

**République algérienne démocratique et populaire**  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
**Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche  
Scientifique**  
جامعة سعد دحلب البليدة  
**Université Saad Dahlab Blida**  
**Faculté Sciences de la nature et de la vie**  
**Département : Des Biotechnologies**



**Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER EN AGRONOMIE**

**Option : Eau et Environnement**

Présenté par :

**M<sup>elle</sup> KHETIB KHADIDJA ROUMAÏSSA**

Thème :

**Bio-dépollution de l'eau contaminée par  
les polluants organiques**

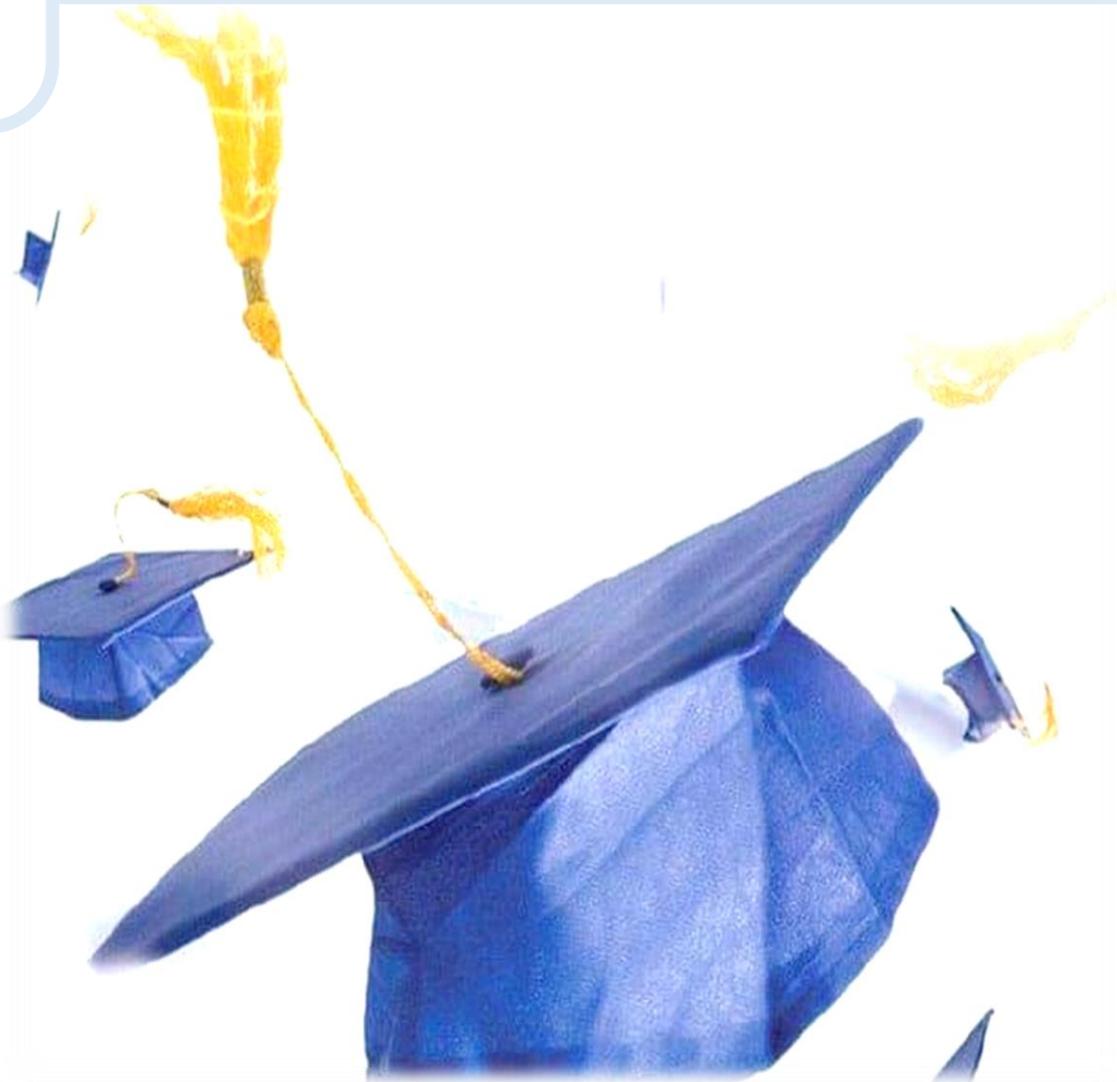
Devant le jury :

- |               |                               |                   |
|---------------|-------------------------------|-------------------|
| • L. Zella    | Professeur Université Blida 1 | Président de jury |
| • F. Madjene  | Dr. UDES                      | promoteur         |
| • N. Degui    | MAA Université Blida 1        | Examinatrice      |
| • A. Baba Ali | Prof Université Blida1        | Examinatrice      |

2019/2020

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéfectibles et sans limite de mes chers parents qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui. Que dieu vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.*



## *Remerciements*

Tout d'abord, je tiens à remercier le bon Dieu le tout Puissant de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail dans de bonnes conditions, également je remercie infiniment mes parents, qui m'ont encouragé et aidé à arriver à ce stade de ma formation.

Ce travail de recherche a été réalisé au sein du laboratoire d'épuration et valorisation des eaux de rejets, sous la direction de **Dr MADJENE Farid**. Je tiens à le remercier d'avoir bien voulu m'accueillir dans son laboratoire de recherche et surtout pour la confiance qu'il m'a accordé tout au long du déroulement de mon travail, pour son encadrement scientifique très formateur et de qualité, ainsi je remercie madame **Mahidine Sarah**, pour tout l'aide et le soutien de tous les instants qu'elle m'a apporté. Merci pour votre gentillesse. Merci pour tout.

Toute ma gratitude à Monsieur le Professeur **ZELLA Lakhdar** pour la qualité de l'enseignement qu'il m'a prodigué au cours de ces trois années passées et pour ces conseils éclairés.

Je remercie également l'ensemble de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Un grand merci à toutes les personnes qui, de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail trouvant ici le témoignage de mon estime.



### إزالة التلوث البيولوجي من المياه الملوثة بالملوثات العضوية

تعتبر الأصباغ من بين النفايات السائلة الصناعية الأكثر تصريفًا في البيئة نظرًا لاستخدامها المكثف في العديد من المجالات، بما في ذلك المنسوجات ومستحضرات التجميل وصناعة الأغذية. أصباغ AZO هي أكبر فئة من الأصباغ الاصطناعية المستخدمة تجاريًا. من أجل الحد من عمل الملوثات العضوية بطريقة بيئية ومستدامة، يتم استخدام العمليات البيولوجية، مثل المعالجة الحيوية، على نطاق واسع. تتكون هذه التقنية من إزالة التلوث في البيئات الملوثة تحت تأثير الكائنات الحية الدقيقة، وتلعب هذه الكائنات الدقيقة دورًا رئيسيًا في تدهور المادة العضوية ويمكن أن يؤدي التكيف البسيط مع الجزيء الملوث إلى تحللها البيولوجي أو تحويلها الحيوي.

الهدف من هذا العمل هو تقييم تحلل الأصباغ الاصطناعية بواسطة السلالات البكتيرية مثل (Pseudomonas) باستخدام الميثيل البرتقالي كنموذج صبغة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن البكتيريا لديها قدرة عالية على تغيير اللون في أقل من 24 ساعة من الحضنة. تم تحسين العديد من المعلمات مثل درجة الحموضة ودرجة الحرارة والتركيز الأولي للصبغة والبكتيريا لتطوير عملية إزالة اللون كاملة. إن قدرة الميثيل البرتقالية (OM) القوية على تلون والمتطلبات الغذائية المنخفضة لهذه البكتيريا تجعلها مفيدة للغاية في المعالجة البيولوجية للنفايات السائلة الصناعية التي تحتوي على أصباغ الأزو.

**الكلمات المفتاحية:** تحلل حيوي، بكتيريا، صناعات نسيجية، الميثيل البرتقالي.

## Résumé

Les colorants sont parmi les effluents industriels les plus rejetés dans l'environnement vu leur grande utilisation dans plusieurs domaines notamment le textile, cosmétique et l'agroalimentaire. Les colorants azoïques constituent la plus grande classe des colorants synthétiques utilisés commercialement. Afin de limiter l'action de ces polluants organiques de façon écologique et durable, différents procédés de traitement, tel que procédés biologiques, sont largement utilisés. Cette technique consiste à la dépollution et la décontamination des milieux pollués sous l'action des microorganismes vivants, ces micro-organismes jouent un rôle majeur dans la dégradation des matières organiques et une simple adaptation à une molécule polluante peut conduire à sa biodégradation ou sa biotransformation.

L'objectif de ce travail est d'évaluer la dégradation des colorants synthétiques par de souches bactériennes telle que les Pseudomonas en utilisant le Méthyle Orange comme colorant azoïque modèle. Les résultats obtenus ont montré que la bactérie présente une grande capacité de décoloration dans moins de 24h d'incubation. Plusieurs paramètres tels que le pH, la température

et la concentration initiale du colorant et bactérie ont été optimisés pour développer un processus de décoloration complet.

La forte capacité de décoloration du Méthyle Orange (MO) et les faibles besoins en nutriments de cette bactérie la rendent très utile dans le traitement biologique des effluents industriels contenant des colorants azoïques.

**Mot clés :** biodégradation, *Pseudomonas Aéruginosa*, colorant, industries textiles.

## **Abstract**

### **Bio-depollution of water contaminated by organic pollutants**

Dyestuffs are among the industrial effluents most discharged into the environment due to their wide use in several fields, notably textiles, cosmetics and food processing. Azo dyes are the largest class of synthetic dyes used commercially. In order to limit the action of its organic pollutants in an ecological and sustainable way, biological processes, such as bioremediation, are widely used. This technique consists of the depollution and decontamination of polluted environments under the action of living microorganisms. These microorganisms play a major role in the degradation of organic matter and a simple adaptation to a polluting molecule can lead to its biodegradation or biotransformation.

The aim of this work is to evaluate the degradation of synthetic dyes by bacterial strains such as *Pseudomonas* using Methyl Orange as a model azo dye. The results obtained showed that the bacterium has a great capacity for discoloration in less than 24 hours of incubation. Several parameters such as pH, temperature and the initial concentration of the dye and bacteria were optimized to develop a complete bleaching process.

The high bleaching capacity of Methyl Orange (MO) and the low nutrient requirements of this bacterium make it very useful in the biological treatment of industrial effluents containing azo dyes.

**Key words:** biodegradation, *Pseudomonas Aeruginosa*, textile industries, Methyl Orange.

## Sommaire

### Chapitre I : Synthèse bibliographique

<b>I.1.</b>	Introduction.....	1
<b>I.2.</b>	Colorants .....	1
<b>I.3.</b>	Nature des colorants.....	2
<b>I.3.1.</b>	Colorants naturels.....	2
<b>I.3.2.</b>	Colorants synthétiques .....	2
<b>I.4.</b>	Classification des colorants .....	4
<b>I.4.1.</b>	Classification chimique .....	4
<b>I.4.2.</b>	Classification tinctoriale .....	6
<b>I.5.</b>	Toxicité .....	8
<b>I.6.</b>	Impacts environnementaux .....	8
<b>I.7.</b>	Méthode de traitement .....	9
<b>I.7.1.</b>	Traitement physique.....	9
<b>I.7.2.</b>	Traitement physico-chimique.....	9
<b>I.7.3.</b>	Procédés d'oxydation avancée .....	10
<b>I.7.4.</b>	Traitement électrochimique.....	10
<b>I.7.5.</b>	Traitement biologique .....	10
<b>I.7.5.1.</b>	Besoin des micro-organismes épurateurs.....	11
<b>I.7.5.2.</b>	Champignons.....	14
<b>I.7.5.3.</b>	Algues .....	14
<b>I.7.5.4.</b>	Protozoaires .....	15
<b>I.7.5.5.</b>	Levures .....	15
<b>I.7.5.6.</b>	Actinomycètes .....	15

I.7.6. Dégradation des colorants azoïques par des bactéries dans des conditions oxygénées et des conditions limitées en oxygène.....	16
I.7.6.1. Dans des conditions limitées en oxygène.....	17
I.7.6.2. Dans des conditions oxygénées.....	18

## **Chapitre II : Matériels et méthodes**

II.1. Réactifs utilisés .....	1
II.2. Appareils utilisés .....	1
II.3. Polluant utilisé .....	4
II.3.1. Microorganisme et culture .....	5
II.3.1.1. Composition de la gélose (pH = 7) .....	5
II.3.1.2. Ensemencement .....	6
II.4. Méthode d'analyse .....	6

## **Chapitre III : Résultats et discussions**

III.1. Choix de la souche bactérienne.....	1
III.2. Biodégradation de Méthyle Orange par <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> ATCC 27853.....	2
III.3. Etude paramétrique de la biodégradation du MO par <i>Pseudomonas Aeruginosa</i> .....	4
III.3.1. Effet de la dose bactérienne.....	4
III.3.2. Effet de la concentration de MO.....	5
III.3.3. Effet de la Température.....	6
<b>Conclusion</b> .....	7

