les boues activées

I.6.1. Les microorganismes responsables de l'élimination du MOS

L'élimination des matières organiques solubles (MOS) est réalisée par des microorganismes tels que :

- **Les champignons:** *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium*, *Trichoderma sp*
- **Les bactéries :** *Azotobacter sp*, *Chroococcum sp*, *Chrysosporium sp*, *Ferroxidans* (Yan et al. 2007).
- **Les levures**
- **Les protozoaires**

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 par les champignons comme : *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *trichoderma* et les bactéries comme : *Pseudomonas sp*, *Lampropedia sp*, *Escherichia coli*, *Alcaligenes denitrificans*, *Bacillus* (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. (Strouset al., 2002). *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Penicillum*, *trichoderma.sp*, *Acinobacteriasp*, *BacteriodetesVerrucomicrobia*, Font partie des microorganismes responsables de l'élimination de l'azote (Yan et al., 2007). D'après Gamble et al. (1977) les *aspergillus niger* sont des champignons dénitrifiant Capable de s'adapter au manque d'oxygène par l'utilisation des oxydes d'azote comme accepteurs alternatifs d'électrons (Stewart, 1988).

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Matériel et méthodes

Ce chapitre présente le matériel et méthodes des analyses physico-chimiques et microbiologiques pour l'identification des champignons.

L'objectif de ce présent travail est divisé en trois parties :

- La première partie concerne un suivi des paramètres physico-chimiques des eaux usées brutes, traitées et des analyses physiques de boue activée pour vérifier l'efficacité de traitement d'épuration effectués au niveau de la station d'étude.
- La deuxième partie s'est basée sur l'identification et la caractérisation microbiologique des boues activées à travers l'isolement de quelques champignons épurateurs appartenant aux genres les plus connus par cette activité : *Alternaria*, *Aspergillus*, *Trichoderma* et *Penicillium*.
- La troisième partie vise l'évaluation de l'effet antagonisme des champignons isolés vis-à-vis de quelques bactéries épuratrices.

II.1. Présentation de la station d'épuration

La station d'épuration (STEP) de Béni Mered (Blida, Algérie) est située à l'Est de la route nationale N° 1 à proximité de l'oued Béni Aza (Figure 1). Cette station construite sur six hectares, traite les eaux usées domestiques et industrielles issues de la ville de Blida et sa capacité nominale depuis 2015 est de 383000 EH pour un débit de pointe de 51 560 m³/j (ONA, 2015).



Figure 1 : Station d'épuration de Béni Mered (Photo originale)

Matériel et méthodes

II.2. Matériel et méthode

II.2.1. Matériel

II.2.1.1. Matériel biologiques

Deux prélèvements ont été effectués au niveau de la station d'épuration de Beni Mered (Blida) le 19/03/2023 et 08/05/2023 pour chaque échantillon :

- Eau usée brute (EB)
- Eau usée traité (ET)
- Boue activé (BA)

II.2.1.2. Matériels non biologiques

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

II.2.2 Méthodes

II.2.2.1 Prélèvement des échantillons

Trois types de prélèvement de chaque échantillon ont été menés :

- Prélèvement automatique (préleveur automatique) d'eau brute (EB) à l'entrée de la S.T.E.P, après le dessableurs-déshuileur.
- Prélèvement manuel d'eau traitée (ET) à la sortie de la S.T.E.P, après la décantation secondaire.
- Prélèvement manuel de boue activée (BA) au niveau de bassin biologique.

Il est à noter que les échantillons de boue activée ont été analysés dans un délai de 24 heures au maximum, afin d'éviter toute modification des concentrations des micro-organismes.

II.3. Les analyses physico-chimiques des eaux usées

II.3.1. Mesure de la température

La mesure de la température a été effectuée par l'utilisation d'une sonde thermométrique Pocket pro (Hach) qui est trempée soigneusement dans la prise d'essai. La lecture est faite après stabilisation du thermomètre (**annex 5**) (ONA, 2015).

Matériel et méthodes

II.3.2. Mesure du potentiel d'hydrogène (pH)

Il consiste à mesurer la différence de potentiel existant entre une électrode de verre et une électrode de référence plongeant dans une même solution. Le pH-mètre sens ION (Hach) est doté d'une électrode en platine (**annex 5**) (ONA, 2015).

II.3.3. Mesure de la conductivité électrique

La conductivité électrique est une mesure de courant conduit par les ions présents dans l'eau. La détermination se fait directement à l'aide d'un conductimètre HACH HQ430d (annex 5)(ONA, 2015).

II.3.4. Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO)

La demande chimique en oxygène, notée DCO, représente la quantité d'O₂ consommé par toutes les matières réductrices (ONA, 2015) Les substances oxydables réagissent avec le bichromate de potassium sulfurique, en présence de sulfate d'argent (**annex 5**) . Le chlorure est masqué avec du sulfate de mercure. La coloration verte du Cr³⁺ sera déterminée photométriquement.

II.3.5. Détermination de la demande biochimique en oxygène(DBO₅)

Les micro-organismes présents dans un échantillon d'eau qui contient de la matière organique biodégradable consomment l'oxygène et produisent une quantité équivalente en anhydride carbonique (CO₂) (**annex 5**) (ONA, 2015).

II.3.6. 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 (**annex 5**) (ONA, 2015).

II.3.7. Dosage des nitrites (N-NO₂) par méthode KIT Hach LCK 341

Ce mode opératoire décrit une méthode d'analyse pour la détermination de la concentration des nitrites allant de 0,015-0.6 mg/l NO₂-N (**annex 5**) (ONA, 2015).

Matériel et méthodes

II.3.8. 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 (**annex 5**) (ONA, 2015).

II.3.9. 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) (**annex 5**) (ONA, 2015).

II.3.10. Dosage de Phosphate Total (PT) par méthode Kit Hach LCK 350/348

Ce mode opératoire décrit une méthode d'analyse pour la détermination de la concentration des phosphates allant de 2 – 20mg/l, 0,5 – 5mg/l PO₄-P (**annex 5**) (ONA 2015).

II.4. Caractérisation physique et microbiologique des boues activées.

II.4.1. Analyse physique de boue activée

II.4.1.1. 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 (**annex 5**) (ONA, 2015).

- La MES est calculée selon la formule suivante : $MES (g/l) = \frac{M_1 - M_0}{V} \times 1000$

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.

Matériel et méthodes

II.4.2. Analyse microbiologique des boues activées

II.4.2.1. Isolement des champignons dépolluants

Afin d'isoler les genres fongiques suivant : *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium* et *Trichoderma*, un ensemencement en surface par étalement d'une 0,1 ml de la suspension de boues activés diluée est préparée sur le milieu de culture adéquat à chaque genre (**Botton et al, 1990**), en respectant les conditions d'asepsie et en manipulant toujours dans la zone stérile.

Nous avons utilisé les milieux de culture suivants :

- Milieu PDA (Potato dextrose agar)(**annexe 1**), pour l'isolement des champignons de genre *Alternaria* et *Penicillium* les boites ensemencées sont incubées à 25°C pendant 7 jours.
- Milieu sabouraud+chloramphénicol(**annexe1**), pour l'isolement des champignons du genre *Aspergillus* et *Trichoderma*, les boites ensemencées sont incubées à 25°C pendant 7 jours.

II.4.2.3. Purification des souches

La purification des champignons isolés a été établie par la réalisation des subcultures sur bouillon (apparition de trouble dans le milieu liquide) et sur milieux sélectifs de chaque souche jusqu'à l'obtention des colonies pures bien distincte et homogène.

II.5. Caractérisation macroscopique et microscopique

Les clés d'identification décrites par Watanabe, (1994) et Elis et al., (2007) ont été utilisés 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.5.1. Caractérisation macroscopique

L'observation macroscopique à l'œil nu des cultures a été réalisée après 7 jours d'incubation à 25°C on se basant surtout sur la taille, la forme, la couleur, l'aspect et la pigmentation des colonies. Cela nous a permis de prélever et de sélectionner seulement les colonies appartenant aux genres fongiques ciblés : *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium* et *Trichoderma*.

II.5.2. Caractérisation microscopique

Lors de l'analyse microscopique des colonies a eu lieu on utilisant une coloration avec Bleu de Méthylène, une observation d'un prélèvement d'une culture jeune entre lame et lamelle plusieurs structures a été observées comme l'appareil végétatif, les organes de fructification et les spores

II.6. Test de synergie

Nous avons effectué le test de synergie avec 2 genres fongiques *Aspergillus sp* et *Trichoderma sp* vis-à-vis trois genres bactériens de *Bacillus*, *Escherichia*, *Pseudomonas* épuratrices, isolée et identifiées par (Ouled chabane, 2022). Le pouvoir de synergie a été testé sur deux milieux différents PDA et MH. Pour avoir s'il y a une synergie entre les champignons et les bactéries par deux techniques cylindres d'agar et des disques pour l'épuration des eaux usées.

II.6.1. Préparation des bactéries tests

Les tests antibactériens ont été effectués sur des cultures bactériennes jeunes (18 à 24 heures), en phase de croissance exponentielle. L'opacité de la suspension bactérienne (*Bacillus thuringiensis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) dans l'eau physiologique (0.9% NaCl) stérile, doit être équivalente à 0.5 McFarland, de concentration bactérienne estimée à 10⁶ UFC/ml après incorporation dans le milieu Mueller Hinton (Isu et al. 2002).

L'activité inhibitrice se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition après 18 à 24 heures d'incubation à 37 °C.

Matériel et méthodes

II.6. 2.Préparation des champignons

Les champignons isolés(*Aspergillus sp* et *Trichoderma sp*) ont été ensemencées sur milieu PDA et SABOURAUD+CLOROPHENICOL(annexe1). Après 10 jours d'incubation à 28°C.

II.6.3.Technique des cylindres d'agar

Des cylindres de champignons de 6mm de diamètre ont été perforés à l'aide d'un emporte-pièce, puis déposés à la surface du milieu Mueller-Hinton préalablement ensemencés par écouvillonnage selon la technique du NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard) par les bactéries tests. Les boîtes de pétri portant les cylindres d'agar sont placées à 4°C, pendant 4 heures,pour permettre une pré-diffusion des substances bioactives élaborées par les souches fongiques, puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures (**Gungi et al., 1983 ; Madigan et al, 1997**).

II.6.4.Technique des disques

Ces techniques consistent à étudier l'effet des métabolites secondaires des souches fongiques diffusés dans un milieu de fermentation liquide.

II.6.4.1. Filtrat par fermentation Potato Dextrose Broth (PDB):

La production des métabolites secondaires, par les souches antagonistes, et la mise en évidence de leur activité antibactérienne, a été effectuée selon le protocole de **Dennis et Webster, (1971)**. Le milieu de fermentation utilisé pour cet objectif est le PDB (annexe 1). Des flacons de 250 ml, contenant 100ml du milieu de culture, ont été inoculés par quatre disques de culture âgée de sept jours pour chaque souche (*Aspergillus sp* , *Tricoderma sp*) avec une agitation a l'aide d'un agitateur incubateur (annexe 2) à 28°C pendant 7 jours. Après fermentation, et afin de tester l'activité antibactérienne des surnageants des cultures, les contenus des flacons de fermentation ont été filtrés à travers du papier Whattman afin de séparer le mycélium du milieu de culture supposant contenir les molécules bioactives. Le surnageant, ainsi obtenu, a été filtré à travers des filtres millipores stériles de 25µm de diamètre pour le stériliser.

