

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية République Algérienne Démocratique Et Populaire وزارة التعليم العالي والبحث العلمي Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم: ميكروبيولوجيا Département : Microbiologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Microbiologie appliquée

N° d'ordre : N° de série :

Intitulé:

Etude de l'élimination d'un colorant contenu dans les rejets d'industrie de textile par un procédé hybride (Biologique/POA)

Présenté par : BENAISSA Kaouther Le : 13/06/2024

BOUDIAF Sirine

Jury d'évaluation:

Présidente: ABEDELAZIZ Ouided (MCB- UConstantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : BELAHMADI Mohamed Seddik Oussama (MRB – C.R.Bt, Constantine).

Co-encadrant: MEGHNOUS Ouissem (MCB- UConstantine 1 Frères Mentouri).

Examinatrice : BOUCHERIT Zeyneb (MAA- UConstantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire 2023 - 2024



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية République Algérienne Démocratique Et Populaire وزارة التعليم العالي والبحث العلمي Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم: ميكروبيولوجيا Département : Microbiologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Spécialité: Microbiologie appliquée

N° d'ordre : N° de série :

Intitulé:

Etude de l'élimination d'un colorant contenu dans les rejets d'industrie de textile par un procédé hybride (Biologique/POA)

Présenté par : BENAISSA Kaouther Le : 13/06/2024

BOUDIAF Sirine

Jury d'évaluation:

Présidente: ABEDELAZIZ Ouided (MCB- UConstantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : BELAHMADI Mohamed Seddik Oussama (MRB – C.R.Bt, Constantine).

Co-encadrant: MEGHNOUS Ouissem (MCB- UConstantine 1 Frères Mentouri).

Examinatrice : BOUCHERIT Zeyneb (MAA- UConstantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire 2023 - 2024

Dédicace

Je dédie ce travail à :

À mon père, l'homme qui nous a quitté trop tôt, celui qui m'a tout appris dans mon enfance et qui m'a encouragée dès le début de mon parcours scolaire, il m'a toujours accordé sa confiance et cru en moi. À l'âme qui ne m'a jamais quittée, j'espère que du monde qui est tien maintenant tu puisses m'entendre te dire nous avons réussi papa ! que dieu le tout puissant t'ait en sa sainte miséricorde.

À ma mère qui quoi que je dise ou que je fasse je ne remercierai jamais comme il se doit, j'exprime ma reconnaissance à cette femme forte, celle qui m'a toujours épaulée, répondu a mes exigences, aimée et protéger. Elle me facilite la vie et plante mon chemin de roses et fleurs. Je t'aime mama! Que dieu t'accorde longue vie et santé.

À mon frère, qui m'a aidée, soutenue conseillée et poussée à aller de l'avant, celui qui considère ma réussite sienne.

À mes sœurs, mes confidentes et amies et leurs enfants Firas, Racime, Ayla et Nelya la source de ma joie et mon bonheur.

À ma binôme et chère amie Sirine merci pour ton dévouement et ta présence À mes amies Imene et Ikram.

À mes collègues de stage, Djihene, Nesrine, Sirine et Rahma.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

À ma maman bien-aimée.

Toi qui es le phare illuminant mes jours et mes nuits, Ta sagesse est un trésor qui guide mes pas, Tu es la plus précieuse des âmes, mon pilier, ma vie. Je suis fière d'être ta fille, ta force et ta douceur m'inspirent chaque jour.

À mon père,

Merci pour ton encouragement sans faille et ton soutien constant.

À mes chères frères Aymen, Wassim et le petit Nisou,

Vous êtes une source inépuisable de joie et d'inspiration.

À ma grand-mère maternelle YAMINA,

À mes chères petites cousines Assil et Ines,

À mes chères tantes et à toute la famille,

À mon binôme Kaouther.

À ma chère amie d'enfance Afnene, mes amies nadjla, ikram et imen,

À mes collègues de stage, Djihene, Nesrine, Sirine et Rahma,

À mes chers compagnons à quatre pattes, Lucy et Kimou.

Sirine.

Remerciements

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au laboratoire d'analyse environnementale, au laboratoire d'analyse et contrôle de la qualité, de biologie moléculaire et au laboratoire de bactériologie, du Centre de Recherche en Biotechnologie (C.R.Bt) de Constantine.

Ce mémoire est le fruit d'un travail collectif et de l'aide précieuse de plusieurs personnes que nous tenons à remercier chaleureusement.

Nous tenons particulièrement à exprimer notre profonde gratitude à nos encadrants au Centre de Recherche en Biotechnologie (C.R.Bt), M. BELAHMADI Mohamed Seddik Oussama et M. Abedssemed Ala, pour leur aide précieuse, leurs conseils avisés et leurs encouragements constants. Leur investissement et leur foi en ce projet ont été essentiels à sa réalisation.

Nous remercions également **Mme MEGHNOUS Ouissem**, notre coencadrante, pour son soutien, ses conseils éclairés et son dévouement tout au long de ce travail.

Notre reconnaissance va également à **Mme ABDELAZIZ Ouided**, qui nous a fait l'honneur de présider le jury de ce mémoire, ainsi qu'à **Mme BOUCHERIT Zeyneb**, qui a accepté d'évaluer ce modeste travail en tant qu'examinatrice.