## **Références bibliographiques**

## Liste des figures :

<b>Figure 1</b> Chlorella ( <i>Chlorella pyrenoidosa</i> ) et <i>Chlorella</i> sp. Vue au microscope(x40) .....	15
<b>Figure 2</b> <i>Oscillatoria</i> , estuaire de Kaikorai, (X640) .....	15
<b>Figure 3</b> <i>Spirogyra</i> Filament vu au microscope (x40) .....	15
<b>Figure 4</b> Réduction du rouge réactif 22 par <i>Pseudomonas luteola</i> .....	17
<b>Figure 1</b> Centrifugeuse .....	2
<b>Figure 2</b> Incubateur.....	2
<b>Figure 3</b> Multi-paramètre.....	2
<b>Figure 4</b> Balance analytique.....	2
<b>Figure 5</b> Agitateur.....	2
<b>Figure 6</b> Autoclave.....	3
<b>Figure 7</b> Armoire de stérilisation UV.....	3
<b>Figure 8</b> Bec bunsen.....	3
<b>Figure 9</b> Méthyle Orange.....	5
<b>Figure 10</b> Milieu de culture.....	6
<b>Figure 11</b> Développement d'une nappe bactérienne après 12h ( <i>P. Aeruginosa</i> ) .....	6
<b>Figure 12</b> Spectrophotomètre.....	7
<b>Figure 13</b> Courbe d'étalonnage du Méthyle Orange.....	8
<b>Figure 1</b> Tests de décoloration du Méthyle Orange sur les deux souches bactériennes.....	1
<b>Figure 2</b> Biodégradation du MO (a) décoloration de MO ; (b) Développement bactérien.....	3
<b>Figure 3</b> Effet de la dose bactérienne.....	4
<b>Figure 4</b> Effet de la concentration initiale de MO.....	5
<b>Figure 5</b> Effet de la température.....	6

## Liste des tableaux :

**Tableau 1** Quelques types de colorants naturels et synthétiques.....3

**Tableau 2** Catégories des colorants basées sur le groupement chimique.....4

**Tableau 3** Catégories des colorants basées sur le processus de teinture et leurs applications.....6

**Tableau 1** Caractéristiques de Méthyle Orange (MO).....4

**Tableau 1** Récapitulatif des essais effectués.....2

## **Liste des Abréviations :**

**NADPH** : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate

**NADH** : Nicotinamide adénine dinucléotide

**FMN** : Flavine mononucléotide

**POA** : Procédés d'Oxydation Avancée

**DBO<sub>5</sub>** : Demande biochimique en oxygène (pendent 5jours)

**DCO** : Demande chimique en oxygène

**IP** : Isoproturon

**UV** : Rayonnement Ultraviolet

**MO** : Méthyle Orange

**PA** : Pseudomonas Aeruginosa

**T** : Température (°C)

**UV** : Ultraviolet artificiel fournie par la lampe UV.

**UV-Vis** : Ultraviolet- Visible.

**λ** : Longueur d'onde de la radiation (nm).



# Chapitre I : Synthèse bibliographique

## I.1. Introduction

Les colorants parmi les polluants les plus dangereux. Ils sont utilisés dans des nombreux secteurs industriels tels que les produits alimentaires, cosmétiques et cliniques (**Benaissa, 2011**). La couleur empêche la pénétration de lumière, ralentit l'activité de la photosynthèse, inhibe la croissance des biotes et possède également une tendance à la chélation des ions métalliques qui se traduisent par la micro toxicité aux poissons et aux autres organismes (**Garg et al., 2004**).

De ce fait, il est indispensable de traiter ces déchets avant de les rejeter dans l'environnement. Plusieurs procédés chimiques et physiques ont été développés pour ces fins mais restent très onéreux et peuvent générer des métabolites plus toxiques (**Khandare et Govindwar, 2015**). D'autres techniques peuvent être utilisées pour l'élimination de cette pollution comme le traitement biologique utilisant les microorganismes pour la biodégradation de ces éléments toxiques, qui est un procédé simple, économique, efficace, et qui respecte l'environnement.

Dans ce cadre on s'intéresse dans ce travail, réalisé au Laboratoire de d'Épuration et Valorisation des Eaux de Rejets à l'Unité de Développement des Equipement Solaire, à la biodégradation d'un colorant par une souche bactérienne. Cette bactérie est testée pour étudier leurs capacités à réduire une quantité de Méthyle Orange présente dans une solution aqueuse.

## I.2. Colorants

Les colorants furent, pendant très longtemps, extraits du milieu naturel : plantes (garance, gaude, indigo...), animaux (cochenille, murex.) et minéraux (**Donzé, 1988**).

Les colorants textiles synthétiques sont exclusivement composés de produits organiques, pouvant être classés selon leur composition chimique (Les colorants azoïques sont la classe chimique la plus importante des colorants synthétiques (**Saroj et al, 2014 ; Steffan et al, 2005**), ils sont très utilisés surtout au domaine du textile ce qui rend les effluents riches en ces colorants et leurs métabolites (**Saratale et al, 2013**), ou selon leur domaine d'application, ils sont considérés comme des polluants indésirables en raison de leur toxicité générale (**Brown et al, 1993 ; Feng et al, 2012 ; Santana et al, 2019**).

### I.3. Nature des colorants

Les colorants se caractérisent par leur capacité à absorber les rayonnements lumineux dans le spectre visible de 380 à 750 nm) (**Mioque *et al*, 1990**).

C'est un composé chimique colorée naturel qui se trouve dans la nature sous forme de plantes (ex : safran) ou synthétiques (liquide ou poudre...) (**Manahan, 1998**). La terminologie industrielle moderne définit un colorant comme un produit contenant le colorant organique pur avec différents additifs et agents de couplage, qui facilitent son utilisation (**Atba et Benkaddour, 2013**)

Il existe deux types de colorants :

#### I.3.1. Colorants naturels

Il existe seulement une dizaine de colorants naturels, alors que l'on compte des milliers de colorants synthétiques (**Willmott *et al*, 1998**). Les colorants naturels sont extraits des plantes, des arbres, des lichens ou insectes et des mollusques (**Atba et Benkaddour, 2013**). Les colorants jaunes sont les plus nombreux.

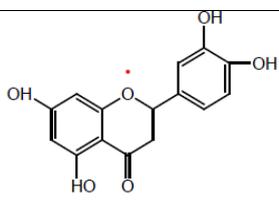
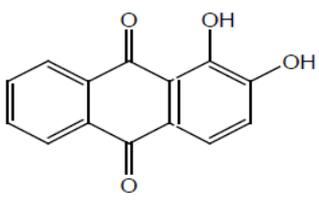
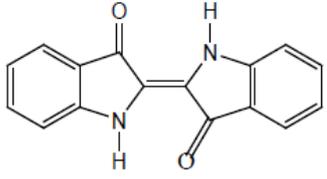
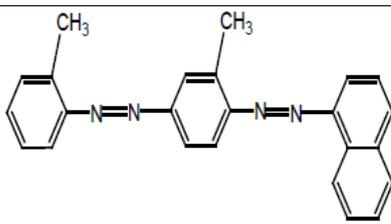
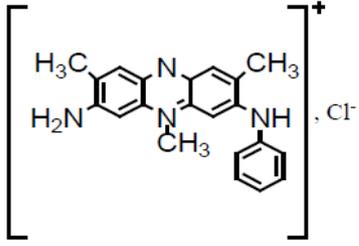
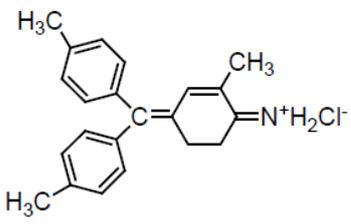
On rencontre deux catégories de colorants naturels : les colorants à mordant et les colorants de cuve. Seuls les premiers sont peu solubles dans l'eau.

#### I.3.2. Colorants synthétiques

Les colorants synthétiques ont progressivement supplanté les colorants naturels. La Mauvéine, le premier colorant de synthèse a été découvert, par hasard, par le chimiste Britannique **W.H. Perkin en 1856** (**Capon *et al*, 1996**) Obtenue à partir de l'aniline tirée du goudron de houille par action de l'acide sulfurique en présence de bichromate de potassium, elle teint la soie en violet.

Le tableau.I.1 rassemble quelques structures chimiques de colorants naturels et synthétiques (**Mioque *et al*,1982**)

**Tableau I.1** : Quelques types de colorants naturels et synthétiques.

Origines	Source	Colorant	Coloration	Structure
Végétales	Gaude (Resedalutéol)	Lutéal	Jaune	
	Racine de la garance (Rubiainctocum)	Alizarine	Rouge	
	Indigotier et Isatis	Indigo	Bleu	
Animales	Cochenille (Coccus cacti)	Rouge Ecarlate	Rouge	
Synthétique	Réactions de la Synthèse	Mauvéine	Violet	
		Fushine	Rouge	

## I.4. Classification des colorants

Les colorants sont des molécules organiques insaturées qui possèdent une affinité pour les fibres sur lesquels sont appliquées. Ces interactions peuvent être de nature physique ou chimique.

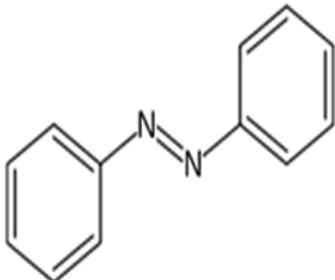
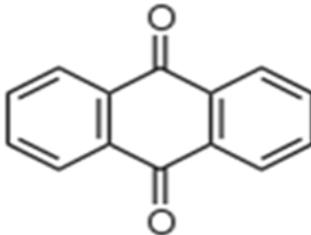
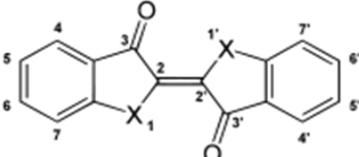
Les matières colorantes peuvent être classées selon plusieurs voies, dont en application textiles deux sont utilisées : d'après leur structure chimique ou selon leur méthode d'application (classes tinctoriales) (Husain, et al, 2012 ; Sandhya, et al, 2010 ; Hunger, et al, 2003).

### I.4.1. Classification chimique :

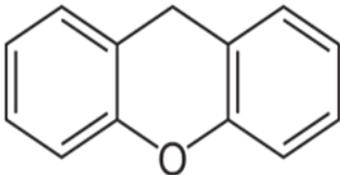
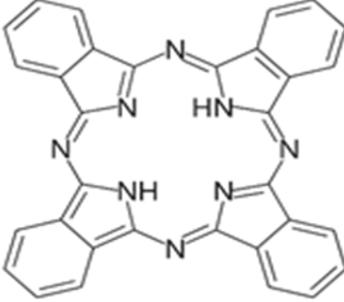
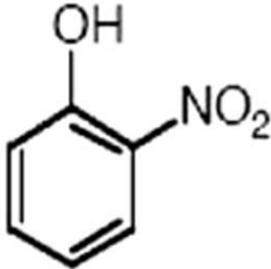
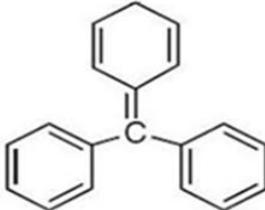
Le tableau.I.2 Catégories des colorants basées sur le groupement chimique.

(Miocque *et al*,1982)

**Tableau I.2** : Catégories des colorants basées sur le groupement chimique.

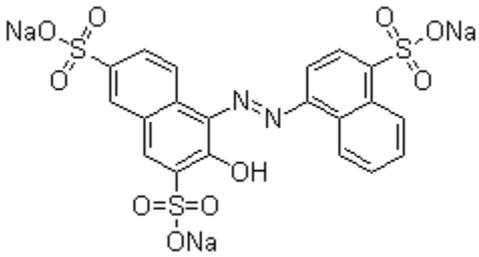
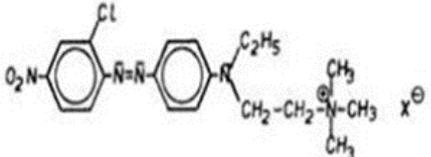
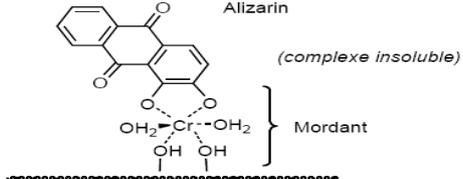
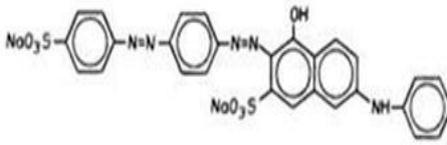
Colorant	Définition	Exemple
<b>Colorants azoïques</b>	Caractérisés par la présence de la molécule d'un groupement azoïque (-N=N-) reliant deux noyaux benzéniques. Cette catégorie de colorant est la plus répandue sur le plan de l'application, elle représente plus de 50% de la production mondiale de matières colorantes. Ces derniers, trouvent plusieurs applications dans différents domaines : textile, alimentaire, cosmétique, papetière etc. (Chang, et Lin, 2001).	
<b>Colorants anthraquinoniques</b>	Sont d'un point de vue commercial, les plus importants après les colorants azoïques. Leur formule générale dérivée de l'anthracène montre que le chromophore est un noyau qu'ionique sur lequel peuvent s'attacher des groupes hydroxyles ou amine (Elodie, 2004).	
<b>Colorants indigoïdes</b>	Tirent leur appellation de l'indigo, sont utilisés comme colorant en textile, comme additifs en produits pharmaceutiques, la confiserie, ainsi que dans des diagnostics médicales (Stolte, et al, 2001 ; Moncada, et al, 1991)	