Matériel et méthodes

II.6.4.2. L'application de technique des disques

Le test de l'activité antibactérienne des extraits obtenus consiste à rechercher leurs effets synergiques sur le développement des espèces bactériennes. Un écouvillon stérile trempé dans la suspension bactérienne a servi àensemencer uniformément toute la surface de la boîte de gélose Mueller - Hinton. Après séchage de la surface (environ 5 min), des disques de 6 mm de diamètre du papier Wattman imbibés avec 10µl de l'extrait à tester (*Aspergillus sp* , *Trichoderma sp*), sont séchés et déposés sur la surface des boîtes. Ces dernières, sont incubées à 4°C dans un réfrigérateur pendant 2H pour permettre une pré-diffusion des substances bioactives, puis placées dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures (**Hazline et al., 2009**).

II.7. Conservation des isolats

II.7.1. Conservation courte durée

La conservation à court terme des souches pures est effectuée sur milieu TSA (Gélose tryptone soja) solide incliné. Après croissance à température optimale, les cultures sont maintenues à 4°C et le renouvellement des souches se fait par repiquage toutes les six mois (**Badiset al. 2005**).

II.7.2. Conservation longue durée

Le milieu de conservation contient 70% des cultures de 5 jours (milieu liquide) et 30% de glycérol (98%). Les cultures sont conservées en suspension dense et en tubes éppendorfs stériles à -20°C (**Badiset al. 2005**).

Résultats et interprétation

Résultats et interprétation

Ce chapitre présente les résultats et la discussion des analyses physico-chimiques, microbiologiques obtenus, 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 d'analyses physico-chimiques des différents échantillons des eaux à savoir : Eau brute (EB) et Eau traitée (ET) effectués pour montrer la qualité des eaux usées de la station de Beni Mered avant et après traitements par les boues activées sont illustrés dans les (**Tableau 1**). Les résultats obtenus sont comparés avec les normes de **L'Organisation mondiale de la Santé (OMS)** et **Journal Officiel de la République Algérienne (JORA) (2006)** afin d'évaluer la qualité de ces eaux étudiées.

III.1.1. Température

Les températures enregistrées à l'entrée des eaux usées et à la sortie après traitement sont comme suit (**Tableau 1**), les valeurs des moyennes de la température des eaux brutes (EB) sont de (18.9 à 24°C) et les valeurs des eaux traitées (ET) sont (18.8 à 23,6°C)

D'après les résultats obtenus, les valeurs de la température indiquent une légère diminution de l'entrée vers la sortie (**Tableau 1**). Ces résultats sont conformes aux normes publiées dans (**JORA**) qui indiquent que, la température d'une eau épurée ne doit pas dépasser 30°C. Les eaux épurées des stations d'épuration Beni Mered Blida sont donc dans les normes.

Les températures de l'eau traitée restent toujours inférieures à celles enregistrées au niveau des eaux brutes. Ces valeurs varient en fonction de l'heure de prélèvement et des conditions météorologiques, sachant que l'augmentation de la température favorise l'autoépuration et l'accroissent de la vitesse de sédimentation, ce qui présente un intérêt dans les stations d'épuration.

Résultats et interprétation

III.1.2. Potentiel hydrique (pH)

Les valeurs du pH obtenues dans notre étude révèlent une augmentation à l'entrée et à la sortie au niveau de la station d'épuration. Les résultats enregistrés sont comme suit l'eau brute (6,86 à 7,10) et celles enregistrés sur les eaux usées traitées sont, Eau traité de (6,56 à 6,75) ils sont en accord avec ceux obtenus par (Bossis , 2000; Ouldchabane, 2022). 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 aussi 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 eaux usées brutes (EB) ont montré des valeurs de conductivité électrique (Tableau 1) qui varie de (1694 à 2008) par contre dans les eaux usées traitées (ET) la conductivité électrique est de (1298 à 1456), cela est probablement due au traitement biologique de l'eau usée, Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (Driss et al. 2009).

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. Les 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.

Résultats et interprétation

Tableau 1: Analyses physico-chimiques des eaux usées prélevées à l'entrée et à la sortie.

Type d'analyse	E1		E2		Normes JORA
	Eau usée Brute	Eau usée traitée	Eau usée Brute	Eau usée traitée	
pH	7,10	6.56	6.86	6.75	6,5-8,5
T (C°)	18.9	18.8	24.1	23.6	<30
CE(μS/cm)	2008	1298	1694	1456	ND

ND : Non déterminé

III.1.4. Paramètres de la pollution organique

➤ La demande chimique en oxygène (DCO)

Les résultats de la demande chimique en oxygène (DCO) enregistrés dans nos échantillons (**Tableau 2**) montrent une forte diminution de la pollution carbonée de l'entrée à la sortie des eaux usées, les résultats montrent à l'entrée (EB) une quantité moyenne de DCO de (1126 à 1254mg/l) et, les valeurs de la DCO de l'eau traitée (ET) elle varie de E1 (80.4mg/l) à E2(71.0mg/l) , les valeurs obtenues dans les échantillons testés (EB) et (ET) répondent aux normes algériennes , qui indiquent que les rejets doivent être (<120mg/l) et à celles de la communauté européennes (<125mg/l) ainsi qu'aux normes de l'OMS (<90mg/l)(**JORA, 2006**).

➤ La demande biologique en oxygène (DBO₅)

La DBO₅ fournit donc une des indications importantes permettant de juger la qualité d'une eau et de son degré de pollution, la valeur DBO₅ enregistré dans notre étude (**Tableau 2**) diminue de l'entrée à la sortie, la moyenne de la valeur de ce paramètre enregistré sur (EB) varie de (380 à 431mg/l) et de (7 à 9 mg/l) dans l'eau usée épurée (ET), l'abaissement de ces valeurs de la DBO₅ dans l'eau épurée est dû au passage dans le dessableur, et dans les bassins d'aérations qui permettent l'élimination d'une quantité de la DBO₅ (pourcentage considérables des matières organiques et des matières minérales), mais la grande quantité de la DBO₅ est éliminée.

Résultats et interprétation

D'après **Bliefert et Perraud (2001)**, elle est associée au maximum du développement de l'abondance fongiques 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 DBO_5 est inférieure aux normes algériennes de rejet (35mg O₂/l). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par (**Bounoud ,2014**)

Tableau 2: Analyses physico-chimiques des eaux usées prélevées à l'entrée et à la sortie (DCO, DBO₅).

Les analyses	E1		E2		Normes JORA
	Eau usée Brute	Eau usée traitée	Eau usée Brute	Eau usée traitée	
DCO(mg/l)	1254	80.4	1126	71.0	<120
DBO ₅ (mg/l)	380	7	431	9	<35

III.1.6. Nitrites (NO₂-)

D'après les résultats obtenus au cours de notre étude, la teneur en nitrites des eaux usées brute (EB) et (ET) sont très faible nous avons interprètes des valeurs suivants : pour les (EB) les valeurs varie de (0,12 à 0.32mg/l'unité)et pour les eux traitée (ET) varie de(0.21 à 0.60mg/l) (**Tableau 3**), nous avons enregistré une légère augmentation entre l'entrée et la sortie ceci s'explique par un manque d'oxygène nécessaire pour transformer les nitrites en nitrate (la nitrification) par les micro-organismes. 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.1.7. Nitrates (NO₃-)

La quantité moyenne de l'azote nitrique N-NO₃- enregistré à l'entrée de la station dans l'eau brute (EB) est de 1,61 mg/l. elle est inférieur à celle noté à la sortie de la station dans l'eau traité (ET) est de 11,3 mg/l, ce résultat est en accord avec ceux obtenus par (**Ouldchabane, 2022**) et explique le déroulement de la réaction de nitrification de l'azote qui continuera sa transformation en N-NO₃- dans le bassin

Résultats et interprétation

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^- .

III.1.8. Azote Ammoniacal (NH_4^+)

Une réduction remarquable des valeurs de l'azote ammoniacal (NH_4^+) a été observée dans les eaux traitées, à l'entrée de la station les valeurs varient de (25.3 à 76) dans l'eau brute, et à la sortie les valeurs sont de (1.2 à 8,06) dans l'eau traitée (**Tableau 3**). 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 micro-organismes autotrophes nitrifiantes en deux étapes, la première étant assurée par des micro-organismes Nitrosomonas et la deuxième par des micro-organismes 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.1.9. Azote total

L'azote détecté dans l'eau usée est la somme de toutes les formes azotées (nitrite, nitrate, ammonium et azote organique) donc l'excès de l'azote total est dû aux valeurs très élevées pour ces formes. D'après le (**Tableau 3**), les valeurs des moyennes de l'azote total à l'entrée c'est-à-dire dans l'eau brute (EB) varie de (28.8mg/l à 29.6 mg/l), tandis que à la sortie, nous avons noté une moyenne de 13.5mg/l dans l'eau épurée (ET), la réduction des valeurs de l'azote total 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.

III.1.10. Ortho phosphate PO_4^{3-} et phosphore total

La teneur d'orthophosphate et de phosphore des eaux épurées (1 à 9) semble inférieure à celle enregistrée dans les eaux brutes (2.81 à 14,3) (**Tableau 3**), la diminution des teneurs de l'entrée de la station vers la sortie est due à sa consommation par les champignons au cours du processus d'épuration. Les teneurs

Résultats et interprétation

obtenues des ortho phosphates 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 (HPO₃), pyro (H₄P₂O₇) et ortho (H₃PO₄). En milieu aqueux, les acides métas 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.

Tableau 3: Analyses physico-chimiques des eaux usées prélevées à l'entrée et à la sortie (NO₂⁻, NO₃⁻, NH₄⁺, NT, PO₄, PT)

Types analyses	E1		E2		Normes JORA
	Eau usée Brute	Eau usée traitée	Eau usée Brute	Eau usée traitée	
NO ₂ ⁻ (mg/l)	0,329	0,602	0,129	0,217	ND
NO ₃ ⁻ (mg/l)	1.61	11.3	0,662	0,932	ND
NH ₄ ⁺ (mg/l)	76	8.06	25,3	1,23	ND
NT (mg/l)	28,8	19,2	29,6	8,00	30
PO ₄ (mg/l)	14.3	9.87	2,81	1,00	2
PT (mg/l)	43.8	30.3	4,09	1,10	10

III.2. Caractérisation physique et microbiologique des boues activées

III.2.1. Analyse physique des boues activées MES :

La boue épuratrice étudiée montre présente une concentration de MES varié entre 1.56 - 3,59 g/l dans le bassin d'aération (Tableau 4). 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.

Résultats et interprétation

Tableau 4: Les résultats d'analyses des boues activées

Analyses physique	E1	E2
MES (g/l)	1.56	3.59
Norme	2-4g/l	

III.2.2. Analyses microbiologiques des boues activées

III.2.2.1. Identification des souches fongiques

Les méthodes de caractérisation phénotypique décrites ont permis une identification préliminaire des genres fongiques appartenant aux genres suivant: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Trichoderma* et *Penicilium*. Cette identification a été basée sur les caractères macromorphologiques et micromorphologiques.