Enfin, nous tenons à remercier toute l'équipe du laboratoire d'analyse physicochimique de l'environnement, de biologie moléculaire, laboratoire d'analyse et contrôle de la qualité et de bactériologie pour leur soutien et leur collaboration tout au long de cette recherche.

L'étude vise à évaluer la qualité des effluents émis par l'industrie textile EATIT Batna et à examiner l'élimination du Colorant rouge sombre 167 par un procédé hybride combinant un POA (Na₂S₂O₈/UV) et biologique (bactéries). La caractérisation physicochimique de l'effluent, réalisée par la mesure de 12 paramètres physicochimiques, a révélé un pH extrêmement alcalin (pH = 12,236) ainsi qu'une forte charge organique. La pollution minérale est marquée par une conductivité élevée de 1888 µS/cm, une teneur en azote Kjeldahl de 29,4 mg/L, une forte teneur en nitrates 15,88 mg/L. Les indicateurs de pollution montrent une DBO₅ de 50 mg d'O₂/L et une concentration en matières en suspension de 126,66 mg/L, dépassant les normes nationales admises. L'identification moléculaire d'une sélection d'un Consortium bactérien autochtone de l'Effluent a permis d'identifier cinq souches bactériennes appartenant à: Bacillus tequilensis MSOsk 2024 (PP748531), Bacillus tequilensis MSOsr 2024 (PP748534), Sporosarcina sp. BAAA 2024 (PP748532), Microbacterium aurantiacum BMSO BkBs 2024 (PP748530), Microbacterium chocolatum BMSO MsTr 2024 (PP748533). L'étude comparative des procédés de traitement a démontré que, dans des conditions optimales, le système (Na₂S₂O₈/UV) présente un indice de décoloration de 0,12 CN pour l'effluent et une décoloration très significative des solutions contenant le colorant. En revanche, le traitement hybride (Na₂S₂O₈/UV) + Consortium bactérien a montré des taux d'élimination du Colorant de l'ordre de 99,86 % et de 0,02 CN pour l'effluent. A la fin du traitement, deux souches Sulfitoréductrices du genre Bacillus à savoir : Bacillus tequilensis (MSOsk 2024/MSOsr 2024), ont été identifiées capables de dégrader le rouge sombre 167 et de faire baisser le pH du milieu de culture jusqu'à une valeur de 1,9. Les résultats obtenus démontrent qu'une approche hybride combinant un système (Na₂S₂O₈/UV) et un Traitement biologique est une alternative très efficace pour traiter les effluents de l'industrie textile, contribuant ainsi à la protection de l'environnement. De plus, il est envisageable d'utiliser l'Effluent traité pour neutraliser le pH alcalin de l'effluent.

Mots clés: Effluent, Traitement, Colorant, Pollution, POA, Bactérie, Bioremédiation

The study aims to evaluate the quality of effluents emitted by the EATIT Batna textile industry and to examine the removal of dark red Dye 167 by a hybrid process combining an AOP (Na₂S₂O₈/UV) and Biological (Bacteria) treatment. The physicochemical characterization of the effluent, carried out by measuring 12 physicochemical parameters, revealed an extremely alkaline pH (pH = 12.236) and a high organic load. Mineral pollution is marked by a high Conductivity of 1888 µS/cm, a Kjeldahl nitrogen content of 29.4 mg/L, and a high nitrate content of 15.88 mg/L. Pollution indicators show a BOD₅ of 50 mg O2/L and a suspended solids concentration of 126.66 mg/L, exceeding the accepted national standards. Molecular identification of a selection of an indigenous Bacterial Consortium from the Effluent identified five Bacterial strains belonging to: Bacillus tequilensis MSOsk 2024 (PP748531), Bacillus tequilensis MSOsr 2024 (PP748534), Sporosarcina sp. BAAA 2024 (PP748532), Microbacterium aurantiacum BMSO BkBs 2024 (PP748530), Microbacterium chocolatum BMSO MsTr 2024 (PP748533). Comparative studies of the treatment processes demonstrated that, under optimal conditions, the (Na₂S₂O₈/UV) system shows a decoloration index of 0.12 CN for the Effluent and a very significant decoloration of solutions containing the dye. On the other hand, the hybrid treatment (Na₂S₂O₈/UV) + Bacterial Consortium showed dye removal rates of around 99.86% and 0.02 CN for the effluent. At the end of the treatment, two sulfitereducing strains of the genus Bacillus, namely: Bacillus tequilensis (MSOsk 2024/MSOsr 2024), were identified as capable of degrading dark red 167 and lowering the pH of the Culture medium to a value of 1.9. The results obtained demonstrate that a hybrid approach combining a (Na₂S₂O₈/UV) system and Biological treatment is a very effective alternative for treating textile industry effluents, thus contributing to environmental protection. Furthermore, it is conceivable to use the treated Effluent to neutralize the alkaline pH of the Effluent.