**Tableau I.2 (suite) : Catégories des colorants basées sur le groupement chimique.**

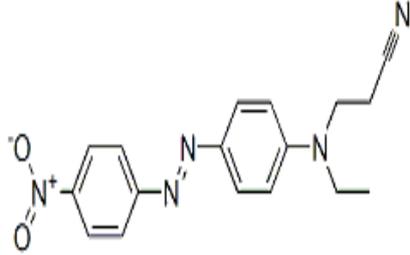
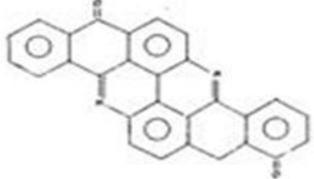
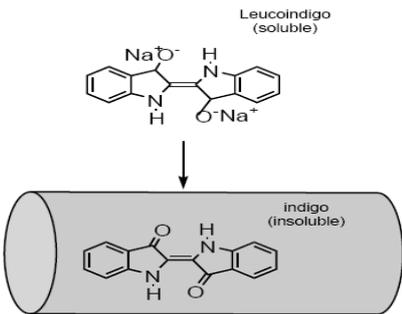
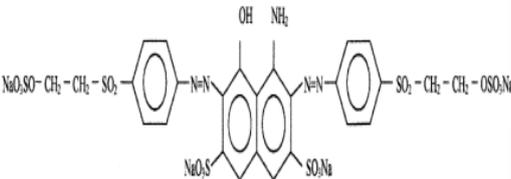
<p><b>Colorants xanthène</b></p>	<p>Dont le composé le plus connu est la fluorescéine, sont dotés d'une intense fluorescence. Peu utilisés en tant que teinture, leur faculté de marqueurs lors d'accident maritime ou de traceurs d'écoulement pour des rivières souterraines est malgré tout bien établie (<b>Mansour, 2011</b>).</p>	
<p><b>Phtalocyanines</b></p>	<p>Ont une structure complexe basée sur l'atome central de cuivre. Les colorants de ce groupe sont obtenus par réaction du dicyanobenzène en présence d'un halogénure métallique (Cu, Ni, Co, Pt, etc.) (<b>Mansour, 2011</b>).</p>	
<p><b>Colorants nitrés et nitrosés</b></p>	<p>Ces colorants forment une classe très limitée en nombre et relativement ancienne. Ils sont actuellement encore utilisés, du fait de leur prix très modéré lié à la simplicité de leur structure moléculaire caractérisée par la présence d'un groupe nitro (-NO<sub>2</sub>) en position ortho d'un groupement électrodonneur (hydroxyle ou groupes aminés) (<b>Hammami, 2008</b>)</p>	
<p><b>Colorants triphénylméthanes</b></p>	<p>Constituent la plus ancienne classe de colorants synthétiques. Moins importants que les colorants azoïques et anthraquinonique, elles sont utilisées dans les industries papetières et textiles pour teindre le nylon, la laine, la soie et le coton, et on les retrouve également dans le domaine médical (<b>Chebli, 2012</b>).</p>	

## I.4.2. Classification tinctoriale

**Tableau I.3** : Catégories des colorants basées sur le processus de teinture et leurs applications (Chebli 2012).

Colorant	Application	Systèmes	Exemple
<b>Acides</b>	- polyamide (70 à 75 %) - laine (25 à 30 %) soie, fibres acryliques	Azoïques	
<b>Basiques (cationiques)</b>	Fibres : acryliques, polyamide	Azoïques Contiennent un groupe amine quaternaire	
<b>Mordant</b>	- laine - soie	Azoïques avec du chrome favorisant sa fixation	
<b>Directs</b>	- viscose, le lin, le jute, la soie, les fibres polyamides et le coton	Azoïques, longues structures moléculaires planes qui permettent à ces molécules de s'aligner avec les macromolécules plates de cellulose	
<b>Au Soufre</b>	Coton et viscose les polyamides et polyesters rarement la soie	Structure chimique exacte n'est pas toujours connue	

**Tableau I.3 (Suite) :** Catégories des colorants basées sur le processus de teinture et leurs applications.

<p><b>Dispersés</b></p>	<p>Polyester fibres cellulosiques fibres de polyamide et d'acrylique</p>	<p>- Azoïques 50% - Anthraquinoniques (25 %), + méthine, nitro et naphthoquinone. <b>Caractéristiques :</b> l'absence de groupes de solubilisation et un poids moléculaire faible</p>	
<p><b>De Cuve et leurs Leuco-esters</b></p>	<p>Teinture et l'impression du coton et de fibres cellulosiques polyamide et de polyester avec des fibres cellulosiques</p>	<p>Indigoïdes et anthraquinoniques</p>	<p>Colorant de cuve</p>  <p>Colorant leuco-esters</p> 
<p><b>Réactifs</b></p>	<p>Teinture du coton, fibres cellulosiques, dans un studio de peinture</p>	<p>Azotiques, ont la particularité de posséder des groupements chimiques spécifiques capables de former des liaisons covalentes avec le support textile</p>	

## I.5. Toxicité

Les rejets d'effluents des industries textiles, chargés en colorants, dans les rivières, peuvent nuire considérablement aux espèces animales, végétales ainsi qu'aux divers microorganismes vivant dans ces eaux. Des études faites sur divers colorants commerciaux ont démontré que les colorants basiques sont les plus toxiques pour les algues (**Greene et al, 1996 ; Little et al, 1974**). Ce résultat a été prouvé par le test de mortalité des poissons effectués sur 3000 colorants commerciaux où il s'est avéré que les colorants basiques, et plus particulièrement ceux de la famille de triphénylméthane sont les plus toxiques. Par ailleurs, les poissons semblent être relativement sensibles aux colorants acides (**Clarke et Anliker, 1980**).

D'une autre part, La toxicité des azoïques par exposition aux colorants et à leurs métabolites n'est pas un fait nouveau. L'augmentation du nombre de cancers de la vessie observés chez des ouvriers de l'industrie textile, est reliée à leur exposition prolongée aux colorants azoïques. Depuis, les travaux effectués sur ces colorants ont démontré que ces composés chimiques présentaient des effets cancérigènes pour l'homme et l'animal (**Brown, et Devite, 1993 ; Tsuda et al, 2000**).

## I.6. Impacts environnementaux

Les principales questions environnementales soulevées par les activités de l'industrie concernent essentiellement les rejets dans l'eau, les émissions dans l'air ainsi que la consommation d'énergie.

Parmi celles-ci, l'eau représente la préoccupation première. En effet, pour l'industrie textile, l'eau constitue le principal vecteur pour éliminer les impuretés, appliquer les colorants ainsi que pour générer de la vapeur. A l'exception d'une faible quantité d'eau évaporée pendant le séchage, la majeure partie de l'eau utilisée est rejetée sous forme d'effluents aqueux. Par conséquent, la quantité d'eau évacuée et la charge chimique qu'elle véhicule constituent un problème majeur (**Chavan 2011**).

La charge de pollution produite par les activités de l'industrie textile et majoritairement imputable aux substances contenues dans la matière première avant qu'elle n'entre dans la phase du processus d'ennoblissement. On retrouve généralement les substances ci-après :

- Produits d'encollage
- Produits de préparation
- Impuretés des fibres naturelles et matière associées

Les impacts les plus importants sur l'environnement sont dus aux sels détergents et aux acides organiques. Le rejet de ces résiduaire dans l'écosystème est une source dramatique de pollution d'eutrophisation et de perturbation non esthétique dans la vie aquatique et par conséquent présente un danger potentiel de bioaccumulation qui peut affecter l'homme par transport à travers la chaîne alimentaire (**Chavan, 2011**).

## **I.7. Méthode de traitement**

Le traitement des eaux polluées par ces types de colorants est donc devenu une priorité dans notre monde moderne. La mise au point de méthodes et l'optimisation des procédés existants, qui doivent être aussi efficaces que peu coûteux, font donc l'objet d'un nombre considérable de travaux.

### **I.7.1. Traitement physique**

#### **a- Filtration sur membrane**

La filtration sur membrane se détaille en microfiltration, ultrafiltration, nanofiltration et osmose inverse, l'effluent poussé par une pression hydraulique passe à travers une membrane semi-perméable qui retient les contaminants de taille supérieure à celle de ses pores, le perméat ressort purifié et on récupère un retentât concentré par les impuretés (**Ouaddari et al, 2019 ; Mondal et al, 2018**).

#### **b- Adsorption**

L'adsorption est un processus où les molécules du colorant sont transférées de la phase liquide vers la phase solide. Cette technique étant le sujet de ce travail (**Mondal et al, 2018 ; Wang et al, 2018**).

### **I.7.2. Traitement physico-chimique**

#### **a- Coagulation – floculation**

Dans le processus de coagulation, la charge sur les colloïdes et les solides en suspension est déstabilisée à l'aide d'un coagulant. Le coagulant se disperse à travers l'effluent par mélange. La floculation est la phase de mélange délicate qui suit la dispersion rapide du coagulant par l'unité de mélange flash. Son but est d'accélérer la vitesse des collisions de particules, provoquant l'agglomération de particules colloïdales déstabilisées électrolytiquement en tailles pouvant être décantées ou filtrées (**Dotto et al, 2019**).

### **I.7.3. Procédés d'oxydation avancée**

Les procédés d'oxydation avancée restent les plus fréquemment utilisés. Ceux-ci sont fondés sur la formation d'une entité radicalaire extrêmement réactive : le radical hydroxyle ( $\bullet\text{OH}$ ) qui possède un temps de vie très court, un potentiel d'oxydation élevé et une forte réactivité vis-à-vis de nombreux composés organiques, on peut citer comme titre d'exemple le procédé d'oxydation Fenton ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ ) (Fernandes *et al*, 2018).

#### **a- Photolyse**

La photolyse directe consiste à irradier le milieu par des rayonnements UV avec une intensité lumineuse de longueur d'onde judicieusement choisie, l'énergie des photons est absorbée dans le milieu particulièrement par les polluants à dégrader. En fonction de leur propriété à absorber la lumière UV, les molécules organiques peuvent être détruites directement par photolyse ou être activées par les photons (Ambuludi 2012). Cependant afin d'avoir un rendement de dégradation significatif envers des polluants plus résistants à la photolyse directe, l'addition d'agent oxydant libérant des radicaux hydroxyles dans le milieu réactionnel se révèle très intéressante, sur cette approche plusieurs procédés ont vu le jour tel, la photo-peroxydation ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ ) (Moissa *et al*, 2018), UV/ $\text{O}_3$  (Carvalho *et al*, 2018).

#### **b- Photocatalyse hétérogène**

La photocatalyse est un cas particulier de la catalyse. Elle est caractérisée par l'addition d'un facteur qui est la lumière. Il s'agit donc d'un semi-conducteur sous forme solide, généralement en suspension dans un solvant, tandis que le polluant se trouve en phase liquide ou gazeuse. Plusieurs semi-conducteurs ont montré leur efficacité dans la dégradation par photocatalyse, dont on peut citer ZnO et  $\text{TiO}_2$  (Delsouz Khaki *et al*, 2018).

### **I-7-4- Traitement électrochimique**

Le traitement par voie électrochimie se base sur l'utilisation d'électrodes parcouru par un courant électrique à une intensité donnée, le milieu à traiter doit contenir un électrolyte permettant un passage optimum du courant, (Shetti *et al*, 2019).

### **I.7.5. Traitement biologique**

L'épuration biologique des eaux usées chargées en matières organiques biodégradables est réalisée par l'action des micro-organismes qui sont capables de métaboliser ces composés en matière plus simple (Letowski, 2000).

### I.7.5.1. Besoin des micro-organismes épurateurs

Les micro-organismes sont composés essentiellement des bactéries (êtres unicellulaires), des levures (champignons unicellulaires), des moisissures (champignons de très petite taille) et des protozoaires (prédateurs des bactéries) (**Gaid,1984**). Certaines de ces populations microbiologiques ont la faculté de dégrader les substances polluantes présentes dans les eaux résiduaires pour les convertir en eau (**Gomella et Guerrée, 1978**). Ces micro-organismes sont à la base de l'épuration biologique qui est le procédé le plus utilisé pour restaurer la qualité de l'eau en la débarrassant de ses principales impuretés pourvu qu'elles soient plus au moins biodégradables et ne contiennent pas de toxiques qui font l'objet d'un traitement particulier (épuration physico-chimique) (**Tassin et Thevenot, 1993**).

Ces micro-organismes se multiplient grâce aux nutriments présents dans les milieux de culture. Ils possèdent un certain nombre de besoins élémentaires, énergétiques et spécifiques.

- **Besoins élémentaires** : sont constitués d'éléments entrants dans la composition de la substance microbienne :
  1. **Source de carbone** : un des éléments les plus abondants de la bactérie. Le plus simple des composés carbonés est le CO<sub>2</sub>.

On distingue deux catégories de bactéries :

- **Bactéries autotrophes** : ont une capacité de développement en milieu inorganique contenant le CO<sub>2</sub> comme seule source de carbone.
  - **Bactéries hétérotrophes** : ont une capacité de dégrader une panoplie de substances hydrocarbonées. Elles exigent des composés organiques comme source de carbone.
2. **Source d'azote** : l'azote entre dans la composition des protéines bactériennes. Il peut être fixé par la bactérie sous trois formes :
    - Sous forme d'azote moléculaire N<sub>2</sub> utilisé par un nombre limité de microorganismes tels que : les Rhizobium, Azotobacter et certains Clostridiums.
    - Sous forme de composés inorganiques NO<sub>2</sub> utilisé par les Nitrobacter.
    - Sous forme de composés organiques R-NH<sub>2</sub> dont les groupements aminés représentent la source d'azote.
  3. **Source de phosphore** : Le phosphore entre dans la composition des acides nucléiques, de nombreux coenzymes et de l'ATP. Il est incorporé dans la bactérie sous forme de phosphate

inorganique. Il permet la récupération, l'accumulation et la distribution de l'énergie dans la cellule.

4. **Source de soufre :** Le soufre entre dans la composition des acides aminés, des protéines. Il est incorporé dans la cellule sous forme de sulfate, de composés soufrés organiques, rarement sous forme de soufre réduit.
- **Besoins énergétiques :** Ils couvrent les dépenses engagées dans les processus du catabolisme et de biosynthèse.

Les bactéries peuvent utiliser comme source d'énergie soit :

- L'énergie lumineuse (bactéries Phototrophes),
- L'énergie fournie par les processus d'oxydo-réduction (bactéries Chimiotrophes).
- **Besoins Spécifiques (facteurs de croissances) :** Il s'agit de métabolites essentiels dont certaines bactéries ont besoin pour leur croissance et qu'elles sont incapables de synthétiser par défaut enzymatique.

