الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

N° Réf : ……

Université El Moudjahid Abdelhafid BOUSSOUF- Mila

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques et Agricoles

Mémoire préparé en vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques et Agricole

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Thème :

Etude de la biodégradation par des souches bactériennes d'un polluant organique en milieu aquatique (cas de start-up)

Présenté par :

- **BRICHEN Maissa**
- **FEDDNE Chourouk**

Devant le jury :

BOUHALI IMAD Eddine	**MCB**	**Président**
BOUSBIA Sabri	**MCA**	**Examinateur**
KHENNAOUI Badis	**MCA**	**Promoteur**

Année Universitaire : 2025/2026

Remerciements

Ce mémoire a été réalisé au Laboratoire des Sciences de la Nature et de la Vie du Centre Universitaire de Mila.

En premier lieu, nous remercions ***ALLAH*** *le Tout-Puissant de nous avoir donné la volonté, la santé et le courage nécessaires pour réaliser ce travail.*

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude envers notre encadrant, ***Monsieur Khennaoui Badis****, Maître de conférences Classe A à l'Université Abdelhafid Boussouf de Mila, ainsi qu'à* ***Madame Bataiche Insaf****, Maîtresse de conférences Classe A à l'Université des Frères Mentouri Constantine, et* ***Monsieur Bourekoua abdelmalek****, Maître de conférences Classe A à l'Université Abdelhafid Boussouf de Mila pour leur soutien constant, leur disponibilité et leurs précieux conseils tout au long de notre travail de recherche.*

Nous les remercions sincèrement pour leurs orientations, leurs encouragements et leur accompagnement.

Nous tenons également à remercier les membres du pour avoir accepté d'évaluer notre mémoire, Leurs remarques et suggestions nous ont permis de mieux comprendre les enjeux de notre recherche et d'améliorer la qualité de notre travail.

Nos remerciements s'adressent également aux ingénieurs de laboratoire … pour leur aide précieuse et leur soutien technique, qui ont grandement contribué à la réalisation de ce travail.

Maissa et chourouk

Dédicace

À mon cher père, ***Rachid****, et à ma chère mère,* ***Wassila****, pour leur amour inconditionnel, leurs immenses sacrifices, leur soutien constant et leurs encouragements tout au long de mon parcours universitaire. Sans eux, cette réussite n'aurait jamais été possible.*

À mes chers frères, ***Diaa*** *et* ***Rabah****, pour leur affection, leur confiance et leur soutien indéfectible. Merci d'avoir toujours été à mes côtés..*

À une partie de mon cœur et de mon âme, ma grand-mère ***ZOUBIDA*** *qu'Allah lui accorde Sa miséricorde, qui a quitté ce monde mais demeure à jamais présente dans mon cœur. Je lui dédie cette réussite en hommage à son souvenir précieux. Que Dieu l'accueille dans Son vaste paradis. Son amour et ses prières resteront pour toujours une source de force et d'inspiration dans ma vie.*

À ma binôme, ***Chourouk***

À mes chères amies, ***Samah*** *et* ***Hadjer****, pour leur présence, leur compréhension, leurs encouragements et les merveilleux souvenirs que nous avons partagés tout au long de nos années d'études.*

À mes enseignants,

Monsieur ***Khennaoui Badis*** *et Madame* ***Bataiche Insaf*** *et Monsieur* ***Bourekoua abdelmalek***.

À tous ceux qui m'aiment et me soutiennent.

BRICHEN MAISSA

Dédicace

À ma très chère mère, ***Fahima***

Pour son amour, ses sacrifices et son soutien inestimable.

À la mémoire de mon père, ***Abd elAziz***

Que Dieu lui accorde Sa miséricorde et l'accueille dans Son vaste Paradis.

À mon frère, ***Oussama***

Qui a toujours été pour moi un véritable soutien.

À mes chères sœurs, ***Manal*** *et* ***Amani***

Pour leur présence et leurs encouragements.

À mon fiancé, ***Islam***

Pour son soutien et sa confiance en moi.

À ma binôme, ***Maissa***

À mes enseignants,

Monsieur ***Khennaoui Badis*** *et Madame* ***Bataiche Insaf*** *et et Monsieur* ***Bourekoua abdelmalek.***

À tous ceux qui m'aiment et me soutiennent.

Feddane Chourouk…

Résumé

La pollution des écosystèmes aquatiques par les polluants organiques synthétiques, en particulier les colorants azoïques tels que le méthyle orange, constitue un important défi environnemental et sanitaire en raison de leur stabilité chimique et de leur potentiel caractère cancérigène. Cette étude vise à évaluer la possibilité de biodégradation de ce colorant à l'aide de deux souches microbiennes : une bactérie du genre *Bacillus sp* et un champignon *Aspergillus niger.*

Les expériences ont été réalisées dans un milieu de culture nutritif contaminé par le méthyle orange à deux concentrations (25 mg/L et 50 mg/L). Le processus de biodégradation a été suivi au cours du temps par spectrophotométrie UV-Visible afin d'évaluer la diminution de la concentration du polluant. Parallèlement, la croissance microbienne et la production de biomasse ont été mesurées afin de vérifier la viabilité et l'activité métabolique des souches étudiées.

Les résultats ont démontré la capacité de *Bacillus sp* et d*'Aspergillus niger* à biodégrader le méthyle orange. Les profils cinétiques de dégradation ont révélé une diminution progressive et continue de la concentration du polluant, confirmant l'efficacité des enzymes microbiennes dans la rupture des liaisons azoïques (-N=N-). L'analyse comparative a également montré que les deux souches présentent une activité de biodégradation stable dans les conditions expérimentales étudiées, ce qui met en évidence leur potentiel pour des applications de traitement biologique des eaux usées contaminées par des polluants organiques industriels.

Abstract

The contamination of aquatic ecosystems by synthetic organic pollutants, particularly azo dyes such as methyl orange, represents a major environmental and public health challenge due to their chemical stability and potential carcinogenic effects. This study investigated the biodegradation potential of methyl orange using two microbial strains : a bacterium belonging to the genus *Bacillus sp* and the fungus *Aspergillus niger*.

Experiments were conducted in a nutrient culture medium contaminated with methyl orange at two concentrations (25 mg/L and 50 mg/L). The biodegradation process was monitored over time using UV–Visible spectrophotometry to evaluate the decrease in pollutant concentration. Microbial growth and biomass production were also measured to assess the viability and metabolic activity of the tested strains.

The results demonstrated that both *Bacillus sp.* and *Aspergillus niger* were capable of degrading methyl orange. The degradation kinetics revealed a continuous reduction in dye concentration, confirming the effectiveness of microbial enzymes in breaking azo bonds (-N=N-). Comparative analysis showed that both strains exhibited stable biodegradation performance under the tested conditions, highlighting their potential application in biological wastewater treatment processes for the removal of organic industrial pollutants.

ملخص

يُشكل تلوث الأنظمة البيئية المائية بالملوثات العضوية الاصطناعية، وخاصة الأصباغ الآزوية مثل (الميثيل أورانج) تحدياً بيئياً وصحياً كبيراً نظراً لاستقرارها الكيميائي واحتمالية كونها مواد مسرطنة. تبحث هذه الدراسة في إمكانية التحلل الحيوي لهذه الصبغة باستخدام سلالتين ميكروبيتين : بكتيريا من جنس *Bacillus sp* وفطر*.Aspergillus niger*

أُجريت التجارب في وسط زرع مغذٍ ملوث بصبغة "الميثيل أورانج "بتركيزين (25 ملغ/لتر و50 ملغ/لتر). تمت مراقبة عملية التحلل الحيوي بمرور الوقت باستخدام قياس الطيف الضوئي (UV-Visible) لتقييم انخفاض تركيز الملوث، بينما تم قياس نمو الميكروبات وإنتاج الكتلة الحيوية للتحقق من حيوية ونشاط السلالات الأيضي.

أظهرت النتائج قدرة كل من *Bacillus sp* و *Aspergillus niger* على تحلل صبغة "الميثيل أورانج ."وأشارت ملفات التحلل الحركية إلى انخفاض مستمر في تركيز الملوث، مما يؤكد فعالية الإنزيمات الميكروبية في كسر الروابط الآزوية-) .(-N=Nكما كشف التحليل المقارن أن كلتا السلالتين أظهرتا أداءً مستقراً في التحلل الحيوي تحت الظروف المختبرة، مما يشير إلى إمكانية استخدامهما في عمليات معالجة مياه الصرف الصحي بيولوجياً للتخلص من الملوثات الصناعية العضوية.

Tables des matières

Remerciements

Dédicace

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Tables des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction 1

Chapitre I: Recherche bibliographique

I. Recherche sur le traitement des eaux 4

1. Généralités sur l'eau 4

1.1. Définition de l'eau 4

2. Les eaux usées 4

2.1. Définition des eaux usées 4

2.2. Origine des eaux usées (domestique, agricole, pluviales, industrielle) 4

3. Définition et objectifs du traitement des eaux 6

3.1. Définition du traitement des eaux 6

3.2. Objectifs de la purification des eaux 6

4. Les méthodes de traitement des eaux brutes et des eaux usées 8

4.1. Prétraitement 8

4.2. Traitement primaire 10

4.3. Traitement secondaire (biologique) 11

4.4. Traitement tertiaire 14

5. Le traitement biologique des eaux 14

5.1. Définition de la biodégradation 14

5.2. Types de biodégradation (aérobie / anaérobie) 15
6. Les facteurs influençant la biodégradation (température, pH, oxygène, nutriments) 15
7. Les avantages et les limites du traitement biologique des eaux 16
7.1. Avantages 16
7.2. Limites du traitement biologique 16
II. Les polluants organiques 17
1. Définition des polluants 17
2. Types de polluants : organiques et inorganiques 17
2.1. Les polluants organiques 17
2.2. Les polluants inorganiques 17
3. Origine des polluants organiques dans les milieux aquatiques 18
3.1. Industrie textile 18
3.2. Industrie pharmaceutique 18
3.3. Secteur agricole 18
3.4. Rejets domestiques 18
4. Impacts des polluants organiques 19
5. Types de polluants organiques 20
5.1. Hydrocarbures 20
5.2. Pesticides 21
5.3. Détergents 21
5.4. Colorants 21
5.4.1. Classification des colorants 22
6. Problèmes causés par la présence des colorants dans les milieux aquatiques 23
7. Biodégradabilité des polluants organiques 24
7.1. Pourquoi certains polluants sont difficiles à dégrader 24
7.2. Rôle des bactéries et des champignons dans la biodégradation des polluants organiques 25
8. Présentation du polluant utilisé : *Le méthyle orange* 26
8.1. Définition 26
8.2. Formule chimique 26

8.3. Propriétés physico-chimiques 27
8.4. Pourquoi est-il considéré comme un polluant ? 27
8.5. Pourquoi l'utilisons-nous dans cette étude ? 28

Chapitre II: Matériel et méthodes

1. Matériel et produits 33
2. Les Appareillages 35
2.1. Spectroscopie d'absorption UV-visible 35
2.1.1. Principe 35
2.2. La centrifugeuse 38
2.2.1. Définition 38
2.3. Filtration 39
2.4. pH-mètre 39
2.5. Autoclave 40
2.5.1. Définition 40
2.5.2. Principe de fonctionnement 40
2.5.3. Rôle de l'autoclave en microbiologie 41
2.5.4. Application dans notre étude 42
2.6. Agitateur 42
2.7. Matériels biologiques 43
2.7.1. Aspergillus niger 44
2.8. Solution de Méthyle orange 44
2.9. Réactivation des souches microbiennes 45
2.10. Préparation de milieu minimal (MM) 46
2.10.1. MM de bactérie 46
2.10.2. MM de champignon 46
2.11. Préparation des milieux de dégradation 46
2.12. Préparation de la suspension bactérienne 47
2.13. Biodégradation MO 47
2.14. Dosage de MO par spectroscopie UV visible 49

2.15. Test de viabilité des souches bactériennes 49
2.16. Détermination de la biomasse 51
2.16.1. Souche bactérienne 51
2.16.2. Pour la souche fongique 51

Chapitre III: Résultats et discussion

1. Résultat de La biodégradation 56
1.1. La souche bactérienne (*Bacillus sp.*) 56
1.2. Résultat de La biodégradation de MO par la souche fongique (*Aspergillus niger*) ... 58
1.3. Comparaison des procédés de biodégradation du méthyl orange par *Bacillus sp* et *Aspergillus niger* 60
2. Résultat de Test de viabilité 61
2.1. La souche bactérienne (*Bacillus sp.*) 61
2.2. La souche fongique (*Aspergillus niger*) 62
3. Résultats de la biomasse produite 65
Conclusion 68
Perspectives 69

Projet de start-up

Valorisation des résultats sous forme d'une Startup 71
Introduction : 71
1. Graphical abstract : 71
2. Présentation du projet Startup : 72
2.1. Nom de la startup : 72
2.2. Prototype proposé : 72
2.3. Description du service : 72
3. Impact et perspectives : 73
3.1. Impact 73
3.2. Perspectives 73
4. BMC 74
Conclusion 74

Liste des abréviations

- **MO :** Méthyle Orange
- **H_2O :** Eau
- **MES :** Matières En Suspension
- **DBO :** Demande Biochimique en Oxygène
- **DCO :** Demande Chimique en Oxygène
- **REUT :** Réutilisation des Eaux Usées Traitées
- **CO_2 :** Dioxyde de Carbone
- **ADN :** Acide Désoxyribonucléique
- **λmax :** Longueur d'Onde Maximale
- **CIRC :** Centre International de Recherche sur le Cancer
- **UV-Visible :** Ultraviolet-Visible (spectrophotométrie)
- **IUPAC :** International Union of Pure and Applied Chemistry (Union
- Internationale de Chimie Pure et Appliquée)
- **MM :** milieu minimale
- **Sp :** species
- **mg :** milligramme
- **L :** litre
- **ml :** millilitre
- **J :** jour
- **% :** Pour cent
- **GN :** gélose nutrive
- **uL :** microlitre.
- **DO :** densité optique

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Impacts sur l'environnement 19
Tableau I.2 : Impacts sur les organismes aquatiques : 19
Tableau I.3 : Impacts sur la santé humaine 20
Tableau I.4 : Classification des colorants 22
Tableau I.5 : Formule chimique 26
Tableau I.6 : les principales propriétés du méthyle orange 27
Tableau II.1 : Matériel et produits 33
Tableau II.2 : Paramètres de stérilisation 41
Tableau II.3 : applications de la stérilisation 41
Tableau III.1 : biomasse de la souche bactérienne 65
Tableau III.2 : biomasse la souche fongique 65

Liste des figures

Figure I.1 : Schéma de principe du procédé à boues activées 12
Figure I.2 : Structure chimique de méthyle orange 26
Figure II.1 : La loi de Beer Lambert 36
Figure II.2 : Cuve d'échantillon de spectroscopie UV visible 36
Figure II.3 : Spectrophotomètre JENWAY 6850 UV Vis 37
Figure II.4 : La centrifugeuse 39
Figure II.5 : l'appareil de pH mètre 40
Figure II.6 : l'appareil d'autoclave 40
Figure II.7 : l'appareil d'agitateur 43
Figure II.8 : Aspect macroscopique d'une colonie de *Bacillus sp* 44
Figure II.9 : Aspect macroscopique d'une colonie de *Aspergillus niger* 44
Figure II.10 : Méthyle orange en poudre et en solution 44
Figure II.11 : Spectre d'absorption UV-visible de MO (100 mg /l) dans l' eau 45
Figure II.12 : Ensemencement de *Bacillus sp.* 46
Figure II.13 : Ensemencement *d'Aspergillus niger* 46
Figure II.14 : milieu de dégradation de Bacillus 48
Figure II.15 : milieu de dégradation de *l'Aspergillus niger* 48
Figure II.16 : Étapes expérimentales de la biodégradation du méthyl orange 49
Figure II.17 : technique de dosage de MO 49
Figure II.18 : Représentation schématique du protocole du test de viabilité des souches bactériennes et fongiques 50
Figure II.19 : Étapes de mesure de la biomasse 52
Figure III.1 : Comparaison macroscopique entre la solution initiale (témoin sans bactérie) et les solutions traitées par la souche bactérienne *Bacillus sp.* 56
Figure III.2 : Évaluation de la capacité de biodégradation de MO par *Bacillus sp* à des concentrations de 25 mg/L et 50 mg/L. 57
Figure III.3 : Comparaison macroscopique entre la solution initiale (témoin sans champignons) et les solutions traitées par la souche fongique (*Aspergillus niger*) 59
Figure III.4 : Évaluation de la capacité de biodégradation de MO par *Aspergillus niger* 59
Figure III.5 : Résultat $[50]_1$ 61
Figure III.6 : Résultat $[50]_2$ 61

Figure III.7 : Résultat $[25]_1$ 61
Figure III.8 : Résultat $[25]_2$ 62
Figure III.9 : Résultat $[50]_1$ 62
Figure III.10 : Résultat $[50]_2$ 62
Figure III.11 : Résultat $[25]_1$ 63
Figure III.12 : Résultat $[25]_2$ 63
Figure III.13 : Histogramme en bâtonnets de la viabilité cellulaire de *Bacillus sp* en fonction de la concentration. 63
Figure III.14 : Histogramme en bâtonnets de la viabilité cellulaire *d'Aspergillus niger* en fonction de la concentration. 64

Introduction

Introduction

La pollution des ressources hydriques constitue l'un des défis majeurs du XXIe siècle, exacerbée par l'industrialisation mondiale rapide. Les eaux usées industrielles, issues notamment des secteurs du textile, du cuir et de la papeterie, représentent une source importante de divers polluants organiques complexes rejetés directement dans l'environnement sans traitement adéquat. Parmi ces polluants organiques, les colorants synthétiques, et plus particulièrement les colorants azoïques tels que le méthyle orange, occupent une place prépondérante en raison de leur utilisation intensive dans les procédés industriels et de leur grande stabilité chimique.

Ces polluants organiques se distinguent par une structure moléculaire complexe, caractérisée par des liaisons chimiques fortes (liaisons azo) associées à des cycles aromatiques, ce qui les classe parmi les polluants récalcitrants. La présence de ces polluants organiques dans les systèmes aquatiques ne se limite pas à une altération des propriétés physiques de l'eau, comme la couleur et la turbidité, qui entravent la photosynthèse des organismes aquatiques ; ils présentent également une toxicité élevée, avec des effets potentiellement cancérigènes et mutagènes, menaçant ainsi l'équilibre écologique et la santé humaine.