Keywords: Effluent, Treatment, Dye, Pollution, AOP, Bacteria, Bioremediation

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم جودة المياه المُصَرَّفة من مصنع النسيج EATIT باتنة، بالإضافة إلى دراسة إز الة اللون الأحمر الداكن 167 بتركيز ات مختلفة وتنقية المياه المُصرَّفة، باستخدام عملية هجينة تجمع بين نظام POA المحكرة المياه المُصرَّفة، باستخدام عملية هجينة تجمع بين نظام والتحلل البيولوجي بواسطة بكتيريا معزولة من المياه المُصرَّفة النتائج أظهرت خصائص المياه المُصرَّفة قلوية عالية pH) 12.236 =وشحنة عضوية عالية تميزت التلوث المعدني بموصلية كهربائية عالية (1888 (MS/cm ومحتوى نيتروجين كيلدال (29.4 ملغ/لتر (ومحتوى مرتفع من النترات15.88 ملغ/لتر أظهرت مؤشرات التلوث طلب الأكسجين البيوكيميائي DBO5) 50 mg O2/L وتركيز المواد المعلقة (TSS) ملغ/لتر ، متجاوزة المعابير الوطنية المعمول بها . سمحت المراجعة الجزيئية لمجموعة فرعية من الكونسورتيوم البكتيري الأصلى للمياه المُصرَّفة بتحديد خمس سلالات بكتيرية تنتمي إلى (PP748531) Bacillus tequilensis MSOsk 2024 (PP748531) ... Microbacterium aurantiacum 'Sporosarcina sp. BAAA 2024 (PP748532) '2024 (PP748534) Microbacterium chocolatum BMSO Ms Tr 2024 (BMSO BKBs 2024 (PP748530) .(PP748533)) أظهرت الدراسة المقارنة لعمليات المعالجة أن نظام (Na2S2O8/UV) ، في ظل ظروف مثالية ، كان له مؤشر إزالة اللون CN 0.12 للمياه المُصرَّفة وإزالة اللون بشكل كبير للمحاليل التي تحتوي على اللون .من ناحية أخرى ، أظهر المعالجة الهجينة + (Na2S2O8/UV) الكونسورتيوم البكتيري معدلات إزالة للون بنسبة 99.86٪ و CN 0.02 للمياه المُصَرَّ فة. في نهاية المعالجة ، تم تحديد سلالاتين مختز لتين للكبريت من جنس Bacillus على وجه التحديد Bacillus tequilensis (MSOsk 2024 / MSOsr 2024)، قادرتين على تحلل اللون الأحمر الداكن 167 وخفض الرقم الهيدروجيني لوسط الزراعة إلى 1.9. أظهرت النتائج أن النهج الهجين الذي يجمع بين نظام (Na2S2O8/UV) والمعالجة البيولوجية هو بديل فعال للغاية لمعالجة مياه الصرف الصحى من صناعة النسيج ، مما يساهم في حماية البيئة. بالإضافة إلى ذلك ، من الممكن استخدام المياه المُصرَّفة المعالجة لمعادلة الرقم الهيدروجيني القلوى للمياه المُصرَّفة.

الكلمات المفتاحية: مياه الصرف الصحى ، المعالجة ، اللون ، التلوث ، POA ، البكتيريا ، المعالجة البيولوجية.

Liste des figures

- Figure 1 : Stratégies de traitement des rejets de colorants textiles
- **Figure 2 :** Désignation des technologies de traitement des eaux usées selon leurs teneurs en DCO
- Figure 3 : Caractéristiques du radical hydroxyle •OH
- Figure 4 : les cinq différentes classes des procédés d'oxydation avancés
- Figure 5: Localisation de la Wilaya de Batna et de complexe industriel EATIT (Google Maps)
- **Figure 6 :** Schéma présentant les principales étapes et les produits utilisés lors du processus de finissage
- Figure 7 : (a) Effluent destiné pour les analyses microbiologiques, (b) Effluent prélevé dans une bouteille en plastique de 5 litres
- Figure 8 : Gamme étalon du phosphore
- Figure 9 : Gamme étalon des nitrites obtenus
- Figure 10: Les six colorants ayant une concentration de 100ppm
- **Figure11**: Acidification et Alcalinisation du colorant Rouge sombre 167(Dark Red) sélectionné
- Figure 12 : Gamme étalon du colorant sélectionné Rouge sombre 167
- Figure 13 : Courbe d'étalonnage du Colorant Rouge sombre 167 (Dark Red)
- Figure 14 : Spectre à évolution UV-VIS du l'effluent brut
- Figure 15: Effet du pH sur l'absorbance du colorant rouge sombre 167
- **Figure 16 :** Consortium bactérien isolé à partir de l'effluent après incubation à 30°C pendant 72h
- Figure 17: Migration de L'ADNr16S sur gel d'agarose
- Figure 18 : Sporosarcina sp. sous microscope après coloration de Gram, objectif x100
- Figure 19 : Arbre phylogénétique de Microbacterium aurantiacum strain BMSO BkBs 2024