III.2.2.1.1. Caractères macromorphologiques

III.2.2.1.1.1. Observation macroscopique

Après une série de répétitions nous avons purifié culture de genres fongiques suivants (**Tableau 5**)

Tableau 5 : Caractéristiques morphologiques des isolats purifiés

Groupe	Forme de la colonie	Couleur de la colonie	Aspect	Durée d'incubation	Figure
Groupe n°1 <i>Alternaria</i>	Circulaire	Noir	Granuleux	7 jours	02
Groupe n°2 <i>A.niger</i> <i>A.fumigatus</i>	Irégulière	Blanc puis Noir	Poudreux	7 jours	04
	Irégulière	Blanc puis Vert foncée	Granuleux		03
Groupe n°3 : <i>Penicillium</i> sp	Circulaire	Vert-gris	Cotonneux	5 jours	05
Groupe n°4 <i>Trichoderma</i> sp	circulaire	vert	Cotonneux	5 jours	06

Résultats et interprétation

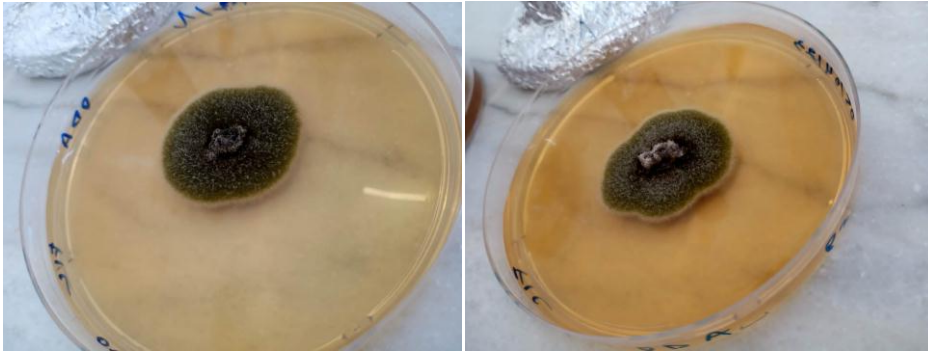


Figure 2 : Aspect macroscopique d'*Alternaria* sur milieu PDA isolé à partir de la boue activée.

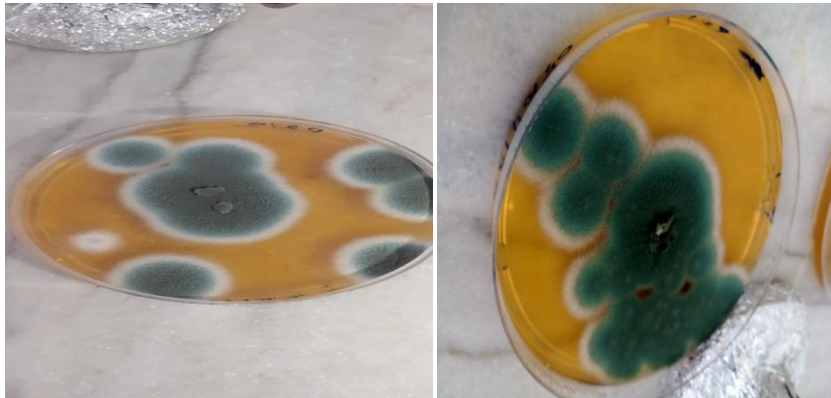


Figure 3 : Aspect macroscopique de *Aspergillus sp.* sur milieu sabouraud+chloramphénicol, isolé à partir de la boue activée.

Résultats et interprétation



Figure 4 : Aspect macroscopique d' *Aspergillus sp* sur milieu sabouraud+chloramphénicol, isolé à partir de la boue activée.



Figure 5 : Aspect macroscopique de *Penicillium* sur milieu PDA, isolé à partir de la boue activée.

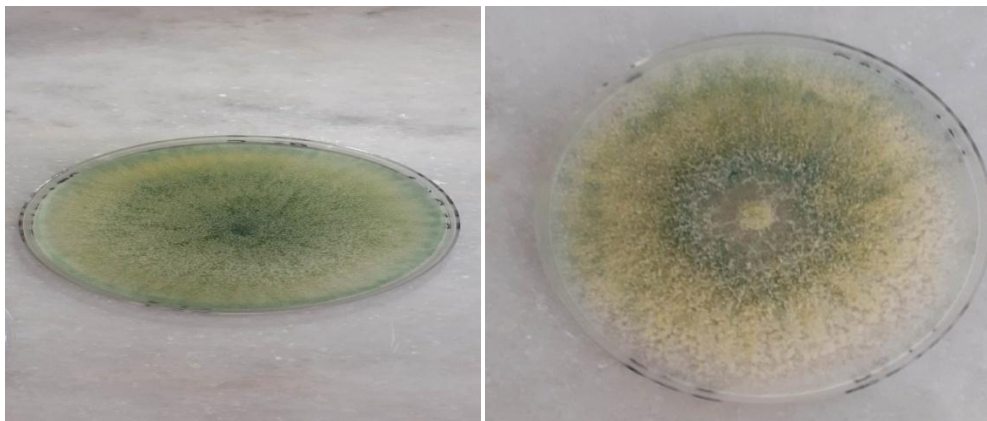


Figure 6 : Aspect macroscopique de *Trichoderma* sur milieu sabouraud+chloramphénicol, isolé à partir de la boue activée.

Résultats et interprétation

III.2.2.1.2. Observation microscopique

Après la caractérisation macroscopique, les genres fongiques obtenus sont (**Tableau 6**)

Tableau 6 : Caractéristiques microscopiques des isolats purifiés

Groupe	Mycélium et conidiophore	Vésicule	Phialide	Conidies	Tete Aspergillaire	Figure
Groupe n°1 : Alternaria	mycélium est septé. conidiophores :septés	Dépourvu	produisent à leurs extrémités	divisées par des septas transversaux, longitudinaux	Dépourvu	07
Groupe n°2 : A.niger	LongSouvent verruqueux incolore Parois épaisses	Présence	Directement Insérées sur la vésicule	Rondes, vertes, échinulées ou lisses	Unisériée en Colonie	09
A.fumigatus	Mycélium : Cloisonné Conidiophore Hyalin,,siphonné	Globoleux Sphérique	Directement inséréessur la vésicule	Globulaires , brun, Disposés en chaine	Radiée, noir à maturité	08
Groupe n°3: Penicillium p	Mycélium : cloisonné Conidiophore : Hyalin, lisse, ramifié, septé	Dépourvu	Disposées en pinceaux	Rond, pigmenté	Dépourvu	10
Groupe n°4: Tricoderma p	Mycélium : cloisonné Conidiophor : Hyalin, Septé	Dépouru	Forme de Quille groupée en trois	Globulaire	Dépourvu	11

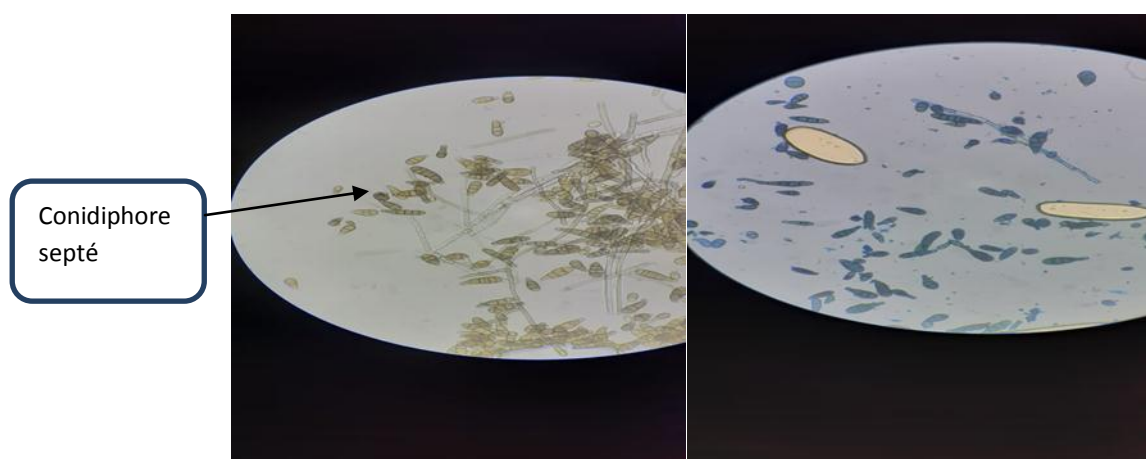


Figure 7 : Aspect microscopique de *Alternaria* (G : X100)

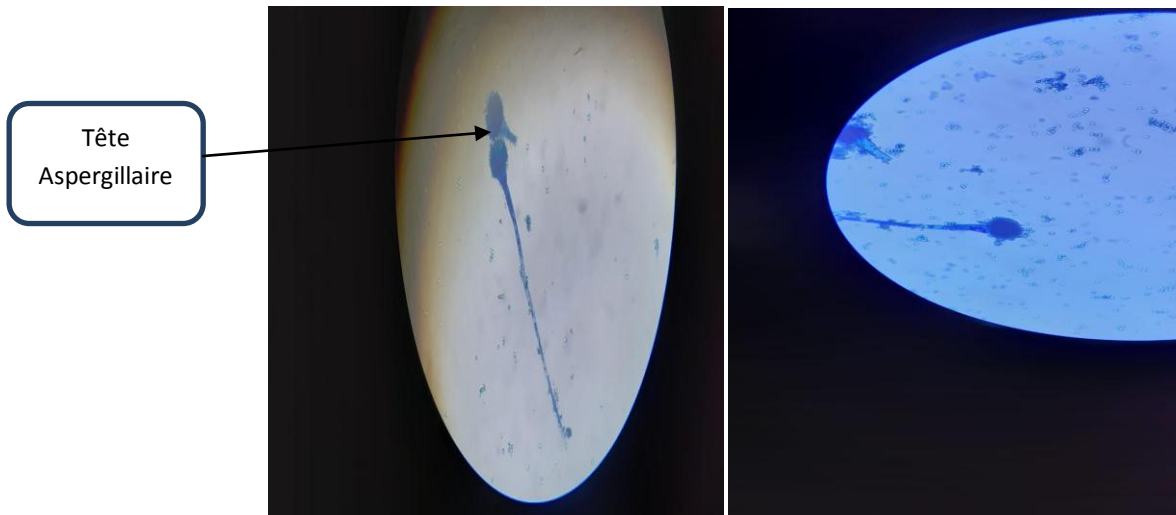


Figure 8 :Aspect microscopique de *Aspergillus fumigatus*(G : X100)

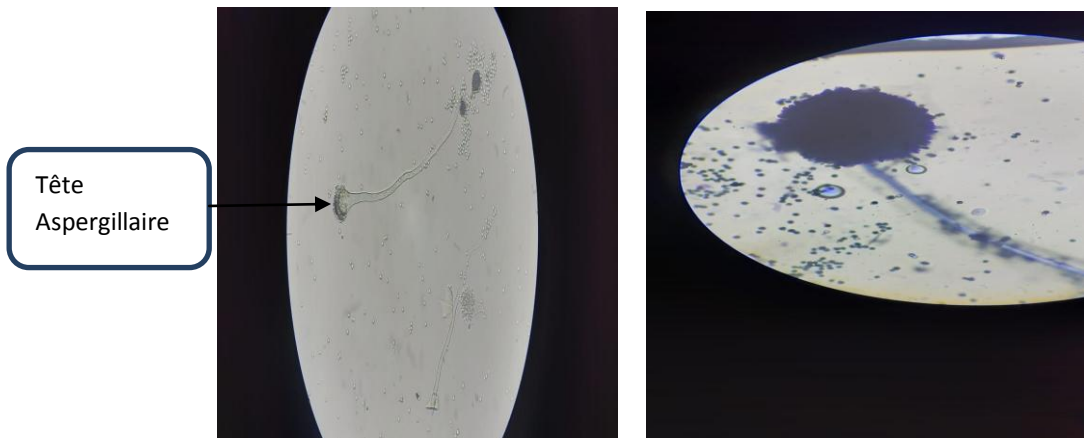


Figure 9 : Aspect microscopique de *Aspergillus niger*(G : X100)