Les facteurs de croissance présentent des caractères communs :

- Actifs à concentration infime
- Etroitement spécifiques

Les bactéries exigeant des facteurs de croissance sont appelées : Bactéries Auxotrophes et les bactéries non exigeantes sont dites : Bactéries Prototrophes.

#### ▪ **Croissance bactérienne**

C'est l'accroissement ordonné de tous les composants de la bactérie. Elle se manifeste par une augmentation numérique des cellules bactériennes et non pas par une augmentation de taille comme chez les organismes supérieurs (homme, animal ou plante) (**Leclerc *et al*, 1995 ; Nicklin *et al*, 2000**).

#### a) **Facteurs influençant la croissance bactérienne**

Ils interviennent de façon primordiale dans l'obtention d'une culture optimale. En effet les nutriments doivent être apportés à la bactérie dans les conditions d'environnement qui lui conviennent, sinon, ils peuvent l'inhiber (**Leclerc, *et al*, 1995 ; Nicklin, *et al*, 2000**).

- **Température :** Selon le comportement de la bactérie vis à vis de la température, on distingue :

- **Les bactéries mésophiles** : La température optimale de croissance est de 20 à 40°C (30°C pour les mésophiles saprophytes, 37°C pour les mésophiles pathogènes).
- **Les bactéries thermophiles** : La température optimale de croissance est de 45 à 65°C.
- **Les bactéries psychrophiles** : La température optimale de croissance est de 0°C à 4°C. Ces bactéries contaminent souvent les produits laitiers, de même que les produits biologiques (sang ou dérivés sanguins) conservés à basse température.
- **Les bactéries cryophiles** : La température optimale de croissance est inférieure à 0°C, on distingue les bactéries des océans et des glaciers.
- **pH** : Les bactéries préfèrent un pH neutre ou légèrement alcalin (7 –7.5), cependant, il existe des bactéries qui se développent à des pH acides (acidophiles) et très rarement à des pH basiques supérieur à 8 (basophiles).
- **L'oxygène** : suivant le rapport des bactéries avec l'oxygène, elles peuvent être classées en :
  - Aérobie stricts : qui se divisent en présence d'oxygène.
  - Anaérobie stricts : qui se divisent en absence d'oxygène.
  - Aérobie – anaérobie facultatives : qui se divisent aussi bien en absence qu'en présence d'oxygène.
  - Micro-aérophiles : qui ne se divisent qu'en présence d'une faible concentration d'oxygène dans l'eau (2 à 10 %).

L'oxygène est facilement réduit en radical superoxyde, en peroxyde d'hydrogène et en radical hydroxyle. Ces produits sont très toxiques car ils détruisent les constituant cellulaires.

Les aérobie et anaérobie facultatifs possèdent la superoxyde dismutase et la catalase qui vont neutraliser ces produits toxiques. Tandis que les anaérobie stricts sont dépourvus de ses deux enzymes (ce qui explique qu'elles ne peuvent vivre en présence d'oxygène) (**Leclerc et al, 1995 ; Nicklin et al, 2000**).

- **Pression Osmotique** : la plupart des bactéries sont pratiquement insensibles aux variations de pressions osmotiques et cela grâce à une paroi spécifique qui leur confère une rigidité et une résistance aux chocs.

### I.7.5.2. Champignons

Les champignons blancs de putréfaction (white-rot fungi) sont capables de dégrader la lignine, structure polymère des Plante (**Fujian et al., 2001**).

*Phanerochaete chrysosporium* est le champignon le plus étudié capable de dégrader les colorants azoïques sulfonés (**Cripps et al., 1990**). Les études menées sur ce type de champignons se sont par la suite multipliées sur une gamme plus étendue et plus diversifiée de colorants synthétiques, notamment azoïques (**Balan et Monteir, 2001 ; Banat et al., 1996 ; Paszczynski et al., 1992**).

Bien que les champignons soient les premiers microorganismes identifiés capables de dégrader les colorants synthétiques et qu'ils se soient montrés efficaces dans certains cas comparés aux autres microorganismes, le traitement des rejets textiles chargés en colorants par les champignons pose beaucoup de problèmes. En effet, l'effluent textile n'est pas l'environnement adéquat pour la croissance et la conservation de la biomasse fongique (**Robinson et al., 2001**), car le traitement des colorants dans un volume d'eau important (unité de traitement biologique) étant très difficile, il est nécessaire de concentrer les colorants en réduisant la quantité d'eau (**Nigam et Marchant, 1995 ; Nigam et al., 1996**).

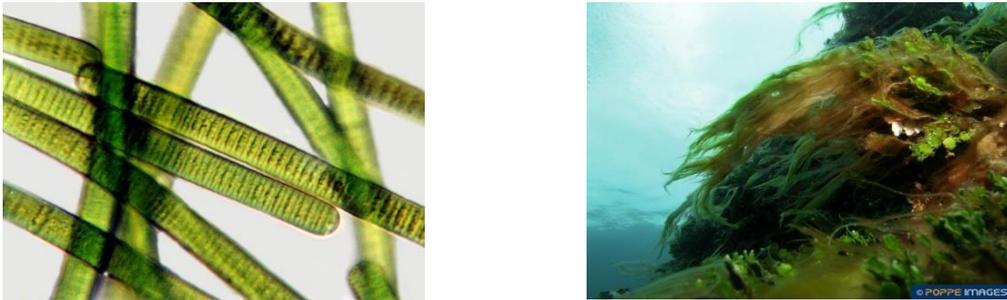
### I.7.5.3. Algues

Ce sont des organismes photosynthétiques unicellulaires ou multi-cellulaire formant une population hétérogène. Les algues sont indésirables dans les sources d'eau car elles affectent leur goût et leur odeur. Dans le traitement, l'action décolorante des algues a fait l'objet d'un nombre très limité de travaux. Une étude réalisée a montré que les espèces (*Chlorella*, *Oscillatoria* et *Spirogyra*) étaient capables de dégrader les colorants azoïques, car leur action décolorante dérive de l'expression d'une azoréductase (enzyme responsable de la fission de la liaison azote-azote) aboutissant à la production des amines aromatiques correspondantes qui sont par la suite complètement oxydées (**Jinqi, et Houtian, 1992**).



**Figure I-1 :** Chlorella (*Chlorella pyrenoidosa*) et *Chlorella* sp. Vue au microscope(x40)

(Source : Copyright © 2019 Rebelle Santé)



**Figure I-2 :** *Oscillatoria*, estuaire de Kaikorai, X640

(Source : landcareresearch.co.nz)



**Figure I-3 :** *Spirogyra* Filament vu au microscope (x40)

(Source : Wikipédia)

#### I.7.5.4. Protozoaires

De structure plus complexe que celle des bactéries, la distinction des protozoaires est plus simple. Certains groupes de protozoaires sont de redoutables prédateurs pour les bactéries. Ils ont la faculté de se déplacer et sont classifiés suivant leur mode de mouvement (nageurs, rampants, sessiles). Ces organismes peuvent jouer un rôle important au cours du processus d'épuration par leur abondance et leurs interactions avec les bactéries épuratrices (compétition et prédation) (Mansour, 2011).

### I.7.5.5. Levures

Le nombre de travaux réalisés sur la dégradation des colorants azoïques par des levures montre quelles sont très limitées, en raison de la difficulté à les manipuler et les cultiver, ainsi que son efficacité vis-à-vis des colorants est très faible peut prendre plusieurs dizaines de jours.

Récemment, des études réalisées par des chercheurs (**Ramalh et al. 2002**) ont testé la souche de levure *Candida zeylanoides* pour réduire des colorants azoïques modèles. En 2004, cette même équipe a pu caractériser l'activité enzymatique responsable de la dégradation des colorants azoïques chez *Issatchenkia occidentalis* et présenter un an plus tard le système enzymatique d'azoréduction impliqué dans un travail avec *Saccharomyces cerevisiae* (**Ramalh, 2005**).

### I.7.5.6. Actinomycètes

Bactérie ressemblant aux champignons microscopiques, en particulier l'espèce *Streptomyces*, que l'on trouve dans le sol, l'eau et la matière en décomposition.

Produisent les peroxydases extracellulaires qui jouent un rôle primordial dans la biodégradation de la lignine. La capacité des actinomycètes à décolorer mais aussi à minéraliser les colorants textiles, notamment azoïques, (**Mansour, 2011**).

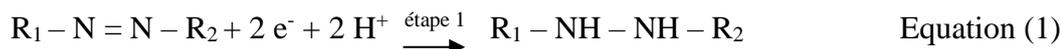
## I.7.6. Dégradation des colorants azoïques par des bactéries dans des conditions oxygénées et des conditions limitées en oxygène

### I.7.6.1. Dans des conditions limitées en oxygène

La dégradation des colorants azoïques par les bactéries, dans des conditions anaérobies, a été très largement étudiée. Les conditions de dégradation dans la digestion anaérobie sont adaptées à la réduction des colorants azoïques par clivage de la double liaison  $N = N$ , appelée azoréduction, entraînant une destruction subséquente des groupes chromophores (celle du système d'électrons  $\pi$  largement délocalisé) mais pas une minéralisation complète. Les amines aromatiques résultantes étant généralement incolores, la réduction azoïque du colorant est aussi désignée dans ce cas par « décoloration » (**Mansour, 2011**).

#### ➤ Azoréduction

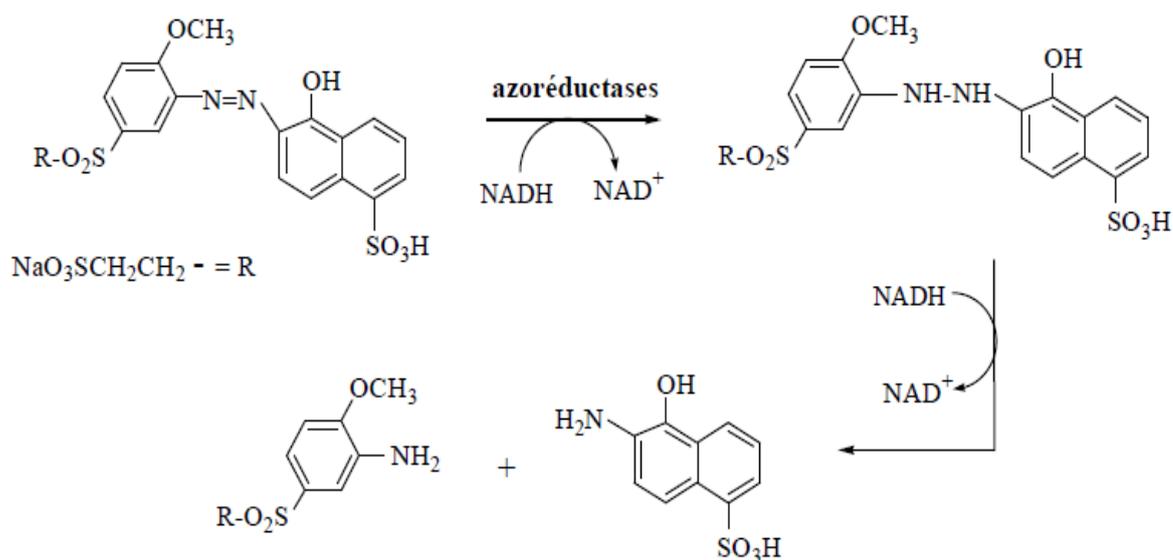
On appelle azoréduction le clivage de la double liaison azoïque ( $-N = N-$ ). Ce phénomène nécessite un transfert de quatre électrons en deux étapes selon les équations 1 et 2. Dans chaque étape on donne deux électrons au colorant azoïque qui est en fait un accepteur final d'électrons (**Mansour, 2011**).



(Amines aromatiques incolores)

Cette réaction est catalysée par une enzyme cytoplasmique non spécifique appelée azoréductase. Afin de comprendre si l'action de l'azoréductase était intra- ou extracellulaire, **Yu et al. (2001)** ont arrêté la réaction de décoloration au bout de 2 h d'incubation en présence de *Pseudomonas sp.* Et ont repris ensuite l'expérimentation séparément, soit avec la biomasse bactérienne, soit avec le milieu de culture. Les auteurs ont observé une faible décoloration (3 %) avec le milieu de culture alors que les colorants disparaissent complètement en présence de biomasse cellulaire. Ils ont conclu, par conséquent, que l'azoréduction est intracellulaire. L'identification des produits issus de l'azoréduction dans le milieu extracellulaire indique que les colorants sont transférés à l'intérieur de la cellule où ils seront réduits par une azoréductase puis les amines dérivées, résistant à l'oxydation, sont rejetées dans le milieu extérieur. (**Chang et al., 2001 ; Hsueh et Chen, 2007**).

L'azoréductase nécessite, pour son action, la présence d'un cofacteur tel que le NADH, NADPH ou FMN jouant le rôle d'un donneur d'électrons, (Figure I.4).



**Figure I.4 :** Réduction du rouge réactif 22 par *Pseudomonas luteola* (**Chang et al, 2001**).

### **I.7.6.2. Dans des conditions oxygénées**

La bio-décoloration des colorants azoïques en culture aérée reste peu étudiée et limitée à certaines espèces de bactéries (telles que : *Enterobacter agglomerans* et *Pseudomonas fluorescens* NCIM 2100) se limitent à l'azoréduction, première étape de la biodégradation (**Pande et Upadhyay, 2006**).

D'autres bactéries sont capables d'utiliser les amines aromatiques formées comme sources uniques de carbone, aboutissant ainsi à une dégradation complète ou « Minéralisation » des colorants azoïques. Ces bactéries dégradent les molécules colorantes par la succession de deux étapes enzymatiques :

#### **1. Une azoréduction**

Des azoréductases non sensibles à l'effet de l'oxygène, ont été purifiées et caractérisées chez la souche *Pseudomonas* KF46, ainsi que l'activité de cette azoréductase dépend fortement de la structure des colorants azoïques (**Kulla et al, 1983 ; Zimmermann et al, 1982**).