Bien que des méthodes de traitement conventionnelles, physico-chimiques, existent, elles se heurtent souvent à des limites majeures telles que des coûts opérationnels élevés, la consommation importante de produits chimiques et la production de boues secondaires toxiques difficiles à gérer. Dans ce contexte, la biodégradation émerge comme une alternative écologique durable et économiquement viable, reposant sur l'exploitation des capacités métaboliques des microorganismes pour éliminer ces polluants organiques.

Le processus de biodégradation repose sur l'activité directe des microorganismes notamment des bactéries telles que le genre Bacillus et des champignons tels qu'Aspergillus niger pour interagir avec ces polluants organiques, les transformant en sous-produits plus simples et moins toxiques, voire en substances plus stables dans l'environnement.

Dans ce cadre, ce travail de recherche vise à évaluer et à comparer l'efficacité de biodégradation de deux souches microbiennes sur le polluant organique qu'est le méthyle orange. L'étude se propose d'explorer la capacité de ces microorganismes à s'adapter à différentes concentrations de polluant et d'analyser la cinétique de biodégradation par spectrophotométrie UV-Visible. En étudiant la corrélation entre la croissance microbienne et l'efficacité de la décoloration, ce travail apporte un éclairage scientifique sur les perspectives

d'intégration de ces solutions biologiques dans les systèmes de traitement des eaux industrielles chargées en polluants organiques.

Chapitre I:

Recherche bibliographique

I. Recherche sur le traitement des eaux

1. Généralités sur l'eau

1.1. Définition de l'eau

L'eau, molécule de formule chimique H_2O, est le constituant majeur de la biosphère et le support indispensable de toute vie. Substance naturelle par excellence, elle n'existe toutefois jamais à l'état pur dans l'environnement ; elle contient toujours des sels dissous, des gaz et des matières organiques et minérales en suspension ou en solution. Cette propriété de solvant universel, essentielle aux processus biologiques, la rend également vulnérable aux contaminations d'origine anthropique. Ainsi, la qualité de l'eau est déterminée par l'ensemble de ses caractéristiques physiques, chimiques et biologiques, dont l'altération peut compromettre son usage et l'équilibre des écosystèmes aquatiques[1].

2. Les eaux usées

2.1. Définition des eaux usées

Les eaux usées sont des eaux dont la qualité a été altérée par les activités humaines. Elles peuvent provenir des rejets industriels, des eaux de ruissellement issues des zones urbanisées (telles que les parcs de stationnement), ainsi que d'autres sources anthropiques similaires[2].

Les eaux usées se présentent sous forme de liquides résiduaires, comprenant des solutions, des colloïdes, des suspensions, ainsi que des matières solides dissoutes ou en suspension. Elles sont généralement évacuées par des réseaux de canalisations vers des milieux récepteurs naturels (cours d'eau, lacs, réservoirs) ou vers des ouvrages de traitement, tels que les stations d'épuration et les fosses de traitement[3].

2.2. Origine des eaux usées (domestique, agricole, pluviales, industrielle)

- Origine domestique

Les eaux usées domestiques, dites également eaux usées ménagères ou municipales, sont étroitement liées aux activités humaines quotidiennes. Elles sont générées par l'utilisation de l'eau dans les habitations, les dépendances ainsi que dans les lieux publics. Ces eaux se caractérisent par la présence de matières en suspension, notamment les fèces, les sécrétions et muqueuses d'origine humaine et animale, ainsi que les résidus alimentaires. Elles contiennent également une charge importante en composés organiques tels que les glucides, les protéines et les lipides.

Ainsi que des substances chimiques provenant principalement des produits de nettoyage, des détergents, des lessives et des huiles. À ces effluents fortement pollués peuvent s'ajouter, selon le type de réseau d'assainissement (séparatif, pseudo-séparatif ou unitaire), des eaux faiblement polluées issues des toitures, des systèmes de drainage, des cours, des sous-sols et des garages[4]**.**

-Les eaux usées agricoles

Les eaux usées agricoles désignent les eaux qui ont été contaminées par des substances employées dans le secteur agricole, notamment les engrais et les pesticides. Le ruissellement des eaux provenant des terres cultivées, enrichies en engrais azotés, nitrates et phosphates, entraîne une augmentation de la teneur en composés azotés et phosphatés dans les nappes superficielles et les cours d'eau. De ce fait, l'agriculture constitue la principale source de pollution diffuse dans l'environnement[2]**.**

-Les eaux pluviales et de ruissellement

Les eaux pluviales, en ruisselant sur les rues, se chargent fréquemment de polluants tels que la poussière, les suies de combustion et les hydrocarbures issus des véhicules. Ces eaux accumulent ainsi des substances nocives et sont souvent évacuées directement vers les rivières, provoquant une pollution significative des milieux aquatiques[5]**.**

-Origine industrielle et différents types de rejet

La production d'eaux usées industrielles est directement liée aux activités des usines de production et de services ainsi qu'aux processus technologiques qui y sont mis en œuvre. La majorité de la pollution industrielle provient des secteurs tels que les industries minières, métallurgiques, pétrolières, textiles, énergétiques, électromécaniques, de la tannerie, de la cellulose et de l'alimentation.

Les caractéristiques de ces eaux usées varient d'une industrie à une autre. En plus des matières organiques, azotées et phosphatées, elles peuvent contenir des substances chimiques et métalliques. Selon leur origine industrielle, elles peuvent également inclure :

- Hydrocarbures, présents dans les raffineries ;
- Métaux, utilisés dans la métallurgie et le traitement de surface ;
- Matières grasses, issues des industries agroalimentaires et de l'équarrissage ;
- Acides, bases et divers produits chimiques, provenant des industries chimiques ;

- Matières radioactives, produites par les centrales nucléaires et le traitement des déchets radioactifs.

La toxicité, la mobilité et la charge en polluants industriels peuvent avoir un impact potentiellement plus important sur les ressources en eau, la santé humaine et l'environnement que le volume réel des eaux usée[6].

3. Définition et objectifs du traitement des eaux

3.1. Définition du traitement des eaux

Le traitement des eaux désigne l'ensemble des méthodes physiques, chimiques et biologiques mises en œuvre pour éliminer les polluants, les contaminants ou les substances non désirées dans l'eau. L'objectif est de transformer une eau de qualité initiale (naturelle, usée ou brute) en une eau de qualité finale adaptée à un usage particulier[7].

En fonction de l'origine de l'eau et de son utilisation finale, on peut identifier trois grands types de traitement :

-Traitement des eaux potables : À partir d'eau douce (provenant de rivières, lacs ou nappes phréatiques) pour la rendre propre à la consommation humaine.

-Traitement des eaux usées : À partir d'eaux domestiques, industrielles ou agricoles polluées, pour les dépolluer avant leur rejet dans le milieu naturel ou leur réutilisation.

-Traitement des eaux industrielles ou de process : Pour préparer une eau ultra-pure (ex : pour la pharmacie, la chaudière, l'électronique) ou pour recycler l'eau au sein d'un cycle industriel[8].

3.2. Objectifs de la purification des eaux

Les objectifs sont variés et dépendent de l'usage prévu. Ils peuvent être classés en quatre grandes catégories.

A) Objectifs sanitaires (priorité essentielle pour l'eau potable)

-Éliminer les agents pathogènes : Éliminer les bactéries (choléra, typhoïde), virus (hépatite A, poliomyélite), parasites (giardia, cryptosporidium) responsables de maladies liées à l'eau.

-Éliminer les substances toxiques : Diminuer la concentration de métaux lourds (plomb, mercure, arsenic), de pesticides, de nitrates et de sous-produits industriels nuisibles à la santé humaine.

-Améliorer les qualités organoleptiques : Rendre l'eau limpide, incolore, inodore

(par exemple : enlever le goût de chlore ou de moisi) et lui donner un goût agréable pour inciter à sa consommation.

B) Objectifs environnementaux (pour les eaux usées)

-Protéger les milieux récepteurs : Éviter la pollution des rivières, lacs, nappes phréatiques et mers. L'objectif est de rejeter une eau dont la qualité ne nuit pas à l'écosystème (pas d'eutrophisation, pas de mortalité des poissons).

-Réduire la demande en eau douce : Permettre la réutilisation des eaux usées traitées (REUT) pour l'irrigation, le nettoyage urbain ou certains usages industriels, préservant ainsi la ressource naturelle.

-Préserver la biodiversité aquatique : En maintenant des paramètres physico-chimiques compatibles avec la vie (température, pH, oxygène dissous, turbidité).

C) Objectifs économiques et industriels

- Protéger les infrastructures : Éliminer les substances corrosives ou entartrantes (calcaire, silice) qui pourraient endommager les canalisations, chaudières ou échangeurs de chaleur.

- Garantir la qualité des produits : Dans l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique ou électronique, l'eau est un composant du produit final ou est utilisée pour le rinçage. Elle doit être d'une pureté extrême (eau déminéralisée, eau osmosée) pour ne pas altérer le produit.

- Optimiser les processus : Une eau traitée permet un fonctionnement plus efficace des machines (moins d'entartrage, moins de corrosion, moins de nettoyage) et réduit les coûts de maintenance.

D) Objectifs sociétaux et réglementaires

-Respecter la législation : À travers le monde, des normes strictes (ex : directive européenne sur l'eau potable, loi sur l'eau en France, Safe Drinking Water Act aux États-Unis) imposent des seuils maximaux de contaminants. Assurer un accès équitable : Fournir une eau de qualité à tous les citoyens, y compris dans les zones rurales ou défavorisées, est un objectif de santé publique et de justice sociale.

-Gérer durablement la ressource : Face aux stress hydriques et au changement climatique, le traitement (notamment le recyclage) devient un outil clé de la gestion intégrée de l'eau[9].

4. Les méthodes de traitement des eaux brutes et des eaux usées

La purification des eaux usées se fait dans les stations d'épuration, ce processus est indispensable pour rendre les eaux propres et sans danger, et afin de préserver l'environnement ainsi que la santé publique et animale contre tout risque. À la sortie de la station, il y a, d'un côté, de l'eau traitée qui est renvoyée dans le milieu naturel et, de l'autre, des résidus appelés boues résiduelles[10].

La transformation des eaux brutes en eau potable se déroule dans les stations de potabilisation, où les eaux issues des barrages reçoivent divers types de traitements.

Trois méthodes principales existent pour purifier l'eau, applicables tant au traitement des eaux usées qu'à la fabrication d'eau potable :

- Les méthodes physico-chimiques (comprenant les prétraitements, les traitements primaires et la désinfection, principalement utilisées pour la production d'eau potable)
- Les méthodes biologiques
- Les méthodes chimiques, qui reposent sur l'oxydation des substances. Bien qu'elles soient très efficaces, elles sont aussi coûteuses. Les produits les plus couramment employés incluent l'ozone et des dérivés chlorés.

4.1. Prétraitement

Le prétraitement représente la première étape du traitement des eaux usées dans une station d'épuration. Il a pour objectif principal d'agir de façon mécanique et physique. Son rôle consiste à éliminer les déchets solides grossiers, les particules minérales lourdes ainsi que les substances flottantes, comme les graisses et les huiles, qui pourraient nuire au bon fonctionnement des équipements et des processus biologiques qui suivent. Il s'agit donc d'une étape cruciale de protection et de préparation de l'eau avant qu'elle ne soit envoyée vers les unités de traitement primaire et secondaire. Les déchets retirés à ce stade, comme les plastiques, le sable ou les graisses, ne sont pas biodégradables ou le sont très difficilement. Leur présence dans les bassins d'aération ou les biofiltres pourrait entraîner une accumulation de déchets inertes, une réduction du volume utile, une usure rapide des appareils (pompes, turbines) et une perturbation générale du processus d'épuration.

Le prétraitement est donc une étape essentielle à la bonne durabilité de l'ensemble du système de traitement.

Les opérations qui composent le prétraitement sont généralement les suivantes :

A. Le dégrillage et le tamisage

Le dégrillage est la première barrière physique. Il consiste à faire passer les eaux usées brutes à travers une grille, horizontale ou verticale, formée de barreaux parallèles.

Son objectif est de retenir les déchets volumineux et fibreux de toute nature : chiffons, lingettes, plastiques, préservatifs, feuilles, branchages, etc.

Le tamisage est une opération similaire mais plus fine, avec des mailles (tissus métalliques ou plastiques) généralement inférieures à 3 mm. Cette opération permet d'éliminer une fraction plus petite de déchets. Les déchets rejetés après dégrillage et tamisage, appelés « Déchets grossiers », sont collectés, ensuite lavés, compactés et transportés vers des filières adaptées de traitement (décharge, incinération ou valorisation).

B. Le dessablage

Après le dégrillage, l'eau contient encore des particules minérales de densité élevée, comme le sable, le gravier, le verre pilé ou les résidus de voirie, Le dessablage a pour but d'éliminer ces particules par une sédimentation.

L'aération est une méthode très efficace : on insuffle de l'air au fond du bassin ce qui crée un mouvement hélicoïdal qui « dépoussière » le sable en séparant les matières organiques qui y sont adsorbées. Ces matières restent en suspension pour être traitées ensuite. Les sables sont ensuite retirés mécaniquement (à l'aide de pompes, de vis sans fin ou de pont racleur), puis lavés et égouttés avant d'être éliminés.

C. Le dégraissage-déshuilage

Cette opération vise à séparer et à éliminer toutes les matières flottantes dont la densité est inférieure à celle de l'eau : graisses animales et végétales, huiles minérales, hydrocarbures, savons, etc. Ces substances présentent des problèmes sérieux : elles forment des mousses, bouchent les canalisations, isolent les flocs bactériens de l'oxygène et perturbent fortement le traitement biologique.

Le procédé le plus efficace est la flottation, souvent combinée au dessablage dans un ouvrage appelé « dessableur-dégraisseur ». L'injection d'air en fines bulles au fond du bassin provoque la remontée à la surface des particules et des gouttelettes de graisse. Ces graisses se regroupent pour former un film épais, que l'on retranche mécaniquement à l'aide de racleurs de surface et on dirige vers des bacs de stockage. Leur concentration dans les eaux usées

domestiques est généralement de 30 à 75 mg/L, mais peut atteindre 300 à 350 mg/L pour les eaux provenant d'abattoirs ou de laiteries. Il est impératif d'éliminer les graisses avant le traitement biologique aérobie. En effet, les acides gras à chaîne longue sont toxiques pour de nombreuses bactéries intervenant dans la purification. Une concentration excessive de graisse limite le transfert d'oxygène en formant un film à la surface de l'eau et provoque la formation de flocs de faible densité qui ne se déposent pas facilement, entraînant une perte de qualité dans le rejet final**.**

Remarque

Le prétraitement (dégrillage, dessablage, dégraissage) est une étape physique indispensable. Il ne réduit pas significativement la charge polluante organique, mais il prépare l'eau en retirant les éléments pouvant entraver les processus biologiques. Cette étape permet ainsi de garantir un fonctionnement optimal des installations de traitement secondaire.

4.2. Traitement primaire

Le traitement primaire constitue la première étape de l'épuration des eaux usées. Il repose principalement sur des procédés physico-chimiques visant à éliminer une grande partie des matières en suspension (MES) ainsi que des matières organiques facilement décantables. Cette étape permet de réduire la charge polluante avant le passage aux traitements biologiques.

A. Décantation

La décantation est une opération fondamentale du traitement primaire. Elle consiste à maintenir les eaux usées dans un bassin de décantation afin de favoriser la sédimentation des particules solides sous l'effet de la gravité. Ce procédé permet d'éliminer environ 60 % des matières en suspension et jusqu'à 90 % des matières décantables présentes dans les eaux usées domestiques.

B. Coagulation – Floculation

Afin d'améliorer l'efficacité de la décantation, celle-ci peut être associée à un traitement de coagulation-floculation. Cette technique physico-chimique consiste à ajouter des réactifs coagulants et floculants favorisant l'agrégation des particules colloïdales et des matières en suspension en flocs de plus grande taille. Ces flocs, plus lourds, se déposent plus facilement au fond du bassin, ce qui améliore leur élimination.

Les coagulants utilisés peuvent être d'origine minérale, tels que le sulfate d'alumine, le chlorure ferrique et la chaux, ou d'origine organique, notamment certains polymères synthétiques.

À l'issue du traitement primaire, la charge polluante des eaux usées est significativement réduite. Toutefois, les eaux demeurent encore chargées en matières organiques dissoutes et en microorganismes. Elles sont alors dirigées vers les unités de traitement secondaire, où des procédés biologiques assurent une épuration plus approfondie.

4.3. Traitement secondaire (biologique)

Le traitement secondaire concerne les eaux usées contenant des composés organiques disponibles pour l'action active des micro-organismes et qui sont traitées par des méthodes biologiques. Le traitement biologique est une technique destinée à éliminer les polluants organiques solubles tels que les sucres, les graisses et les protéines, pour lesquels les solutions physico-chimiques sont souvent peu efficaces, coûteuses ou difficiles à mettre en œuvre.

Cette méthode repose sur l'action des micro-organismes, notamment les bactéries, les algues, les champignons et les protozoaires, qui se nourrissent de divers polluants et s'adaptent à leur nature. Les micro-organismes sont capables de dégrader les polluants organiques en composés moins toxiques ou de les minéraliser, à condition que ces molécules présentent une biodégradabilité suffisante et une faible toxicité.

Les bases du traitement biologique des eaux usées reposent sur les processus d'autoépuration de l'eau et du sol dans la nature. Selon les conditions environnementales des cellules dans l'unité de dépollution, on distingue deux modes de traitement : aérobie (en présence d'oxygène) et anaérobie (en absence d'oxygène).

Le traitement biologique anaérobie

S'effectue en l'absence totale d'oxygène, condition nécessaire au développement des bactéries anaérobies. Ces dernières décomposent les composés organiques biodégradables via des processus de fermentation, produisant des composés simples tels que le méthane, le dioxyde de carbone et d'autres intermédiaires organiques. Ce procédé est surtout appliqué au traitement des eaux usées domestiques, tandis que les effluents industriels, souvent toxiques pour les bactéries, nécessitent des prétraitements spécifiques.

Le traitement biologique aérobie

Repose sur les bactéries aérobies, qui se multiplient et dégradent la matière organique en présence d'oxygène. La décomposition microbienne des polluants s'effectue par des réactions d'oxydation dans un milieu aéré, conduisant à la formation de composés minéraux simples tels que le dioxyde de carbone et l'eau.

-Les systèmes à boues activées

Les systèmes à boues activées représentent l'une des technologies les plus répandues pour le traitement aérobie des eaux usées. Ce processus implique la formation de flocs dans le volume d'eau usée, caractérisés par une surface spécifique élevée favorisant l'adsorption des polluants organiques. Les polluants organiques adsorbés à la surface des flocs sont dégradés et minéralisés par les processus métaboliques des micro-organismes.