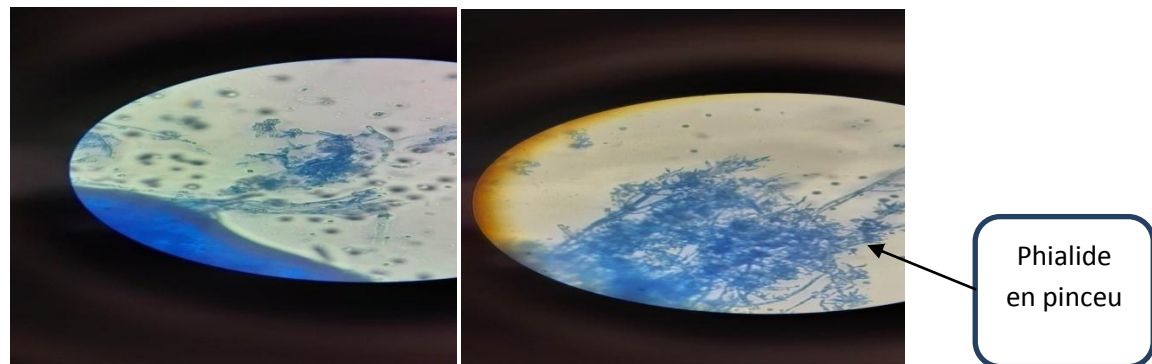


Figure 10 : Aspect microscopique de *Penicillium* (G : X100)

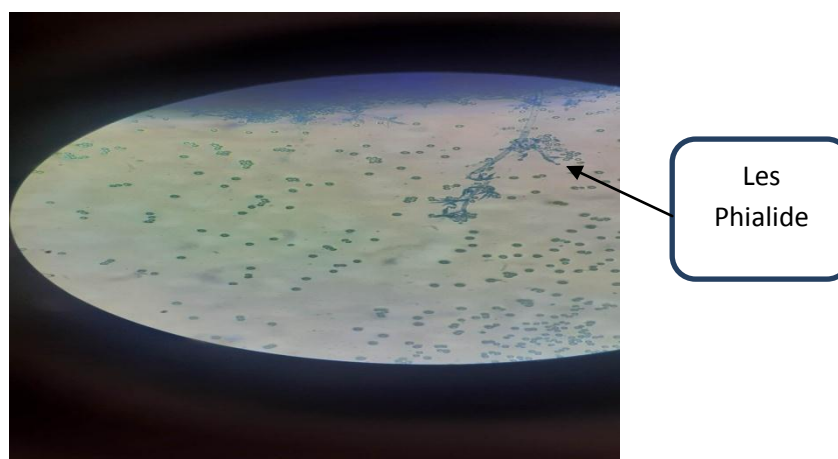


Figure 11 : Aspect microscopique de *Trichoderma sp* (G : X100)

L'identification macroscopique et microscopique des champignons isolés de boue activée a mis en évidence la présence de 14 souches fongiques représentant quatre genres différents: *Alternaria*, *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 d'Ascomycète qui inclut 9 souches d'*Aspergillus*, qui ont une large répartition géographique, et ils sont plus souvent associés aux régions à climat chaud (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002) et 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*, ce genre appartenant à la classe des Deutéromycètes qui sont des saprophytes.

Résultats et interprétation

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*, 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* 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**).

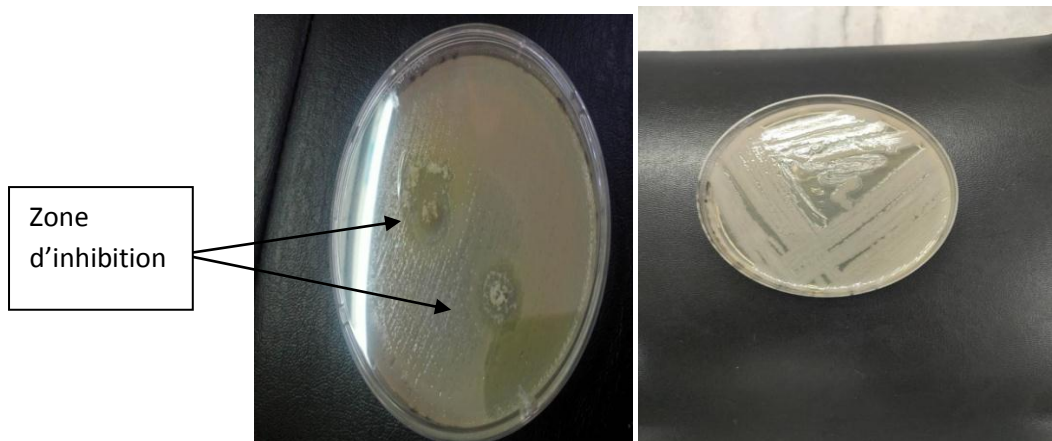
Les résultats indiquent que la boue activée constitue un habitat pour la croissance et la sporulation de différents groupes de champignons, à la fois saprophytes, pathogènes et bénéfiques, nos résultats sont semblables avec celle de (**Diener et al ,1976**). Les informations sur les communautés fongiques dans les stations d'épuration des boues activées restent largement inexplorées (**Awad et Kraume, 2011**)

Résultats et interprétation

III.2.2.2. Les résultats d'activité de synergie par technique des cylindres

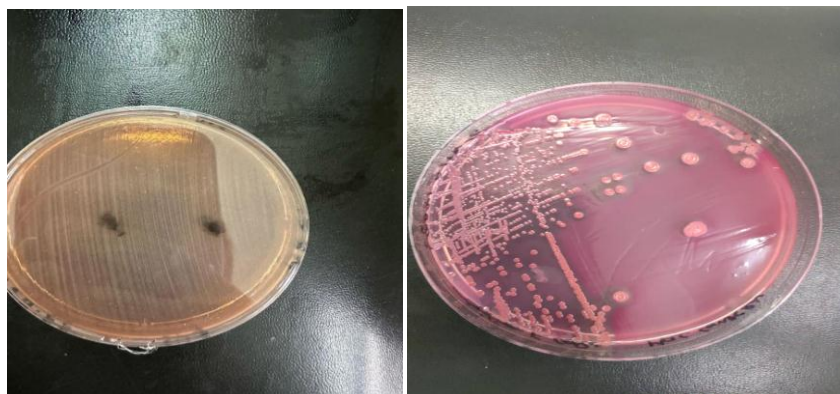
➤ *Aspergillus sp*

La mise en évidence de l'activité de synergie des souches fongiques suivantes : *Aspergillus sp* et *Trichoderma sp* vis-à-vis les souches bactériennes *Bacillus thuringiensis*, *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* montré l'apparition des zones d'inhibition chez une seule souche bactérienne *Bacillus thuringiensis* bien nette en comparaison avec les témoins, aucune zone d'inhibition a été enregistré chez *E. coli*, *P. aeruginosa* (Figure 12) (Figure 13, Figure 14)



Témoin : *Bacillus thuringiensis*

Figure 12 : Résultat de synergie de souche fongiques *Aspergillus sp* et souche bactérienne *Bacillus thuringiensis* par technique des cylindres



Témoin : *Escherichia coli*

Figure 13 : Résultat d'activité de synergie de souche fongiques *Aspergillus sp* et souche bactérienne *E. coli* par technique de cylindres

Résultats et interprétation

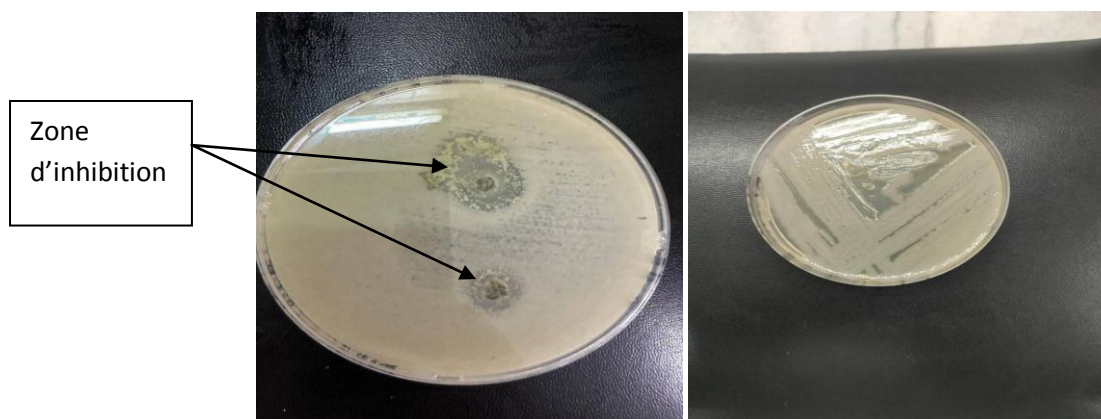


Témoin : *Pseudomonas aeruginosa*

Figure 14 : Activité de synergie de souche fongiques *Aspergillus sp* et souche bactérienne *P. aeruginosa* par technique des cylindres

➤ *Trichoderma.sp.*

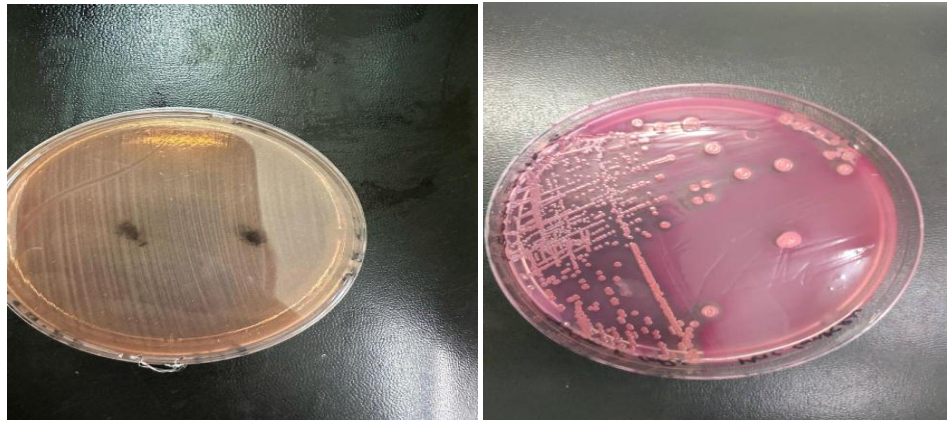
La mise en évidence de l'activité de synergie des souches fongiques suivantes : *Aspergillus sp* et *Trichoderma sp* vis-à-vis les souches bactériennes *Bacillus thuringiensis*, *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* a montré l'apparition des zones d'inhibition chez une seule souche bactérienne *Bacillus thuringiensis* bien nette en comparaison avec les témoins, aucune zone d'inhibition a été enregistré (**Figure 15**) (**Figure 16**), (**Figure 17**)



Témoin : *Bacillus thuringiensis*

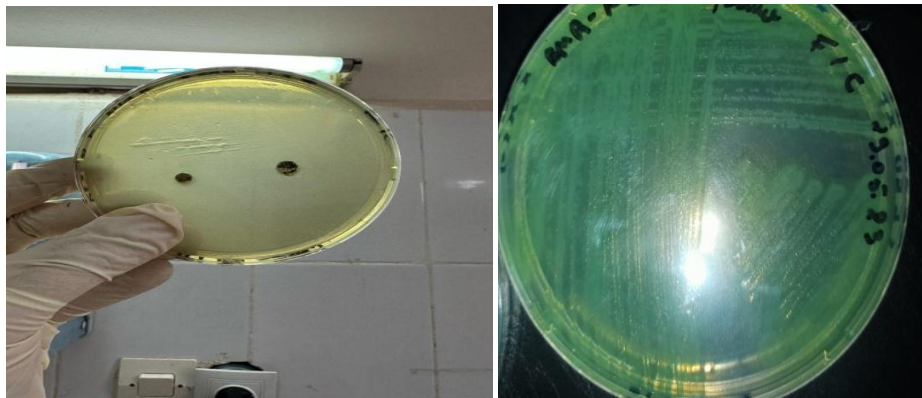
Figure 15 : Activité de synergie de souche fongiques *Trichoderma sp* et souche bactérienne *Bacillus thuringiensis* par technique des cylindres

Résultats et interprétation



Témoin : *Escherichia coli*

Figure 16 : Activité de synergie de souche fongiques *Trichodermap* et souche bactérienne *E.coli* par technique des cylindres



Témoin : *Pseudomonas aeruginosa*

Figure 17 : Activité de synergie de souche fongiques *Trichodermap* et souche bactérienne *P. aeruginosa* par technique des cylindres

Résultats et interprétation

III.2.2.2.1. La mise en évidence d'activité de synergie :

➤ Technique des synergie d'agar :

Pour cette technique, les résultats obtenus montrent que les deux espèces fongiques testés à savoir : *Aspergillus* et *Trichoderma* présentent une activité antibactérienne considérable contre la bactérie *Bacillus thuringiensis*. (**Figures 13 et 16**) où les moyennes des diamètres des zones d'inhibition allaient de 9 mm à 10 mm non résultats s'accordent avec ceux d'**Abdelaziz en 2006** sont conformes à la norme de 4mm à 6mm sont sensible et 0 à 3 mm sont résistantes ,contrairement aux autres bactéries sur les quelles les deux espèces fongiques *Aspergillus sp* et *Trichoderma sp* n'ont montré aucune inhibition .