#### **2. Une oxydation**

Les amines aromatiques issues de l'azoréduction sont directement prises en charge par un système de cascade enzymatique impliquant des oxygénases et aboutissant à leur dégradation totale (minéralisation). Elles sont très résistantes à l'attaque bactérienne à cause de leur faible transfert à travers la membrane cellulaire, ont été facilement biodégradables par des bactéries de genre *Pseudomonas* (**Feigel et Knackmuss, 1993 ; Tan et al, 2005**).

Les *Pseudomonas* sont les plus citées et ont montré une grande aptitude à la conversion aérobie/anaérobie de colorants azoïques. Ainsi ont fait l'objet d'un nombre important d'études et ont révélé une grande capacité à simplifier les molécules colorantes par différents types de *Pseudomonas, sp.* (**Mansour, 2011 et Tiar et al, 2018**)

## Chapitre II : Matériels et méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire « Epuration et Valorisation des Eaux de Rejets » à “l’Unité de Développement des Equipements Solaires UDES Bou-Ismaïl”.

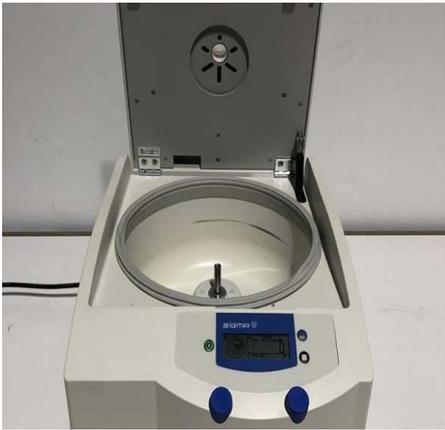
L’objectif de ce travail de recherche est d’étudier la cinétique de biodégradation d’un colorant anionique (Méthyl Orange), en utilisant une souche bactérienne appartenant au genre *Pseudomonas*

### II.1. Réactifs utilisés

- BHIB (Brain Heart Infusion Brith)
- Agar-Agar
- Méthyle Orange
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$
- $\text{K}_2\text{HPO}_4$
- Glucose
- $\text{NH}_4\text{Cl}$

### II.2. Appareils utilisés

- Une balance analytique de type OHAUS® Pioneer™ PA114. (**Figure II.4**)
- UN spectrophotomètre UV-Visible à double faisceaux de type SHIMADZU UV 1800.
- Une centrifugeuse de type SIGMA 2-6E (**Figure II.1**)
- Une étuve de séchage type Memmert (**Figure II.2**)
- Un multi-paramètre type Consort 5020 pour mesurer le pH et la conductivité(**Figure II.3**)
- Des agitateurs type WiseStir® (**Figure II.5**)
- SANoclav petit autoclave type TKL-MCS (**Figure II.6**)
- Une armoire de stérilisation UV avec des lampe germicide (**Figure II.7**)
- Un bec bunsen (**Figure II.8**)



**Figure II.1 : Centrifugeuse**



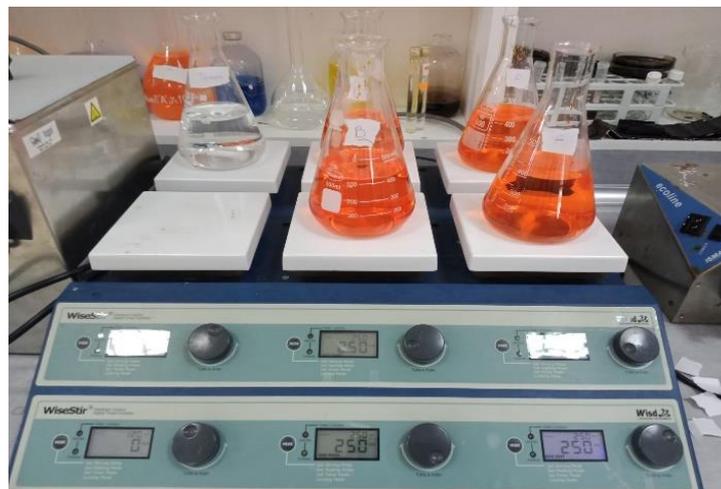
**Figure II.2 : Incubateur**



**Figure II.3 : Multi-paramètre**



**Figure II.4 : Balance analytique**



**Figure II.5 : Agitateurs**



Figure II.6 : Autoclave



Figure II.7 : Armoire de stérilisation UVC



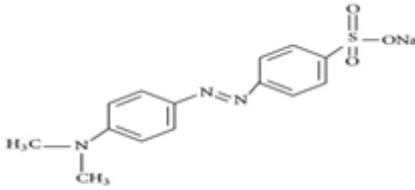
Figure II.8: Bec bunsen

### II.3. Polluant utilisé

Le méthyle orange a été utilisé comme polluant organique dans le but d'étudier son adsorption sur notre adsorbant composite. Le méthyle orange est le 4 - [(4-diméthylamino) phényle diazényl] benzène sulfonâtes de sodium (figure II.10). Le méthyle orange réactif est un colorant anionique. Il est également appelé C.1. Acide orange 52. Il passe du rouge au jaune orangé à un pH de 3,1 à 4,4 (**PubChem, n.d.**).

Les propriétés physico-chimiques du Méthyle Orange sont regroupées dans le tableau (II.1)

**Tableau II-1 : Caractéristiques du Méthyle Orange (MO) (**PubChem, n.d.**).**

<b>Nomenclature</b>	Méthyle Orange
<b>Formule chimique</b>	$C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$
<b>Structure</b>	
<b>Poids moléculaire</b>	327,34 g/mol
<b>pKa</b>	3,4
<b>Solubilité</b>	5.2 g.l <sup>-1</sup> dans l'eau à 20°C 1.0 g.l <sup>-1</sup> dans l'éthanol à 20°C
<b>Couleur</b>	Rouge orangé à pH < 3,2 et Jaune à pH > 4,4.
<b>Pureté</b>	85%
$\lambda_{max}$	464 nm à pH= 7,18
<b>Nom IUPAC</b>	Sodium 4-[(4-diméthylamino) phényldiazenyl] benzène sulfonât.



**Figure II.9 : Méthyle Orange (PubChem, n.d.).**

### **II.3.1. Microorganisme et culture**

Les microorganismes utilisés pour la bio-régénération doivent remplir certaines conditions dont la capacité à synthétiser les enzymes nécessaires à la dégradation du polluant adsorbé sur le composite, sur ce point des tests ont été effectués sur deux souches bactériennes de la famille des *Pseudomonas* sur la décoloration du méthyle orange, dont une souche de référence (*Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 27853), et une qui a été isolée par l'Institut Pasteur (*Pseudomonas Putida*).

Les deux souches ont été cultivées dans des boîtes de pétri sur (BHIB), puis inoculées avec une densité optique (DO) de 1,5 et une concentration de 0,8 - 1 g/l en poids sec dans des tubes de 20 ml contenant 10 ml d'un milieu (Basal salt medium) composé de ( $\text{NH}_4\text{Cl}$  0,5 g/l ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,4 g/l ;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1,2 g/l ; glucose 0,2 g/l), en présence de 50 mg/l de méthyle orange, pH ajusté à  $7 \pm 0,2$  et incubé à 35°C sous condition statique (Aktaş et Çeçen, 2007 ; Sarayu et Sandhya, 2010).

#### **II.3.1.1. Composition de la gélose (pH = 7)**

La gélose servant de milieu de culture a été auparavant autoclavée à 121°C pendant 20-25 min, elle est composée de : (pour 250 ml de l'eau distillé)

- BHIB (Brain Heart Infusion Brith): 9.25 g / 250 ml
- Agar-Agar :2.75 g / 250 ml



**Figure II.10 :** Milieu de culture

### II.3.1.2. Ensemencement

La solution de bactérie est étalée à l'aide d'une pipette pasteur sur des boîtes de Pétri en milieu aseptique (présence de flamme). Les boîtes de Pétriensemencées sont mises dans l'incubateur à 35 °C pendant 12 h afin de favoriser le développement bactérien.



**Figure II.11 :** Développement d'une nappe bactérienne après 12h (*P. Aeruginosa*)

Après étuvage, les boîtes sont raclées en milieu aseptique par une pipette de pasteur. Les bactéries raclées sont introduites dans un erlenmeyer complété à 250 ml de l'eau distillé pour passer aux tests de décoloration de Méthyle Orange.

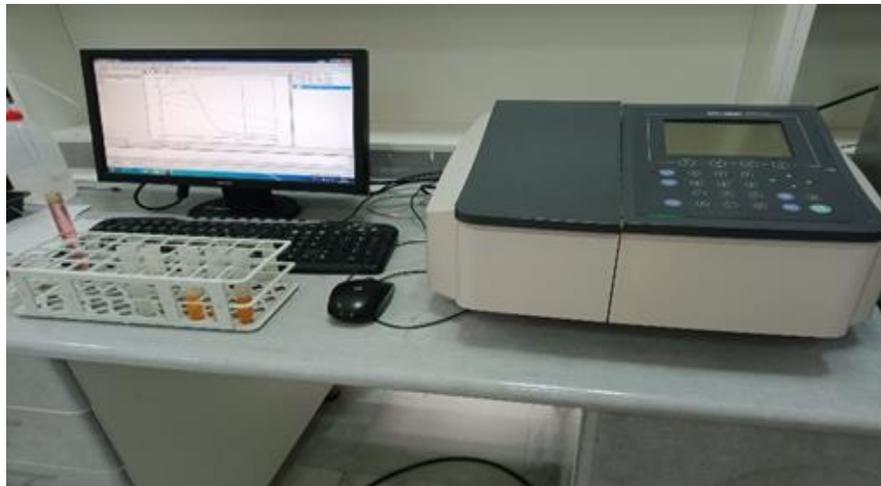
## II.4 Méthode d'analyse

Le spectrophotomètre UV-VIS utilisé est un appareil à double-faisceaux de marque SHIMADZU UV 1800. Il permet de quantifier les molécules présentes en solution, capables d'absorber des photons, dans la gamme de longueurs d'onde 200 -800 nm. L'absorbance ( $A$ ) de la solution est calculée à partir de la loi de Beer Lambert :

$$A = \epsilon C l = \log \left( \frac{I_0}{I} \right)$$

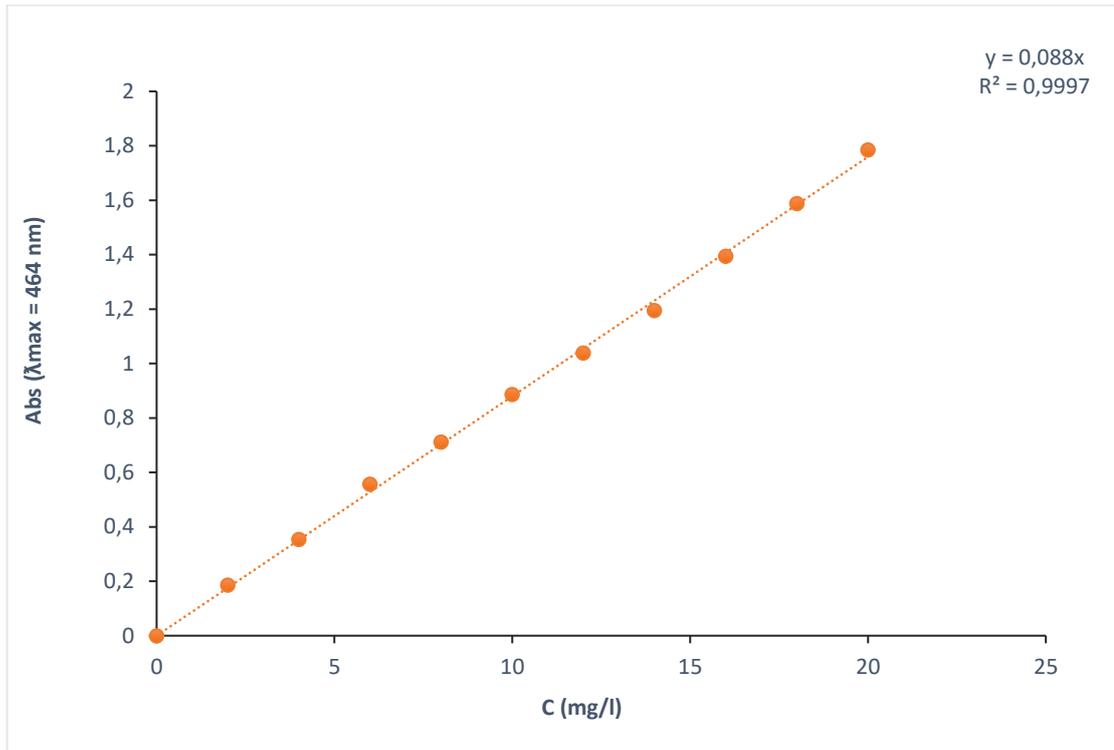
Tel que

- $\epsilon$  : Coefficient d'absorbance ( $L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), il dépend de la longueur d'onde, de la nature chimique de l'entité et de la température ;
- $C$  : la concentration de l'espèce absorbant ( $\text{mg L}^{-1}$ ) absorbant, exprimée en moles par litre
- $l$  : Le trajet optique (cm) ;
- $I_0$  : Intensité du faisceau incident ;
- $I$  : Intensité transmise du faisceau traversant l'échantillon.



**Figure II.12** : Spectrophotomètre

Les échantillons sont analysés à la longueur d'onde ( $\lambda_{\text{max}}$ ) correspondant au maximum d'absorption pour la molécule utilisée dans l'étude à savoir : (l'Orange de Méthyle), la valeur de  $\lambda_{\text{max}}$  (464 nm) est déterminée après balayage des longueurs d'ondes comprises entre 200 et 800 nm sur l'échantillon. Le développement bactérien a été aussi suivi par absorbance à 620 nm. L'absorption de différentes concentrations a permis la réalisation d'une droite d'étalonnage pour le Méthyle Orange (figure II.13).