Les bactéries contenues dans les boues activées sécrètent des enzymes catalysant une série de réactions biochimiques, aboutissant à la dégradation complète des composés organiques et inorganiques présents dans les eaux usées. Un clarificateur (ou décanteur secondaire) permet ensuite l'isolement des boues **(FigureI.1)**

Les boues excédentaires sont déshydratées et séchées, tandis que l'effluent clarifié est rejeté dans des récepteurs adaptés, tels que des plans d'eau ou des cours d'eau naturels, conformément aux normes environnementales.

La mise en place initiale des boues activées dans le bassin d'aération nécessite un temps de formation. Pour accélérer ce processus, on peut inoculer le système avec des boues provenant de stations déjà opérationnelles. Le maintien des flocs en suspension exige un brassage énergique du contenu du réacteur**.**

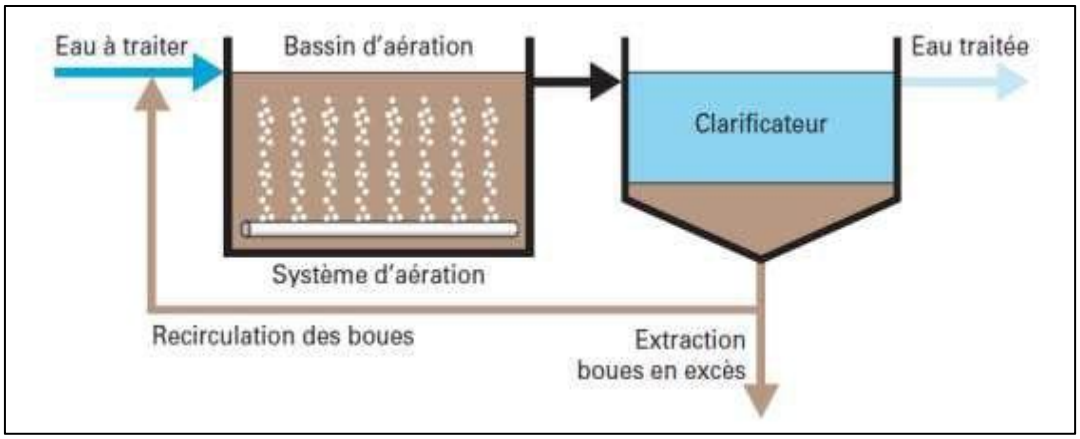


Figure I.1 : Schéma de principe du procédé à boues activées

-Les lits bactériens

Le procédé des lits bactériens consiste à faire supporter des micro-organismes par des matériaux poreux. Un lit bactérien est constitué d'un réservoir rempli d'un lit profond de pierres, sur lequel les eaux usées décantées sont aspergées en continu sur la surface supérieure et ruissellent vers le bas. Les eaux usées collectées à la sortie sont ensuite soumises à un traitement ultérieur si nécessaire.

Au fur et à mesure que les eaux usées ruissellent, les bactéries forment un biofilm sur le matériau poreux et s'y multiplient. Le flux constant d'eaux usées sur ces excroissances permet aux microbes d'absorber et dégrader les matières organiques dissoutes, réduisant ainsi la demande biochimique en oxygène (DBO) des eaux usées. L'air circulant vers le haut à travers les interstices entre les pierres fournit suffisamment d'oxygène pour les processus métaboliques, favorisant l'oxydation aérobie des matières organiques.

-La technique du lagunage

Le lagunage est une méthode biologique naturelle de traitement des eaux usées, consistant à accumuler ces eaux dans des bassins appelés bassins biologiques ou bassins de stabilisation. Dans ces bassins, des phénomènes naturels de dégradation se produisent, impliquant la biomasse microbienne qui transforme la matière organique.

La réaction chimique simplifiée décrivant les mécanismes d'épuration et le fonctionnement d'un lagunage simple est la suivante :

Eau usée + oxygène + bactéries → boues + effluent traité + CO_2 + H_2O

Les lagunes peuvent être classées en fonction de leur régime ou de leur position dans la filière épuratoire.

Selon le régime (type de bassin)

• Anaérobies (Anaérobies) : bassins où se produisent des réactions anaérobies, avec une très faible concentration ou absence d'oxygène dissous, fonctionnant comme un pré-digesteur (pré-digesteur).

• Aérobies (Aérobies) : bassins fonctionnant grâce à une association typique d'algues et de bactéries, où les algues produisent l'oxygène nécessaire pour que les bactéries aérobies dégradent la matière organique.

• Facultatifs (Facultatifs) : bassins où la zone supérieure est aérobie grâce à l'oxygénation naturelle, et la zone inférieure est anaérobie, permettant une dégradation progressive de la matière organique.

Selon la position dans la filière épuratoire

• Lagunage complet : lorsque l'installation est directement alimentée en eau brute non prétraitée.

• Lagunage secondaire : lorsque l'installation reçoit de l'eau partiellement clarifiée après une étape de décantation primaire.

• Lagunage tertiaire : lorsque l'installation est alimentée par un effluent prétraité par des procédés conventionnels tels que les boues activées, les lits bactériens, etc., afin d'améliorer la qualité finale de l'eau.

4.4. Traitement tertiaire

Les traitements complémentaires, également appelés traitements tertiaires, avancés ou de finition, sont des procédés destinés à améliorer la qualité de l'eau résiduaire après un traitement biologique ou physico-chimique. Ils sont utilisés lorsque l'on souhaite protéger davantage le milieu récepteur ou préparer l'eau pour une réutilisation immédiate. Ces procédés ont principalement pour objectifs

• L'élimination de l'azote et du phosphore.

• La désinfection de l'eau[11].

5. Le traitement biologique des eaux

Au cours des vingt dernières années, le domaine du traitement biologique des eaux a connu un essor notable et est considéré comme une priorité de recherche en sciences environnementales. Ce traitement s'appuie sur la biodégradation, un processus qui utilise principalement des micro-organismes tels que les bactéries, les champignons et les levures. Certains de ces micro-organismes peuvent s'adapter aux eaux usées et métaboliser les composés chimiques en substances moins nuisibles[12].

5.1. Définition de la biodégradation

La biodégradation en milieu aquatique est un processus biologique où des micro-organismes, notamment les bactéries, les champignons et les levures, décomposent les polluants organiques dans l'eau en substances plus simples et moins toxiques. Ce mécanisme

repose sur l'activité enzymatique de ces micro-organismes, qui utilisent les polluants comme source de carbone et d'énergie. Dans les milieux aquatiques, la biodégradation joue un rôle clé dans l'auto-épuration des eaux et contribue à la réduction de la pollution organique.

5.2. Types de biodégradation (aérobie / anaérobie)

a. Biodégradation aérobie

La biodégradation aérobie fait référence à la dégradation de la matière organique par des micro-organismes en présence d'oxygène. Ce processus dépend de plusieurs éléments :

La rapidité de décomposition des substances organiques ;

La quantité d'oxygène consommée ;

Les produits issus de la dégradation ;

L'activité des micro-organismes.

b) Biodégradation anaérobie :

La biodégradation anaérobie concerne la transformation de la matière organique par des micro-organismes en l'absence d'oxygène, entraînant des modifications physiques et chimiques[13].

6. Les facteurs influençant la biodégradation (température, pH, oxygène, nutriments)

Les micro-organismes sont très sensibles à leur environnement de croissance et s'adaptent aux changements qui s'y produisent.

Le taux de biodégradation est déterminé par de nombreux facteurs microbiens, tels que les niveaux de contamination, les propriétés physico-chimiques des polluants, le pH, la salinité de l'environnement et les nutriments, L'élimination biologique d'un substrat dépend fortement de plusieurs facteurs physiologiques. Il est donc important de saisir comment ces facteurs influencent le profil de la biodégradation.

En effet, l'environnement est un facteur déterminant dans le processus de biodégradation, et les conditions environnementales doivent être adéquates pour que cette réaction se déroule à une vitesse optimale, sans qu'aucun facteur ne devienne limitant durant le traitement.

De plus, le choix des conditions physiologiques optimales a toujours été une préoccupation majeure pour les chercheurs, Plusieurs facteurs peuvent intervenir dans la biodégradation : principalement la concentration du polluant et celle des nutriments

nécessaires à la croissance des micro-organismes, la source de carbone additionnelle (comme le glucose ou l'extrait de levure), l'aération, le pH et la température du milieu[14].

7. Les avantages et les limites du traitement biologique des eaux

7.1. Avantages

Le traitement biologique des eaux usées présente de nombreux atouts, ce qui justifie son utilisation répandue dans les stations d'épuration. Premièrement, il s'agit d'une méthode moins coûteuse par rapport aux traitements physico-chimiques, car elle requiert moins de réactifs chimiques et utilise des micro-organismes naturellement présents dans l'environnement. Cela contribue à réduire les coûts d'exploitation. Ensuite, ce procédé est écologique, reposant sur des mécanismes naturels de biodégradation qui transforment les matières organiques en éléments simples tels que le dioxyde de carbone, l'eau et la biomasse, sans engendrer de pollution secondaire significative. De plus, le traitement biologique est efficace pour éliminer la pollution organique biodégradable, permettant une diminution importante de la demande biochimique en oxygène (DBO) et de la demande chimique en oxygène (DCO), ce qui améliore la qualité des eaux rejetées. En outre, certains procédés biologiques permettent également d'éliminer des nutriments comme l'azote et le phosphore, ce qui aide à prévenir les phénomènes d'eutrophisation dans les milieux aquatiques. Enfin, ces systèmes peuvent être adaptés à différents types d'eaux usées, qu'elles soient domestiques ou industrielles, grâce à la diversité des micro-organismes utilisés (bactéries, champignons, levures)[15].

7.2. Limites du traitement biologique

Malgré ses nombreux atouts, le traitement biologique présente également des contraintes. Premièrement, il s'agit d'un processus relativement lent, nécessitant un temps de séjour important pour assurer une dégradation efficace de la matière organique, ce qui implique souvent des installations de grande taille. De plus, son efficacité est fortement tributaire des conditions environnementales. Les micro-organismes sont sensibles à divers paramètres tels que la température, le pH, la concentration en oxygène dissous et la présence de substances toxiques. Toute fluctuation de ces paramètres peut perturber le fonctionnement du système. En outre, le traitement biologique n'est pas efficace pour éliminer certains polluants non biodégradables, notamment les métaux lourds, certains composés chimiques complexes ou les micropolluants organiques. Un autre inconvénient est la production de boues biologiques, qui nécessitent un traitement supplémentaire avant leur élimination ou

valorisation, ce qui entraîne des coûts supplémentaires. Enfin, certains procédés peuvent générer des nuisances telles que des odeurs désagréables, en particulier dans les systèmes anaérobies, ce qui peut poser des problèmes d'exploitation[16].

II. Les polluants organiques

1. Définition des polluants

Un polluant est une substance d'origine naturelle ou résultant de l'activité humaine, qui exerce des effets négatifs sur l'environnement en altérant les ressources naturelles. L'ampleur de ses impacts nocifs sur la santé humaine et les écosystèmes est directement proportionnelle à sa concentration dans le milieu[17]**.**

2. Types de polluants : organiques et inorganiques

2.1. Les polluants organiques

Les polluants organiques sont considérés comme l'une des principales causes de la pollution des ressources en eau. Leur diversité ainsi que leur niveau de toxicité rendent leur élimination indispensable. Certaines de ces substances présentent des propriétés mutagènes et cancérigènes, notamment les phénols, les colorants, les détergents, les pesticides et les hydrocarbures.

Ces composés proviennent principalement des rejets domestiques et des effluents industriels. Leur présence dans le milieu aquatique entraîne une augmentation de la demande biologique et chimique en oxygène (DBO et DCO), ce qui provoque une diminution de l'oxygène dissous dans l'eau. Cette réduction de l'oxygène disponible perturbe l'équilibre écologique et compromet la survie de la faune aquatique.

2.2. Les polluants inorganiques

Les polluants inorganiques constituent également une source importante de contamination des milieux aquatiques. Ils sont essentiellement représentés par les métaux lourds tels que le mercure, le plomb, le cuivre, l'arsenic, le nickel, le zinc, le cobalt et le manganèse, généralement présents à l'état de traces. Parmi eux, le plomb, le cadmium et le mercure sont reconnus comme étant les plus toxiques.

Les activités industrielles, notamment l'électronique, les traitements de surface, les industries chimiques et l'exploitation minière, favorisent la dispersion de ces éléments dans l'environnement. Le mercure, en particulier, se distingue par sa forte toxicité et sa capacité à

s'accumuler dans les tissus vivants (bioaccumulation), ce qui amplifie ses effets le long de la chaîne alimentaire.

La présence de ces polluants contribue à la dégradation de la qualité des eaux et peut entraîner des effets écotoxiques graves sur les organismes aquatiques ainsi que sur la santé humaine[18].

3. Origine des polluants organiques dans les milieux aquatiques

Les sources responsables de la pollution organique dans les environnements aquatiques sont variées. On distingue des sources naturelles d'importance limitée et des sources anthropiques qui constituent le principal facteur de dégradation de la qualité de l'eau. Cette étude se focalise sur quatre sources anthropiques majeures :

3.1. Industrie textile

L'industrie textile est l'un des secteurs produisant le plus de polluants organiques, en particulier les colorants azoïques dont le méthyle orange est un modèle représentatif. Ces polluants se caractérisent par leur difficulté à être dégradés biologiquement en raison de la présence de la liaison azoïque (-N=N-) dans leur structure moléculaire. Les études indiquent qu'environ 10 à 15 % de ces colorants sont rejetés dans les eaux usées sans traitement .

3.2. Industrie pharmaceutique

Elle constitue une source émergente de micropolluants organiques, incluant les antibiotiques, les hormones et les anti-inflammatoires. Ces composés sont présents à faibles concentrations mais possèdent des effets biologiques significatifs, car les stations d'épuration conventionnelles ne parviennent pas à les éliminer efficacement .

3.3. Secteur agricole

Il contribue à la pollution des eaux via les pesticides et herbicides, les engrais chimiques et organiques, ainsi que les déjections animales. Ces polluants provoquent l'eutrophisation des milieux aquatiques et atteignent l'eau par ruissellement et lessivage des sols .

3.4. Rejets domestiques

Ils représentent une source continue de polluants organiques en zones urbaines, comprenant les eaux usées chargées en matières organiques et résidus médicamenteux, les détergents, ainsi que les lixiviats issus des décharges[19].

4. Impacts des polluants organiques

Tableau I.1 : Impacts sur l'environnement

Impact	Description
Eutrophisation	Les engrais et nutriments en excès (azote et phosphore) provoquent une prolifération algale excessive. Leur décomposition épuise l'oxygène dissous, créant des zones mortes
Dégradation de la qualité de l'eau	Modification de la couleur, de l'odeur et du goût, rendant l'eau impropre à la consommation ou à l'usage industriel
Contamination des eaux souterraines	Infiltration des polluants organiques vers les nappes phréatiques, menaçant les ressources en eau douce
Perturbation des écosystèmes	Déséquilibre des relations entre les organismes vivants et réduction de la biodiversité

Tableau I.2 : Impacts sur les organismes aquatiques :

Impact	Description
Toxicité aiguë et chronique	Mortalité des poissons, crustacés, algues et micro-organismes due à une exposition élevée ou prolongée
Perturbation endocrinienne	Anomalies reproductives, féminisation des poissons mâles, baisse de fertilité
Bioaccumulation et biomagnification	Accumulation des polluants dans les tissus et augmentation de leur concentration dans la chaîne alimentaire
Génotoxicité	Dommages à l'ADN provoquant mutations, tumeurs et cancers

Troubles de la croissance et de la reproduction	Retard de croissance, diminution des œufs, malformations et affaiblissement immunitaire

Tableau I.3 : Impacts sur la santé humaine

Impact	Description
Contamination de l'eau potable	Transfert des polluants vers l'eau de boisson, exposant l'homme à des risques chroniques
Cancérogénicité	Certains polluants (organochlorés, hydrocarbures aromatiques) sont cancérigènes
Perturbations endocriniennes et reproductives	Infertilité, malformations, puberté précoce, cancers hormonodépendants
Résistance aux antibiotiques	Développement de bactéries résistantes réduisant l'efficacité des traitements
Effet cocktail	Effets cumulés ou synergiques de plusieurs polluants plus dangereux que séparément
Neurotoxicité	Atteinte du système nerveux, associée à des maladies comme Parkinson et Alzheimer

[20]

5. Types de polluants organiques

5.1. Hydrocarbures

Composés organiques constitués uniquement de carbone et d'hydrogène, formant le composant principal du pétrole et de ses dérivés. Ils atteignent les milieux aquatiques via les déversements pétroliers (marées noires), les effluents des stations-service et les rejets industriels. Ils se caractérisent par leur persistance relative dans l'environnement et leur

toxicité pour les organismes vivants. Certains d'entre eux (comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques) sont classés parmi les substances cancérigènes.

5.2. Pesticides

Substances chimiques utilisées dans le domaine agricole pour lutter contre les nuisibles (insecticides, fongicides, herbicides). Ils se déplacent vers les eaux de surface et souterraines par ruissellement et lessivage des sols agricoles. Ils constituent un danger majeur pour les organismes aquatiques et l'homme, provoquant des perturbations endocriniennes, des maladies neurologiques et des cancers. Parmi les exemples : DDT, glyphosate, atrazine.

5.3. Détergents

Composés tensioactifs entrant dans la composition des produits ménagers et industriels utilisés pour le nettoyage. Ils atteignent l'environnement aquatique principalement via les eaux usées domestiques et industrielles. Bien que certains soient biodégradables, d'autres types (comme les alkylphénols) sont résistants et causent des perturbations hormonales chez les organismes aquatiques, ainsi que la formation de mousse et la réduction de l'oxygène dissous dans l'eau.

5.4. Colorants

Les colorants (ou teintures) sont des substances organiques colorées capables de fixer leur couleur sur diverses surfaces comme les fibres textiles, le papier et le cuir. Ils sont largement utilisés dans de nombreux secteurs industriels, principalement l'industrie textile.

5.4.1. Classification des colorants

Tableau I.4 : Classification des colorants

Famille	Caractéristique	Exemples
Colorants azoïques	Contiennent une ou plusieurs liaisons azoïques (-N=N-)	Méthyle orange, Rouge Congo, Jaune soleil
Colorants anthraquinoniques	Dérivés de l'anthraquinone	Bleu d'alizarine
Colorants indigoïdes	Dérivés de l'indigo	Indigo (bleu jean)
Colorants phtalocyanines	Complexes métalliques (cuivre)	Vert et Bleu phtalocyanine
Colorants triarylméthanes	Structure triphénylméthane	Vert malachite, Violet de gentiane
Colorants nitro et nitrosés	Contiennent des groupes nitro (-NO_2)	Jaune naphtol
Colorants naturels	Origine végétale ou animale	Curcumine (jaune), Carmin (rouge)

Ils peuvent également être classés selon leur mode de fixation sur les fibres : colorants réactifs, colorants directs, colorants dispersés, colorants acides et colorants basiques[21].

