

**UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA**

**Faculté des Sciences de l'Ingénieur**  
Département de Chimie Industrielle

**MEMOIRE DE MAGISTER**

en Chimie Industrielle  
Spécialité : Génie chimique

**BIODÉGRADATION DES COLORANTS INDUSTRIELS À  
L'AIDE D'UNE SOUCHE BACTÉRIENNE ISSUE DE LA  
BETTERAVE ROUGE**

Par

**Fatima TEBOUL**

devant le jury composé de :

A. AOUABED	Professeur, Université de Blida	Président
A. BADIS	Maître de conférences, Université de Blida	Examineur
H.LOUNICI	Professeur, ENP d'Alger	Examineur
H.BOUTOUMI	Chargé de cours, Université de Blida	Co_Promoteur
M.W.NACEUR	Professeur, Université de Blida	Promoteur

Blida, juin 2010

## RESUME

Ce travail consiste à tester le consortium microbien isolé à partir de la betterave rouge dans l'élimination des colorants industriels utilisés dans la teinture des textiles. Les colorants testés proviennent de SOTRADAL de Boufarik de la famille des Azoïques et Anthraquinoniques.

L'utilisation de l'extrait de betterave à différentes proportions dans les différentes solutions a permis d'observer une décoloration dont le taux d'élimination des colorants variant de 60 à 93.37%. Par ailleurs, la complexité de la composition du rejet fait que le taux de dégradation avoisine les 90%. L'efficacité atteinte de la biodégradation est nettement améliorée en tenant compte du rapport volumique Extrait/colorant, de la température, de la lumière et sous l'action d'un gradient de vitesse (Agitation).

Les efficacités observées après incubation des souches bactériennes pour la même durée sont aussi nettement améliorées,

Mots clés: biodégradation, consortium, colorants dispersable, Azoïques et Anthraquinoniques.

## ABSTRACT

This work is to enhance the consortium of red beet in the process of biodegradation of industrial dyes used in dyeing textiles. The dyes tested from the SOTRADAL Boufarik of the family of azo and anthraquinones. The use of beet juice in different proportions in different solutions coloring was observed biodegradation ranging from 60 to 93.37%. Moreover, the complexity of the composition of the rejection is that the degradation rates around 90%. The effectiveness of biodegradation reached is significantly improved by taking into account the volume Extract / dye, the temperature, light and under the action of a velocity gradient (Noise). Efficiencies observed after incubation of bacteria for the same period were also significantly improved,.

Keywords : biodegradation, consortium, disperse dyes, azo and anthraquinones.

## المخلص

يعتمد هذا العمل على استعمال الشمندر الأحمر في المعالجة البيولوجية للملونات الصناعية المستعملة لصباغة الأنسجة. الملونات المختبرة وردت من مصنع النسيج في بوفاريك من عائلة الأزوتوتيات والانثراكينونات. إن استعمال مستخلص الشمندر بنسب مختلفة في محاليل الملونات سمحت لنا بملاحظة معالجة بيولوجية مختلفة من 60 % إلى 93.37 %. فضلا عن ذلك. تعقد تركيبة مكونات النفايات أدت إلى نسبة معالجة بيولوجية تقريبا 90 % . الفعالية المحصل عليها للمعالجة البيولوجية مستحسنة جدا عند الأخذ بعين الاعتبار النسبة الحجمية لحجم المستخلص على حجم محلول الملون, أيضا الحرارة و التعريض للضوء و التحريك. الفعالية الملاحظة باستعمال البكتيريوسا فسي نفس المدة أيضا مستحسنة جدا.

الكلمات المفتاحية : المعالجة البيولوجية، البكتيريا، الملونات الأزوتوتية والانثراكينونية.

## REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à exprimer ma profonde gratitude en vers Dieu de m'avoir facilité et donné la force de réaliser ce travail.

Ce travail a été réalisé au laboratoire des Applications Energétiques de l'Hydrogène "LAPEH" du Département Chimie Industrielle à l'université de BLIDA.

J'exprime ma reconnaissance au professeur Mr NACEUR M.W. (Professeur à l'université SAAD Dahlab de BLIDA), pour la confiance qu'il m'a témoignée en m'accueillant au sein de son laboratoire pendant ces années de recherche et pour m'avoir été le directeur de ce mémoire ; je tiens à lui exprimer ma profonde gratitude. Mes remerciements s'adressent également à Mr.BOUTOUMI H. (Chargé de cours à l'université de BLIDA) pour ces 03 années de collaboration, merci de m'avoir "m'éclater" dans la recherche. Je suis sensible à l'honneur que m'a fait Monsieur AOUBED.A (Professeur à l'université SAAD Dahlab), en acceptant la présidence de ce jury. Je suis également très honoré que Messieurs H. LOUINICI (Professeur à ENP d'ALGER) et Mr BADIS .A (Maître de conférences à la faculté de chimie industrielle l'université SAAD Dahlab de BLIDA) aient bien voulu examiner ce travail.

Mes remerciements s'adressent aussi à tous mes enseignants durant mes études et surtout un grand MERCI à Mr Benmaâlem .A, pour sa fructueuse collaboration. J'en profite aussi pour lui exprimer toute ma gratitude pour m'avoir très gentiment accueilli et pour qui m'a énormément aidé. Aussi Mr M. Khoja Sans oublier mon collègue Laoune .B. J'adresse également mes sincères remerciements aux techniciens de l'institut de C.I « Belkacem, Rachid, Maaskri, Mourad, N'fissa, zahira et le bibliothécaire Mouloud » et bien d'autre encore.

En fin, je souhaite remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce travail.

## TABLE DES MATIERS

RESUME.....	1
REMERCIEMENTS.....	3
TABLE DES MATIERES.....	4
LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX.....	6
INTRODUCTION.....	12
1. LES COLORANTS INDUSTRIELS .....	15
1. 1. Généralités.....	15
1. 2. Classification des colorants .....	19
1. 3. Pigments organiques.....	37
1. 4. Colorants et l'environnement.....	38
1. 5. Nécessité de traiter les effluents textiles.....	41
2. BIODEGRADATION MICROBIENNE .....	55
2. 1. Généralités.....	55
2. 2. Réactivités microbiologique.....	56
2. 3. Classification des substances dégradables .....	63
2. 4. Biodégradabilité de la pollution .....	65
2. 5. Mécanismes de la dégradation .....	66

3. METHODES ET TECHNIQUES EXPERIMENTALES .....	70
3. 1. Les colorants utilisés .....	70
3. 2. Matériels utilisés .....	74
3. 3. Démarche expérimentale .....	75
3. 4. Moyens d'identification des bactéries .....	78
3. 5. Méthode des plans d'expériences .....	82
4. RESULTATS EXPERIMENTAUX ET DISCUSSIONS.....	92
4. 1. Échantillons utilisés... ..	92
4. 2. Test de biodégradation.....	93
4. 3. Influences des différents paramètres sur la biodégradation.....	96
4. 4. Optimisation des résultats par modélisation.....	123
4. 5. Identification des souches bactériennes.....	152
CONCLUSION.....	160
APPENDICES.....	162
A. Liste des symboles.....	162
B. Tests préliminaires.....	164
C. Les tableaux des résultats .....	169
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	182

## LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1. 1	Structure chimique de C.I .Vat Green1	18
Figure 1. 2	Structure chimique du C.I. Acid Red 27	20
Figure 1. 3	Structure chimique du C.I. Basic Green 4	21
Figure 1. 4	Structure chimique du C.I. Direct Blue 1	22
Figure 1. 5	La fixation de colorant direct sur la fibre	22
Figure 1. 6	Structure chimique de quelques colorants dispersables azoïques	23
Figure 1. 7	Structure chimique de quelques colorants dispersables anthraquinoniques	24
Figure 1. 8	La fixation de colorant développable sur la fibre	25
Figure 1. 9	La fixation de colorant pour mordant sur la fibre	25
Figure 1. 10	Indigo réoxydé bleu fixé sur les fibres	27
Figure 1. 11	Structure chimique de C.I. Reactive blue4	28
Figure 1. 12	Structure chimique du C.I. Reactive yellow 13	29
Figure 1. 13	Structure chimique du colorant Nitro	30
Figure 1. 14	Colorant diazoïque dissymétrique Structure chimique du C.I.Remozal Black5	31
Figure 1. 15	Structure chimique du colorant triphényl méthane "gentian violet".	32
Figure 1. 16	Colorants a base de xanthène et d'acridine.	32
Figure 1. 17	Colorants d'azines (phenazine, oxazines, thiazines)	33
Figure 1. 18	Structure chimique du colorant indigoïde	35
Figure 1. 19	Structure chimique du colorant anthraquinonique	35
Figure 1. 20	Structure chimique du C.I. Sulfur yellow 4	35
Figure 1. 21	Structure chimique du C.I. Pigment Blue 15	37
Figure 1. 22	Conséquences de la bio-accumulation après déversement des colorants dans un cours d'eau	42
Figure 1. 23	flux métabolique de la digestion anaérobie	50
Figure 3. 1	Procédure d'identification des souches bactériennes	81
Figure 3. 2	Schéma de représentation d'entrées/sorties	83

Figure 3. 3	Illustration du domaine expérimental pour un plan factoriel $2^3$	85
Figure 3. 4	Procédure d'analyse des réponses.	91
Figure 4. 1	Les échantillons des colorants, du rejet et de betterave rouge avant la biodégradation	93
Figure 4. 2	Les échantillons des colorants, du rejet et de betterave rouge après la biodégradation	93
Figure 4. 3	Variation du taux de dégradation des colorants en fonction de temps	95
Figure 4. 4	Variation du pH de la biodégradation des colorants en fonction de temps.	95
Figure 4. 5	Evolution de l'absorbance de MO et de sous produits	97
Figure 4. 6	Evolution de pH de MO et de sous produits par l'extrait de BR à 37°C	98
Figure 4. 7	Mécanisme de biodégradation du MO	99
Figure 5. 8	Biodégradation de NND et de AS par l'extrait de BR et par la biomasse	100
Figure 4. 9	Variation du taux de dégradation et le pH de colorant rouge en fonction de temps	101
Figure 4. 10	l'influence de $R_v$ sur le taux de la dégradation de colorant rouge.	102
Figure 4. 11	l'influence de température sur le taux de dégradation de colorant rouge.	103
Figure 4. 12	l'effet de la lumière sur le taux de dégradation de colorant rouge	103
Figure 4. 13	l'influence d'agitation + température sur le taux de dégradation de colorant rouge	104
Figure 4. 14	Variation du taux de dégradation et le pH de colorant bleu en fonction de temps	105
Figure 4. 15	l'influence de $R_v$ sur le taux de dégradation de colorant bleu	105
Figure 4. 16	l'effet de température sur le taux de dégradation de colorant bleu.	106



Figure 4. 17	l'effet de la lumière sur le taux de dégradation de colorant bleu	107
Figure 4.18	l'influence de l'agitation+température sur le taux de dégradation de colorant bleu.	108
Figure 4. 19	Variation du taux de dégradation et le pH de colorant vert en fonction de temps	109
Figure 4. 20	Evolution du taux de dégradation de colorant vert en fonction du temps et de volume de betterave rouge introduite.	110
Figure 4. 21	Relation entre le taux de dégradation et la température pour le colorant vert.	111
Figure 4. 22	l'effet de la lumière sur le taux de dégradation de colorant vert.	111
Figure 4. 23	l'influence d'agitation et de température sur le taux de dégradation de colorant vert.	112
Figure 4. 24	Variation du taux de dégradation et le pH de colorant jaune en fonction de temps.	113
Figure 4. 25	l'influence de $R_v$ sur le taux de dégradation du colorant jaune	113
Figure 4. 26	l'influence de la température sur le taux de dégradation du colorant jaune.	114
Figure 4. 27	l'effet de lumière sur le taux de dégradation du colorant jaune.	115
Figure 4.28	l'influence de l'agitation +la température sur le taux de dégradation du colorant jaune.	115
Figure 4. 29	Variation du taux de dégradation et le pH du rejet en fonction de temps	116
Figure 4. 30	l'influence de $R_v$ sur le taux de dégradation du rejet.	117
Figure 4. 31	l'influence de la température sur le taux de dégradation du rejet.	118
Figure 4. 32	l'effet de lumière sur le taux de dégradation du rejet.	119
Figure 4. 33	l'influence de l'agitation +la température sur le taux de dégradation du rejet.	119

Figure 4. 34	L'effet de l'ajoute de couche bactérienne sur la biodégradation des colorants.	120
Figure 4. 35	les spectres UV-visible des colorants avant et après le traitement.	123
Figure 4. 36	effet de $R_{air}$ sur le taux de la biodégradation par MLR	125
Figure 4. 37	Domaine expérimental du plan $2^3$	128
Figure 4. 38	Histogramme des coefficients du modèle du colorant bleu	130
Figure 4. 39	l'effet des facteurs.	131
Figure 4. 40	l'effet des facteurs.	132
Figure 4. 41	Isoréponse par trait des température et $R_{air}$	133
Figure 4. 42	Graphe des réponses observées en fonction des réponses prédites	135
Figure 4. 43	Histogramme des coefficients du modèle du pH du colorant bleu	137
Figure 4. 44	l'effet moyen de la température, $R_{air}$ et l'agitation sur le pH du colorant bleu cibacette BF.	138
Figure 4. 45	les courbes de niveau de la fonction d'erreur de prédictions.	140
Figure 4. 46	Isoréponse pour les 02 réponses (R% et pH) sur même graphique.	140
Figure 4. 47	Histogramme des effets et des interactions du plan $2^3$ de colorant rouge Sirius 4B	143
Figure 4. 48	Diagramme des résidus du plan $2^3$ cas de colorant rouge Sirius.	145
Figure 4. 49	Surface de réponse du plan $2^3$ du colorant rouge Sirius 4B.	146
Figure 4. 50	Courbes d'isoreponses du plan $2^3$ de colorant rouge Sirius 4B.	146
Figure 4. 51	Histogramme des coefficients du modèle du colorant Jaune célliton G	148
Figure 4. 52	Histogramme des coefficients du modèle du colorant vert	149
Figure 4. 53	Les morphologiques des trois souches bactériennes sur la GN	153
Figure 4. 54	Conservation des souches sur la gélose inclinée.	154

Figure 4. 55	La coloration de gram des trois souches bactériennes	155
Figure 4. 56	Résultats du test de VF	155
Figure 4. 57	Résultat du test de l'oxydase	156
Figure 4. 58	Résultat de quelques tests de Galerie biochimique pour les trois souches bactériennes.	158
Tableau 1.1	Principaux groupes chromophores et auxochromes, classés par intensité Croissante	17
Tableau 1.2	Valeurs limites maximales des paramètres de rejet des installations de déversement industrielles	38
Tableau 1. 3	Principaux rejets polluants de l'industrie chimique de colorants et textile, origine et principales caractéristiques	40
Tableau 1. 4	Taux de fixation sur textile pour les différentes classes de colorants	43
Tableau 1. 5	les caractéristiques des eaux usées	44
Tableau 1. 6	Comparaison des technologies de dépollution des effluents textiles	51
Tableau 2.1	Relation quantitative entre la résistance à la dégradation et la structure chimique des composés organiques	64
Tableau 3.1	principales caractéristiques du colorant méthyl orange	70
Tableau 3.2	principales caractéristiques du colorant rouge sirius 4B	71
Tableau 3. 3	principales caractéristiques du colorant jaune célliton G	72
Tableau 3. 4	principales caractéristiques du colorant bleu cibacette BF	73
Tableau 4.1	Caractéristiques générales de colorants avant le test de biodégradation.	92
Tableau 4.2	les taux de dégradation et le pH des colorants et de betterave rouge	94
Tableau 4.3	Domaine d'étude du plan 2 <sup>6</sup>	124
Tableau 4.4	Caractéristiques du plan factoriel 2 <sup>3</sup>	127
Tableau 4.5	Matrice d'expériences : plan factoriel 2 <sup>3</sup>	128
Tableau 4.6	Matrice d'expériences et résultats des essais : plan factoriel 2 <sup>3</sup>	129
Tableau 4.7	Listes des coefficients du modèle : plan 2 <sup>3</sup>	130

Tableau 4.8	Comparaison des valeurs mesurées et valeurs prédites de R%	136
Tableau 4.9	Listes des coefficients du modèle : plan $2^3$	137
Tableau4.10	Comparaison des valeurs mesurées et valeurs prédites du pH	139
Tableau4.11	Coefficients du modèle de colorant rouge Sirius 4B et leurs écarts types.	142
Tableau4.12	les caractéristiques morphologiques des trois souches bactériennes.	152
Tableau4.13	Résultats de l'identification bactériologique	157

## INTRODUCTION

Les colorants de synthèse, toxiques pour la plupart, sont largement utilisés dans l'industrie textile. D'un point de vue purement technologique, ces substances sont classées en deux grandes familles. Les colorants solubles dans l'eau et les colorants insolubles dans l'eau. Les premiers sont responsables d'un problème délicat car les traitements classiques des eaux ayant servi dans les bains de teinture, n'assurent pas une épuration satisfaisante.

Dans certains pays comme l'Algérie, dont les ressources hydriques sont relativement limitées, les eaux traitées sont souvent réutilisées. Si le traitement n'est pas suffisamment efficace, des éléments toxiques peuvent atteindre l'homme à travers la chaîne alimentaire; des essais pilotes effectués par une équipe de biologistes de l'université d'Oran montrent que la clarifloculation avec des réactifs traditionnels, tels que les sels de fer est insuffisante.

A titre indicatif, l'entreprise SOITEX de Tlemcen utilise une clarifloculation à l'aide de sulfate ferreux en présence de chaux à pH 12 suivie d'une addition d'acide sulfurique, cependant, les eaux résiduaires contiennent encore des colorants, leur pH reste élevé et leur conductance de l'ordre de 1400  $\mu\text{s}$  : c'est dire que ces eaux ne sont pas guère adaptées à une réutilisation agricole [1].

En définitif, la pollution des eaux par les matières organiques est un problème mondial dont les aspects et la portée sont évidemment différents selon le niveau de développement des pays. Il importe que les concentrations des produits polluants soient les plus faibles possibles. La surveillance est donc essentielle et repose sur les trois aspects suivants :

- *L'aspect réglementaire* qui consiste à fixer des normes,
- *L'aspect sanitaire* comporte en particulier le contrôle technique des installations,

- *L'aspect scientifique et technologique* enfin correspond à l'amélioration des procédés de dépollution.

Malgré tout, il reste encore beaucoup de travail à faire notamment en ce qui concerne les effluents des industries textiles. Ces derniers sont réparties sur un grand nombre de pays à travers le monde. Pour l'Algérie, les plus importantes sont localisées à Msila, Tlemcen, Laghouat, Draa ben Khedda, Bab-Ezzouar et Boufarik.

Ces rejets font parties des eaux usées les moins traitées et sont caractérisés par de fortes colorations, de fortes variations de pH, de fortes demandes chimiques en oxygène (DCO). La pollution par les déchets organiques toxiques est plus insidieuse qu'une pollution directe (odeur, couleur, trouble) car moins remarquable.

En moyenne, environ 10-15% des colorants sont déversés après leur utilisation. Bien que les colorants ne représentent qu'une toute petite partie de la contamination organique des eaux, ils déterminent fortement l'aspect des eaux polluées. Les techniques existantes sont divisées en techniques de concentration et en techniques d'élimination [2].

Notre objectif est de développer un procédé original et innovateur de bioremédiation d'effluents industriels contenant des colorants organiques, à l'aide de souches bactériennes issues de la betterave.

Ce procédé permettra à la fois de :

1. Valoriser des souches bactériennes issues de la betterave,
2. Résoudre un problème de pollution (de manière plus efficiente que par les procédés physico-chimiques et à moindre coût),

De plus, l'application de ce procédé pourrait être étendue à la dépollution d'effluents organiques issus d'autres secteurs que celui des colorants à savoir : la biodégradation des molécules organiques complexes (industries papetières, de détergents et textile).

Le projet débutera par une mise au point des conditions d'étude comprenant une analyse des effluents à traiter et la recherche des conditions physiologiques optimales de croissance des souches bactériennes de la betterave.

Une étude complète des mécanismes impliqués dans la dégradation sera ensuite réalisée (vitesses de dégradation, identification des composés, caractérisation enzymatique, étude du caractère d'écotoxicité).

Enfin, intégration des différents résultats et formulation du système bactéries-colorants optimal, mode d'application du procédé, mise au point du protocole de Biodégradation et passage à l'échelle pilote.

Le présent mémoire est organisé en une introduction, une conclusion, quatre chapitres et une annexe. Des généralités sur les colorants des textiles sont exposées au chapitre 1. Nous présentons au chapitre 2, un aperçu sur les aspects de biodégradation. Les méthodes et techniques expérimentales sont exploitées au chapitre 3. Le chapitre 4 est consacré aux différents résultats de la biodégradation des quatre colorants par des bactéries issues de la betterave rouge. Un ensemble d'aspects sont abordés dans ce cadre, il s'agit de l'évaluation de taux de dégradation, l'étude des effets des paramètres (pH, lumière, et température, agitation), l'étude de la modélisation et optimisation de taux de dégradation et identification des bactéries.

## CHAPITRE 1

### LES COLORANTS INDUSTRIELS

#### 1.1. Généralités

Depuis long temps l'homme a toujours cherché à imiter la nature dans tous les domaines de la vie, entre autre, au niveau de la diversité des couleurs et les nuances. En effet ; la couleur a joué et joue encore un grand rôle dans la vie de l'homme et dans ces activités professionnelles (orner ses vêtements, ses meubles, son logis). La nature, nous, en fera un riche choix de magnifiques couleurs, parmi elles, celles des fleurs, des insectes (ex : papillon), des oiseaux ...etc. Par ailleurs souvent des matières premières comme le bois, les tiers, les fibres, ...etc. nous font découvrir des couleurs impressionnants, pour cette raison l'homme s'est s'élevé des substances colorées qui sont capables *de transmettre leur couleurs à des différents supports*. En 1<sup>er</sup> lieu en matière fibreuse ces substances sont appelés *matières colorants* ou tout simplement *colorants* [3].

Par ailleurs, il importe de savoir que un colorant doit posséder, outre sa couleur propre, la propriété de teindre. Cette propriété résultant d'une affinité particulière entre le colorant et la fibre est à l'origine des principales difficultés rencontrées lors des traitements. En effet, selon le type d'application et d'utilisation, les colorants synthétiques doivent répondre à un certain nombre de critères, afin de prolonger la durée de vie des produits textiles, sur lesquels ils sont appliqués : résistance à l'abrasion, stabilité photolytique des couleurs et résistance à l'oxydation chimique (notamment les détergents). L'affinité du colorant pour la fibre est particulièrement développée pour les colorants qui possèdent un caractère acide ou basique accentué. Ces caractéristiques propres aux colorants organiques accroissent leur persistance dans l'environnement et les rendent peu disposés à la biodégradation [4].



Aujourd'hui, la chimie des colorants a pris une grande part dans le domaine chimique, elle s'occupe de l'étude de la fabrication des colorants, leur constitution chimiques et surtout leur application dans différentes industries telle que celle de la teinture, pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires [3].

### 1.1.1. Couleur et structure chimique

Les matières colorantes se caractérisent par leur capacité à absorber les rayonnements lumineux dans le spectre visible (de 380 à 750 nm). La transformation de la lumière blanche en lumière colorée par réflexion sur un corps, ou par transmission ou diffusion, résulte de l'absorption sélective d'énergie par certains groupes d'atomes appelés chromophores [5] ; la molécule colorante étant le chromogène. Plus la facilité du groupe chromophore à donner un électron est grande, plus la couleur sera intense (groupes chromophores classés par intensité décroissante dans le tableau 1.1). D'autres groupes d'atomes du chromogène peuvent intensifier ou changer la couleur due au chromophore : ce sont les groupes auxochromes.

Les chromophores sont des groupes aromatiques (système  $\pi$ ), conjugués (liaison  $\pi$ ), comportant des liaisons non-liantes (électron  $n$ ) ou des complexes de métaux de transition. Les colorants diffèrent les uns des autres par des combinaisons d'orbitales moléculaires. La coloration correspond aux transitions possibles après absorption du rayonnement lumineux entre ces niveaux d'énergie propres à chaque molécule [6].

Il est important de noter qu'une substance colorée n'implique pas que sa longueur d'onde d'absorption maximale  $\lambda_{\max}$  soit située dans le domaine de visible. Pour déterminer cette longueur d'onde d'absorption maximale  $\lambda_{\max}$  on enregistre le spectre UV- Visible.

$$E = \text{Log} \frac{I_0}{I} = \xi \cdot C \cdot \ell .$$

t.q:

E: l'extinction molaire

$I_0$ : Intensité de la radiation incidente

$I$  : Intensité de la radiation transmise  
 $\xi$  : Le coefficient d'extinction molaire  
 $C$  : Concentration en mole/l  
 $l$  : épaisseur de la cuvette en cm.

De manière générale, les colorants consistent en un assemblage de groupes chromophores, auxochromes et de structures aromatiques conjuguées (cycles benzéniques, anthracène, perylène, etc). Lorsque le nombre de noyau aromatique augmente, la conjugaison des doubles liaisons s'accroît et le système conjugué s'élargit. L'énergie des liaisons  $\pi$  diminue tandis que l'activité des électrons  $\pi$  ou  $n$  augmente et produit un déplacement vers les grandes longueurs d'onde. De même lorsqu'un groupe auxochrome donneur d'électrons (amino, hydroxy, alkoxy...) est placé sur un système aromatique conjugué, ce groupe se joint à la conjugaison du système  $\pi$ , la molécule absorbe dans les grandes longueurs d'onde et donne des couleurs plus foncées.

Tableau 1. 1 : Principaux groupes chromophores et auxochromes, classés par intensité Croissante [4].

<i>Groupes chromophores</i>	<i>Groupes auxochromes</i>
Azo (-N=N-) Nitrozo (-NO ou -N-OH) Carbonyl (=C=O) Vinyl (-C=C-) Nitro (-NO <sub>2</sub> ou =NO- OH) Sulphure (C=S)	Amino (-NH <sub>2</sub> ) Méthylamino (-NHCH <sub>3</sub> ) Diméthylamino (-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ) Hydroxyl (-HO) Alkoxy (-OR) Groupes donneurs d'électrons

### 1.1.2. Nomenclature des colorants

Les colorants furent tout d'abord baptisés de noms de plantes (la mauvéine, la fuschine, la garance, etc.), puis de noms de minerais (vert malachite, auramine, etc). Par la suite, ils furent désignés selon leur constitution chimique

(bleu de méthylène, violet de méthyle, vert naphthalène, etc.). Actuellement, les fabricants de matières colorantes déposent des marques protégées pour les différentes classes de colorants en fonction de leur procédé d'application.

Ainsi, chaque colorant est désigné par sa couleur, sa marque commerciale et un code le caractérisant. Ce code est composé de chiffres et de lettres pouvant avoir différentes significations (par exemple: R = rougeâtre; J, Y ou G = jaunâtre; B = bleuâtre; 2B = plus bleu, etc.) ou une qualité (L = solide à la lumière).

On dénombre environ 8000 colorants synthétiques chimiquement différents répertoriés dans le Colour Index [3] sous 40.000 dénominations commerciales.

Les colorants y sont classés sous un nom de code indiquant leur classe, leur nuance ainsi qu'un numéro d'ordre (par exemple: C.I. Acid yellow 1).

Les cinq volumes du Colour Index ont traité à la classification des colorants selon leur usage (nuance, application, solidité), leurs constitutions chimiques ainsi que leurs marques commerciales [7].

### Exemple

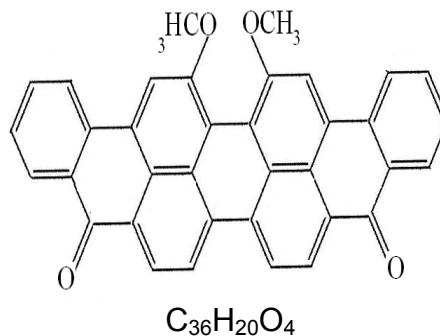


Figure 1.1: Structure chimique de C.I. Vat Green 1 [3].

#### A) Nomenclature systématique

D'après le système U.I.C.P.A (Union International de la Chimie pure et Appliquée)

16,17-diméthoxy-dinaphto [1, 2, 3,-c, d ; 3',2',1'- l, m] pérylène-5,10-dione.

B) Nomenclatureur binaire

Par « color index » C.I (Indice de couleur)

**Indication de la classe chimique par un nombre**

C.I 59825

**Indication de la classe d'application**

Application –couleur- Numéro

C.I Vat Green 1

C) Nomenclatureur ou Noms commerciales 3 parties

- Nom de l'usine et classe chimique
- La couleur
- Une série de lettre et nombre

Pour indiquer en détail la couleur et les propriétés des colorants ce code n'est pas standardisé.

Cibanone brillant Green BF, 2BF, BFD.

D) Le Nom trivial

Jade Green (jade, pierre précieuse joyeux vert)

1.2. Classification des colorants

La classification des colorants peut être faite selon leur constitution chimique (Colorants azoïques, anthraquinoniques, triazine, méthriques, indigoïdes.....etc.).

Si cette classification chimique présente un intérêt pour le fabricant de matières colorantes, le teinturier préfère la classification par domaines d'application. Ainsi, cette classification renseignée sur la solubilité du colorant.

1.2.1. Classification tinctoriale1. Colorants anioniques (acides)

Ces colorants sont très solubles dans l'eau (grâce a leur groupement sulfonate( $\text{Na}^+\text{SO}_3^-$ ) ou carboxylates ( $\text{NaOOC}^-$ )). Ils sont constitués d'un groupe chromophores (résponsible de l'effet de coloration) [7], ils sont ainsi dénommés

perce que ils permettent de teindre les fibres animales (Laine et soie) donnant des colorations vives et solides et quelques fibres acryliques modifiées (nylon, polyamides) [8], et dans les bains légèrement acides : l'opération est réalisée à 100°C à partir de solution acide.

Ils appartiennent, en outre, aux deux plus grandes classes chimiques des colorants [9].

### Exemple de colorant

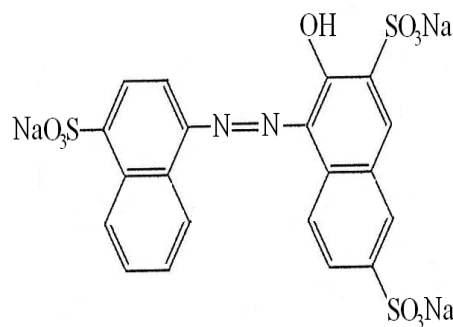


Figure 1.2: Structure chimique du C.I. Acid Red 27[7].

L'application de ces colorants se fait par solubilisation des colorants dans l'eau ou dans les acides faibles. (Puis teinture des fibres par autre méthode leur introduction dans ces bains). On utilise les colorants anioniques pour la teinture de la soie, la laine et les polyamides. L'affinité colorant - fibre est le résultat de liaisons ioniques entre la partie acide sulfonique (le groupement sulfo ( $\text{SO}_3\text{H}$ )) du colorant et les groupes amino ( $\text{NH}_2$ ) des fibres textiles [8].

## 2. Colorants cationiques (basiques)

Ce sont des colorants contenus dans leur molécule une charge positive, qui habituellement porte par l'atome d'azote. Cette charge positive peut être, soit localisés sur un groupe anionome, soit localisé.

### Exemple

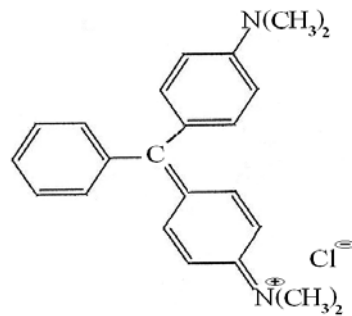


Figure 1.3: Structure chimique du C.I. Basic Green 4[7].

Les colorants à charge délocalisées sont brillants et résistants .On utilise ces colorants pour la teinture de polyester et des poly acrylonitriles modifiées. La modification se fait par introduction de monomère portant le groupement sulfo *par exemple* l'acide vinyle sulfonique  $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{SO}_3\text{H}$  [3].

Ces colorants sont des sels d'amines organiques, ce qui leur confère une bonne solubilité dans l'eau. Les liaisons se font entre les sites cationiques des colorants et les sites anioniques des fibres (sulfo). Ils sont passés de disparaître dans la teinture de la laine et de la soie. Ces colorants bénéficient d'un regain d'intérêt avec l'apparition des fibres acryliques sur lesquelles permettant des nuances très vives et résistantes [8].

Cependant ces produits résistent mal à l'action de la lumière et aux frottements, de ce fait, ils ne sont plus utilisés pour la teinture des fibres naturelles [7].

### 3. Colorants directs (substantifs)

Ce sont des colorants qui sont utilisées pour la teinture directe des fibres cellulosiques « coton ». Ces colorants portent un grand nombre de double liaison conjuguée généralement. Les colorants directs sont des molécules coplanaires [10].

## Exemple

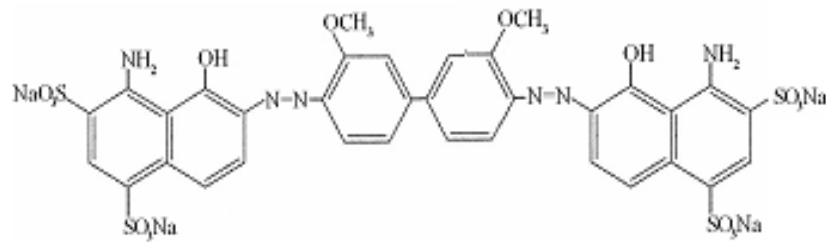


Figure 1.4: Structure chimique du C.I. Direct Blue 1[7].

Les colorants directs sont solubles dans l'eau. Ces colorants se fixent sur les fibres cellulosiques par formation d'agrégat. Les groupes amines et sulfonates se fixent à la fibre par des liaisons hydrogène avec les groupements hydroxyles et éthers de la cellulose [11].

Ces colorants sont capables de former des charges positives ou négatives électrostatiquement attirées par les charges des fibres. Ils se distinguent par leur affinité pour les fibres cellulosiques sans application de mordant, liées à la structure plane de leur molécule.

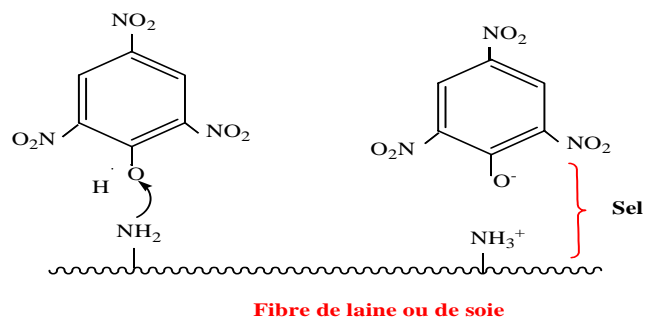


Figure 1.5: La fixation de colorant direct sur la fibre [4].

En péchant aussi au moins partiellement son élimination par lavage, l'application est simple et bas prix [2].

Les avantages principaux de ces colorants sont: la grande variété des coloris, leur facilité d'application et leur prix modique. Par contre, leur inconvénient principal réside dans leur faible solidité au "mouillé "[7].

#### 4. Colorants dispersables

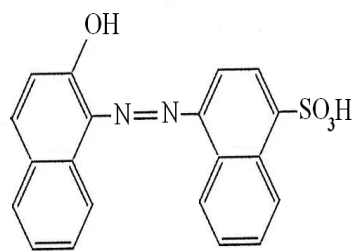
Ils sont solubles dans l'eau et ils sont appliqués sous forme d'une fine poudre dispersée dans le bain de teinture [8].

Les colorants dispersables se fixent sur les fibres par des forces de Vanderwals et par des liaisons d'hydrogènes « pont d'hydrogènes » [3]. Ils sont en mesure, lors d'une teinture à haute température de diffuser dans les fibres synthétiques puis de s'y fixer [8].

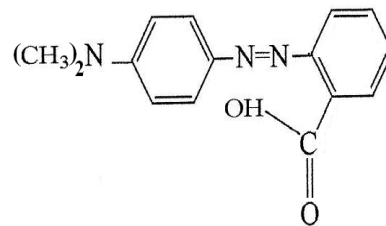
Ces colorants sont généralement de nature azoïques ou anthraquinoniques.

##### 4.1. Colorants dispersables azoïques

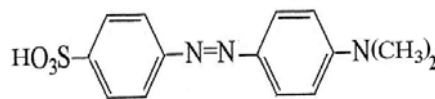
Ils représentent le plus grand groupe des colorants dispersables. Ceci est dû à une grande variabilité de structure d'un côté et un procédé de fabrication très simple de l'autre côté. On distingue 50% des colorants monoazoïques (un groupement  $-N=N-$ ) (Ces qui ont grande importance économique) et 10% des colorants diazoïques (deux groupements  $-N=N-$ ) [9].



Acid red88



Methyl red



Acid orange52

Figure 1.6: Structure chimique de quelques colorants dispersables azoïques [12].

##### 4.2. Colorants dispersables anthraquinoniques

Ils sont utilisés pour la coloration des polyesters et des polyamides

Quatre types fondamentaux :

- 1) 4-amino-1-hydroxy anthraquinones : Amélioration de pouvoir d'adsorption pour faire absorber le colorant sur la fibre de tissu



- 2) 1,4-diamino anthraquinones: pour augmentation de la stabilité à la lumière
- 3) N-substituée 4-amino-1-hydroxy anthraquinones: amélioration de la stabilité à la sublimation
- 4) Diaminodihydroxy anthraquinones: le plus important colorant dispersable. A cause de la pouvoir d'adsorption (sur surface)

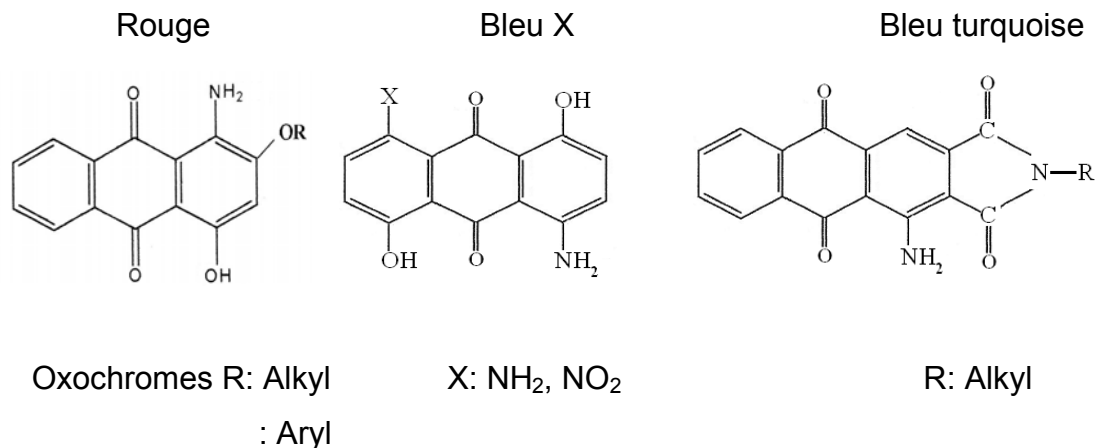


Figure 1.7: Structure chimique de quelques colorants dispersables anthraquinoniques [13].

### 5. Colorants développables

Ces colorants se forment sur la fibre par une copulation azoïque. Le principe d'application est le suivant ; les fibres où les tissus sont trempés dans une solution alcaline. « Colorant de base » de Naphtol A.S incolore qui se fixe sur les fibres par des forces intermoléculaires. Après séchage, la fibre Naphtol A.S est trempée dans une solution de sel de diazonium et aussi la fibre est colorée par copulation azoïque.

Les colorants développables sont surtout utilisés pour l'impression des fibres hydrophiles de coton. L'application est limitée pour la soie et la laine car la solution alcaline de Naphtol A.S hydrolyse la laine.

On les applique aussi pour les fibres hydrophobes (les polyesters et les polyamides). Entrant les fibres dans la solution de Naphtol A.S et de l'amine Aromatique en suite on ajoute de NaNO<sub>2</sub> Nitrile de sodium [3].

Les colorants développables ou azoïques insolubles sont formés directement sur la fibre. Au cours d'une première étape, le support textile est imprégné d'une solution de naphthol ou copulant, les précurseurs de la molécule suffisamment petits pour diffuser dans les pores et les fibres sont ensuite traités avec une solution de sel de diazonium, qui par réaction de copulation entraîne le développement immédiat du colorant azoïque [8].

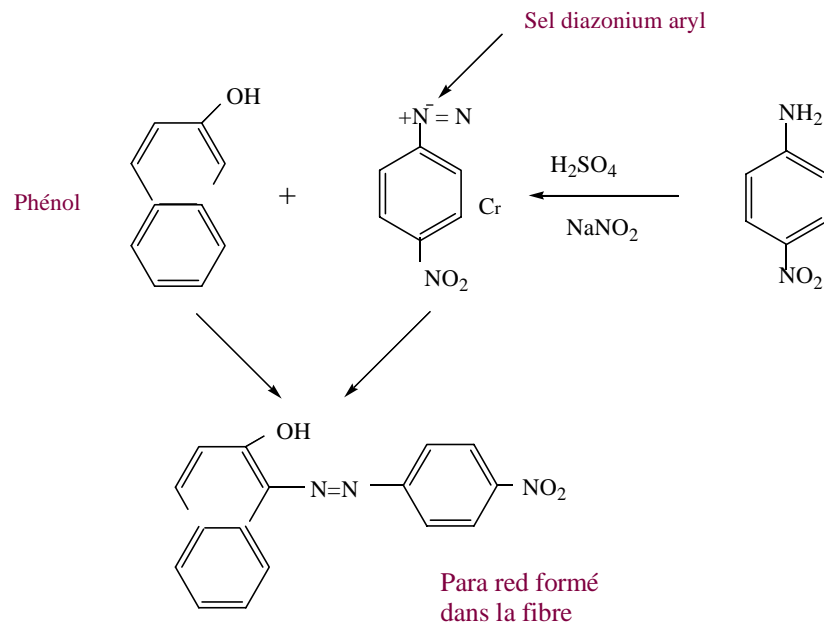


Figure 1.8: La fixation de colorant développable sur la fibre [8].

## 6. Colorants pour mordant à complexe métallique

Contiennent généralement un ligand fonctionnel, capable de réagir fortement avec un sel d'aluminium, de chrome, de cobalt, de cuivre, de nickel ou de fer pour donner différents complexes colorés avec le textile.

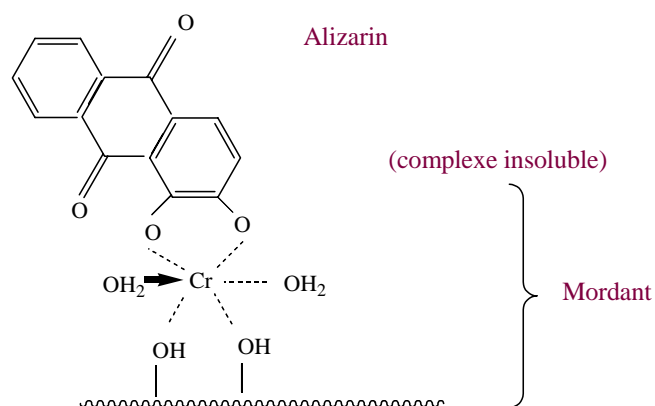


Figure 1.9: La fixation de colorant pour mordant sur la fibre [8].

La fixation du colorant sur la fibre se réalise par formation de ligand entre le colorant et la fibre. Ce ligand est assuré par l'hydroxyde métallique.

Le principe de formation de ce ligand est le suivant :

Le tissu est traité par une solution faiblement alcaline d'un sel métallique en présence d'un agent "mouillant" (exemple : tension active ; diminue la tension superficielle d'un liquide) qui permettra la formation d'un complexe métallique.

La plus grande classe de colorant appliquée par formation des complexes métallifères sont des colorants azoïques. La formation de ligand se fait par participation du groupe azo. Sont utilisés Pour colorer le coton, la laine, la soie, le cuivre, polyamide, on changeant le métal on change la couleur [3].

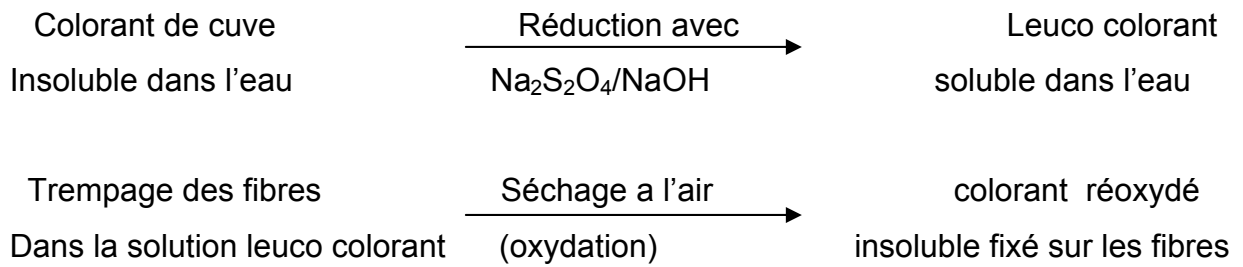
### 7. Colorants de cuve

Sont insolubles et doivent être transformés en leuco dérivés par réduction alcaline. La teinture se termine par le réoxydation in situ du colorant sous sa forme insoluble initiale. Réputés pour leur bonne résistance aux agents de dégradation, les colorants de cuve sont encore utilisés, à l'image de l'indigo pour la teinture des articles jean ou denim [8].

Les colorants de cuve appartiennent à la classe chimique des anthraquinones et à celle des indigoïdes. Leurs qualités de solidité fait qu'ils sont parmi les groupes les plus importants de colorants synthétiques [8]. Ces colorants sont particulièrement appliquées sur le coton, leur application est aussi compliquer. Ce qui rendra l'opération aussi homoriose.

Le principe de l'application est le suivant :

Les colorants du cuve sont insolubles dans l'eau, pour cette raison, l'application est précédée par une réduction qui donne une substance appelé « leuco colorant » soluble dans l'eau. Les fibres sont trempées dans la solution dans leuco colorant et après séchage à l'air c.a.d oxydation le colorant sera ainsi fixe sur les fibres par formation d'agrégat de liaison hydrogène et d'interaction dipole-dipole +- +- Schématiquement le principe est le suivant :



### Exemple

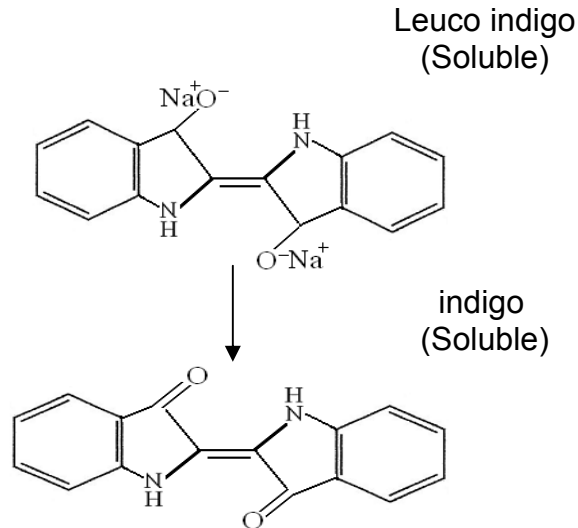


Figure1.10: Indigo réoxydé bleu fixé sur les fibres [8].

Ces colorants sont appliqués pour le coton seulement car les polyamides, la laine.....etc. Sont formées de liaison ptiptidique (CaNO-CO-NO-CO-Na) qui se rampe en milieu basique [3].

### 8. Colorants réactifs

Contiennent des groupes chromophores issus essentiellement des familles azoïques, anthraquinoniques et phtalocyanine, leur appellation est liée a la présence d'une fonction chimique réactive, de type triazinique ou vinyle sulfone assurant la formation d'une liaison covalent fort avec les fibres. Solubles dans l'eau, ils entrent de plus en plus fréquemment dans la teinture du coton et éventuellement dans celle de la laine et des polyamides [14].