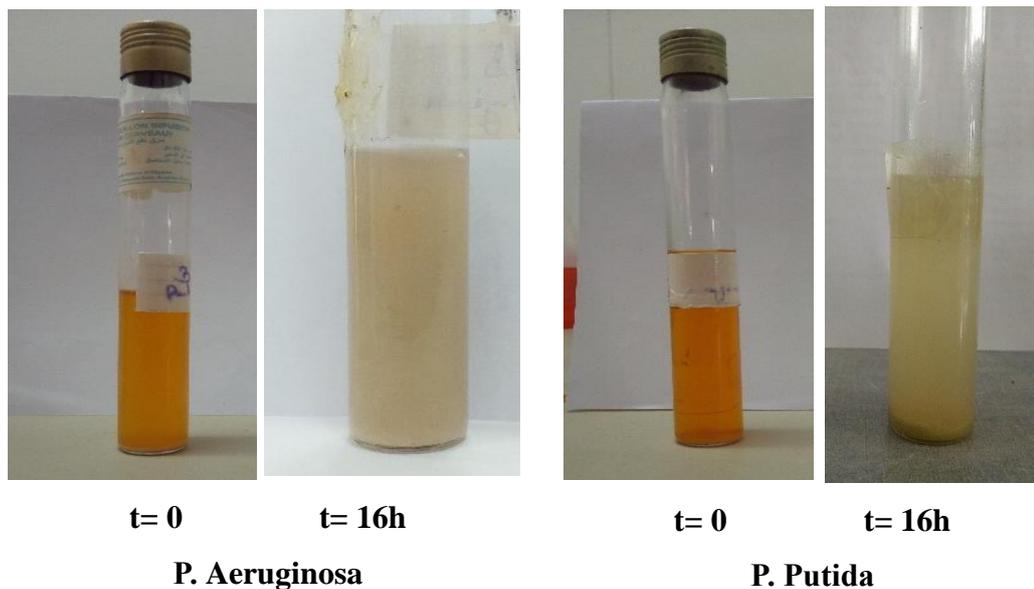
**Figure II.13** : Courbe d'étalonnage du Méthyle Orange

## Chapitre III : Résultats et discussions

### III.1. Choix de la souche bactérienne

Les résultats présentés dans la figure III.1 ont montré une décoloration positive pour les deux souches, avec une légère supériorité en vitesse de décoloration pour *P. Aeruginosa*.

En se basant sur ces résultats, notre choix c'est porté sur cette dernière afin de l'utiliser pour la biodégradation.



**Figure III.1** : Tests de décoloration du Méthyle Orange sur les deux souches bactériennes

### III.2. Biodégradation de Méthyle Orange par *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 27853

Dans une première étude, la biodégradation du MO a été suivie en utilisant comme souche bactérienne *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC 27853.

Pour cela, quatre milieux de cultures différents ont été choisis, les milieux sont composés d'une source de phosphates sous forme de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , une source d'azote ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) ainsi une source du carbone (glucose) selon les concentrations rapportées dans le tableau III.1.

Nous avons travaillé dans des milieux à pH neutres et stériles, pour cela toutes les solutions ont été autoclavées et cela avant l'ajout du colorant.

- **Milieu A** : Ne contenant que le milieu minimal additionné de colorant à 20 mg/l. L'intérêt de ce milieu est de déterminer si le colorant peut jouer le rôle de source de carbone et/ou source d'azote.
- **Milieu B** : Contenant du colorant et une source de carbone supplémentaire facilement métabolisable (glucose) afin de vérifier que le colorant peut être utilisé par *Pseudomonas Aeruginosa* en tant que source d'azote.
- **Milieu C** : Contenant du colorant et une source d'Azote supplémentaire facilement métabolisable (NH<sub>4</sub>Cl) afin de vérifier que le colorant peut être utilisé par *Pseudomonas Aeruginosa* en tant que source de carbone.
- **Milieu D** : Contenant du colorant, une source supplémentaire de carbone (glucose) et une source additionnelle d'azote (NH<sub>4</sub>Cl) afin d'examiner l'utilisation du colorant comme substrat énergétique.

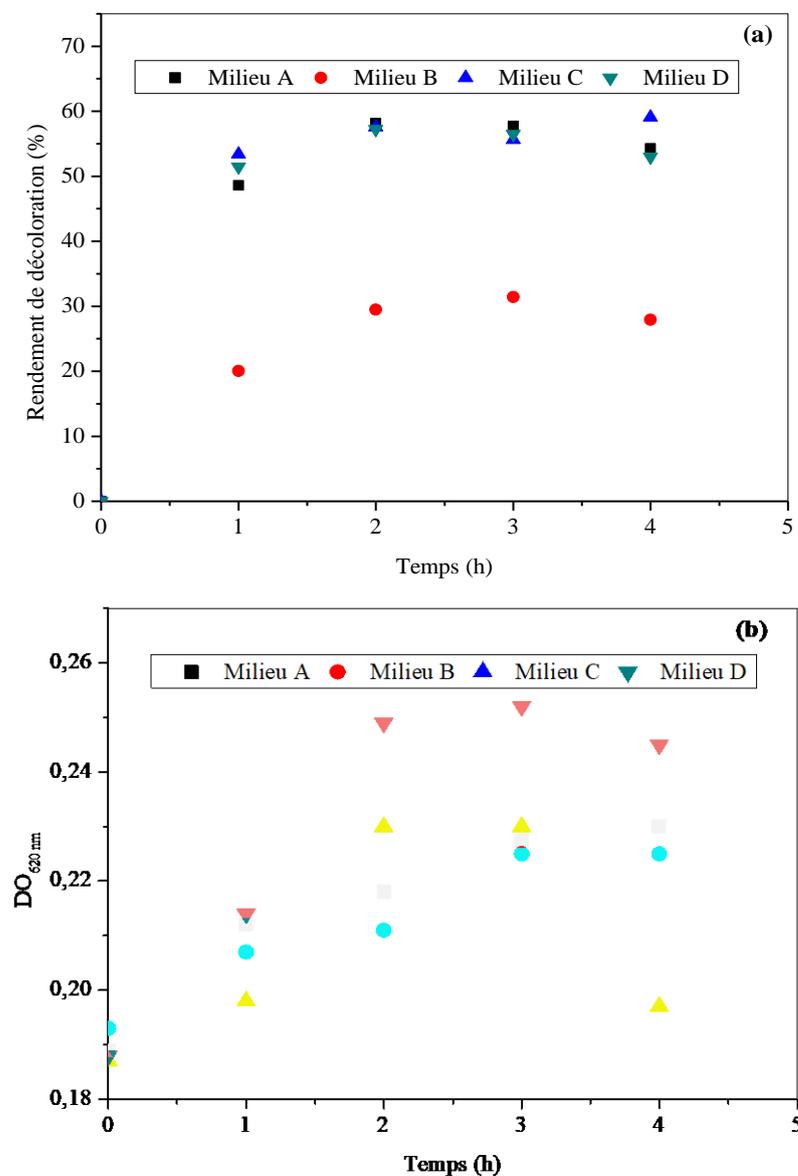
Les essais ont été réalisés en culture pure en flacons agités de 500 ml, contenant 300 ml du milieu ; la bactérie utilisée pour ces essais est *Pseudomonas Aeruginosa*, qui est largement utilisée en dépollution. Les solutions préparées sont mises sous agitation constante (150 tr min<sup>-1</sup>) durant toute la durée de l'expérience en anaérobie. La concentration en MO a été périodiquement déterminée sur toute la durée de l'expérience. Des prélèvements ont été pris au cours du temps, les échantillons prélevés ont été analysés à  $\lambda=620\text{nm}$  pour pouvoir suivre l'évolution du développement bactérien, après ont été centrifugés afin de séparer les microorganismes *Pseudomonas Aeruginosa* puis analysés à  $\lambda= 464 \text{ nm}$  pour pouvoir suivre l'évolution de la concentration de MO.

**Tableau III-1** : Récapitulatif des essais effectués

	MO (mg L <sup>-1</sup> )	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (g L <sup>-1</sup> )	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (g L <sup>-1</sup> )	Glucose (g L <sup>-1</sup> )	NH <sub>4</sub> Cl (g L <sup>-1</sup> )
<b>Milieu A</b>	50	0,4	1,2	0	0
<b>Milieu B</b>	50	0,4	1,2	0,2	0
<b>Milieu C</b>	50	0,4	1,2	0	0,5
<b>Milieu D</b>	50	0,4	1,2	0,2	0,5
<b>Témoin</b>	0	0,4	1,2	0,2	0,5
<b>Aérobie</b>	50	0,4	1,2	0,2	0,5

La figure III.2 (a) illustre les taux de biodégradation de la molécule du Méthyle Orange suivant les expériences du tableau III.1, nous avons obtenu un taux de biodégradation nul sous condition aérobie (résultat non tracé), un taux de 30% a été enregistré pour le milieu B en présence d'une source de carbone et en absence d'une source d'azote, ce qui confirme que la *Pseudomonas Aeruginosa* n'a pas utilisé le colorant en tant que source d'azote. Cependant les trois taux de dégradation les plus élevés sont 52, 62 et 66% sont obtenus pour les milieux A, C et D respectivement.

Les résultats obtenus nous amènent à déduire que la *Pseudomonas Aéruginosa* peut utiliser la molécule Méthyle Orange comme source de carbone.



**Figure III.2 :** Biodégradation du MO (a) décoloration de MO ; (b) Développement bactérien.

Pour tous les milieux, on a eu un développement bactérien (Figure III.2b). Les bactéries se sont développées pendant les premières heures d'incubation. La croissance bactérienne est passée par un maximum pour diminuer après 3 heures d'incubation.

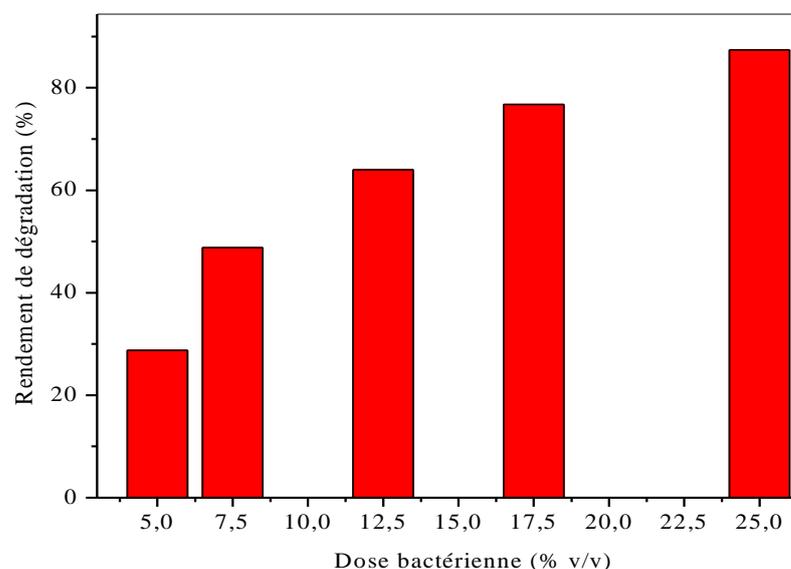
### III.3. Etude paramétrique de la biodégradation du MO par *Pseudomonas Aeruginosa*

Cette partie s'intéresse à la capacité épuratoire de la souche *Pseudomonas Aeruginosa* pour la biodégradation du MO.

Ces expériences en système batch, à petite échelle de laboratoire (Tube de 50 ml), vont permettre de déterminer les conditions de traitement les plus adaptées au procédé. Ainsi, les paramètres tels que la dose bactérienne, la concentration du MO et la température, ont été testés et leur efficacité a été évaluée sur la base de la biodégradation de molécule active de MO.

#### III.3.1. Effet de la dose bactérienne :

Dans un premier temps, nous avons cherché à déterminer l'effet de la dose bactérienne sur la biodégradation de MO à 35 °C. Les tests de la biodégradation ont été effectués dans une solution aqueuse à 20 mg l<sup>-1</sup> de MO (volume = 40 ml) contenant une source de phosphate sous forme de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, la dose bactérienne a été variée de 1 à 10 ml d'une suspension bactériennes dont l'absorbance à 620 nm a été ajustée à 1,3 à température de 35°C et à pH ≈ 7 pendant 24h, les échantillons prélevés ont été centrifugés afin de séparer les microorganismes du reste de la solution. Pour illustrer l'influence de la densité de l'inoculum utilisé sur la biodégradation de MO, nous avons représenté le rendement de décoloration de MO en fonction du temps pour les différentes doses bactériennes étudiées (Figure III.3).