- **Figure 20 :** Arbre phylogénétique de *Bacillus tequilensis* strain MSOsk2024 (in : firmicutes)
- Figure 21 : Arbre phylogénétique de Sporosarcina sp. strain BAAA 2024
- Figure 22 : Arbre phylogénétique de Microbacterium chocolatum strain BMSO MsTr 2024
- **Figure 23** : Arbre phylogénétique de *Bacillus tequilensis* strain MSOsr2024 (in : firmicutes)
- Figure 24 : Arbre phylogénétique regroupant les cinq souches isolées
- Figure 25 : Effluent avant et après traitement par procédé d'oxydation avancé (Na₂S₂O₈/UV)
- **Figure 26 :** Colorant rouge sombre 167 avant et après traitement par procédé d'oxydation avancé (Na₂S₂O₈/UV) à quatre concentrations
- Figure 27: Dégradation du colorant rouge sombre 167 à différentes concentrations par le système chimique $Na_2S_2O_8/UV$, ($[Na_2S_2O_8]_0 = 0.2 \text{ M}$; irradiation solaire)
- Figure 28 : Biodégradation de l'effluent et du rouge sombre 167 (POA+biologique)
- **Figure 29 :** Dégradation du colorant Rouge sombre a différentes concentrations par le système hybride $(Na_2S_2O_8/UV+$ biodégradation par bactérie $([Na_2S_2O_8]_0=0.2~M$; irradiation solaire)
- Figure 30 : Suivi de l'indice de couleur pour les deux systèmes utilisés
- Figure 31 : Évolution de la diminution du pH sur 16 jours
- Figure 32 : Échelle de Couleurs Indiquant le pH acide de l'échantillon à la fin d'incubation
- Figure 33 : Réduction des sulfates en conditions aérobies
- Figure 34 : Souches obtenues après traitement « Bacillus tequilensis»
- Figure 35 : Absence de croissance des deux souches bactériennes du genre Bacillus à pH 3
- **Figure 35 :** Comparaison du taux d'élimination du colorant rouge sombre par les différents systèmes

Liste des tableaux

Tableau 1 : Potentiel d'oxydation pour différents oxydants dans l'eau en Milieu acide

Tableau 2 : Exemples de microorganismes utilisés dans la biodégradation des colorants de textile

Tableau 3 : Matériel et méthodes d'analyse pour chaque paramètre

Tableau 4 : Facteur de conversion de la DBO5 en fonction du volume de pris

Tableau 5 : Conditions de la PCR pour l'amplification

Tableau 6 : Conditions de la PCR pour le séquençage

Tableau 7 : Caractéristiques physico-chimique de l'effluent

Tableau 8 : Dénombrement des colonies

Tableau 9 : Souches isolées à partir de l'effluent à pH = 7, 8,5, 10 et 11

Tableau 10 : Espèces bactériennes isolées et identifiées à partir de l'effluent selon les résultats de l'analyse ADNr16s

Liste des abréviations

• OH: Radicale Hydroxyle

CN: Color Number

DBO5: Demande Biologique en Oxygène (5 jours)

DCO: Demande Chimique en Oxygène

DO: Densité Optique

EATIT : Entreprise Algerienne des Textiles Industriels et Technique

GN: Gélose Nutritive

MSM: Minimum Salt Medium

pH: potentiel Hydrogène

POAs: Procédés d'Oxydation Avancées

ppm: Partie Par Million

LC50 : Concentration létale de 50 % de population

rpm: rotation par minute

TDS: Total des Solide Dissous

UV: Ultra-Violet

| Remerciements | |
|--------------------------------------------------------------|----|
| Résumé | |
| Abstract | |
| ملخص | |
| Liste des figures | |
| Liste des tableaux | |
| Liste des abréviations | |
| Table des matières | |
| Introduction | 1 |
| Synthèse Bibliographique | |
| Chapitre I : Industrie de textile | 3 |
| I.1. Généralités | 4 |
| I.2. Industrie de textile | 5 |
| I.3. Industrie de textile en Algérie | 6 |
| Chapitre II : Pollution Industrielle | 7 |
| II.1. Généralités | 7 |
| II.2. Définition de la pollution industrielle | 7 |
| II.3. Pollution industrielle en Algérie | 7 |
| II.4. Effet de la pollution industrielle sur les écosystèmes | 9 |
| II.4.1. Types de pollution | 9 |
| II.4.1.1. Pollution de l'air. | 9 |
| II.4.1.2. Pollution du sol | 9 |
| II.4.1.3. Pollution de l'eau | 10 |
| II.4.1.4. Pollution acoustique ou sonore | 10 |
| II.4.2. Pollution par les colorants | 10 |
| II.4.2.1. Historique des colorants synthétiques | 10 |
| II.4.2.2. Définition du colorant | 11 |

| | II.4.2.3. Nomenclature et classification des colorants | 12 |
|-----|----------------------------------------------------------------------------------------|------------|
|] | II.4.3. Évaluation de la toxicité des colorants | 17 |
|] | II.4.4. Impact écotoxicologique des colorants | 17 |
| Cł | hapitre III : Stratégies appliquées pour le traitement des eaux usées sortants de l'in | dustrie de |
| tez | xtile | 20 |
| Ш | I.1. Généralités | 20 |
| Ш | I.2. Méthodes de traitement des eaux usées | 21 |
| | III.2.1. Procédés d'oxydation avancée | 21 |
| | III.2.1.1. Utilisation des procédés d'oxydations avancée | 23 |
| | III.2.1.2. Types de procédés d'oxydation avancée | 25 |
| | III.2.2. Bioremédiation (processus de traitement biologique) | 27 |
| | III.2.2.1. Généralités | 27 |
| | III.2.2.2. Décoloration par les bactéries | 30 |
| III | I.2.3. Procédés des traitements hybride | 31 |
| | | |
| | Matériel et méthodes | |
| | Premiere partie : Analyse et caractérisation physicochimique de l'effluent et du ca | olorant |
| 1. | Industrie textile EATIT Batna | 33 |
| | 1.1. Description de la zone d'étude | 33 |
| | 1.2. Fonctionnement de l'industrie de textile EATIT | 33 |
| 2. | Échantillonnage | 36 |
| 3. | Paramètres physico-chimiques de l'effluent | 38 |
| | 3.1.Détermination de la température | 38 |
| | 3.2.Détermination du pH | 38 |
| | 3.3. Détermination de la conductivité électrique (CE) | 38 |
| | 3.4. Détermination de la mesure totale des solides dissous (TDS) et la salinité | 38 |
| | 3.5. Détermination de la demande biochimique en oxygène DBO5 | 38 |