Après incubation l'apparition d'une zone translucide autour des cylindres d'agar cela permet de déceler la présence des métabolites fongiques qui inhibent la croissance des bactéries testées.

III.2.2.3. Les résultats de synergie par technique des disques

➤ *Aspergillus niger*

La mise en évidence de l'activité synergique du deux Filtra d' *Aspergillus niger* vis-à-vis de trois souche bactérienne *Bacillus thuringiensis*, *E.coli* et *P .aeroginusaa* montré aussi l'apparition des zones d'inhibition chez *Bacillus thuringiensis*, aucune sensibilisation a été enregistré sur les deux autres bactéries (**Figure 18**) (**19 et 20**)

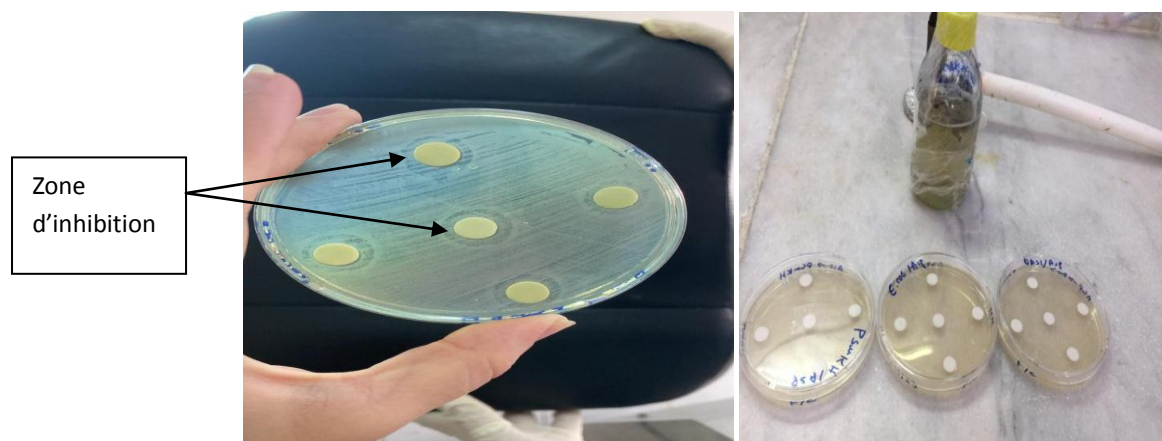


Figure 18 : Activité synergique de Filtrat d'*Aspergillus niger* souche bactérienne *Bacillus thuringiensis* sur milieu MH

Résultats et interprétation



Figure 19 :Activité synergie de Filtrat
d' *Aspergillus niger* souche bactérienne *E.coli* sur milieu MH

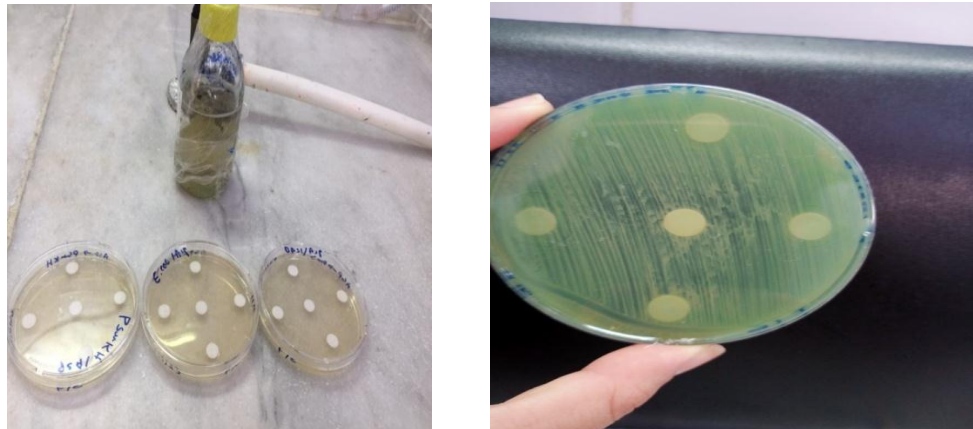


Figure 20 :Activité synergie de Filtrat d' *Aspergillus .nigere* souche
bactérienne *P. aeruginosa* sur milieu MH

Résultats et interprétation

➤ *Trichoderma sp*

La mise en évidence de l'activité de synergie du deux Filtra de *Trichoderma .sp* et *Aspergillus sp* vis-à-vis de trois souche bactérienne *Bacillus thuringiensis*, *E.coli* et *P .aeruginosa* a montré aussi l'apparition des zones d'inhibition chez *Bacillus thuringiensis* , aucune sensibilisation a été enregistré sur les deux autres bactéries.



Figure 21 :Activité synergie de filtra de *Trichoderma.sp* etsouche bactérienne*Bacillusthuringiensis*sur milieu MH



Figure 22 :Activité synergie de filtra de *Trichoderma.sp* etsouche bactérienne*E.coli* sur milieu MH

Résultats et interprétation



Figure 23 :Activité synergique de filtra de *Trichoderma.spetsouche* bactérienne *P. aeruginosa* sur milieu MH.

III.2.2.3.Résultats de synergie par Techniques des disques :

Cette technique consiste à étudier l'effet des métabolites secondaires des souches fongiques diffusés dans un milieu de fermentation liquide.

III.2.2.3.1.L'application de technique des disques :

Concernant cette technique le Filtra des souches fongiques *Aspergillus sp* et *Trichoderma sp* a provoqué une zone d'inhibition de 8mm de diamètres chez *Bacillus thuringiensis* qui s'accordent avec ceux d'Abdelaziz en 2006 sont conformes à la norme de 4mm à 10mm sont sensible et 0 à 3 mm sont résistantes , aucun inhibition n'a été observer chez *E.coli* et *P. aeruginosa* effet n'a été observé avec les autres bactéries étudiées(**Figures 19 et 22**)

Résultats et interprétation

Discussion:

Les champignons sont des producteurs prolifiques de métabolites secondaires, en effet, ils peuvent produire des quantités impressionnantes et leurs produits peuvent avoir une grande importance (**Botton et al., 1990 ;Barrios-González et Mejía, 2008**).

Les métabolites secondaires sont généralement produits par fermentation par un nombre limité d'organismes, principalement par les actinomycètes et les champignons, à la fin de leurs cycles de croissance, souvent pendant la phase stationnaire, et sont connues par leur effet antibactérien (**Botton et al., 1990 ;Barrios-González et Mejía, 2008**).

Nos résultats s'accordent avec ceux **d'Abdelaziz** en 2006 dont les résultats ont montré que les souches fongiques *Aspergillus sp* et *Penicillium sp* ont eu un effet antibactérien considérable vis-à-vis de deux bactéries Gram (+) *Bacillus thuringiensis* et *Staphylococcus aureus*. D'autre part, les résultats de Abdulwahid et al., en 2013, ont révélé que *A.niger* possédait un effet inhibiteur significatif contre *S. aureus*, *S.epidermidis*, *Bacillus sp* .

D'après les résultats obtenus on peut mentionner que l'absence d'activité antibactérienne on peut utiliser les souches fongiques de genre *Aspergillus* et *Trichoderma* avec *E.coli* et *P. aeruginosa* ensemble dans l'épuration des eaux usées.

Les espèces fongiques à travers une caractéristique morphologique, culturelle, microscopique, sont connues par leur rôle dans la bio remédiation, et dans la littérature ces espèces sont citées comme des microorganismes à pouvoir dépolluant, ce qui nous a motivé de conserver ces espèces pour des futurs travaux.

Conclusion

Conclusion

Notre étude à portée d'une part sur les analyses physico-chimiques des eaux usées (brutes et traitée) de la station d'épuration de Béni Mered Blida, et d'autre part sur les caractérisations morphologiques culturales, de quelques champignons dépolluants des eaux usées isolées à partir des boues activées.

Les résultats obtenus dans notre étude concernant les caractères physico-chimiques des eaux usées à l'état brute (à l'entrée de la station) et épuré (à la sortie de la station) semblent très satisfaisants, car ils répondent aux normes (**JORA, 2006**), la température et le pH ne varient pratiquement pas, une diminution remarquable de la conductivité électrique a été soulevée, les paramètres relatifs à la pollution (DBO5, DCO, NH₄⁺, PT, PO₄⁻³ et NT) ont diminué 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 ont augmenté 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 des 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.

L'isolement et l'identification des 14 isolats fongiques 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 représentent quatre genres différents : *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, regroupés en deux classes d'Ascomycète et Deutéromycète, et d'autres souches sont des mycéliums stériles. Dans les boues activées de la STEP de Benimered (Blida), ces espèces jouent 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.

Les souches fongiques *Aspergillus sp* et *Trichoderma.sp* et les souches bactériennes : *Escherichiacoli* et *Pseudomonas aeruginosa* isolées à partir des boues activées exercent un effet synergique et d'autres vivent en symbiose. Toute cette

Conclusion

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.
- ✓ Effectuer un traitement tertiaire permettant l'élimination des composés restant après le traitement secondaires.
- ✓ Compléter les analyses physicochimiques des effluents par un suivi de la qualité microbiologique au niveau de la station d'épuration de Béni Mered Blida.
- ✓ Les souches isolées et identifiées doivent être conservées
- ✓ Un séquençage est nécessaire pour confirmer leurs identités
- ✓ Une lyophilisation de ces espèces est recommandée pour contrôler leurs viabilités et l'efficacité.

Références

Bibliographique

Références Bibliographique

Références Bibliographique

A

Abdelaziz W. (2006). Isolement des mycètes producteurs des substances antibactériennes à partir des sols sahsriens. Mémoire de Magistère En Microbiologie et Biochimie Appliquées .Université Mentouri. Constantine.

Abdulwahid B. A. Al-Shaibani, Faiz I. Al-Shakarchiet Rasha S. Ameen . Extraction and Characterization of Antibacterial Compound from *Aspergillus niger*. Journal of Al-Nahrain University Vol.16 (4), December, 2013, pp.167-174

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.