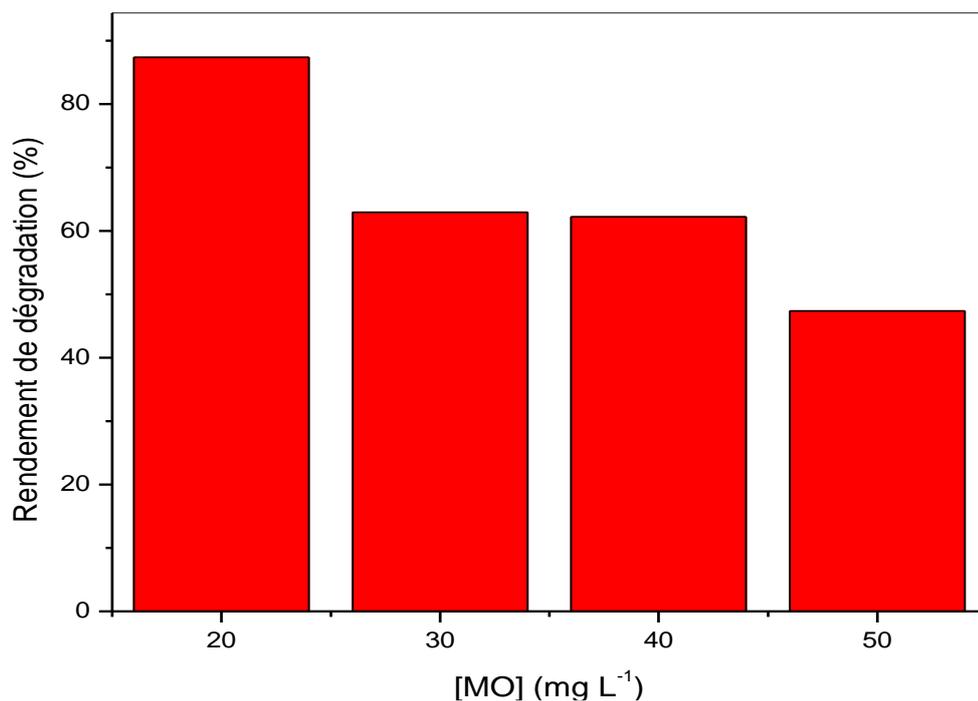
**Figure III.3 :** Effet de la dose bactérienne

Nous avons observé que la capacité d'élimination des colorants était affectée par la dose des bactéries utilisées. La décoloration du MO était de 28,78 à 5% de charge bactérienne en 24h, l'augmentation de la population bactérienne se traduit par une croissance du taux de décoloration avec une décoloration maximale (83,38%) à une charge bactérienne de 25% (Figure III.3).

Des résultats similaires ont été trouvés et rapportés par *Ayed et al, 2009* et *Roy et al, 2018* que la capacité d'élimination des colorants avait augmentés de manière significative avec l'augmentation de la charge bactérienne.

### III.3.2. Effet de la concentration de MO

La concentration du polluant est un autre paramètre important pour le procédé de biodégradation. Afin de déterminer l'effet de la concentration initiale de MO sur sa biodégradation, des solutions de 20, 30, 40 et 50 mg L<sup>-1</sup> en colorant ont été traitées à température de 35°C à pH= 7, avec 10 ml d'une suspension bactériennes dont l'absorbance à 620 nm est de 1,3, les milieux sont composés d'une source de phosphates sous forme de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>. Le temps d'incubation est de 24 heures. Les résultats sont présentés sur la (Figure III.4).



**Figure III.4 :** Effet de la concentration initiale de MO

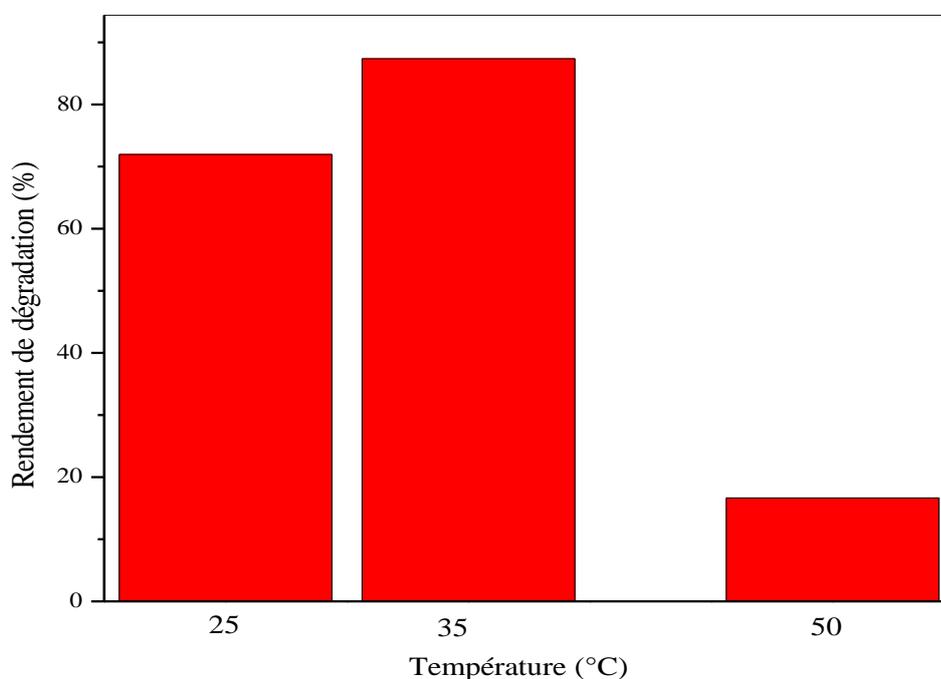
La figure III.4 montre que le rendement de dégradation diminue de 87 jusqu'à 47% lorsque la concentration de colorant augmente de 20 à 50 mg L<sup>-1</sup>, après 24 heures d'incubation. Nous remarquons que le rendement de dégradation diminue lorsque la concentration du colorant augmente.

Cela pourrait être attribué à la toxicité du colorant pour les cellules bactériennes par l'inhibition de l'activité métabolique, la saturation des cellules avec le colorant, l'inactivation du système de transport du colorant ou le blocage des sites actifs des enzymes azoréductases par les molécules de colorant (Vijaykumar *et al*, 2007 ; Sponza et Isik, 2004). Il a également été rapporté que les colorants sont des inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques (Asad *et al*, 2007 ; Chen *et al*, 2003). De plus, la concentration initiale du colorant fournit une force motrice essentielle pour surmonter toute résistance au transfert de masse du colorant entre les phases solide et aqueuse (Parshetti *et al*, 2006).

Des données similaires ont été rapportées par Mabrouk et Yusef, 2008 lors de dégradation de colorant Fast Red par *Bacillus Subtilis* HM et par Shah *et al*, 2013 pour la dégradation de méthyle orange par *Pseudomonas* Sp. ETL-1982.

### III.3.3. Effet de la Température

Afin d'explorer l'effet de la température sur la fiabilité du traitement, 10 ml d'une suspension bactériennes dont l'absorbance à 620 nm est de 1,3 est ajouté à 30 ml des solutions de MO de concentration initiale égale à 20 mg l<sup>-1</sup>, en présence d'une source de phosphates sous forme de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, le pH est ajusté à 7 et les solutions ont été incubées à 25, 35 et 50°C pendant 24h. Les résultats décrivant l'évolution de rendement de dégradation en fonction de la température, sont récapitulés sur la figure III.5.



**Figure III.5 :** Effet de la température

La température exerce une influence importante sur le taux de métabolisme et les enzymes. Les résultats ont montré que la dégradation du MO atteint la valeur maximale (87%) à une

température de 35°C. Par contre, la dégradation du MO a fortement diminué jusqu'à 16% lorsque la température a atteint 50°C et pour une température de 25°C, 71% de colorant a été dégradé. Par conséquent, la température optimale pour la dégradation du MO par *P. Aeruginosa* ATCC 27853 était de 35°C. vu que la *P. Aéruginosa* est une bactérie de genre mésophiles (La température optimale de croissance est de 20 à 40°C (30°C pour les mésophiles saprophytes, 37°C pour les mésophiles pathogènes)).

La température plus élevée provoque une inactivation thermique des protéines et affecte probablement les structures cellulaires telles que la membrane. Résultats similaires ont été trouvés par Kocher et Kumar pour la dégradation de violet crystal par *Bacillus subtilis* (Kocher et Kumar, 2011), et par Wanyonyi et al. Pour la dégradation du vert Malachite par un nouvel enzyme de *Bacillus cereus* strain KM201428 (Wanyonyi *et al*, 2017).

## Conclusion :

La problématique des eaux usées colorées et les risques liés à ses rejets rendent plus évident la nécessité de traiter cette pollution au niveau de sa source d'émission.

Ce travail avait pour objectif d'étude de l'élimination des colorants azoïques présents dans les effluents industriels par un traitement biologique.

Les tests de décoloration appliqués sur les deux souches (*Pseudomonas Aéruginosa*, et *Pseudomonas Putida*) ont donné un résultat positif pour les deux souches avec un léger avantage du côté de la *P. Aéruginosa* qui a fait ses preuves pour la dégradation de la molécule de Méthyle Orange.

Les paramètres de décoloration optimaux de l'étude étaient la concentration de colorant (20 mg/l), la charge bactérienne (25% v/v), la température (35°C), le pH (7), avec une vitesse d'agitation de 150 tr / min. On peut conclure des résultats globaux que la bactérie *Pseudomonas Aeruginosa* pourrait effectivement être utilisée comme une alternative aux processus physique et chimiques des effluent textiles car elle a un fort potentiel pour pouvoir décolorer ou dégrader le colorant méthyle orange.

## Références bibliographiques

- Al-Sawah M.A., Richard D., De Bellefon C., Chovelon J.-M., Ferronato C.,** (2010). Photocatalytic degradation of ammonium ions in the presence of doped TiO<sub>2</sub>, *Comptes Rendus Chimie*, 13, pp. 502-507.
- Aktaş, Ö., Çeçen, F.** (2007). Adsorption, desorption and bioregeneration in the treatment of 2-chlorophenol with activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*. 141(3), 769-777.
- Ambuludi, L.S.** (2012). Study of the physical properties and mechanical behavior of basaltic rocks: kinetic, mechanistic and toxicological study of the ibuprofen degradation by electrochemical and photochemical oxidation processes (Theses). Université Paris-Est.
- Asad, S., Amoozegar, M.A., Pourbabae, A.A., Sarbolouki, M.N., Dastgheib, S.M.** (2007). Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. *Bioresour. Technol.*, 98: 2082-2088.
- Atba, S., Benkaddour, N.** (2013). « Élimination d'un colorant par des algues marines modifiées » ; diplôme de Master, université de Mostaganem.
- Ayed, L., Chaieb, K., Cheref, A., Bakhrouf, A.** (2009). Biodegradation of triphenylmethane dye Malachite Green by *Sphingomonas paucimobilis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 25, 705-711
- Balan D.S.L., Monteiro, R.T.R.** (2001). Decolorization of textile indigo dye by ligninolytic fungi. *J. Biotechnol.*, 89, 141–145.
- Banat I.M., Nigam, P., Singh, D., Marchant, R.** (1996). Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: A review. *Bioresource Technology*, 58, 217-227.
- Brown. M.A, Devito. S.C,** (1993). « Predicting azo dye toxicity ». *Critical review in Environ. Sc. And Techn*, 12, 3, 405- 414.
- Carvalho, C.B., Franco, M.E., Souza, F.S., Féris, L.A.** (2018). Degradation of Acid Black 210 by advanced oxidative processes: O<sub>3</sub> and O<sub>3</sub>/UV. *Ozone : Science & Engineering*. 40, 372–376.
- Capon, M., Courilleau, V., Valte, V.** (1996). « Chimie des couleurs et des odeurs », Edition FOF, Berlin Springer, ISBN 2-9502444-2-4, 14-16.
- Chang, J.S., Lin, C.Y.** (2001). Decolorization kinetics of recombinant *Escherichia coli* strain harboring azo dye decolorization determinants for *Rhodococcus sp*, *Biotechnology Letters*, 23, 631-636.

- Chang, J.S., Chou, C., Lin, Y.C., Lin, P.J., Ho, J.Y., Hu, T.L.** (2001). Kinetic characteristic of bacterial azo dyes decolorization by *Pseudomonas luteola*. *Water Research*. 35, 2841-2850.
- Chavan, R.B.** (2011). Environmentally friendly dyes A2 - Clark, M, in *Handbook of Textile and Industrial Dyeing*. Woodhead Publishing: 515-561.
- Chebli, D.**, (2012). *Traitement des eaux usées industrielle*, thèse de Doctorat, Université FERHAT ABBAS, 210 p.
- Chen, K.C., WU, J.Y., Lion, D.J., Hwang, S.C.J.** (2003). Decolorization of the textile azo dyes by newly isolated bacterial strain. *Journal of Biotechnology*. 101, 57-68.
- Clarke, A.E., Anliker, R.** (1980). Organic dyes and pigments, in the handbook of environmental chemistry, Hutzinger, Editor. Springer-Verlag: Berlin.
- Delsouz Khaki, M.R., Shafeeyan, M.S., Raman, A.A.A., Daud, W.M.A.W.** (2018). Evaluating the efficiency of nano-sized Cu doped TiO<sub>2</sub>/ZnO photocatalyst under visible light irradiation. *Journal of Molecular Liquids*. 258, 354–365.
- Donzé, J. J.** (1988). *Colorants textiles*, Techniques de l'Ingénieur, K 350, p 1
- Dotto, J., Fagundes-Klen, M.R., Veit, M.T., Palácio, S.M., Bergamasco, R.,** (2019). Performance of different coagulants in the coagulation/flocculation process of textile wastewater. *Journal of Cleaner Production*. 208, 656–665.
- Feigel, B.J., Knackmuss H.J.** (1993). Syntropic interactions during degradation of 4 amino benzenesulfonic acid by a two species bacterial culture. *Arch. Microbiol.*, 159, 124–130.
- Fernandes, N.C., Brito, L.B., Costa, G.G., Taveira, S.F., Cunha-Filho, M.S.S., Oliveira, G.A.R., Marreto, R.N.,** (2018). Removal of azo dye using Fenton and Fenton-like processes: Evaluation of process factors by Box–Behnken design and ecotoxicity tests. *Chemico-Biological Interactions* 291, 47–54.
- Fujian, X., Hongzhang, C., Zuohu, L.** (2001). Solid– state production of lignin peroxidase (LiP) and manganese peroxidase (MnP) by *Phanerochaete chrysosporium* using steam-exploded straw as substrate. *Bioresour. Technol.*, 80, 149-151.
- Gaid, A.**, (1984). *Epuration biologique des eaux usées urbaines*. -Office des publications universitaires, Algérie.
- Ghezzar, M.R.** (2007). « *Traitement par plasma glidarc de composés toxiques et de rejets industriels* », thèse de doctorat, université de Mostaganem.