| • | 3.6. Dosage des ortho phosphates | 39 |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| | 3.7. Dosage des nitrates | 40 |
| | 3.8. Dosage des nitrites | 41 |
| • | 3.9. Détermination de l'Azote Kjeldahl (NK) | 41 |
| | 3.10. Détermination de la matière en suspension | 42 |
| 3 | 3.11. Étude spectrale de l'effluent et la mesure des absorbances (Spectre à évolution | UV- |
| Vis | sible) | 43 |
| 3 | 3.12. Mesure de la demande chimique en oxygène (DCO) | 43 |
| 4. <i>A</i> | Analyse du colorant | 43 |
| 4. | .1. Mesure du pH | 43 |
| 4. | .2. Étude du comportement des colorants en fonction du pH | 44 |
| 4. | .3. Choix du Colorant | 44 |
| 4. | .4. Préparation de la courbe d'étalonnage du colorant Rouge sombre 167 (Dark | |
| | (D) | 45 |
| | Deuxième partie : Isolement et identification moléculaire des souches bactérienne | :S |
| 1 | Isolement et repiquage des souches bactériennes | 47 |
| 2 | Extraction de l'ADN bactérien | 47 |
| 3 | Mesure de la concentration et la pureté de l'ADN Génomique | 48 |
| 4 | Amplification de l'ADN (PCR) | 48 |
| 5 | Purification des amplifiants PCR. | 49 |
| 6 | Vérification des amplifiants par Électrophorèse | 50 |
| 7 | Séquençage | 50 |
| 8 | Correction et reconstitution des séquences. | 51 |
| 9 | Recherche de similarités. | 51 |
| 10 | Construction d'arbres phylogénétiques | 51 |

| | Troisième partie : suivie de la dégradation de l'effluent et du colorant |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. | Traitement par le procédé d'oxydation avancée (POA) (Na2S2O8/UV)52 |
| | 1.1. Choix de du substrat52 |
| | 1.2. Milieux de réaction |
| 2. | Traitement hybride (POA/biologique)53 |
| 3. | Isolement et identification de souches microbiennes pouvant utiliser le colorant |
| | commeseule source de carbone et d'énergie54 |
| | Résultats et discussion |
| | Première partie : Analyse et caractérisation physicochimique de l'effluent et du colorant |
| 1. | Paramètres physicochimiques de l'effluent avant traitement |
| 2. | Évaluation spectrale de l'effluent |
| 3. | Analyse du colorant61 |
| | • Choix du colorant61 |
| | • Comportement du rouge sombre 167 (Dark Red 167) en fonction du pH61 |
| | Deuxième partie : Identification moléculaire des souches bactériennes |
| 1. | Isolement et purification des souches bactériennes avant traitement63 |
| 2. | La charge bactérienne63 |
| 3. | Identification moléculaire65 |
| | • Construction d'arbres phylogénétiques71 |
| | Troisième partie : Suivie de la dégradation de l'effluent et du colorant |
| 1. | Traitement par le Procédé d'Oxydation Avancée (POA) (Na2S2O8/UV)78 |
| | • Oxydation par le persulfate (Na ₂ S ₂ O ₈) |
| | • Activation thermique du persulfate78 |
| 2. | Traitement hybride (POA/biologique)83 |
| | • Indice de couleur de la dégradation de l'effluent (Color Number (CN)85 |

| • Evolution du pH8 | 6 |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| • Réduction de sulfate par bactéries sulfitoréductrices | 7 |
| 3. Souches microbiennes montrent un potentiel de décoloration de l'effluent et du | |
| colorant (après traitement) | 39 |
| 4. Efficacité de la combinaison des procédés physicochimiques et biologiques pour | |
| la dégradation des composés organiques | 90 |
| Conclusion Générale9 | 2 |
| Références Bibliographiques | |
| Annexes | |

Introduction

La pollution des écosystèmes aquatiques par les rejets industriels, constitue une menace pour l'environnement. Parmi les secteurs industriels les plus impactants, l'industrie de textile se distingue par sa consommation massive d'eau et son rejet important d'effluents non traités. En effet, selon **Selvarai (2019)**, la production de 1kg de textile nécessite environ 200 litres d'eau potable, une quantité significative qui met en exergue l'ampleur du problème.

Ces effluents générés de ces industries contiennent une variété de substances nocives, notamment des colorants synthétiques, des produits chimiques auxiliaires, et des métaux lourds, qui, lorsqu'ils sont déversés dans les milieux aquatiques sans traitement adéquat, perturbent drastiquement les écosystèmes aquatiques. Ces polluants sont souvent difficilement biodégradables, conduisant ainsi à leur accumulation dans le cycle de l'eau en l'absence de systèmes de traitement adéquat (Hammami, 2008), ce qui provoque de nombreuses perturbations pour la faune aquatique et la flore riveraine. Ils sont connus pour leurs effets cancérigènes et mutagènes, ainsi que pour leur capacité à perturber les systèmes hormonaux des organismes vivants (perturbateurs endocriniens), représentant ainsi un risque majeur pour la santé publique (Auriol et al., 2007).