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. Blackwell Verlag GmbH .Mycoses 54.493–498.

B

Badis, A., LAOUABDIA-SELLAMI N., GUETRANI D. KIHAL M. Et OUZROUT R. 2005. Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « arabia et kabyle » Sciences et technologie 23,30-37.

Barrios-González J., Mejía A. (2008). Production of antibiotics and other commercially valuable secondary metabolites. Pp. 302-336. In : Pandey A., Soccol C.R. and C. Larroche (Eds), Current developments in solid-state Fermentation. Asiatech Publishers, INC. SPRINGER, New Delhi, India.

Bassompierre, C. (2007) . Procédé à boues activées pour le traitement d'effluents papetiers : de la conception d'un pilote à la validation de modèles. Thèse Doctorat Institut National Polytechnique De Grenoble, 230p.

Références Bibliographique

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.

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. **Berland, J. M., Boutin, C., Molle, P. and Cooper, P., 2001** Procédés extensifs d'épuration des eaux usées. -Office des publications des communautés européennes, Luxembourg.

Benoussaid, N.(2019). Etude de quelques caractères phénotypiques et génotypiques du métabolisme secondaire lié au biocontrôle et la phytostimulation chez les *Pseudomonas* spp fluorescents. , Microbiologie, Université Saad Dahlab Blida ; 242p.

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

Bloemberg, G.V. andlugtenberg, 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.

Références Bibliographique

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

C

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.

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

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

D

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.

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.

E

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^{em} éd. Cebedoc. Liège. Tee ET Dot-Lavoisier. Paris.

Références Bibliographique

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

F

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

Felczak, A., Bernat, P., Rozalska ,S., Lisowska ,K. (2016) .Quinoline biodegradation byfilamentous fungus Cunninghamellaelegans and adaptive modifications of the fungamembrane composition. Environ SciPollutRes Int 23:8872–8880.

FERTAS.,LAOUISSI.,ZOUAIMIA.(2015) . Etude microbiologique des boues des eaux usées de la ville de Guelma.

G

Gamble, T. N., Betlach, M. R. and Tiedje, J. M. (1977). Numerically dominant denitrifying bacteria from world soils.Applied and EnvironmentalMicrobiology 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).InfectiousCryptosporidiumparvumooocysts in final reclaimedeffluent.Application. Environment. Microbiology. 69, 4983–4984.

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

H

Hawksworth D.L., Kirk P.M., Sutton B.C. and Pegler D.N. (1994). Ainsworth and Bysby's dictionary of the fungi , 8 thed . International Mycological Institute,Egham.Unitted .Kingdom.

Références Bibliographique

I

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 risques biologiques.

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.

J

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.

K

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.

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

L

LADJEL., ABBOU. (2016). Perspectives de valorisation agricole et énergétique des boues issues de STEP en Algérie. p58.

Lattor, X. (1997). 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., Alday Ansola, J. (2003). L'intérêt de la réutilisation des eaux usées : analyses d'exemples mondiaux. TSM. Techniques science méthodes. Génie urbain et génie rural 64-85.

Références Bibliographique

Laurence Dutron, juillet 2012.ENS de Lyon ,Département de Biologie ,46, allée d'Italie ,69364 LYON CEDEX 07, France.<http://biologie.ens-lyon.fr/ressources/tp-direct/etude-de-la-morphologie-de-la-levure-alternaria-alternata>.

M

Madigan M.T., Matinko J.M and Parker J. (1997).Brok biology of microorganisms,8thedn. USA.

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

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

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

N

Nicolas Quatresous.(2011) .Aspergillose humaine Épidémiologie, diagnostic biologique, contrôle, Thèse, Université de Limoges.

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

O

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.

ONA. (2015). Descriptif de fonctionnement et d'exploitation de la station d'épuration de Béni madre. Ministère des Ressources en Eaux. Office National de l'Assainissement. Algérie.

Références Bibliographique

Oueldchabane , K. (2022). Contribution à l'étude physico-chimique et bactériologique des eaux de la station d'épuration du BENI MARED (W.BLIDA) et possibilité de réutilisation après traitement. Mémoire de master. Université de Blida 1. 61p.

Ouali, M.S. (2001). Cours de procédés unitaires biologiques et traitement des eaux. - Office des publications universitaires,Algérie.

P

Prescott, M.L., Harley P.J., Klein A. D. (2003):Microbiologie. 2ème édition française . De Boeck.

Pronost, J., Pronost, R., Deplat, L., Malrieu, J. and Berland, J. (2002). Stations d'épuration : dispositions constructives pour améliorer leur fonctionnement et faciliter leur exploitation. - Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche, et des affaires rurales (FNDAE n ° 22 bis), document technique, France.

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.

R

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 HydrochimHydrobiol* 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. 8^{ème} 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. 8^{ème} édition. Ed. Dunod, Paris. 1383p.

Références Bibliographique

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

S

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., 436, 461–470.

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 ecophysiology. Antonie van Leeuwenhoek, 81, 693–702.

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

T

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

U

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

Références Bibliographique

Y

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

Annexe

Annexe 1

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

❖ Milieu PDA

Suspendre 42.25g dans 1 litre d'eau distillée Chauffer jusqu'à complète dissolution. Stériliser en autoclave à 120°C pendant 20 minutes



❖ Milieu SABOURAUD+chlorophénico

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu:

Peptone pepsique de viande: 10.0

Glucose: 20.0

Chloramphénicol: 0.05

Agar agar: 15.0

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C: $5,7 \pm 0,2$



❖ Milieu TSB

Suspendre les composants, poudre déshydratée, dans l'eau (30 grammes dans 1000 ml d'eau distillée).

Le milieu est bouilli pendant quelques secondes jusqu'à dissolution complète des ingrédients.

Mélangez correctement et enfin stérilisez par autoclavage à 121 ° C pendant 15 minutes. Refroidir à 45-50°C et répartir de manière aseptique dans des boîtes de Pétri stériles. Dater le milieu et attribuez-lui un numéro de lot.



❖ Bouillon PDB :

L'infusion de pomme de terre se prépare en faisant bouillir dans l'eau 200 g de pommes de terre tranchées (lavées mais non pelées) pendant 30 minutes à 1h puis en laissant décanter le bouillon obtenu ou en le filtrant à travers un coton à fromage. On dilue ensuite en ajoutant de l'eau distillée pour un volume final d'un litre. Puis on ajoute 20g de dextrose en poudre avant une stérilisation par autoclave à 100 kPa pendant 15 minutes



❖ Milieu MacConkey Agar :

Suspendre 51,5 g dans 1 litre d'eau distillée Chauffer jusqu'à complète dissolution.

Stériliser en autoclave à 120°C pendant 20 minutes



❖ Milieu Gélose à l'Amidon :

Composition : peptone ,1% d'amidon de riz ou de pomme de terre, agar, eau distillée.



❖ Milieu Gélose au cétrimide :

Suspendre 45,2g dans 1 litre d'eau distillée plus 5ml de glycérol Chauffer jusqu'à complète dissolution.

Stériliser en autoclave à 120°C pendant 20 minutes



❖ Milieu TSA

Suspendre les composants, poudre déshydratée, dans l'eau (40 grammes dans 1000 ml d'eau distillée).

Le milieu est bouilli pendant quelques secondes jusqu'à dissolution complète des ingrédients.

Mélangez correctement et enfin stérilisez par autoclavage à 121 ° C pendant 15 minutes. Refroidir à 45-50°C et répartir de manière aseptique dans des boîtes de Pétri stériles. Dater le milieu et attribuez-lui un numéro de lot.



Annexe 2

Tableau 2: les appareillages de laboratoire de la station d'épuration de Béni Mered Blida

Nom	Utilisé pour	Image
<p>LCK 314 gamme (15 à 150 mg/l DCO)</p> <p>LCK 114 gamme (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 à 13.50 mg/l NO3-N)</p>	<p>Déterminer la teneur de NO3-N</p>	
<p>LCK 341 gamme (0.015 à 0.6 mg/l NO2-N)</p> <p>LCK 342 gamme (0.6 à 6.0 mg/l NO2-N)</p>	<p>Déterminer la faible concentration de NO2-N</p> <p>Déterminer la forte concentration de NO2-N</p>	
<p>LCK 303 gamme (2 à 47 mg/l NH4-N)</p> <p>LCK 305 gamme (1 à 12 mg/l NH4-N)</p>	<p>Déterminer la forte concentration de NH4-N</p> <p>Déterminer la faible concentration de NH4-N</p>	



LCK 348gamme (0.5-5 mg/l PT) LCK 350gamme (2-20 mg/l PT)	Déterminer la faible concentration de PT Déterminer la forte concentration de PT	
LCK338gamme (20-100 mg/l NT) LCK238gamme (5-40 mg/l NT)	Déterminer la forte concentration de NT Déterminer la faible concentration de NT	
Solution étalon PH4 Solution étalon pH 7 Solution étalon pH 9	Calibrage du pH mètre	
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 CO2 dégagé par le microorganisme	
Solution chlorure de potassium	Calibrage les appareillages des mesure	

Tableau 2: les appareillages de laboratoire de la station d'épuration de Béni Mered Blida

Spectrophotométrie	PH mètre	Conductimètre
Thermostatique	Etuve	Thermostat
Four à moufle	Dessiccateur	Pompe sous vide
centrifugeuse		

Tableau 03 : Les appareils de laboratoire de microbiologie d'hygiène Blida.



Autoclaves



Bain-marie



Incubateurs



Balance de précision



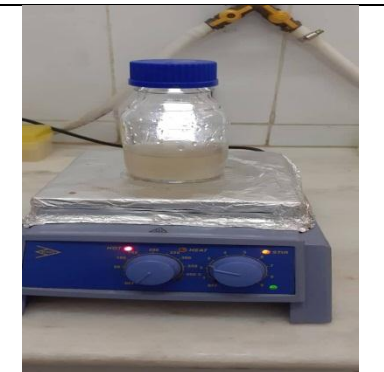
Bec Bunsen



Microscope optique



Distillateur d'eau



Agitateurs magnétique
chauffants



Incubateur-Agiteateur

Annexe 3

La virure

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

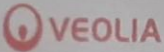


Verreries utilisées

Annexe 4

Tableau 05: Les valeurs limite des paramètres de rejet dans un milieu récepteur
(journal officiel de la république algérienne, 2006)

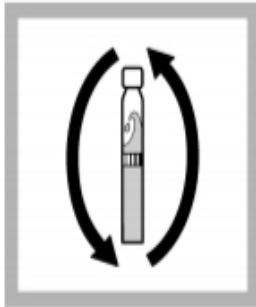
Paramètre	Unité	Valeur limite
Température	C°	30
PH	-	6,5à8,5
DBO	mg /l	35
DCO	mg /l	120
Azote	mg /l	30
Phosphates	mg /l	2
Phosphore total	mg /l	10

OTV 		AUTONOMIE REACTIFS HACH LANGE ET CONSOMMABLES							Exploitation	
Station d'épuration des Eaux Usées de Beni Mared									Le 18/01/2022	
									Par :F.FERRAH	
Stock des réactifs laboratoire (micro-méthodes) HACH LANGE										
Réactifs		Stock		Nbre de cuves	Cuve/ analyse	Cuve/ semaine	Cuve/ Mois	Fréquence	Autonomie en mois	
DCO	LCK 314	Boite	2	50	1	1	4	1 F/S	13	
	LCK 514	Boite	0	0	1	1	4	1 F/S	0	
NT	LCK 238	Boite	2	50	1	0,5	2	1 F/2 S	25	
	LCK 338	Boite	2	50	1	0,5	2	1 F/2 S	25	
PT	LCK 348	Boite	0	0	1	0,5	2	1 F/2 S	0	
	LCK 350	Boite	3	75	1	0,5	2	1 F/2 S	37	
NH ₄ ⁺	LCK 303	Boite	1	25	2	1	4	1 F/2 S	6	
NO ₃	LCK 339	Boite	0	0	2	1	4	1 F/2 S	0	
NO ₂	LCK 341	Boite	0	0	2	1	4	1 F/2 S	0	
Cr ⁶	LCK 313	Boite	0	0	1	/	/	En cas des effluents industriels	0	
S ²⁻	LCK 653	Boite	0	0	1	/	/		0	
TA	LCK 332	Boite	1	25	1	/	/		/	
Cl ⁻	LCK 311	Boite	1	25	1	/	/		/	
Inhibiteur de nitrification	Formule 2533	4 Flacon 50 ml			/	/	/	2 F/S	/	

Stock des réactifs laboratoires (micro-méthodes) HACH LANGE

Annex 5

Procédure



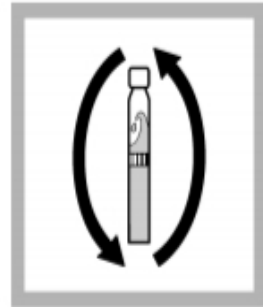
1. Mélanger le contenu pour avoir une solution homogène.