Les colorants réactifs sont des colorants de synthèse, constitués d'une partie colorante chromogène (groupes chromophores) sur laquelle est fixé un (ou plusieurs)

groupement réactif électrophile dont [15] ils établissent une liaison de covalence avec la fibre. Le but de cette technique est de rendre provisoirement solubles certains colorant, afin de faciliter leur diffusion dans le textile, puis de les insolubiliser au sein du matériau. Les colorations ainsi obtenues présentent une très haute tenue au lavage. Ils sont utilisés pour le coton et les fibres polyamides. Ce sont les colorants de la série des azoïques, des aminoanthraquinones ou des phtalocyanines, sur lesquels la présence de groupements sulfoniques, carboxyliques ou ammoniums quaternaires confère l'hydro solubilité nécessaire.

Ils permettent d'obtenir des teintures présentant une bonne résistance, sauf vis-à-vis de l'eau de javel [15].

La teinture des tissus par des colorants réactifs est une méthode moderne actuellement (or 31% des colorants réactifs) pour la teinture : le colorant réagit avec la fibre en formant une vraie liaison chimique « covalente ».

La réaction mise en jeu est une substitution, ou une addition Nucléophile. Le groupe réactif bien accessible de la substitution Nucléophile mieux disponible « bien dispersés » est le 2, 4, 6, trichlorotriazine.

### Exemple

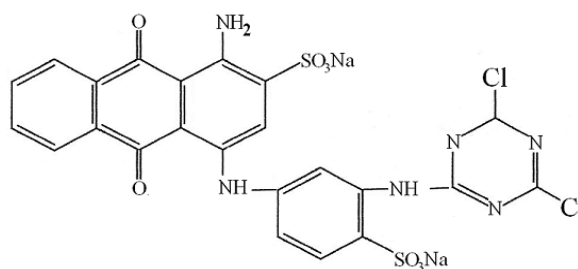


Figure1.11: Structure chimique de C.I. Reactive blue4 [7].

Le groupe réactif est introduit « acrolée » dans le colorant portant un groupement « amino ». Le colorant réactif aussi obtenu réagit lors de la teinture avec le groupement nucleophile de la fibre.

La substitution d'un atome de chlore par un groupement alkoxyde, ou aryle amino dans le colorant, rendre ce dernier moins réactif. L'application ce fait dans ce cas à une température plus élevés (80°C en viron) mais la liaison entre le colorant et la fibre est plus stable. Le groupe réactif bien accessible de l'addition Nucléophile et le groupe vinyl-sulfonyle  $-\text{SO}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ . Ce groupe réactif est introduit dans le colorant en suit diazotation et copulation on obtient directement le colorant

Par exemple

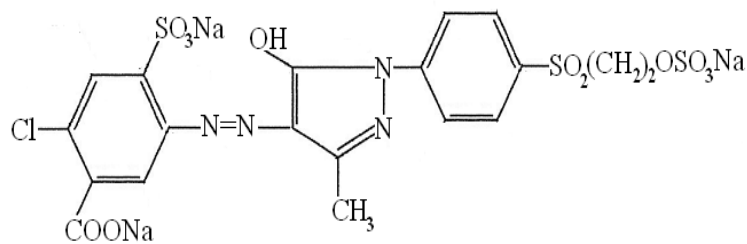


Figure 1.12: Structure chimique du C.I. Reactive yellow 13 [7].

Ces colorants ont une très bonne solidité à l'eau, à la sueur et aux lavages [15].

### 1.2.2. Classification des colorants Selon la structure chimique

Le classement des colorants selon leur structure chimique repose sur la nature du groupe chromophore (tableau 1.1) .Les colorants azoïques et anthraquinoniques faisant l'objet de cette étude, seront traités plus en détail aux Annexe.

#### 1. Colorants Nitro et Nitrozo

Forment une classe de colorants très limitée, en nombre et relativement ancienne. Ils sont actuellement encore utilisés, du fait leur prix très modéré lié a la simplicité de leur structure moléculaire, caractérisée par la présence d'une groupe nitro ( $-\text{NO}_2$ ); en position ortho d'un groupement électro donneur (hydroxyle ou groupe aminés).

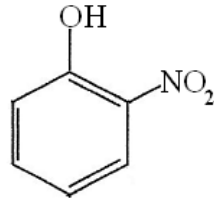


Figure 1.13: Structure chimique du colorant Nitro [4].

Ce sont des colorants antérieur pour la laine, la soie et le cuir. Ils sont surtout utilisés comme pigments. Ces colorants ont une petite stabilité au lavage et à la lumière.

Les composés nitrozo ne pas de caractère colorant, mais sont capables de former des complexes métalifères et devenir ainssi pigments ou colorants utilisé pour la coloration de la laine, la soie et le papier.

## 2. Colorants azoïques

On nomme "azoïque" les composés caractérisés par le groupe fonctionnel azo (-N=N-), unissant deux groupements alkyle, ou aryles identiques ou non (azoïque symétrique et dissymétrique) [16]. Donc ces colorants sont des bases diazotés couplées à un composé préalablement adsorbé sur la fibre. Ils se fixent directement sur la fibre [7].

Les colorants azoïques constituent la famille la plus importante, tant sur le plan de l'application, puisqu'ils représentent plus de 50% de la production mondiale de matières colorantes [17], que sur celui de la multiplicité des structures étudiées. Les colorants azoïques se répartissent en plusieurs catégories : les colorants basiques, acides, directs et réactifs solubles dans l'eau, les azoïques dispersés et à mordant non ioniques insolubles dans l'eau.

Ces colorants sont extensivement utilisés dans un certain nombre d'industries, telles que la teinturerie de textile, nourriture, produits cosmétiques, impression de papier ; avec l'industrie textile comme le plus grand consommateur [18].

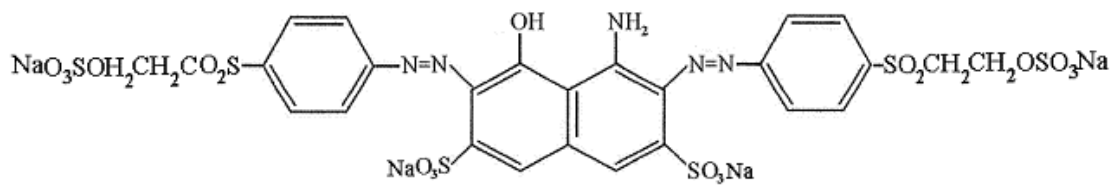


Figure 1.14 : Colorant diazoïque dissymétrique Structure chimique du C.I. Remozal Black 5 [16].

### 3. Colorants du di et tri phényl méthane

Le colorant tri phénylméthane et leurs dérivés hétérocycliques constituent la plus ancienne classe de colorants synthétiques. La majorité d'entre eux ayant été découvertes à la fin du XIX e. Actuellement bien moins importants que les colorants azoïques et anthraquinoniques, ils ont conservé une certaine valeur commerciale, car ils permettent de couvrir la totalité de la gamme de nuances. Ce sont des colorants d'une grande brillance et de grande intensité de coloration et d'une stabilité à la lumière et au lavage ayant une importance technique sont les suivants

- 1) Auramino utilisé pour la coloration du papier et cuir
- 2) Vat malachite utilisé pour la coloration du papier, cuir et encore encre ou stylo
- 3) Rosaniline: la rosaniline colore la soie, la laine et le papier en rouge
- 4) Violet cristallisé utilisé comme encre du stylo on temple au bureau à cause de son instabilité au lavage.
- 5) Phénol phtaléine Indicateur colorée dans l'acidimétrie.

Les triphénylméthane sont utilisés intensivement dans les industries papetières et textiles pour teindre le nylon, la laine, la soie, et le coton. Leur utilisation ne se limite pas à l'industrie, on les retrouve également dans le domaine médical, comme marqueur biologique et comme agent antifongique, chez les poissons la volaille exposant ainsi la population directement ou indirectement par leur utilisation médicale intensive.



Le triphénylméthane et ses homologues constituent les carbures fondamentaux d'où dérivent toute une série de matières colorantes, essentiellement des colorants basiques (vert malachite, cristal violet, etc.) et des colorants acides. Les triaryl méthanes sont des dérivées du méthane pour lesquelles les atomes d'hydrogène sont remplacés par des groupes phényles substitués dont au moins un est porteur d'un atome d'oxygène ou d'azote en para vis-à-vis du carbone méthanique [19]. Un exemple de structure chimique est représenté figure.1.15.

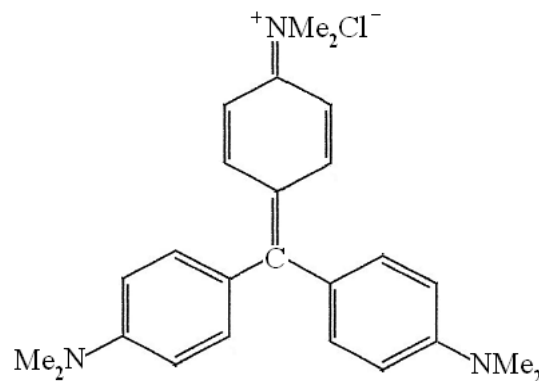
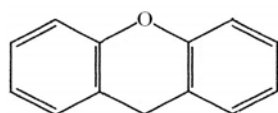


Figure 1.15 : Structure chimique du colorant triphényl méthane "gentiane violet"[4].

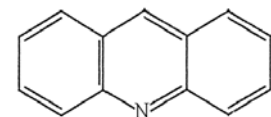
La coloration intensive des tri phényles méthanes provient du large système conjugué de l'ion cationique, le carbonatation central est en conjugaison avec les trois noyaux benzéniques. Par lesquels la charge positive est fortement délocalisée.

#### 4. Colorants à base de xanthène et d'acridine

Les colorants xanthène, dont le composé le plus connu est la fluorescéine, sont dotés d'une intense fluorescence. Peu utilisés en tant que teinture, leur faculté de marqueurs lors d'accident maritime ou de traceurs d'écoulement pour des rivières souterraines est malgré tout bien établie.



Xanthene  
"La fluorescéine"



"Benzene indiline"

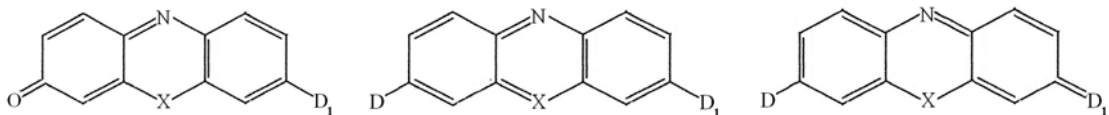
Figure 1.16 : Colorants à base de xanthène et d'acridine [3].

Les traces de fluorescéine intensive vert jaune.

La fluorescéine est sous importance de la coloration des textiles

- 1) L'éosine: 2, 4, 5,7-tétrabromo fluorescéine. Obtenue par bromation de fluorescéine utilisé pour la coloration de la laine et la soie en rouge et la fabrication d'encre rouge.
- 2) Rhodamine: obtenue par fusion de l'anhydride phtalique et du 3-diéthylamino phénol en présence de  $H_2SO_4$  à 88% et à 170-180 °C, utilisé pour la coloration de la laine et de la soie en rouge fluorescent, le papier en rouge foncé.
- 3) Jaune d'acridine: utilisé pour la coloration du cuir.

#### 5. Colorants d'azines (phenazine, oxazines, thiazines)



D: groupe donneur d'électrons :  $NH_2$ ,  $NHR$ ,  $NR_2$   $OH$ .

X:NR phénazines [ R:H, Alkyl, Aryle]

X: O phénaxazines

X: S phénothiazines

Figure 1.17 : Colorants d'azines (phenazine, oxazines, thiazines) [3]

Selon la nature de groupe donneur d'électrons et des substituant. On distingue:

- Les colorants basiques "cationique"
- Les colorants acides "anionique" ou neutre

La couleur est foncée intensive à cause du grand nombre de structure résonante

##### a) **Colorants de phénazines**

- Cationique: utilisé pour la coloration du cuir et du papier
- Anionique: utilisé pour la coloration de la laine, du violet jusqu'au bleu

- Noir d'aniline: Ces colorants sont utilisés pour la coloration et l'impression du coton et des fibres polyester et du papier.

**b) Colorants de phénoxazine**

Utilisé pour la coloration des poly acrylonitriles et des polyester (modifié par COOH).

**c) Colorants de phénothiazine**

-Utilisé pour la coloration du papier

-Utilisé aussi en médecine (bactériologie et microscope)

-peu d'importance dans l'industrie textile (stabilité faible)

## 6. Colorants indigoïdes

Les colorants indigoïdes tirent leur appellation de l'indigo dont ils dérivent. Ainsi, les homologues sélénié, soufré et oxygéné du bleu indigo provoquent d'importants effets hypsochromes avec des coloris pouvant aller de l'orange au turquoise.

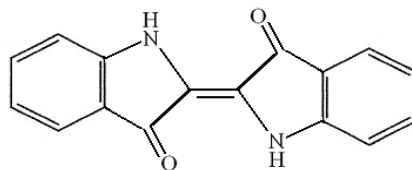
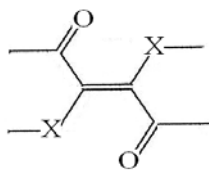


Figure 1.18: Structure chimique du colorant indigoïde [3].

Ces colorants contiennent les combinaisons des chromophores suivants :



Avec X: NH-Indigo

X: S-thiainidigo

### Indigo

En 18<sup>ème</sup> et 19<sup>ème</sup> siècle fabrication par extraction de la plante d'indigo "le nom indigo féra" tinctaria .Elle contient l'indicane en forme glucide de l'hydroxyde3-indole (indoxyle).L'oxydation de l'indoxyle par l'oxygene de l'air fourni l'indigo semblablement par un mécanisme radicalaire.

La nécessité d'employer une solution alcaline pour solubiliser le leuco dérivé de colorant du cuve limite l'emploi au tissus qu'ils sont aussi stables dans un tel milieu comme le coton non pour la laine et la soie.

Thianidigo Il donne une coloration rose claire.

### 7. Colorants anthraquinoniques

Les colorants anthraquinoniques sont d'un point de vue commercial, les plus importants après les colorants azoïques. Leur formule générale dérivé de l'antracène montre que le chromophore est un noyau quinonique sur lequel peuvent attacher des groupes hydroxyles ou amino.

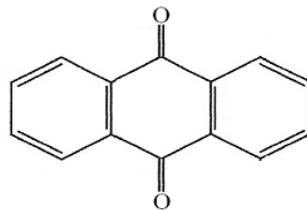


Figure 1.19: Structure chimique du colorant anthraquinonique [13].

### 8. Colorants au soufre

Ces colorants sont obtenus par fusion de dérivés aminés ou de phénols en présence de soufre ou de sulfures.

#### Exemple

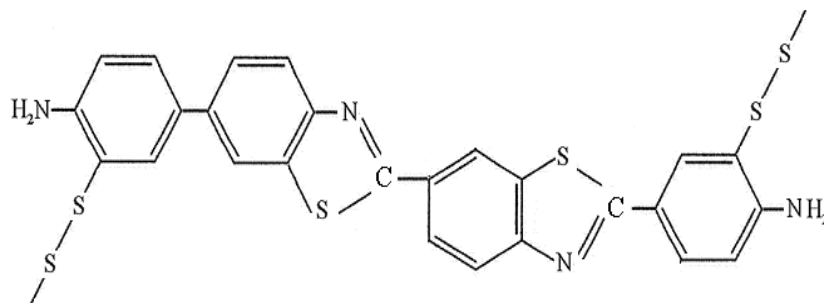


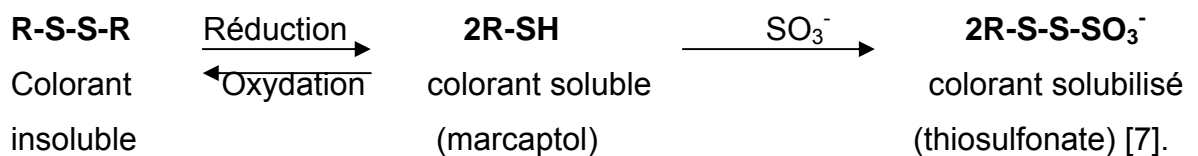
Figure 1.20: Structure chimique du C.I. Sulfur yellow 4 [8].

Les procédés de fabrication étant assez simples et les matières premières relativement peu coûteuses [7]. Ils sont solubilisés dans le bain par des produits réducteurs alcalins soufrés. Après immersion des fibres, il y aura oxydation à l'air ou à l'eau oxygénée. Utilisation possible pour les matières fragiles telle que le coton, la viscose, car le procédé de coloration se fait à froid [9]. Ils donnent des teintes assez pales mais solides et sont bon marché [11] Leur constitution est complexe et mal définie. Les colorants au soufre représentent de 12 à 15 % des colorants synthétiques.

Ces colorants sont insolubles dans l'eau. Leur utilisation en teinture n'est rendue possible qu'en les réduisant en leuco dérivés présentant de l'affinité pour les fibres. Ont une grande stabilité à la lumière et au lavage (Très avantageux).

Synthèse à partir d'un chauffage des composés aromatiques ou hétérocycliques avec le soufre ou le polysulfides de sodium. Généralement formation de mélange les structures chimiques sont inconnues. Formation de pont S-S.

Utilisés comme Colorants du cuve ou de coton. Après teinture. Le colorant est réoxydé en sa forme insoluble qui reste emprisonnée dans la fibre. Pour des questions de facilité d'emploi, les colorants au soufre peuvent être transformés en une forme soluble dans l'eau. En traitant le leuco dérivé avec du sulfite de sodum de façon à obtenir le dérivé thiosulfonique.



Les colorants au soufre conduisent à des teintures solides mais de nuances en générale terne.

### 1.3. Pigments organiques

Les pigments sont des molécules insolubles dans l'eau et ne présentent aucune affinité pour les fibres textiles. Etant donné ces caractéristiques, ils ne peuvent être appliqués qu'en les fixant à la surface des fibres à l'aide d'un liant. On peut les utiliser pour la coloration dans la masse des fibres artificielles et synthétiques avant filage [7].

Les pigments sont essentiellement utilisés en impression textile, mais également en teinture (par exemple: articles dites dé lavables).ils sont d'origines très diverses: certaines sont des produits minéraux (noir de fumer, blanc de zinc), d'autres sont des produits organiques sélectionnés pour la stabilité de leur coloration [19], quelques-uns appartiennent à des classes de colorants (cuve, azoïque), d'autres résultat de synthèse particulières, comme les dérivés de phtalocyanine.

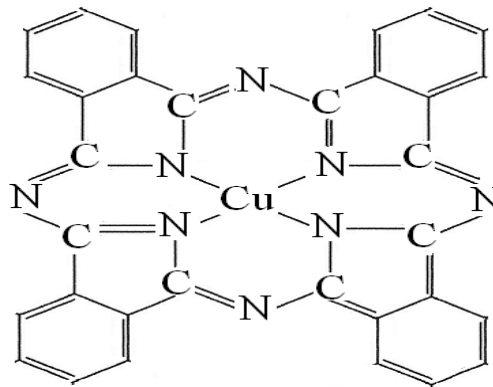


Figure1.21 : Structure chimique du C.I. Pigment Blue 15 [7].

Il y a lieu de noter que les niveaux de solidité des teintures ou impressions pigmentaires ne dépendent que peu du pigment lui-même, mais surtout du liant utilisé [7].

Les pigments organiques, quant à, un grand développement durant les 40 dernières années, ils représentent aujourd'hui environ 40% de la production totale de colorant organique. Ceci est du au développement orageux (brusque) de la chimie surtout dans le domaine des matières artificielles, résines synthétiques, fibres synthétiques, couleur d'imprimie (industrie graphique), peinture, encre, crie, stylo.....ect.

## 1.4. Colorants et l'environnement

Une discussion est une recherche intense ont lieu ces derniers années sur la toxicologie et l'écologie des colorants et des pigments organiques.

### 1.4.1. Aspect écologiques

Lors de la fabrication et de l'application, les colorants proviennent dans l'environnement par les eaux usées. Le volume annuel des eaux usées rejetées actuellement est estimé à environ 700 millions de m<sup>3</sup> / an et passerait à plus d'un milliard de m<sup>3</sup>/an à l'horizon 2020 [20].

Les industries doivent respecter des valeurs limites des paramètres de rejet qui sont représentés dans le tableau après (Tableau 1.2).

Tableau 1.2 : Valeurs limites maximales des paramètres de rejet des installations de déversement industrielles [21].

Paramètres	Valeurs maximales	Paramètres	Valeurs maximales
pH	5,5 à 8,5	Hg <sup>2+</sup>	0,01mg / L
MES	30 mg / L	Ni <sup>2+</sup>	5 mg / L
DBO <sub>5</sub>	40 mg / L	Pb <sup>3+</sup>	1 mg / L
DCO	120mg / L	Cu <sup>2+</sup>	1 mg / L
Phosphates	2 mg / L	Zn <sup>2+</sup>	5 mg / L
Cyanures	50 µg / L	Huiles et graisses	20 mg / L
Al <sup>3+</sup>	0,2 mg / L	Hydrocarbures	20 mg / L
Cd <sup>3+</sup>	0,2 mg / L	Phénols	0,5 mg / L
Cr <sup>3+</sup>	1,5 mg / L	Solvants organiques	20 mg / L
Cr <sup>6+</sup>	0,1 mg / L	Chlore actif	0,4 - 0,6 mg / L
Fe <sup>3+</sup>	5 mg / L	Détergents	2 mg / L
Mg <sup>2+</sup>	50 µg / L	Tensioactifs anioniques	10 mg / L

Les colorants ne parvient pas dans l'environnement ils sont lentement détritres par l'oxygène de l'eau par des réactions d'hydroxylation ou bien il s'entrepouse en se sédimentent et se désintègre par réduction [21].

Dans l'analyse des eaux de Rhin dans Allemagne au plus de 120ans en synthétise des colorants On a trouvé moins de <0.05 p.p.m de colorants organiques.

La fabrication des 28% importants fabricants a montrés que seulement 2% sont fortement toxiques pour le poisson et arrête l'accroissance des laques cependant l'utilisation conforme (suivre strictement l'utilisation de colorants) que cette classe de colorant ne représente pas de grosse risque sur l'environnement.

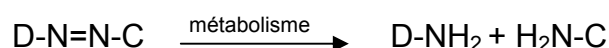
Lors de développement de nouveau colorant l'aspect écologique est plus fortement pris en considération que les années passées.

#### 1.4.2. Aspect toxicologiques

L'examen d'environ 4500 colorants effectué par les membres de l'ETAD a montré que les colorants et en particulier les pigments (insolubles) sont relativement toxiques. Une exposition de l'utilisateur vis a vis de colorant a lieu seulement si le colorant migre au tissus sur la peau et y pénètre. Les recherches dans ce domaine en montré que moins de 1mg par personne et par jour migre des tissus colorés.

Cependant, cette aptitude de migration dépend aussi bien de substrat (tissus) que de la classe de colorant et de mode d'application. Cependant la pénétration dans la peau est très petite généralement moins de 1%. C'est bien que quelques micros grammes peuvent être absorbés sans danger pour la santé.

Aujourd'hui, l'intérêt principal est dirigé vers la réponse de question d'un potentiel ou allergique des colorants. Des études ont montrés que les colorants azotiques peuvent être consanguins. Ce ne sont pas les colorants azotiques eux même mais leur métabolite qui sont le métabolisme des colorants azoïques mènent des produit amine aromatique qui sont consanguin Comme l'aniline, la benzidine,  $\beta$ :naphtylamine



Les recherches ont montré que les colorants en particulier. Les colorants dispersables présentent des cas d'allergie et potentiel d'allergie est



exceptionnellement très petite. Un cas d'allergies par ans /pour 1 million de personnes.

Nous présentons dans le tableau ci-après (Tableau 1.3), les principaux rejets polluants de l'industrie chimique de colorants et textile avec leurs principales caractéristiques:

Tableau 1.3: Principaux rejets polluants de l'industrie chimique de colorants et textile, origine et principales caractéristiques [22].

Branches industrielles, fabrication	Origine des principaux effluents polluants		Caractéristiques principales des rejets
Industries chimique et de synthèse de colorants	Colorant de synthèse	Colorants aniliques et nitrés	Eaux fortement acides, phénols, dérivés nitrés, DCO élevés
Industrie textile	Blanchisserie	Lavage des tissus	Teneur élevée en alcalinité et en matières organiques, détergents
	Fabrication des fibres	Fibres synthétiques, viscose, polyamides, polyesters	Présence de solvants, Produits d'enzymage, colorants, eaux neutres chargées de matières organiques
	Préparation des fibres	Lavage, blanchissement, teinture, impression et apprêt, peignage de la laine	Matières en suspension, eaux alcalines ou acides, matières organiques (DCO) élevée et variables, colorants, produits chimiques, réducteurs ou oxydants, graisse

## 1.5. Nécessité de traiter les effluents textiles

### 1.5.1. Les dangers des rejets textiles

L'industrie du textile et de l'habillement est caractérisée par sa diversité, tant sur le plan des matières premières utilisées que sur celui des procédés employés. Il faut en moyenne 6 étapes pour réaliser un vêtement. Dans ce contexte, les atteintes à l'environnement sont aussi diverses que nombreuses. Filature, tissage et confection industriels posent des problèmes de qualité de l'air et aussi sur la qualité des rejets qui sont très dangereux. Si on prend exemple de la fixation des colorants sur le coton, la commission d'évaluation de l'écotoxicité des substances chimiques s'interroge sur le faible pourcentage de fixation pour un colorant réactif et sur la composition des 25% de substance non fixée sur coton [23].

Ce qui nous amène à élaborer les dangers sur l'être humain :

#### ❖ Les dangers évidents

1. Eutrophisation Sous l'action des microorganismes, les colorants libèrent des nitrates et des phosphates dans le milieu naturel. Ces ions minéraux introduits en quantité trop importante peuvent devenir toxiques, pour la vie piscicole et altérer la production d'eau potable. Leur consommation par les plantes aquatiques accélère leur prolifération anarchique et conduit à l'appauvrissement en oxygène par inhibition de la photosynthèse dans les strates les plus profondes, des cours d'eau et des eaux stagnantes.

2. Sous-oxygénation Lorsque des charges importantes de matière organique sont apportées au milieu via des rejets ponctuels, les processus naturels de régulation ne peuvent plus compenser la consommation bactérienne d'oxygène. Manahan (1994) estime que la dégradation de 7 à 8 mg de matière organique par des microorganismes suffit pour consommer l'oxygène contenu dans un litre d'eau [24].

3. Couleur, turbidité, odeur L'accumulation des matières organiques dans les cours d'eau induit l'apparition de mauvais goûts, prolifération bactérienne, odeurs pestilentielles et colorations anormales. Willmott *et al* (1998) ont évalué qu'une coloration pouvait être perçue par l'oeil humain à partir de  $5 \times 10^{-6}$  g/L. En dehors de l'aspect inesthétique, les agents colorants ont la capacité d'interférer avec la

transmission de la lumière dans l'eau, bloquant ainsi la photosynthèse des plantes aquatiques [25].

❖ Les dangers à long terme

1. La persistance La persistance est en étroite relation avec leur réactivité chimique :

- Les composés insaturés sont moins persistants que les saturés,
- Les alcanes sont moins persistants que les aromatiques,
- La persistance des aromatiques augmente avec le nombre de substituant,
- Les substituant halogènes augmentent plus la persistance des colorants que les groupements alkyles.

2. Bio-accumulation Si un organisme ne dispose pas de mécanismes spécifiques, soit pour empêcher la résorption d'une substance, soit pour l'éliminer une fois qu'elle est absorbée, alors cette substance s'accumule. Les espèces qui se trouvent à l'extrémité supérieure de la chaîne alimentaire, y compris l'homme, se retrouvent exposées à des teneurs en substances toxiques pouvant être jusqu'à mille fois plus élevées que les concentrations initiales dans l'eau (illustration du phénomène de bioaccumulation de colorants Figure 1.22).

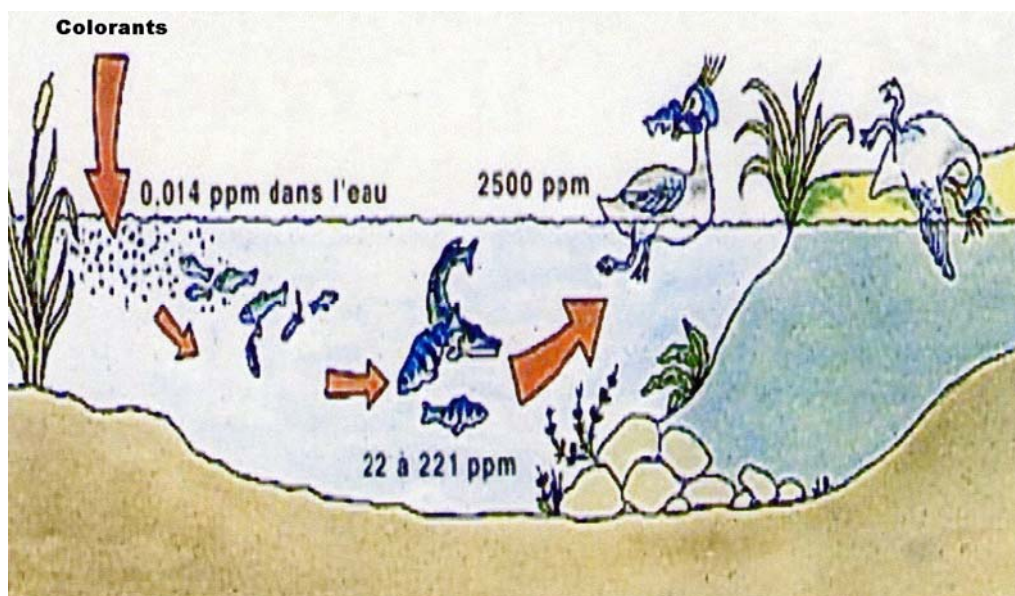


Figure 1.22 : Conséquences de la bio-accumulation après déversement de substances toxiques (colorants) dans un cours d'eau [26].

3. Cancer Si la plupart des colorants ne sont pas toxiques directement, une portion significative de leurs métabolites l'est [27]. Leurs effets mutagènes, tératogène ou cancérigène apparaissent après dégradation de la molécule initiale en sous-produits d'oxydation : amine cancérigène pour les azoïques [28], leuco-dérivé pour les triphénylméthanes.

4. Sous produits de chloration (SPD) Le chlore utilisé pour éliminer les microorganismes pathogènes réagit avec la matière organique pour former des trihalométhanes (THM) [29] pouvant atteindre plusieurs centaines de µg/L. Les SPD sont responsables de développement de cancer du foie, des poumons, des reins et de la peau chez l'homme [30].

#### 1.5.2. Action curatives : Traitements des colorants

##### 1.5.2.1. Traitement des rejets textiles

Au cours des différentes étapes de teintures, des quantités plus ou moins importantes de colorants sont perdues par manque d'affinité avec les surfaces à teindre ou à colorer (tableau 1.4).

Tableau 1. 4 : Taux de fixation sur textile pour les différentes classes de colorants [31].

Classe de colorant	Fixation (%)	Fibres utilisées
Acide	80 – 93	Laine, nylon
Azoïque	90 – 95	Cellulose
Basique	97 – 98	Acrylique
De cuve	80 – 95	Cellulose
Direct	70 – 95	Cellulose
Dispersé	80 – 92	Synthétique
Réactif	50 – 80	Cellulose
Soufré	60 - 70	Cellulose

Ces rejets organiques sont toxiques et nécessitent une technique de dépollution adaptée.

Si on prend un exemple d'eau usée issu d'industrie textile de Komotini en Nord Est de la Grèce a été utilisé sur place; retiré du bassin d'égalisation de l'installation de transformation de l'eau usée. La dernière industrie traite des textiles de coton et de polyester de coton en utilisant presque exclusivement les colorants azo-réactif et azo-dispersable pour teindre cellulosique et des fibres de polyester, respectivement. Eau usée dont les caractéristiques sont présentées dans Le tableau 5 qui est légèrement alcalin et caractérisé par une couleur rougeâtre.

Tableau 1.5 : les caractéristiques des eaux usées [32].

	gamme	N° de mesure	Moyenne
pH	7.5-9.5	100	8.5
COD (mg/L)	210-650	64	340
TS (mg/L)	2540-3930	15	3280
SS (mg/L)	240-380	15	320
TDS (mg/L)	2300-3555	15	2960

t.q

- COD : demande chimique en oxygène (mg/L)
- SEM : microscope électronique de balayage
- SS : solide en suspension (mg/L)
- TS : solides totaux (mg/L)
- TDS : solide dissous total (mg/L). [20]

En outre, le contenu organique (dans les limites de la COD était comparable à celle d'un système d'égouts modéré, tandis que la concentration des solides totaux (TS) et relativement haut, principalement en raison d'une concentration élevée des sels dissous.

Le traitement des rejets textiles, compte tenu de leur hétérogénéité de composition, conduira toujours à la conception d'une chaîne de traitement assurant l'élimination des différents polluants par étapes successives. La première étape consiste à éliminer la pollution insoluble par l'intermédiaire de prétraitements (dégrillage, dessablage, déshuilage..) et/ou de traitements physiques ou physico-chimiques assurant une séparation solide - liquide.

Les techniques de dépollution intervenant le plus couramment en deuxième étape dans les industries textiles d'après [33] Barclay et Buckley (2000) et Kurbus et al. (2002) se divisent en trois types :

#### \* Physique

- Méthodes de précipitation (coagulation, floculation, sédimentation),
- Adsorption (sur charbon actif),
- Osmose inverse, filtration,
- Incinération.

#### \* Chimique

- Oxydation (oxygène, ozone, oxydants tels que NaOCl, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>),
- Réduction (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>),
- Méthode compleximétrique,
- Résine échangeuse d'ions.

#### \* Biologique

- Traitement aérobie,
- Traitement anaérobie.

Seuls les procédés les plus couramment rencontrés seront abordés succinctement dans les paragraphes suivants, en prenant soin d'évoquer à la fois leurs intérêts et leurs dysfonctionnements vis-à-vis du traitement des colorants. Concernant les traitements chimiques, les deux procédés les plus communément utilisés sont l'ozone et le réactif de Fenton.

## 1. Méthode physique

### 1.1. Filtration sur membrane (O.I NF, MF, UF)

La filtration sur membrane pilotée par pression hydraulique se décline en microfiltration, ultrafiltration, nanofiltration et osmose inverse. L'effluent passe à travers une membrane semi-perméable qui retient en amont les contaminants de taille supérieure au diamètre des pores, pour produire un perméat purifié et un concentré qui reçoit les impuretés organiques.

Parmi les quatre types de procédés, la nanofiltration et **l'osmose inverse** sont les plus adaptés à la réduction partielle de la couleur et des petites molécules organiques [34].

**La nanofiltration** s'applique surtout au traitement des bains de teinture de colorants réactifs en agissant comme un filtre moléculaire tandis que **la microfiltration** retient les matériaux colloïdaux tels que les colorants dispersés ou de cuve grâce à une "membrane écran"[35]. **L'ultrafiltration** ne s'applique qu'à la réduction de DCO et des solides en suspension [36], et ne se montre réellement efficace qu'en combinaison avec la coagulation/ Flocculation [37].

Ces procédés limités dans leurs applications, nécessitent des investissements importants en capitaux et le retraitement du concentré est jusqu'à 6 fois plus cher que celui de l'effluent originel.

### 1.2. Adsorption (sur charbon actif)

Lors de l'adsorption, le polluant est transféré de la phase liquide vers la phase solide. Le charbon activé est l'adsorbant le plus communément utilisée pour la réduction de la couleur, mais cette technique n'est efficace que sur certaines catégories de colorants (cationiques, à mordant, colorants dispersés, de cuve et réactifs [38] pour un type donné de carbone, dans une certaine gamme de pH [39] et pour une concentration en impuretés relativement constante afin de prévenir un relargage dans l'effluent.

De plus, ces techniques non destructives requièrent des opérations postérieures onéreuses de régénération et de post traitement des déchets solides. Dans la plupart des cas, les résidus solides sont répandus dans des remblais, mais des dispositions particulières doivent être prises à l'égard des organiques qui peuvent lixivier avec le temps.

Les charbons ont toujours joué un rôle prépondérant aussi bien dans l'activité domestique que dans l'activité industrielle de l'homme. Parmi ceux-ci, les charbons actifs, « carbonés » à pouvoir adsorbant très élevé, ont une place privilégiée dans la purification de l'eau, la décoloration des sucres, la récupération de solvants volatiles, la fixation de colorants et le traitement des gaz [40].

### 1.3. Méthode physico-chimique ( coagulation – floculation )

Sous le terme de coagulation - floculation, on entend tous les processus physico-chimiques par lesquels des particules colloïdales ou des solides en fine suspension sont transformés par des flocculants chimiques en espèces plus visibles et séparables (les floques). Les floques formés sont ensuite séparés par décantation et filtration puis évacués.

Les coagulants inorganiques tels que l'alun donnent les résultats les plus satisfaisants pour la décoloration des effluents textiles contenant des colorants dispersés, de cuve et au soufre, mais sont totalement inefficace pour les colorants réactifs, azoïques, acides et basiques [41].

Par ailleurs, la coagulation - floculation ne peut être utilisée pour les colorants fortement solubles dans l'eau. D'importantes quantités de boue sont formées avec ce procédé : leur régénération ou réutilisation reste la seule issue mais demande des investissements supplémentaires.



## 2. Méthode chimique

Dans la littérature, les techniques d'oxydation chimiques sont généralement appliquées

- (i) pour le traitement des organiques dangereux présents en faibles concentrations,
- (ii) en prétraitement avant des procédés biologiques,
- (iii) le traitement d'eaux usées chargées de constituants résistants aux méthodes de biodégradation et
- (iv) en post-traitement pour réduire la toxicité aquatique [42].

Les deux réactifs les plus souvent énumérés pour ce type de traitement sont  $H_2O_2$  et  $Cl_2$ . Le peroxyde d'hydrogène est un oxydant fort et son application pour le traitement des polluants organiques et inorganiques est bien établie [43]

Mais l'oxydation seule par  $H_2O_2$  n'est pas suffisamment efficace pour de fortes concentrations en colorant. [44] Hamada et al. (1998) ont proposé de traiter les colorants azoïques par hypochlorure de sodium mais même si la molécule initiale est détruite, les halogènes sont susceptibles de former des trihalométhanés cancérigènes pour l'homme avec les sous-produits de dégradation [29].

## 3. Méthode biologique

Par épuration biologique des eaux, on entend la décomposition des polluants organiques dans l'eau par les microorganismes. Les procédés biologiques se partagent en deux catégories : les traitements aérobies en présence d'oxygène et anaérobies sans oxygène [4].

Certains rejets sont tellement complexes que leur analyse exhaustive devient très longue et peut ne pas refléter leur effet toxique global. L'analyse complète d'eaux résiduelles industrielles nécessite en effet des mesures de DBO, DCO, COT, la détermination des métaux lourds, des huiles, des graisses, des sulfures, des cyanures, des phénols, des polluants organiques, etc. [45].

### 1. Traitement aérobie

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

Si ces techniques sont adaptées à un grand nombre de polluants organiques, elles ne sont pas suffisamment efficaces pour les rejets textiles. De nombreuses classes de colorants telles que les azoïques, les colorants acides (à cause des groupes sulfonés) et les colorants réactifs y sont récalcitrants [46], et la diminution de coloration est essentiellement due à une adsorption sur les boues, plutôt qu'à la dégradation de la molécule de colorant. Seuls les colorants de structure chimique simple et de faible poids moléculaire et faiblement substitués ont des taux de décoloration importants [47].

### 2. Traitement anaérobie

A l'inverse de la biodégradation aérobie, la digestion anaérobie des composés organiques s'effectue en l'absence d'oxygène et forme du dioxyde de carbone, du méthane et de l'eau. C'est un procédé efficace pour le traitement de déchets très chargés en DCO et le méthane formé peut être utilisé comme énergie de chauffage. Les conditions de réduction dans la digestion anaérobie sont adaptées à la décoloration des colorants azoïques par clivage de la liaison azo entraînant une destruction subséquente du groupe chromophore, mais une minéralisation complète est impossible dans ce type de procédé [48]. La dégradation des molécules initiales entraîne souvent la formation d'amines plus toxiques que la molécule initiale, qui finissent dans les sédiments aquifères peu profonds et les eaux souterraines [49].

La digestion anaérobie (ou encore méthanisation) est la transformation de la matière organique en biogaz (principalement méthane et gaz carbonique) par une communauté bactérienne qui fonctionne en anaérobiose. Cette transformation très répandue dans la nature, se retrouve dans les marais, dans les intestins d'animaux, d'insectes... et de manière très générale lors du stockage de la matière organique en

absence d'oxygène [50]. Comme pour toute réaction biologique, elle est réalisée en milieu aqueux et donc à partir de matière organique dissoute ou solide.

Les méthodes d'essai pour évaluer la biodégradabilité anaérobie déterminent le potentiel intrinsèque de biodégradation de la substance d'essai en conditions anaérobies. Parmi ces méthodes, on peut citer les essais ISO 11734:1995(E), ASTM E 1196-92 et OPPTS 835.3400.

Le traitement des effluents industriels par voie anaérobie permet une dégradation biologique moins complète que celle obtenue par la voie aérobie [51]. La digestion anaérobie des composés organiques s'effectue en l'absence d'oxygène et forme du dioxyde de carbone, du méthane et de l'eau.

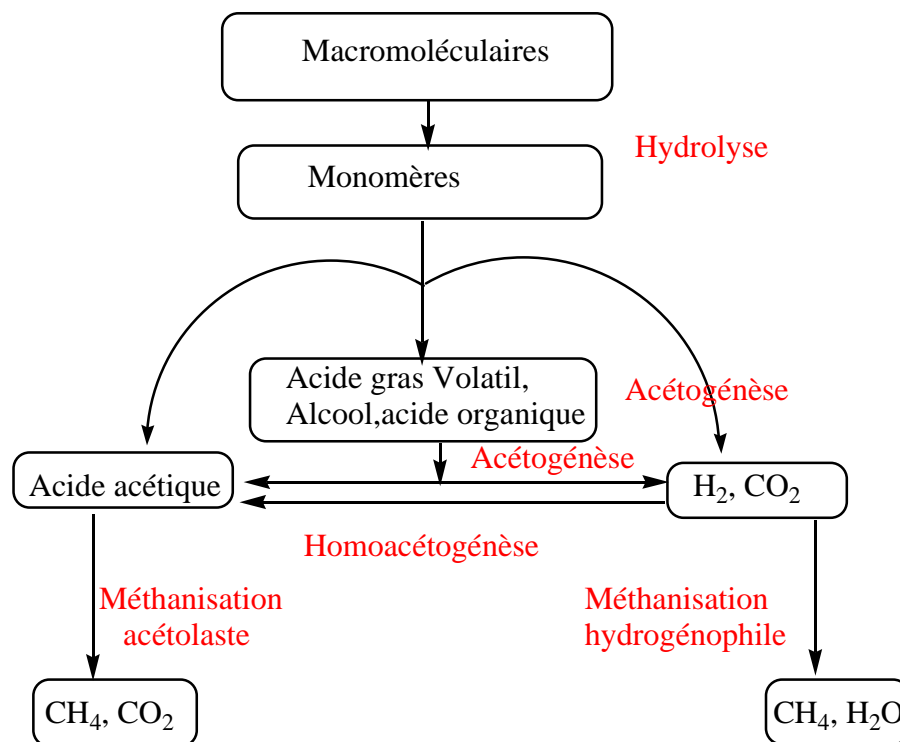


Figure 1.23 : flux métabolique de la digestion anaérobie [51].

### 1.5.2.2. Comparatifs des procédés

Après un bref aperçu des principes de fonctionnement et le type d'application des procédés de dépollution des rejets textiles, le tableau 1.6 présente leurs principaux attraits et inconvénients pour le traitement des colorants organiques.

Tableau 1.6 : Comparaison des technologies de dépollution des effluents textiles en fonction des avantages et des inconvénients [4].

Technologie	Exemples	Avantages	Inconvénients
Coagulation/ Floculation	Alun, Chaux, FeCl <sub>3</sub> , Polyélectrolytes	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Équipement simple</li> <li>•Décoloration relativement rapide</li> <li>•Réduction significative de la DCO</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Formation de boues</li> <li>•Adjonction de produits chimiques nécessaire</li> <li>• Fonctionnement onéreux</li> <li>• Coagulants non réutilisables</li> <li>• Réduction spécifique de la couleur</li> <li>• Peu d'informations sur la réduction de DBO et DCO</li> </ul>
Filtration sur membranes	Osmose inverse, Nanofiltration, Microfiltration, Ultrafiltration.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Utilisation simple et rapide</li> <li>• Pas d'addition de produits chimiques</li> <li>• Faible consommation énergétique</li> <li>• Réduction de la couleur</li> <li>• Grands volumes traités</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Investissement important</li> <li>• Sélectif</li> <li>• Encrassement rapide des membranes</li> <li>• Pré et post traitements nécessaires</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Réduction</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Investissement</li> </ul>

Adsorption	Carbone activé, Silice,	efficace de la couleur • Technologie simple • Faible coût d'utilisation pour certains adsorbants	et coûts de fonctionnement élevés • Lent et limité en volume • Régénération des adsorbants onéreuse voire impossible • Sélectif • Formation de boue
Oxydation chimique	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ozone</li>   <li>• Réactif de Fenton</li>   <li>• Chloration</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Traitement de gros volumes</li>   <li>• Diminution nette de la coloration</li> <li>• Décoloration rapide et efficace</li> <li>• Opération simple</li> <li>• Oxydant puissant</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Investissements et coûts de fonctionnement très élevés</li> <li>• Efficacité limitée pour certains colorants</li> <li>• Produits d'oxydation inconnus</li>   <li>• Coûts élevé</li> <li>• Produits d'oxydation inconnus</li>   <li>• Formation de sous produits de chloration (trihalométhane cancérogènes)</li> </ul>
Réduction chimique	Chlorure d'étain, hydrosulphite	• Décoloration efficace des azoïques	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Formation d'amines aromatiques</li> <li>• Dégradation incomplète</li> </ul>
	• Aérobic	• Approprié pour les colorants insolubles	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Spécifique à certains colorants</li> <li>• Décoloration</li> </ul>

<p>Procédés Biologiques</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anaérobie</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Décolore la plupart des colorants par un mécanisme de réduction</li> <li>• Réutilisation du méthane produit Comme source d'énergie sur le site</li> </ul>	<p>variable</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Grandes quantités de boue générées</li> <li>• Besoins énergétiques importants</li> <li>• Produits de dégradation inconnus</li> <li>• Beaucoup de produits toxiques non dégradés</li> <li>• Nécessite des grands réservoirs d'aération</li> </ul>
-----------------------------	---	--	---

Cette étude bibliographique montre que les colorants synthétiques organiques sont des composés utilisés dans de nombreux secteurs industriels. On les retrouve ainsi dans le domaine automobile, chimique, papeterie et plus particulièrement le secteur textile, où toutes les gammes de nuance et de familles chimiques sont représentées. Les affinités entre le textile et les colorants varient selon la structure chimique des colorants et le type de fibres sur lesquelles ils sont appliqués. Il n'est pas rare de constater qu'au cours des processus de teinture 15 à 20 % des colorants, et parfois jusqu'à 40% pour les colorants soufrés et réactifs, est évacué avec les effluents qui sont la plupart du temps directement rejetés vers les cours d'eau sans traitement préalable.

Ces rejets colorés posent un problème esthétique mais également sanitaire car un grand nombre de ces colorants est toxique. L'aspect cancérigène s'exprime pour la plupart d'entre eux, par leurs métabolites résultant de la digestion enzymatique dans les parois intestinales des mammifères. Comme tous les composés organiques dangereux pour l'homme, les colorants synthétiques réclament des traitements spécifiques. Mais les procédés classiques utilisés par les usines de traitements des eaux usées sont mal et parfois même pas adaptés à la

dépollution de ces polluants biocides. La majorité de ces procédés sont trop sélectifs sur les catégories de colorants à traiter et ne font que déplacer la pollution plutôt que la supprimer. Cependant lorsqu'une approche semble prometteuse, les investissements ou les coûts de fonctionnement deviennent prohibitifs pour une application à grande échelle.