Raisons pour lesquelles les colorants sont des polluants dangereux

- **Persistance environnementale** : Difficulté à être dégradés naturellement en raison de leur structure chimique stable.
- **Toxicité** : Beaucoup sont toxiques pour les organismes aquatiques, certains étant cancérigènes et mutagènes (particulièrement les amines aromatiques issues de la dégradation des colorants azoïques).

- **Rejets massifs** : Environ 10 à 15 % de la production mondiale de colorants est rejetée dans les eaux usées sans traitement.
- **Matière organique élevée** : Contribuent à l'augmentation de la demande chimique et biologique en oxygène dans les eaux réceptrices[22].

6. Problèmes causés par la présence des colorants dans les milieux aquatiques

Les colorants représentent une classe de polluants organiques qui provoquent des dommages multi-niveaux lorsqu'ils sont présents dans les environnements aquatiques. Ces problèmes peuvent être résumés comme suit :

Premièrement : Problèmes physiques et esthétiques : Les colorants entraînent une modification de la couleur naturelle des eaux, même à des concentrations très faibles (inférieures à 1 mg/L), rendant l'eau inacceptable sur le plan esthétique et impropre aux usages humains et industriels. Cette coloration entrave également la pénétration de la lumière nécessaire à la photosynthèse des plantes et algues aquatiques, perturbant ainsi l'équilibre fonctionnel de l'écosystème.

Deuxièmement : Effets chimiques : Les colorants contribuent à l'élévation des valeurs de la Demande Chimique en Oxygène (DCO) et de la Demande Biologique en Oxygène (DBO), ce qui conduit à l'épuisement de l'oxygène dissous dans les eaux réceptrices et à une situation d'asphyxie environnementale. De plus, les eaux polluées par les colorants (notamment celles issues de l'industrie textile) présentent des variations brutales du pH, allant de milieux très acides (pH=4) à des milieux fortement basiques (pH=10, 6).

Troisièmement : Toxicité sur les organismes aquatiques : Les colorants se caractérisent par des degrés variables de toxicité aiguë et chronique, entraînant la mortalité des poissons, crustacés, algues et micro-organismes. Ils manifestent également des effets toxiques chroniques se traduisant par des troubles de la croissance, de la reproduction et du comportement. Certains colorants (notamment azoïques) provoquent des dommages au niveau génétique (génotoxicité) par interaction avec le matériel génétique (ADN), ce qui peut conduire à des mutations et des tumeurs. Par ailleurs, la capacité de ces composés à s'accumuler dans les tissus adipeux des organismes vivants (phénomène de bioaccumulation) constitue un danger supplémentaire qui se propage le long de la chaîne alimentaire (biomagnification).

Quatrièmement : Risques pour la santé publique : L'exposition humaine aux colorants se fait souvent par la consommation d'eau contaminée ou de produits alimentaires issus

d'écosystèmes pollués. La dangerosité principale réside dans les produits de dégradation métabolique des colorants azoïques, notamment les amines aromatiques, classées parmi les substances cancérigènes(groupe 1 par le Centre International de Recherche sur le Cancer - CIRC) et mutagènes. De plus, l'exposition directe à certains colorants peut provoquer des allergies cutanées et des irritations au niveau des yeux et des voies respiratoires.

Cinquièmement : Résistance aux techniques conventionnelles et problématique du traitement : Les colorants, en particulier les colorants azoïques (comme notre polluant le méthyle orange), se caractérisent par une stabilité chimique élevée due principalement à la présence de liaisons azoïques (-N=N-) résistantes à la dégradation. Cette propriété rend leur élimination difficile par les stations de traitement conventionnelles (physiques, chimiques et biologiques), ce qui justifie le recours à des voies de traitement alternatives telles que la biodégradation par voie bactérienne, qui fait l'objet de ce mémoire[23].

7. Biodégradabilité des polluants organiques

7.1. Pourquoi certains polluants sont difficiles à dégrader

La biodégradabilité est la capacité d'un polluant à être transformé par des micro-organismes. Certains polluants résistent à cette dégradation pour plusieurs raisons :

1. Structure chimique complexe

Liaisons chimiques stables : Les liaisons azoïques (-N=N-), halogènes (C-Cl, C-F) et les cycles aromatiques sont difficiles à briser par les enzymes microbiennes.

Molécules complexes : Plus la molécule est grande et ramifiée, moins elle est accessible aux micro-organismes.

2. Absence d'enzymes spécifiques

Les micro-organismes ne possèdent pas toujours les enzymes nécessaires pour dégrader certains polluants synthétiques (xénobiotiques) qui n'existent pas dans la nature.

3. Toxicité du polluant

Certains polluants sont toxiques pour les micro-organismes et inhibent leur croissance et leur activité métabolique.

4. Faible biodisponibilité

Le polluant peut être adsorbé sur des particules (sédiments, sol) ou insoluble dans l'eau, ce qui empêche le contact avec les micro-organismes.

5. Conditions environnementales défavorables

Température, pH, manque d'oxygène ou de nutriments peuvent limiter l'activité des micro-organismes dégradeurs.

Dans le cadre de notre étude : **le méthyle orange**

Le méthyle orange (colorant azoïque) est difficile à dégrader principalement à cause de :

- Sa liaison azoïque (-N=N-) résistante
- Son cycle aromatique stable
- Son groupe sulfonate qui augmente sa stabilité chimique
- Ces propriétés justifient le recours à des souches bactériennes spécialisées pour sa biodégradation[24].

7.2. Rôle des bactéries et des champignons dans la biodégradation des polluants organiques

1. Rôle des bactéries

Les bactéries se caractérisent par leur capacité à croître rapidement et à consommer les polluants organiques comme source de carbone et d'énergie. Elles dégradent les polluants grâce à des enzymes spécialisées telles que les réductases (pour briser les liaisons azoïques -N=N- dans les colorants), les oxygénases (pour dégrader les hydrocarbures), et les hydrolases (pour décomposer les pesticides et les détergents). Parmi les genres bactériens les plus utilisés en biodégradation, on trouve Pseudomonas, Bacillus, Rhodococcus et Aeromonas[25].

2. Rôle des champignons

Les champignons, en particulier les champignons filamenteux, se distinguent par leur capacité à sécréter des enzymes extracellulaires puissantes telles que les laccases et les peroxydases, capables d'oxyder les composés aromatiques complexes et récalcitrants (lignine, hydrocarbures aromatiques polycycliques et colorants) que les bactéries seules ne peuvent pas dégrader facilement. Parmi les genres fongiques les plus remarquables, on cite Phanerochaete chrysosporium, Trametes versicolor, Aspergillus et Pleurotus[26].

Ce mémoire se concentre sur la comparaison des deux types de micro-organismes (bactéries et champignons) quant à leur capacité à dégrader biologiquement les polluants organiques en milieu aquatique.

8. Présentation du polluant utilisé : *Le méthyle orange*

8.1. Définition

Le méthyle orange (MO) est un colorant azoïque synthétique appartenant à la famille des dérivés de l'azobenzène. Il est principalement utilisé comme indicateur coloré en chimie analytique, mais il constitue également un polluant modèle fréquemment étudié dans les eaux usées industrielles[27].

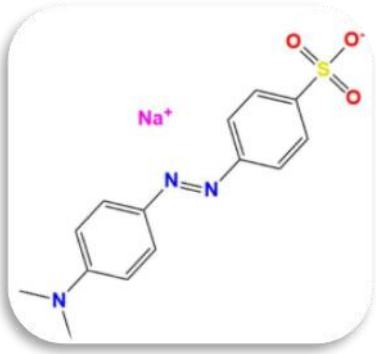


Figure I.2 : Structure chimique de méthyle orange

8.2. Formule chimique

Tableau I.5 : Formule chimique

Propriété	Valeur
Formule brute	$C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$
Masse molaire	319, 85 g/mol
Nom IUPAC	Sodium Benzène-1-sulfonate Diazényl (-N=N-) 4-(diméthylamino)phenyl

Structure	La molécule contient un groupement azoïque (-N=N-) reliant deux cycles aromatiques, responsable de ses propriétés colorées.

8.3. Propriétés physico-chimiques

Tableau I.6 : les principales propriétés du méthyle orange

Propriété	Description
État physique	Poudre cristalline orange à jaune
Solubilité	Soluble dans l'eau et le méthanol
Point de fusion	> 300 °C (décomposition)
Longueur d'onde maximale (λmax)	≈ 465 nm
Comportement acido-basique	Rouge en milieu acide (pH < 3, 1) / Jaune en milieu basique (pH > 4, 4)
Mécanisme de virage	Protonation/déprotonation du groupement azoïque

[28]

8.4. Pourquoi est-il considéré comme un polluant ?

Le méthyle orange est considéré comme un polluant organique dangereux pour plusieurs raisons :

- **Toxicité élevée :** Il présente des effets toxiques sur les organismes aquatiques et peut avoir des effets mutagènes et cancérigènes via ses produits de dégradation.

Le méthyle orange est un colorant azoïque dont la toxicité dépend de sa concentration, des conditions du milieu et du type de microorganismes. À faibles concentrations (< 50 mg/L), son effet est généralement faible. Entre 50 et 100 mg/L, un effet inhibiteur peut apparaître sur certaines souches sensibles. À fortes concentrations (> 100 mg/L), il peut provoquer une inhibition importante voire un arrêt de croissance chez les microorganismes sensibles, tandis que certaines souches résistantes peuvent survivre ou même dégrader le colorant.

- **Persistance :** Sa structure azoïque stable le rend difficilement biodégradable dans les conditions naturelles.
- **Pollution industrielle :** Il est largement utilisé dans les industries textiles, du cuir et du papier, et une partie importante est rejetée dans les effluents industriels[29].

8.5. Pourquoi l'utilisons-nous dans cette étude ?

Le méthyle orange est utilisé dans cette étude comme polluant modèle pour plusieurs raisons :

- Il représente un colorant azoïque typique des rejets textiles industriels.
- Sa dégradation peut être facilement suivie par spectrophotométrie UV-Visible **grâce** à sa forte absorbance à 464 nm.
- La rupture de la liaison azoïque (-N=N-) entraîne une décoloration visible, permettant d'évaluer l'efficacité du traitement.
- Sa toxicité et sa stabilité en font un composé pertinent pour tester des procédés de dépollution biologiques et avancés[30].

Liste des références bibliographiques

1. Lamy, M., *L'eau de la nature et des hommes*1995 : Presses Univ de Bordeaux.
2. Metahri, M.S., *Elimination siultanée de la pollution azotée et phosphatée des eaux usées traitées par des procédés mixtes : cas de la STEP est de la ville de Tizi Ouzou*, 2012, Universite Mouloud Mammeri.
3. Metcalf and A. Eddy, *Wastewater engineering treatment and resource recovery*2014 : McGraw-Hill Education.
4. Houngue, J., *Stratégies de gestion durable des eaux usées domestiques dans la Commune de Porto-Novo et préservation de sa lagune de la pollution urbaine*, 2020, Université d'Abomey Calavi (Bénin).
5. Lamprea, K., *Caractérisation et origine des métaux traces, hydrocarbures aromatiques polycycliques et pesticides transportés par les retombées atmosphériques et les eaux de ruissellement dans les bassins versants séparatifs péri-urbains*, 2009, Ecole Centrale de Nantes (ECN).
6. Busca, G., *Acid catalysts in industrial hydrocarbon chemistry.* Chemical Reviews, 2007. **107**(11) : p. 5366-5410.
7. Mohamed Mustapha, B., *Traitements Physico-Chimique et Biologique des Eaux Usées.* 2024.
8. Festy, B., et al., *Qualité de l'eau.* Environnement et santé publique-Fondements et pratiques, 2003 : p. 333-368.
9. mondiale de la Santé, O., *Évaluation des options de traitement domestique de l'eau : cibles sanitaires et spécifications portant sur les performances microbiologiques.* 2012.
10. Frat, L., *Caractérisation des eaux usées d'un réseau d'assainissement pour un diagnostic des pollutions en amont des stations d'épuration : de l'analyse physico-chimique au développement d'un nouveau bioessai toxicologique*, 2020, Institut agronomique, vétérinaire et forestier de France.
11. Saboun, S. and L. Ferrag, *Évaluation de la qualité des eaux brutes et traitées du barrage de Taksebt*, 2017, Université Mouloud Mammeri.
12. Bakiri, Z., *Traitement des eaux usées par des procèdes biologiques classiques : Expérimentation et modélisation*, 2018.

13. KHAOULA, D. and D. CHABANE, *Etude comparatif entre l'élimination chimique et biologique d'un polluant organique (méthyl orange) en milieu aquatique*, 2023, university center of abdalhafid boussouf-MILA.

14. Lembrouk, L., *Interactions microbiennes dans les écosystèmes.* 2024.

15. Metcalf, et al., *Wastewater engineering : treatment and resource recovery*2014 : McGraw Hill Education.

16. Verardo, E., *Procédés de traitement biologiques in situ : la modélisation numérique comme outil d'aide à la décision*, 2016, Université Michel de Montaigne-Bordeaux III.

17. Manahan, S.E., *Fundamentals of environmental chemistry*2011 : CRC press.

18. Manahan, S.E., *Environmental chemistry*2022 : CRC press.

19. Merhabi, F., *Contamination par les polluants organiques persistants et émergents une étude de cas : la rivière Kadicha*, 2019, Université Montpellier; Université Libanaise. Faculté de Santé publique ….

20. Soumia, M., *Contribution à l'étude de la problématique de gestion des excédents hydriques dans l'oasis de Ouargla. Caractérisation, impacts environnementaux et proposition d'aménagements*, 2026, UNIVERSITE KASDI MERBAH–OUARGLA.

21. Abdelaziz, P.B. and D. Aoutef, *Pollution Eau, Air, Sol.*

22. Mansour, H.B., et al., *Les colorants textiles sources de contamination de l'eau : CRIBLAGE de la toxicité et des méthodes de traitement.* Revue des sciences de l'eau, 2011. **24**(3) : p. 209-238.

23. Robinson, T., et al., *Remediation of dyes in textile effluent : a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative.* Bioresource technology, 2001. **77**(3) : p. 247-255.

24. Bidaud, C., *Biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Approche microbiologique et application au traitement d'un sol pollué*, 1998, Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne.

25. Harris, C., *Bactéries : Diversité, Classification et Importance dans les Écosystèmes et la Santé Humaine.* Insight into Epidemiology (Ed. française), 2024. **1**(1).

26. Tahar, P.M., *Criblage de la diversité fongique marine visant à identifier de nouvelles oxydases pour les biotechnologies et le développement durable.*

27. Lynda, N., *Adsorption d'un colorant azoïque par du charbon actif*, 2025, Faculté des sciences et de la technologie UNIV-BBA.

28. Al-Mohana, S.M., H.N. Najeeb, and F. Babaei, *Theoretical investigation of methyl orange and methyl blue dyes by DFT.* Chemical Methodologies, 2024. **8**(12) : p. 892-903.

29. Soudan, F., *Action des polluants sur les organismes et les peuplements marins.* 1978.

30. Hammami, S., *Étude de dégradation des colorants de textile par les procédés d'oxydation avancée. Application à la dépollution des rejets industriels*, 2008, Université de Marne la Vallée.

Chapitre II:

Matériel et méthodes

Certains micro-organismes possèdent la capacité de survivre dans des milieux aquatiques contaminés et de participer à la réduction de la charge polluante grâce aux mécanismes de biodégradation. Cette aptitude est liée à leur adaptation aux conditions environnementales ainsi qu'à leurs activités métaboliques spécifiques. Dans ce contexte, notre étude s'est intéressée à la biodégradation des polluants organiques présents dans les eaux polluées. Dans cette étude, le méthyle orange (Methyl Orange) a été choisi comme polluant modèle, en raison de sa large utilisation et de sa stabilité dans l'environnement.

L'étude a été réalisée en utilisant une bactérie du genre Bacillus ainsi qu'un champignon du genre Aspergillus, afin d'évaluer leur capacité de biodégradation du méthyle orange. Les essais expérimentaux ont été menés en présence de différentes concentrations du polluant afin d'évaluer l'efficacité des micro-organismes dans l'élimination du colorant et de déterminer l'effet de la concentration du polluant sur le processus de biodégradation.

Pour réaliser ce travail nous avons utilisé le matériel et les produits suivants :

1. Matériel et produits

La réalisation de cette expérience nécessite un matériel spécifique, précis et de qualité analytique, ainsi que divers produits. Les besoins sont répertoriés dans le (tableau II.1) :

Tableau II.1 : Matériel et produits

Les produits	Les petits matériels	Les Appareillages
✓ Méthyl orange (MO) → ($C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$) ✓ Champignon (Aspergillus) ✓ Bactérie (Bcillus) ✓ La gélose Sabouraud (SAB) ✓ gélose nutritif (GN) ✓ L'eau distillée ✓ glucose C6H12O6	✓ Verrerie de laboratoire : - Fioles jaugées (1000 ml, 500 ml) ✓Béchers (500 ml) ✓Flacons ✓entonnoir. ✓ Erlenmeyer(250ml,) ✓ Les syringes ✓ Les filtres à syringes de 0,	✓Spectrophotomètre ✓UV-VISIBLE ✓Agitateur va et vient ✓Etuve ✓Autoclave ✓Balance de précision ✓PH métre ✓Centrifigeuse

✓Milieu Minimale (MM) : ➢ MM bactérie : • K_2HPO_4 (Phosphate de dipotassium) • MgSO_4 (Sulfate de magnésium) • (NH_4)_2SO_4 (Sulfate d'ammonium) • CaCl_2 (Chlorure de calcium) • NaCl (Chlorure de sodium) • MnSO_4 (Sulfate de manganèse) • ZnSO_4 (Sulfate de zinc) • CuSO_4 (Sulfate de cuivre) • FeSO_4 (Sulfate de fer) ➢ MM champignons • KNO_3 (Nitrate de potassium • KH_2PO_4 (Phosphate monopotassique • MgSO_4 (Sulfate de magnésium • K_2HPO_4 (Phosphate de dipotassium	45 ụm ✓ Barreau magnétique ✓ Spatule ✓ Bec benzène ✓ Les Falcons ✓ Micro-pipete ✓ papier filtre ✓anse de platine ✓ coton cardé et la gaze ✓ papier alamunium ✓ pissette ✓ boites de pétri ✓ Tubes à essais	

2. Les Appareillages

2.1. Spectroscopie d'absorption UV-visible

La spectroscopie d'absorption UV-visible est une technique d'analyse qui mesure la capacité d'une substance à absorber la lumière dans les domaines de l'ultraviolet (200–400 nm) et du visible (400–800 nm). Elle est principalement utilisée pour identifier et quantifier des composés chimiques en solution.