2. Pipetter soigneusement 2.0 mL d'échantillon.



3. Fermer la cuve, bien nettoyer l'extérieur de la cuve.



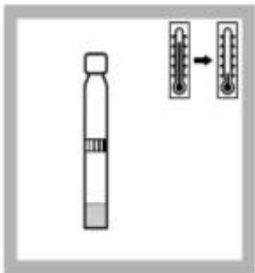
4. Retournez.



5. Chauffer dans le thermostat.
DCO classique: 2 heures à 148 °C (298.4 °F).
HT 200 S: 15 minutes avec le programme standard HT.



6. Sortir la cuve **chaude**.
DCO classique: Retourner deux fois soigneusement.
HT 200 S: Après le déverrouillage, retourner deux fois soigneusement.



7. Laisser **refroidir** à température ambiante.
COD classic: dans le support de cuve.
HT 200 S: dans le thermostat.



8. Bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.
Remarque : Les résidus doivent être **complètement éliminés** avant l'évaluation.



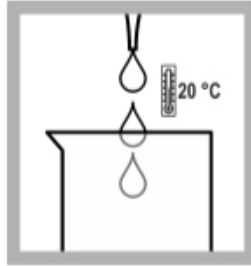
9. Insérer la cuve dans le compartiment pour cuves.
DR 1900: Accéder à méthodes LCK/TNTplus.
Sélectionner le test, appuyer sur **MESURER**.

Schéma résumant la méthode utilisé pour la détermination de la demande chimique en oxygène (DCO)

Procédure—Préparation d'échantillon



1. **Homogénéisation de l'échantillon**: placer l'axe de l'agitateur magnétique dans un **bécher**.



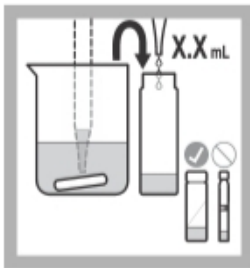
2. Ajouter de l'échantillon dans le bécher.



3. Mettre le bécher sur l'agitateur magnétique.



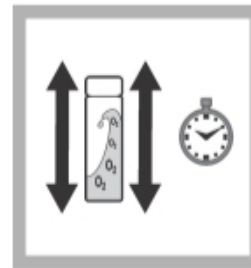
4. Agiter durant **5 minutes** à 700–900 tours/min.



5. Pipetter l'échantillon et l'eau de dilution préparée comme décrit dans 2. Préparation d'échantillon à la page 2 dans le tube de réaction.

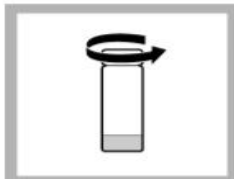


6. Fermer l'éprouvette de réaction.

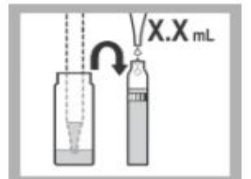


7. Agiter **vigoureusement** pendant **1 minute** pour enrichir l'échantillon en oxygène.

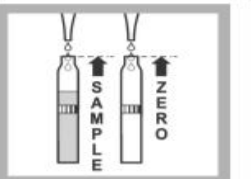
3. Procédure—Remplissage des cuves avec l'échantillon et l'eau de dilution



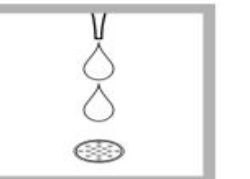
1. Ouvrez l'éprouvette de réaction



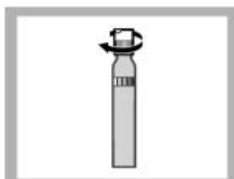
2. Pipetter le **volume d'échantillon requis** (X.X mL) préparé comme décrit dans 2. Préparation d'échantillon à la page 2 dans la **cuve d'échantillon**.



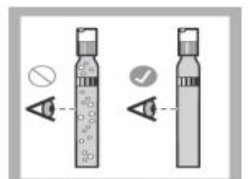
3. À l'aide d'une pipette de transfert remplir la cuve **d'échantillon** et la cuve **zero à ras bord** en évitant la formation de **bulles d'air**. Pipetter l'eau de dilution **régulièrement** dans les cuvettes. Par jour d'analyse, **une** cuve remplie uniquement avec de l'eau de dilution, doit servir de valeur à blanc pour toutes les valeurs de mesure. En cas de séries d'analyses, **une seule** cuve d'eau de dilution est nécessaire.



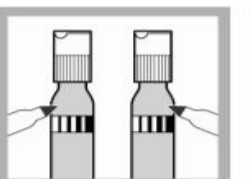
4. L'eau de dilution excédentaire se trouvant dans la pipette de transfert sera rejetée après remplissage de la cuve.



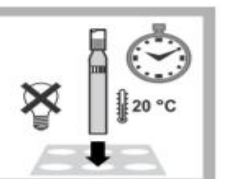
5. Fermer à nouveau les cuvettes à l'aide de DosiCapZip.



6. Assurez-vous qu'il n'y a **aucune bulle d'air** dans les cuvettes.

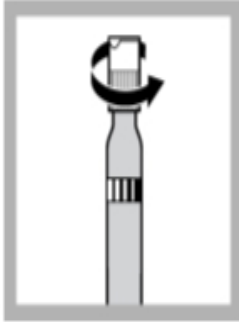


7. Étiqueter les cuvettes en indiquant le niveau de dilution et le type d'échantillon sur chaque cuve afin de les identifier facilement après 5/[n] jours.

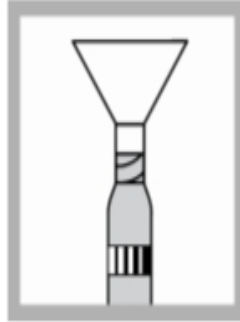


8. Ensuite, stocker pendant **5/[n] jours à l'abri de la lumière** dans le thermostat tempéré à **20 °C** (68° F).

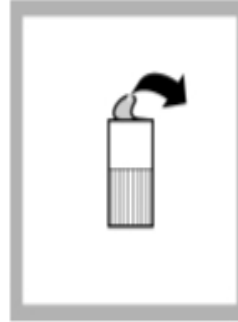
4. Procédure Evaluation DBO après 5/[n] jours



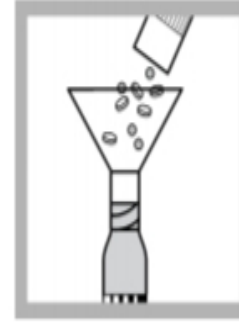
1. Dévissez le DosiCapZip de la cuve d'eau de dilution.



2. Poser l'entonnoir sur la cuve d'eau de dilution.



3. Ôter soigneusement la feuille du DosiCapZip.

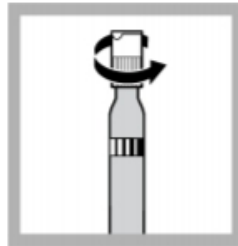


4. Verser le contenu (comprimés de réactif et perles de verre) dans la cuve d'eau de dilution.

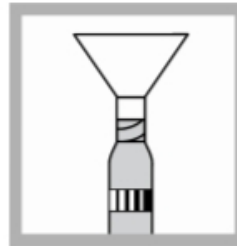


5. Enlever l'entonnoir et fermer immédiatement la cuve d'eau de dilution avec le DosiCapZip en évitant la formation de bulles d'air.

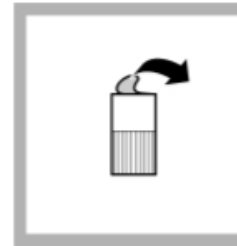
Remarque : Si le ménisque de niveau du liquide se trouve sous l'ouverture de la cuve – une fois l'entonnoir retiré – corriger le volume manquant en ajoutant à la cuve 2 à 4 perles de verre.



6. Dévissez le DosiCapZip de la cuve d'échantillon.



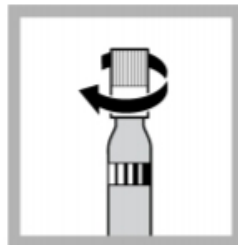
7. Poser l'entonnoir sur la cuve d'échantillon.



8. Ôter soigneusement la feuille du DosiCapZip.



9. Verser le contenu (comprimés de réactif et perles de verre) dans la cuve d'échantillon.

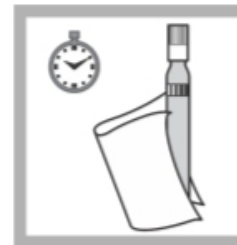


10. Enlever l'entonnoir et fermer immédiatement la cuve d'échantillon avec le DosiCapZip en évitant la formation de bulles d'air.

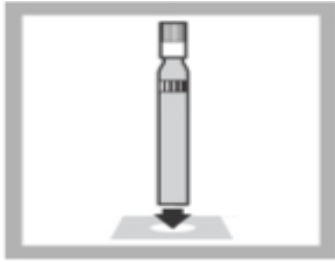
Remarque : Si le ménisque de niveau du liquide se trouve sous l'ouverture de la cuve – une fois l'entonnoir retiré – corriger le volume manquant en ajoutant à la cuve 2 à 4 perles de verre.



11. Agiter les cuve à plusieurs reprises durant 3 minutes, jusqu'à ce que les comprimés de réactifs soient complètement dilués.



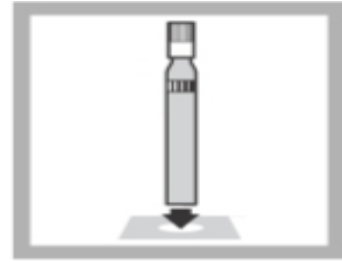
12. Après encore 3 minutes, bien nettoyer l'extérieur de la cuves et évaluer.



13. Insérer la cuve d'eau de dilution dans le compartiment pour cuves.
DR1900 : Accéder à méthodes LCK/TNTplus.
Sélectionner le test, appuyer sur **ZERO**.



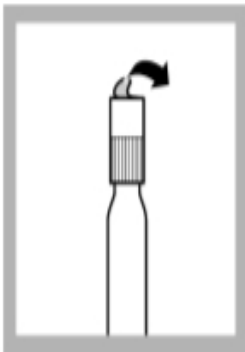
14. Retirer la cuve d'eau de dilution.