Une technique de traitement adaptée aux colorants doit avant tout dégrader les molécules jusqu'à complète minéralisation afin d'éviter la formation de sous-produits plus dangereux que les composés initiaux et plus particulièrement empêcher la formation de produits cancérogènes. Le procédé de biodégradation répond à cette attente car il est destructif grâce à l'utilisation des bactéries puissantes capables de décolorer la solution par destruction des groupes chromophores et réduire le taux de matière organique non biodégradable.

## CHAPITRE 2

### BIODEGRADATION MICROBIENNE

#### 2.1. Généralités

Le terme biodégradation signifie tout simplement la transformation biologique d'un composé organique en une autre forme souvent assimilable [52]. Globalement, les termes liés à cette notion (biodégradation) sont définis à l'échelle moléculaire et non à l'échelle de macromoléculaire et concernent dans la plus part des cas des substrats organiques et il correspond à l'action de dégradation d'un composé organique par des agents biologiques (généralement microbiens) [53].

La biodégradation est un processus par lequel des substances organiques sont décomposées par des microorganismes (des bactéries principalement aérobies). Le produit chimique qui c'est décomposé de cette façon s'appelle « biodégradable » [54].

Lorsque on dit qu'un composé est biodégradable cela signifie habituellement qu'il peut être minéralisé (conversion en dioxyde de carbone, eau et différentes forme inorganiques). Certaines substances peuvent se décomposer en molécules intermédiaires plus petites. Il s'agit de la dégradation primaire. Ces molécules sont généralement des intermédiaires dans le processus de la biodégradation finale. Mais elles peuvent, dans certains cas être plus rémanentes ou plus toxique que le produit initiale. Donc la biodégradation a lieu en deux étapes : Hydrolyse et catabolisme.

Il existe trois éléments clés indispensables pour la biodégradation [55] :

1. Microorganismes La base de tout processus de biodégradation est l'existence de microorganismes capables de synthétiser les enzymes actives sur le substrat ciblé.



2. Environnement Certains facteurs sont indispensables au processus de biodégradation (température, pH, NaCl sel, pression atmosphérique, oxygène).

La biodégradation peut se produire dans des conditions aérobies (avec oxygène) et anaérobies (sans oxygène).

3. Substrat La structure de la matière organique influe sur le processus de biodégradation [56].

## 2.2. Réactivités microbiologiques

Les colorants tiennent un rôle primordial dans l'activité microbiologique d'un milieu. Quelles que soient les origines : celle de la teinture, pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires. Les colorants et/ou particuliers servent de source d'énergie aux microorganismes.

Cependant certains composés ou certaines fractions organiques se révèlent plus réfractaires à la biodégradation que d'autres et peuvent alors s'accumuler dans les milieux.

Dans les décharges, la décomposition des déchets par les microorganismes génère les colorants du textile. Ces rejets, devient alors après sa biogénèse un élément primordial entretenant l'activité microbiologique. En effet, l'état dissous est présumé être un pré requis pour la diffusion de substrats à travers les membranes cellulaires si bien que la dégradation de matières organiques solides ou de grosses molécules n'intervient qu'après dissolution et hydrolyse par des exoenzymes [57].

Une réactivité microbiologique ou « bioréactivité », traduisant les possibilités d'utilisation de la matrice organique par une population microbienne, peut être alors définie par deux principaux termes :

La biodisponibilité, qui exprime le potentiel d'interaction entre la MO et les microorganismes. Cette notion considère que l'utilisation de composés organiques

ne doit pas nécessairement résulter de leur fragmentation en plus petites entités ou même jusqu'à minéralisation mais intègre aussi la dégradation extracellulaire des composés par les exoenzymes microbiens.

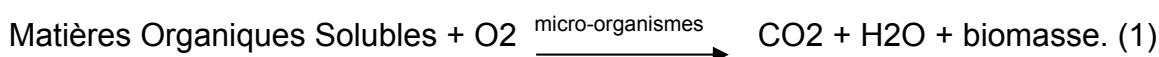
La biodégradabilité, qui représente l'utilisation effective de la MO par les microorganismes et traduit l'expression mesurable du potentiel d'interaction. Au sens strict, la biodégradabilité englobe deux processus, *d'une part* l'utilisation microbienne directe ou après décomposition de composés pour la biosynthèse de nouveau matériel cellulaire et *d'autre part* la minéralisation pour obtenir de l'énergie et des nutriments inorganiques.

Une connaissance de cette bioréactivité est essentielle pour évaluer la persistance de la MO dans un milieu et extrapoler son devenir. Mais même si la biodisponibilité permet de déterminer l'ensemble de la part bioréactive, elle reste difficile à appréhender. Aussi la bioréactivité est surtout quantifiée par des mesures de biodégradabilité bien que ces mesures ne représentent parfois qu'une infime part du potentiel total. En outre la bioréactivité doit être systématiquement rattachée à des conditions expérimentales comme l'aérobiose, l'anoxie ou l'anaérobiose. En effet, l'évaluation de la biodégradabilité « anaérobie » d'un rejet apporte des informations pertinentes dans le cadre de traitements par digestion anaérobie [58].

Mais aussi pour déterminer sa capacité d'auto épuration au sein de la décharge ou lors de procédés de recirculation [59]. L'évaluation de la biodégradabilité « aérobie » est en revanche plus adaptée pour estimer les possibilités de traitement par le procédé des boues activées et surtout pour déterminer l'évolution immédiate de MO suite au pompage du rejet hors de la décharge. De même, les mesures de biodégradabilité « aérobie » effectuées sur des eaux naturelles rendues potables permettent de bien évaluer la capacité de revivification microbienne au sein des réseaux d'eaux [60], alors que le potentiel de biorémédiation d'un aquifère est vraisemblablement plus accessible par l'étude de la biodégradabilité en anoxie.

### 2.2.1. Méthodes permettant d'évaluer la biodégradation d'une espèce organique

La biodégradation de la matière organique se définissant comme l'utilisation de composés organiques par des microorganismes, le phénomène peut se ramener à l'équation de dégradation suivante :



Selon les principes chimiques, le suivi de l'un des termes de l'équation permet de connaître à tout moment l'état d'avancement de la réaction. Par conséquent il est possible d'estimer la biodégradation en quantifiant soit la disparition des matières organiques dissoutes ou de l'oxygène soit la production de CO<sub>2</sub> ou de biomasse (disparaître de la couleur des colorants par D.O).

La littérature rapporte une très grande variété de procédures basées sur la mesure de l'un ou l'autre des termes de l'équation (1). Néanmoins, suivant le terme et les outils analytiques utilisés pour suivre cette dégradation, la biodégradabilité en tant qu'assimilation et/ou minéralisation est considérée à des degrés divers. Ainsi, si la biodégradation est déterminée par l'augmentation de la biomasse, seul le Carbone Organique Assimilable (COA) est considéré [61], et la matière organique minéralisée est négligée. Par contre, si la disparition en Carbone Organique Dissous Biodégradable (CODB) est suivie, il n'est pas possible de différencier la part liée à l'incorporation microbienne de celle liée à la biodégradation. De même lorsque l'évolution des gaz O<sub>2</sub> ou CO<sub>2</sub> est mesurée, la biodégradabilité traduit l'ensemble de l'activité microbienne en tenant compte aussi bien de la multiplication des populations.

Un grand nombre de méthodes essentiellement différentes sur le plan du type d'incubation, du paramètre mesuré, de l'ajout de l'inoculum et/ou des nutriments ainsi que de la durée d'incubation. Cependant les autres également comme l'emploi dans des réacteurs de taille et de conformation variables, diverses agitations, des concentrations initiales et des nutriments différents sous des conditions de température, de pH disparates. Or les variations de ces paramètres modulent la réponse des tests de biodégradabilité et conduisent à des écarts de valeurs entre les procédures. Le mode opératoire constitue en effet un important

facteur de distinction. En réacteur continu, la biomasse dispose d'un substrat sans cesse renouvelé puisque l'échantillon vient à son contact alors qu'en réacteur discontinu les conditions d'agitation vont être déterminantes pour assurer un flux de MO suffisant aux microorganismes. Les conditions expérimentales doivent en effet satisfaire aux besoins des microorganismes. Aussi, la concentration en substrat organique doit être suffisante et identique d'un échantillon à l'autre. Car les concentrations différentes conduisent à des cinétiques de croissance différentes et de ce fait à des taux de biodégradation différents. Cependant, contrairement à des essais réalisés sur des milieux reconstitués, la concentration d'échantillons naturels est plus délicatement ajustable[62].

Les microorganismes ont également des besoins en azote et en phosphore dans un rapport C/N/P qui est de l'ordre de 100/10/1 [63]. De ce fait, des apports d'azote, de phosphore et même de potassium sont fréquemment réalisés, mais les effets réels de ces additions sur la biodégradabilité de MOD ne sont pas encore très bien connus [57].

Les micros nutriments de même que les vitamines ne sont en revanche pratiquement jamais apportés car leur présence dans les échantillons naturels est supposée suffisante.

Hormis des besoins nutritifs, les microorganismes aérobies doivent aussi bénéficier d'une teneur en dioxygène suffisante pour pouvoir assurer leur métabolisme respiratoire. Ils doivent également profiter d'une température adéquate car bien qu'ils soient généralement capables de vivre sous différentes conditions, leur activité métabolique varie avec la température. Le pH est aussi un paramètre important car d'une part il joue sur la solubilité [64], et d'autre part les microorganismes s'accommodent mieux de certaines conditions de pH (notamment entre 5 et 9).

En fait, plusieurs paramètres vont être fixés par les besoins et les exigences des microorganismes utilisés. Cependant, comme tous n'ont pas le même métabolisme et les mêmes affinités de substrat, leur choix va être

déterminant. L'évaluation de la biodégradabilité dépend du type et de l'origine des microorganismes utilisés.

Ainsi, ces différents paramètres vont conditionner la réponse d'un test de biodégradabilité, mais leurs différences mènent seulement à des écarts de valeur. En revanche, deux autres paramètres conduisent à des différences majeures entre les procédures :

**\* La durée d'incubation**

**\* Le paramètre choisi pour mesurer la biodégradation**

Le paramètre choisi pour mesurer la biodégradation détermine la biodégradabilité considérée (minéralisation et/ou assimilation) et la durée d'incubation détermine le type biodégradable mesurée. Aussi le choix d'une procédure devant être motivé par le type de biodégradabilité recherchée, ces deux paramètres doivent être précautionneusement choisis.

### 2.2.2. Paramètres utilisés pour mesurer la biodégradation

Un test de biodégradabilité se caractérise essentiellement par son paramètre de mesure. En effet, chacun des termes de l'équation (1) représentant des entités différentes, il exprime et considère différemment la dégradation. Néanmoins, il est possible de distinguer deux grands types de paramètres : ceux donnant une mesure directe et ceux donnant une mesure indirecte de la biodégradabilité par rapport au substrat.

#### 1. Paramètres de mesure directe de la biodégradation

Ces paramètres mesurent directement l'utilisation de la MO par les microorganismes et expriment la notion qu'ils sous-entendent par biodégradabilité. Il s'agit de la mesure du Carbone Organique Dissous et de l'estimation de la production de biomasse bactérienne.

##### • Le Carbone Organique Dissous

La partie du COD éliminée dans un test de biodégradabilité est définie comme le Carbone Organique Dissous Biodégradable (CODB). Il représente la fraction du COD qui peut être assimilée et minéralisée par des organismes

hétérotrophes [7]. Généralement, le CODB est obtenu par différence entre le COD initial de l'échantillon et le COD minimal observé après la période d'incubation. La mesure du COD semble préférable à celle du COT qui peut fausser l'estimation des quantités dégradées par la présence de carbone organique particulaire comme des microorganismes.

#### • La biomasse bactérienne

L'estimation de la biomasse suppose que l'augmentation des populations est uniquement une conséquence de la croissance. Le Carbone Organique Assimilable (COA) réfère alors à la fraction du COD qui peut être utilisée par des chaînes spécifiques ou des mélanges définis de bactéries. L'inoculum d'un bio-essai de COA se compose soit de souches bactériennes pures cultivées en laboratoire, soit d'un mélange de bactéries prélevées dans l'environnement, soit de bactéries utilisant des composés spécifiques [65].

La croissance bactérienne est suivie par comptage des colonies sur gélose et rapportée traditionnellement en Unités Formant Colonie par millilitre d'échantillon (UFC.mL<sup>-1</sup>). Puis, la croissance moyenne observée durant l'incubation est convertie en unité de COA (notamment en µg de carbone acétate.L<sup>-1</sup>). Cette conversion s'effectue à partir de courbes de croissance obtenues avec des concentrations standard de composé organiques (acétate ou oxalate de sodium).

## 2. Paramètres de mesure indirecte de la biodégradation

Ces paramètres ne quantifient pas directement l'utilisation de la matière organique mais ses conséquences. Il s'agit de la consommation en oxygène et de la production de dioxyde de carbone.

#### • La teneur en dioxygène (O<sub>2</sub>)

La consommation d'oxygène résulte de l'activité des microorganismes aérobies qui emploient l'oxygène comme accepteur terminal d'électron de leur mécanisme respiratoire. Les matières organiques dégradées par respiration bactérienne provoquent par conséquent une consommation d'oxygène qui est suivie par mesure manométrique de dépression ou par mesure de la teneur en

oxygène dissous. La biodégradation peut être alors exprimée en terme de quantité d'oxygène nécessaire pour éliminer la charge organique comme par la Demande Biochimique en Oxygène.

• La teneur en dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>)

Le CO<sub>2</sub> est produit lors de la dégradation et de l'utilisation des composés organiques par la biomasse pour ses besoins énergétiques et sa multiplication. Son dosage s'effectue généralement par piégeage dans des solutions de soude ou de potasse, puis titration de ces solutions [66]. Le pourcentage de biodégradation est déterminé par comparaison avec la quantité de CO<sub>2</sub> produit lors de la minéralisation totale de l'échantillon [67]. Cependant, les protocoles nécessitent de faire attention aux interférences dues au CO<sub>2</sub> atmosphérique.

2.2.3. Type de MO biodégradable

La durée d'incubation a également une réelle incidence sur l'analyse de biodégradabilité puisqu'elle amène à considérer différents groupes de MOD biodégradable (labile, semi-labile, stable, rapide, lent). Ainsi [57] Marschner & Kalbitz (2003) estiment que très peu de travaux sont comparables en raison de la variabilité de ce paramètre. En effet, en fonction du temps la quantité de MO biodégradée augmente puisque certains composés sont plus longs à dégrader que d'autres. De ce fait, l'interprétation doit par conséquent intégrer que les fractions non utilisées ne sont pas nécessairement réfractaires aux microorganismes mais éventuellement plus lentement utilisables. C'est pourquoi, à partir de considérations théoriques, différentes terminologies ont été définies. L'une des plus simples distingue trois fractions de MOD biodégradable :

• la MO labile, principalement constituée de composés simples pouvant être utilisés directement par un grand nombre de microorganismes sans le recours à des enzymes spécifiques. Généralement on considère qu'il s'agit de sucres simples, d'acides organiques courts, d'acides aminés, de sucre-aminés et de petites protéines.

• la MO lentement dégradable et relativement stable contenant des composés qui nécessitent des enzymes spéciales de décomposition, essentiellement produites

soit par quelques microorganismes moins intéressés par des substrats labiles soit par des microorganismes en manque de substrats labiles. Des polysaccharides et d'autres composés dérivés de plantes et de microorganismes constituent entre autre cette fraction.

- La MO récalcitrante qui n'est pas complètement non biodégradable, mais qui s'accumule dans le milieu. Cette fraction consiste en des structures qui ne sont pas facilement rompues par des enzymes, comme des dérivés de lignine ou des composés fortement altérés. Même si des composés sont souvent associés à ces fractions, il reste délicat de proposer une réelle composition chimique. Les matières biodégradables sont généralement considérées comme simples et de petites tailles alors que les molécules complexes comme les substances humiques sont supposées non biodégradables. Cependant, ce concept est à modérer puisque des composés de petites et de grandes tailles apparaissent biodégradables. En effet, les substances humiques peuvent être partiellement dégradées lors de réactions enzymatiques et utilisées par des bactéries [68].

Filip *et al.* (2000) [68] mettent en évidence l'utilisation et la transformation d'acides de type humique extraits de déchets municipaux et de boues d'épuration disposés en décharge par une biomasse issue du sol. De plus, les composés anthropogéniques retrouvés dans la matière organique du rejet peuvent être également considérés comme biodégradables puisque certains microorganismes des décharges parviennent à les dégrader et à les utiliser.

### 2.3. Classification des substances dégradables

La classification des substances chimiques repose principalement sur leurs propriétés intrinsèques. Cependant, le degré de dégradation d'une substance dépend non seulement de la résistance intrinsèque à la dégradation de la molécule, mais aussi des conditions réelles du milieu environnemental récepteur, telles que le potentiel redox, le pH, la présence de micro-organismes appropriés, la concentration de la substance elle-même, ainsi que l'apparition et la concentration d'autres substrats [69].



### 2.3.1. L'aptitude des molécules à être dégradées

La structure chimique des molécules influe beaucoup sur l'aptitude des molécules à être dégradées, c'est-à-dire sur leur récalcitrance à l'égard de l'action de système enzymatique; des indications générales sont données dans le tableau 2.1. Ce concept a été développé pour expliquer la grande persistance par fois observée avec certaines molécules. Il est rapproché des caractères métaboliques ou non métaboliques de la dégradation [70].

Tableau 2.1: Relation quantitative entre la résistance à la dégradation et la structure chimique des composés organiques [70].

Les composés qui possèdent l'une des caractéristiques ci-dessous sont facilement dégradés		Les composés qui possèdent l'une des caractéristiques ci-dessous sont difficilement dégradés
Faible encombrement moléculaire	↔	Grand encombrement moléculaire
Carbone primaire ou secondaire	↔	Carbone tertiaire ou quaternaire
Alcènes	↔	Alcanes
Chaînes aliphatiques	↔	Composés aromatiques hétérocycles
Dérivés benzéniques possédant peu de substituants	↔	Composés aromatiques possédant beaucoup de substituants
Amines primaire ou secondaires	↔	Amines tertiaires
Composés aromatiques possédant peu d'atomes halogènes	↔	Composés aromatiques possédant beaucoup d'atome halogénés
Liaison ester	↔	Liaison éther

### Remarque

Il s'agit d'un classement relatif ; les alcènes sont plus facilement dégradables que les alcanes, lesquels le sont plus que les composés aromatiques [71].

## 2.4. Biodégradabilité de la pollution

### 2.4.1. Particularité des micro-organismes adaptés

Les microorganismes qui vont dégrader, par action successive de divers enzymes, les composés organiques industriels sont des germes particuliers totalement différents de ceux qui vont se développer dans un effluent urbain, Il faut donc un certain temps durant le quel certaines espèces vont disparaître et d'autres s'adapter à la métabolisation des composés organiques industriels, dont le pourcentage d'élimination pourra par ailleurs être excellent.

### 3.4.2. Rapport C /N/P (Carbone/Azote/Phosphore)

En mode aérobie une croissance normale de la biomasse nécessite des apports de carbone, d'azote et de phosphore dont la proportion : 1000 /5/1. Les paramètres DBO<sub>5</sub> pour le carbone, NTK pour l'azote et le P<sub>totale</sub> pour le phosphore, sont à prendre en considération.

Dans le cas d'un effluent urbain on a C/N/P DBO<sub>5</sub>/NTK/P : 400 /80 /18 =100 /20 /3.75, aucune carence nutritionnelle n'est relevée.

L'attention doit se porter sur les effluents, souvent carencés en Net /ou P, un complément peut être réalisé au niveau d'un bassin tampon en tête de station par le biais d'une injection de NH<sub>4</sub>et H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

On pourrait aussi mélanger l'effluent organique à l'effluent urbain dans ce cas, on note cependant une baisse de rendement en ce qui concerne le corps industriel par suit d'une concurrence entre les diverses souches banales et adaptées. Cette modification de la flore et de la faune du milieu est toujours défavorable aux secondes [72].

### 2.4.3. Biodégradation de divers substrats

La cellule bactérienne utilisée pour épurer une solution ou une suspension de polluants doit dégrader une très grande variété de composants. Toute cellule a un équipement de base lui permettant de dégrader directement certains substrats comme le glucose. D'autres substrats, comme le phénol, ne sont pas dégradés avec la même facilité par toutes les cellules.

La biodégradabilité d'un composé chimique est liée à sa structure. En milieu aérobie, on cite les « règles d'Alexander » qui freinent la biodégradation :

La substitution par Cl, SO<sub>3</sub>H, NO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> ;

La poly substitution par rapport à la mono substitution.

La présence de plusieurs noyaux aromatiques ;

La ramification (effet maximum en présence d'un carbone asymétrique) ; pour les molécules aromatiques, l'ordre de la dégradabilité est para>ortho>méta.

Pour les dérivés chlorés aliphatiques, l'ordre de la dégradabilité est  $W > \gamma > \beta > \alpha$  [73].

Dégradables que les homologues supérieurs à poids moléculaire élevé.

### 2.5. Mécanismes de la dégradation

Les microorganismes peuvent seulement faire les choses pour les quelles ils ont une programmation génétique. De plus, les micro-organismes ne peuvent pas tout faire et l'environnement demeure un facteur déterminant dans la réaction pouvant être effectuée par un organisme apte à le faire. Par conséquence, il n'est pas garanti qu'un composé soit dégradé dans un environnement particulier.

D'abord, un organisme susceptible de dégrader doit être présent, en suite une opportunité doit exister pour que les enzymes nécessaires soient synthétisées, en fin les conditions environnementales doivent être appropriées pour que les réactions enzymatiques s'effectuent à une vitesse significative [52].

Quatre mécanismes sont cités:

### 2.5.1. L'équipement enzymatique de germe

L'équipement enzymatique de germe leur permet de métaboliser directement le composé comme s'il s'agissait du substrat normal.

Les enzymes : sont des catalyseurs biologiques elles induisent des augmentations très importantes de vitesse de réaction dans un environnement qui sans elle ne serait pas favorable à ces réactions biochimiques elles sont produites par les cellules (animales, végétale ou microbiennes) [56].

L'utilisation du substrat étranger comme source de carbone et d'énergie autorise même la croissance cellulaire. Cette faculté sera bien sur encouragée par la faible spécificité des enzymes concernées si elles ne sont pas très dégradantes sur certains détails des molécules substrats.

### 2.5.2. Adaptation aux nouvelles substances

Les microorganismes ont la possibilité d'induire la synthèse d'enzymes nouvelles, spécifiquement tournée vers le substrat .cette propriété est souvent apportée par un plasmide. [74].

### 2.5.3. Biodégradation gratuite

Les micro-organismes ont pour priorité de cataboliser des substances organiques leur permettant de se procurer l'énergie nécessaire à leur croissance et leur multiplication. Les micro-organismes ont également besoin de carbone pour synthétiser leur structure telle que la paroi [53].

Les composés chimiques organiques sont employés en tant qu'énergie et source d'éléments nutritifs, ayant pour résultat la prolifération de cellules et une augmentation de temps fini de taux de dégradation [75].

La situation est différente dans le cas des molécules organiques synthétisées par l'homme et qui sont étrangères à la nature. Certaines de ces molécules xénobiotiques telles que certains pesticides, ne sont biodégradables qu'après une éventuelle mutation et adaptation progressive de certains micro-organismes. Pour d'autres substances xénobiotiques récalcitrantes, la présence de composés facilement biodégradables est nécessaire (Cométabolisme).

Le caractère récalcitrant (non biodégradable) des molécules xénobiotiques est à mettre en relation avec l'existence ou non des micro-organismes possédant les enzymes capables d'attaquer cette molécule.

Le succès de ce type de métabolisme dépend entre autre de la capacité du composé à induire la synthèse de l'enzyme requise. On met souvent l'emphase sur la spécificité des enzymes comme catalyseurs. Cependant, il n'est pas rare pour les enzymes de se lier à des substrats contenant des groupements fonctionnels Xnobiotique analogues aux substrats naturels [76].

Si le composé xénobiotique est incapable d'induire l'enzyme nécessaire, alors la biodégradation se produira seulement en présence de l'indicateur naturel. Cela peut sévèrement limité les applications de la capacité enzymatique.

Pour que les microorganismes d'une seule espèce effectuent continuellement la dégradation gratuite du composé organique entant que seule source de carbone et d'énergie ils doivent être absolument en mesure de soutirer cette énergie. S'ils en sont incapables, ils ne pourront pas maintenir leur intégrité cellulaire causant ainsi la mort éventuelle de la culture. Dans cette situation, la seule façon pour que les micro-organismes puissent dégrader constamment le composé xénobiotique est l'utilisation d'une source additionnelle de carbone ajoutée au milieu ou l'action de d'autres organismes dans une communauté mixte [52].

Le principe de « l'inaffabilité microbienne » c'est :  
«Pour toute molécule il existe quelque part un micro-organisme capable de le dégrader dans certaines conditions du milieu ».

#### 2.5.4. Cométabolisme

Le Cométabolisme est défini comme la transformation d'un substrat ne servant pas à la division cellulaire en présence obligatoire d'un substrat de croissance ou d'un autre composé assimilable. Cet aspect de présence obligatoire d'un substrat pour la croissance a été ajouté par Dalton et Stirling pour faire une distinction entre le cométabolisme et la biodégradation gratuite. Bref, le composé

chimique, bien que métabolisé ne sert pas de source de nutriments pour les microorganismes [77]. *McClure* suggère que la présence d'un substrat facilement assimilable peut permettre à un organisme de dégrader un composé récalcitrant en fournissant l'énergie ou en réduisant l'activité enzymatique nécessaire [78].

Donc le cométabolisme est une dégradation cinétique du premier ordre avec une organisation responsable qui ne montre aucune capacité de prolifération après dégradation du composé [75].

## CHAPITRE 3

### Méthodes et techniques expérimentales

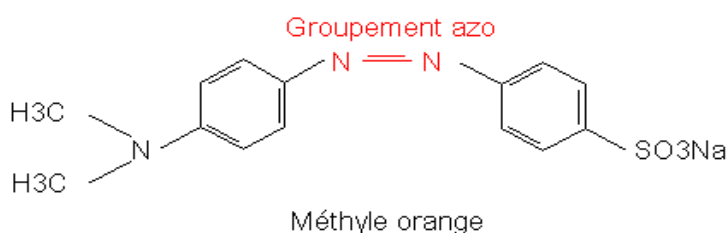
#### 3.1. Les colorants utilisés

Les trois colorants utilisés (jaune célliton G, bleu cibacette BF et rouge sirius 4B) proviennent de l'usine de textile SOTRADAL située à Boufarik. Ainsi le colorant méthyl orange utilisé en laboratoire.

##### 3.1.1. Le colorant «Méthyle orange »

C'est un colorant azoïque de formule brute:  $C_{14}H_{14}O_3N_3SNa$  ; P.M =327.33267

##### ▪ Formule chimique développée



Ses propriétés sont regroupées dans le tableau 3.1.

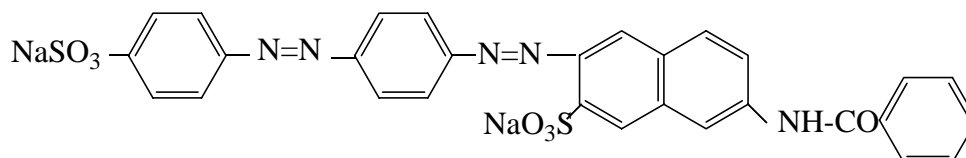
Tableau 3.1: principales caractéristiques du colorant Méthyle orange.

Nom systématique	<i>para</i> -( <i>para</i> -diméthylamino phénylazo)-benzène sulfonate de sodium
Nom Français	Hélianthine B.
Autre noms	Orange III Tropeolin D
C.I. number	C.I. 13025
Classe	Azoïque
Ionisation	Acide
Point de fusion	Aucune donnée disponible
Solubilités	Dans l'eau: soluble Dans l'alcool : insoluble
couleur	Poudre jaune orange
Formule brute	$C_{14}H_{14}O_3N_3SNa$
P.M	327.33267
Application	Indicateur de pH ; rouge en milieu acide, jaune orangé en milieu alcalin, plage de sensibilité de pH entre 3,1 et 4,4.

### 3.1.2. Le colorant « Rouge Sirius 4B »

C'est un colorant qui appartient à la famille des azoïques de formule brute:  $C_{29}H_{19}N_5O_8S_2Na_2$  ; P.M = 675.62

▪ Formule chimique développée



Ses propriétés sont regroupées dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2: principales caractéristiques du colorant Rouge Sirius 4B.

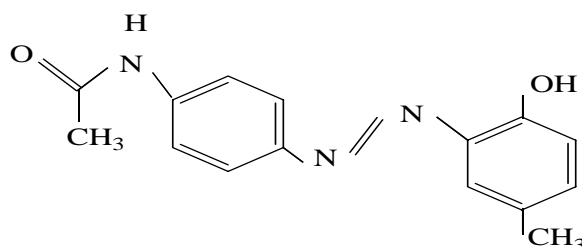
Nom français	Rouge Sirius 4B
Nom Anglais	sirius red 4B.
Autre noms	Chlorantine fast red 5B
C.I. number	C.I.28160
C.I.name	C.I. Direct red 81
Classe	Azoïque
Ionisation	Acide
Point de fusion	Aucune donnée disponible
Solubilités	Dans l'eau: modérée Dans éthanol: léger
couleur	Rouge (red)
Formule brute	$C_{29}H_{19}N_5O_8S_2Na_2$
P.M	675.62
Absorption maximum	508 (Aldrich) 502(Gurr)
Application	Colorant du collagène type I et III.  Le colorant rouge Sirius a été recommandé que le plasma tache dans certaines méthodes de trichrome, on en tant que substitut de l'acide dans fushin van Gieson. Il est par fois confondu avec le même nom de colorant rouge Sirius F3b, qui peut être utilisé pour la démonstration de l'amyloid. rouge Sirius 4B n'est pas utilisé à cette fin et n'est pas un substitut de rouge congo.



### 3.1.3. Le colorant « Jaune Célliton G »

C'est un colorant azoïque de formule brute :  $C_{15}H_{15}N_3O_2$  ; P.M=269.3024

▪ Formule chimique développée



Ses propriétés sont regroupées dans le tableau 3.3.

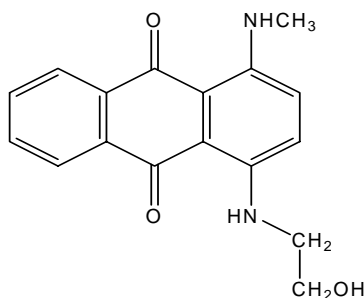
Tableau 3.3 : principales caractéristiques du colorant Jaune Célliton G.

Nom français	Jaune Celliton G
Nom Anglais	C.I. disperse yellow3
Autre noms	(Hydroxy-2methyl-5phenyl) azo-4acétanilide. C.I. solvant yellow77 C.I. solvant yellow 92
C.I. number	C.I. 11855
C.I.name	C.I. disperse yellow3
Classe	Azoïque
Ionisation	Acide
Point de fusion	173°K
Solubilités	Soluble dans l'eau
couleur	Jaune
Formule brute	$C_{15}H_{15}N_3O_2$
P.M	269.3024
Utilisation et source d'émission :	Colorant
Stabilité	Ce produit est stable
Incompatibilité	Ce produit est incompatible avec ces substances : les agents oxydants, les agents réducteurs
Produit de décomposition thermique	Oxyde de carbone, oxyde d'azote. Ce produit est absorbé par les voies digestives ; sensibilisation de la peau.
Application	Pour teinture des textiles et peaux de moutons et pour colorant poly méthyl méthacrylate et nylon.

### 3.1.4. Le colorant « Bleu Cibacette BF »

C'est un colorant anthraquinonique de formule brute :  $C_{17}H_{16}N_2O_3$  ; P.M= 296.325

▪ Formule chimique développée



Ses propriétés sont regroupées dans le tableau 4.4

Tableau 3.4 : principales caractéristiques du colorant Bleu Cibacette BF.

Nom français	1-méthylamino-4-éthanolamino anthraquinone.
Autre noms	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1-méthylamino-4-(beta-hydroxyéthylamino) anthraquinone</li> <li>• 1-méthylamino-4-éthanolaminoanthraquinone.</li> <li>• 9,10-anthracenedione, 1-((2-hydroxyéthyl) amino)-4-(méthylamino).</li> </ul>
Classe	Anthraquinonique
Ionisation	Acide
Point de fusion	332°C
Solubilités	Soluble dans *acétone *éthanol *benzène *huile de lin
couleur	bleu
Formule brute	$C_{17}H_{16}N_2O_3$
P.M	296.325
Utilisation et source d'émission :	Colorant
Stabilité	Ce produit est instable dans les conditions suivantes : lorsqu'il est chauffé, le produit émet des fumées toxiques.
Incompatibilité	Ce produit est incompatible avec ces substances : les agents oxydants, les acides forts
Application	Utilisé en USA dans la formulation de semi

	<p>permanent de couleur, de cheveux à concentrations de moins que 1%. Bleu cibacete a été employé comme colorant de tissu pour le nylon, cellulose, acétate et triacétate, polyester, et acrylate fibres.</p> <p>Il a été également employé pour teindre l'extérieur du thermoplastique et comme dissolvant colorant en cellulose plastiques d'acétate.</p>
--	---

### 3.1.5. Le colorant « Vert »

Le vert est un mélange de deux colorants le jaune célliton G 55.55% et le bleu cibacette BF 44.45%.

### 3.1.6. Le rejet

Le rejet provient de l'usine de textile de Boufarik ; se sont les rejets de la teinture des drapeaux algériens.

## 3.2. Matériels utilisés

Les essais sont réalisés en réacteur fermé (600cm<sup>3</sup>) de volume utile 400cm<sup>3</sup> à la température ambiante maintenue à 20°C. Les essais sont effectués sur de solutions de colorant à concentration initiale fixée.

### 3.2.1. Mesure de pH

Le pH est mesuré au moyen d'un pH-mètre du type WTW labol avec électrode en verre et électrode de contrôle de température Les pH obtenus varient de 5.76 à 6.01

### 3.2.2. Mesure de l'absorbance

Les concentrations en colorants sont déterminées par mesures de l'absorbance grâce a un spectrophotomètre uv.visible : SHIMADZU UV-1700 pharma Spec. Les longueurs d'ondes retenues par balayage varient de 900 à 300nm.En effet, dans un domaine de concentration allant de 0 jusqu'à 150 mg/l; les solutions des colorants obéissent à la loi de Beer\_lambert. Pour mesurer la

concentration en colorant. Il suffit de prélever un échantillon du surnageant après centrifugation de 3000tr/min pendant 20min à l'aide d'une centrifugeuse type SIGMA Labor zentrifugen 2-5

### 3.2.3. Analyse FT-IR

L'analyse FT-IR a été réalisée par spectromètre FTIR 8900 (SCHIMADZU) moyennant le logiciel Hyper IR. La méthode KBr a été utilisée (échantillon: KBr=1:5) pour préparer des échantillons solides convenables. Les différents spectres IR ont été enregistrés sur la gamme 4000-400cm<sup>-1</sup>.

## 3.3. Démarche expérimentale

### 3.3.1. Préparation des solutions colorantes à différentes concentrations

Les concentrations retenues pratiquées au sein de l'usine varient de 0.04 à 0.09g/l selon le type de colorant. La préparation s'effectue par peser 0.04 g de colorant (Par exemple on prend le bleu cibacette BF) sur un verre de montre avec une balance de type CP224S Sartorius. Le versé dans un fiole et on ajoute de l'eau distillée chaude jusqu'à le trait de la fiole (1l) et sous agitation pour une meilleure solubilité

### 3.3.2. Préparation de l'extrait de betterave

A l'aide d'un mixeur ; on pulvérise une quantité de la betterave rouge avec de l'eau pour faciliter le broyage. Le mélange obtenu est filtré *sou vide*.

### 3.3.3. Préparation des solutions mixtes « colorant/extrait de betterave »

Les solutions permettant le suivi de la biodégradation de colorant utilisé. Le rapport du couple (extrait de betterave /colorant) est 1.

Des précautions sur le plan de l'hygiène du lieu travail ont été considérées pour éviter toute forme de contamination de l'échantillon.

#### a- Stérilisation du milieu (paillasse)

La paillasse est nettoyée à l'eau de javel 12° et exposé à une source de chaleur assurée par deux lampes à éthanol.

b- Stérilisation du matériel

Le matériel est rincé soigneusement à l'eau distillée, pour être ensuite stérilisé dans un autoclave du type : Labor Muszeripari Muvek à 110°C.

c- Séchage du matériel

L'ensemble du matériel est étuvé pour assurer un bon séchage.

3.3.4. Préparation de la biomasse

La biomasse utilisée a été récupérée aux fonds des tubes après une centrifugation. Cette biomasse est conservée à 4°C.

3.3.4. Préparation des milieux de culture

Pour préparer le milieu de culture on a besoin de :

- ◆ Extrait de la betterave.
- ◆ Agar-agar.
- ◆ Gélose nutritive.

1) Agar-agar

(E406 dans la liste des additifs alimentaires) est un produit gélifiant obtenu à partir d'algues rouge (entre autre floridées comme la *Gracilaria*). C'est un polysaccharide du galactose contenu dans la paroi cellulaire de certaines espèces d'algues rouge (*rhodophycée*)

2) gélose nutritive

C'est un milieu d'isolement non sélectif. L'isolement est réalisé dans le but de contrôler la pureté d'une souche bactérienne.

Composition : Eau	100ml
Extrait de viande	1.0
Extrait de levure	2.0
Peptone	5.0
Chlorure de sodium	5.0
Agar	15
pH	7.7

Préparation : 28g/l (stérilisation à l'autoclave).

### 3.3.5. Préparation des dilutions (Ensemencement)

Dans un lieu stérile et dans la zone aseptique autour du bec Bunsen, le mélange ainsi stérilisé est réparti dans 30 boîtes de Petri (environ 25mL dans chacune). Les boîtes coulées sont gardées sur la paillasse environ une heure pour que le milieu soit solide.

La biomasse récupérée nous a servi à faire les dilutions de 10 en 10:

- 1g de la biomasse est dilué dans 1mL de l'eau physiologique stérile.
- Cette suspension est versée dans un tube contenant 9mL d'eau physiologique stérile pour avoir une dilution de  $10^{-1}$ .
- 1mL de cette solution est versé à son tour dans un autre tube contenant 9mL de l'eau physiologique stérile pour avoir une dilution de  $10^{-2}$ .
- Ainsi de suite jusqu'à l'obtention de la dilution  $10^{-9}$ .

Avec une pipette Pasteur nous prélevons un volume d'une dilution pour verser une à deux gouttes dans une boîte déjà préparée, sur laquelle nous notons la dilution et la date. Ce travail est répété pour toutes les dilutions en ensemençant 3 boîtes pour chacune.

Une pipette Pasteur n'a servi qu'aux ensemencements d'une seule dilution.

### 3.3.6. Préparation des Incubations

Dans une étuve bactériologique de type HERAEUS INSTRUMENTS, les boîtes sont déposées ensemencées renversées pendant 48h.

### 3.3.7. Lecture des résultats

Cherchant uniquement dans le troisième quadrant des boîtes, où les colonies sont bien dispersées et distinctes (la taille, la forme et la couleur).

### 3.3.8. Purification

Nous avons choisi pour chaque type, des colonies bien isolées à partir desquelles nous avons fait des réensemencements (le repiquage) sur la gélose ordinaire en vue d'avoir des cultures pures. Ces boîtes sont incubées à

37°C pendant 24h. Afin de conserver la survie de ces bactéries pour une longue durée, il est utile de les repiquer sur la gélose inclinée (tubes).

#### 3.4. Moyens de caractérisation des bactéries

Cette étape consiste à identifier les bactéries responsables de biodégrader les solutions colorantes.

Contrairement aux animaux et aux végétaux, la morphologie des microorganismes est en général trop simple pour permettre une identification fiable et pour servir de base à une bonne classification. Seule une caractérisation rigoureuse par approche Phénotypique ou phylogénétique permet de les différencier malgré des apparences très similaires.

L'approche phénotypique résulte en une combinaison des caractères cultureux (milieux, températures ...), des caractéristiques morphologiques (aspect, coloration de gram ...), des propriétés physiologiques (types respiratoires) et des propriétés biochimiques (activités enzymatiques simples : catalase et oxydase, activités enzymatiques métaboliques ...) comme clé d'identification. De manière générale, les protocoles et les milieux standard suffisent à l'étude des populations au sein de betterave rouge, mais des milieux de culture plus spécifiques ont aussi été développés. En effet l'isolement et la culture sont incontournables à la caractérisation phénotypique puisque la condition initiale est de disposer d'une culture pure de l'espèce à identifier. Par conséquent cette approche ne peut pas s'appliquer au diagnostic des microorganismes dont la culture est difficile ainsi qu'aux populations non cultivables. En fait seulement 0,1 à 15% des bactéries sont potentiellement identifiables par analyse phénotypique parce que cultivables à l'aide des techniques classiques par boîtes de Pétri [54].

Cette contrainte méthodologique a longtemps limité l'étude des communautés bactériennes jusqu'à l'arrivée des techniques de biologie moléculaire (approche phylogénétique). Ces techniques, basées sur la spécificité des acides nucléiques, ont révolutionné la taxonomie en partant du principe qu'il existe des séquences conservées pour un domaine (*Eucarya*, *Eubacteria* et *Archaea*) mais également des régions très variables, typiques de certains groupes

bactériens. Ainsi le séquençage de régions particulières de l'ADN ribosomal (ADNr) ou de l'ARN ribosomal (ARNr) peut permettre d'identifier et de classer un microorganisme. La région 16S est généralement la plus étudiée car plus facile à analyser que la région 23S et plus riche en information que la région 5S. L'ARNr 16S contient 1500 nucléotides contre 120 et 2900 pour des ARNr respectivement 5S et 23S. Cependant l'identification d'une telle quantité d'information génétique nécessite des techniques d'études appropriées : hybridation par des sondes nucléiques ou séquençage de l'ADN, techniques qui ne seront pas utilisées dans ce travail.

#### 3.4.1. Identification des microorganismes

Lors de cette étude, l'approche phénotypique a été préférée pour sa facilité d'approche et parce que l'objectif était d'isoler et de disposer de souches cultivables. L'identification de la biomasse cultivable du Betterave Rouge s'est effectuée à l'aide de milieux de cultures classiques et spécifiques, d'analyses visuelles, de tests biochimiques simples (coloration de gram, catalase/oxydase, types respiratoires...) et de galeries d'identification. Afin d'isoler et de caractériser différentes souches, des milieux de cultures spécifiques et non spécifiques ont été choisis à partir des espèces bactériennes fréquemment référencées par la bibliographie. La coloration de gram, les activités oxydase et catalase, la réduction des nitrates ont été testées. La nomenclature des souches isolées a été obtenue à l'aide de galeries d'identification :

Trois différents types de galerie ont été utilisés.

#### 3.4.2. Les étapes pour l'identification des bactéries ( Caractérisations phénotypiques des souches bactériennes)

##### 1<sup>ère</sup> étape Examen bactérioscopique

##### 1.1. Examen macroscopique des colonies :

L'examen macroscopique consiste à analyser la morphologie des colonies basant sur la consistance, la taille, la forme et la couleur. Par ailleurs, cet examen est suivi pour les deux milieux suivants : gélose nutritive + extrait de la betterave



rouge et gélose nutritive seule ; car l'aspect des colonies peut varier d'un milieu à un autre.

### 1.2. Examen à l'état frais

Cet examen a pour but de déterminer la mobilité, l'agencement (le regroupement) et la morphologie des souches bactériennes.

### 1.3. Coloration de Gram

Elle permet de mettre en évidence deux sortes de bactéries en fonction de leurs colorations (les propriétés de la paroi bactérienne des bactéries)

### 2<sup>ème</sup> étape Recherche du type respiratoire

Le but de ce test est de savoir si la bactérie est aérobie stricte, anaérobie stricte ou aérobie anaérobie facultative. Le réactif utilisé est la viande de foie VF.

### 3<sup>ème</sup> étape Enzymes respiratoires

#### 3.1. Oxydase

En utilisant les disques oxydase, nous déterminons par le biais de ce test, si la bactérie possède l'enzyme oxydase.

#### 3.2. Catalase

L'utilisation de l'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) dans ce test rapide permet de mettre en évidence le pouvoir de la bactérie à utiliser l'oxygène combiné dans cet oxydant ; ce pouvoir s'exprime par la formation des bulles d'air ; alors nous disons qu'elle respire.

### 4<sup>ème</sup> étape Galerie biochimique

Afin d'identifier les microorganismes (nommer les bactéries), une série de tests permet de reconnaître les caractères biochimiques des souches bactériennes à identifier. Les techniques et les principes de ces tests biochimiques (choisis en fonction de Gram, type respiratoire et enzymes respiratoire de la bactérie à identifier).

La démarche à suivre d'identification des souches bactériennes est illustrée sur la figure 3.1.

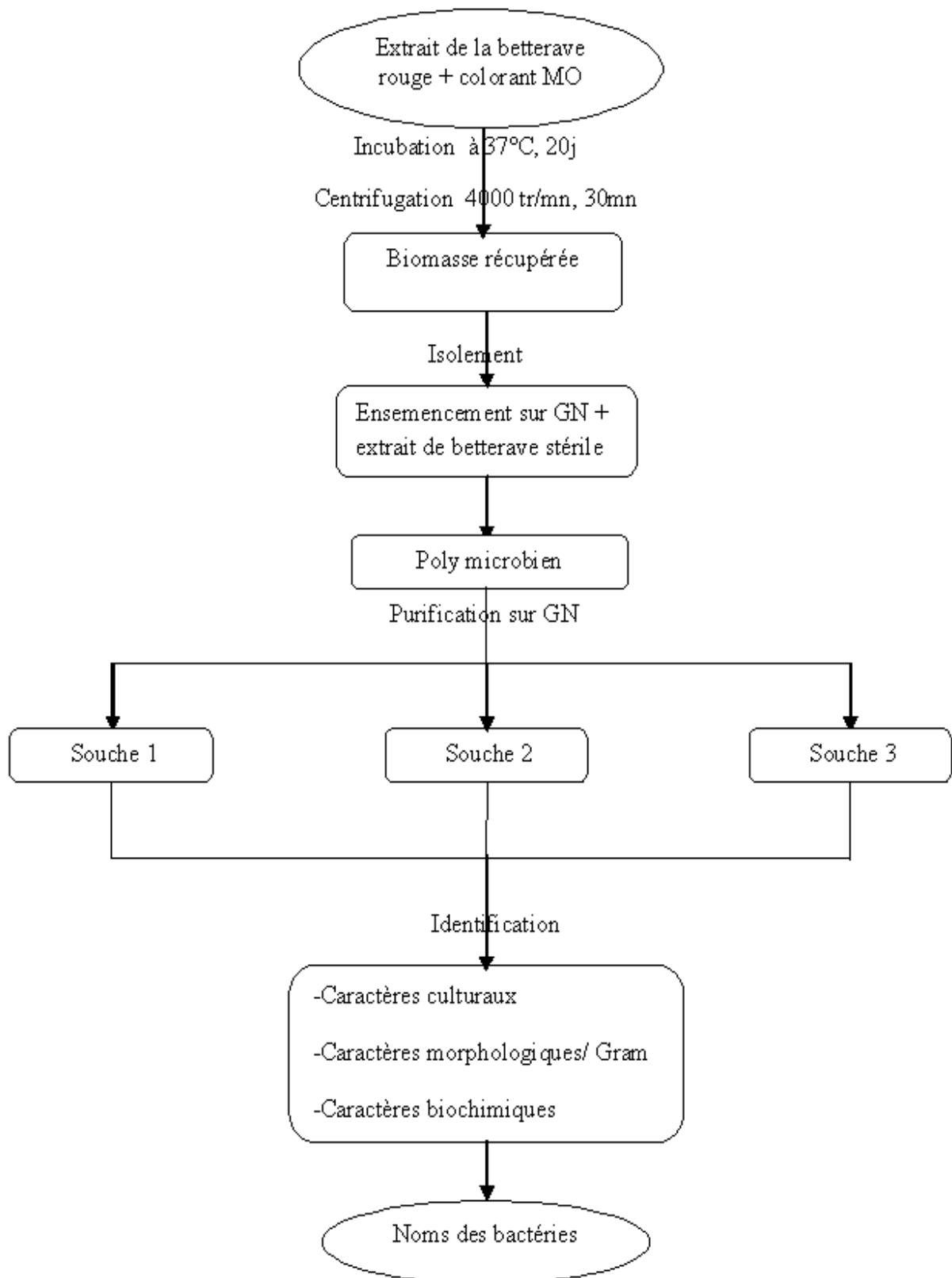


Figure 3.1: procédure d'identification des souches bactériennes



### 3.5. Méthode des Plans d'expérience

#### 3.5.1. Insuffisances des méthodes expérimentales classiques

Lorsque un expérimentateur s'intéresse à une grandeur qui dépend d'un grand nombre de variables, il peut la mettre sous une forme mathématique, où la grandeur d'intérêt  $y$  (appelée aussi réponse) est une fonction de plusieurs variables  $x_i$  (appelée aussi facteur):  $y = f(x_1, x_2, \dots, x_k)$ .