- Gomella, C., Guerrée, H.** (1978). Les eaux usées dans les agglomérations urbaines ou rurales (II- Le traitement). -Editions EYROLLES, Paris, France.
- Greene, J.C., Baughman G.L.** (1996). Effects of 46 dyes on population growth of freshwater green alga *Selenastrum capricornutum*, Text. Chem. Color. 28, 23-30.
- Guivarch E. Z.** (2004). « Traitement des polluants organiques en milieux aqueux par procédé électrochimique d'oxydation avancée "Electro-Fenton". Application à la minéralisation des colorants synthétiques » Université de Marne-La-Vallée le 24 septembre.
- Hammami, S.** (2008). « Étude de dégradation des colorants de textile par les procédés d'oxydation avancée. Application à la dépollution des rejets industriels » le 12 Décembre Université Tunis El Manar.
- Herrmann, J.M., Guillard, C., Arguello, M., Aguera, A., Tejedor, A., Piedra, L., Fernandez-Alba, A.** (1999). Photocatalytic degradation of pesticide pirimiphos-methyl determination of the reaction pathway and identification of intermediate products by various analytical methods. Catalysis Today. 54, 353-367.
- Hoigne, J.** (1997). Inter-calibration of OH radical sources and water quality parameters. Water Sci. and Technol., 35 (4), 1-8.
- Hunger, K.** (2003). Industrial Dyes: Chemistry, Properties, Applications, Edition Dr. Klaus Hunger, Frankfurt, Germany.
- Husain, Q., Husain, M.** (2012). Peroxidases as a Potential Tool for the Decolorization and Removal of Synthetic Dyes from Polluted Water, chapter 15, Environmental Protection strategies for Sustainable Development, Strategies for Sustainability, Springer Science Business Media B.V. 453-498
- Hsueh C.C. et B.Y. Chen** (2007). Comparative study on reaction selectivity of azo dye decolorization by *Pseudomonas luteola*. J. Hazard. Mater., 141, 842-849.
- Jinqi, L., Houtian, L.** (1992). Degradation of azo dyes by algae. Environ. Pollut., 75, 273-278.
- Konstantinou, K.I., Albanis, T.A.** (2003). Photocatalytic transformation of pesticides in aqueous titanium dioxide suspensions using artificial and solar light: Intermediates and degradation pathways. Appl Catal B : Environ, 42, 319-335.
- Kulla, H.G., Klausener, F., Meyer, U., Lüdeke, B., Leisinger, T.** (1983). Interference of aromatic sulfo groups in the microbial degradation of the azo dye's orange I and orange II. Arch. Microbiol., 135, 1-7.

- Leclerc, H., Gaillard, J.L., Simonet, M.** (1995). Microbiologie générale : La Bactérie et le monde bactérien, Edition DOIN.
- Letowski, J.,** (2000). Isolement et étude d'une souche bactérienne transformant le phénol en benzoate en conditions anaérobies, Thèse de doctorat. Département de microbiologie et immunologie. Faculté des études supérieures, Université de Montréal.
- Little, L.W., Chillingworth, M.A.,** (1974). in Reports on selected dyes and their effect, Editor: American Dye Manufacturers Institute, New York.
- Mabrouk, M.E.M., Yusef, H.H.** (2008). Decolorization of Fest Red by Bacillus Subtilis HM. Journal Orange Dye by Sciences Research, 4(3): 262-269.
- Manahan, S.E,** (1998). Environnemental chemistry, 6ed Ed, USA: Lewis publisher, 1994 color removal from textile effluent, JSDC.
- Mansour, H. B., Boughzala, O., Dridi, D., Barillier, D., Chekir-Ghedira, L., Mosrati, R.** (2011). Les colorants textiles sources de contamination de l'eau : CRIBLAGE de la toxicité et des méthodes de traitement. Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science, 24 (3), 209–238.
- Mioque, M., Combet Farnoux, C., Moskowitz, H.,** (1990). Abrégé de chimie organique, Tome 2, Ed. Masson, Paris, 206-208.
- Miocque, M., Combet Farnoux, C., Moskowitz, H.** (1982). « Abrégé de chimie organique, fonctions complexes molécules d'intérêt biologique », Tome 2.
- Moissa, F.L., Mittersteiner, M., Saugo, R., Floriani, T.C., de Jesus, P.C.,** (2018). Kinetic behavior of C.I. Reactive Blue 182 towards oxidation with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/UV and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/NaOH systems. Journal of Molecular Liquids 264, 675–682
- Mondal, S., Purkait, M.K., De, S.,** (2018). Introduction, in: Advances in Dye Removal Technologies, Green Chemistry and Sustainable Technology. Springer Singapore, 1–48.
- Moncada, S., Palmer, R.M., Higgs, E.A.** (1991). Pharmacol. Rev. 43, 109–142.
- Nicklin, J., Graeme-Cook, K, Paget, T.** (2000). L'essentiel en microbiologie, Edition Berti, Paris.
- Nigam, P., Banat, I.M., Singh, D., Marchant, R.** (1996). Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes. Proc. Biochem., 31, 435-442.
- Nigam, P. Marchant, R.** (1995). Selection of a substratum for composing biofilm system of a textileeffluent decolorizing bacteria. Biotechnol. Lett., 17, 993-996.

- Oppenländer, T.**, (2003). Photochemical Purification of Water and Air. Advanced Oxidation Processes (AOPs): Principles, Reaction Mechanisms, Reactor Concepts. Wiley-VCH.
- Ouaddari, H., Karim, A., Achiou, B., Saja, S., Aaddane, A., Bennazha, J., Albizane, A.** (2019). New low-cost ultrafiltration membrane made from purified natural clays for Direct Red 80 dye removal. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 103268.
- Pandey, B.V., Upadhyay, R.S.** (2006). Spectroscopic characterization and identification of *Pseudomonas fluorescens* mediated metabolic products of Acid Yellow-9. *Microbiol. Res.*, 161, 311-315.
- Paszczynski, A., Pasti-Grigsby, M.B., Goszczynski, S., Crawford R.L., Crawford, D.L.** (1992). Mineralization of sulfonated azo dyes and sulfanilic acid by *Phanerochaete chrysosporium* and *Streptomyces chromofuscus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 3598-3604.
- Ramalho, D.C.F.** (2005). Degradation of dyes with microorganisms studies with Ascomycete yeasts., Université de Minho, Portugal, 14 p.
- Ramalho, P.A., Scholze, H., Cardoso, M.H., Ramalho M.T., Oliveira-Campos, A.M.** (2002). Improved conditions for the aerobic reductive decolourisation of azo dyes by *Candida zeylanoides*. *Enzyme Microb. Technol.*, 31, 848-854.
- Robinson T., McMullan, G., Marchant, R., Nigam, P.** (2001). Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technology*. 77, 247-255.
- Roy, D.C., Biswas, S. K., Saha, A. K., Sikdar, B., Rahman, M., Roy, A. K., Prodhana, Z. H., Tang, S. S.** (2018). Biodegradation of Crystal Violet dye by bacteria isolated from textile industry Effluents. *PeerJ*. 6(6):e5015
- Sandhya, S.** (2010). Biodegradation of Azo Dyes Under Anaerobic Condition: Role of Azoreductase, Biodegradation of Azo Dyes, *The Handbook of Environmental Chemistry*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 9, 39-57
- Saratale, R. G., Gandhi, S. S., Purankar, M. V., Kurade, M. B., Govindwar, S. P., Oh, S. E., Saratale, G. D.** (2013). Decolorization and detoxification of sulfonated azo dye CI Remazol Red and textile effluent by isolated *Lysinibacillus* sp. RGS. *Journal of bioscience and bioengineering*, 115, 658-667.
- Sarayu, K., Sandhya, S.** (2010). Aerobic biodegradation pathway for Remazol Orange by *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied biochemistry and biotechnology* 160, 1241–1253.

- Saroj, S., Kumar, K., Pareek, N., Prasad, R., Singh, R.** (2014) Biodegradation of azo dyes Acid Red 183, Direct Blue 15 and Direct Red 75 by the isolate *Penicillium oxalicum* SAR-3. *Chemosphere*, 107, 240-248.
- Shah, M.P., Patel, K.A., Nair S.S., Darji, A.M., Maharaul, S.** (2013). Degradation and Decolorization of Methyl Orange Dye by an Application of *Pseudomonas* Spp. ETL-1982. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*, 1(1) 26-36.
- Shetti, N.P., Malode, S.J., Malladi, R.S., Nargund, S.L., Shukla, S.S., Aminabhavi, T.M.,** (2019). Electrochemical detection and degradation of textile dye Congo red at graphene oxide modified electrode. *Microchemical Journal*. 146, 387–392.
- Spacek W., Bauer R., Heisler G.,** (1995). Heterogeneous and homogeneous wastewater treatment-comparison between photodegradation with TiO<sub>2</sub> and the photo-Fenton reaction. *Chemosphere*, 30(3), 447-484.
- Sponza, D.T., Isik, M.** (2004). Decolorization and inhibition kinetic of Direct Black 38 azo dye with granulated anaerobic sludge. *Enzyme Microb. Technol.*, 34, 147-158.
- Steffan, S., Bardi, L., Marzona, M.** (2005). Azo dye biodegradation by microbial cultures immobilized in alginate beads. *Environment International*, 31, 201-205.
- Stolte, M., Vieth, M.** (2001). *Acta Endosc.* 31 (2) 125–130.
- Suwanchawalit, C., Wongnawa, S.,** (2008). Influence of calcination on the microstructures and photocatalytic activity of potassium oxalate-doped TiO<sub>2</sub> powders, *Applied Catalysis A: General* 338, 87-99
- Tan, N.C.G., van Leeuwen, A., van Voorthuisen E.M., Slenders, P. Prenafeta- Boldu, F.X.; Temmink, H., Lettinga, G., Field, J. A.** (2005). Fate and biodegradability of sulfonated aromatic amines. *Biodegradation*, 16(6), 527-537.
- Tassin, B., Thevenot, D.** (1993). *Rejets urbains par temps de pluie : pollutions et nuisances.* -Edition Ecole Nationale des Ponts et Chaussées, France.
- Tiar, L. Askarne, L., Ait Addi, E. Assabbane, A. Boubaker, H.** (2018). Etude de la biodégradation des polluants industriels –cas des colorants azoïques. *Smetox Journal*. 1(1), 63- 68
- Tsuda, S., Matsusaka, N., Madarame, H.** (2000). «The comet assay in eight mouse organs: result with 24 azo compounds» *Mutation Research*, 465, 11-26.

- Vijaykumar, M.H., Vaisampayana, P.A, Shouche, Y.S., Karegoudar, T.B.** (2007). Decolorization of nap hthalene-containing sulfonated azo dyes by *Kerstersia* sp. Strain VKY1. *Enzyme Microb. Technol.*, 40, 204-211.
- Wang, X., Jiang, C., Hou, B., Wang, Y., Hao, C., Wu, J.** (2018). Carbon composite lignin-based adsorbents for the adsorption of dyes. *Chemosphere*, 206, 587–596.
- Willmott, N.J., Guthrie, J.T., Nelson, G.** (1998). « the biotechnology approach to colour removal from textile effluent». *Journal of the Society of Dyers and Colourists*. 114, 38–41
- Yu, J., Wang, X., Yue, P.L.** (2001). Optimal decolorization and kinetic modeling of synthetic dyes by *Pseudomonas* strains. *Water Research*. 35, 3579-3586.
- Zimmermann, T., Kulla, H.G., Leisinger, T.** (1982). Properties of purified Orange II azoreductase, the enzyme initiating azo dyes degradation by *Pseudomonas* KF46. *Eur. J. Biochem.*, 129, 179-203.

**Site web:**

<https://doi.org/10.7202/1006453ar>

<https://www.rebelle-sante.com/chlorella-chlorella-pyrenoidosa>

<https://www.landcareresearch.co.nz>

<https://fr.dreamstime.com>

<https://www.researchgate.net/>

**PubChem, n.d.** Methyl orange. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/23673835>  
(consulté le 14/08/20).

**PubChem, n.d.** Methylene blue. URL <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6099>  
(consulté le 14/08/20)

## Présentation de l'UDES

L'Unité de développement des Equipements Solaires, UDES, Centre de Recherche rattachée au Centre de Développement des Energies Renouvelables, CDER est implantée à Bou-Ismaïl (Wilaya de Tipaza).



Elle a été créée par arrêté N° 008 du 9 Janvier 1988 de la présidence de la république (Journal officiel N° 06 du 10 février 1998). Depuis le 05 décembre 2007, date de publication de l'arrêté ministériel portant création des Entreprises Publiques à caractère Scientifique et Technique, l'UDES a été intégrée dans l'EPST Centre de Développement des Energies Renouvelables, cette dernière est largement ouverte aux projets de coopérations nationales internationales et à l'accueil d'étudiants dans le cadre de leur formation en graduation ou post-graduation dans le domaine des énergies renouvelables.

Elle compte en son sein plus de 70 chercheurs entre permanents et doctorants, et est l'une des principales institutions œuvrant dans le domaine des énergie renouvelables.

Les missions principales de l'Unité de Développement des Equipement Solaire sont de :

- Réaliser des travaux de conception, de dimensionnement et d'optimisation des équipements en énergies renouvelables pour la production de la chaleur, l'électricité, le froid et le traitement des eaux
- Mettre en œuvre toutes études de recherches de développement de procédés technologique de fabrication de prototypes, équipements et des préséries

- Etablir des études technico-économiques, d'engineering pour mettre en place des installations pilotes en vue d'assurer le transfert la maitrise de nouvelles technologies
- Mettre en place les techniques de caractérisation, de teste, de contrôles qualité et de conformité, en vue d'assurer la qualification, l'homologation et la certification des équipements développés.

L'Unité couvre un large spectre d'activités regroupées au sein de deus (02) divisions :

Equipement en Energies Renouvelables (EER), Froid et Traitement des Eaux par Energies Renouvelables (FTEER)