2.1.1. Principe

La spectroscopie d'absorption est une technique qui concerne les transitions de l'état fondamental à un état excité. Elle implique la mesure de l'atténuation d'un rayon lumineux incident d'intensité I0 en fonction de la longueur d'onde lorsqu'il traverse un milieu homogène d'épaisseur l, généralement en solution, contenant une espèce absorbante. Le principe de cette technique repose sur la mesure de la différence entre la lumière incidente et la lumière transmise par la solution.

Lorsqu'une lumière d'intensité I0 traverse cette solution, une partie de celle-ci est absorbée par le soluté, tandis que l'autre partie est transmise avec une intensité I inférieure à I0. L'absorbance est une valeur positive sans unité, qui est d'autant plus grande que l'intensité transmise est faible. Elle est définie comme suit :

$$A = Log(\frac{I_0}{I}) = -LogT$$

T est transmittance définie par la relation

$$T = (\frac{I}{I_0})$$

Avec : I0 est l'intensité lumineuse incidente et I est l'intensité lumineuse transmise.

La loi de Beer-Lambert indique que pour une longueur d'onde λ, l'absorbance d'une solution est proportionnelle à sa concentration et à la longueur du trajet optique l (épaisseur de la solution traversée par la lumière) :

$$A = Log\left(\frac{I_0}{I}\right)\varepsilon\, l\, C$$

A : Absorbance ou densité optique à une longueur d'onde λ (sans unité).

ε : Coefficient d'extinction molaire, il dépend de la longueur d'onde λ et de la nature chimique de l'entité (L.mol-1.cm-1).

L : Longueur du trajet optique dans la solution traversée, elle correspond à l'épaisseur de la cuve utilisée (cm) (Figure II 1).

C : Concentration de la substance absorbante (mol/L).

A titre de comparaison entre les différents échantillons synthétisés, le coefficient d'extinction molaire a été calculé à partir de la formule de Beer-Lambert[1] :

$$\varepsilon = \frac{A}{l\, c}$$

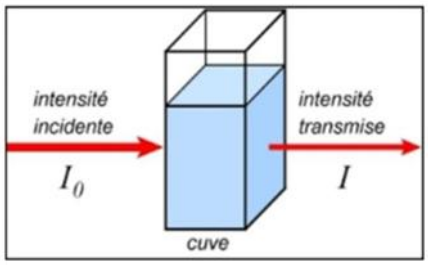


Figure II.1 : La loi de Beer Lambert



Figure II.2 : Cuve d'échantillon de spectroscopie UV visible

2.1.2. Spectres optiques UV-Vis de Méthyle orange

Le spectrophotomètre UV-visible utilisé pour les mesures des spectres d'absorption de Méthyle orange utilisée est de modèle « JENWAY 6850 UV/Vis» (Figure II 3). Il s'agit d'un spectrophotomètre double faisceau. Un faisceau traverse l'échantillon pendant que l'autre traverse une référence. L'excitation photonique a été fournie par une lampe à décharge au deutérium pour la partie UV et une lampe halogène tungstène pour la partie visible. Des cuves en quartz, matériau transparent au rayonnement UV, de 1 cm de trajet optique ont été utilisées comme support.

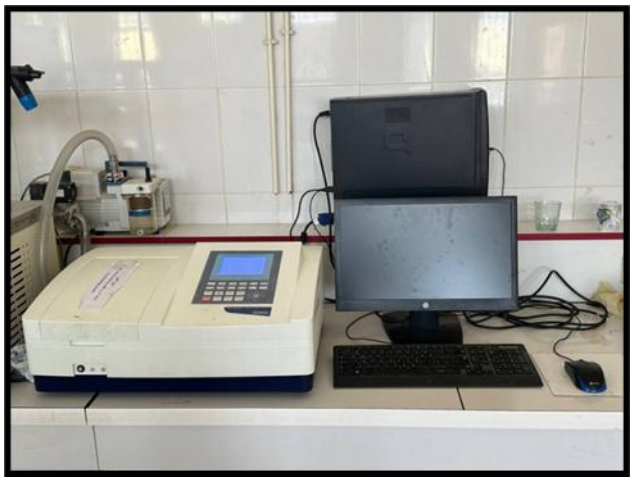


Figure II.3 : Spectrophotomètre JENWAY 6850 UV Vis

Avant d'effectuer les mesures, un blanc a été réalisé en remplissant les deux cuves d'eau distillée, utilisée comme solvant pour les suspensions préalablement préparées. Les échantillons ont été analysés sur une large gamme de longueurs d'onde, comprise entre 200 et 800 nm. L'homogénéité et la stabilité des suspensions ont été vérifiées par la mesure des spectres d'absorption d'un prélèvement.

La spectroscopie UV-Visible présente un vaste domaine d'application, notamment en analyse quantitative fondée sur la loi de Beer-Lambert. Le domaine du visible trouve son principal champ d'application en analyse. Voici quelques exemples d'applications :

• Contrôle de la pureté et, éventuellement, dosage des impuretés.

• Détermination de la composition d'un mélange, basée sur l'additivité de la loi de Beer-Lambert.

• Étude de l'isomérie cis-trans ou de la tautomérie.

• Mesure des constantes de dissociation des acides et des bases.

• Étude cinétique d'une réaction chimique.

• Étude théorique des complexes métalliques[2].

2.1.3. Limites de validité de la loi de Beer-Lambert

-Concentration pas trop élevée (c < 0, 01 M).

-La substance ne doit pas donner lieu à des associations variables avec le solvant.

-Lumière monochromatique (impossible dans l'absolu).

-Influence de la lumière parasite, éviter de travailler à A > 1, 5 -Absence de fluorescence et diffusion négligeable.

-La substance ne doit pas donner lieu a des réactions chimiques sous l'effet du rayonnement incident[3] .

2.1.4. Intérêts de la spectroscopie UV-Visible

La spectroscopie UV-visible est une technique d'analyse largement utilisée en chimie, biochimie, pharmacie et sciences des matériaux. Ses principaux intérêts sont :

- Rapide et simple : Mesures en quelques secondes, préparation minimale.
- Non destructive : L'échantillon peut être réutilisé.
- Quantification précise : Excellente pour doser des substances (loi de Beer-Lambert).
- Très sensible : Détecte de très faibles concentrations (traces).
- Informations structurales : Identifie les chromophores et la conjugaison.
- Suivi cinétique : Permet de suivre des réactions chimiques en temps réel.
- Polyvalent : Liquides, solides, gaz ; utilisable en environnement, pharmacie, biochimie.
- Économique : Appareil abordable et peu coûteux à maintenir[4].

Pour séparer les composants d'une solution hétérogène, on peut utiliser la centrifugation ou la filtration.

2.2. La centrifugeuse

2.2.1. Définition

La centrifugation est une technique de séparation largement utilisée en microbiologie, en biochimie, en chimie et en biologie moléculaire. Elle repose sur l'application d'une force centrifuge, générée par une rotation rapide, permettant de séparer les constituants d'un mélange hétérogène (liquide-solide ou liquide-liquide) selon leur densité. En microbiologie, cette technique est particulièrement employée pour isoler les micro-organismes, tels que les bactéries, les levures et les champignons, à partir de leur milieu de culture liquide[5].



Figure II.4 : La centrifugeuse

2.3. Filtration

La filtration est une méthode de séparation efficace qui permet de distinguer un mélange hétérogène en deux composants distincts : le liquide et les particules solides. Pour atteindre cet objectif, le mélange est passé à travers un filtre poreux spécialement conçu pour laisser passer le liquide, tout en retenant les particules solides.

Les particules qui dépassent la taille des pores du filtre sont retenues, tandis que le liquide qui parvient à passer à travers est appelé filtrat. La fraction solide retenue est quant à elle désignée sous le nom de résidu.

En fonction de l'objectif spécifique, la filtration peut être utilisée pour récupérer soit le liquide, soit les particules solides, soit les deux. Cette technique est largement utilisée dans divers domaines, notamment l'agroalimentaire, la chimie et la pharmacie. Elle permet également de purifier les solutions en éliminant les particules en suspension et de les stériliser en éliminant les micro-organismes[6].

2.4. pH-mètre

Le pH des solutions a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre à microprocesseur de type « ADWA AD 8000 » (Figure II-4). Le pH du milieu de milieu minimal destiné aux bactéries

(PH=7), ainsi que celui du milieu destiné aux champignons, en plus de la solution mère, ont été mesurés afin de vérifier leur adéquation à la croissance des microorganismes étudiés et de les ajuster aux valeurs requises dans l'expérience.



Figure II.5 : L'appareil de pH mètre

2.5. Autoclave

2.5.1. Définition

L'autoclave est un appareil de stérilisation qui utilise la chaleur humide sous pression pour éliminer tous les micro-organismes (bactéries, champignons, virus, spores) présents sur du matériel de laboratoire ou dans des solutions. Il fonctionne sur le même principe qu'une cocotte-minute, mais à des températures et des pressions plus élevées.



Figure II.6 : L'appareil d'autoclave

2.5.2. Principe de fonctionnement

L'autoclave fonctionne selon le principe de l'eau surchauffée sous pression. Lorsque l'eau est chauffée dans un récipient fermé, la pression augmente, ce qui élève le point d'ébullition de l'eau au-delà de 100°C (tableau II.2).

Tableau II.2 : Paramètres de stérilisation

Paramètre	Valeur standard	Rôle
Température	121°C	Destruction des micro-organismes et des spores
Pression	1 bar (15 psi)	Permet d'atteindre 121°C sans ébullition
Durée	15 à 20 minutes	Temps nécessaire pour une stérilisation complète

2.5.3. Rôle de l'autoclave en microbiologie

En microbiologie, l'autoclave est l'équipement le plus important pour garantir la stérilité des expériences (tableau II.3)

Tableau II.3 : Applications de la stérilisation

Application	Objectif
Stérilisation des milieux de culture	Éliminer toute contamination avant inoculation
Stérilisation du matériel	Tubes, pipettes, fioles, pointes, etc.
Stérilisation des déchets contaminés	Détruire les micro-organismes avant élimination
Inactivation des enzymes	Arrêter les réactions enzymatiques
Préparation de solutions stériles	Eau distillée, solutions salines, tampons

2.5.4. Application dans notre étude

Dans le cadre de notre mémoire comparant l'efficacité des souches bactériennes et fongiques pour la biodégradation du méthyle orange, l'autoclave est utilisé à plusieurs étapes cruciales :

a) Stérilisation du milieu de culture

Avant l'inoculation de nos micro-organismes, le milieu de culture (contenant le méthyle orange et les nutriments) est totalement stérilisé. Cela garantit que seule la souche étudiée se développe, sans compétition avec d'autres micro-organismes contaminants

b) Stérilisation du matériel

Tout le matériel qui entre en contact avec vos cultures doit être stérile

c) Stérilisation des déchets contaminés

À la fin de vos expériences, toutes les cultures microbiennes (bactéries et champignons) doivent être stérilisées à l'autoclave avant d'être jetées, pour éviter toute dissémination de micro-organismes dans l'environnement.[7]

2.6. Agitateur

L'agitateur (ou agitateur à mouvement horizontal) est un appareil de laboratoire qui génère un mouvement de balancement ou de translation horizontal doux. Il permet d'homogénéiser des échantillons liquides et de maintenir en suspension des micro-organismes sans créer de forces de cisaillement importantes. Ce type d'agitation est particulièrement adapté aux cultures microbiologiques fragiles, comme les champignons filamenteux ou les levures[8].

Dans le cadre de votre mémoire comparant des souches bactériennes et fongiques vis-à-vis de la dégradation du méthyle orange (Figure II.7)



Figure II.7 : L'appareil d'agitateur

2.7. Matériels biologiques

Bactérie	Champignon
Bacillus sp.	*Aspergillus Niger*

2.7.1. *Bacillus sp*

Bacillus est un genre de bactéries en forme de bacille (bâtonnet), à Gram positif, aérobies ou anaérobies facultatives. Leur particularité majeure est la formation d'endospores très résistantes (chaleur, sécheresse, désinfectants). Elles sont ubiquitaires (sol, eau, air). Exemples : *Bacillus sp* (non pathogène), *Bacillus anthracis (charbon), Bacillus cereus (intoxication alimentaire)*[9]. (Figure II.8)



Figure II.8 : Aspect macroscopique d'une colonie de *Bacillus sp*

2.7.1. Aspergillus niger

Aspergillus niger est un champignon microscopique filamentieux, de la famille des moisissures. Il se caractérise par sa couleur noire (due à ses spores) et sa forme en arrosoir (vésicule entourée de phialides). C'est un micro-organisme ubiquitaire qu'on trouve dans le sol, l'air et les aliments[10]. (Figure II.9)



Figure II.9 : Aspect macroscopique d'une colonie de *Aspergillus niger*

2.8. Solution de Méthyle orange

Le méthyl orange se présente sous forme de poudre de couleur orange. Une solution mère de 100 mg/L a été préparée dans de l'eau distillée et conservée à l'obscurité pendant 48 heures afin d'éviter toute dégradation, Ensuite des dilutions ont été réalisées pour obtenir deux concentrations : 50 mg/L et 25 mg/L. Pour chaque concentration, deux échantillons ont été préparés, l'un destiné aux bactéries et l'autre aux champignons. (Figure II.10)



Figure II.10 : Méthyle orange en poudre et en solution

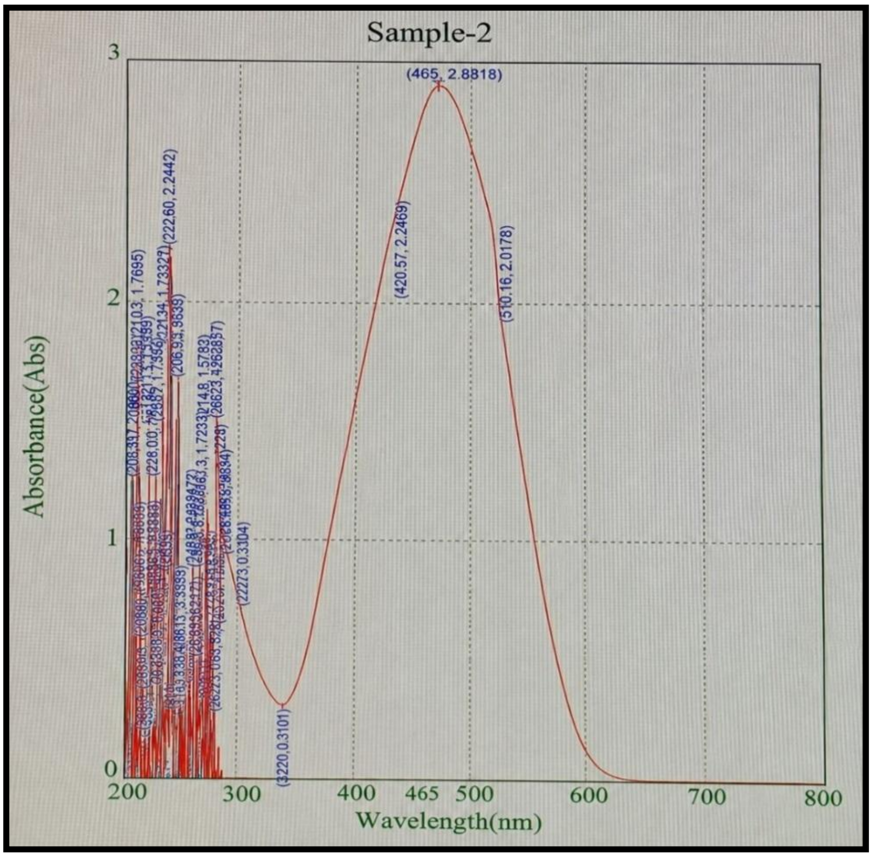


Figure II.11 : Spectre d’absorption UV-visible de MO (100 mg /l) dans l’ eau

Remarque :

L’absorbance du méthyl orange a été mesurée à une longueur d’onde de 465 nm à l’aide d’un spectrophotomètre. (Figure II.11)

2.9. Réactivation des souches microbiennes

Les souches utilisées dans cette étude ont été fournies par l’Université des Frères Mentouri Constantine- faculté des sciences de la nature et de la vie.

La souche bactérienne *Bacillus sp*. a été ensemencée sur un milieu gélose nutritif selon la technique d’ensemencement en quadrants, Les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures[11]. (Figure II.12)

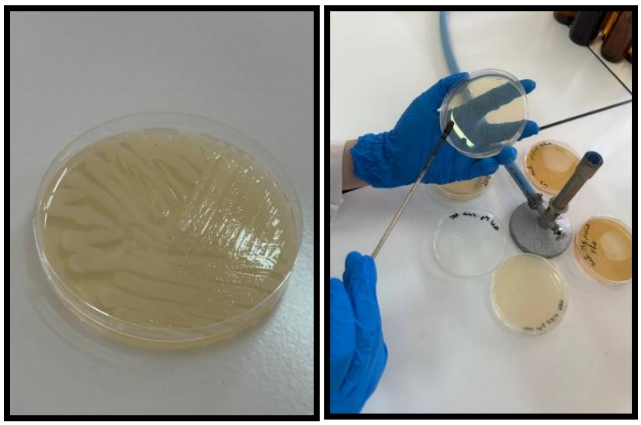


Figure II.12 : Ensemencement de *Bacillus sp.*

Concernant la souche fongique, l'ensemencement a été effectué sur un milieu de Sabouraud (SDA) par la technique du point central (piqûre au centre). Les cultures ont été incubées à 28 °C pendant 7 jours[12]. (Figure II.13)

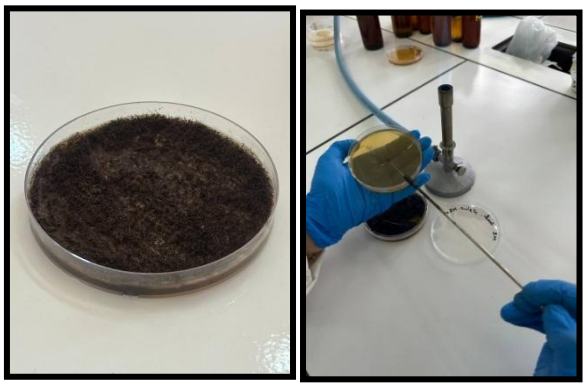


Figure II.13 : Ensemencement *d'Aspergillus niger*

2.10. Préparation de milieu minimal (MM)

2.10.1. MM de bactérie

Le milieu minimal contenant : K_2HPO_4 : 0, 68 g / $MgSO_4$: 0, 05 g / $(NH_4)_2SO_4$: 0, 3 g / $CaCl_2$: 0, 01 g / NaCl : 0, 25 g /$MnSO_4$: 0, 55 mg / $ZnSO_4$: 0, 1 mg /$CuSO_4$: 0, 1 mg $FeSO_4$: 0, 07 mg, Tous les ingrédients ont été dissous dans 500ml d'eau distillée et ajustés à un pH de 7. La solution a été utilisé aussi pour l'enrichissement et la culture de bactérie dégradant[13].