Si on considère une fonction à 4 variables et on veut étudier leurs influence sur la réponse ( $y$ ), on fixe le niveau des variables 2, 3, 4 et l'on mesure la réponse  $y$  en fonction de plusieurs valeurs de la variable 1. A la fin de l'expérimentation sur cette première variable, on peut tracer une courbe représentative de  $y = f(x)$ . Si l'on veut étudier le cas de toutes les variables, il faut recommencer pour chacune d'entre elles. Si on décide de prendre six points expérimentaux par variable, il faut exécuter  $6^4 = 1296$  expériences. Ce chiffre représente un travail gigantesque qui dépasse les limites du faisable. L'expérimentateur doit réduire le nombre des essais et il n'a à sa disposition, que deux attitudes possibles :

Diminuer le nombre de points expérimentaux : Pour quatre points, il faut faire  $4^4 = 256$  expériences. Ce qui est encore beaucoup et dépasse souvent les budgets disponibles ou bien le temps que l'on peut consacrer à l'étude. Souvent, l'expérimentateur doit se résoudre à diminuer le nombre de variables. Cette méthode d'opérer laisse toujours un sentiment d'insatisfaction. L'abondance de certaines variables laisse toujours planer un doute sur la valeur des résultats et l'expérimentateur est obligé de s'entourer de mille précautions lorsqu'il présente des conclusions qui sont, forcément incomplètes.

Ainsi les méthodes expérimentales classiques ne permettent pas de rendre compte d'une façon globale et simultanée des effets et influences des paramètres sur la réponse choisie. Ces méthodes ne permettent pas non plus d'élaborer un modèle de représentation qui donnerait la corrélation entre la sortie et les entrées du système ou procédé considéré, la figure 3.2 montre les entrées et sorties du réacteur en question.

La différence capitale avec la méthode classique tient au fait que l'on fait varier les niveaux de tous les variables (appelées facteurs) à la fois à chaque expérience, mais de manière programmée et raisonnée. Le fait de faire varier tous les facteurs à la fois n'est pas un inconvénient mais au contraire, il offre de nombreux avantages parmi lesquels :

- Diminution du nombre des essais
- Augmentation de la précision sur les résultats
- Augmentation du nombre des facteurs étudiés.
- Détection des interactions entre facteurs.
- Détection des optimaux
- Optimisation des résultats
- Modélisation des résultats

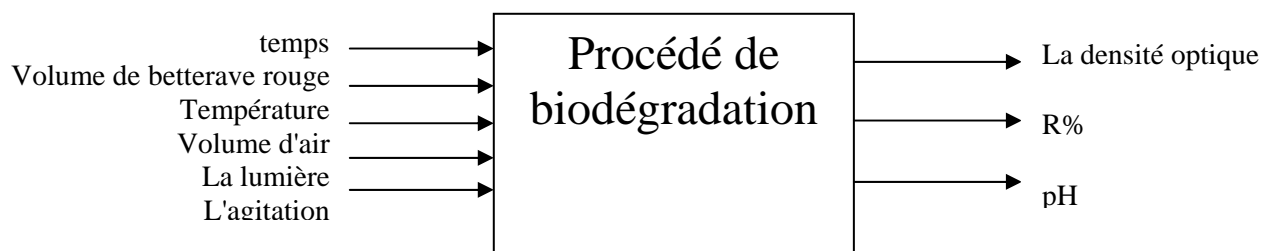


Figure 3.2: Schéma de représentation d'entrées/sorties

### 3.5.2. Plans factoriels $2^k$

Ces plans peuvent être utilisés pour la modélisation, cependant deux niveaux par facteurs sont possibles. Ceci restreint leur utilisation pour des modèles du premier degré avec interactions. L'intérêt de ces plans est de faciliter le développement séquentiel d'une étude.

- Matrice des expériences

Le tableau rassemblant les éléments de l'expérimentation comprend en lignes les conditions expérimentales de chaque essai et en colonne les niveaux adoptés pour chaque facteur, et ceci suivant un certain ordre des essais. On attribue la valeur  $-1$  au niveau bas d'un facteur et la valeur  $+1$  au niveau haut après changement des variables du procédé en variables centrées réduites, i.e. centrées pour indiquer le changement d'origine et réduites pour signaler la

nouvelle unité. L'intérêt des variables centrées réduites est de pouvoir présenter les plans d'expériences de la même manière quels que soient les domaines d'étude retenus et quels que soient les facteurs et leurs unités.

- Modélisation

Le tableau des effets est une représentation synthétique des résultats obtenus. Il permet donc la formulation et l'interprétation du plan factoriel. L'étape suivante correspond à la modélisation mathématique proprement dite, dans le domaine étudié sous forme de modèles polynomiaux ( $Y = a X$ ) des variations des réponses en fonction des entrées du procédé. Le calcul des coefficients du modèle se fait à l'aide de la relation suivante:

$$\hat{a} = (X^t X)^{-1} X^t y$$

Les modèles issus de la mise en œuvre d'un plan factoriel complet à deux niveaux sont du premier degré. Pour un modèle du premier degré avec interaction, on suppose que la réponse est une fonction du premier degré des coordonnées ( $x_i$ ) des points expérimentaux. Dans le cas de deux facteurs, le modèle s'écrit :

$$y = a_0 + a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_{12} X_1 X_2$$

où  $y$  est la grandeur qui intéresse l'expérimentateur, la réponse.

$X_1$  et  $x_2$  sont les coordonnées des points expérimentaux exprimées en variables centrées réduites ;

$a_0, a_1, a_2$  sont des constantes.

La figure 3.3 illustre le domaine expérimental qui correspond à un plan factoriel complet de type  $2^3$  à trois facteurs. Il prend la forme d'un cube à face centré, avec 8 sommets (8ssais)

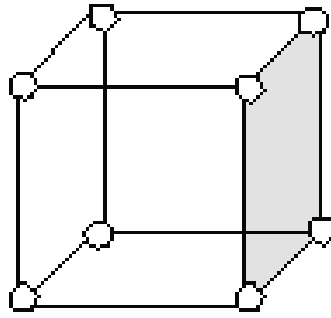


Figure 3.3: illustration du domaine expérimental pour un plan factoriel  $2^3$  [79].

L'objectif de l'expérimentateur est d'aboutir à un modèle bien ajusté, pour cela il faut évaluer la qualité du modèle obtenu. Il existe des outils adaptés aux espaces à  $n$  dimensions, parmi ces outils il y a les méthodes graphiques, l'analyse de la variance, la recherche globale de l'ajustement du modèle et l'analyse des résidus.

### 3.5.3. Evaluation de la qualité du modèle mathématique

L'évaluation de la qualité du modèle mathématique postulée permet de savoir si ce modèle résume bien les résultats des essais du plan d'expériences. On peut juger de cette qualité à l'aide d'outils statistiques. Les quatre techniques les plus utilisées pour effectuer cette évaluation sont :

#### 3.5.3.1. Examen graphique des résultats

Sur un examen graphique, on indique les réponses enregistrées en fonction des différentes valeurs d'un facteur. On trace également la droite de régression qui est calculée avec le modèle. Il est possible ainsi de distinguer les divergences entre les valeurs expérimentales et les valeurs calculées. Un autre moyen couramment utilisé est la comparaison entre la variance d'ajustement (lack of fit) et la variance expérimentale (pure error).

Les différents écarts sont définis ci-après :

Erreur expérimentale (erreur pure) : Elle représente l'écart entre une réponse mesurée et la moyenne des réponses mesurée au même point expérimental, elle est noté  $\sigma_{pe}$  :

$$\sigma_{pe} = y_{i,j} - \bar{y}_i$$

Ecart d'ajustement : C'est l'écart entre la moyenne des réponses  $\bar{y}_i$ , pour un même point expérimental, et la réponse prédite  $\hat{y}$ , pour ce même point expérimental déterminé avec le modèle postulé :

$$\sigma_{lof} = \bar{y}_i - \hat{y}$$

Résidu  $e_i$  : C'est l'écart entre la réponse mesurée et la réponse prédite, il s'agit donc de la somme des deux écarts précédents: manque d'ajustement et erreur expérimentale :

$$e = (y_{i,j} - \bar{y}_i) + (\bar{y}_i - \hat{y}_i)$$

D'une manière plus générale, on peut l'écrire sous la forme suivante :

$$e_i = \sigma_y + \sigma_{lof}$$

### 3.5.3.2. L'analyse des variances

Cette analyse est destinée à comparer trois grandeurs (l'erreur expérimentale, l'erreur d'ajustement et l'erreur globale ou résidus). L'analyse des variances permet de savoir si l'erreur d'ajustement est supérieure ou égale à l'erreur expérimentale. Par définition la variance de la population est obtenue en divisant la somme des carrés des écarts par le nombre de degrés de liberté de l'échantillon.

- Variance de l'erreur expérimentale

Pour un point donné, on calcule la moyenne des réponses. La différence entre une réponse mesurée et la moyenne des réponses mesurées au même point expérimental est un écart qui correspond à l'écart expérimental. On peut l'appeler également erreur expérimentale. La variance est calculée en divisant la somme des carrés des écarts expérimentaux par le nombre de degrés de liberté.



- Variance totale

La variance totale correspond à la variance des résidus. On procède au calcul de l'écart entre la réponse mesurée et la réponse prédite issue du modèle obtenu. La variance des résidus est égale à la somme des carrés des résidus divisée par le nombre de degré de liberté.

- Variance d'ajustement

Pour une réponse donnée, l'écart d'ajustement est la différence entre la moyenne des réponses mesurées en ce point et la réponse prédite au même point. La variance d'ajustement est la somme des carrés des écarts d'ajustement divisée par le nombre de degrés de liberté. La qualité du modèle sera d'autant meilleure que l'erreur d'ajustement sera petite. On vise une erreur d'ajustement de l'ordre de grandeur de l'erreur expérimentale. La comparaison des termes  $\sigma_{\text{lof}}$  et  $\sigma_{\text{pe}}^*(F)^{1/2}$ , permet de tirer des conclusions. Si  $\sigma_{\text{lof}} < \sigma_{\text{pe}}^*(F)^{1/2}$  le modèle est considéré comme ajusté.

### 3.5.3.3. Les tests statistiques

Ces tests utilisent les résultats de l'analyse des variances, ils permettent de calculer, sous certaines hypothèses, deux statistiques très répandues :

1. Rapport  $R^2$  : Le rapport de la partie des résultats expliqués par le modèle par rapport à la totalité de ce qu'il devra expliquer autrement dit l'ensemble des réponses mesurées.

$$R^2 = \frac{\hat{y}'\hat{y} - \bar{y}'\bar{y}}{y'y - \bar{y}'\bar{y}}$$

On recherche un rapport  $R^2$  le plus proche possible de l'unité. Certains auteurs ont introduit le  $R^2$  ajusté. Ce dernier est donné par la relation suivante :

$$R_A^2 = 1 - \frac{\frac{e'e}{v_e}}{\frac{y'y - \bar{y}'\bar{y}}{v_m}}$$

Le numérateur représente la somme des carrés des résidus divisée par le nombre de degrés de liberté des résidus. Le dénominateur représente la somme des carrés des réponses mesurées corrigée de la moyenne et divisée par le nombre de degrés de liberté de cette quantité.

Le test de Fisher correspond à la probabilité que la variance d'ajustement soit négligeable devant la variance expérimentale. On recherche un F de Fisher le plus faible possible, ce qui correspond à une forte probabilité que le modèle soit bien ajusté.

La méthode de Fisher suppose que les erreurs sur les réponses mesurées soient distribuées selon la loi de Laplace-Gauss. Le Fisher est donnée par la relation suivante

$$F = \frac{\frac{\text{somme des carrés des écarts d'ajustements}}{\text{nombre de degrés de liberté des écarts d'ajustement}}}{\frac{\text{somme des carrés des écarts expérimentaux}}{\text{nombre de degrés de liberté des écarts expérimentaux}}}$$

L'ajustement du modèle est également recherché en calculant le rapport  $Q^2$  qui représente le pourcentage de variation de la réponse prédite par le modèle, la valeur convenable de  $Q^2$  doit être la plus proche possible de l'unité. La validité du modèle doit être supérieure à 25% et la reproductibilité proche de 1.

#### 3.5.3.4. L'analyse des résidus

Un résidu est la différence entre la réponse mesurée et la réponse calculée en un point expérimental. L'analyse des résidus consiste à comparer les résidus en fonction des réponses prédites ou en fonction d'autres grandeurs. On peut ainsi détecter des relations entre les résidus portés en ordonnées et la grandeur portée en abscisses. On doit arriver à des diagrammes ne laissant apparaître aucune relation ou tendance entre les grandeurs étudiées.

Si l'analyse de la qualité du modèle montre que celui-ci est bon, on pourra passer à la validation du modèle. Après l'étape de validation, le modèle sera

alors utilisé pour tracer les courbes isoréponses, et être utilisé pour faire des prévisions dans le domaine d'étude.

Si l'analyse de la qualité du modèle montre que celui-ci n'est pas bon, il faut penser à introduire les interactions d'ordre supérieures, ou faire le diagnostic de courbure qui montre que des termes carrés manquent au modèle. Dans ce cas, il est nécessaire de faire des essais supplémentaires, voire changer carrément de plan, ceci permet le passage d'un modèle du premier degré à un modèle du second degré.

#### 3.5.4. Mise en œuvre de la méthode des plans d'expériences

La méthodologie de conduite des recherches et d'organisation des essais que nous avons décrite dans ce travail apporte souplesse, précision sûreté et gain de temps. Avant de commencer les expériences, il y a lieu de lister tous les facteurs pouvant intervenir sur le phénomène étudié. Le choix des niveaux de chaque facteur sera également examiné. Le choix des réponses est une étape capitale, la réponse sélectionnée doit permettre de répondre sans ambiguïté à la question posée. Le choix du plan sera guidé par la discussion de tous les points précédents.

Les facteurs influents qui représentent les paramètres d'un colorant, à partir de l'ajout de betterave sont nombreux on peut citer :

- |                                   |               |
|-----------------------------------|---------------|
| -temps                            | -Volume d'air |
| -Volume de l'extrait de betterave | -Lumière      |
| -Température                      | -Agitation    |
| -Couche bactérienne.              |               |

Dans notre étude nous retiendrons les facteurs les plus importants.

L'analyse des données expérimentales, qui est une étape importante, est effectuée en utilisant l'analyse des variances et la méthode de régression multilinéaire (MLR). Cette dernière est employée pour adapter les modèles empiriques aux réponses. Cette façon de procéder permet de distinguer les

facteurs influents par rapport à la réponse choisie et d'évaluer les modèles obtenus. Une fois l'évaluation du modèle terminée, des remèdes itératifs peuvent être appliqués pour corriger éventuellement l'insuffisance du modèle. La démarche à suivre de l'analyse est illustrée sur la figure 3.4.

Le premier objectif de l'étude est la mise en évidence de la corrélation entre les paramètres de la biodégradation. Le deuxième objectif de cette étude est de déduire les relations (ou modèles) entre les paramètres d'entrée du réacteur ( $R_v$ ,  $T=^\circ$ ,  $R_{air}...$ ) et les propriétés les paramètres de sortie (DO, R%, pH)

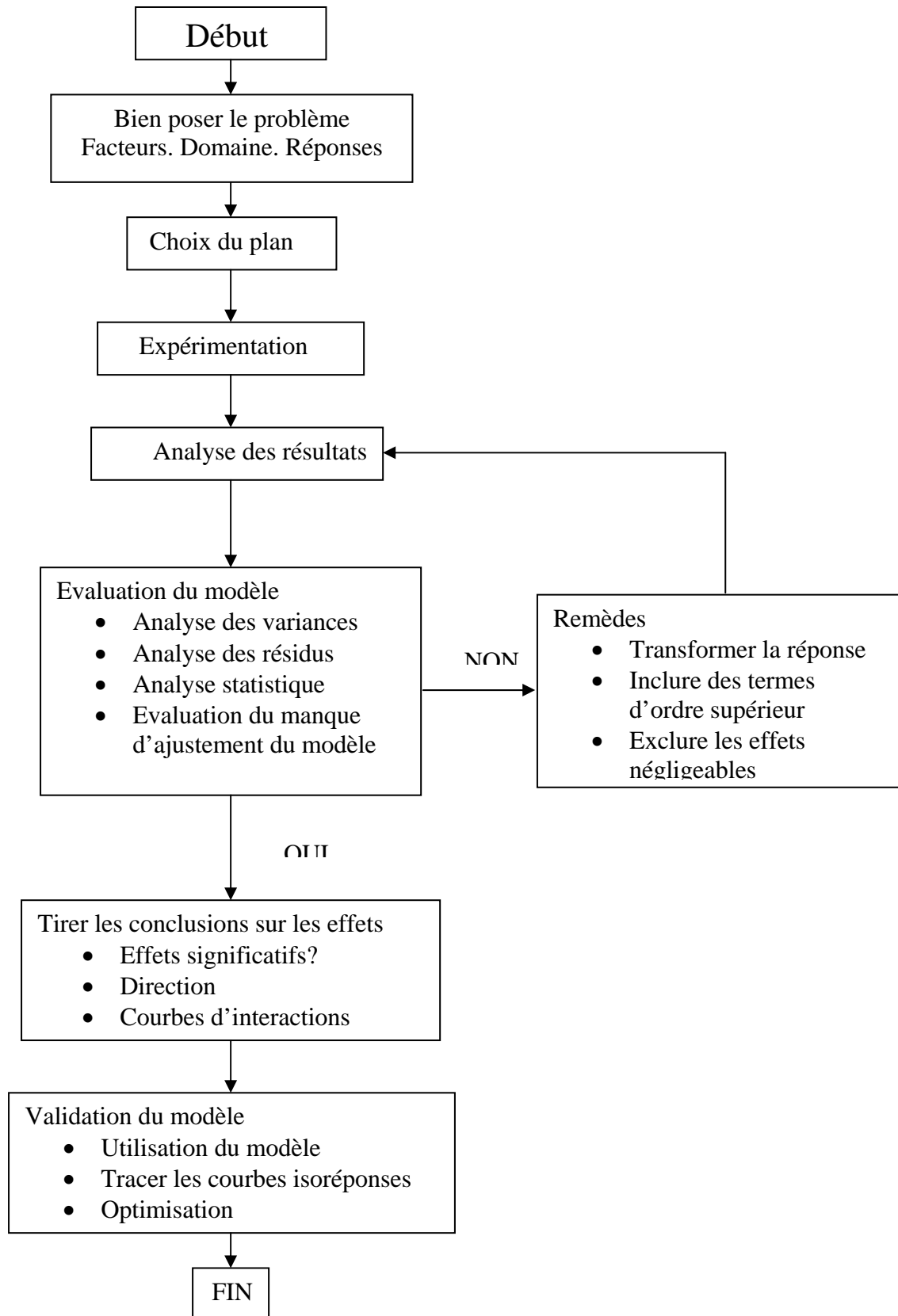


Figure 3.4 : Procédure d'analyse des réponses [80].

## CHAPITRE 4

### RESULTATS EXPERIMENTAUX ET DISCUSSIONS

#### 4.1. Echantillons utilisés

Nous avons utilisé pour la mise au point de la biodégradation les quatre colorants (Jaune célliton G, bleu cibacette BF, vert, rouge sirius 4B), le rejet de la station de textile SOTRADAL située à Boufarik et l'extrait de betterave rouge. On note les concentrations et les différentes caractéristiques de ces échantillons.

Tableau 4.1: Caractéristiques générales de colorants avant le test de biodégradation.

	Colorant Jaune célliton G	Colorant Bleu cibacetteBF	Colorant Vert	Colorant Rouge sirius 4B	Rejet	Colorant naturelle (betterave rouge)
Cc [g/l]	0.05	0.04	0.09	0.09	--	0.169
pH	6.62	6.29	6.53	6.60	8.28	6.05
$\lambda$ (nm)	340	628	588	537	630	535
Abs	0.950	0.517	0.695	0.907	1.456	0.883

Lors de mesures spectrophotométriques, une décoloration est observée. Cette décoloration résulte de la dégradation des colorants par le poly microbienne de la betterave rouge.

Les figures 4.1 et 4.2 indiquent la différence entre les échantillons avant et après la biodégradation.



Figure 4.1 : les échantillons des colorants, du rejet et de la betterave rouge avant la biodégradation.



Figure 4.2 : les échantillons des colorants, du rejet et de la betterave rouge après la biodégradation.

#### 4.2. Test de biodégradation

A fin de valider la méthode de mesure de la biodégradation des colorants et du rejet, nous procédons à une centrifugation préalable de l'échantillon (3000 tr/min pendant 20 min), cela nous permet d'éliminer non seulement la phase particulière présenté dans la solution, mais aussi par l'élimination d'une grande quantité de micro-organismes et de stabiliser l'échantillon. Nous obtenons donc un

fractionnement de l'échantillon en 02 phases, l'une surnagent, l'autre particulaire et colloïdale.

Ces échantillons sont soumis à un test de biodégradation. Le test est fondé sur la mesure de l'absorbance et le pH durant le test. Les taux de dégradation et le pH de différents colorants sont donnés dans le tableau 4.2 et comparés à des valeurs obtenues par la betterave rouge. Les mêmes conditions opératoires sont maintenues pour tous les échantillons (température, volume de betterave rouge ajouté ( $R_v=1$ ) et volume d'air ( $R_{air}=1.5$ )).

Tableau 4.2: les taux de dégradation et le pH des colorants et de betterave rouge.

temps (jours)	Colorant Jaune célliton G		Colorant Bleu cibacette BF		Colorant Vert		Colorant Rouge sirius 4B		Colorant naturelle de betterave rouge	
	R%	pH	R%	pH	R%	pH	R%	pH	R%	pH
1	20.52	6.33	28.82	4.66	25.32	5.93	22.49	4.54	45.18	4.63
2	40.31	6.36	41.39	6.11	35.95	6.32	42.88	6.14	60.92	3.83
3	48.63	6.41	50.29	6.33	45.46	6.56	53.25	6.67	69.87	3.67
4	56.00	6.51	57.25	6.37	53.23	6.74	59.09	6.86	76.67	3.57
5	59.05	6.57	61.12	6.62	55.68	6.85	64.93	6.96	81.54	5.22
8	64.73	6.59	64.99	6.82	61.72	6.86	69.79	7.05	90.71	5.35
9	66.94	6.60	67.89	6.94	65.75	6.90	72.54	7.13	91.50	6.24
10	71.89	6.75	74.85	6.97	72.08	7.10	77.61	7.2	93.54	6.56

Les résultats expérimentaux sont exprimés en pourcentage de réduction d'absorbance qui est défini comme suite:

$$R(\%) = \frac{(Abs_i - Abs_f)}{Abs_i} * 100$$

$Abs_i$ : absorbance initiale avant dégradation (témoin).

$Abs_f$ : absorbance finale après dégradation.

#### a) Taux de dégradation

La figure 4.3 illustre la variation du taux de dégradation.



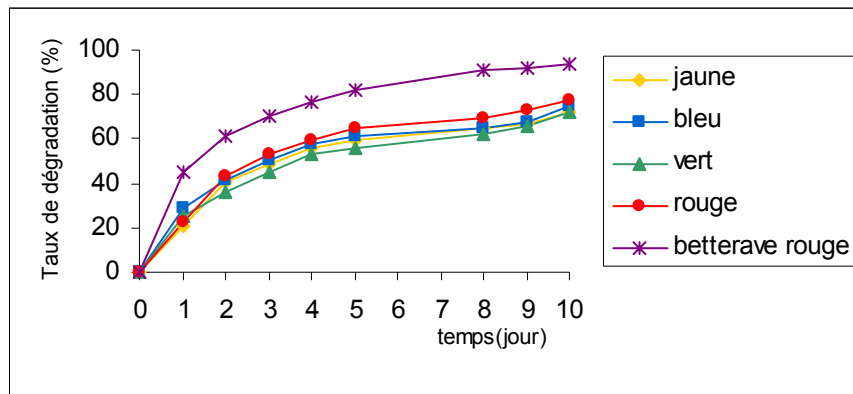


Figure 4.3:Variation du taux de dégradation des colorants en fonction de temps.

### b) pH

La figure 5.4 illustre la variation du pH de la biodégradation des colorants

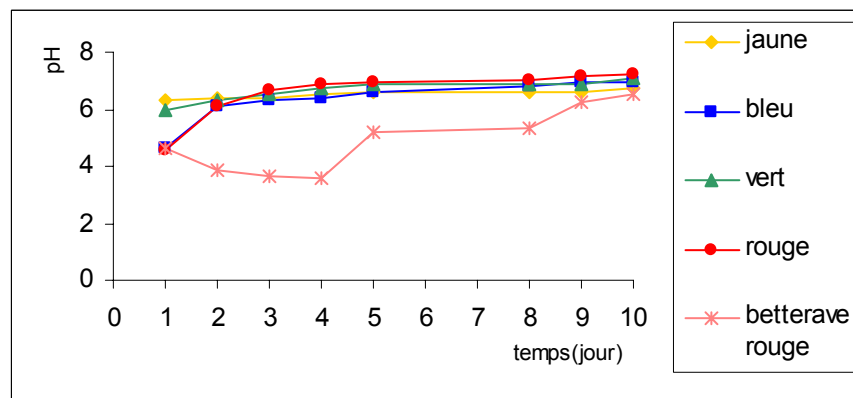


Figure 4.4:Variation du pH de la biodégradation des colorants en fonction de temps.

L'allure des courbes pour les différents colorants est sensiblement la même. Elles peuvent être décomposées en 02 parties :

Une augmentation très rapide de taux de dégradation dès les premiers jours [1<sup>er</sup> au 5<sup>eme</sup> jr], puis une évolution progressive de taux de dégradation [8<sup>eme</sup> au 10<sup>eme</sup> jr] pour atteindre le taux final près de 77.61% de colorant rouge puis le bleu, environ 74.85% et le vert environ 72.08%, en fin le jaune avec 71.89%.

Puisque les colorants sont des couleurs primaires (rouge, bleu, jaune) théoriquement on peut classer le taux de dégradation selon la longueur d'onde de maximum d'absorbance respectivement ce que nous confirmons expérimentalement, figure 4.3. On remarque aussi en premier lieu que le colorant bleu est le plus dégradé à cause de sa faible concentration 0.04 g/l. puis le colorant vert, par rapport aux colorants rouge et jaune. Car lorsque on ajoute le betterave rouge qui sa longueur d'onde  $\lambda_{\max} = 535$ . proche de celle  $\lambda_{\max}$  de colorant rouge ( $\lambda_{\max} = 537$ ). on ne constate pas de grand différence. Aussi lorsque on ajoute la betterave rouge au colorant jaune la couleur devient intense (par l'ajout de colorant rouge de bétanine) .c à d l'absorbance de colorant jaune reste grande.

Au 2<sup>ème</sup> jr lorsque la betterave rouge atteint 60% de dégradation .on remarque une augmentation très rapide des colorants azoïque rouge et jaune. Mais à partir de 3<sup>ème</sup> jr on voit que la capacité de biodégradation du colorant rouge est la plus élevée. Pour les autres colorants les concentrations sont comparables comme que le colorant bleu est plus dégradé que le jaune que le vert et cette classification reste durant la dégradation.

Globalement le taux de dégradation des 04 colorants est assez comparable mais la structure de chaque colorant permet ainsi de les différencier.

#### 4.3. Influences des différents paramètres sur la biodégradation des colorants et du rejet

De manière à obtenir une image représentative de la biodégradation des colorants et rejet, pour chaque colorant plusieurs facteurs ont été étudié. Ainsi les deux aspects de la biodégradation (l'ajout de betterave rouge et/ou l'ajout de la biomasse bactérienne) ont été considérés par la détermination des pourcentages de réduction d'absorbance.

Pour tous les colorants, les échantillons analysés ont été prélevés suivant les mêmes conditions (subi à une centrifugation avant chaque mesure, même volume de betterave rouge ajouté, même volume d'air, même température).sauf que pour le colorant méthyle orange on a étudié sa mécanisme de biodégradation.

### 4.3.1. Colorant méthyle orange

#### 4.3.1.1. Mécanisme de biodégradation

Pour mieux se rendre compte du mécanisme de biodégradation d'un colorant azoïque par le consortium issu de la betterave rouge, une solution colorante de méthyle orange de  $0,1\text{g.L}^{-1}$  à une température de  $37^{\circ}\text{C}$  a servi à l'essai de biodégradabilité.

Des mesures de l'évolution de l'absorbance dans le domaine du visible (465nm) et de l'UV (247nm) au cours du temps correspondant respectivement au méthyle orange et aux sous produits de la biodégradation ont été effectuées.

Le choix du Méthyle orange est justifié par la bonne connaissance de ce colorant et de ses produits de base. Par ailleurs, les longueurs d'onde  $\lambda_{\text{max}}$ , sont très bien connues, permettant ainsi leur contrôle par la spectrophotométrie UV-visible.

#### 4.3.1.1.1. Suivre de l'absorbance

L'évolution de l'absorbance du méthyle orange et de ses sous produits en fonction du temps pour une température de  $37^{\circ}\text{C}$  est décrite par la figure 5.5.

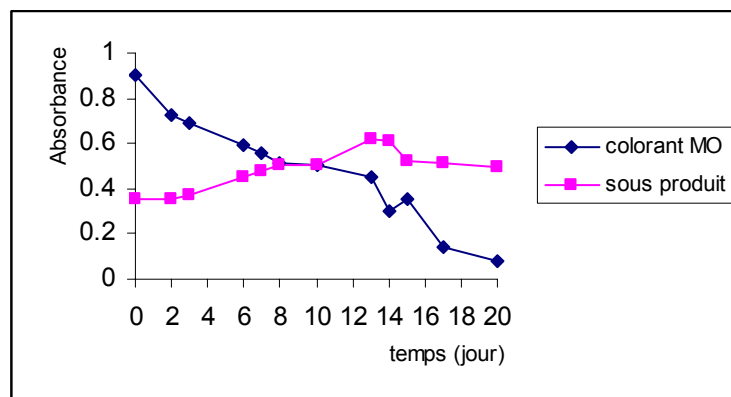


Figure 4.5 : Evolution de l'absorbance de colorant et de sous produits au cours de la biodégradation du méthyle orange par l'extrait de betterave rouge à  $37^{\circ}\text{C}$

L'absorbance des sous produits de dégradation dans une première phase augmente au cours du temps pour atteindre une valeur maximale de 0,63. Par

ailleurs, il apparaît une deuxième phase correspondant à la biodégradation des sous produits caractérisée par une diminution des absorbances.

Il est à noter qu'une température de 37°C est très favorable à la biodégradation du méthyle orange et de ses produits de base. En effet, cette température de 37°C permet d'atteindre au bout du 13<sup>ème</sup> jour la phase de dégradation des sous produits correspondant à 50% d'élimination du méthyle orange.

D'une manière abrupte, à un moment donné de la cinétique la dégradation des sous produits s'effectue d'une manière simultanée avec celle du méthyle orange.

#### 4.3.1.1.2. Suivi de pH

Afin de conforter les résultats observés, un suivi de l'évolution du pH au cours de la cinétique de biodégradation du méthyle orange pour une température de 37°C a été effectué.

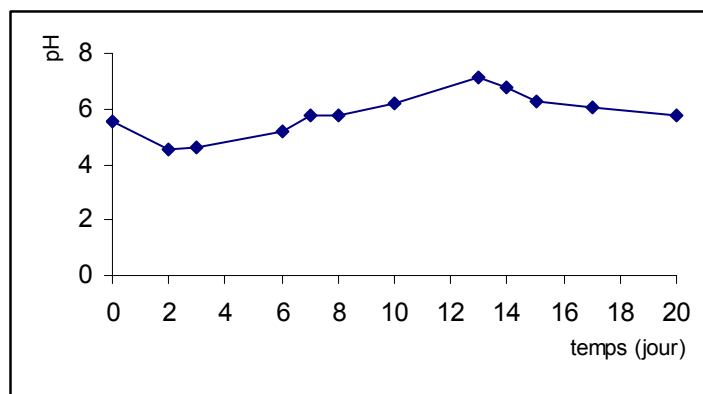


Figure 4.6 : Evolution du pH au cours de la biodégradation du méthyle orange par l'extrait de betterave rouge à 37°C.

Il apparaît nettement selon la figure 4.6, Trois phases:

Une première phase de 0 à 2 jours qui est décrites par une diminution du pH de 5,58 à 4,53 correspondant vraisemblablement à la biodégradation de la

fraction du colorant naturel de la betterave rouge présente dans le mélange, suivie d'une deuxième phase du 3 au 13<sup>ème</sup> jours, caractérisée par une augmentation progressive du pH allant de 4,53 à 7,17 correspondant à l'accumulation des sous produits du colorant synthétique utilisé dans la solution. En effet, les produits de biodégradation du méthyle orange sont de caractère basique (N-N-diméthyle aniline).

Une dernière phase à partir du 13<sup>ème</sup> jour, caractérisée par une diminution du pH de 7,17 à 5,74 justifiant ainsi la diminution et la disparition de la teneur en sous produits de dégradation.

### Mécanisme de biodégradation

En se basant sur l'ensemble des résultats observés et l'état de l'art effectué, le mécanisme de biodégradation du méthyle orange par le consortium présent dans l'extrait de la betterave rouge, peut être décrit par une réduction enzymatique du chromophore du colorant azoïque. Cette réduction peut être illustrée par la réaction suivante :

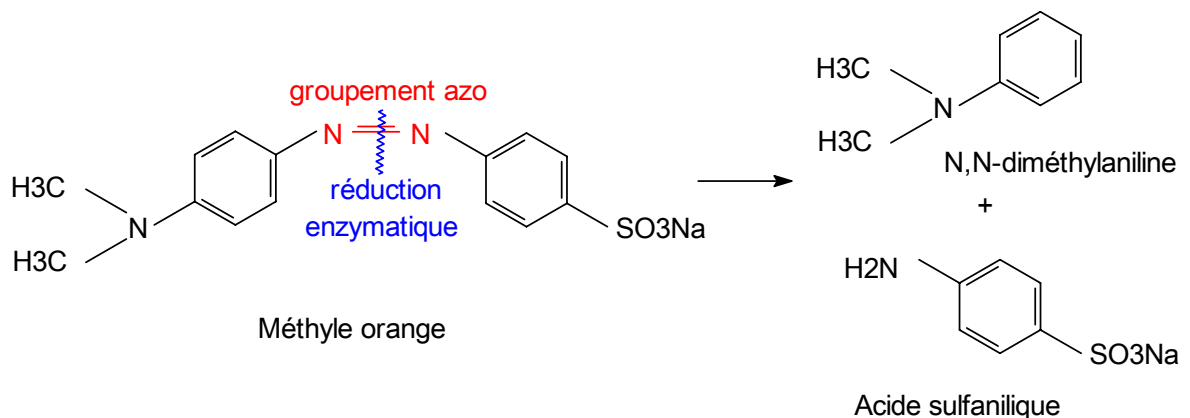


Figure 4.7 : Mécanisme de biodégradation du méthyle orange.

#### 4.3.1.2. Test de la minéralisation

Nous avons intérêt toujours à réduire par traitement les impacts des effluents polluants sur l'environnement ; mais parfois nous assistons à une aggravation du problème de pollution par une transformation du danger d'un état visible à l'œil nu à un état invisible plus nocif. En effet, la décoloration d'un effluent contaminé par un colorant n'implique pas toujours l'élimination du danger.

Dans ce contexte, et afin d'éprouver le pouvoir de consortium étudié à minéraliser les colorants azoïques, nous avons effectué les essais suivants qui se basent sur le suivi de la dégradation des produits de base du méthyle orange : N,N-diméthylaniline et acide sulfanilique. En parallèle, une étude est faite afin de voir si une biomasse bactérienne déjà adaptée à un milieu contenant ces deux produits accélère leur élimination. La biomasse testée est celle résultante des essais de dégradation du méthyle orange.

A partir des solutions mères des produits de base ( $1\text{g.L}^{-1}$ ), deux volumes de 5mL sont mélangés dans des béchers avec soit de l'extrait soit de la biomasse atteignant les concentrations de  $0,1\text{g.L}^{-1}$ . Les mélanges sont répartis sur des tubes à essai. Les tubes sont bien fermés et incubés dans le bain à  $37^{\circ}\text{C}$ . Les absorbances sont mesurées à 245 et à 248nm. Les résultats de la biodégradabilité de N,N-diméthylaniline et de l'acide sulfanilique par l'extrait de betterave et la biomasse adaptée est décrit dans la figure 4.8.

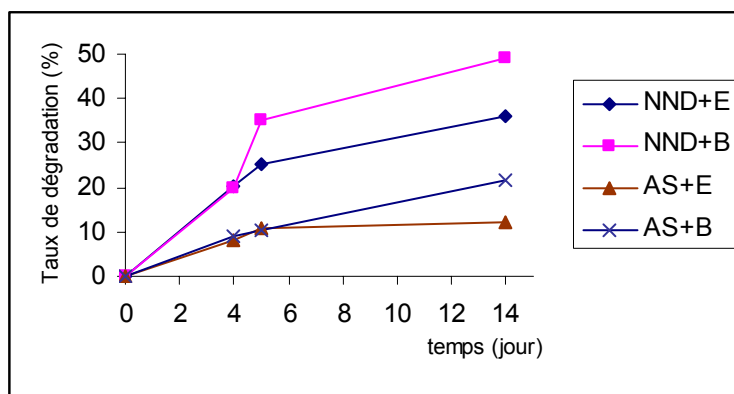


Figure 4.8 : Biodégradabilité de N,N-diméthylaniline et de l'acide sulfanilique par l'extrait de betterave rouge et par la biomasse.

La figure 4.8 révèle d'une part, que la biomasse est nettement plus efficace que le consortium de l'extrait de betterave, et d'autre part que le N,N-diméthylaniline est plus facilement assimilable par la biomasse que l'acide sulfanilique dans les mêmes conditions de température. Car le taux d'élimination de N,N-diméthylaniline en présence de la biomasse adaptée atteint 50%. Alors que pour l'acide sulfanilique donne seulement 22%.

### 4.3.2. Colorant Rouge sirius 4B

La figure 4.9 illustre la variation du taux de dégradation et le pH du colorant rouge

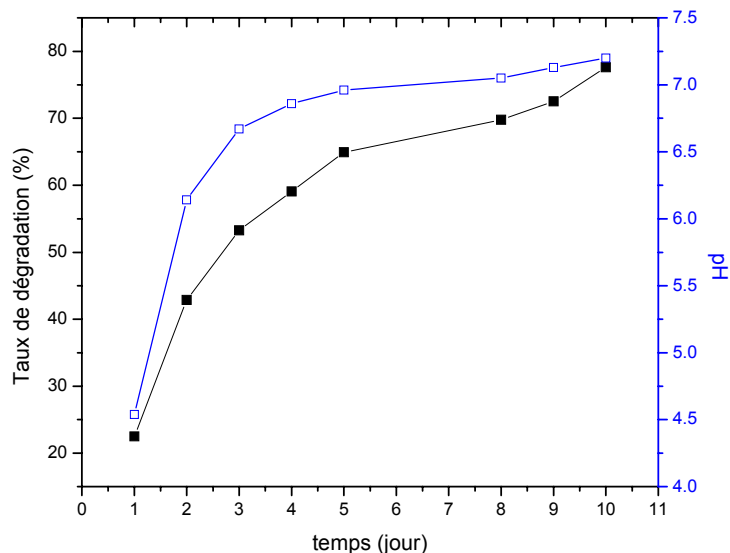


Figure 4.9: Variation du taux de dégradation et le pH de colorant rouge en fonction de temps

#### a) Taux de dégradation

Dés les premiers jours une nette augmentation du taux de dégradation a été observée pour le colorant rouge à cause de sa structure (colorant azoïque) qui le même comportement du bétanine de betterave rouge, malgré que le colorant est stable ; la teneur de ce dernier en azote plus le groupement sulfonique favorise les bonnes conditions du biodégradation.

#### b) pH

D'après les résultats obtenus, le pH du Sirius varie alternativement entre 4 et 7.5

Pour chaque colorant, le colorant rouge aussi on a étudié l'influence de volume ajouté de betterave rouge, la température, la lumière et l'agitation.

#### 4.3.2.1. L'influence de $R_v$

$R_v$ : rapport des volumes (volume de betterave rouge/ volume de colorant).

Pour déterminer si  $R_v$  influence sur le taux de dégradation des essais ont été menés sur l'évidence.

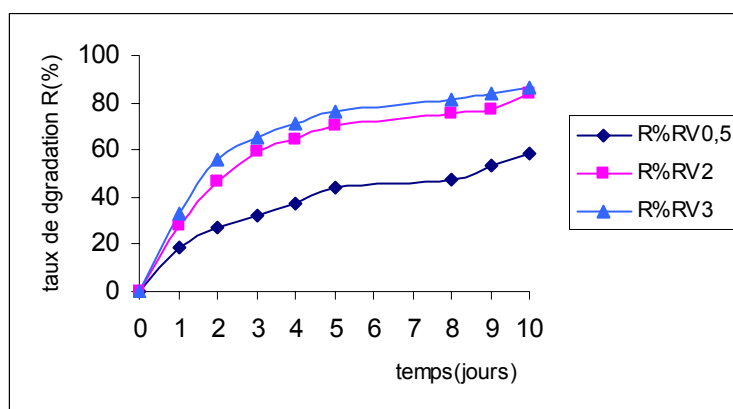


Figure 4.10: l'influence de  $R_v$  sur le taux de la dégradation de colorant rouge.

Les courbes obtenues montrent des profils typiques d'évolution du taux de la dégradation est d'autant plus rapide que la valeur de  $R_v$  est grande, Cependant  $R_v$  est grand plus l'augmentation de taux de la dégradation est rapidement, en revanche la valeur en pH est diminué.

Ainsi les résultats mettent en évidence, comme on pouvait s'y attendre, pour de forte teneur en volume de betterave rouge, une température ambiante est suffisante pour dégrader le colorant mais, n'oublions pas que ces mesures sont été faites en période d'été (mois de juin) peut être que la température influe aussi sur la réaction de la biodégradation.

#### 4.3.2.2. Influence de la température

Pour vérifier l'influence ou non de la température nous avons suivi le taux de dégradation pour les différentes températures,  $T=20^{\circ}\text{C}$ ,  $T=25^{\circ}\text{C}$ ,  $T=35^{\circ}\text{C}$ . On a trouvé des isothermes sachant qu'on prend le même  $R_v$  ( $R_v=1$ ).

La figure 4.11 illustre la variation du taux de dégradation de colorant rouge en fonction de temps et de température.



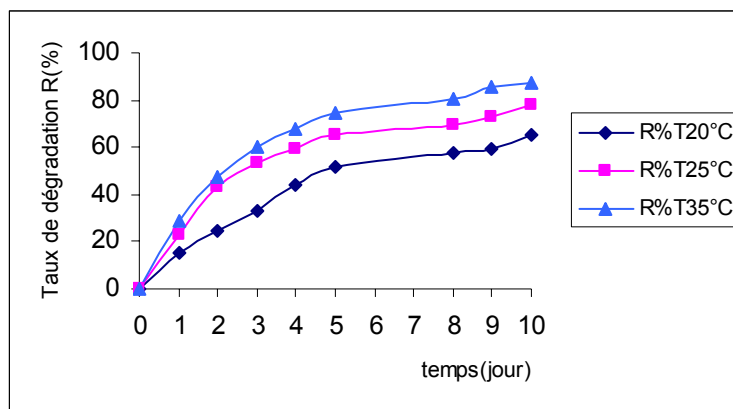


Figure 4.11: l'influence de température sur le taux de dégradation de colorant rouge.

D'après la figure, on peut constater que pour  $T=20^{\circ}\text{C}$  le taux de dégradation du colorant rouge n'est que 65.15% alors que les meilleurs taux sont obtenus pour  $T=35^{\circ}\text{C}$  avec 87%. Ces résultats confirment que l'efficacité de la biodégradation de colorant rouge dépend de la température. En effet, la formation de la couche bactérienne est plus rapide ce qui explique la forte variation du pH.

#### 4.3.2.3. Influence de la lumière

Un suivi de taux de dégradation a également été réalisé avec et sans lumière après centrifugation. Les pourcentages de taux de la dégradation avec et sans lumière sont présentés la figure 4.12.

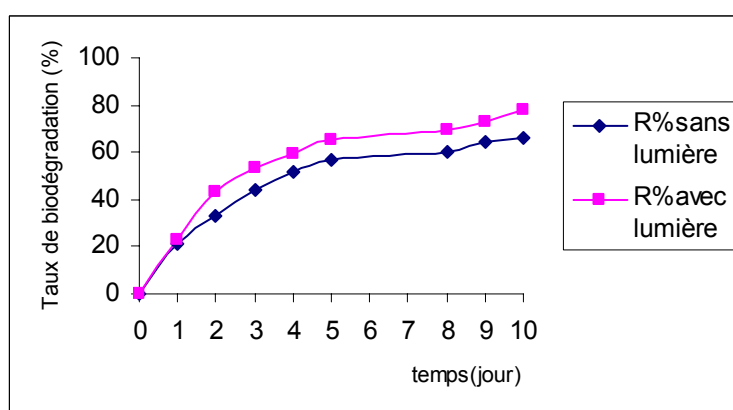


Figure 4.12: l'effet de la lumière sur le taux de dégradation de colorant rouge.

L'allure des courbes d'avec et sans lumière est identique. On remarque que malgré que l'allure des courbes soit identique le taux de dégradation en présence de la lumière est meilleur.

#### 4.3.2.4. Influence d'agitation + température

Cette étape a consisté à vérifier l'influence du couple agitation/température. On prend même  $R_v$  ( $R_v=1$ ). et pour faire mieux la comparaison. Trois essais ont été réalisés:

\*sans agitation en température ambiante

\*avec agitation en température ambiante

\*avec agitation en température fixe=25°C.

Les courbes de taux de dégradation relatives à ces trois essais sont présentées en figure 4.13

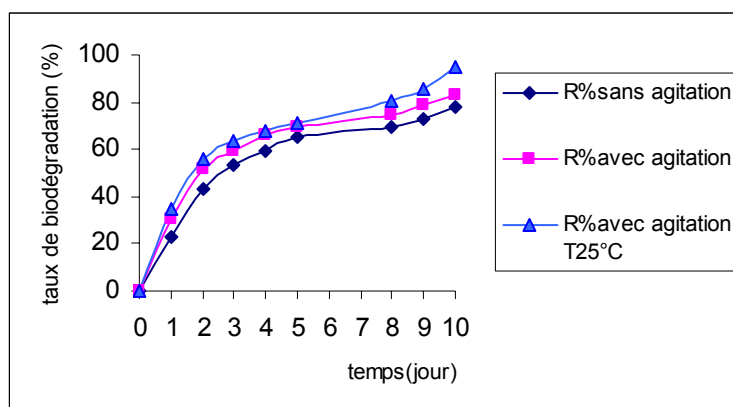


Figure 4.13: l'influence d'agitation et de température sur le taux de dégradation de colorant rouge.