Parmi les contaminants les plus préoccupants issus de l'industrie textile, les colorants posent un sérieux problème environnemental. Même à de faibles concentrations (inférieures à 1 ppm pour certains colorants), leur présence dans l'eau, affecte la transparence et la capacité des lacs, des rivières et des fleuves à solubiliser les gaz. En effet, les colorants présentent donc un danger majeur sur l'environnement. Il est donc nécessaire de développer des technologies de traitement efficaces, et respectueuses de l'environnement et économiquement réalisables (Teklit et Kiros, 2020). Selon Arslan (2001), les effluents des industries textiles, caractérisés par des colorations prononcées, des variations de pH importantes, une forte demande chimique en oxygène (DCO) et une biotoxicité élevée envers les bactéries, posent toujours des défis majeurs en termes de traitement adéquat.

Pour pallier aux contaminants réfractaires dans l'environnement, diverses stratégies de traitement biologiques, physiques et chimiques ont été développées, qui sont efficaces et écologiques, parmi lesquelles l'application des procédés d'oxydation avancée (POA), occupant une place importante, étant bien maîtrisés à l'échelle du laboratoire et appliqués à l'échelle pilote dans l'industrie. Ces technologies sont basées sur la production d'entités radicalaires, notamment, les radicaux hydroxyles (OH), des agents oxydants puissants, qui offrent une approche prometteuse pour le traitement des eaux usées industrielles (Suty et al., 2003).

Cependant, le coût élevé d'exploitation des POA constitue un défi majeur à leur utilisation à grande échelle (**Teklit et Kiros, 2020**). Néanmoins, la combinaison du processus biologique avec les POA favorise une dégradation durable des polluants toxiques dans les eaux usées en exploitant des microorganismes indigènes présents dans divers effluents industriels. Cette approche offre ainsi une dégradation biologique, économique et respectueuse de l'environnement, garantissant une élimination complète de ces contaminants (**Babu** *et al.*, **2023**).

- ➤ L'objectif principal de la présente étude est de mettre en évidence l'efficacité d'un procédé hybride combinant les procédés d'oxydation avancé (POA) utilisant le système persulfate de sodium (Na₂S₂O₈/UV) avec un traitement biologique impliquant des bactéries isolées à partir des effluents de l'industrie de textile de la wilaya de Batna. Ce procédé vise la dégradation d'un colorant spécifique (Rouge sombre 167) présent dans ces effluents, tout en traitant l'effluent lui-même.
- > Détermination des caractéristiques physico-chimiques et bactériologiques de l'effluent.
- Isolement et identification moléculaire du consortium bactérien indigène de l'effluent Suivi du traitement de l'effluent et de l'élimination du Rouge sombre 167 par le procédé hybride, ainsi qu'une évaluation de son efficacité.

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Industrie de textile

I.1. Généralités

Des milliers d'usines de textile sont réparties à travers le monde, ces derniers représentent l'un des piliers fondamentaux de l'économie mondiale. Elles jouent un rôle essentiel dans la fabrication de divers produits textiles (coton, lin, polyester, etc.), qui sont les matières premières utilisées pour créer les vêtements que nous portons aujourd'hui (Leal Filho *et al.*, 2019).

Cependant, le marché mondial du textile est prévu atteindre une valeur de 748 milliards USD en 2024. Cette industrie affiche une croissance continue, dominée par des acteurs majeurs tels que la Chine, l'Union européenne, les États-Unis et l'Inde. La Chine se positionne comme le principal producteur et exportateur mondial de textiles bruts et de vêtements (Sarkar, 2017; World Trade Organization, 2020). Parallèlement, les États-Unis occupent la première place en tant que producteurs et exportateurs de coton brut, tout en étant également les principaux importateurs de textiles et de vêtements bruts (Desore et Narula, 2018; Mordor Intelligence, 2024).

La pandémie de COVID-19 a considérablement affecté l'industrie textile en 2020. L'Asie, en tant que l'un des plus grands marchés mondiaux, a été particulièrement impactée par les confinements prolongés et la diminution de la demande internationale pour ses produits textiles (**Puig** *et al.*, 2022).

En revanche, l'industrie textile est classée comme la deuxième industrie la plus polluante au monde (Alice, 2018). En voulant intensifier la production, le secteur textile néglige souvent la qualité de certains matériaux, ce qui le rend responsable d'environ 20 % de la pollution mondiale d'eau potable, à cause des teintures et d'autres produits de finition (Asim, 2017).

Ainsi, les vêtements synthétiques sont responsables de 35 % des microplastiques primaires rejetés dans l'environnement. Une seule lessive de vêtements en polyester peut libérer 700 000 fibres microplastiques, qui peuvent ensuite se retrouver dans la chaîne alimentaire. L'utilisation des métaux lourds pour rendre les vêtements brillants, pose également de graves problèmes de santé, car ces métaux affectent l'organisme. De plus, les substances utilisées pour la fabrication des textiles technologiques ou connectés sont aussi néfastes pour les organismes vivants (Europarl, 2020).