2.10.2. MM de champignon

Le milieu est préparé en dissolvant 0, 5 g de KNO_3 / 0, 15 g de KH_2PO_4 / 0, 35 g de $MgSO_4$ et 0, 5 g de K_2HPO_4 dans 500 mL d'eau distillée[14].

2.11. Préparation des milieux de dégradation

La préparation des différentes concentrations de Méthyl Orange (MO) (**50 mg/L** et **25 mg/L**)a été réalisée à partir d'une solution mère de concentration égale à 100 mg/L.

L'ensemble des solutions préparées a été stérilisé à l'autoclave à une température de 120 °C sous une pression de 1 bar afin d'assurer une bonne stérilisation et d'éviter toute contamination microbienne.

Remarque

Les deux concentrations ont été utilisées pour les essais de biodégradation par les bactéries et les champignons, avec deux répétitions pour chaque concentration afin d'assurer la fiabilité des résultats expérimentaux.

2.12. Préparation de la suspension bactérienne

Un volume de 10 mL de milieu minimal (MM) a été préparé avec l'ajout de 1 % de glucose comme source de carbone. Le milieu obtenu a été stérilisé à l'autoclave afin de garantir des conditions aseptiques, puis laissé refroidir à température ambiante, la suspension bactérienne a été préparée à partir de colonies bactériennes jeunes obtenues après culture sur milieu nutritif. À l'aide d'une anse de platine stérile, quelques colonies bien isolées ont été prélevées et inoculées dans le milieu minimal stérile précédemment préparé.

Après inoculation, la suspension a été homogénéisée à l'aide d'un vortex afin d'assurer une répartition uniforme des cellules bactériennes dans le milieu.

Enfin, le milieu a été incubé dans une étuve pendant 24 heures à 30 °C, jusqu'à l'obtention d'une turbidité (milieu trouble), indiquant la croissance et la multiplication bactérienne. La densité optique (DO) de la suspension a été ajustée à 0, 1 afin d'avoir une faible quantité de bactéries permettant de suivre clairement la dégradation du méthyl orange[15].

2.13. Biodégradation MO

Par *Bacillus sp.*

La réaction de biodégradation a été réalisée dans des erlenmeyers stériles de 250 mL contenant 100 mL de milieu de dégradation. Ensuite, 2.5 mL de suspension bactérienne ont été ajoutés à l'aide d'une micropipette stérile, puis le mélange a été homogénéisé.Les erlenmeyers ont été fermés, puis recouverts de papier aluminium afin de protéger le Méthyl Orange des phénomènes d'oxydation et de photodégradation. Ils ont ensuite été incubés sous agitation à 30 °C pendant 16 jours. La densité optique (DO) a été mesurée régulièrement

durant toute la période d'incubation afin de suivre l'évolution de la biodégradation (Figure II.14)

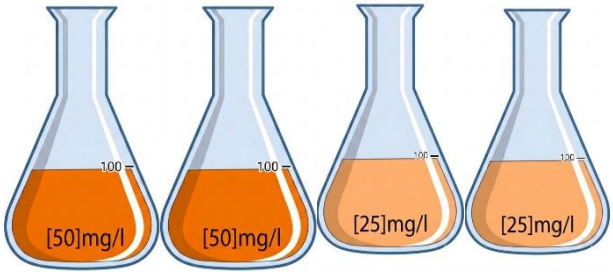


Figure II.14 : milieu de dégradation de Bacillus

Par *Aspergillus niger*

La réaction de biodégradation a été réalisée dans des erlenmeyers stériles de 250 mL contenant 100 mL de milieu de dégradation afin de maintenir un espace suffisant pour l'aération ensuite, trois disques de mycélium fongique prélevés à partir de boîtes de Pétri ont été ajoutés dans chaque erlenmeyer.

Les erlenmeyers ont été recouverts de papier aluminium puis fermés

Ils ont ensuite été incubés sous agitation (agitateur) pendant 28 jours. La densité optique (DO) a été mesurée régulièrement tout au long de la période d'incubation. (Figure II.15)

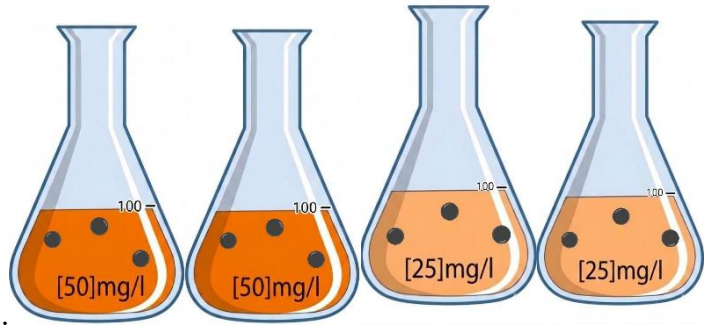


Figure II.15 : Milieu de dégradation de *l'Aspergillus niger*



Figure II.16 : Étapes expérimentales de la biodégradation du méthyl orange

2.14. Dosage de MO par spectroscopie UV visible

Nous avons suivi la biodégradation du MO, en effectuant régulièrement des prélèvements qui sont d'abord filtrées par des filtres à seringues de 0.45µm, puis mesurées l'absorbance par une spectroscopie UV visible dans une cuve du quartz (Figure II.17), De plus, nous avons déterminé la concentration de MO par l'utilisation de loi de Beer-Lambert [16]



Figure II.17 : Technique de dosage de MO

2.15. Test de viabilité des souches bactériennes

Le test de viabilité est une méthode utilisée pour déterminer la capacité des microrganismes ou des cellules à rester vivants et actifs dans des conditions données [17].

Ce test a été réalisé sur quatre erlenmeyers : deux correspondants à la Concentration de 50 mg/L et deux à la concentration de 25 mg/L. Des dilutions décimales successives de 10^0 à 10^{-6} ont été préparées dans des tubes contenant 9 mL d'eau physiologique stérile, La dilution 10^0 correspond au milieu initial non dilué prélevé directement des erlenmeyers. À

chaque étape, 1 mL de la dilution précédente a été transféré aseptiquement dans le tube suivant puis homogénéisé.

Ensuite, 100 µL de chaque dilution ont été ensemencés par étalement en surface sur des boîtes de Pétri contenant une gélose nutritive, Chaque dilution a été réalisée en double.

Les boîtes ont été incubées à 30 °C pendant 24 heures (Figure II.18), Après incubation, un dénombrement des colonies bactériennes a été effectué pour chaque boîte, puis les résultats obtenus ont été enregistrés[18].

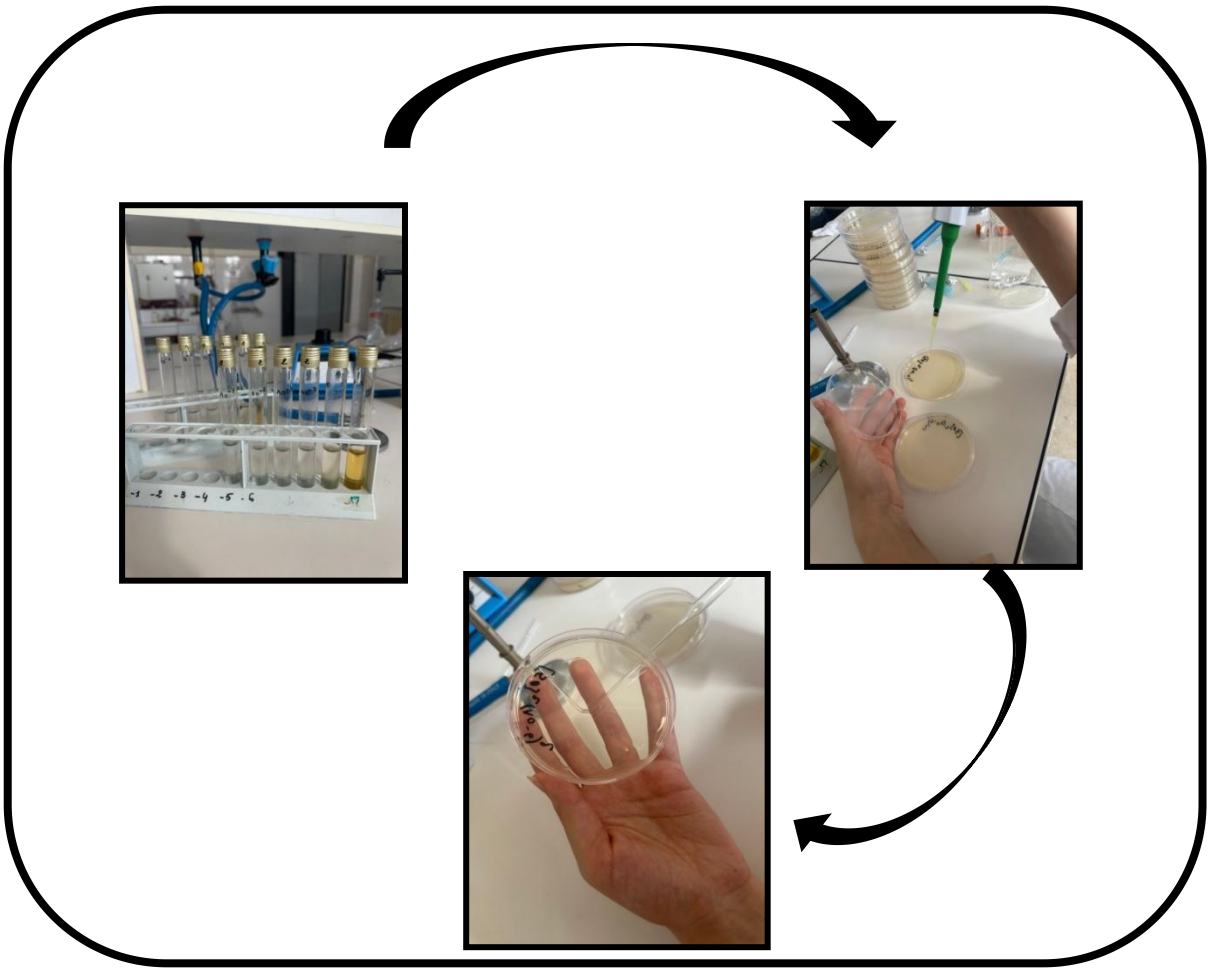


Figure II.18 : Représentation schématique du protocole du test de viabilité des souches bactériennes et fongiques

2.16. Détermination de la biomasse

2.16.1. Souche bactérienne

La biomasse bactérienne a été déterminée par la méthode du poids sec, pour chaque Concentration étudiée, un volume déterminé de suspension bactérienne a été transféré dans des tubes falcon stériles puis soumis à une centrifugation à 4500 tr/min pendant 20 à 30 minutes afin de séparer la biomasse bactérienne du milieu de culture.

Après centrifugation, le culot bactérien a été récupéré, lavé à l'eau distillée stérile puis recentrifugé dans les mêmes conditions. La biomasse obtenue a été séchée à 105 °C pendant 24 h jusqu'à poids constant[19]. La biomasse sèche a ensuite été déterminée par la formule suivante :

Formule de calcul

Biomasse bactérienne par centrifugation (tube Falcon)

$$\textbf{Biomasse (g/L)} = (Pf - Pi) / V$$

où :

Pf : poids du tube Falcon + culot bactérien après séchage (g)

Pi : poids du tube Falcon vide (g)

V : volume de la culture centrifugée (L)[20]

2.16.2. Pour la souche fongique

La biomasse fongique a été déterminée par la méthode du poids sec après filtration. Pour chaque concentration étudiée, les cultures fongiques ont été filtrées à l'aide d'un papier filtre préalablement pesé afin de séparer le mycélium du milieu de culture, Le papier filtre contenant la biomasse fongique a été séché à 60 °C pendant 48 heures[21]. Après séchage, la biomasse fongique sèche a été déterminée par différence entre le poids du papier filtre avec biomasse et celui du papier filtre vide.

Formule de calcul

Biomasse par filtration (pour les champignons ou biomasse fongique)

$$\textbf{Biomasse (g/L)} = (Pf - Pi) / V$$

où :

Pf : poids du papier filtre + biomasse après séchage (g)

Pi : poids du papier filtre sec (g)

V : volume de l'échantillon filtré (L)[22]

Cette méthode est particulièrement adaptée aux champignons filamenteux dont le mycélium peut être facilement retenu par filtration. (Figure II.19)



Figure II.19 : Étapes de mesure de la biomasse

Liste des références bibliographiques

1. ABDERRAHIM, B., *etude de la qualité des eaux de la rivière oum er rbia : approche analytique et chimiométrique, et traitement des effluents par voie physicochimique et biologique.* 2020.
2. Rouessac, F., A. Rouessac, and D. Cruch??, *Analyse chimique*2004 : Dunod.
3. Oshina, I. and J. Spigulis, *Beer–Lambert law for optical tissue diagnostics : current state of the art and the main limitations.* Journal of biomedical optics, 2021. 26(10) : p. 100901-100901.
4. de Beer-Lambert, I.L., *Chapitre Analyse quantitative en spectroscopie UV-Visible.*
5. DELLALI, A., *Techniques d'analyse microbiologique.* 2025.
6. Belkharchouche, M., *Analyse instrumentale.* 2024.
7. Levron, R., *Practical Experimental Microbiology : Laboratory Manual.* 2025.
8. Canteri, H., *Mise au point, optimisation et extrapolation de nouveaux procédés d'agitation et d'aération aux échelles 2L, 900L et 10m3 pour les souches D. hansenii, S. carnosus et P. candidum.* PhD, Université de Lorraine, Nancy, France, 2014.
9. Benazzouz, K., *Biotechnologies fongiques et bactériennes.* 2025.
10. Madigan, M.T., et al., *Brock biology of microorganisms 12th edn.* Int. Microbiol, 2008. 11(1).
11. Guettaf, G. and N.A. Chohri, *Isolement et Caractérisation des Rhizobactéries Promotrices de la Germination et de la Croissance du Pois Chiche*, 2021, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
12. BELADJAL, S. and S. DEBBACHI, *Isolement et identification des champignons phytopathogènes affectant le quinoa (Chenopodium quinoa Willd.) dans la région de Ouargla*, 2024, UNIVERSITE KASDI MERBAH–OUARGLA.
13. Emerson, D. and J. Tang, *Nutrition and media.* Methods for general and molecular microbiology, 2007 : p. 200-214.
14. Pitt, J.I. and A.D. Hocking, *Fungi and food spoilage*. Vol. 519. 2009 : Springer.
15. Tegegn, K., et al., *General Microbiology Laboratory Manual.* 2025.

16. Shah, M.V., T. Patel, and K. Patel, *Instrumental methods of analysis*2025 : Shashwat Publication.
17. Bélanger, P.-L., *Développement d'une méthode d'évaluation de la viabilité et de la stabilité de Bifidobacterium longum par analyse d'images.* 2018.
18. Djomana, B., *Evaluation de la qualité Bactériologique des eaux souterraines collectées dans la wilaya de BBA : isolement, identification, caractérisation de quelques espèces aquatiques*, 2022.
19. Asma, G., *Optimisation de la production de cellulases par différents microorganismes.*
20. Klai, N., *Développement d'un procédé de production de biofloculants à base de cloacibacterium normanense utilisant les boues d'épuration comme matière première*2016 : Institut National de la Recherche Scientifique (Canada).
21. Drougard, M., *Compréhension et contrôle de la morphologie des champignons filamenteux en culture liquide*, 2018, Institut agronomique, vétérinaire et forestier de France.
22. Liu, X., *Valorisation énergétique de la biomasse lignocellulosique par digestion anaérobie : prétraitement fongique aérobie*, 2015, INSA de Lyon.

Chapitre III:

Résultats et discussion

Ce chapitre est consacré à la présentation et à la discussion des résultats expérimentaux obtenus lors de l'étude de la biodégradation d'un polluant organique en milieu aquatique à l'aide de deux souches microbiennes : une souche bactérienne appartenant au genre ***Bacillus sp***. et une souche fongique de type ***Aspergillus niger*.**

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'efficacité de ces deux souches dans l'élimination du polluant organique ainsi que leur capacité de biodégradation dans les conditions expérimentales adoptées.

Ce chapitre comprend également l'analyse de l'évolution du taux d'élimination du polluant et la comparaison des performances des deux souches au cours du traitement. Le suivi de la biodégradation a été réalisé par la mesure de la densité optique (DO) ainsi que par l'étude de l'évolution de la biomasse microbienne tout au long du procédé de traitement biologique.

1. Résultat de La biodégradation

1.1. La souche bactérienne (*Bacillus sp.*)

Une turbidité marquée a été observée dans le milieu de culture au cours de la période d'incubation, indiquant la croissance et la multiplication des cellules bactériennes ainsi que l'utilisation des nutriments disponibles dans le milieu. Cette turbidité constitue un indicateur de l'augmentation de la biomasse bactérienne et de la capacité de la souche étudiée (*Bacillus sp*) à s'adapter aux conditions expérimentales en présence du colorant méthyl orange (MO) [1](Figure III.1).



Figure III.1 : Comparaison macroscopique entre la solution initiale (témoin sans bactérie) et les solutions traitées par la souche bactérienne *Bacillus sp.*

Toutefois, la turbidité seule ne peut être considérée comme une preuve irréfutable de la biodégradation du MO, car elle reflète principalement la croissance des micro-organismes

dans le milieu. Par conséquent, la confirmation du processus de biodégradation nécessite le recours à des indicateurs complémentaires, notamment la mesure de l'absorbance par spectrophotométrie UV-Visible. Cette analyse repose sur le suivi de l'évolution de la densité optique (DO) à la longueur d'onde maximale d'absorption du méthyl orange (λ = 464 nm), permettant ainsi d'évaluer la diminution de la concentration du colorant au cours de l'incubation[2].