Les courbes de l'agitation +température sont assez proches pour considérer que l'agitation par température n'est pas influencée sur le taux de la dégradation, malgré qu'il existe une faible amélioration avec l'agitation c à d que le taux de la dégradation est indépendante de l'agitation au moins jusqu'au 4<sup>ème</sup> jour, par contre au-delà de cette gamme c à d à partir de 5<sup>ème</sup> jour les résultats mettent en évidence, comme on peut s'y attendre, qu'à l'addition de l'agitation à la température peut être influé sur l'augmentation de taux de dégradation.

### 4.3.3. Colorant Bleu Cibacette BF

La figure 5.14 illustre la variation du taux de dégradation et le pH du colorant bleu.

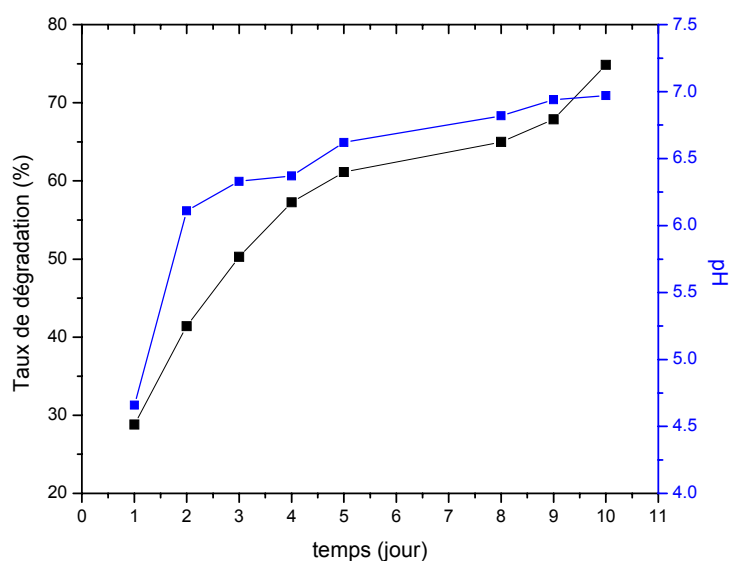


Figure 4.14: Variation du taux de dégradation et le pH de colorant bleu en fonction de temps.

On observe pour le colorant bleu une évolution en exponentiel. Une démarche et des facteurs à l'étude ont été appliquées sur le colorant bleu afin de déterminer .Si les conditions préalablement établies sont aussi réalisable avec ce colorant.

#### 4.3.3.1. L'influence de $R_v$

La figure 4.15 représente les courbes de croissance du taux de dégradation obtenues avec différentes  $R_v$ .

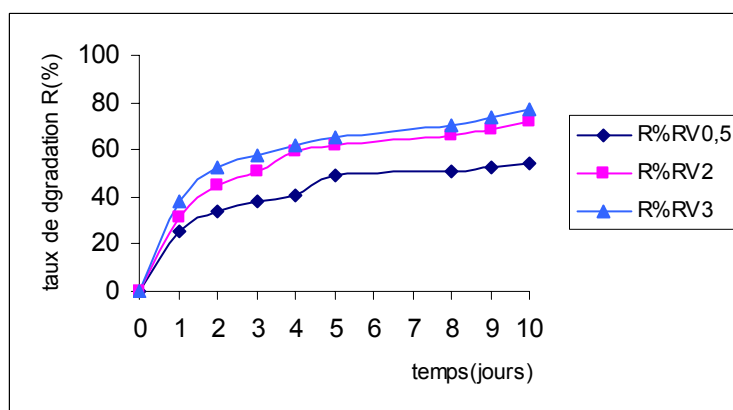


Figure 4.15: l'influence de  $R_v$  sur le taux de dégradation de colorant bleu.

Les courbes mettent en évidence que le taux de dégradation varie très fortement avec  $R_v$ ; Une augmentation de volumes de betterave rouge ajoutée se traduit par une augmentation de pourcentage en composés hydrophiles (dilution) allant pratiquement jusqu'à inversion des tendances. Ainsi, l'application des différents  $R_v$  peut totalement changer l'interprétation du fractionnement d'un échantillon, de ce fait, il faut toujours appliquer le même  $R_v$  et s'y tenir quelque soit le colorant. Cependant le choix de  $R_v$  est délicat et doit être probablement motivé par le désir de biodégradation plus ou moins une certaine autre condition peut influencer. La concentration de colorant bleu influe sur l'augmentation rapide de taux de dégradation.

#### 4.3.3.2. Influence de la température

La figure 4.16 rapporte les taux de dégradation de colorant bleu déterminés respectivement pour les températures  $T=20^\circ\text{C}$ ,  $T=25^\circ\text{C}$  et  $T=35^\circ\text{C}$ .

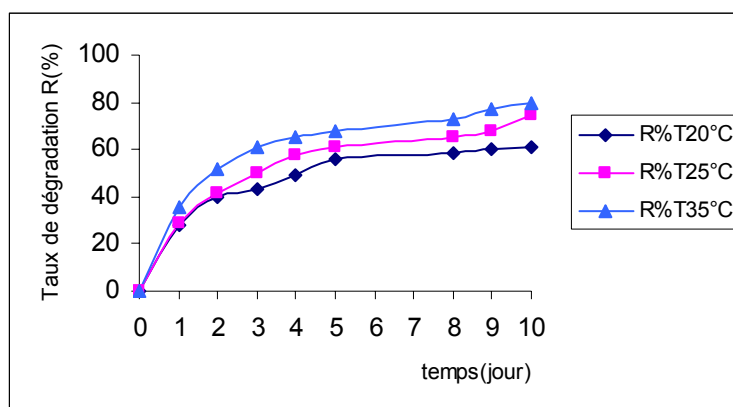


Figure 4.16: l'effet de température sur le taux de dégradation de colorant bleu.

L'allure des courbes de température relative à  $T=20^\circ\text{C}$  apparaît proche de celle de la  $T=25^\circ\text{C}$ , néanmoins les taux de dégradation sont quelque peu différents ce qui traduit une influence voisine mais distincte.

#### 4.3.3.3. Influence de la lumière

La figure 4.17 rapporte le taux de dégradation de colorant bleu avec et sans lumière.

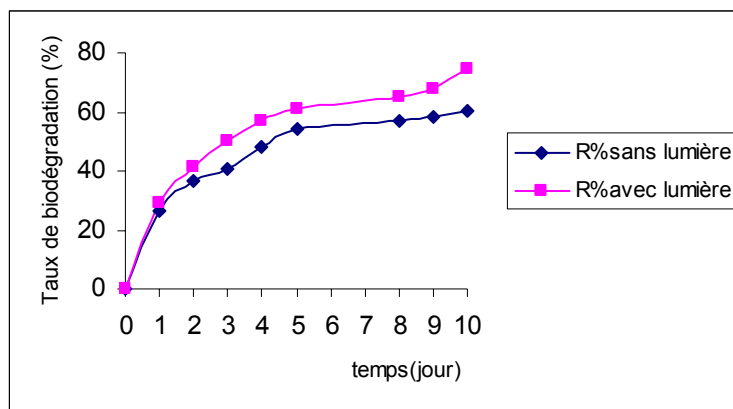


Figure 4.17: l'effet de la lumière sur le taux de dégradation de colorant bleu.

La courbe de sans lumière obtenu pour le colorant bleu est l'allure similaire à celle d'avec lumière, on remarque que la présence de la lumière améliore le taux de dégradation de colorant bleu.

#### 4.3.3.4. Influence d'agitation + température

La comparaison des deux conditions (avec et sans agitation), figure 4.18 laisse entrevoir des différences dans le taux de la dégradation mais également dans les couleurs observées.

De manière générale les pourcentages obtenus pour les échantillons avec agitation+température semblent un peu plus élevés que ceux du avec agitation en température ambiante ce qui pourrait être traduit une moins bonne biodégradation de colorant bleu avec seulement l'agitation. En considérant le taux de dégradation au sein de chaque condition et à partir du leur taux de la dégradation, il est possible d'estimer la bonne condition

La figure 4.18 présente les taux de dégradation obtenues à partir de l'analyse d'un échantillon du colorant bleu au sein de ces deux conditions employée pour l'analyse y'est également rappelée.

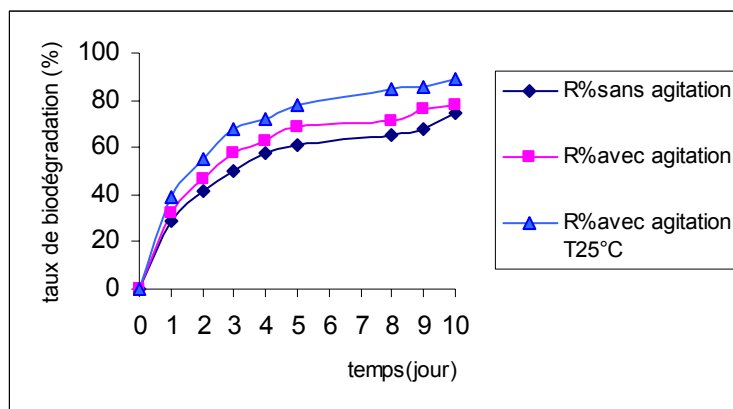


Figure 4.18: l'influence de l'agitation+température sur le taux de dégradation de colorant bleu.

Il apparaît que le colorant bleu dans la condition avec agitation+température fixé  $T=25^{\circ}\text{C}$  présente une forte teneur en taux de dégradation (88.58%) que avec seulement l'agitation (78.33%). Ce qui laisse indiquer une moins bon bioréactivité de solution.

En outre, on constate que le taux de dégradation obtenue à partir d'avec agitation+température est systématiquement grand que le taux de dégradation d'avec agitation, mais pas trop éloignée dans le cas d'avec agitation. Alors que de gros écarts apparaissent pour sans agitation. De ce fait on peut pensé que l'addition de Température à l'agitation est un processus plus important dans la biodégradation des colorants, puisque l'association des deux conditions (l'agitation+température) augmente la biodégradation.

En revanche, les faibles écarts observés pour avec et avec agitation+température laisse supposer que l'agitation est essentiellement utilisée comme condition primaire.

Il est également envisageable que les écarts observés entre avec agitation+température et avec seulement agitation soient tout simplement dus à l'effet supplémentaire de la température.

#### 4.3.4. Colorant vert

La figure 4.19 illustre la variation du taux de dégradation et le pH du colorant vert.

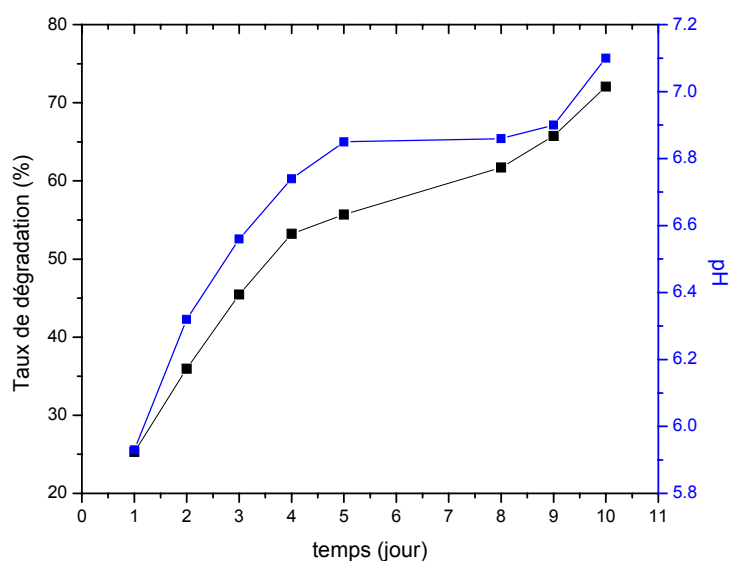


Figure 4.19: Variation du taux de dégradation et le pH de colorant vert en fonction de temps

Les courbes du taux de dégradation de colorant vert sont d'allures similaires à celle de colorant bleu. Par conséquent les facteurs ayant semblent influences.

##### 4.3.4.1. L'influence de $R_v$

Afin de pouvoir mesurer et comparer la biodégradation des différents  $R_v$  nous avons tout d'abords essayé d'optimiser la réponse du test sur un colorant,  $R_v=1$  a alors été choisi pour définir la biodégradation maximale mesurable par le test en supposant qu'il soit un  $R_v$  bien plus biodégradables que les  $R_v$  à étudier. Ainsi,  $R_v=1$  permettant d'obtenir la réponse la plus élevé de la gamme de travail ont été déterminées .

Plusieurs solutions dont le rapport des volumes varie de 0,1 à 3 ont fait l'objet de tous les essais sur une durée de 10 jours.

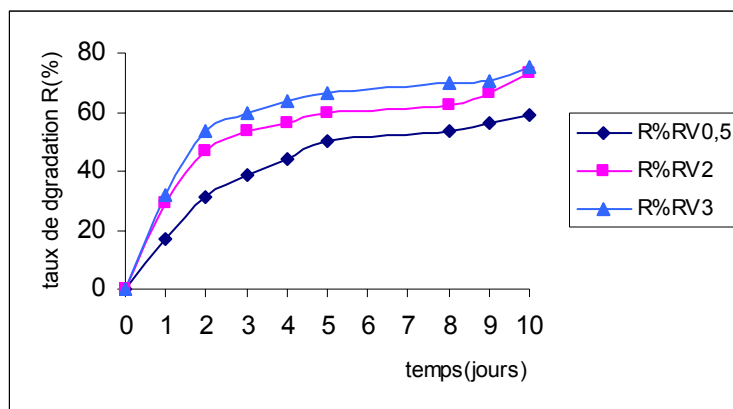


Figure 5.20: Evolution du taux de dégradation de colorant vert en fonction du temps et de volume de betterave rouge introduite.

Les résultats mettent en évidence que l'introduction d'un faible volume de betterave rouge conduit à de très faibles valeurs de rendement ne permettant même pas de distinguer l'effet de la  $R_v$ , aucune différence sur les rendements pour les faibles volumes de betterave rouge n'est également remarquée.

En revanche, il apparaît que sous les conditions opératoires utilisées un  $R_v$  de l'ordre de  $R_v=1$ , permet d'obtenir des fortes valeurs de rendement, de ce fait on a été décidé d'utiliser une  $R_v=1$ , pour réaliser les autres tests.

#### 4.3.4.2. Influence de la température

Les résultats montrent des valeurs de taux de dégradation (dans les mêmes  $R_v$  ( $R_v=1$ )) obtenues pour température  $T=35^\circ\text{C}$  sont plus fortes que celle du  $T=25^\circ\text{C}$ , des différences significatives apparaissent entre les échantillons étudiés ce qui laisse penser que la température influe positivement sur le taux de la dégradation. La figure 4.21 rapporte les corrélations entre le taux de dégradation et de temps obtenues sur les différentes températures pour le colorant vert.



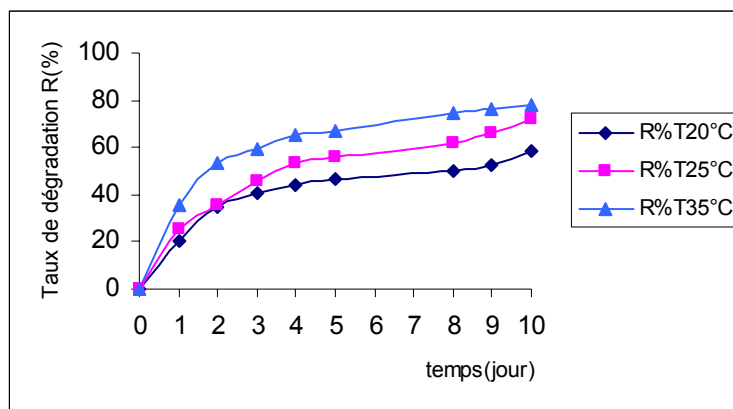


Figure 4.21: relation entre le taux de dégradation et la température pour le colorant vert.

De manière générale, les températures élevées sont en adéquation avec le taux de dégradation.

#### 4.3.4.3. Influence de la lumière

Une présentation de la biodégradation dans les deux milieux avec et sans lumière peut être proposée dans la figure 4.22.

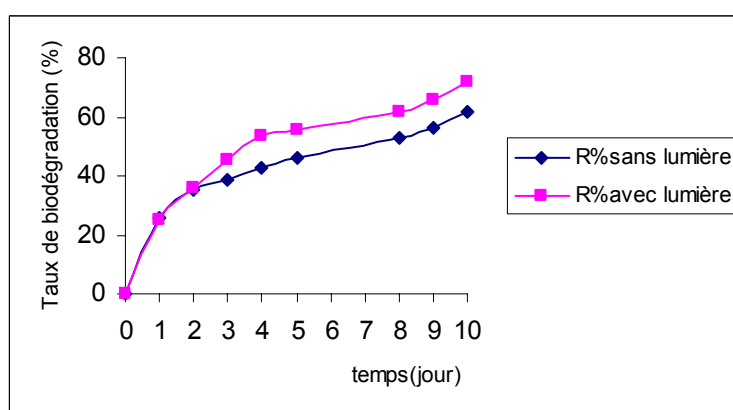


Figure 4.22: l'effet de la lumière sur le taux de dégradation de colorant vert.

Elle illustre que le colorant exposé à la lumière est plus dégradé que celui qui n'est pas exposé à la lumière (car il y a aussi la photo dégradation).

#### 4.3.4.4. Influence d'agitation + température

En comparaison des deux milieux avec et sans agitation, il apparaît que la biodégradation du colorant vert est meilleur avec agitation que celle déterminées sans agitation, en effet, on peut par conséquent supposer que le colorant vert sous des conditions particulières (avec agitation en température fixe=25°C) conduit à un meilleur taux de dégradation. La figure 4.23 rapporte les valeurs de taux de dégradation obtenues lors des tests de biodégradation en différentes conditions d'agitation +température

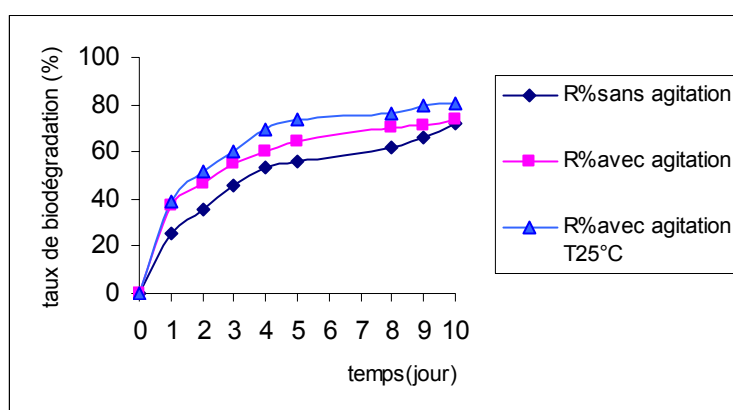


Figure 4.23: l'influence d'agitation et de température sur le taux de dégradation de colorant vert.

#### 4.3.5. Colorant jaune célliton G

La figure 4.24 exprime la variation du taux de dégradation et le pH du colorant jaune en fonction de temps.

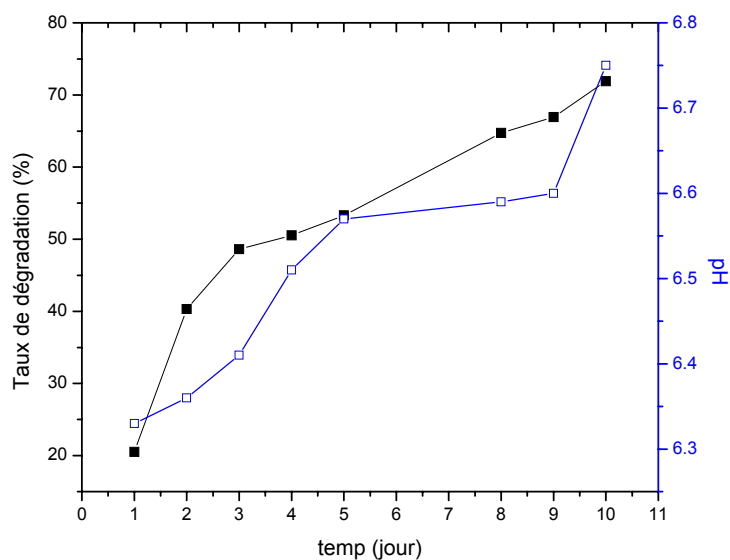


Figure 4.24: Variation du taux de dégradation et le pH de colorant jaune en fonction du temps.

Dés les premiers jours il y a une augmentation du taux de dégradation, plus rapide, semblable à la dégradation pour les autres colorants étudiés. Pour le colorant jaune on étudie aussi les facteurs qui influencent le taux de dégradation.

##### 4.3.5.1. L'influence de $R_v$

La figure 4.25 rapporte les taux de dégradation déterminés en différentes  $R_v$ .

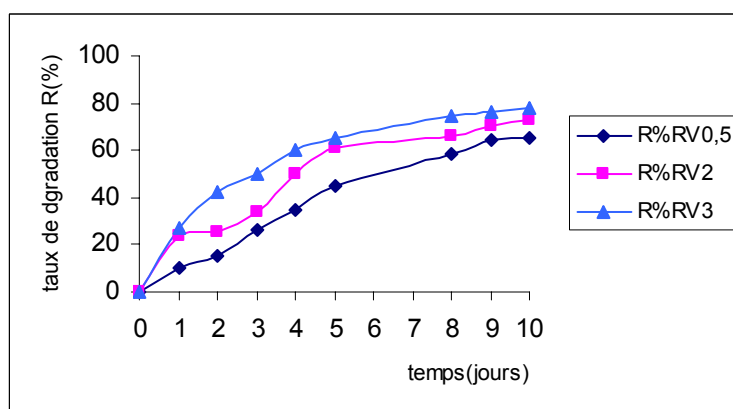


Figure 4.25: l'influence de  $R_v$  sur le taux de dégradation du colorant jaune.

On observe que le taux de dégradation augmente avec l'augmentation  $R_v$ . Cette augmentation n'est pas infinie puisque le taux de dégradation tend vers une valeur asymptotique. Les 03 courbes se séparent mais gardent la même allure jusqu'à atteindre 78% pour  $R_v=3$ , 73% pour  $R_v=2$  et 65% pour  $R_v=0.5$ .

#### 4.3.5.2. Influence de la température

La figure 4.26 rapport les taux de dégradation déterminés en différentes température.

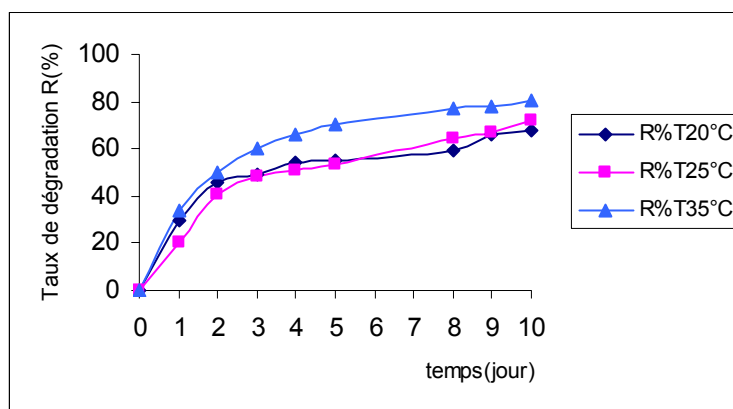


Figure 4.26: l'influence de la température sur le taux de dégradation du colorant jaune.

On observe qu'avec l'augmentation de la température on améliore la dégradation. Dès le premier jour une nette augmentation a été observée pour  $T=35^\circ$ , par ailleurs on ne peut pas oublier que avec  $T=25^\circ\text{C}$  donne aussi de bon rendement attend presque 72%. Ce qui confirme que la température joue un rôle primordial sur la biodégradation.

#### 4.3.5.3 L'effet de la lumière

La figure 5.27 rapport les taux de dégradation déterminés avec et sans lumière.

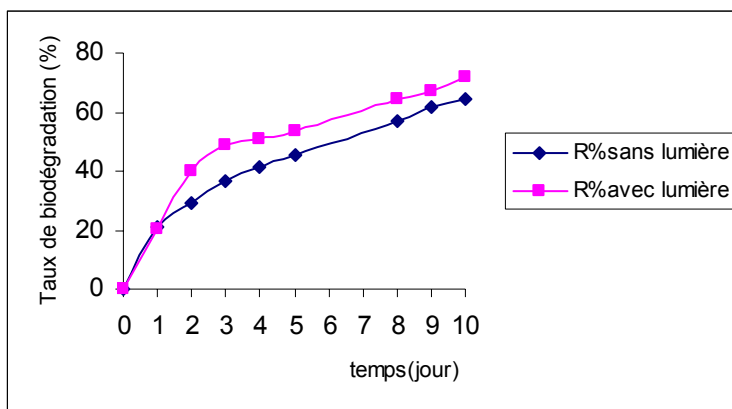


Figure 4.27: l'effet de lumière sur le taux de dégradation du colorant jaune.

Les courbes d'avec et sans lumière étant l'allure identique. La mise en place l'exposition à la lumière met en évidence des similitudes avec la lumière plutôt que sans lumière.

#### 4.3.5.4. Influence d'agitation + la température

Parmi les divers facteurs existants, le choix d'agitation + température pour suivi le taux de dégradation a été étudié. La figure 4.28 rapporte les taux de dégradation déterminés avec et sans agitation. On observe d'après la figure 4.28 que l'agitation améliore le taux de dégradation.

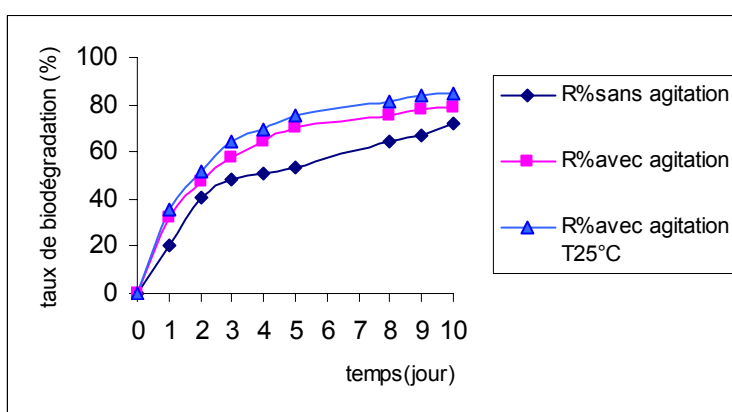


Figure 4.28: l'influence de l'agitation + la température sur le taux de dégradation du colorant jaune.

L'intérêt de l'utilisation de couplage agitation + température dans l'analyse de la biodégradation résulte d'une part le taux de dégradation en agitation + température est plus rentable qu'avec seulement agitation, il atteint 82% tandis qu'avec agitation atteint 79%, d'autre part l'agitation est influé sur la variation de taux de dégradation. Si on fait une simple comparaison entre avec et sans agitation, on remarque que sans agitation atteint seulement 75%.

#### 4.3.6. Rejet

Les échantillons de rejet de la station de textile SOTRADAL de Boufarik après centrifugation, sont soumis à un test de biodégradation de 10 jours. Le test est fondé sur l'ajout de l'extrait de betterave rouge au rejet (comme tous les colorants), sachant qu'on prend même volume de betterave rouge ajouté c.à.d  $R_v = (V_{BR}/V_{rejet})=1$  et même volume d'air. En suite, nous avons soumis le mélange à  $T=25^\circ \text{C}$  et à la centrifugation (3000 tr/min pendant 20min), Afin de mesurer le taux de biodégradation par mesure de l'absorbance. On fixe la longueur d'onde  $\lambda_{\text{max}} = 630 \text{ nm}$  La figure 4.29 présente les résultats des analyses.

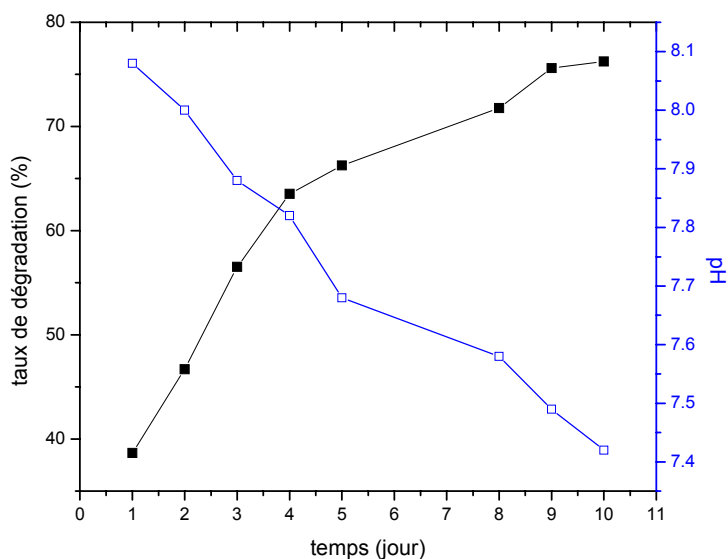


Figure 4.29 : Variation du taux de dégradation et le pH du rejet en fonction du temps

### a) Taux de dégradation

Le taux de biodégradation des colorants sont faibles en comparaison à ceux de rejet, cette particularité vient vraisemblablement de la présence dans le rejet d'autres composés qui peuvent accélérer la biodégradation. Néanmoins l'utilisation de certaines tensio active permet de laver. Notamment présence des tensio actives qui contribue améiore la biodégradation.

### b) pH

Vraisemblablement en raison de l'augmentation de la population bactérienne, cette augmentation provoque des perturbations sur le pH de mélange. Si on compare du pH des colorants et le pH du rejet, nous remarquons que le pH du rejet est grand par apport au colorant  $\text{pH}=8.28$ .

D'une part, nous savons que les conditions de travail influent sur le taux de dégradation et d'autre part nous devons étudier l'effet de ces facteurs aussi sur le taux de dégradation de rejet.

#### 4.3.6.1. L'influence de $R_v$

Les effluents industriels contiennent des teneurs variables en colorants. Pour cela nous avons suivi l'effet de  $R_v$  sur la biodégradation de rejet.

Les résultats obtenus montrent que la biodégradation est plus importante lorsque on ajoute beaucoup le jus de betterave rouge, ce qui est également généralement observé.

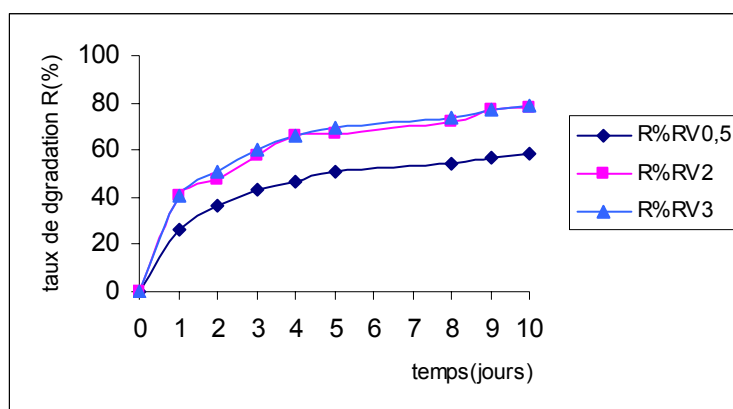


Figure 4.30: l'influence de  $R_v$  sur le taux de dégradation du rejet.

#### 4.3.6.2. Influence de la température

Dans tous les procédés biologiques, la température est le paramètre le plus important contrôlant la vitesse de réaction, il est connu que la température joue un rôle clé dans la croissance de la couche bactérienne. Nous avons étudié l'influence de la température sur le taux de biodégradation du rejet en faisant varier la température pour  $T^{\circ} = 20^{\circ}\text{C}$  et  $T^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ .

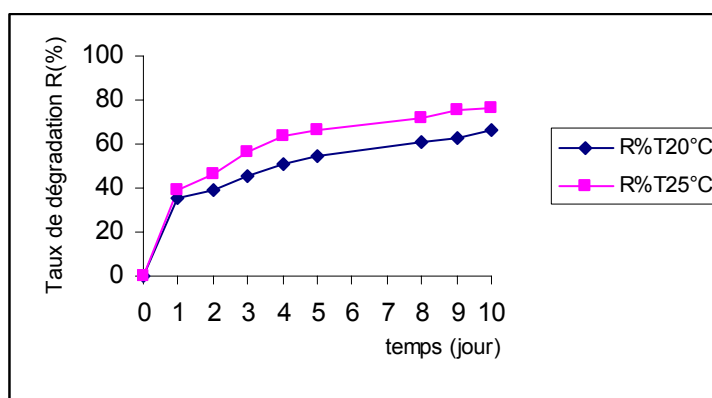


Figure 4.31: l'influence de la température sur le taux de dégradation du rejet.

D'après les résultats présents dans la figure 4.31 la température présente un effet fort. En effet, quand la température augmente l'efficacité du traitement augmente. Cela est dû à l'amélioration dans la formation de couche bactérienne. On peut remarquer que la décoloration augmente rapidement pour passer de 65.93% pour  $T=20^{\circ}\text{C}$  jusqu'à 76.23% pour  $T=25^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.3.6.3. L'effet de la lumière

Pour examiner l'effet de la lumière, nous l'avons fait exposer un échantillon à la lumière et l'autre couverte par papier aluminium (absence de la lumière). Les résultats présents dans la figure 4.32, montre que le taux de réduction est proportionnel à la lumière.



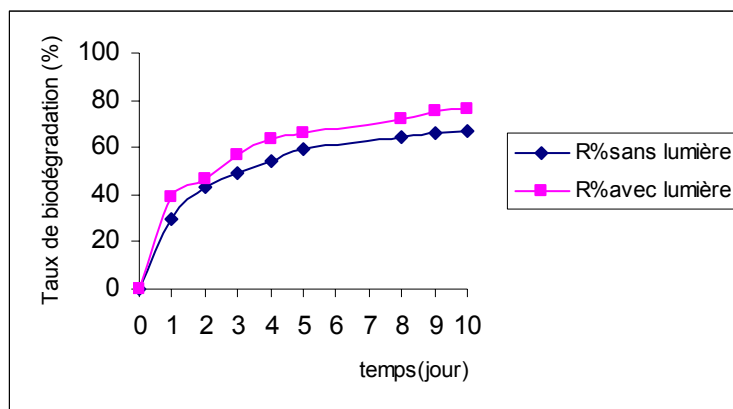


Figure 4.32: l'effet de lumière sur le taux de dégradation du rejet.

Des résultats similaires ont été retrouvés par les autres colorants, pour l'augmentation du taux de dégradation. En un autre terme, une exposition à la lumière est une raison de l'élévation d'élimination du colorant.

#### 4.3.6.4. Influence d'agitation + la température

Afin d'évaluer l'effet d'agitation sur l'efficacité du traitement des essais ont été réalisés avec et sans agitation. La figure 4.33 montre l'effet de l'agitation sur l'efficacité du traitement.

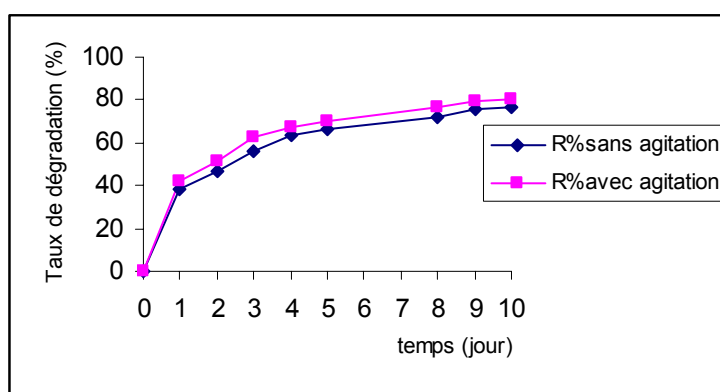


Figure 4.33: l'influence de l'agitation + la température sur le taux de la dégradation du rejet.

Avant d'associer la température et l'agitation, l'élimination des colorants par les seules températures a préalablement été étudiée, L'épuration est alors une fonction croissante de la température. Il faut remarquer que le pH varie simultanément car les solutions sont à pH acide. D'après les résultats obtenus, on

note que les meilleurs taux de réductions sont obtenus pour l'agitation avec 80.70% au bout de 10<sup>ème</sup> jour. Les faibles rendements sont obtenus avec Température ambiante sans agitation 76.23%.

Dans nos conditions, l'efficacité réalisée par l'agitation est probablement due au phénomène de l'accélération de la cinétique de la réaction de biodégradation. Afin d'évaluer si les conditions déterminées préalablement pour la biodégradation sont efficaces. Nous avons étudié l'influence de l'incubation de la couche bactérienne directement.

#### 4.3.7. Influence de l'incubation de la souche bactérienne

A la fin de test nous trouvons une couche bactérienne qui se forme au dessus dans chaque mélange, A fin de suivre la cinétique de dégradation, nous avons pris cette couche bactérienne formée et on la met dans un nouveau solution de colorant respectons bien sur le type de colorant c.à.d la couche bactérienne qui se forme dans le mélange (colorant vert +extrait de betterave rouge) on la met dans le colorant vert et pas dans autre colorant. Là encore, nous avons soumis les incubateurs à la centrifugation afin de mesurer l'absorbance. La figure 4.34 montre la cinétique de biodégradation de chaque colorant.

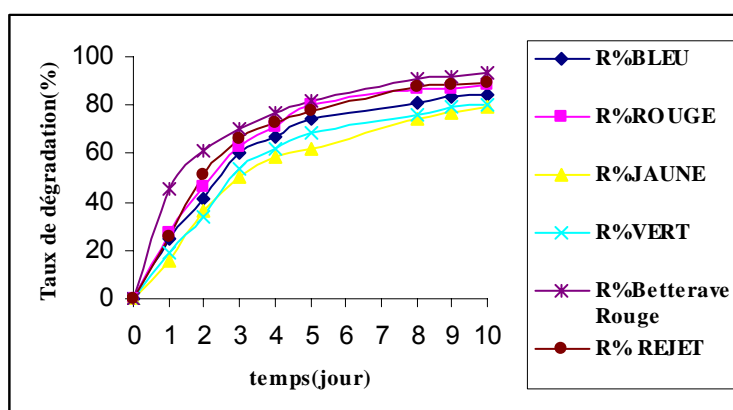


Figure 4.34:L'effet de l'ajoute de souche bactérienne sur la biodégradation des colorants.

Pour ces échantillons, nous avons bien une cinétique en deux phases.

D'abord une augmentation rapide des colorants avec la couche bactérienne avec le taux de dégradation allant de 0% à 85% dans les premiers jours à près de 8jr .puis des cinétiques lentes avec une augmentation de 3% de taux de dégradation de 8 à 10<sup>ème</sup> jr. Cela correspond respectivement à une absence de phase de latence car la bactérie est déjà adaptée au nouveau milieu qui ressemble au précédent milieu auparavant formé la couche bactérienne, cette courbe nous montre clairement pourquoi l'augmentation de la population microbienne augmente le rendement ou bien le taux de biodégradation. La forte dégradation des colorants implique (confirme) que la couche bactérienne est sans doute responsable de la dégradation.

Notons la variation rapide des valeurs de pH. La différence des pH explique la plus grande variété de la couche bactérienne qu'été acide ou neutre. Comme on la constatée lors de précédent étude.

L'élimination des colorants est probablement due à la croissance présences des bactéries dans la solution qui présente l'avantage d'être facilement observé. L'efficacité est meilleure lorsque la solution de rejet est préalablement mûrie favorisant la formation de couche bactérienne. Elle dépasse alors 90% pour la plupart des colorants.

Si des résultats légèrement meilleurs sont obtenus après centrifugation l'utilisation directe de la souche bactérienne est possible. Un taux d'élimination supérieur à 95% est obtenu pour une solution de rejet. De plus la présence de centrifugeuse facilite la séparation liquide solide par décantation.

Ces résultats se situent parmi les meilleurs sur l'efficacité d'élimination des colorants. Eventuellement, par flottation. Si un procédé très intéressé s'avère nécessaire.

#### 4.3.8. Effet saison

Les variations saisonnières de facteurs tels que la température la périodicité et la nature de betterave rouge, l'ensoleillement, ou des facteurs hydrologiques, ont une influence sur la dynamique de couche bactérienne. Les activités

bactériennes mesures au début d'été (juin) présentent des activités 3 fois plus importantes que celles en fin d'automne et en hiver (janvier & mars). D'autres parts les essais que nous l'avons faire en début d'hiver (janvier) ou en fin d'hiver (mars) présente des activités faibles. Nous aurions donc une activité maximale à la fin d'été, suivie d'une diminution d'activité en fin d'automne, nous manquons de données pour l'été.

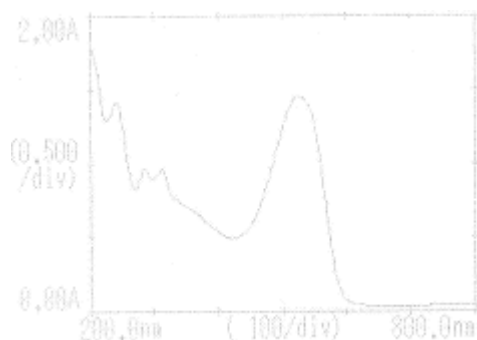
Il semble logique que la date ou le lieu de prélèvement de betterave rouge utilisée pour nos tests aient un effet sur l'activité bactérienne. En effet nous savons que la betterave rouge est variable dans le temps en nature et en quantité. Une activité bactérienne maximale en mai. L'activité est maximale en début d'été puis chute en automne et en hiver. Plus élevés en fin juin que en fin septembre.

Nos expérimentations en laboratoire ont l'avantage de démontrer que cet effet n'est pas dû à la quantité du substrat disponible, ni la température ou la photopériode mais serait plutôt induit par la présence ou l'absence de certains composés dans l'air. Notre travail n'avait pas pour objectif premier d'explorer de façon exhaustive ces effets saisonniers et géochimiques. Tout fois, pour la suit, lors d'application sur le terrain, notre plan d'échantillonnage devra intégrer ces effets et éventuellement tenter de cerner la cause chimique de cette saisonnalité

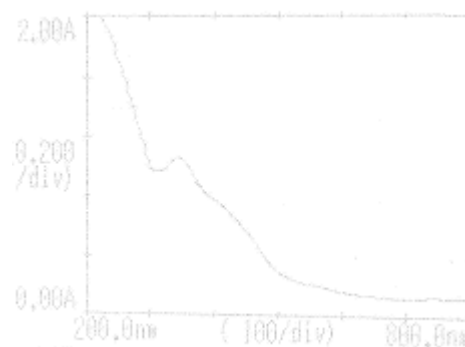
#### 4.3.9. Caractéristique UV –visible

Il serait nécessaire d'examiner la structure du composé mixte : colorant – Betterave rouge particulièrement. Pour caractériser les produits provenant du traitement et pour essayer de comprendre le mécanisme par le quel se fait la biodégradation les analyses UV-visible ont été effectuées avant et après le traitement.

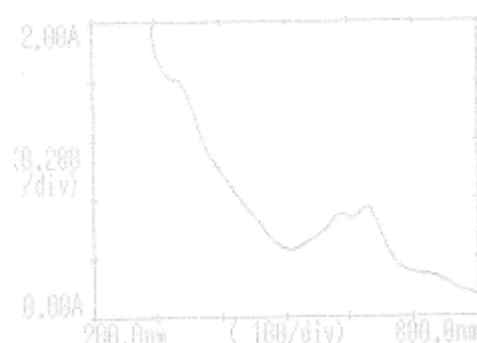
Comme le montrent la figure 4.35, il y a un changement dans le spectre UV après le traitement, avec apparition de nouvelles pics ( $\lambda=700$  et  $\lambda=284$ ) d'absorbance et disparition des enceints pics ( $\lambda=340,628, 537$ ), en raison probablement de la disparition du colorants et l'apparition de la couche bactérienne. Signalons que ces nouveaux pics sont disparus aussi.



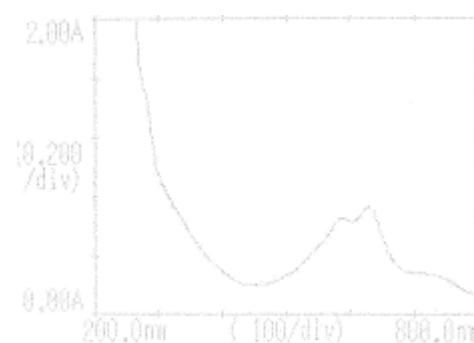
le spectre UV-visible de colorant rouge sirius 4B



le spectre UV-visible de colorant jaune célliton G



le spectre UV-visible de colorant colorant vert



le spectre UV-visible de bleu cibacette BF

Figure 4.35: les spectres UV-visible des colorants avant et après le traitement.

#### 4.4. Optimisation des résultats par modélisation

Nous abordons dans cette partie, le choix de ces méthodes d'analyse (modèle) et leur spécifié, les protocoles sont présentés en appendice C. Les effets des facteurs constitueraient le majeur parti de l'étude.

##### Problème à résoudre

On doit améliorer le rendement de la réaction de biodégradation des colorants utilisés dans le drapeau algérien. Après avoir introduit le jus de betterave dans le milieu réactionnel, on a décidé d'étudier les facteurs pouvant influencer l'évolution de la réaction.

Choix de la réponse

-la réponse choisie est la densité optique (absorbance)

-le pH

Choix des facteurs

Les paramètres susceptibles d'influer sur la réponse sont:

Facteur1: temps      Facteur2: le volume de betterave      Facteur3: Température

Facteur4: le volume de l'air      Facteur5: lumière      Facteur6: agitation

Domaine d'étude

Le tableau 4.3 indique les niveaux hauts et bas de chaque facteur.

Tableau 4.3: Domaine d'étude du plan 2<sup>6</sup>

Facteurs	Niveau bas (-1)	Niveau haut (+1)
temps	1	3
R <sub>v</sub>	0.1	3
Température	20°C	25°C
R <sub>air</sub>	0.5	3
lumière	Sans	avec
agitation	Sans	avec

En reprenant les conditions établies lors de la mise en place du test, des mesures de biodégradation ont été effectuées sur différentes conditions. Cependant, de par l'importance de ces facteurs nécessaire à la réalisation d'une mesure, le test n'a pas pu être effectué sur l'ensemble des échantillons du rejet et seul les échantillons des colorants ont été analysés. En revanche, aucun des échantillons relatifs aux colorants n'a été testé par cette méthode. Seul les échantillons qui ont été étudiés par l'effet d'air, ont été comparés aux résultats obtenus précédemment. La figure 4.36 rapporte les valeurs de biodégradation transcrites en réduction d'absorbance, obtenues lors des tests de biodégradation.

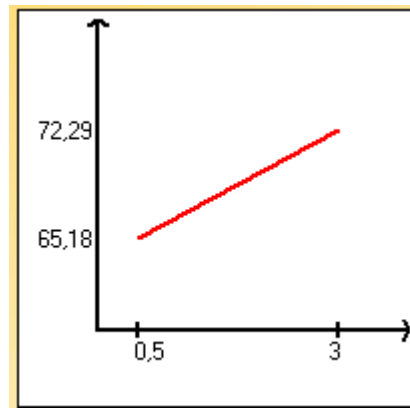


Figure 4.36 : effet de  $R_{air}$  sur le taux de la biodégradation par MLR

Les résultats mettant en évidence une meilleure biodégradation d'échantillons avec un grand rapport d'air (effet d'air), alors que les échantillons que  $R_{air} = 1$  présentent des biodégradations voisines mais faibles. La meilleure biodégradation de l'échantillon  $R_{air} = 3$  est en d'accord avec la formation rapide de la couche bactérienne.