La production mondiale de colorants synthétique est d'environ 7×10^7 tonnes/an avec plus de 10,000 tonnes de ces colorants sont utilisées par les industries de textiles, dont environ 10 % sont perdus au cours du processus de teinture, qui sont ensuite rejetés dans l'environnement (Chandanshive *et al.*, 2020). Il génère d'importantes eaux usées dont 95 % proviennent du processus de coloration et 5 % du processus de rinçage (Sirait, 2018), accompagnées de déchets solides et gazeux (Khan et Malik 2018; Ning *et al.*, 2015; Rawat *et al.*, 2016).

Les eaux usées textiles contiennent un mélange complexe de produits chimiques (Choi et al., 2011), de colorants et de réactifs, présentant une faible biodégradabilité (Wu et al., 2016), et une salinité élevée. Le rejet de ces eaux usées textiles dans l'environnement est dangereux en raison de leur potentiel cancérigène, mutagène ou tératogène pour l'homme (Aquino et al., 2014; Khatri et al., 2018).

Le rejet des eaux usées textiles dans les masses d'eau empêche la pénétration de la lumière du soleil, qui est essentielle pour la photosynthèse des plantes et des animaux aquatiques. L'effet le plus dangereux est l'interférence avec le mécanisme de transport de l'oxygène entre l'air et l'eau, entravant ainsi le processus d'auto-épuration de l'eau. Les colorants dispersés à structure aromatique complexe ne sont pas complètement éliminés lors du traitement du textile en raison de leur potentiel antioxydant, de leur capacité à chélater les métaux et de leur faible solubilité dans l'eau (Marouani, 2010; Savin et Butnaru, 2008).

I.2. Industrie de textile

L'industrie textile englobe toutes les activités économiques liées à la production de fils, de fibres, de tissus et d'autres matériaux utilisés pour fabriquer des produits dérivés. Elle inclut également la fabrication de vêtements, de chaussures et d'autres articles portés au quotidien. En résumé, elle couvre l'ensemble du processus, de la conception à la commercialisation des textiles, y compris l'habillement. Cette industrie est souvent divisée en plusieurs segments, notamment la production de fibres (naturelles et synthétiques), le filage, le tissage ou le tricotage, la teinture et l'ennoblissement des tissus, ainsi que la fabrication de produits finis (Britannica, 1999).

I.3. Industrie de textile en Algérie

En Algérie, la première société textile, nommée **SONAC**, a été créée en 1966. Après son ouverture, plusieurs industries ont été créées, parmi lesquelles figure l'industrie de textile **EATIT**, située dans la zone industrielle de Kechida, dans la Wilaya de Batna. Actuellement, EATIT est leader dans le domaine du textile en Algérie. Elle a été inaugurée en 1979, une grande partie de ce complexe industriel est dédiée à la fabrication de l'habillement militaire à l'échelle nationale, produisant cinq types d'articles : pour l'armée de terre, la garde républicaines, les parachutistes du nord, les parachutistes du sud et les fusiliers marins.

Chapitre II: Pollution Industrielle

II.1. Généralités

Le secteur industriel représente environ 17% des émissions mondiales de dioxyde de carbone (CO₂) liées à l'énergie.

L'analyse des émissions de carbone révèle que les trois nations les plus industrialisées du monde, à savoir la Chine, les États-Unis et l'Inde, affichent les bilans carbone les plus significatifs. De même, en Europe, l'Allemagne se distingue en tant que principal émetteur de CO₂, une tendance qui semble s'accentuer selon les données de **EDGAR (2022).**

L'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) estime que près de 80% des eaux de surface dans les pays en développement sont polluées par les activités industrielles, notamment les rejets de produits chimiques et les déchets toxiques.

II.2. Définition de la pollution industrielle

La pollution industrielle signifie qu'une quantité très significative de déchets est rejetée par diverses catégories d'installations industrielles. Les déchets industriels ou polluants sont générés par les processus de fabrication ou industriels (Britannica, 2024). Avec l'accroissement de la production, les déchets industriels solides et liquides s'écoulent dans les cours d'eau et sont considérés comme les principales sources de contamination qui perturbent le biote marin et dégradent la qualité de l'eau (Sinha *et al.*, 2016). Elles peuvent être révélées en calculant des paramètres tels que le pH, l'alcalinité, la Demande Biochimique en Oxygène (DBO), la Demande Chimique en Oxygène (DCO), le Total des solides dissous (TDS), la matière solide totale (TSS), l'oxygène dissous (OD), les substances organiques et inorganiques (Moran, 2018).

II.3. Pollution industrielle en Algérie

L'Algérie est confrontée à d'importants défis liés à la pollution industrielle. A ce jour, le processus d'industrialisation s'est déroulé sans tenir compte des précautions environnementales nécessaires. Les rejets d'eaux industrielles non traitées, les émissions de gaz et la production de déchets dangereux, dont la gestion reste à améliorer, constituent autant de sources majeures de problèmes environnementaux dans le pays.

Dans ce contexte, l'impact environnemental résultant de l'activité industrielle apparaît alors préoccupant : rejets sans traitement, pollution atmosphérique, production de déchets industriels toxiques ou dangereux (Bouabdesselam *et al.*, 2005).