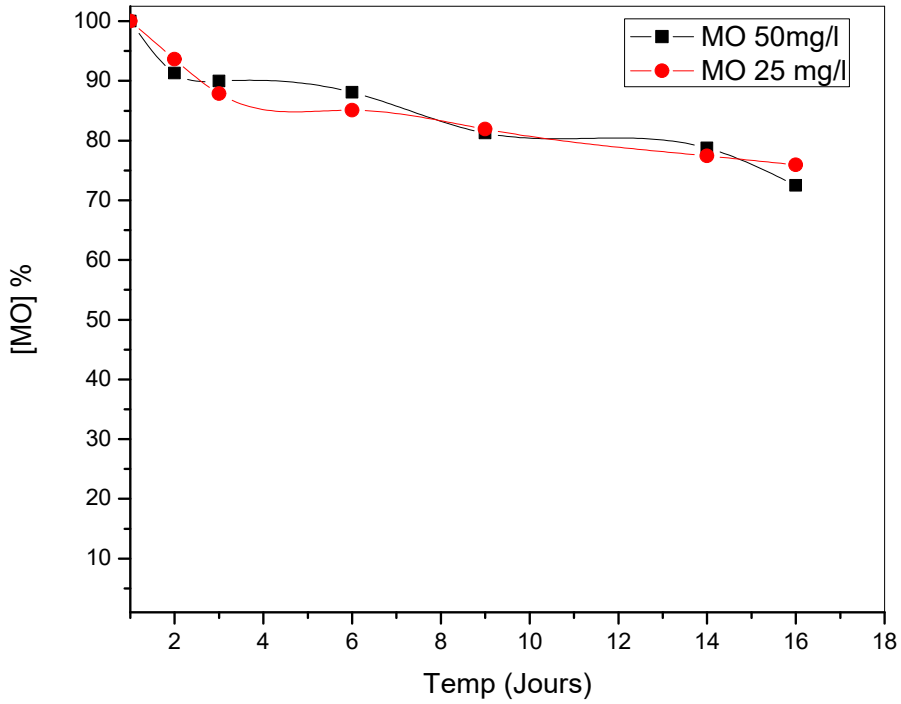


Figure III.2 : Évaluation de la capacité de biodégradation de MO par *Bacillus sp* à des concentrations de 25 mg/L et 50 mg/L.

La courbe d'évolution du taux de biodégradation du méthyl orange (MO) en fonction du temps, pour deux concentrations différentes (25 mg/L et 50 mg/L) en présence de la bactérie *Bacillus sp,* présentée dans la (figure III.2), montre une diminution progressive du pourcentage résiduel du méthyl orange au cours du temps pour les deux concentrations étudiées. Cette diminution témoigne de la capacité de *Bacillus sp*, à biodégrader ce colorant.

Au début de l'expérience, le pourcentage résiduel du colorant était proche de 100 %, puis il a diminué progressivement pour atteindre environ 75 % pour la concentration de 25 mg/L et 72 % pour celle de 50 mg/L au 16^{e} jour d'incubation, On observe également que la diminution du pourcentage résiduel est plus rapide durant les premiers jours, puis ralentit

progressivement au cours de l'incubation. Ce comportement peut être attribué à la réduction de la quantité de substrat biodégradable disponible ou à une diminution de l'activité métabolique des bactéries avec le temps.

Par ailleurs, la différence observée entre les deux concentrations reste relativement faible, ce qui suggère que *Bacillus* sp .présente une capacité de dégradation comparable dans les deux conditions expérimentales. Toutefois, la concentration de 50 mg/L affiche, à la fin de l'expérience, un pourcentage résiduel légèrement inférieur à celui observé pour 25 mg/L, indiquant que la souche bactérienne est capable de s'adapter à une concentration plus élevée du colorant et de maintenir son activité de dégradation.

La diminution de la concentration du colorant peut être associée à la rupture progressive de la liaison azoïque (-N=N-), caractéristique du méthyl orange et responsable de sa coloration. Cette rupture entraîne une décoloration du milieu et une réduction de la concentration du colorant[3].

Dans l'ensemble, ces résultats mettent en évidence l'efficacité de *Bacillus* sp. dans la biodégradation du méthyl orange et confirment son potentiel pour le traitement biologique des eaux contaminées par des colorants industriels.

Des études antérieures ont montré que *Bacillus sp***.** est capable d'éliminer et de biodégrader le méthyl orange avec une efficacité notable, notamment celles de **Sharma et al. (2010)**, **Chen et al. (2011)** et **Singh & Pandey (2012)**. Ces travaux ont mis en évidence une diminution progressive de la concentration du colorant au cours du temps, due principalement à la rupture de la liaison azoïque (-N=N-) par des enzymes de type azoréductases.

1.2. Résultat de La biodégradation de MO par la souche fongique (*Aspergillus niger*)

Pour le champignon, une dégradation partielle des disques mycéliens a été observée au cours de la période d'incubation, accompagnée de la formation de débris ou de particules noires dispersés dans le milieu de culture.Cette modification pourrait être attribuée à l'activité métabolique du champignon et à son interaction avec le méthyl orange, entraînant des changements morphologiques de la biomasse fongique. L'apparition de ces particules peut également être considérée comme un indicateur de transformations du milieu associées au processus de décoloration ou de biodégradation du méthyl orange. Toutefois, la confirmation de cette biodégradation nécessite des analyses complémentaires, notamment le suivi de la diminution de la concentration du méthyl orange ou des valeurs de densité optique (DO) mesurées à la longueur d'onde de $\lambda = 464$ nm[3].

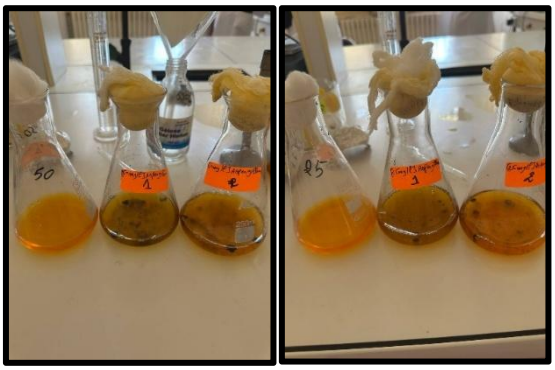


Figure III.3 : Comparaison macroscopique entre la solution initiale (témoin sans champignons) et les solutions traitées par la souche fongique (*Aspergillus niger*)

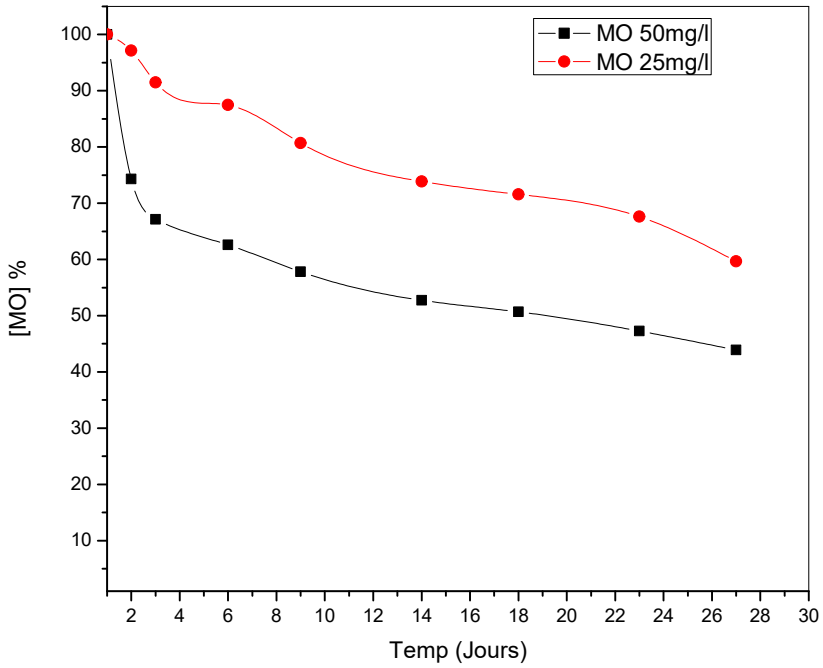


Figure III.4 : Évaluation de la capacité de biodégradation de MO par *Aspergillus niger* à des concentrations de 25 mg/L et 50 mg/L.

(Figure III.5) représente l'évolution du taux résiduel du méthyl orange (MO) en fonction du temps sous l'action du champignon *Aspergillus niger*, pour deux concentrations initiales de 25 mg/L et 50 mg/L. Les résultats obtenus montrent une diminution progressive de la quantité de colorant présente dans le milieu tout au long de la période d'incubation, traduisant l'activité du microorganisme vis-à-vis du méthyl orange.

Au début de l'expérience, les deux concentrations présentent un taux résiduel proche de 100 %. Cependant, une baisse continue est observée au cours du temps, conduisant après

28 jours d'incubation à des taux résiduels d'environ 58 % pour la concentration initiale de 25 mg/L et de 42 % pour celle de 50 mg/L. Ces résultats indiquent une élimination plus importante du colorant lorsque sa concentration initiale est plus élevée.

Les données obtenues suggèrent qu'Aspergillus *niger* est capable de maintenir son activité biologique en présence du méthyl orange et d'interagir efficacement avec ce composé, même à une concentration de 50 mg/L. La meilleure performance observée à cette concentration pourrait être attribuée à une induction plus marquée des mécanismes physiologiques et enzymatiques impliqués dans la transformation du colorant.

La diminution progressive du taux résiduel au cours de l'incubation traduit une altération graduelle de la structure chimique du méthyl orange, Cette transformation pourrait notamment impliquer la rupture de la liaison azoïque (-N=N-), responsable des propriétés colorantes de la molécule, entraînant ainsi une réduction de sa concentration dans le milieu de culture.

Dans l'ensemble, ces résultats démontrent la capacité de *Aspergillus niger* à contribuer à l'élimination du méthyl orange et soulignent le potentiel de ce champignon dans les procédés de bioremédiation destinés au traitement des effluents contaminés par des colorants azoïques[3].

Plusieurs études ont également démontré l'efficacité de ***Aspergillus niger*** dans l'élimination du méthyl orange, notamment celles de **Ali et al. (2013)**, **Gupta & Sinha (2014)** et **Kumar et al. (2015)**. Cette efficacité est attribuée à la biosorption sur la biomasse fongique et à la production d'enzymes oxydatives, entraînant une diminution progressive de la concentration du colorant.

1.3. Comparaison des procédés de biodégradation du méthyl orange par *Bacillus sp* et *Aspergillus niger*

Les résultats montrent que *Bacillus* sp. et *Aspergillus niger* sont capables de biodégrader le méthyl orange, avec une réduction progressive de sa concentration au cours de l'incubation. Cependant, *A. niger* présente des performances nettement supérieures, avec des rendements de dégradation de 42 % et 58 % à 25 et 50 mg/L respectivement, contre seulement 25 % et 28 % pour *Bacillus* sp. L'augmentation de la concentration du colorant améliore la dégradation chez *A. niger*, alors qu'elle influence peu celle de *Bacillus* sp. Ces résultats suggèrent une meilleure adaptation et une activité enzymatique plus efficace du

champignon. Ainsi, *Aspergillus niger* apparaît comme le microorganisme le plus prometteur pour la bioremédiation des effluents contenant des colorants azoïques.

2. Résultat de Test de viabilité

2.1. La souche bactérienne (*Bacillus sp.*)

- **Pour 50 mg/L : $[50]_1$**



Figure III.5 : Résultat $[50]_1$

- **Pour 50 mg/L : $[50]_2$**



Figure III.6 : Résultat $[50]_2$

- **Pour 25 mg/L : $[25]_1$**



Figure III.7 : Résultat $[25]_1$

Pour 25 mg/L : $[25]_2$



Figure III.8 : Résultat $[25]_2$

2.2. La souche fongique (*Aspergillus niger*)

- **Pour 50 mg/L : $[50]_1$**

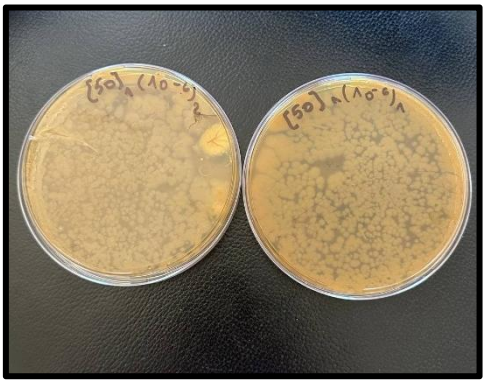


Figure III.9 : Résultat $[50]_1$

- **Pour 50 mg/L : $[50]_2$**

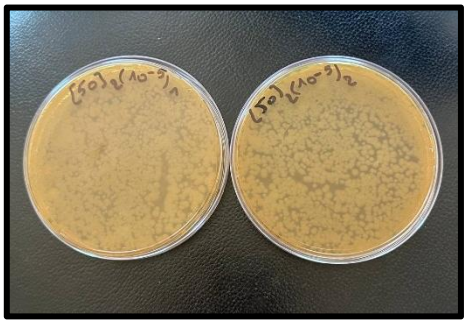


Figure III.10 : Résultat $[50]_2$

- **Pour 25 mg/L : $[25]_1$**



Figure III.11 : Résultat $[25]_1$

- **Pour 25 mg/L : $[25]_2$**



Figure III.12 : Résultat $[25]_2$

Les résultats du test de viabilité ont révélé la présence de colonies bactériennes, indiquant que la souche a maintenu sa capacité de survie et de croissance dans les conditions expérimentales. Cette observation témoigne de sa tolérance au méthyle orange et de son potentiel d'adaptation à ce polluant.

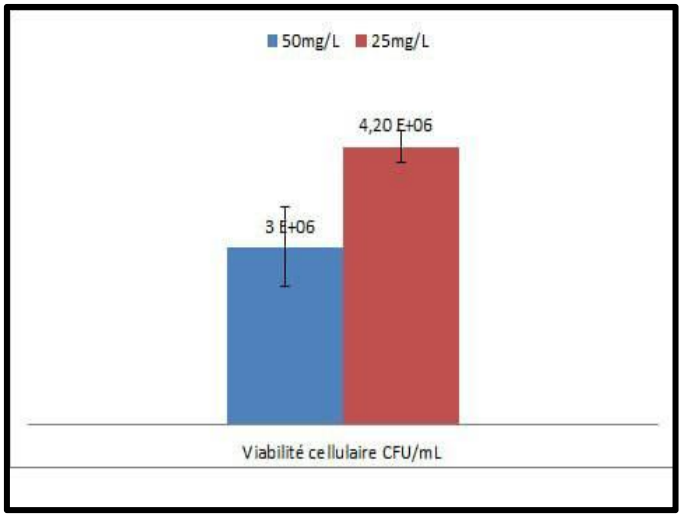


Figure III.13 : Histogramme en bâtonnets de la viabilité cellulaire de *Bacillus sp* en fonction de la concentration.

La (figure III.13) montre que la souche bactérienne Bacillus sp, présente une bonne viabilité cellulaire dans les deux concentrations de méthyl orange testées. Le nombre de cellules viables atteint environ 3×10^6 UFC/mL à 50 mg/L et $4,2 \times 10^6$ UFC/mL à 25 mg/L.

Ces résultats indiquent que la croissance bactérienne est plus importante à la concentration de 25 mg/L, où la viabilité cellulaire est supérieure. En revanche, à 50 mg/L, une diminution du nombre d'UFC est observée, ce qui suggère qu'une concentration plus élevée du colorant exerce un effet inhibiteur partiel sur la croissance bactérienne.

Malgré cette diminution, Bacillus sp. conserve une viabilité élevée dans les deux conditions, démontrant sa capacité à tolérer le méthyl orange et à se développer en sa présence. Cette résistance constitue un atout pour son utilisation dans les procédés de biodégradation des colorants azoïques en milieu aquatique.

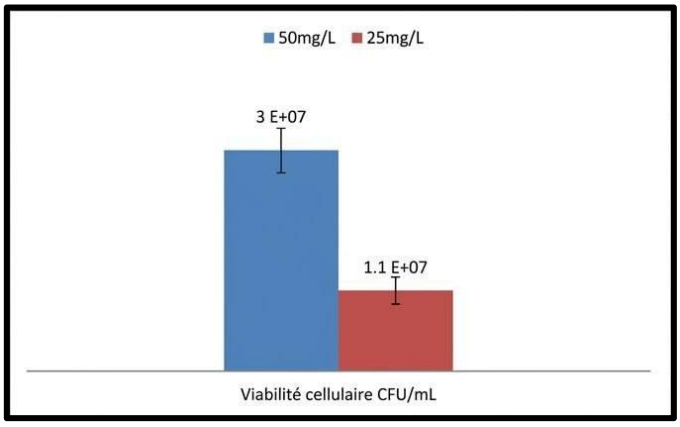


Figure III.14 : Histogramme en bâtonnets de la viabilité cellulaire *d'Aspergillus niger* en fonction de la concentration.

La (figure III.14) démontrent une corrélation positive entre la concentration du polluant organique et la viabilité du champignon dans les conditions de notre étude. L'augmentation du nombre de cellules à la concentration la plus élevée (50 mg/L) indique qu'*Aspergillus niger* possède une grande capacité de tolérance face à ce type de polluant organique ; il est possible que le champignon se soit adapté à ce milieu et l'ait utilisé comme source de carbone ou d'énergie, entraînant ainsi une augmentation de la biomasse ou du taux de multiplication par rapport à la concentration plus faible. Dans le cadre de notre étude sur la biodégradation, ce résultat confirme que le champignon est très actif dans les milieux à fortes concentrations de polluants, ce qui en fait un candidat efficace pour les applications de traitement des eaux usées industrielles contenant des charges polluantes variables. En conclusion, la variation observée entre les deux concentrations montre que le champignon ne

subit aucune inhibition de croissance à 50 mg/L ; au contraire, sa viabilité augmente, constituant ainsi un indicateur positif de l'efficacité de la souche utilisée dans les processus de biodégradation.

3. Résultats de la biomasse produite

La formation et l'augmentation de la biomasse (poids sec) pour la souche bactérienne et la souche fongique en présence du (MO) indiquent la capacité de ces micro-organismes à résister à la toxicité du colorant et à s'y adapter au sein du milieu de culture.