#### 4.4.1. Résultats expérimentaux de la Méthode de Plans d'expérience

##### 4.4.1.1. Introduction

Cette partie est réservée à la présentation des résultats expérimentaux de l'application de la technique des plans d'expérience pour la modélisation. La première étape de la démarche adoptée est la réalisation rigoureuse des essais expérimentaux. La deuxième étape correspond à la modélisation proprement dite en utilisant la technique de la régression multilinéaire (MLR). L'étape suivante correspond à l'évaluation des modèles, qui permet de savoir si ces derniers sont bien ajustés. Ceci est réalisé par les méthodes d'analyses des variances, l'analyse des résidus, et les différents tests statistiques. Une fois l'évaluation du modèle terminée, des adaptations peuvent être appliquées pour corriger éventuellement l'insuffisance du modèle. Il est parfois nécessaire de faire des essais supplémentaires pour pouvoir déterminer de nouveaux coefficients. L'exemple le plus courant est le passage d'un modèle du premier degré à un modèle du second degré. La validation du modèle est une étape importante, car elle permet d'adopter le modèle. Ce dernier sera utilisé pour faire des prévisions dans le domaine d'étude.

Dans la première partie, nous commençons par l'étude de la corrélation entre les paramètres, déduisons le paramètre le plus important. L'étude sera réalisée, par le biais de différents plans d'expériences (plans de criblage, plan de surface de réponse RSM). Nous présenterons en premier lieu les différentes matrices d'expériences, suivi de l'analyse des différents résultats, pour aboutir ensuite aux modèles mathématiques adéquats de représentation. Ceci nous permettra de comprendre l'évolution de taux de dégradation ( $R\%$ ) pour différents points de fonctionnement ( $R_V$ , température,  $R_{air}$ , ...). Ces modèles permettront de faire des prévisions dans le domaine d'étude, et d'optimiser les résultats.

Dans la deuxième partie, nous mettrons en évidence, toujours par le biais de la technique des plans d'expériences, les relations entre les paramètres d'entrée du réacteur ( $R_V$ , température,  $R_{air}$ ). Pour ce faire, nous utiliserons les techniques présentées dans le chapitre précédent.



#### 4.4.1.2. Etude de la corrélation entre le taux de dégradation et les facteurs influent

Cette étude est menée suivant deux étapes. La première concerne la recherche des facteurs influents et la deuxième correspond à la modélisation et l'optimisation de R%. Nous déduisons les séquences d'expérimentations pour chacun des plans d'expériences adoptés.

##### 4.4.1.2. 1. Recherche des facteurs influents. Plan Factoriel 2<sup>3</sup>

Les paramètres (ou facteurs) du réacteur considérés sont la température,  $R_{air}$  et l'agitation. Les expériences ont été réalisées suivant un plan de criblage de type factoriel complet 2<sup>3</sup>. Ce type de plan permet d'étudier les effets de ces facteurs sur R% (réponse). Le tableau 5.4 spécifie les conditions opératoires pour chaque échantillon, et les résultats des réponses correspondantes (matrice d'expérience).

Tableau 4.4: Caractéristiques du plan factoriel 2<sup>3</sup>

Type de plan : Criblage			
Nom du plan : plan factoriel complet 2 <sup>3</sup>			
Modèle: premier degré			
Nombre de facteurs : 3			
Nombre de réponses : 2			
Nombres d'expériences : 8.			
Facteurs	niveau haut (+1) max	niveau bas (-1) min	unités
Facteur1(A) température	25°C	20°C	°C
Facteur2 (B) $R_{air}$	3	0.5	1
Facteur3 (C) Agitation	avec	sans	1
Reponses			unité
Réponse1	Taux de la biodégradation R%		(%)
Réponse2	pH		1

#### 4.4.1.2. 2. Domaine expérimental

Le domaine expérimental envisagé est représenté par un cube, et les huit point expérimentaux sont aux sommets de ce cube, comme indiqué sur la figure 4.37.

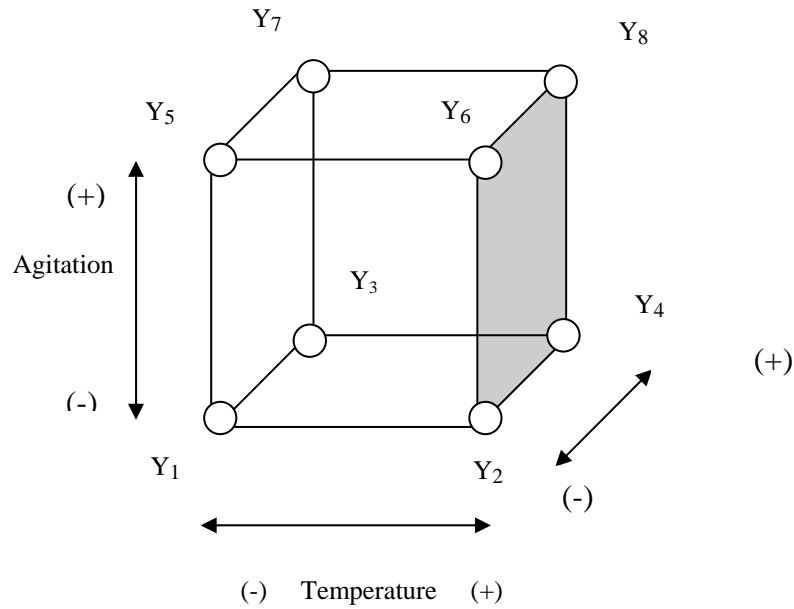


Figure 4.37: Domaine expérimental du plan  $2^3$

Le tableau 4.5 donne la matrice d'expérience et le tableau 4.6 résume les informations du plan factoriel  $2^3$ .

Tableau 4.5: Matrice d'expériences : plan factoriel  $2^3$

Essai N°	Facteurs			Réponse	
				Y=R% (1)	Y = pH (2)
	Temperature	R <sub>air</sub>	Agitation		
1	-1	-1	-1	Y <sub>1</sub>	Y <sub>1</sub>
2	+1	-1	-1	Y <sub>2</sub>	Y <sub>2</sub>
3	-1	+1	-1	Y <sub>3</sub>	Y <sub>3</sub>
4	+1	+1	-1	Y <sub>4</sub>	Y <sub>4</sub>
5	-1	-1	+1	Y <sub>5</sub>	Y <sub>5</sub>
6	+1	-1	+1	Y <sub>6</sub>	Y <sub>6</sub>
7	-1	+1	+1	Y <sub>7</sub>	Y <sub>7</sub>
8	+1	+1	+1	Y <sub>8</sub>	Y <sub>8</sub>

Tableau 4.6: Matrice d'expériences et résultats des essais : plan factoriel 2<sup>3</sup>

Echantillon N°	Factures			Réponses	
	Temperature (A)	R <sub>air</sub> (B)	Agitation (C)	R% (Y1)	pH (Y2)
	(°C)	(1)	(1)	(%)	(1)
1	20	0.5	Sans	58.99	5.73
2	25	0.5	Sans	62.08	4.43
3	20	3	Sans	64.79	6.65
4	25	3	Sans	70.01	4.64
5	20	0.5	Avec	65.95	6.68
6	25	0.5	Avec	73.69	6.05
7	20	3	Avec	70.79	6.72
8	25	3	Avec	83.55	6.05

#### 4.4.1.3. Modélisation et optimisation de R% du colorant bleu. Plan factoriel 2<sup>3</sup>

On considère un plan à trois facteurs (température, R<sub>air</sub> et agitation) prenant chacun deux niveaux, autrement dit un plan 2<sup>3</sup>, dont les points expérimentaux sont disposés comme l'indique la figure 4.37. On suppose que le modèle mathématique postulé est un modèle polynomial du premier degré de type :

$$Y1 = a_0 + a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_3 X_3 + a_{12} X_1 X_2 + a_{13} X_1 X_3 + a_{23} X_2 X_3 + a_{123} X_1 X_2 X_3 + e$$

#### Choix de modèle

$$Y1 = R\% = f(T = ^\circ, R_{air}, Agitation).$$

#### Modélisation

Le calcul des coefficients du modèle se fait à l'aide de la formule suivante :

$$\hat{a} = (X^t X)^{-1} X^t y$$

### Modèle

$$Y_1 = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_2 + a_3 x_3 + a_{12} x_1 x_2 + a_{13} x_1 x_3 + a_{23} x_2 x_3 + a_{123} x_1 x_2 x_3 + e.$$

Les effets des différents facteurs ainsi que les différentes interactions sont résumés dans le tableau 4.7. Les effets et interactions sont représentés schématiquement sur la figure 5.38 selon l'ordre décroissant d'importance.

Tableau 4.7 : Listes des coefficients du modèle : plan  $2^3$

Constante $a_0$	-1.6425
$a_1$	3.6012
$a_2$	3.5538
$a_3$	4.7637
$a_{12}$	0.8938
$a_{13}$	1.5237
$a_{23}$	0.1212
$a_{123}$	68.7313

Le modèle prédictif s'écrit :

$$Y_1 = -1.6425 + 3.6012 x_1 + 3.5538 x_2 + 4.7637 x_3 + 0.8938 x_1 x_2 + 1.5237 x_1 x_3 + 0.1212 x_2 x_3 + 68.7313 x_1 x_2 x_3.$$

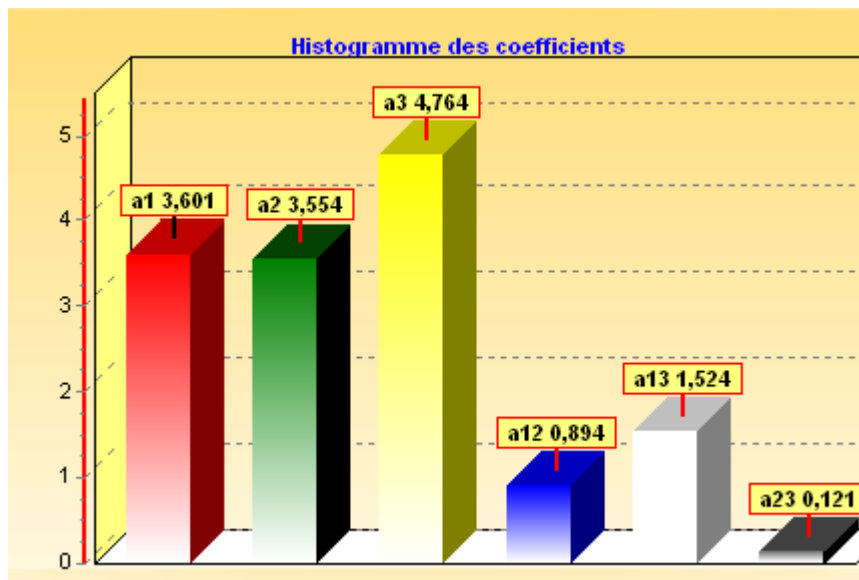


Figure 4.38: Histogramme des coefficients du modèle du colorant bleu par Hide.

D'après la figure précédente, on remarque que les effets signifiants sur le taux de dégradation R%, sont, selon un ordre décroissant: (C), (A), (B). Les autres effets (AB, AC, BC) sont faibles.

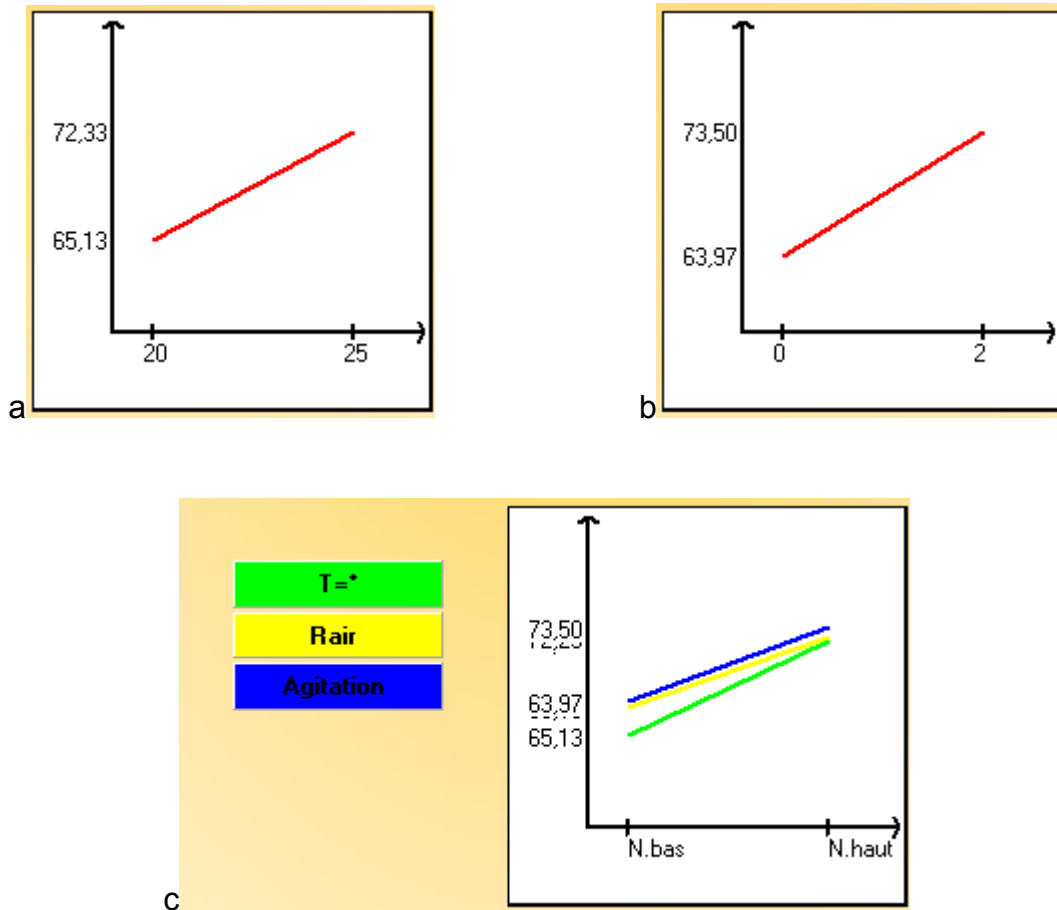


Figure 4.39: l'effet des facteurs.

Les figures 4.39 a, b et c montrent respectivement l'effet moyen de  $R_{air}$ , de la température et de la présence ou non de l'agitation sur le taux de dégradation du colorant bleu.

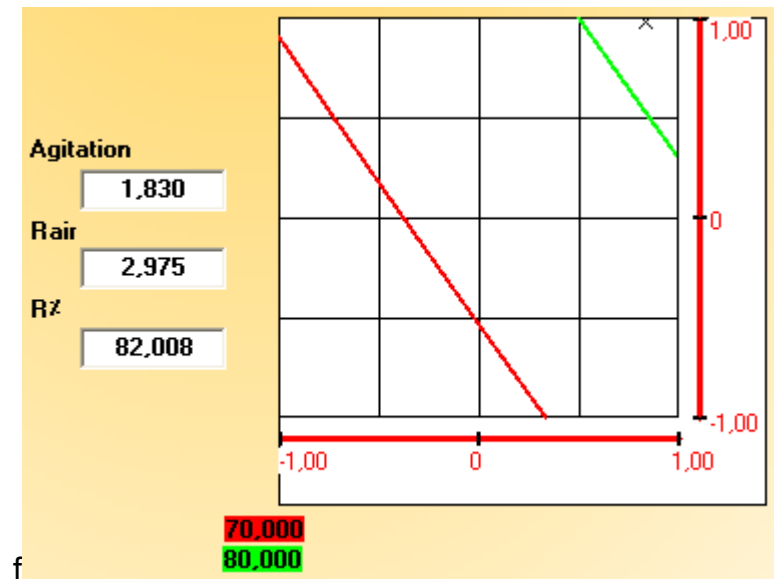
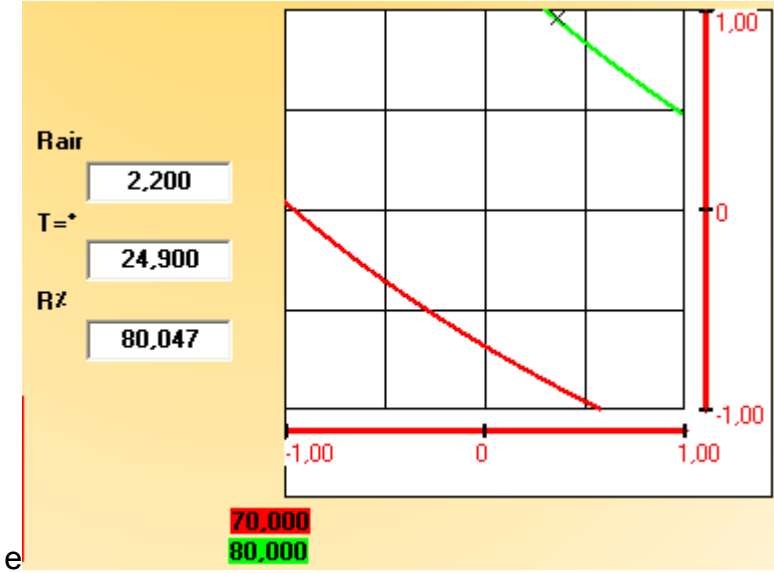
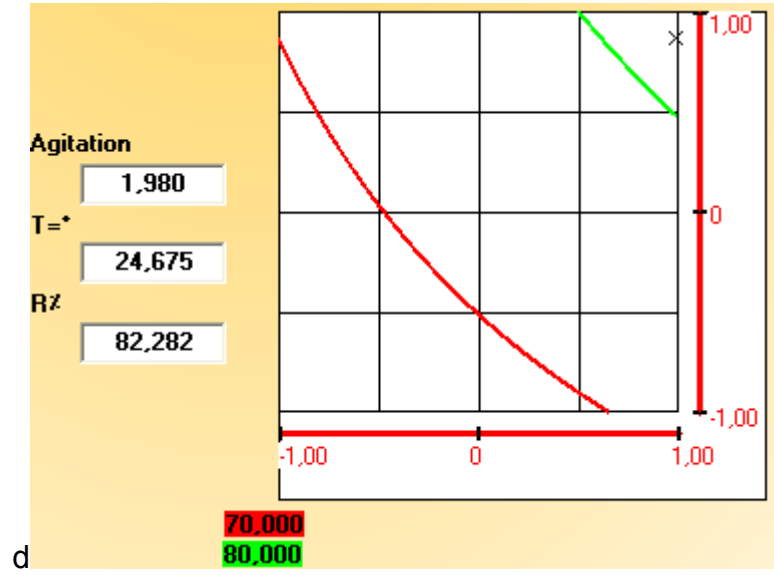


Figure 4.40 : l'effet des facteurs

De même la figure 4.40.d. montre l'effet de la température suivant que l'on utilise le réacteur avec ou sans agitation, c'est le terme d'interaction AC. Les figures 4.40.e et 4.40.f montrent respectivement les interactions AB et BC.

La figure 4.41 représente les isoréponses par trait de la température et  $R_{air}$  on fixe l'agitation au niveau haut.

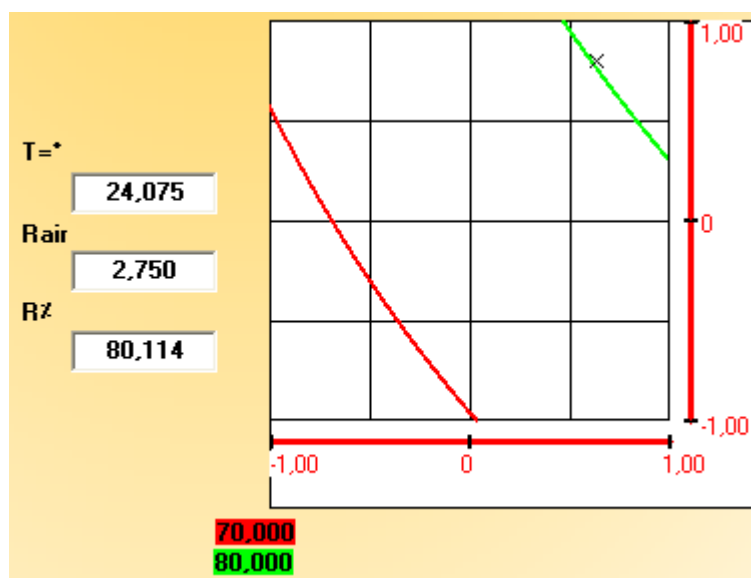


Figure 4.41: Isoréponse par trait des température et  $R_{air}$  on fixe l'agitation au niveau haut par Hide

#### 4.4.1.3.1. Etude des effets sur le taux de dégradation:

L'évaluation de la qualité du modèle mathématique postulé permet de savoir si ce modèle résume bien les résultats des essais du plan d'expériences. On peut juger de cette qualité à l'aide d'outils statistiques. Les trois techniques les plus utilisées pour effectuer cette évaluation sont : l'analyse des variances (ANOVA), l'analyse statistique, et l'analyse des résidus.

En effectuant l'analyse statistique sur les données du taux de dégradation (R %) du plan  $2^3$ , et l'analyse des variances et des résidus.

- Analyse des variances

Nous avons trouvé qu'il y a un bon ajustement du modèle comme le montre les résultats de l'analyse des variances ANOVA (voir tableau C.35 appendice C). L'erreur d'ajustement appelée "lack of fit" est de (0.26), elle est du même ordre que l'erreur expérimentale (0.36).

- Tests statistiques

D'après le même tableau, le R carré est égal à 0.997 et le R carré ajusté est égal à 0.982. Etant donné l'existence de 6 degré de liberté, ces valeurs confirment que le modèle explique bien les résultats obtenus. Le F est de 65.67 Fisher, et la probabilité est de 21.3 % pour que la variance d'ajustement soit négligeable. Le Q2 est de 83.8% et la validité est de 61.2% >25%.

- Analyse des résidus

L'analyse des résidus permet également d'évaluer le modèle et leur distribution. L'analyse des résidus qui consiste à comparer les résidus en fonction des réponses prédites (calculées à l'aide du modèle ou en fonction d'autres grandeurs), permet de détecter des relations entre les résidus et les grandeurs portés en abscisses. Le diagramme des résidus ne laisse apparaître aucune relation entre les grandeurs étudiées, on constate alors clairement une répartition aléatoire des résidus.

Les résultats relatifs aux valeurs prédites par le modèle sont résumés dans le tableau 4.7. Ce tableau nous a permis de tracer la courbe qui relie les réponses mesurées aux réponses prédites (voir figure 4.42). Tous les points passent près de la ligne 45°, ceci indique que le modèle est de bonne qualité.



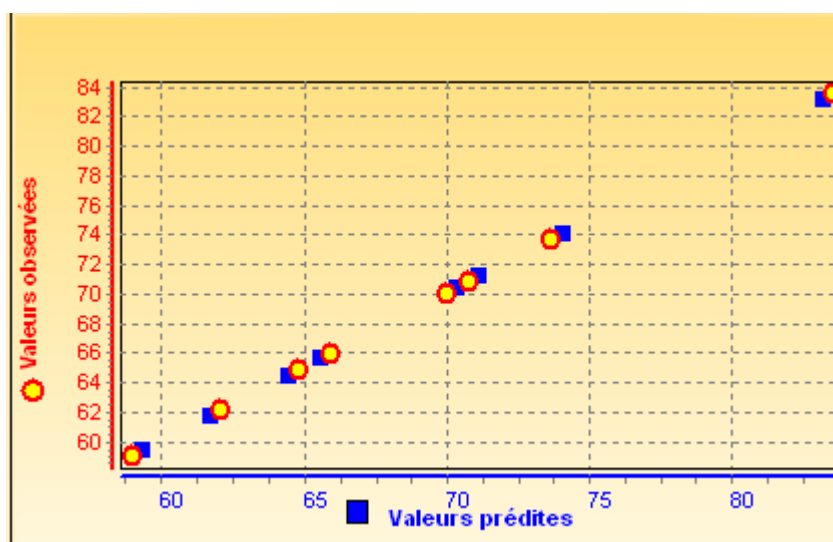


Figure 4.42: Graphe des réponses observées en fonction des réponses prédites

En conclusion, les tests statistiques et le diagramme des résidus ainsi que l'analyse des variances permettent de considérer le modèle du premier degré comme un bon modèle pour représenter les résultats du plan d'expériences utilisé. Ce modèle permettra de faire des prévisions dans le domaine d'étude.

- Validation du modèle

La validation du modèle consiste à s'assurer que sur certains points jugés importants, les réponses calculées sont identiques aux réponses mesurées, voir tableau 4.8.

Tableau 4.8: Comparaison des valeurs mesurées et valeurs prédites de R% (plan 2<sup>3</sup>)

N°essai	Y	Y-prédite	résidus
Essai N°1	58.99	59.351	-0.361
Essai N°2	62.08	61.719	0.361
Essai N°3	64.79	64.429	0.361
Essai N°4	70.01	70.371	-0.361
Essai N°5	65.95	65.589	0.361
Essai N°6	73.69	74.051	-0.361
Essai N°7	70.79	71.151	-0.361
Essai N°8	83.55	83.189	0.361

La comparaison des réponses prédites et mesurées montre que les prévisions sont bonnes et que le modèle est valide. Le modèle est donc adopté pour l'interprétation des essais et l'établissement des graphiques en particulier les courbes isoréponses dans le domaine d'étude.

#### 4.4.1.3.2. Etude de la corrélation entre le pH et les facteurs influents du colorant bleu cibacette BF.

##### Choix de modèle

$Y_2 = \text{pH} = f(\text{température}, \text{Rair}, \text{Agitation}).$

##### Modèle

$$Y_2 = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_{12}x_1x_2 + a_{13}x_1x_3 + a_{23}x_2x_3 + a_{123}x_1x_2x_3 + e$$

Le tableau 4.9 donne les coefficients du modèle ainsi que les écarts types correspondants.

Tableau 4.9 : Listes des coefficients du modèle : plan 2<sup>3</sup>

Constante $a_0$	0.0145
$a_1$	- 0.576
$a_2$	+ 0.142
$a_3$	+ 0.506
$a_{12}$	- 0.094
$a_{13}$	+ 0.251
$a_{23}$	- 0.136
$a_{123}$	+68.7313

Le modèle prédictif s'écrit :

$$Y_2 = 0.0145 - 0.576 x_1 + 0.142 x_2 + 0.506 x_3 - 0.094 x_1 x_2 + 0.251 x_1 x_3 - 0.136 x_2 x_3 + 68.7313 x_1 x_2 x_3.$$

La figure 4.43 montre les effets significants sur le pH dans l'ordre décroissant. On note que l'interaction AB représente le plus faible effet.

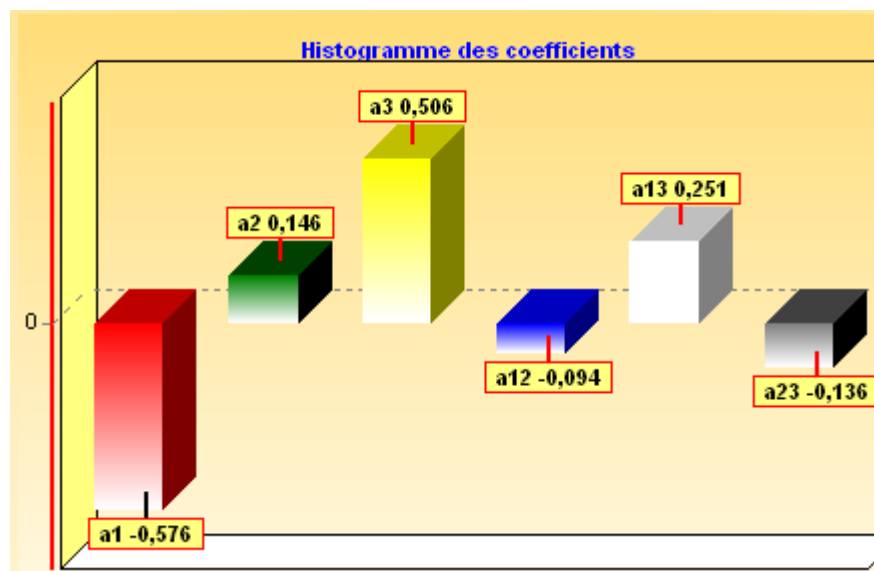


Figure 4.43: Histogramme des coefficients du modèle du pH du colorant bleu cibacette BF par HIDE

Le plan de criblage utilisé nous a permis de découvrir les facteurs les plus influents sur le potentiel d'hydrogène, à savoir la température,  $R_{air}$  et l'agitation. On remarque clairement que le pH diminue lorsque la température varie du niveau bas jusqu'au niveau haut (effet négatif), ce qui est en accord avec les résultats précédentes. L'effet moyen de l'air sur pH est positif, il est clair que le pH augmente quand  $R_{air}$  varie du niveau bas au niveau haut.

La courbe de la figure 4.44 montre clairement l'existence d'une interaction entre la température et l'utilisation de l'agitation. Les deux droites se croisent, l'effet de  $R_{air}$  sur pH augmente lorsque nous utilisons le réacteur avec agitation. Pour une température de  $20^{\circ}\text{C}$ , par exemple, le pH varie de 6.72 à 6.65., en absence d'agitation.

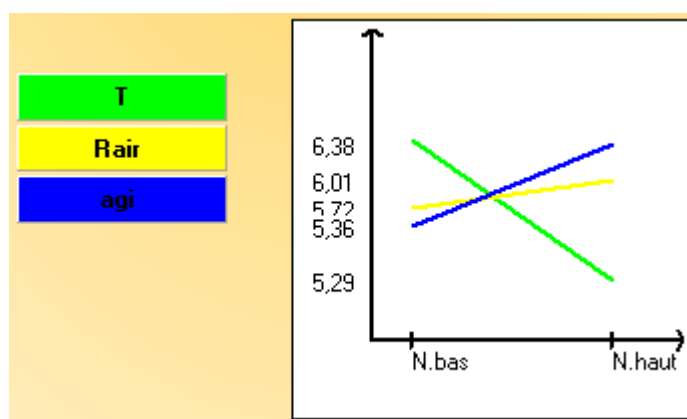


Figure 4.44 : l'effet moyen de la température,  $R_{air}$  et l'agitation sur le pH du colorant bleu cibacette BF.

Pour une température de  $25^{\circ}\text{C}$ , le pH augmente de plus  $\frac{1}{4}$  de sa valeur, elle passe de 4.43 à 6.05. L'augmentation de la température fait diminuer faiblement pH lorsque nous utilisons l'agitation.

Ces résultats précieux nous ont permis de continuer l'étude en utilisant un plan pour la surface de réponse, qui a pour but l'obtention d'un modèle mathématique reliant le taux de dégradation (la réponse  $Y_2$ ) aux facteurs de température et  $R_{air}$ .

Après une étude bien structurée, notre choix s'est porté sur un plan factoriel  $2^3$  à trois facteurs qui sont la température,  $R_{\text{air}}$  et agitation, chacun d'entre eux à deux niveaux. L'évaluation du modèle obtenu montre que ce dernier est bien ajusté. Nous avons réalisé des essais de validation dans le domaine d'étude, la comparaison des réponses prédites (calculées) et des réponses mesurées montre que les prévisions sont bonnes et que le modèle est valid.

Tableau 4.10 : Comparaison des valeurs mesurées et valeurs prédites du pH  
(Plan  $2^3$ )

N=° d'essai	$Y_{\text{mesurées}}$	$Y_{\text{prédite}}$	résidus
Essai N°1	5.73	5.814	-0.084
Essai N°2	4.45	4.346	0.084
Essai N°3	6.65	6.566	0.084
Essai N°4	4.64	4.724	-0.084
Essai N°5	6.68	6.596	0.084
Essai N°6	6.05	6.134	-0.084
Essai N°7	6.72	6.804	-0.084
Essai N°8	6.05	5.966	0.084

Nous avons exploité ensuite ce modèle pour tracer les courbes de prédictions, et les courbes isoréponses. D'après les courbes de prédiction, et sur la figure 4.45, on voit que le pH diminue avec la température pour deux valeurs de  $R_{\text{air}}$  jusqu'à une valeur légèrement supérieure à 1.5. Au-delà de cette  $R_{\text{air}}$ , pH devient constante. L'augmentation de la température entraîne une diminution du libre parcours moyen.

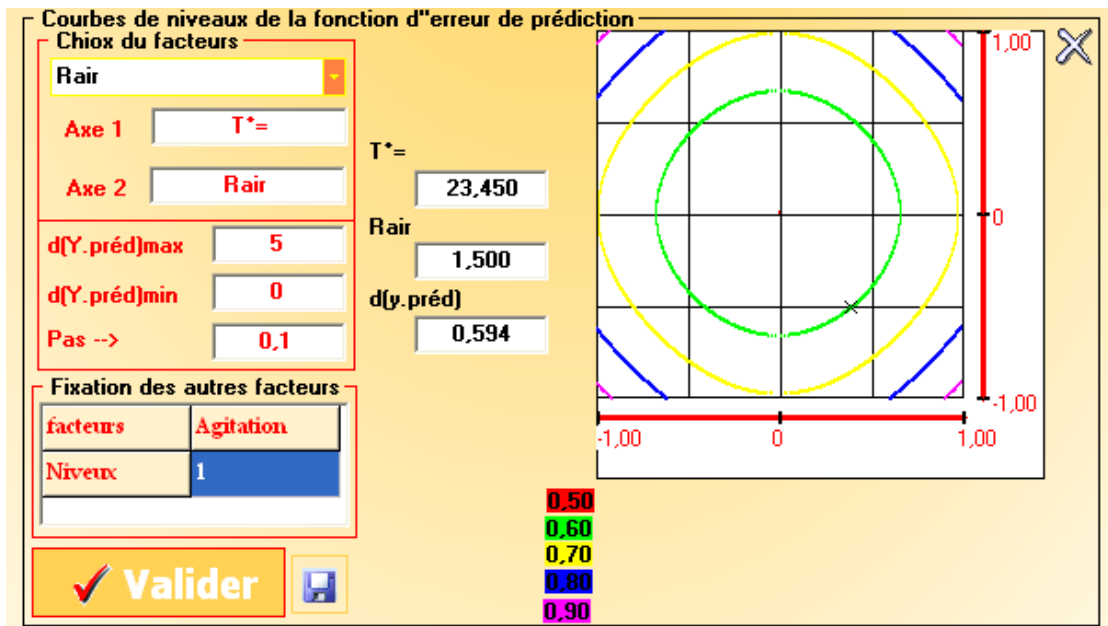


Figure 4.45 : les courbes de niveau de la fonction d'erreur de prédictions.

La figure 4.46 représente sur le même graphique les courbes d'isoréponse du taux de la dégradation et du pH de colorant bleu cibacette BF.

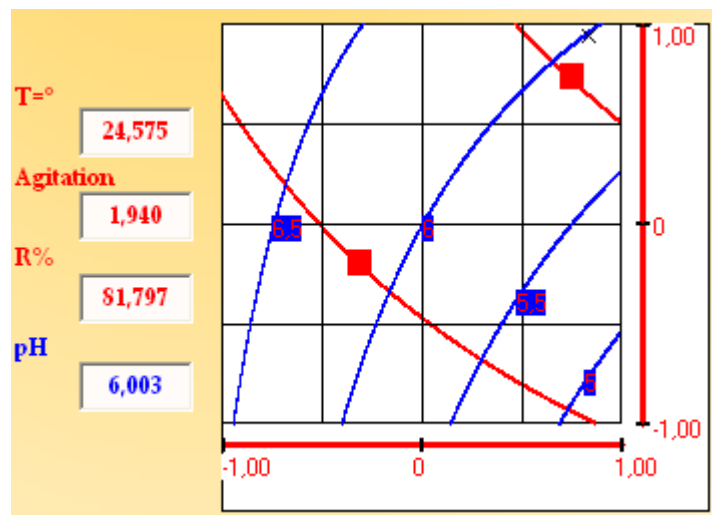


Figure 4.46: Isoréponse pour les 02 réponses (R% et pH) sur même graphique.

#### 4.4.1.4. Modélisation et optimisation de taux de la dégradation(R%) du colorant rouge Sirius 4B: Plan factoriel 2<sup>3</sup>

Les parties précédentes nous ont permis d'étudier l'influence des différents paramètres sur l'efficacité de procédé de biodégradation pour réduire la concentration de colorant rouge. Nous avons effectué plusieurs essais expérimentaux. Dans cette partie nous cherchons à pouvoir prévoir en tout point appartenant au domaine expérimental en prenant les paramètres les plus influant (agitation, R<sub>v</sub> et température); La valeur de la réponse (dans ce cas le taux de la dégradation). Pour cela, il faut trouver des relations entre les facteurs (paramètres influençant) et la réponse (taux de la dégradation). Ceci est souvent obtenu en modélisant le phénomène, c'est-à-dire en le simplifiant sous la forme d'un modèle mathématique.

##### Choix du plan

Le plan 2<sup>k</sup> permet de modéliser les réponses avec un modèle de 1<sup>er</sup> degré tout en effectuant un minimum d'essais d'une manière économique (8essais au maximum). Le modèle mathématique postulé est 2<sup>3</sup> pour 3 facteurs avec 02 niveaux de 1<sup>er</sup> degré avec interaction d'ordre 3 de type :

$$Y_{\text{Rouge}} = a_0 + a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_3 X_3 + a_{12} X_1 X_2 + a_{13} X_1 X_3 + a_{23} X_2 X_3 + a_{123} X_1 X_2 X_3 + e$$

La recherche d'un optimum ou d'une valeur cible sera facilitée par ce plan.

Les calculs nécessaires pour concrétiser le modèle du 1<sup>er</sup> degré et l'utilisation des statistiques d'évaluation ont été réalisés par un programme sur le logiciel MATLAB permettant d'effectuer tous les calculs.

Les résultats des essais sont rassemblés dans le tableau C.31 (voir appendice C). Nous étudions le taux de dégradation qui est la réponse principale.

L'interprétation commence par l'établissement d'un modèle mathématique et par la vérification de sa validité selon les étapes suivantes:

- Calcule des coefficients;
- Test statistique (test de validité): analyse de la variance, le R<sup>2</sup>, le R<sup>2</sup> ajusté, le F de Fisher et le diagramme de résidus;
- Représentation graphique des résultats.

#### 4.4.1.4.1. Etablissement du Modèle

- Calcul des coefficients

La matrice de calcul est une matrice (8,8); puis qu'il y a 8 essais et 8 coefficients dont le modèle postulé. Les coefficients sont calculés à l'aide d'un programme sur logiciel MATLAB. Le tableau 4.11 rassemble les valeurs des coefficients du modèle et leurs écarts types.

Tableau 4.11 : Coefficients du modèle de colorant rouge Sirius 4B et leurs écarts types.

Coefficients	Coefficients	Ecart_s_types
Constant $a_0$	-39.9600	-0.6000
$a_1$	3.7074	-0.0595
$a_2$	12.0000	-0.0600
$a_3$	17.6340	-0.0570
$a_{12}$	-0.2648	-0.0750
$a_{13}$	-0.4764	-0.0745
$a_{23}$	-3.3985	-0.0750
$a_{123}$	0.1368	-0.0720

Ces Coefficients sont représentés graphiquement dans la figure 4.47.



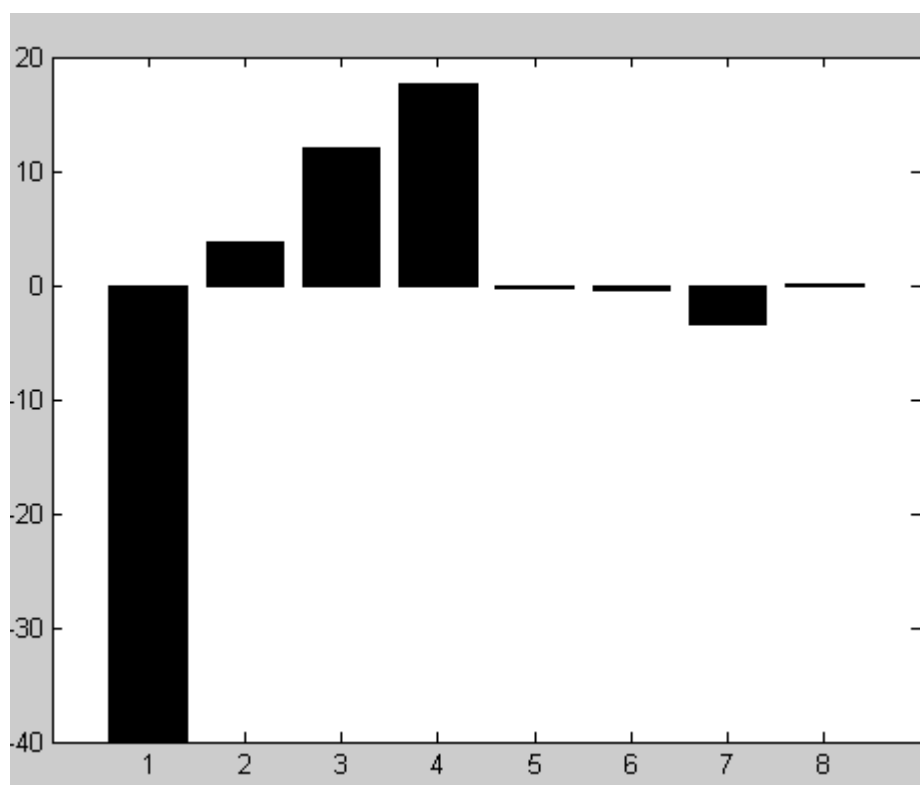


Figure 4.47: Histogramme des effets et des interactions du plan  $2^3$  de colorant rouge Sirius 4B

Le modèle prédictif s'écrit :

$$Y_{\text{Rouge}} = -39.96 + 3.7074 x_1 + 12 x_2 + 17.634 x_3 - 0.2648 x_1 x_2 - 0.4764 x_1 x_3 - 3.3985 x_2 x_3 + 0.1368 x_1 x_2 x_3.$$

L'analyse des effets des facteurs (figure 4.47) montre que la température est plus influante que l'agitation. L'effet de la température est de signe positif, ce qui signifie que le taux de la biodégradation augmente lorsque la température augmente.

La figure 4.47, montre que la température et  $R_v$  initiale de solution ont un effet significatif sur la réduction de l'absorbance. Du plus, les deux coefficients  $a_1$  et  $a_2$  qui portent le même signe positif et  $a_{12}$  et  $a_{23}$  qui sont négatif indiquent que le le taux de la biodégradation augmente passant par un maximum quant la la température et  $R_v$  augment. Ce résultat confirme bien ce que nous avons obtenus dans la partie précédent.

#### 4.4.1.4. 2. Evaluation du modèle

- Analyse des variances

Cette analyse consiste à évaluer les trois variances la variance Totale, la variance expliquée et la variance résiduelle. Le tableau C.36 (donnée en appendice C) résume l'analyse des variances pour les résultats obtenues.

D'après le tableau la dispersion résiduelle est très petite pour les cas étudiés. Ce qui montre que les réponses mesurées et les réponses prédites sont très proches. Les valeurs de l'erreur d'ajustement pour le colorant rouge est de 0.695, elle est donc de l'ordre de grandeur de l'erreur pure. En conclusion, le modèle adopté est bien ajusté.

- Test statistique

Les valeurs de  $R^2$ ,  $R^2$  ajusté, F de Fisher et  $Q^2$  signifient que le modèle explique bien les résultats.

- Analyse des résidus

Sur un graphique, nous portons la valeur des résidus en fonction des réponses prédites (figure 4.48). Les valeurs sont faibles et leur dispersion ne présente pas une tendance particulière. Les résidus sont bien répartis au hasard.

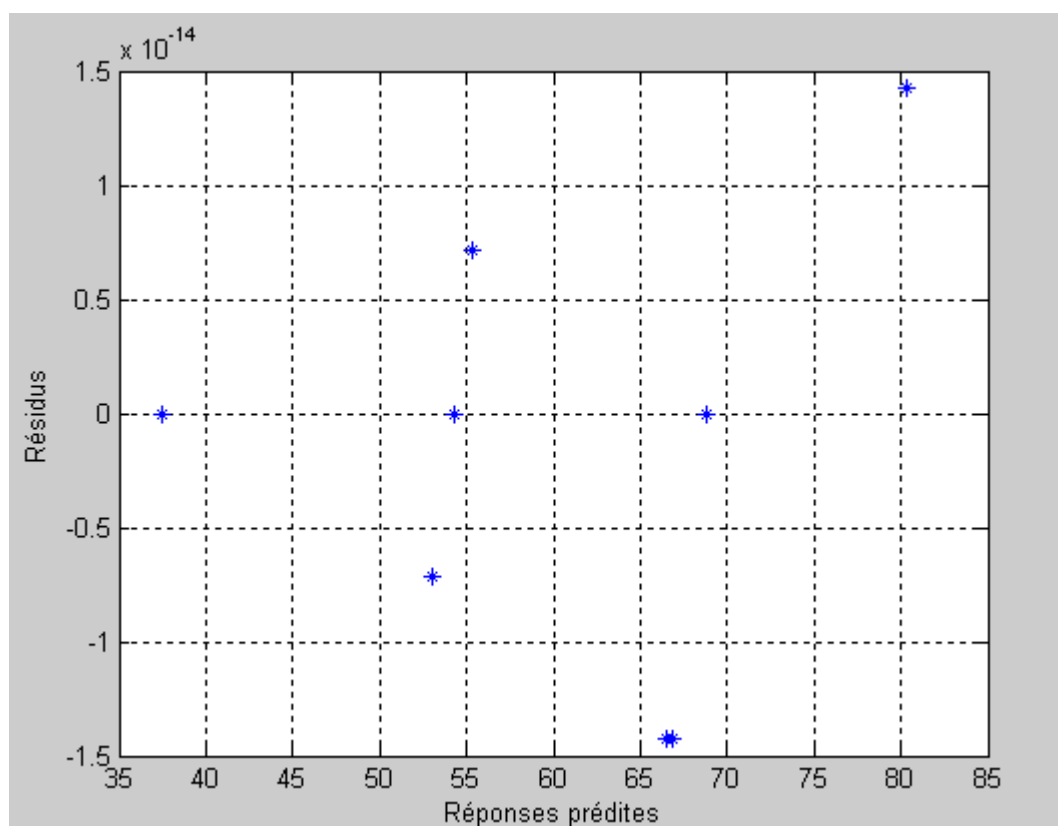


Figure 4.48: Diagramme des résidus du plan  $2^3$  cas de colorant rouge Sirius 4B.

Le modèle que nous l'avons établi explique bien les résultats expérimentaux. Tous les tests d'évaluation le confirment.

#### 4.4.1.4.3. Représentation graphique des résultats

Nous pouvons tracer la surface de réponse et les courbes d'isoreponses (logiciel MATLAB) en basant sur le modèle que nous l'avons déterminé précédemment.

Les courbes présentés dans la figure 4.49 et 4.50 permettent de déterminer la zone où le taux de la biodégradation le grand possible qui correspond au meilleur efficacité de traitement.

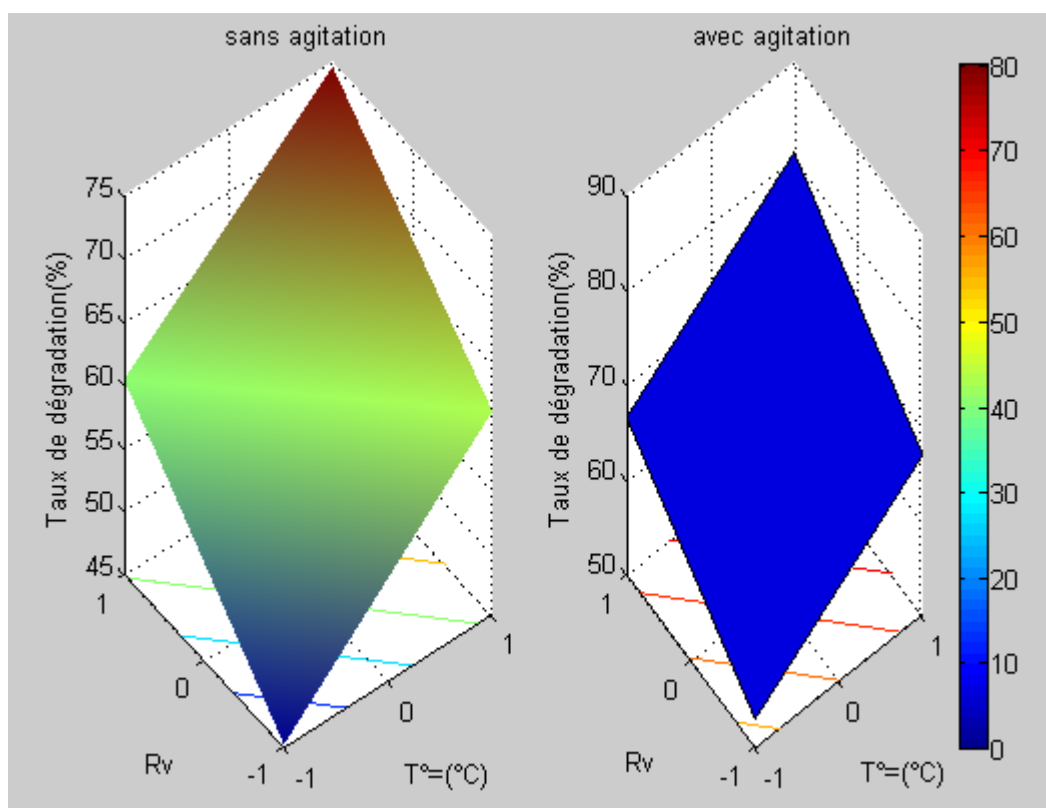


Figure 4.49: Surface de réponse du plan  $2^3$  du colorant rouge Sirius 4B.