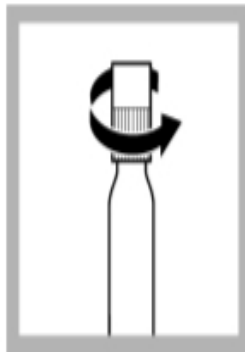
15. Insérer la cuve de l'échantillon dans le compartiment pour cuves.
DR1900: appuyer sur **MESURER**.

Schéma résumant la méthode utilisé pour la détermination de la demande biochimique en oxygène (DBO)

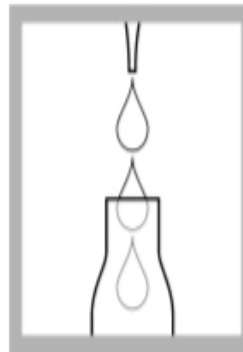
Procédure



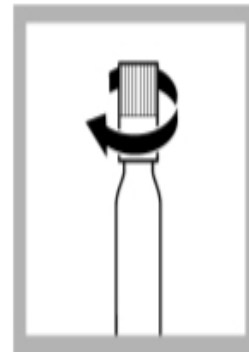
1. Enlevez délicatement la feuille de protection du DosiCap Zip détachable.



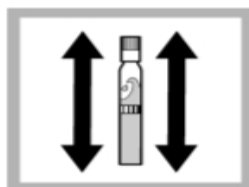
2. Dévissez le DosiCap Zip.



3. Pipetter soigneusement 0.2 mL d'échantillon.



4. Vissez immédiatement le DosiCap Zip en dirigeant les cannelures vers le haut.



5. Secouer énergiquement jusqu'à ce que le lyophilisat se soit **complètement dissous**.



6. Après 10 minutes, retourner de nouveau, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.



7. Insérer la cuve dans le compartiment pour cuves.
DR 1900: Accéder à méthodes LCK/TNTplus.
Sélectionner le test, appuyer sur **MESURER**.

Schéma résumant la méthode utilisé pour le Dosage de l'azote ammoniacal

Procédure



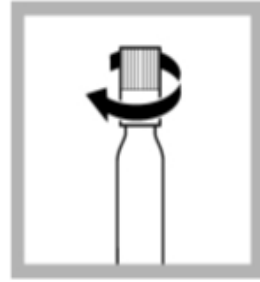
1. Enlevez délicatement la feuille de protection du DosiCap Zip détachable.



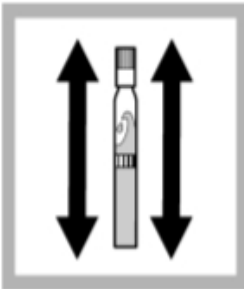
2. Dévissez le DosiCap Zip.



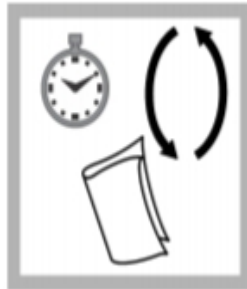
3. Pipetter soigneusement 2.0 mL d'échantillon.



4. Vissez **immédiatement** le DosiCap Zip en dirigeant les cannelures vers le haut.



5. Secouer **énergiquement** jusqu'à ce que le lyophilisat se soit **complètement dissous**.



6. Après 10 minutes, retourner de nouveau, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.

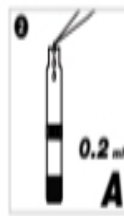


7. Insérer la cuve dans le compartiment pour cuves. DR 1900: Accéder à méthodes LCK/TNTplus. Sélectionner le test, appuyer sur **MESURER**.

Schéma résumant la méthode utilisé pour le Dosage des nitrites (N-NO₂)



1.0 ml Probe pipettieren.
 Pipetter **1.0 ml** d'échantillon.
 Pipettare **1.0 ml** di campione.
1.0 ml monster pipettieren.
 Pipette **1.0 ml** sample.



0.2 ml Lösung LCK 330 **A** pipettieren.
 Pipetter **0.2 ml** de la solution LCK 330 **A**.
 Pipettare **0.2 ml** di soluzione LCK 330 **A**.
0.2 ml oplossing LCK 330 **A** pipettieren.
 Pipette **0.2 ml** solution LCK 330 **A**.



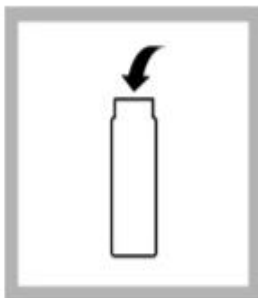
Küvette verschließen und schwenken, bis keine Schlieren mehr zu beobachten sind.
 Fermer la cuve et mélanger le contenu en la retournant plusieurs fois de suite jusqu'à ce que le mélange soit complet.
 Tappare la cuvetta e mescolare accuratamente fino a miscelazione completa (assenza di striature).
 Kuvet sluiten en zwenken tot er geen stroopdraden meer aanwezig zijn.
 Close cuvette and invert a few times until no more streaks can be seen.



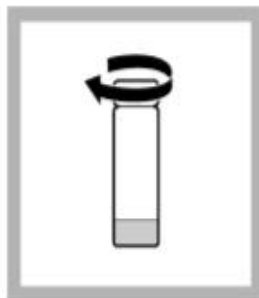
Nach **15 min** Küvette außen gut säubern und auswerten.
 Attendre **15 min**, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.
 Dopo **15 min** pulire bene la cuvetta esternamente e leggere.
 Na **15 min** het kuwet van buiten goed reinigen en meten.
 After **15 min** thoroughly clean the outside of the cuvette and evaluate.

Schéma résumant la méthode utilisé pour le Dosage des nitrates (N-NO₃)

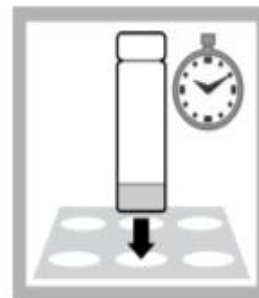
Procédure



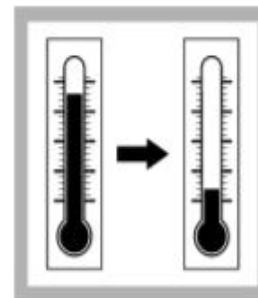
1. Doser à la suite, consécutivement dans une éprouvette de réaction sèche: **0.2 mL** d'échantillon, **2.3 mL** de solution A, **1** tablette B.



2. Fermer l'éprouvette de réaction immédiatement. Ne pas retourner.



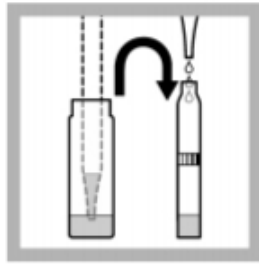
3. Chauffer directement.
HT 200 S: 15 minutes avec le programme standard HT.
Thermostat: pour 30 minutes à 120 °C (248 °F).



4. Laisser refroidir à température ambiante.



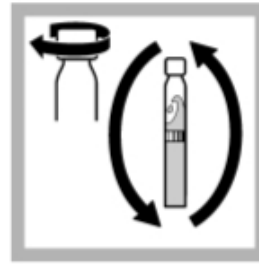
5. Retourner plusieurs fois.



6. Pipetter **lentement** dans le Test en Cuve: **0.5 mL d'échantillon désagrégé**.



7. Pipetter **lentement** **0.2 mL de solution D**.



8. Fermer **immédiatement** la cuve et mélanger le contenu en la retournant plusieurs fois de suite jusqu'à **qu'aucun dépôt ou agrégat** ne soit observable.



9. Après **15 minutes**, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.



10. Insérer la cuve dans le compartiment pour cuves. DR 1900: Accéder à méthodes LCK/TNTplus. Sélectionner le test, appuyer sur **MESURER**.



Schéma résumant la méthode utilisé pour le Dosage d'azote Total (NT)

Procédure Phosphore total



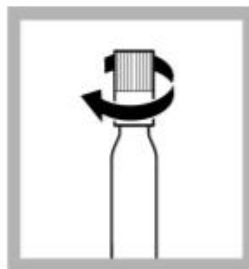
1. Enlevez délicatement la feuille de protection du DosiCap Zip détachable.



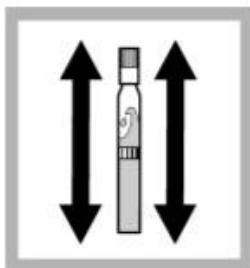
2. Dévissez le DosiCap Zip.



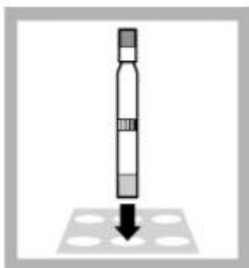
3. Prélevez soigneusement 0.4 mL d'échantillon.



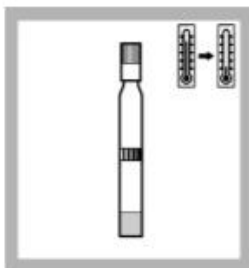
4. Revissez immédiatement et serrez le DosiCap Zip sur la cuve; dirigeant le cannelage vers le haut.



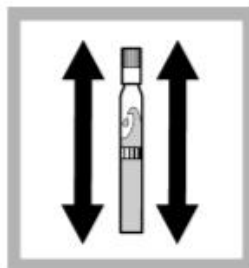
5. Secouer énergiquement.



6. Chauffer dans le thermostat.
HT200S: 15 minutes avec le programme standard HT.
Thermostat:
pour 60 minutes à 100° C (212° F) ou
pour 30 minutes à 120 °C (248 °F).



7. Laisser refroidir à température ambiante.
REMARQUE: Vérifiez que le bouchon soit bien maintenu serré après refroidissement.



8. Secouer énergiquement.



9. Dévissez le DosiCap Zip.



10. Pipetter dans la cuve une fois refroidie: 0.5 mL de réactif B. Fermer immédiatement le réactif B après emploi.



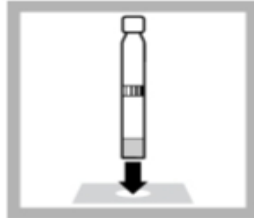
11. Visser un DosiCap C gris sur la cuve.



12. Retourner plusieurs fois jusqu'à ce que le lyophilisat se soit complètement dissous.



13. Après **10 minutes**, retourner de nouveau, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.



14. Insérez la cuve dans le porte-cuve.
DR1900: Accéder à méthodes LCK/TNTplus. Sélectionnez le test, appuyez sur **MESURER**.

Procédure Orthophosphate



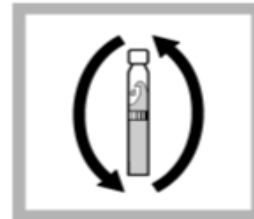
1. Prélevez soigneusement **0.4 mL d'échantillon**.



2. Pipetter **0.5 mL de réactif B**. Fermer **immédiatement** le réactif B après emploi.



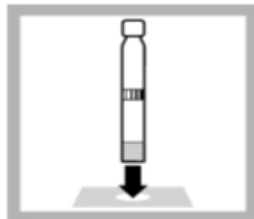
3. Visser un **DosiCap C** gris sur la cuve.



4. Retourner plusieurs fois jusqu'à ce que le lyophilisat se soit **complètement dissous**.



5. Après **10 minutes**, retourner de nouveau, bien nettoyer l'extérieur de la cuve et mesurer.



6. Insérez la cuve dans le porte-cuve.
DR1900: Accéder à méthodes LCK/TNTplus. Sélectionnez le test, appuyez sur **MESURER**.

Schéma résumant la méthode utilisée pour le Dosage de Phosphate Total (PT)