Cette croissance s'explique par la capacité du champignon et de la bactérie à biodégrader les molécules du colorant et à les transformer de composés complexes et toxiques en composés simples. Les cellules vivantes ont ensuite utilisé ces produits comme source de nutriments et d'énergie pour construire de nouvelles cellules, ce qui a entraîné l'augmentation du poids sec calculé pour (1ml). Ces résultats prouvent le succès des deux souches à réaliser le processus de biodégradation des polluants, ce qui confirme leur efficacité pour la décoloration et l'épuration des eaux contaminées par ce colorant[4]. **(Tableau III.1) (Tableau III.2)**

Tableau III.1 : biomasse de la souche bactérienne

Les solutions	**Les poids par (mg) pour(1ml)**
[50]1	0, 3309
[50]2	0, 3253
[25]1	0, 4409
[25]2	0, 5454

Tableau III.2 : biomasse la souche fongique

Les solutions	**Les poids par (mg) pour(1ml)**
[50]1	4, 1659
[50]2	4, 1779
[25]1	3, 2979
[25]2	3, 7931

Liste des références bibliographiques

1. Ikram, C., *Évaluation des propriétés bioactives et des capacités de tolérance environnementale des souches PGPR*, 2025, univercity centre of abdelhafid bousouf mila.
2. Mouna, B. and D. Roumissa, *Etude de la biodégradation d'un polluant organique (méthabenzthiazuron) en milieu aquatique*, 2023, University center of Abdalhafid Boussouf-MILA.
3. KHAOULA, D. and D. CHABANE, *Etude comparatif entre l'élimination chimique et biologique d'un polluant organique (méthyl orange) en milieu aquatique*, 2023, university center of abdalhafid boussouf-MILA.
4. Ouarda, T., *Effet de quelques produits phytosanitaires sur la biomasse microbienne des sols oasiens. Cas de la région de Ouargla*, 2019, UNIVERSITE KASDI MERBAH–OUARGLA.

Conclusion

Conclusion

Ce travail de recherche a permis d'évaluer la capacité de deux microorganismes, *Bacillus* sp. et *Aspergillus niger*, à biodégrader le méthyl orange, un colorant azoïque largement utilisé dans différentes activités industrielles et reconnu pour son impact négatif sur l'environnement aquatique. Les résultats obtenus ont montré que les deux souches étudiées sont capables de réduire progressivement la concentration du colorant au cours du temps, démontrant ainsi leur potentiel dans les procédés biologiques de traitement des eaux contaminées.

L'étude a révélé que l'efficacité de biodégradation varie selon le microorganisme utilisé et la concentration initiale du colorant. *Bacillus* sp. a présenté une capacité de dégradation modérée, avec des performances relativement similaires pour les concentrations de 25 mg/L et 50 mg/L. En revanche, *Aspergillus niger* a montré une activité plus importante, particulièrement à la concentration de 50 mg/L, où le taux d'élimination du méthyl orange était nettement supérieur. Ces résultats suggèrent que ce champignon possède une meilleure aptitude à s'adapter aux concentrations élevées du colorant et à maintenir une activité biologique efficace tout au long de l'incubation.

La diminution progressive du méthyl orange observée dans les différents essais indique que les microorganismes étudiés peuvent contribuer à la transformation de la molécule colorante, probablement par la rupture de la liaison azoïque (-N=N-), responsable de sa coloration. Ainsi, les procédés biologiques apparaissent comme une alternative prometteuse, économique et respectueuse de l'environnement pour le traitement des effluents contenant des colorants synthétiques.

En conclusion, les résultats obtenus confirment le potentiel des microorganismes dans la bioremédiation des eaux polluées par les colorants azoïques et mettent particulièrement en évidence l'intérêt d'*Aspergillus niger* comme agent biologique efficace pour la biodégradation du méthyl orange.

Perspectives

Afin d'approfondir et de valoriser les résultats obtenus, plusieurs perspectives peuvent être envisagées :

- Étudier l'influence de différents paramètres environnementaux (pH, température, agitation, concentration en oxygène et nutriments) sur l'efficacité de la biodégradation du méthyl orange.
- Tester des concentrations plus élevées du colorant afin de déterminer les limites de tolérance et les performances maximales des microorganismes étudiés.
- Réaliser des cultures mixtes associant *Bacillus* sp. et *Aspergillus niger* afin d'évaluer un éventuel effet synergique sur la dégradation du colorant.
- Identifier les métabolites formés au cours de la biodégradation par des techniques analytiques telles que la chromatographie ou la spectrométrie, afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués.
- Étudier les activités enzymatiques responsables de la dégradation du méthyl orange, notamment les azoréductases, les laccases et les peroxydases.
- Évaluer la toxicité des produits de dégradation obtenus afin de vérifier que le traitement conduit à une réelle détoxification du milieu.
- Étendre l'étude à d'autres colorants azoïques et à des effluents industriels réels pour confirmer l'efficacité des microorganismes dans des conditions plus proches de l'environnement naturel.
- Développer des procédés de traitement à plus grande échelle (bioréacteurs) en vue d'une application industrielle dans le domaine du traitement des eaux usées.

Ces perspectives permettront de mieux comprendre les mécanismes de biodégradation et de favoriser le développement de solutions biologiques durables pour la dépollution des effluents industriels.

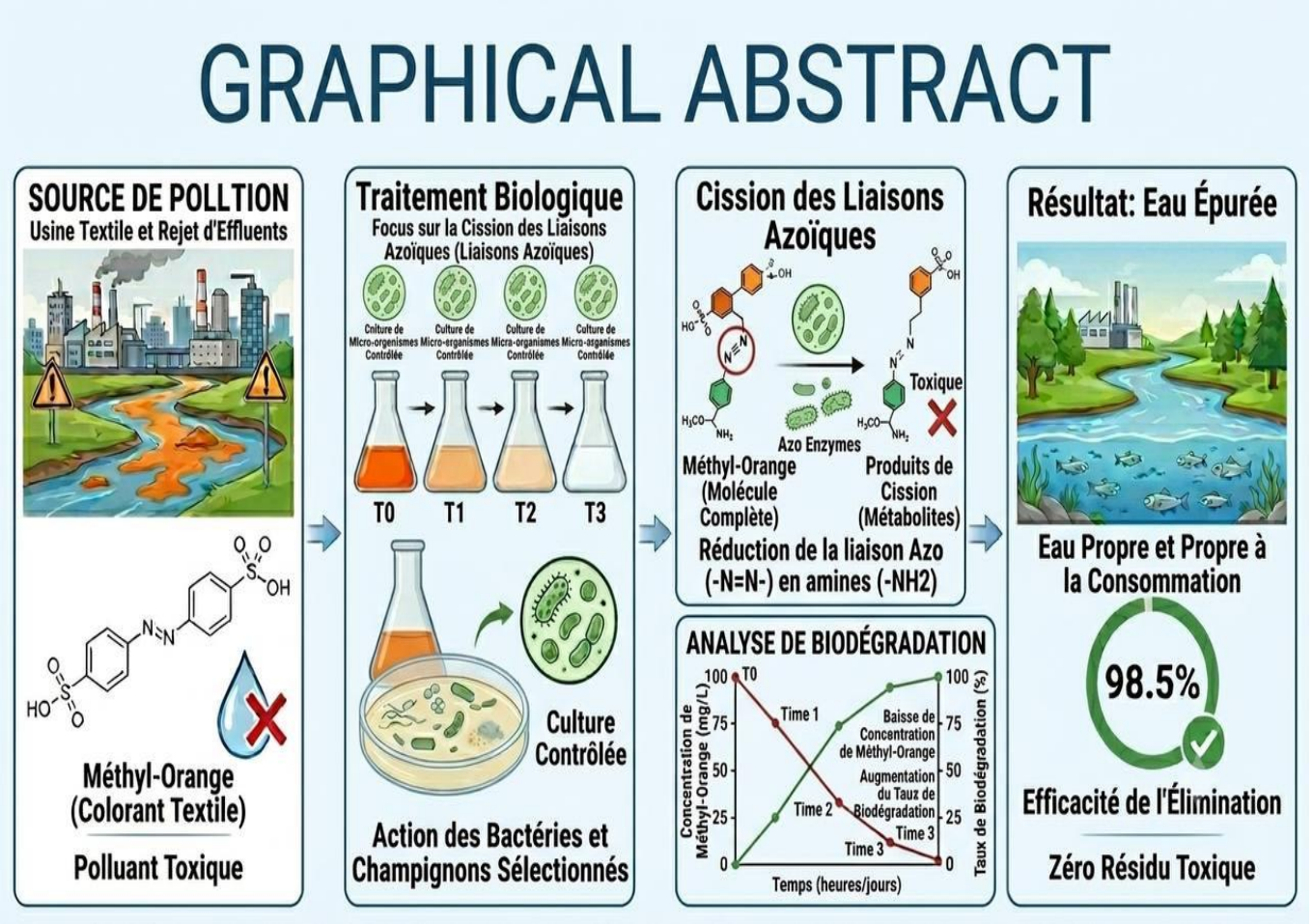
Projet de start-up

Valorisation des résultats sous forme d'une Startup

Introduction :

Les résultats obtenus lors de cette étude ont démontré le potentiel des souches microbiennes utilisées dans la biodégradation du méthyl orange. Afin de valoriser ces résultats sur le plan économique et environnemental, une approche entrepreneuriale a été envisagée à travers la proposition d'une startup spécialisée dans le traitement biologique des eaux usées contaminées par les colorants. Ce chapitre présente le concept du projet, son prototype ainsi qu'un graphical abstract illustrant le fonctionnement global de la solution proposée.

1. Graphical abstract :

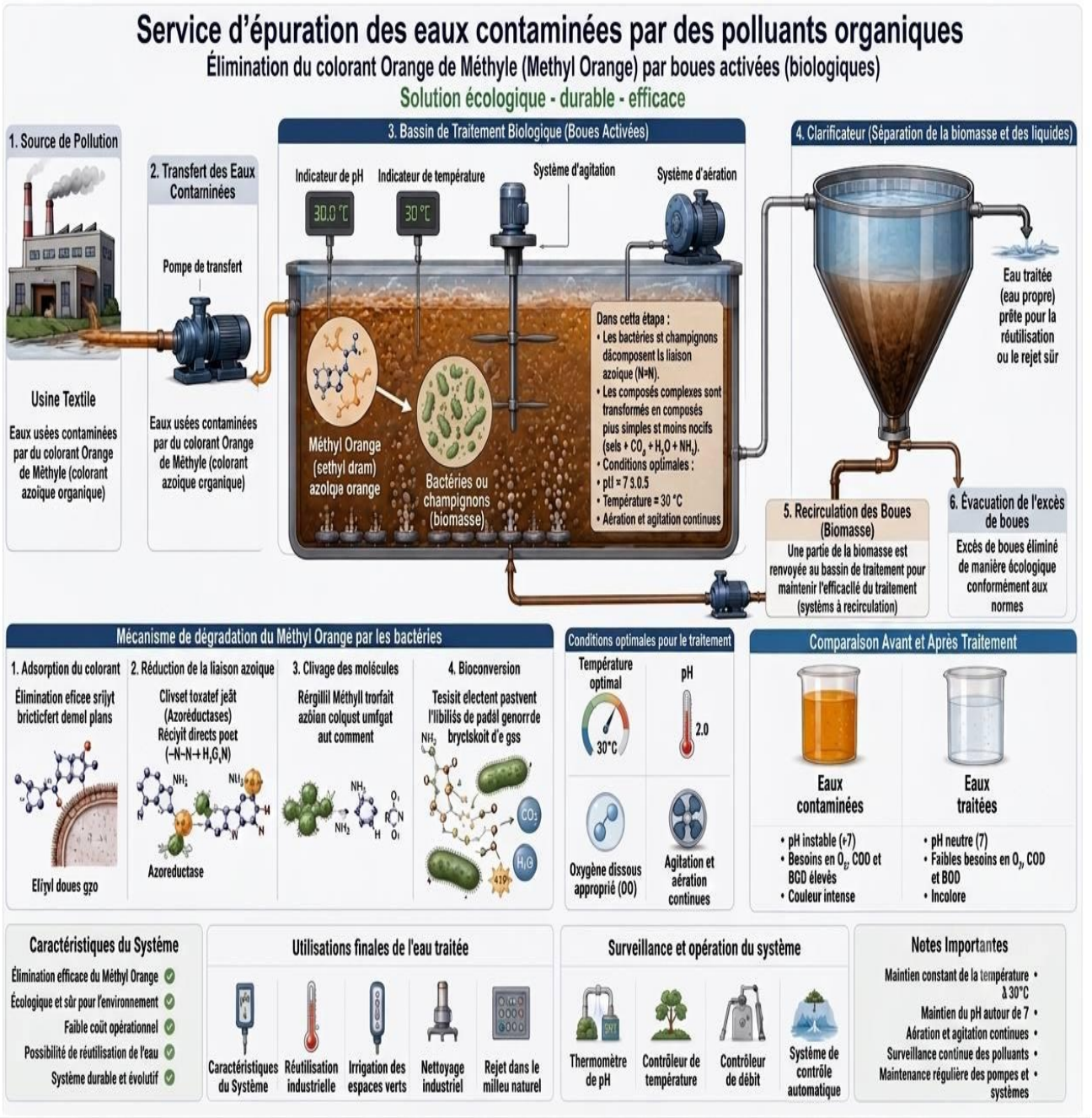


2. Présentation du projet Startup :

2.1. Nom de la startup :

Service de traitement biologique des eaux contaminées par des polluants organiques à l'aide de souches bactériennes

2.2. Prototype proposé :



2.3. Description du service :

La startup propose une solution écologique basée sur l'utilisation de souches microbiennes capables de dégrader les polluants organiques présents dans les eaux usées

industrielles. Les effluents contaminés sont traités dans un bioréacteur où les micro-organismes utilisent ces composés comme source de carbone et d'énergie, entraînant leur transformation en substances moins toxiques ou biodégradables.

3. Impact et perspectives :

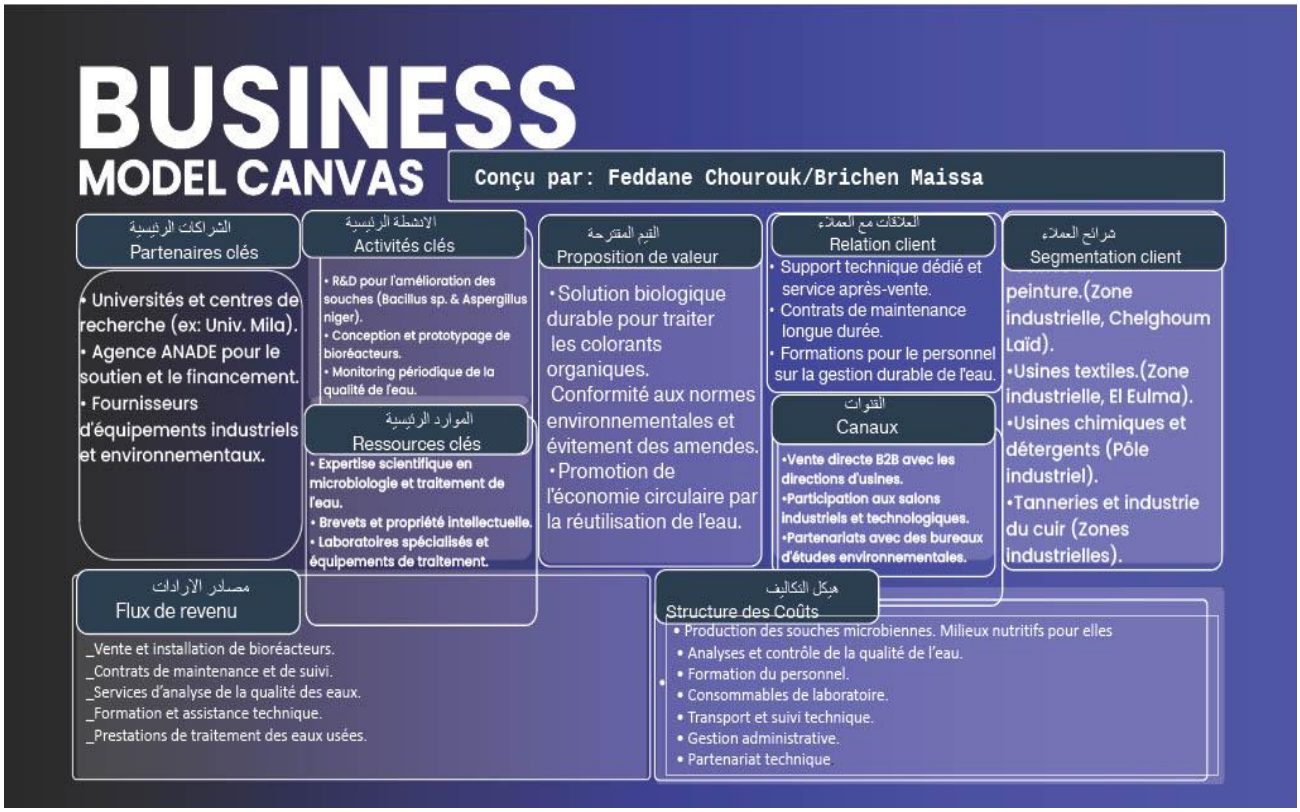
3.1. Impact

Ce projet contribue à la réduction de la pollution des ressources hydriques grâce au traitement des eaux contaminées par des polluants organiques à l'aide de souches bactériennes efficaces. Il permet également d'obtenir une eau traitée pouvant être réutilisée au sein de l'usine, ce qui réduit la consommation d'eau et les coûts liés à son approvisionnement à partir d'autres sources. En outre, cette eau peut être destinée à l'irrigation agricole ou à d'autres activités industrielles nécessitant de l'eau non potable, créant ainsi une valeur ajoutée pour les entreprises tout en favorisant une gestion durable des ressources en eau.

3.2. Perspectives

À l'avenir, ce projet pourra évoluer vers un système intégré de traitement et de réutilisation des eaux usées à l'échelle industrielle. Il pourra également être étendu au traitement d'autres types de polluants organiques et faire l'objet de partenariats avec les industries et les organismes de gestion de l'eau. Cette approche contribuera au développement de l'économie circulaire en transformant les eaux usées en une ressource réutilisable plutôt qu'en un déchet à éliminer.

4. BMC



Conclusion

Ce projet de startup constitue une valorisation concrète des résultats obtenus dans le cadre de cette étude. L'utilisation de souches bactériennes pour le traitement biologique des eaux contaminées par des polluants organiques représente une solution innovante, écologique et durable. En plus de contribuer à la réduction de la pollution des ressources hydriques, cette approche permet la réutilisation des eaux traitées dans différents domaines, générant ainsi des bénéfices environnementaux et économiques. À long terme, le développement de cette solution pourrait favoriser une gestion plus durable de l'eau et répondre aux besoins croissants des industries en matière de traitement et de valorisation des eaux usées.