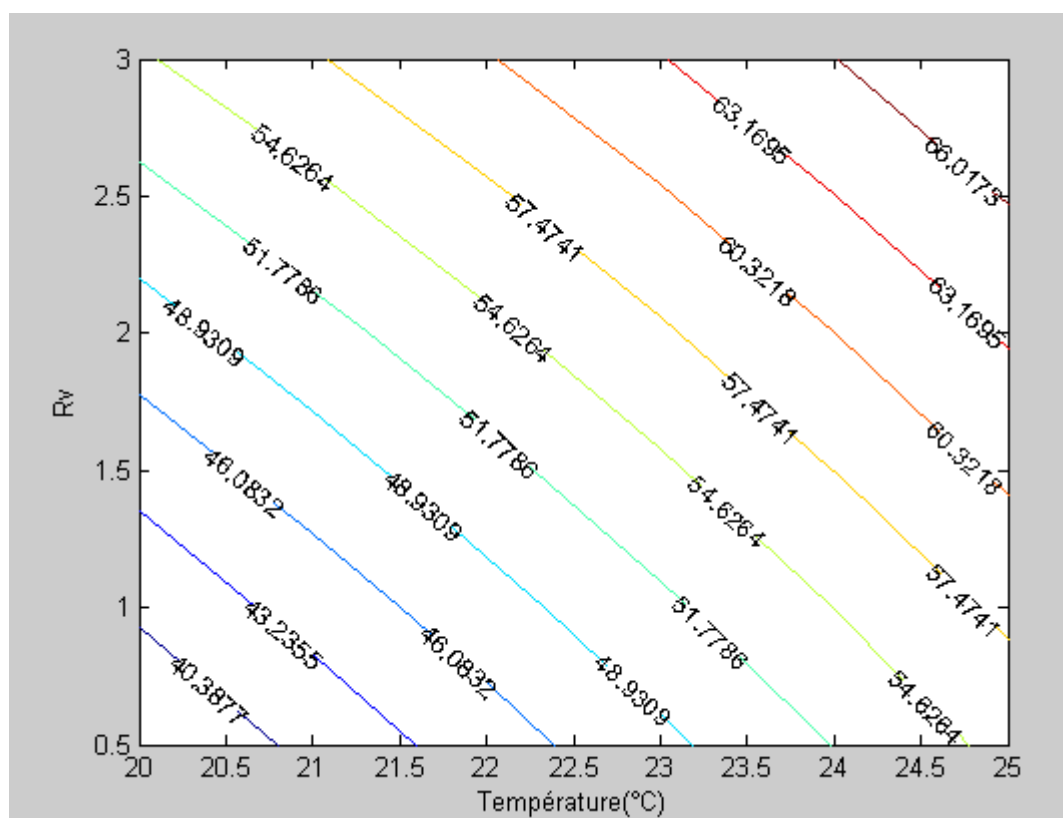


Figure 4.50: Courbes d'isoreponses du plan  $2^3$  de colorant rouge Sirius 4B.

La figure 4.49 montre l'effet moyen de  $R_v$ , la température et de la présence ou non de l'agitation sur le taux de dégradation (R%) du colorant rouge Sirius 4B. Du même la figure 4.50, montre l'effet de la température suivant que on utilise le réacteur avec ou sans agitation, c'est le terme d'interaction ABC.

La meilleure efficacité de traitement par biodégradation est atteinte pour la température varie entre 24 et 25 °C et la valeur de  $R_v$  initiale allant de 1 à 1.5 ou le taux de biodégradation arrivé au plus de 80% .Il ressort d'après la figure 4.50 que les grandes valeurs de taux de biodégradation sont atteintes pour une valeur de  $R_v$  supérieur ou égale à 1.

En conclusion, les tests statistiques est diagrammes des résidus montrent que le modèle adopter du 1<sup>ère</sup> degré explique bien les résultats expérimentaux et permettent de faire des prévisions dans le domaine d'étude. Nous pouvons obtenir des grandes valeurs de taux de biodégradation. Qui correspond aux meilleures efficacités de traitement par le procédé de biodégradation d'autant respectant les conditions opératoires déterminées précédemment.

#### 4.4.1.5. Modélisation et optimisation de taux de biodégradation (R%) du colorant Jaune célliton G: Plan factoriel 2<sup>5</sup>

On considère un plan à cinq facteurs ( $R_v$ , température,  $R_{air}$ , lumière et agitation) prenant chacun deux niveaux, autrement dit un plan 2<sup>5</sup> dont les points expérimentaux sont indiqués dans le tableau C.32 en appendice C.

##### Choix de modèle

$$Y_{\text{Jaune}} = R\% = f(R_v, R_{\text{air}}, \text{température}, \text{lumière}, \text{Agitation})$$

On suppose que le modèle mathématique postulé est un modèle polynomial du premier degré de type :

$$Y_{\text{Jaune}} = a_0 + a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_3 X_3 + a_4 X_4 + a_5 X_5 + a_{12} X_1 X_2 + a_{13} X_1 X_3 + a_{14} X_1 X_4 + a_{15} X_1 X_5 + a_{23} X_1 X_3 + a_{24} X_2 X_4 + a_{25} X_2 X_5 + a_{34} X_3 X_4 + a_{35} X_3 X_5 + a_{45} X_4 X_5 + e.$$

Les effets des différents facteurs ainsi que les différentes interactions sont représentés schématiquement sur la figure 4.51 selon l'ordre décroissant d'importance.

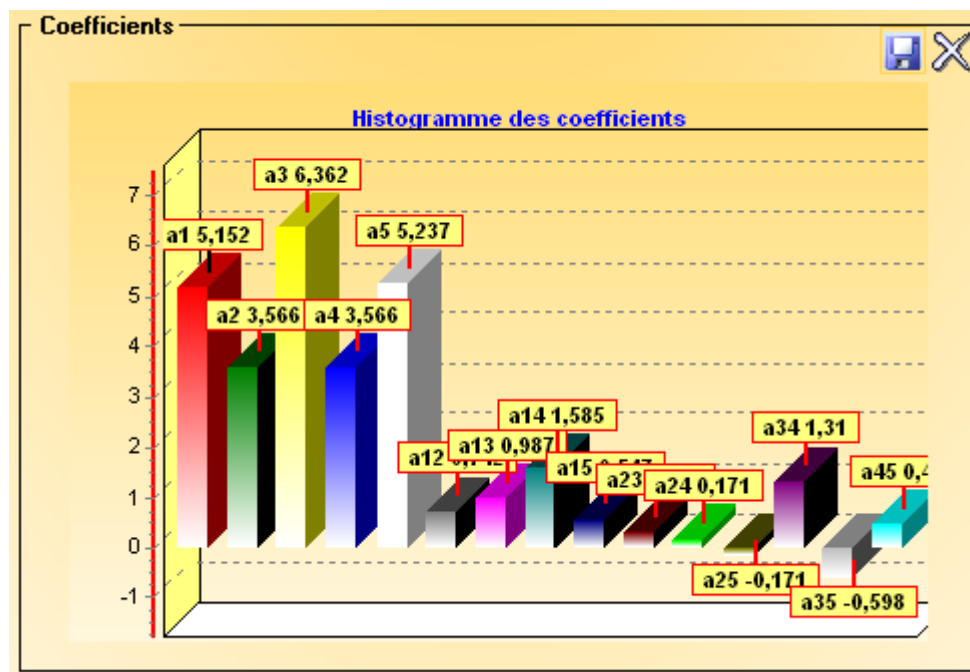


Figure 4.51: Histogramme des coefficients du modèle du colorant Jaune célliton G par Hide.

Après le calcul des coefficients du modèle prédictif s'écrit de la formule suivante :

$$Y_{\text{Jaune}} = 51.6797 + 5.1522 x_1 + 3.5659 x_2 + 6.3622 x_3 + 3.5659 x_4 + 5.2366 x_5 + 0.7422 x_1x_2 + 0.9872 x_1x_3 + 1.5847 x_1x_4 + 0.5466 x_1x_5 + 0.2959 x_1x_3 + 0.1709 x_2x_4 - 0.1709 x_2x_5 + 1.3097 x_3x_4 - 0.5984 x_3x_5 + 0.4603 x_4x_5 + e.$$

#### 4.4.1.6. Modélisation et optimisation de R% du colorant vert: Plan factoriel 2<sup>5</sup>

On considère un plan à cinq facteurs (R<sub>v</sub>, température, R<sub>air</sub>, lumière et agitation) prenant chacun deux niveaux, autrement dit un plan 2<sup>5</sup> dont les points expérimentaux sont indiqués dans le tableau C.33 en appendice C.

Les effets des différents facteurs ainsi que les différentes interactions sont représentés schématiquement sur la figure 4.52 selon l'ordre décroissant d'importance.

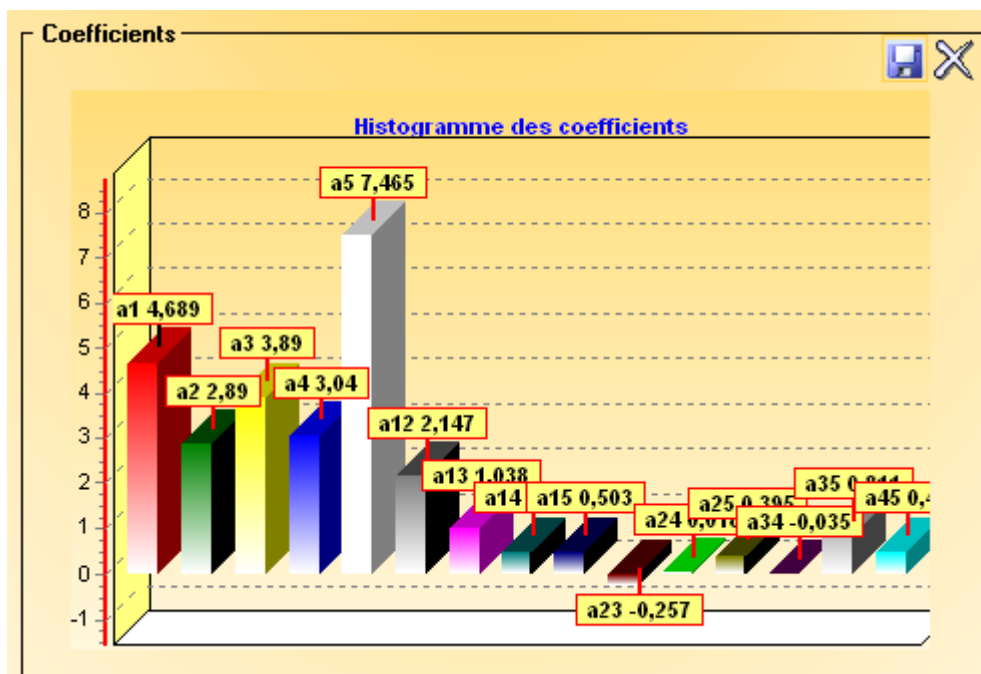


Figure 4.52: Histogramme des coefficients du modèle du colorant vert par Hide1

Après le calcul des coefficients du modèle prédictif s'écrit de la formule suivante :

$$Y_{\text{vert}} = 52.2112 + 4.6891 x_1 + 2.8897 x_2 + 3.8897 x_3 + 3.0403 x_4 + 7.4647 x_5 + 2.1466 x_1x_2 + 1.0378 x_1x_3 + 0.4859 x_1x_4 + 0.5028 x_1x_5 - 0.2566 x_2x_3 + 0.0178 x_2x_4 + 0.3947 x_2x_5 - 0.0347 x_3x_4 + 0.8109 x_3x_5 + 0.4903 x_4x_5 + e.$$

L'objectif de ce travail était la caractérisation, au moyen de la technique des plans d'expériences, nous avons établi des modèles qui permettent de corrélérer les paramètres telle que la température avec les paramètres liés à la réaction du dégradation, et des modèles de représentation qui traduisent les corrélations entre les propriétés et les paramètres d'entrée du réacteur et les paramètres de sorties.

L'utilisation de la méthode des plans d'expériences a permis de rendre la modélisation et l'optimisation de ce procédé plus méthodique comparée aux méthodes expérimentales classiques. En effet, la modélisation obtenue a permis de mettre en évidence au moyen d'expérimentations structurées, des relations très utiles sur plus d'un plan. La mise en œuvre de notre approche a été réalisée sur une réaction de la dégradation. La première étude a été consacrée à l'évaluation de l'influence des facteurs (température,  $R_{air}$ , Agitation) sur le taux de dégradation du colorant rouge. L'application d'un plan d'expérience adéquat a démontré l'effet positif de la Température qui améliore le taux de la dégradation en diminuant le temps. Partant de ce résultat, nous avons réalisé un ensemble d'essais intégrant l'agitation avec pour objectif l'étude du profil de taux de dégradation par rapport à la température et  $R_{air}$ , prises comme entrées du réacteur. Le modèle obtenu s'est avéré bien ajusté reproduisant fidèlement l'évolution du taux de dégradation en fonction de la Température et  $R_{air}$ . L'étude de la corrélation entre le taux de la dégradation et le pH, a pris une part dans le cadre de ce travail.

Dans une première partie, nous avons étudié l'influence de la température. Les modèles obtenus dans ce cas ont montré que les deux paramètres d'entrée (température, agitation) considérés avaient des effets importants sur le R%. Les relations mises en évidence permettent un choix judicieux des conditions opératoires pour l'obtention de taux de dégradation désirées. Les différentes validations ont confirmé la fiabilité des modèles obtenus.

Dans la seconde partie, Un ensemble de plan d'expériences ont été mis en œuvre et ont permis d'analyser les effets et interactions des paramètres d'entrée du réacteur par rapport aux taux de la dégradation obtenus. Pour le cas de pH,



les résultats ont montré que les effets de la température et de l'agitation, étaient les plus importants facteurs. L'analyse de ces résultats a montré également une interaction non négligeable entre les 3 termes, Dans le cas de colorant bleu l'effet de l'interaction triple de la température, agitation et  $R_{air}$  étaient les plus importants. Les expérimentations réalisées ont permis de dégager des modèles de représentation issus de l'application de la technique des plans d'expérience. Ces modèles ont été exploités à travers les courbes isoréponses dans la détermination des conditions opératoires adéquates relatives aux taux de la dégradation souhaités.

## CONCLUSION

Cette étude, qui s'inscrit dans le cadre général de la dépollution des eaux résiduaires industrielles en particulier les rejets textiles, a pour objectif d'étudier une méthode biologique pour le traitement des eaux chargées en colorants synthétiques. Cette technique basée sur la biodégradation des colorants par des bactéries issues de la betterave rouge, a été appliquée à deux familles de colorants organiques utilisés dans la teinture des textiles : les colorants azoïques et anthraquinoniques.

Ce travail a permis de montrer l'efficacité de la biodégradation des colorants utilisés dans l'industrie des textiles par le polymicrobien de la betterave rouge. En effet, les colorants utilisés forment une très bonne source nutritive pour le polymicrobien contenue dans l'extrait de la betterave.

Une composition probablement différente entre ces deux matrices théoriques (colorants) et réelles (rejet), laisse penser que le rejet semble bien convenir à l'étude de la biodégradation car elle présente les meilleures efficacités de la dégradation en comparaison aux colorants.

La démarche adoptée durant ce travail, consistait dans la première phase à suivre la biodégradation de ces colorants en effectuant une dilution de ces colorants avec l'extrait de betterave. Les facteurs influençant le processus de biodégradation (température, agitation,...) permettent une nette amélioration des efficacités. En effet, ce gradient de vitesse au sein de la solution permet une meilleure répartition du gradient de température et de concentration microbienne en tout point de la suspension. Par ailleurs, l'agitation constitue un bon système d'aération (Apport d'oxygène en solution pour le polymicrobien). L'agitation et la température peuvent être envisagées dans l'état primaire de la biodégradation.

Dans une seconde phase, Cette étude, a permis de mieux comprendre le principe de l'interaction d'un polymicrobien avec des colorants synthétiques, L'utilisation de la méthode des plans d'expériences a permis de rendre la modélisation et l'optimisation de ce procédé plus méthodiques, comparée aux méthodes expérimentales classiques. En effet, la modélisation obtenue a permis de mettre en évidence au moyen d'expérimentations structurées, des relations très utiles sur plus d'un plan. La mise en œuvre de notre approche a été réalisée sur une réaction de la dégradation.

L'application d'un plan d'expérience adéquat a démontré l'effet positif de la température qui améliore le taux de dégradation en diminuant le temps. Partant de ce résultat, nous avons réalisé un ensemble d'essais intégrant l'agitation avec pour objectif l'étude du profil du taux de dégradation par rapport à la température et le rapport d'air  $R_{air}$ , prises comme entrées du réacteur. Le modèle obtenu s'est avéré bien ajusté reproduisant fidèlement l'évolution du taux de dégradation en fonction de la température et  $R_{air}$ .

L'étude de la corrélation entre le taux de dégradation et le pH, fait l'objet de ce travail. Un pH au voisinage de 6 s'est avéré optimal. Les relations mises en évidence permettent un choix judicieux des conditions opératoires pour l'obtention de taux de dégradation désirées. Les différentes validations ont confirmé la fiabilité des modèles obtenus.

Aussi, les domaines à explorer à l'avenir sont très vaste qu'au début de notre travail, Les perspectives que nous projetons concernent tout d'abord la généralisation de la technique des plans d'expérience à l'élaboration de modèles de représentation à d'autres paramètres aussi importants que celles que nous avons considérées, mécanisme de la dégradation des autres colorants, et accorder une importance aux paramètres analytiques comme COD et COB5 qui sert à suivre la biodégradation. Cette approche peut déterminer comment conserver bien ces bactéries pour d'autre utilisation et son activation.

**APPENDICE A**  
**LISTE DES SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS**

Abs	Absorbance.
Abs <sub>f</sub>	Absorbance finale.
Abs <sub>i</sub>	Absorbance initiale.
BF	Bleu cibacette
BR	Betterave rouge
4B	Rouge sirius
Cc	Concentration en g/l
C	Concentration en mole/l
Cm	Centimètre.
COD	Demandes chimiques en oxygène (mg/L) (DCO)
C/N/P	Rapport Carbone / Azote/Phosphore.
°C	Degré Celsius.
DDL	Degré de liberté
DO	Densité optique
E	Extinction
ξ	Le coefficient d'extinction molaire
TF	Transformée à Fourier.
G	Jaune célliton
g	Gramme.
IR	Infra Rouge
I <sub>0</sub>	Intensité de la radiation incidente
I	Intensité de la radiation transmise
jr	Jour
K	Nombre des facteurs
KBr	Bromure de potassium.
L	Litre
ℓ	Epaisseur de la cuvette en cm
λ	Longueur d'onde

$\lambda_{\max}$	Longueur d'onde maximale
M	Molarité.
mg	Milligramme.
min	Minute.
MLR	Régression multi linéaire
MO	Matière Organique.
pH	Potentiel Hydrogène.
PM	Poids Moléculaire.
$R_{\text{air}}$	Rapport d'air = Volume d'air/Volume du colorant.
R(%)	Rendement (Taux de dégradation)
%	Pourcentage de réduction d'absorbance.
$R_V$	Rapport des volumes =Volume du BR/Volume du colorant
RSM	Modélisation de surface de réponse
SEM	Microscope électronique de balayage
SS	Solide en suspension (mg/L)
$T_{\text{amb}}$	Température ambiante
$T=^{\circ}$	Température
TDS	Solide dissous total (mg/L).
Tr	Tour.
TS	Solides totaux (mg/L)
UV	Ultra Violet.
V	Volume.
Visb	Visible
Wa	Vitesse d'agitation
Wc	Vitesse de centrifugation (tr/min)
x	Facteur
y	Réponse



## APPENDICE. B

### TESTS PRELIMINAIRES

#### 1. Courbe d'étalonnage

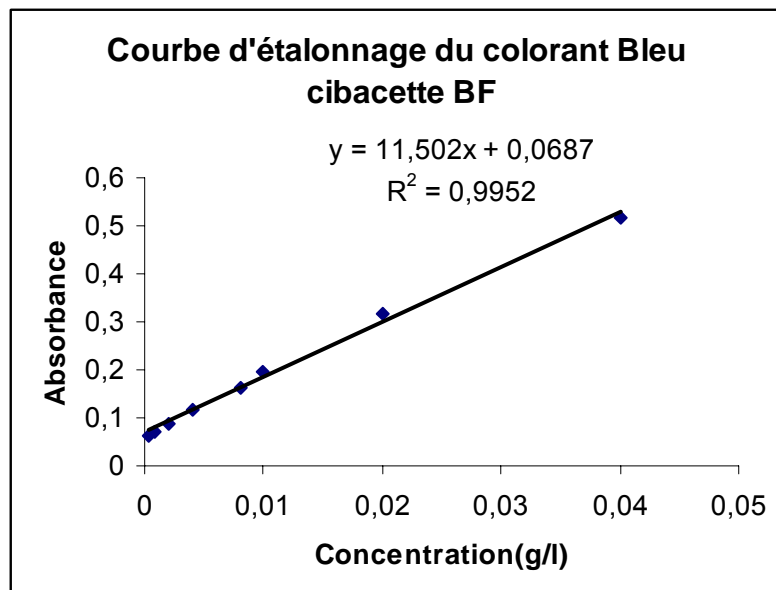
La longueur d'onde maximale d'absorption des colorants jaune célliton G, bleu cibacette BF et rouge sirius 4B sont :  $\lambda_{\max} = 340\text{nm}$ ,  $\lambda_{\max} = 628\text{nm}$  et  $\lambda_{\max} = 537\text{ nm}$  respectivement. En rapportant la courbe d'étalonnage du colorant, on obtient les concentration en colorant pour les différents prélèvements effectués. Les courbes d'étalonnage de tous les colorants qui sont présentées si dessous donnent l'absorbance en fonction de la concentration en colorant exprimée en g/l. cette variation est linéaire. A partir de ces courbes, on peut déterminer la concentration correspondante à chaque solution.

#### 1.1. Solution bleue

##### 1.1.1. Résultat de l'absorbance $\lambda_{\max} = 628\text{nm}$

Cc(g/l)	0.04	0.02	0.01	0.008	0.004	0.002	0.0008	0.0004
Abs	0.517	0.315	0.197	0.164	0.117	0.089	0.069	0.062

##### 1.1.2. Courbe d'étalonnage

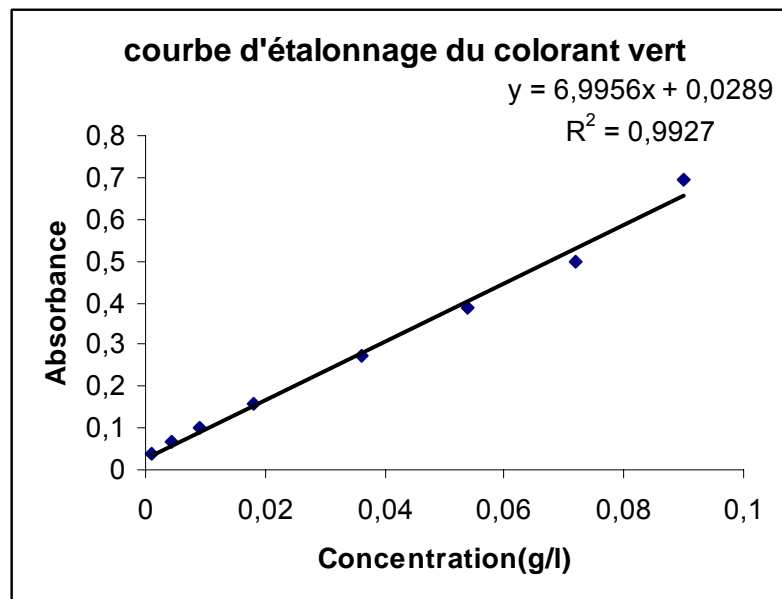


## 1.2. Solution verte

### 1.2.1. Résultat de l'absorbance $\lambda_{\max} = 588\text{nm}$

Cc(g/l)	0.09	0.072	0.054	0.036	0.018	0.009	0.0045	0.0009
Abs	0.695	0.5	0.39	0.275	0.159	0.099	0.066	0.0367

### 1.2.2. Courbe d'étalonnage



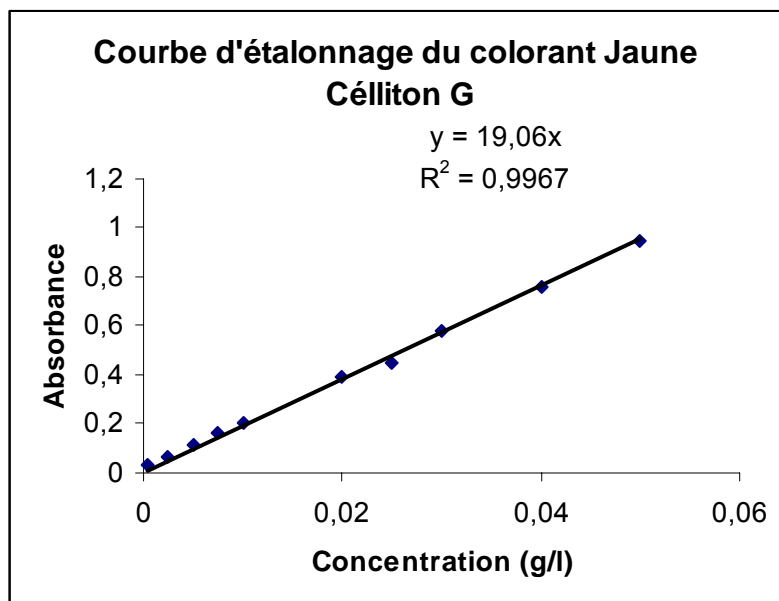
## 1.3. Solution jaune

### 1.3.1. Résultat de l'absorbance $\lambda_{\max} = 340\text{nm}$

Cc(g/l)	0.05	0.04	0.03	0.025	0.02	0.01	0.0075	0.005	0.0025	0.0005
Abs	0.95	0.761	0.582	0.445	0.395	0.205	0.16	0.111	0.069	0.031

### 1.3.2. Courbe d'étalonnage



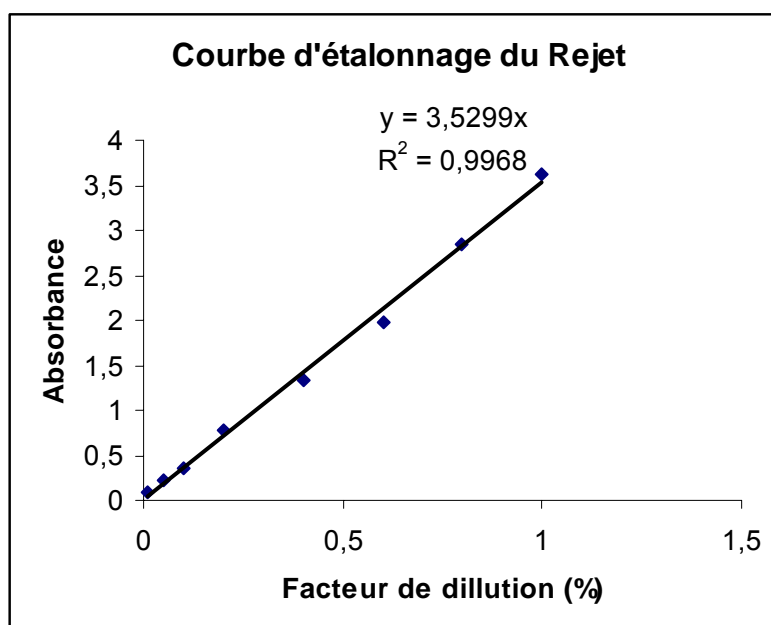


#### 1.4. Solution rejet

##### 1.4.1. Résultat de l'absorbance $\lambda_{\max} = 630\text{nm}$

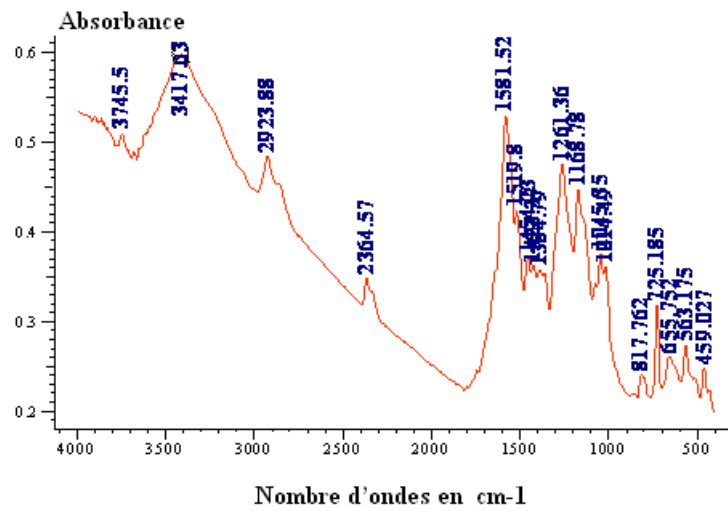
Fd	1%	5%	10%	20%	40%	60%	80%	100%
Abs	0.086	0.212	0.350	0.781	1.342	1.986	2.834	3.612

##### 1.4.2. Courbe d'étalonnage



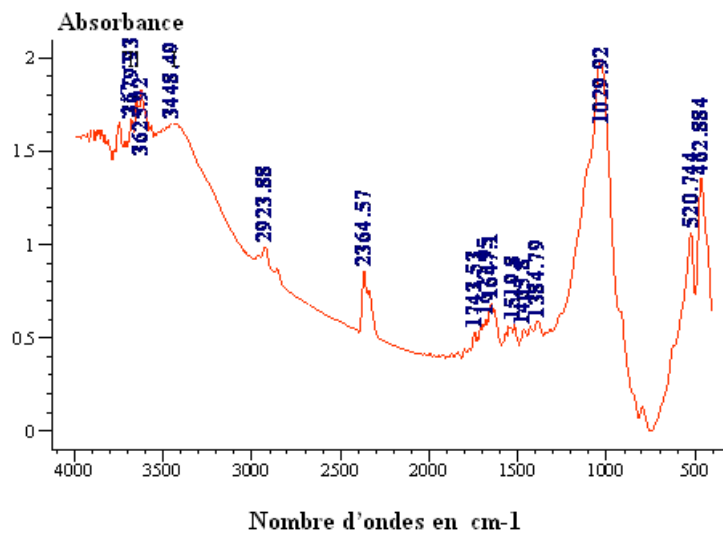
## 2. Courbe d'Infra rouge

### 2.1. Courbe d'Infra rouge du colorant jaune célliton G



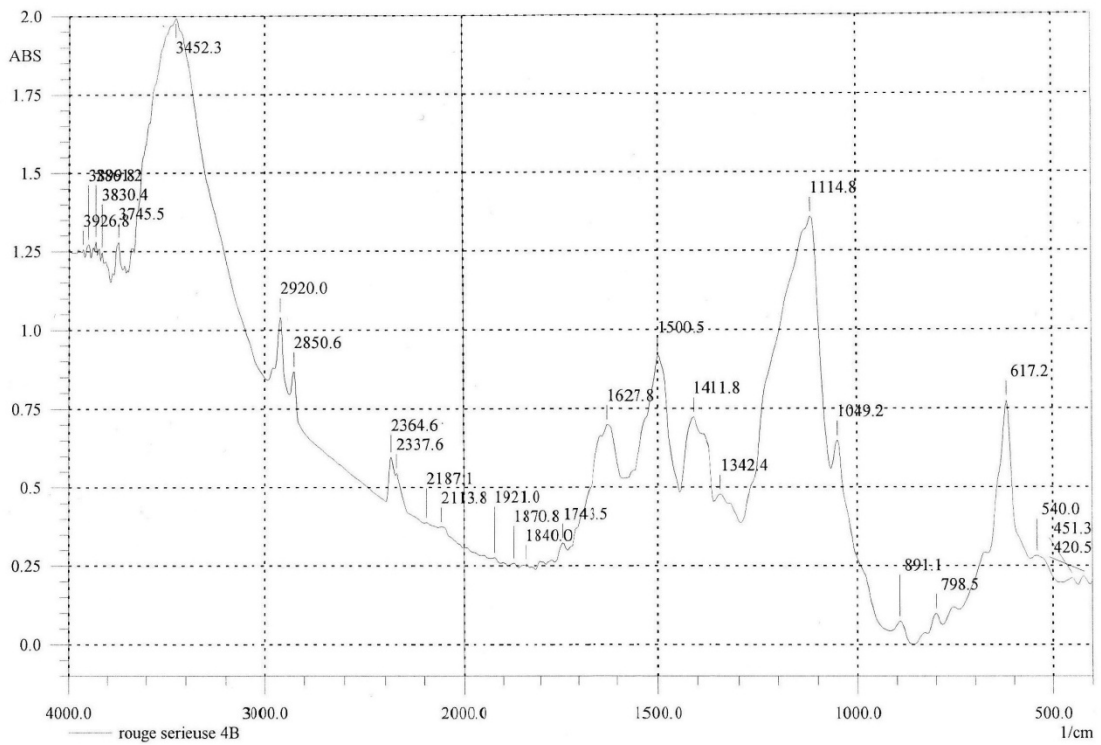
Spectre IR du colorant jaune célliton G

### 2.2. Courbe d'Infra rouge du colorant bleu cibacette BF



Spectre IR du colorant bleu cibacette BF

### 2.3. Courbe d'infra rouge du colorant rouge sirius 4B



Spectre IR du colorant rouge sirius 4B

## APPENDICE C

### LES TABLEAUX DES RESULTATS

Colorant Méthyle orange Cc= 0.1 g/l  $\lambda = 465$  Abs =0.858 pH=6.77.

Tableau C.1 : Evolution de l'absorbance et du pH de MO et de sous produits par l'extrait de BR à 37°C

N°=essai	Temps (jr)	Abs du MO $\lambda = 465$	R% du MO	Abs des sous produit $\lambda = 247$	pH
01	0	0.903	0	0.35	5.85
02	2	0.724	19.82	0.357	4.53
03	3	0.686	24.03	0.374	4.58
04	6	0.593	34.33	0.448	5.2
05	7	0.554	38.65	0.479	5.73
06	8	0.515	42.47	0.505	5.74
07	10	0.505	44.08	0.502	6.21
08	13	0.447	50.5	0.62	7.17
09	14	0.298	67	0.611	6.81
10	15	0.356	60.58	0.519	6.24
11	17	0.146	83.83	0.511	6.06
12	20	0.077	91.47	0.493	5.74

Tableau C.2 : Biodégradation de NND et de AS par l'extrait de BR et par la biomasse

Temps (jr)	AS $\lambda = 248$				NND $\lambda = 243$			
	Par extrait		Par biomasse		Par extrait		Par biomasse	
	Abs	R%	Abs	R%	Abs	R%	Abs	R%
0	0.818	0	0.818	0	0.654	0	0.654	0
4	0.751	8.19	0.743	9.16	0.521	20.33	0.524	19.87
5	0.73	10.75	0.735	10.14	0.489	25.23	0.425	35.01
14	0.717	12.35	0.642	21.51	0.418	36.09	0.333	49.09

Colorant rouge sirius 4B    Cc=0.09g/l     $\lambda = 537$     Abs =0.907    pH=6.60

Tableau C.3 : le taux de dégradation et le pH de colorant rouge sirius 4B.

N°=essai	Date	temps(jr)	$\lambda$	Abs	R%	pH
01	07/06/2008	1	527	0.703	22.49	4.54
02	08/06/2008	2	526	0.518	42.88	6.14
03	09/06/2008	3	525	0.424	53.25	6.67
04	10/06/2008	4	524	0.371	59.09	6.86
05	11/06/2008	5	523	0.318	64.93	6.96
06	14/06/2008	8	521	0.274	69.79	7.05
07	15/06/2008	9	520	0.249	72.54	7.13
08	16/06/2008	10	520	0.203	77.61	7.2

Tableau C.4 : L'effet de  $R_V$  sur le taux de dégradation et le pH de colorant rouge sirius 4B.

Date	temps(jr)	$R_V=0.5$			$R_V=2$			$R_V=3$		
		Abs	R%	pH	Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
16/6/07	1	0.735	18.96	4.19	0.675	27.56	4.23	0.608	32.06	4.25
17/6/07	2	0.664	26.79	6.34	0.486	46.41	4.29	0.403	55.56	3.99
18/6/07	3	0.614	32.30	6.25	0.367	59.53	5.03	0.317	65.04	4.31
19/6/07	4	0.568	37.37	6.22	0.326	64.05	5.65	0.261	71.22	4.36
20/6/07	5	0.511	43.66	6.54	0.266	70.67	6.34	0.219	75.85	4.68
23/6/07	8	0.474	47.73	6.67	0.221	75.63	5.93	0.166	81.69	5.05
24/6/07	9	0.42	53.69	6.94	0.207	77.17	6.81	0.146	83.90	6.2
25/6/07	10	0.377	58.43	6.84	0.146	83.90	7.17	0.12	86.76	6.7

Tableau C.5 : L'effet de la température sur le taux de dégradation et le pH de colorant rouge sirius 4B.

Date	temps(jr)	T=20°C			T=25°C			T=35°C		
		Abs	R%	pH	Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
23/2/08	1	0.769	15.21	6.19	0.703	22.49	4.54	0.647	28.66	4.84
24/2/08	2	0.686	24.36	6.29	0.518	42.88	6.14	0.478	47.29	4.34
25/2/08	3	0.605	33.29	6.44	0.424	53.25	6.67	0.359	60.41	4.57
26/2/08	4	0.505	44.32	6.58	0.371	59.09	6.86	0.291	67.91	5.07
27/2/08	5	0.436	51.92	7.00	0.318	64.93	6.96	0.233	74.31	5.27
1/03/08	8	0.381	57.99	6.86	0.274	69.79	7.05	0.179	80.26	5.87
2/03/08	9	0.371	59.09	6.67	0.249	72.54	7.13	0.133	85.33	6.06
3/03/08	10	0.316	65.15	6.92	0.203	77.61	7.2	0.112	87.65	5.90

Tableau C.6 : L'effet de la lumière sur le taux de dégradation et le pH de colorant rouge sirius 4B.

N°=essai	Date	temps(jr)	Sans lumière			Avec lumière		
			Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
01	08/03/08	1	0.716	21.05	5.52	0.703	22.49	4.54
02	09/03/08	2	0.609	32.85	6.12	0.518	42.88	6.14
03	10/03/08	3	0.511	43.66	6.17	0.424	53.25	6.67
04	11/03/08	4	0.436	51.92	6.22	0.371	59.09	6.86
05	12/03/08	5	0.389	57.11	6.72	0.318	64.93	6.96
06	15/03/08	8	0.361	60.19	6.69	0.274	69.79	7.05
07	16/03/08	9	0.322	64.49	7.00	0.249	72.54	7.13
08	17/03/08	10	0.307	66.15	7.08	0.203	77.61	7.2

Tableau C.7: L'effet de l'agitation+ la température sur le taux de dégradation et le pH de colorant rouge sirius 4B.

Date	temps(jr)	Sans agitation Tam			Avec agitation Tam			Avec agitation T25°		
		Abs	R%	pH	Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
01/3/08	1	0.703	22.49	4.54	0.629	30.65	5.25	0.589	35.06	4.73
02/3/08	2	0.518	42.88	6.14	0.436	51.92	6.15	0.399	56.00	5.10
03/3/08	3	0.424	53.25	6.67	0.371	59.01	6.26	0.327	63.94	5.18
04/3/08	4	0.371	59.09	6.86	0.307	66.15	6.60	0.294	67.58	6.23
05/3/08	5	0.318	64.93	6.96	0.276	69.5	6.79	0.261	71.22	6.50
08/3/08	8	0.274	69.79	7.05	0.234	74.2	6.73	0.178	80.57	6.74
09/3/08	9	0.249	72.54	7.13	0.193	78.72	6.96	0.127	85.99	6.89
10/3/08	10	0.203	77.61	7.2	0.152	83.24	6.97	0.046	94.92	7.25

Colorant bleu cibacette FB Cc=0.04g/l  $\lambda$  =628 Abs =0.517  
pH=6.29.

Tableau C.8 : le taux de dégradation et le pH de colorant bleu cibacette FB.

N°=essai	Date	temps(jr)	$\lambda$	Abs	R%	pH
01	07/06/2008	1	630	0.385	28.82	4.66
02	08/06/2008	2	629	0.303	41.39	6.11
03	09/06/2008	3	628	0.257	50.29	6.33
04	10/06/2008	4	627	0.221	57.25	6.37
05	11/06/2008	5	625	0.201	61.12	6.62
06	14/06/2008	8	624	0.181	64.99	6.82
07	15/06/2008	9	623	0.166	67.89	6.94
08	16/06/2008	10	616	0.130	74.85	6.97

Tableau C.9 : L'effet de  $R_V$  sur le taux de dégradation et le pH de colorant bleu cibacette FB.

Date	temps(jr)	$R_V=0.5$			$R_V=2$			$R_V=3$		
		Abs	R%	pH	Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
6/10/07	1	0.385	25.53	6.30	0.353	31.72	5.95	0.321	37.91	4.97
7/10/07	2	0.341	34.04	5.68	0.283	45.26	4.98	0.246	52.41	4.42
8/10/07	3	0.331	35.97	6.60	0.252	51.25	5.36	0.217	58.02	5.03
9/10/07	4	0.305	41.00	6.71	0.211	59.18	5.73	0.195	62.28	5.32
10/10/07	5	0.261	49.51	6.72	0.196	62.08	5.93	0.180	65.18	5.63
13/10/07	8	0.254	50.87	7.19	0.175	66.15	6.23	0.154	70.21	6.21
14/10/07	9	0.247	52.22	6.84	0.160	69.05	6.44	0.134	74.08	6.02
15/10/07	10	0.238	53.96	7.25	0.143	72.34	6.66	0.180	77.17	6.52

Tableau C.10: L'effet de la température sur le taux de dégradation et le pH de colorant bleu cibacette FB.

Date	temps(jr)	T=20°C			T=25°C			T=35°C		
		Abs	R%	pH	Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
1/03/08	1	0.374	27.65	6.43	0.385	28.82	4.66	0.332	35.78	6.05
2/03/08	2	0.309	40.23	5.73	0.303	41.39	6.11	0.251	51.45	4.14
3/03/08	3	0.292	43.52	6.65	0.257	50.29	6.33	0.203	60.73	4.32
4/03/08	4	0.263	49.12	6.46	0.221	57.25	6.37	0.181	64.99	4.50
5/03/08	5	0.229	55.70	6.73	0.201	61.12	6.62	0.167	67.78	4.73
8/03/08	8	0.216	58.22	7.09	0.181	64.99	6.82	0.139	73.11	4.65
9/03/08	9	0.208	59.76	7.22	0.166	67.89	6.94	0.120	76.78	4.62
10/3/08	10	0.201	61.08	6.63	0.130	74.85	6.97	0.105	79.69	4.43

Tableau C.11 : L'effet de la lumière sur le taux de dégradation et le pH de colorant bleu cibacette FB.

N°=essai	Date	temps(jr)	Sans lumière			Avec lumière		
			Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
01	08/03/08	1	0.381	26.30	6.53	0.385	28.82	4.66
02	09/03/08	2	0.328	36.55	5.57	0.303	41.39	6.11
03	10/03/08	3	0.308	40.42	6.55	0.257	50.29	6.33
04	11/03/08	4	0.265	48.35	6.63	0.221	57.25	6.37
05	12/03/08	5	0.237	54.15	6.68	0.201	61.12	6.62
06	15/03/08	8	0.223	56.86	6.99	0.181	64.99	6.82
07	16/03/08	9	0.215	58.41	6.98	0.166	67.89	6.94
08	17/03/08	10	0.205	60.34	6.86	0.130	74.85	6.97

Tableau C.12 : L'effet de l'agitation+ la température sur le taux de dégradation et le pH de colorant bleu cibacette FB.

Date	temps(jr)	Sans agitation Tam			Avec agitation Tamb			Avec agitation T25°		
		Abs	R%	pH	Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
16/2/08	1	0.385	28.82	4.66	0.350	32.30	6.09	0.314	39.26	6.05
17/2/08	2	0.303	41.39	6.11	0.275	46.80	5.96	0.232	55.12	5.74
18/2/08	3	0.257	50.29	6.33	0.220	75.44	6.28	0.166	67.87	5.90
19/2/08	4	0.221	57.25	6.37	0.191	63.05	6.35	0.145	71.95	6.07
20/2/08	5	0.201	61.12	6.62	0.162	68.66	6.43	0.112	78.33	6.16
23/2/08	8	0.181	64.99	6.82	0.148	71.37	6.68	0.078	84.91	6.29
24/2/08	9	0.166	67.89	6.94	0.123	76.20	6.72	0.073	85.88	6.33
25/2/08	10	0.130	74.85	6.97	0.112	78.33	6.85	0.059	88.58	6.35

Colorant vert Cc=0.09g/l  $\lambda = 588$  Abs =0.695 pH=6.53.

Tableau C.13 : le taux de dégradation et le pH de colorant vert.

N°=essai	Date	temps(jr)	$\lambda$	Abs	R%	pH
01	07/06/2008	1	588	0.519	25.32	5.93
02	08/06/2008	2	588	0.449	35.95	6.32
03	09/06/2008	3	587	0.379	45.46	6.56
04	10/06/2008	4	586	0.325	53.23	6.74
05	11/06/2008	5	585	0.308	55.68	6.85
06	14/06/2008	8	585	0.266	61.72	6.86
07	15/06/2008	9	583	0.238	65.75	6.90
08	16/06/2008	10	582	0.194	72.08	7.10

Tableau C.14 : L'effet de  $R_v$  sur le taux de dégradation et le pH de colorant vert.

Date	temps(jr)	$R_v=0.5$			$R_v=2$			$R_v=3$		
		Abs	R%	pH	Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
8/12/07	1	0.576	17.12	6.27	0.494	28.92	6.27	0.473	31.94	6.36
9/12/07	2	0.478	31.22	5.11	0.371	46.61	4.51	0.322	53.66	4.66
10/12/07	3	0.426	38.70	5.73	0.321	53.81	4.75	0.282	59.42	4.60
11/12/07	4	0.388	44.17	6.09	0.306	55.97	5.75	0.252	63.74	5.43
12/12/07	5	0.359	48.34	7.22	0.281	59.56	7.08	0.231	66.76	6.80
15/12/07	8	0.321	53.81	7.35	0.261	62.44	7.32	0.211	69.64	7.07
16/12/07	9	0.302	56.54	6.50	0.233	66.47	6.20	0.204	70.64	6.09
17/12/07	10	0.286	58.84	7.22	0.187	73.09	6.57	0.170	75.53	6.46



Tableau C.15: L'effet de  $R_v$  sur le taux de dégradation et le pH de colorant vert au 5<sup>ème</sup> jour.

N°=essai	$R_v$	$\lambda$	Abs	R%	pH
01	0.1	628	0.611	12.08	7.69
02	0.25	626	0.514	26.04	7.36
03	0.5	539	0.359	48.34	7.22
04	0.75	588	0.344	50.50	7.53
05	1	585	0.308	55.68	6.74
06	1.25	586	0.288	58.56	6.77
07	1.5	585	0.286	58.84	6.62
08	1.75	585	0.282	59.42	6.77
09	2	583	0.281	59.56	7.08
10	3	583	0.231	66.76	6.50

Tableau C.16: L'effet de la température sur le taux de dégradation et le pH de colorant vert.

Date	temps(jr)	T=20°C			T=25°C			T=35°C		
		Abs	R%	pH	Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
23/2/08	1	0.551	20.71	6.13	0.519	25.32	5.93	0.447	35.68	4.46
24/2/08	2	0.454	34.67	6.06	0.449	35.95	6.32	0.325	53.23	5.11
25/2/08	3	0.412	40.71	6.28	0.379	45.46	6.56	0.280	59.71	5.35
26/2/08	4	0.389	44.02	6.47	0.325	53.23	6.74	0.244	64.89	5.52
27/2/08	5	0.370	46.76	6.72	0.308	55.68	6.85	0.228	67.19	5.68
1/03/08	8	0.347	50.07	6.93	0.266	61.72	6.86	0.174	74.96	6.09
2/03/08	9	0.329	52.66	7.01	0.238	65.75	6.90	0.167	75.97	6.14
3/03/08	10	0.286	58.84	7.22	0.194	72.08	7.10	0.154	77.84	5.45

Tableau C.17 : L'effet de la lumière sur le taux de dégradation et le pH de colorant vert.

N°=essai	Date	temps(jr)	Sans lumière			Avec lumière		
			Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
01	08/03/08	1	0.517	25.61	6.55	0.519	25.32	5.93
02	09/03/08	2	0.452	34.96	6.60	0.449	35.95	6.32
03	10/03/08	3	0.426	38.70	6.63	0.379	45.46	6.56
04	11/03/08	4	0.396	43.02	6.86	0.325	53.23	6.74
05	12/03/08	5	0.375	46.04	6.83	0.308	55.68	6.85
06	15/03/08	8	0.328	52.80	6.97	0.266	61.72	6.86
07	16/03/08	9	0.302	56.54	7.01	0.238	65.75	6.90
08	17/03/08	10	0.267	61.58	7.21	0.194	72.08	7.10

Tableau C.18: L'effet de l'agitation+ la température sur le taux de dégradation et le pH de colorant vert.

Date	temps(jr)	Sans agitation Tam			Avec agitation Tam			Avec agitation T25°		
		Abs	R%	pH	Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
15/3/08	1	0.519	25.32	5.93	0.433	37.69	6.29	0.424	38.99	6.14
16/3/08	2	0.449	35.95	6.32	0.370	46.76	6.18	0.334	51.94	6.63
17/3/08	3	0.379	45.46	6.56	0.312	55.10	6.93	0.275	60.43	7.11
18/3/08	4	0.325	53.23	6.74	0.276	60.28	7.13	0.210	69.78	7.34
19/3/08	5	0.308	55.68	6.85	0.245	64.74	7.08	0.182	73.81	7.31
22/3/08	8	0.266	61.72	6.86	0.207	70.21	6.21	0.165	76.25	6.30
23/3/08	9	0.238	65.75	6.90	0.199	71.36	6.02	0.142	79.56	6.23
24/3/08	10	0.194	72.08	7.10	0.180	74.10	6.52	0.138	80.14	6.53

Colorant jaune célliton G Cc=0.05g/l  $\lambda$  =340 Abs = 0.950 pH=6.62.

Tableau C.19 : le taux de dégradation et le pH de colorant jaune célliton G .

N°=essai	Date	temps(jr)	$\lambda$	Abs	R%	pH
01	07/06/2008	1	344	0.755	20.52	6.33
02	08/06/2008	2	344	0.567	40.31	6.36
03	09/06/2008	3	342	0.488	48.63	6.41
04	10/06/2008	4	341	0.418	56.00	6.51
05	11/06/2008	5	340	0.389	59.05	6.57
06	14/06/2008	8	340	0.335	64.73	6.59
07	15/06/2008	9	399	0.314	66.94	6.60
08	16/06/2008	10	394	0.267	71.89	6.75

Tableau C.20: L'effet de  $R_v$  sur le taux de dégradation et le pH de colorant jaune célliton G.

Date	temps(jr)	$R_v=0.5$			$R_v=2$			$R_v=3$		
		Abs	R%	pH	Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
6/10/07	1	0.852	10.31	6.46	0.726	23.57	6.24	0.696	26.73	6.20
7/10/07	2	0.804	15.36	5.12	0.711	25.15	5.62	0.551	42.00	5.08
8/10/07	3	0.702	26.10	6.21	0.626	34.10	6.25	0.473	50.21	6.50
9/10/07	4	0.616	35.15	6.52	0.472	50.31	6.81	0.377	60.31	6.64
10/10/07	5	0.520	45.26	6.56	0.373	60.73	6.83	0.331	65.15	6.77
13/10/07	8	0.393	58.63	6.83	0.318	66.52	6.85	0.244	74.31	6.89
14/10/07	9	0.342	64.00	7.07	0.280	70.52	6.91	0.228	76.00	6.91
15/10/07	10	0.332	65.05	7.12	0.256	73.05	7.07	0.209	78.00	6.97

Tableau C.21: L'effet de la température sur le taux de dégradation et le pH de colorant jaune célliton G.

Date	temps(jr)	T=20°C			T=25°C			T=35°C		
		Abs	R%	pH	Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
1/03/08	1	0.666	29.89	6.25	0.755	20.52	6.33	0.625	34.21	5.17
2/03/08	2	0.519	45.36	6.27	0.567	40.31	6.36	0.472	50.31	5.12
3/03/08	3	0.479	49.57	6.51	0.488	48.63	6.41	0.375	60.52	4.79
4/03/08	4	0.435	54.21	6.55	0.418	56.00	6.51	0.318	66.52	4.71
5/03/08	5	0.427	55.05	6.61	0.389	59.05	6.57	0.280	70.52	50.1
8/03/08	8	0.385	59.47	6.62	0.335	64.73	6.59	0.218	77.05	6.37
9/03/08	9	0.325	65.78	6.78	0.314	66.94	6.60	0.207	78.21	6.78
10/3/08	10	0.304	68.00	7.21	0.267	71.89	6.75	0.188	80.21	7.07

Tableau C.22 : L'effet de la lumière sur le taux de dégradation et le pH de colorant jaune célliton G.

N°=essai	Date	temps(jr)	Sans lumière			Avec lumière		
			Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
01	08/03/08	1	0.751	20.94	6.05	0.755	20.52	6.33
02	09/03/08	2	0.676	28.84	6.25	0.567	40.31	6.36
03	10/03/08	3	0.604	36.42	6.35	0.488	48.63	6.41
04	11/03/08	4	0.559	41.15	6.36	0.418	56.00	6.51
05	12/03/08	5	0.520	45.26	6.51	0.389	59.05	6.57
06	15/03/08	8	0.411	56.73	6.57	0.335	64.73	6.59
07	16/03/08	9	0.361	62.00	6.70	0.314	66.94	6.60
08	17/03/08	10	0.340	64.21	6.85	0.267	71.89	6.75

Tableau C.23 : L'effet de l'agitation+ la température sur le taux de dégradation et le pH de colorant jaune célliton G.

Date	temps(jr)	Sans agitation Tam			Avec agitation Tam			Avec agitation T25°		
		Abs	R%	pH	Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
16/2/08	1	0.755	20.52	6.33	0.644	32.21	6.31	0.608	36.00	6.22
17/2/08	2	0.567	40.31	6.36	0.501	47.26	6.34	0.462	51.36	6.26
18/2/08	3	0.488	48.63	6.41	0.402	57.68	6.45	0.342	64.00	6.32
19/2/08	4	0.418	56.00	6.51	0.342	64.00	6.60	0.288	69.68	6.40
20/2/08	5	0.389	59.05	6.57	0.285	70.00	6.83	0.232	75.57	6.63
23/2/08	8	0.335	64.73	6.59	0.232	75.57	6.85	0.179	81.15	6.85
24/2/08	9	0.314	66.94	6.60	0.208	78.10	7.07	0.156	83.57	7.04
25/2/08	10	0.267	71.89	6.75	0.198	79.15	7.21	0.143	84.94	7.07

Rejet      Fd= 50%       $\lambda = 630$       Abs = 1.456      pH=8.28.

Tableau C.24 : le taux de dégradation et le pH de rejet.

N°=essai	Date	temps(jr)	$\lambda$	Abs	R%	pH
01	07/06/2008	1	630	0.893	38.66	8.08
02	08/06/2008	2	630	0.776	46.70	8.00
03	09/06/2008	3	630	0.640	56.54	7.88
04	10/06/2008	4	630	0.531	63.53	7.82
05	11/06/2008	5	630	0.491	66.27	7.68
06	14/06/2008	8	630	0.411	71.77	7.58
07	15/06/2008	9	630	0.355	75.61	7.49
08	16/06/2008	10	630	0.346	76.23	7.42

Tableau C.25: L'effet de  $R_V$  sur le taux de dégradation et le pH de rejet.

Date	temps(jr)	$R_V=0.5$			$R_V=2$			$R_V=3$		
		Abs	R%	pH	Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
24/5/08	1	1.077	26.03	8.28	0.869	40.31	7.73	0.858	41.07	7.17
25/5/08	2	0.927	36.33	8.08	0.761	47.73	7.83	0.714	50.96	7.23
26/5/08	3	0.828	43.13	7.90	0.620	57.41	7.84	0.580	60.16	6.66
27/5/08	4	0.775	46.77	7.98	0.496	65.93	7.90	0.495	66.00	7.04
28/5/08	5	0.714	50.96	7.73	0.475	67.37	7.93	0.450	69.09	7.37
30/5/08	8	0.671	53.91	7.68	0.402	72.39	7.57	0.378	74.03	7.77
01/6/08	9	0.629	56.79	7.57	0.338	76.78	7.58	0.327	77.54	7.63
02/6/08	10	0.599	58.85	7.49	0.324	77.74	7.42	0.305	79.05	7.57

Tableau C.26: L'effet de la température sur le taux de dégradation et le pH de rejet.

N°=essai	Date	temps(jr)	T=20°C			T=25°C		
			Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
01	2/02/08	1	0.945	35.09	7.90	0.893	38.66	8.08
02	3/02/08	2	0.888	39.01	7.88	0.776	46.70	8.00
03	4/02/08	3	0.789	45.81	7.73	0.640	56.54	7.88
04	5/02/08	4	0.714	50.96	7.80	0.531	63.53	7.82
05	6/02/08	5	0.667	54.18	7.57	0.491	66.27	7.68
06	9/02/08	8	0.573	60.64	7.49	0.411	71.77	7.58
07	10/2/08	9	0.538	63.04	6.93	0.355	75.61	7.49
08	11/2/08	10	0.496	65.93	7.06	0.346	76.23	7.42

Tableau C.27: L'effet de la lumière sur le taux de dégradation et le pH de rejet

N°=essai	Date	temps(jr)	Sans lumière			Avec lumière		
			Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
01	16/2/08	1	1.018	30.08	8.28	0.893	38.66	8.08
02	17/2/08	2	0.828	43.13	8.06	0.776	46.70	8.00
03	18/2/08	3	0.740	49.17	7.83	0.640	56.54	7.88
04	19/2/08	4	0.667	54.18	7.90	0.531	63.53	7.82
05	20/2/08	5	0.596	59.06	7.98	0.491	66.27	7.68
06	23/2/08	8	0.524	64.01	7.73	0.411	71.77	7.58
07	24/2/08	9	0.495	66.50	7.57	0.355	75.61	7.49
08	25/2/08	10	0.475	67.37	7.62	0.346	76.23	7.42

Tableau C.28: L'effet de l'agitation+ la température sur le taux de dégradation et le pH de rejet.

N°=essai	Date	temps(jr)	Sans agitation Tamb			Avec agitation Tamb		
			Abs	R%	pH	Abs	R%	pH
01	09/2/08	1	0.893	38.66	8.08	0.843	42.10	6.78
02	10/2/08	2	0.776	46.70	8.00	0.711	51.16	6.64
03	11/2/08	3	0.640	56.54	7.88	0.538	63.04	6.69
04	12/2/08	4	0.531	63.53	7.82	0.475	67.37	6.71
05	13/2/08	5	0.491	66.27	7.68	0.431	70.39	6.71
06	16/2/08	8	0.411	71.77	7.58	0.336	76.92	6.76
07	17/2/08	9	0.355	75.61	7.49	0.303	79.18	6.90
08	18/2/08	10	0.346	76.23	7.42	0.281	80.70	6.82

Colorant naturel betterave rouge Cc= 0.169 g/l  $\lambda$  =536 Abs = 0.883 pH=6.05.

Tableau C.29 : le taux de dégradation et le pH de rejet.

N°=essai	Date	temps(jr)	$\lambda$	Abs	R%	pH
01	07/06/2008	1	536	0.484	45.18	4.63
02	08/06/2008	2	536	0.345	60.92	3.83
03	09/06/2008	3	535.5	0.273	69.87	3.67
04	10/06/2008	4	535	0.206	76.67	3.57
05	11/06/2008	5	529	0.163	81.54	5.22
06	14/06/2008	8	525	0.082	90.71	5.35
07	15/06/2008	9	524	0.075	91.50	6.24
08	16/06/2008	10	518	0.057	93.54	6.56

Tableau C.30 : L'influence de l'incubation de la couche bactérienne sur les taux de dégradation des colorants.

temps(jr)	R% bleu	R% rouge	R%jaune	R%vert	R% BR	R% rejet
1	24.75	27.01	15.89	19.13	45.18	25.82
2	41.19	46.3	36.73	34.1	60.92	50.96
3	60.15	62.73	50.42	53.52	69.87	65.93
4	67.11	71.22	58.31	62.15	76.67	73.14
5	74.08	80.26	62.21	68.48	81.54	77.54
8	81.04	86.54	74.52	76.11	90.71	87.61
9	83.55	87.1	77.15	79.13	91.5	88.11
10	84.71	88.75	79.05	80.43	93.54	89.62

Tableau C.31: Matrice d'expérience et résultats des essais : plans factoriel 2<sup>3</sup> du colorant rouge sirus 4B.

N=°Essai	Agitation	R <sub>air</sub>	T=°	Abs	R%	pH
01	-1	-1	-1	0.567	37.48	7.16
02	+1	-1	-1	0.426	53.03	7.41
03	-1	+1	-1	0.415	54.24	7.65
04	+1	+1	-1	0.304	66.48	6.94
05	-1	-1	+1	0.405	55.34	7.07
06	+1	-1	+1	0.301	66.81	6.87
07	-1	+1	+1	0.283	68.79	7.26
08	+1	+1	+1	0.178	80.37	6.93

Tableau C.32: Matrice d'expérience et résultats des essais : plans factoriel 2<sup>5</sup> du colorant Jaune célliton G

N=°Essai	Facteurs					Réponses	
	R <sub>v</sub>	T=°	R <sub>air</sub>	Lumière	Agitation	Abs	R%
01	-1	-1	-1	-1	-1	0.641	32.52
02	+1	-1	-1	-1	-1	0.619	34.84
03	-1	+1	-1	-1	-1	0.573	39.68
04	+1	+1	-1	-1	-1	0.552	41.89
05	-1	-1	+1	-1	-1	0.515	45.78
06	+1	-1	+1	-1	-1	0.490	48.42
07	-1	+1	+1	-1	-1	0.335	43.68
08	+1	+1	+1	-1	-1	0.381	59.89
09	-1	-1	-1	+1	-1	0.628	33.89
10	+1	-1	-1	+1	-1	0.550	42.10
11	-1	+1	-1	+1	-1	0.600	36.84
12	+1	+1	-1	+1	-1	0.436	54.10
13	-1	-1	+1	+1	-1	0.512	46.10
14	+1	-1	+1	+1	-1	0.399	58
15	-1	+1	+1	+1	-1	0.416	56.21
16	+1	+1	+1	+1	-1	0.293	69.15

17	-1	-1	-1	-1	+1	0.538	43.36
18	+1	-1	-1	-1	+1	0.501	47.26
19	-1	+1	-1	-1	+1	470.	50.52
20	+1	+1	-1	-1	+1	0.433	54.42
21	-1	-1	+1	-1	+1	0.510	4631
22	+1	-1	+1	-1	+1	0.387	59.26
23	-1	+1	+1	-1	+1	0.432	54.52
24	+1	+1	+1	-1	+1	0.309	67.47
25	-1	-1	-1	+1	+1	0.525	44.73
26	+1	-1	-1	+1	+1	0.402	57.68
27	-1	+1	-1	+1	+1	0.497	47.68
28	+1	+1	-1	+1	+1	0.346	63.57
29	-1	-1	+1	+1	+1	0.409	56.94
30	+1	-1	+1	+1	+1	0.260	72.63
31	-1	+1	+1	+1	+1	0.326	65.68
32	+1	+1	+1	+1	+1	0.203	78.68

Tableau C.34 : Matrice d'expérience et résultats des essais : plans factoriel 2<sup>5</sup> du colorant vert

N=°Essai	Facteurs					Réponses	
	R <sub>v</sub>	T=°	R <sub>air</sub>	Lumière	Agitation	Abs	R%
01	-1	-1	-1	-1	-1	0.445	35.97
02	+1	-1	-1	-1	-1	0.434	37.55
03	-1	+1	-1	-1	-1	0.420	39.56
04	+1	+1	-1	-1	-1	0.385	44.60
05	-1	-1	+1	-1	-1	0.411	40.93
06	+1	-1	+1	-1	-1	0.387	44.31
07	-1	+1	+1	-1	-1	0.432	37.84
08	+1	+1	+1	-1	-1	0.300	56.82
09	-1	-1	-1	+1	-1	0.418	39.85
10	+1	-1	-1	+1	-1	0.391	43.74
11	-1	+1	-1	+1	-1	0.414	40.43
12	+1	+1	-1	+1	-1	0.336	51.65
13	-1	-1	+1	+1	-1	0.389	44.02
14	+1	-1	+1	+1	-1	0.336	51.65
15	-1	+1	+1	+1	-1	0.376	45.89
16	+1	+1	+1	+1	-1	0.270	61.15
17	-1	-1	-1	-1	+1	0.391	43.74
18	+1	-1	-1	-1	+1	0.351	49.49
19	-1	+1	-1	-1	+1	0.344	50.50
20	+1	+1	-1	-1	+1	0.274	60.57
21	-1	-1	+1	-1	+1	0.295	57.55
22	+1	-1	+1	-1	+1	0.272	60.86
23	-1	+1	+1	-1	+1	0.322	53.66
24	+1	+1	+1	-1	+1	0.189	72.80
25	-1	-1	-1	+1	+1	0.337	51.51
26	+1	-1	-1	+1	+1	0.281	59.56
27	-1	+1	-1	+1	+1	0.307	55.81

28	+1	+1	-1	+1	+1	0.218	68.63
29	-1	-1	+1	+1	+1	0.273	60.67
30	+1	-1	+1	+1	+1	0.224	67.76
31	-1	+1	+1	+1	+1	0.261	62.44
32	+1	+1	+1	+1	+1	0.144	79.28

Tableau C.35 : Résultats des ANOVA du colorant bleu

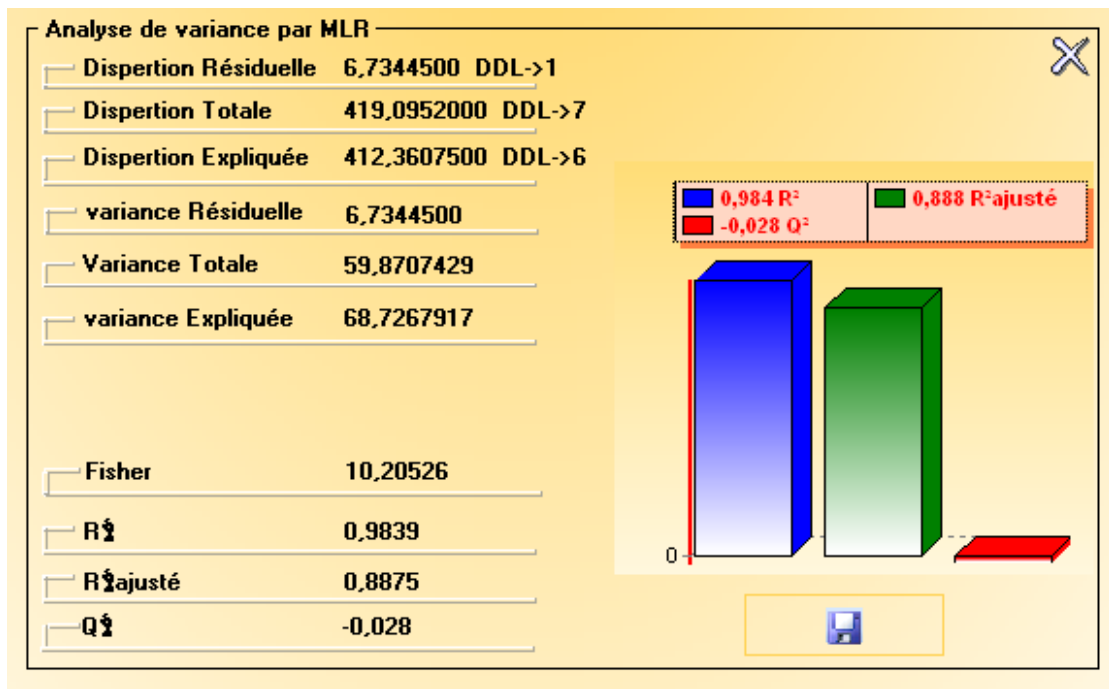
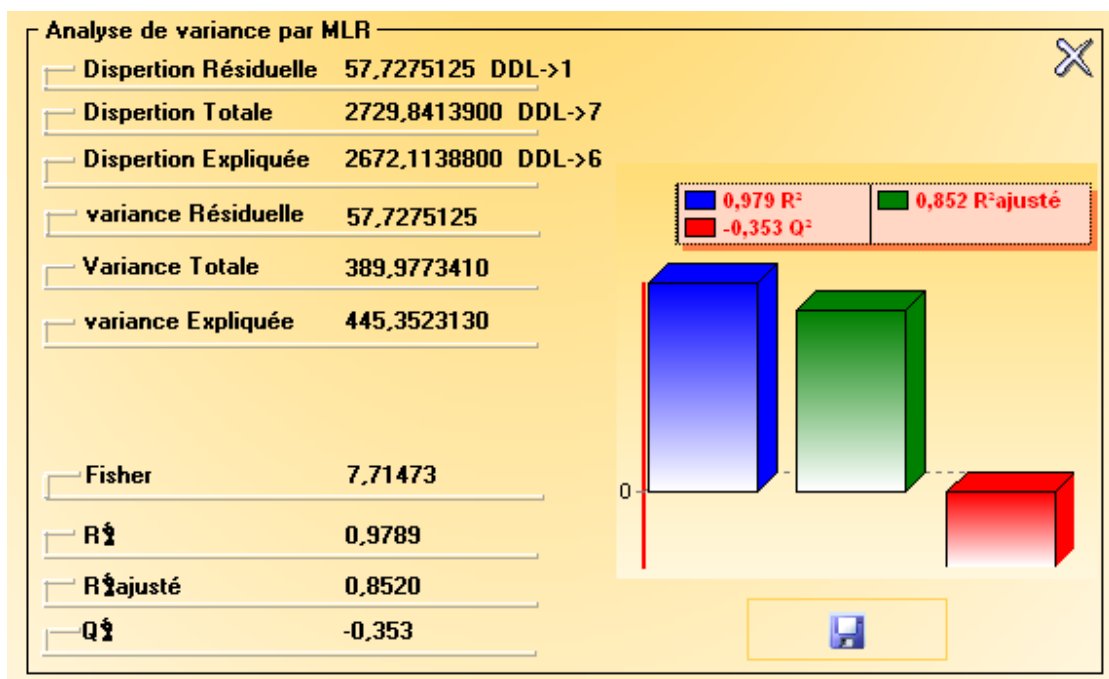


Tableau C.36 : Résultats des ANOVA du colorant rouge





## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. S. Kacha. M.S. Ouali et S.Elmaleh ; « Élimination des colorants des eaux résiduelles de l'industrie textile par la bentonite et des sels d'Aluminium ». Laboratoire des matériaux et de la catalyse. Institut des Sciences Exactes, Université de Sidi Bel\_Abbés, Revue des sciences de l'eau 2 (2004) pp:233-248.
2. Xueheng Zhao; « Biodegradation of a model azo disperse dyes by the white rot fungus *pleurotus ostreatus* ». Department of Biology, Jackson state university, Jackson USA (2006),pp1-6.
3. Hedi Ben Mansour ; « Evaluation of genotoxicity and pro-oxidant effect of the azo dyes:Acids yellow 17, violet 7 and orange 52, and of their degradation products by *Pseudomonas putida* mt-2 » ; Unité de Recherche Pharma-cognosiel , Biologie moléculaire, Faculté de Pharmacie, Université de Monastir , Tunisia (2007) ; pp 1670–1677.
4. Zawlotzki Guivarch, E ; « Traitement des polluants organiques en milieux aqueux par procédé électrochimique d'oxydation avancée Electro-Fenton. Application à la minéralisation des colorants synthétiques» ; Thèse de Doctorat, Institut Francilien des Géosciences, (24 Septembre 2004), Université de Marne-La-Vallée.
5. CARLIELL C.M., BARCLAY S.J., NAIDOO N., *et al* ; « Microbial decolonization of a reactive azo dye under anaerobic conditions. » ; *Water SA*, (1995),pp 21, 1, 61-69
6. CAPON M., COURILLEU V., VALETTE C. ; « *Chimie des couleurs et des odeurs*»; Nantes, Culture et technique, (1999).
7. Jean- Jacques Donzé ; «Colorants de textiles» ; Technique d'ingénieur K350.1 (2007).
8. AZBAR N., YONAR T., KESTIOGLU K. ; «Comparison of various oxidation processes and chemical treatment methods for COD and color removal form a polyester and acetate fiber dyeing effluent » ; *Chemosphere*, (2004),pp 55, 1, 35-43.
9. S. Asad ; « Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria » ; department of biotechnology, School of Biology, University College of Science, University of Tahrán, Iran , (2007) ; pp 2082–2088.
10. U.U.Jadhax and al ; « Biodegradation Direct Red 5B,a textile dye newly isolated *comamonas* sp uvs » ; department of Biochemistry, Shivaji University, Kolhapur, India, (2007),pp 1-33.

11. Amit Bafana; « Biological decolourization of C.I. Direct Black 38 by *E.gallinarum* »; Environmental Biotechnology Division, National Environmental Engineering Research Institute, Nagpurn India (2008), pp 1-7
12. Anjali Pandey , ; « Review of Bacterial decolorization and degradation of azo dyes »; Department of Chemistry, Biotechnology Laboratory, I.I.T., Kanpur 208016, India ; (2007) ;pp 73–84.
13. G.M. Walker ; « Biodegradation and biosorption of anthraquinone dyes »; Scool of Chiminal Enginneering , the Queen's University of Belfast ,Northern Ireland, U.K (2000), pp 219-223.
14. D.C.Kalyani; « Biodegradation of reactive textile dyes Red .BLI. By an isolated bacterium *pseudomonas. Sp. Suk 1* »; department of Biochemistry, Shivaji University, Kolhapur, India, (2007).
15. G.K.Parashetti et al ; « Biodegradation of Reactive bleu-25 by *Aspergillus Ochraceus NCIM-1146* »; department of Biochemistry, Shivaji University, Kolhapur, India, (2007).pp 3638-3642.
16. Franciscon Elisangela ; « Biodegradation of textile azo dyes by a facultative *Staphylococcus arlettae. Strain VN-11* Using a seauential micro aerophilic/aerobic process »; Campinas State university , Department of Food Science , São Paulo, Brizil ,(2009) .pp280-288.
17. M.Adosinda et al; « Biodegradation of bioaccessible textile azo dyes by *phonerochaete chrysosporuim* »; Institute of Biotechnology and Fin Chemistry (IBQF), University of Minho, Braga , Portogal (2001) ;pp 91–98.
18. BAUER C., JACQUES P., KALT A; « Photooxidation of an azo dye induced by visible light incident on the surface of  $TiO_2$ . »; *J. Photochem. Photobiol. A: chem.*, (2001),pp 140, 87-92.
19. SQNIR.K et BANERJEE .U.C ; « Declorization of Triphenyl methane dyes and textile dye-stuff effluent by *Kurthia S.P*»; *Enzyme and microbial Tech* (2001), pp24, 433-437.
20. Amara, A. ; « Les technologies de traitement et réutilisation des eaux usées épurées en Algérie » ; Journées scientifiques Safex (Alger), (21-23 Juin 2005).
21. Dif, M.Y ; « L'eau et l'industrie» ; Journées scientifiques Safex (Alger), (21-23 Juin 2005).
22. Labibe I ; « Etude de la cinétique de dégradation photocatalitique de quelque colorants synthétiques » ; Thèse de magister, Département de Chimie Industrielle, Université de Blida, (2006). Page 36.
23. Chulhwan Park ; « Biodegradation and biosorption for decolorization of synthetic dyes by *Funalia trogii* » ; *Green Engineering Team, Korea Institute of*

*Industrial Technology (KITECH), Chonan 330-825, Republic of Korea Biochemical Engineering Journal 36 ; (2007) ; pp 59–65.*

24. D.Georgiou et al; « Microbial Immobilization in two stages fixed by reactor pilot plant for on-site anaerobic decoloriwater of textile waste water » ; a review , *Enzyme and Microbial Technology*37(2005), pp 597-605.

25. Gary D. Bending; « Microbial aspects of the interaction between soil depth and biodegradation of the herbicide isoproturon » ; (2006) ; page141.

26. SERVAIS P ; « La matière organique dans les milieux naturels. » ; Presse de l'école nationale des ponts et chaussées, (octobre 1999), page 49.

27. GANESH R ; « Fate of azo dye in sludges » ; Th : Chim. : Virginia polytechnic institute and state university, (1992), page 193.

28. BROWN M.A., DEVITO S.C. ; « Predicting azo dye toxicity. » ; *Critical review in Environ. Sc. And Techn.*, (1993),pp 12, 3, 405- 414.,

29. Mostapha.M.El\_Sheekh; « Biodegradation of dyes by some green algae and cyanobacteria »; Botany Department, Faculty of Science, Tanta University, Egypt. (2009), pp 699-704.

30. MILLS C., BULL R.J., CANTOR K.P., *et al.* ; « Risques pour la santé liés à la consommation de sous-produits de la chloration de l'eau potable »; rapport d'un groupe d'experts. *Maladie chronique au canada*, (1998),pp 19, 3.

31. U.S.ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY; « Manual Best management practices for pollution prevention in the textile industry»; EPA/625/R-96/004, Septembre (1996).

32. BARCLAY S., BUCKLEY C. ; «Waste minimization guide for the textile industry »; a step towards cleaner production, the pollution research group, University of Natal Durban, For the south African.Water Research Commission, (Janvier 2000), Volume 1.

33. KURBUS T., SLOKAR Y.M., LE MARECHAL A.M. ; « The study of the effect of the variables on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV decoloration of vinylsulphone dye »; part II. *Dyes Pigments*, (2002), pp 54, 67-78.

34. TAYLOR J.S.; JACOBS E.P ; « *Water treatment membrane processes* »; New York : McGraw-Hill, (1996), pp 9,1-9,70.

35. VAN DER BRUGGEN.B, LEJON.L,VANDECASTEELE.C. Reuse; « Treatment and discharge of the concentrate of pressure-driven membrane processes. »; *Environ. Sci. Techn.*, (2003), pp 37, 17, 3733-3738.

36. ANSELME C., JACOBS E.P.; « *Water treatment membrane processes* »; New York : McGraw Hill Mallevialle, (1996), pp 401-1087.

37. KOBAYAN.M, TANER.O.C.Y et BAYRAMOGLU.M. ; « Treatment of textile waste waters by Electrocogulation using iron and aluminum electrodes »; journal of hazardous materials B100. (2008), pp 163-178.
38. RAGHAVACHARYA C.; « Color removal form industrial effluents »; a comparative review of available technologies. *Chem. Eng. World*, (1997),pp 32,53-54.
39. HAOO.J., KIM H, CHIANG P.C.; « Decolorization of wastewater. »; *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*(2000),pp 30, 4, 449-505.
40. J. Avon et al ; « Adsorption isotherme de l'acide acétique par des charbons d'origine végétale »; African journal of Science and Technology (AJST). Science and Engineering series (2007), Vol 2, N2, pp 1-7.
41. A.H. Essadki, M.Bennajah, B.Gourich. et autre ; « Electrocogulation / electroflotation in an externalloop airlift reactor-Applcation to the decolorization of textile dye wastewater : a case study »; *Chemical Engineering and Processing*47 (2008).pp 1211-1223.
42. ECKENFELDER W.W; « Chemical oxidation »; Lancaster : Eckenfelre, Bowers, Roth, Technomic Publishinf Company Inc.(1998), pp 1-10.
43. NEYENS E., BAEYENS J., WEEMAES M., DE HEYDER B.; « Pilot-scale peroxidation (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) of sewage sludge »; *J. Hazard. Mat. B.*(2003),pp 91-106.
44. HAMADA K., NISHIZAWA M., YOSHIDA D., MITSUISHI M; «Degradation of an azo dye by sodium hypochlorite in aqueous surfactant solutions. »; *Dyes and Pigments*, (1998), pp 36, 313-322.
45. Monique Tardut.Henry Et al. ; « Chimie des eaux »; le Griffon d'argile canada,(1992).
46. HITZ H.R., HUBER W., REED R.H. ; « The absorption of dyes on activated sludges. »; *J. Soc. Dyers and colorists.*, (1998), pp 94, 2, 71-76.
47. E.Limarska. Bizukojc , M.Bizukojc , S. Ledakowicz ; « Kinetic model for the process of aerobic biodegradation of organic fraction of municipal solid waste »; *Bioprocess and Biosystems Engineering* (2001), Vol 24.pp 195-202.
48. PAGGA U., TAEGER K; « Development of a method for adsorption of dyestuffs on activated sludge. »; *Wat. Res.*, (1994),pp 28, 5, 1051-1057.
49. WEBER E., WOLFE N.L.; « Kinetic studies of reduction of aromatic azo compounds in anaerobic sediment/water systems. »; *Environ. Toxicol. Techn.* (2009), pp 6, 911-920.
50. VENCESLAU M.C., TOM S., SIMON J.J.; « Characterization of textile wastewater »;- a review. *Environ. Technol.*, (1994),pp 15, 917-

51. G.L.Okpokwasili , C.O.Nweke.; « Microbial growth and substrate utilization kinetics »; African journal of Biotechnology.(2005).
52. Grady C.P.L ;« Biodegradation:its measurement and micro biological basis » ; Biotechnol.Bioeng, (1985), pp 660-674.
53. R.GOURDON-LAEPSI;«Aide à la définition des déchets dits biodégradables, fermentescibles, méthanisables ,composables»;(INSA de LYON);RE.CO.R.D.(2002).
54. Jérôme LABANOWSKI ; « Matière organique naturelle et anthropique: vers une meilleure compréhension de sa réactivité et de sa caractérisation »; Thèse de doctorat , Université de LIMOGES, Faculté des Sciences et Techniques (2004).pp
55. Philippe, Namour ; « Auto\_Epuration des rejets organiques domestiques: Nature et effet de la matière organique résiduaire en rivière »; Thèse de doctorat, Paris, France, (2004).
56. Sophie Grima, ;« biodégradation de matériaux polymères a usage agricole : étude et mise au point d'une nouvelle méthode de test, Analyse des produits de dégradation et impacte environnementale. »; Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse .spécialité : science des agro ressources, (2002), page17.
57. Marschner B. & Kalbitz K. ;« Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. »; *Geoderma*, (2003).pp 113, 211-235.
58. Lin G-Y; « Anaerobic digestion of landfill leachate. »; *Water SA*, (1991),pp 17, 301-306.
59. Huang L-N., Zhou H., Chen Y-Q., Luo S., Lan C-Y. & Qu L-H.;« Diversity and structure of the archaeal community in the leachate of a full-scale recirculating landfill as examined by direct 16S rRNA gene sequence retrieval. »; *FEMS Microbiology letters*, (2002),pp 214, 235-240.
60. Volk C.J;« Biodegradable dissolved organic carbon in drinkingwater. »; In : *The Encyclopaedia of Environmental Microbiology*. Bitton G. (Eds), Wiley and Sons, New York, (2002),pp 484-507.
61. Escobar I.C. & Randall A.A ;« Assimilable organic carbon (AOC) and biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) complementary measurements.»; *Wat Res.*, 35(18), (2001),pp 4444-4454.
62. Alexander.M. ;« Biodegradation of organic chemicals. »; *Environmental Science & Technology* , (1999), pp 106-111.
63. Pelmont J. ; « *Bactéries et environnement. Adaptations physiologiques.* »; Presses universitaires de Grenoble. (1993).

64. Schnitzer M.; « Soils organic matter - The next 75 years. »; *Soil Sci.*, (1991), pp 151, 41-58.
65. Escobar I.C., Randall A.A. & Taylor J.S.; « Bacterial growth in distribution systems: Effect of assimilable organic carbon and biodegradable dissolved organic carbon. »; *Environ. Sci. Technol.* 35, (2001) , pp 3442-3447.
66. Sturm R.N.; « Biodegradability of non ionic surfactant: screening test for predicting rate and ultimate degradation. »; *J. Oil Chem. Soc.*, 50, (1973),pp 159-167.
67. Boni M.R. & Musmeci L; « Organic fractions of municipal solid waste (OFMSW) extend of biodegradation. »; *Waste Manage. Res.*, 16(2), (1998), pp 103-107.
68. Filip Z., Pecher W. & Berthelin J. ; « Microbial utilization and transformation of humic acidlike substances extracted from a mixture of municipal refuse and sewage sludge disposed of in a landfill. »; *Environ. Pollut.*, 109, (2000), pp 83-89
69. Charrière.B. ; « Les composés phénoliques marqueurs de la matière organique terrestre dans deux écosystème marines : Le delta du Rhône et le prodelta de la Tét. »; Thèse de doctorat n=°444.Institut national polytechnique de Toulouse, (1997), pp 49-181.
70. Calvet R ; « le sol propriétés et fonctions. »; Tome 2, phénomène physiques et chimiques, application agronomique et environnementale. Editions France Agricole, (2003), page 389.
71. CLAUDE.C. ; « Les traitements de l'eau. »; Edition Ellipse , Paris, (2008), pp 249.259.
72. EDELINIE.F ; « L'épuration des eaux résiduaires. »; théorie et technologie 3<sup>eme</sup> édition .La voisier. Tec et Doc, Paris, (2008), pp 308.
73. Pelmont J ; « bactéries et environnement .adaptation physiologiques. »; Vol 2, office des publications universitaires, (2005), pages : 799-800.
74. Gary D. Bending , M. Sonia Rodriguez-Cruz 1 ; « Microbial aspects of the interaction between soil depth and biodegradation of the herbicide isoproturon. »; ,science direct , (2006) , page 91.
75. Alexander M ; « Non biodégradable and other recalcitrant molécules. »; *Biotechnol,Bioeng*, (2003), page:611-615.
76. Boon.P.I. ; « Organic matter degradation and nutrient regeneration in Australian fresh water. »; T. Methods for exo-enzyme assays in turbid aquatic environments , *Archiv for Hyrobiologie*,115 , (1998) , pp 339-359.
77. Goulet, Jacques ; « Étude de la capacité de deux souches de levures à dégrader le xylène. »; Copyright Marie-Hélène ; Université Laval , Maîtrise en

microbiologie agricole, Département des sols et génie agroalimentaire, Faculté des sciences de l'agriculture et l'alimentation, (2003).

78. R. Scribon ; « Biotechnologie. »; TECH et DOC, Paris, (1999).

79. JAQUES GOUPY; Livre« Plans d'expériences pour surfaces de réponse » ; DUNOD.

80. Cheriet. B.S. ; « Modélisations et caractérisation de dépôt dans un réacteur a plasma RF: Utilisation de la méthode des plans d'expériences » ; Thèse de magister Département de Chimie Industrielle, Université de Blida, (2005).

#### 4.5. Identification des souches bactériennes

##### 4.5.1. Examen bactérioscopique

##### 4.5.1.1. Examen macroscopique des colonies

Après 24h d'incubation, la lecture à l'œil nu des boîtes de Petri nous a amené à distinguer 3 types de colonies différentes selon leurs morphologies (consistance, taille, couleur, et forme). Le tableau 4.12 récapitule les caractéristiques morphologiques de ces trois souches :

Tableau 4.12 : les caractéristiques morphologiques des trois souches bactériennes.

Examen	Paramètre	Souche 1	Souche 2	Souche 3
Morphologie des colonies sur GN+EB	Consistance	Grasse	Glaireuse	Grasse
	Taille	Très fine	Moyenne	Grande
	Couleur	Crème	Crème	Crème
	Forme	Arrondie	Circulaire régulière bombée	Circulaire irrégulière à dépression centrale
Morphologie des colonies sur GN	Consistance	Grasse	Glaireuse	Grasse
	Taille	Très fine	Moyenne	Moyenne
	Couleur	Crème	Crème	Crème
	Forme	Arrondie	Circulaire régulière bombée	Circulaire régulière bombée

GN : nutritive ; EB : extrait de la betterave rouge.

La figure 4.53 montre les morphologies de ces trois souches bactériennes sur la GN après la purification :





Vue macroscopique de la souche 1



Vue macroscopique de la souche2.



Vue macroscopique de la souche 3.

Figure 4.53 : Les morphologiques des trois souches bactériennes sur la GN après la purification

Pour la conservation à cours terme, ces souches sont ensemencées dans des tubes à gélose inclinée comme la montre la figure 4.54.



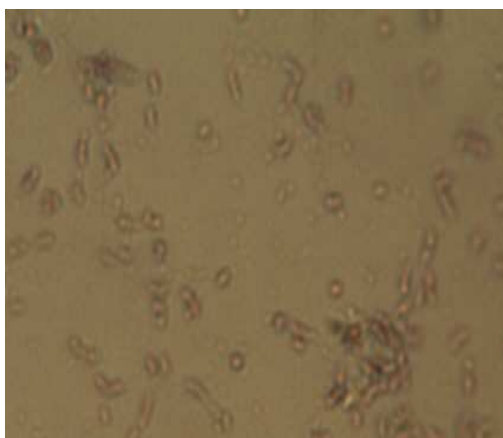
Figure 4.54 : Conservation des souches sur la gélose inclinée.

#### 4.5.1.2. Examen à l'état frais

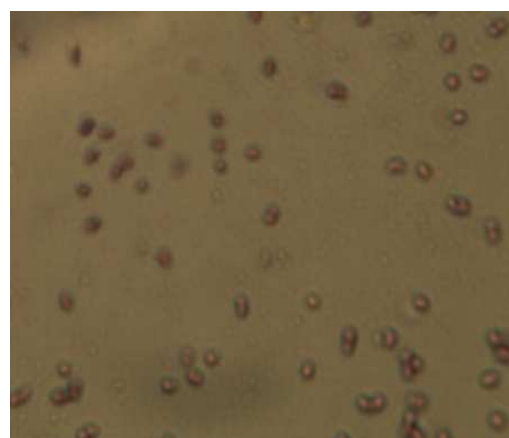
L'examen à l'état frais sous le microscope optique, suggère que les trois bactéries sont mobiles. Et ce qui concerne l'agencement les 03 souches sont Coccobacille sauf que la 1<sup>ère</sup> souche possède poly forme (bacillaire, coccobacilles).

#### 4.5.1.3. Coloration de Gram

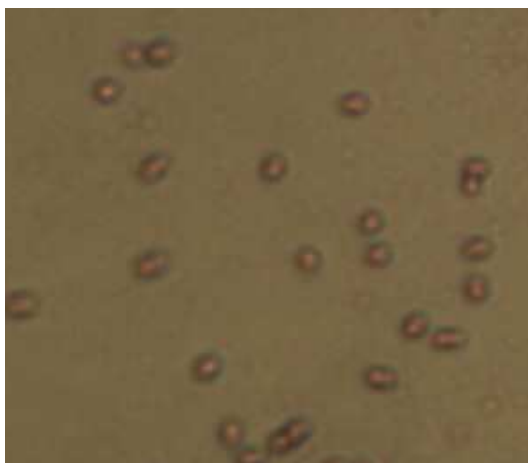
Après la décoloration à l'alcool, les colonies des 3 souches apparues sont roses. Nous concluons alors que les 3 types des souches sont de Gram négatif (Gram-). La figure 4.55 met en évidence la coloration de gram des trois souches bactériennes.



Coloration de Gram de la souche 1



Coloration de Gram de la souche 2



Coloration de Gram de la souche 3.

Figure 4.55 : la coloration de gram des trois souches bactériennes.

#### 4.5.2. Recherche de types respiratoires

Le test de viande de foie (VF) a mis en évidence que les trois souches sont aérobies anaérobies facultatives (AAF), en proliférant dans ce milieu le long de la piqûre centrale du font au haut comme l'indique la figure 4.56.



Figure 4.56 : Résultats du test de VF

### 4.5.3. Enzymes respiratoires

#### 4.5.3.1. Oxydase

La non-apparition de la couleur rose sur les disques oxydase implique que les trois souches bactériennes ne possèdent pas de l'enzyme oxydase, donc elles sont des oxydases négatives. La figure 4.57 montre ceci.



Figure 4.57 : Résultat du test de l'oxydase

#### 4.5.3.2. Catalases

L'apparition des bulles d'air dans la goutte d'eau oxygénée lorsqu'on l'a mélangée avec des colonies des souches 1 et 2 indique qu'elles sont des catalases positives, contrairement à la troisième souche qui est de catalase négative.

#### 4.5.4. Galerie biochimique

Les résultats des 20 tests biochimiques suivis pour les trois bactéries ainsi que les résultats du type et enzymes respiratoires sont rassemblés dans le tableau 4.13.

Tableau 4.13 : Résultats de l'identification bactériologique.

Réactif	Le caractère	La souche 1	La souche 2	La souche 3
VF	Type respiratoire	AAF	AAF	AAF
Disque oxydase	Oxydase	-	-	-
Eau oxygénée	Catalase	+	+	-
TSI	Lactose	-	-	-
	Saccharose	-	-	-
	Glucose	+	+	+
	Gaz	-	+	+
	H <sub>2</sub> S	-	-	-
Mannitol/Mobilité	Mannitol	+	+	+
	Mobilité	+	+	+
Mevag	(+)Fermentative ou (-) oxydative	+	+	+
Urée/ Indole	Uréase	-	+	-
	Indole	-	+	-
	T.D.A	-	-	-
Disque oNPG	oNPG *	(-)	(-)	(-)
Clarck et Lubs	RM	+	+	+
	VP	-	-	-
Nitrate	Nitrate réductase	+	+	+
	Nitrite réductase	+	+	+
Citrate de Simmons	Utilisation des citrates	+	+	+

\* Le résultat de l'oNPG obtenu n'est pas certain car le réactif peut être périmé.

La figure 4.58 indique quelques tests et leurs résultats pour les trois souches :



Test de citrate de Simmons



Test de TSI



Test de Mevag



Test de Clark et Lubs

Figure 4.58 : Résultat de quelques tests de Galerie biochimique pour les trois souches bactériennes.

#### 4.5.5. Synthèse des résultats

D'après les tableaux précédents, les trois souches possèdent des caractères (paramètres) comparables et elles semblent être de la même famille. Elles ne possèdent pas de l'enzyme oxydase donc elles sont des entérobactéries. De plus, les résultats de l'identification bactériologique des souches 1 et 3 sont identiques sauf pour le catalase et quelques paramètres morphologiques qui ne sont pas des paramètres déterminant du nom de l'espèce, on peut suggérer qu'elles sont de la même espèce. Néanmoins, une étude d'identification plus poussée pourra mettre en évidence la différence entre ces deux souches dans la classification au dessous de l'espèce.