Selon un rapport publié en 2000 par la Fédération des industries de textile, la consommation de pigments et de colorants dans ce secteur en Algérie dépasse les 4012 tonnes annuellement, tandis que la consommation de produits chimiques auxiliaires atteint 16356 tonnes/an. L'alimentation en eau des unités de textile, impliquées dans les activités de teintures et d'impression, est assurée à la fois par des réseaux de distribution publics, avec un total de 4 808 700 m³/an et à partir de puits ou de forages privés, avec un total de 763 000 m³/an.

Selon le rapport de **Bouabdesselam** *et al.* (2005), la quantité de déchets industriels produite en Algérie en 2003 a dépassé les 1 240 000 tonnes par an (aucune donnée récente sur la production actuelle n'est disponible), dont 40 % sont qualifiés de toxiques et dangereux. Un exemple frappant est la zone industrielle d'Es-Sénia à Oran, générant seule 10 000 tonnes par an de déchets solides et liquides. Les eaux résiduaires industrielles, fortement chargées en produits toxiques comme les sels de métaux lourds, les colorants, les hydrocarbures et les solvants chlorés, sont souvent déversées directement dans l'environnement, tels que la mer ou les cours d'eau.

Cependant, une volonté affirmée des autorités locales de résoudre ces problèmes se manifeste désormais, comme en témoigne la construction prévue d'une déchetterie industrielle à Blida, financée par une entreprise Suisse. Cette installation, couvrant une superficie de 190 hectares, vise à valoriser les déchets solides industriels. De même, un projet est en cours pour la création d'un centre d'enfouissement technique à Oran, destiné à traiter environ 200 000 tonnes de déchets solides par an pour le groupement de la ville. Les rejets industriels ont un impact significatif sur la pollution des cours d'eau et des réservoirs. Une récente carte thématique publiée par l'Agence régionale des ressources hydriques (ANRH), basée sur les données recueillies de près de cent stations de mesure à travers le pays, révèle les constats suivants :

- Dans la région Ouest, des portions importantes des eaux des oueds Mouillah, Tafna, Mina, Chéllif ainsi que du barrage de Béni Bahdel sont jugées impropres même à des fins d'irrigation.
- Dans la région Centre, l'oued El Harrech dans son intégralité, une partie du Mazafran, ainsi que les barrages de Hamiz et Keddara sont également concernés. Dans la région Est, des portions substantielles des oueds Rhumel, Kebir-Rhumel, Seybouse ainsi que les barrages de Cheffia et Zardeza sont également dans cette situation.

Les installations de stations d'épuration des eaux usées sont quasiment absentes au sein des entreprises industrielles, et lorsqu'elles existent, elles sont souvent hors service en raison de problèmes de maintenance.

II.4. Effet de la pollution industrielle sur les écosystèmes

L'impact de la pollution industrielle sur les écosystèmes est un sujet complexe, diversifié et d'une importance environnementale majeure, affectant divers aspects tels que la biodiversité, la qualité de l'air, de l'eau et du sol.

II.4.1. Types de pollution

II.4.1.1. Pollution de l'air

La pollution de l'air représente l'une des préoccupations environnementales les plus importantes de notre époque, principalement aux émissions de gaz polluants provenant de diverses sources. En particulier, le monoxyde de carbone qui contribue progressivement à la destruction de la couche d'ozone.

De plus, les émissions atmosphériques des usines industrielles contribuent à la pollution de l'air en augmentant les concentrations de polluants tels que le dioxyde de soufre (ce gaz est non seulement nocif pour les populations locales mais également pour l'environnement; évacués dans l'air, ils retombent sur le sol sous forme de pluie acide), les oxydes d'azote, les particules fines et les composés organiques volatils (COV). Ces polluants peuvent entraîner des problèmes respiratoires chez les êtres humains et peut avoir des effets dévastateurs sur la faune et la flore (Bhatia, 2017).

II.4.1.2. Pollution du sol

La pollution du sol est un problème environnemental majeur avec des répercussions néfastes sur la biodiversité, la santé humaine et l'agriculture. Elle est principalement causée par les déchets industriels et toxiques, et les pratiques agricoles non durables.

Les déchets industriels toxiques, notamment les produits chimiques, les métaux lourds et les hydrocarbures, peuvent contaminer le sol lorsqu'ils sont déversés ou mal gérés. Ces substances toxiques ont la capacité de s'infiltrer dans le sol, polluant ainsi les nappes phréatiques et affectant la croissance des plantes et les organismes du sol et par conséquent la qualité des récoltes en induisant un stress oxydatif, par la diminution de la teneur en protéines, un disfonctionnement de la photosynthèse et les taux d'assimilation du CO₂,

perturbant ainsi les chaînes alimentaires, en réduisant la biodiversité locale et affectant l'équilibre des écosystèmes (Mishra et al., 2016).

II.4.1.3. Pollution de l'eau

Les rejets d'eaux usées industrielles, contenant des produits chimiques et des polluants organiques susceptibles de contaminer les cours d'eau et les plans d'eau, représentent un problème majeur qui affecte les écosystèmes aquatiques et la santé humaine. Les déversements de produits chimiques dans les rivières, les lacs et les océans peuvent nuire la vie aquatique y compris les phytoplanctons, les zooplanctons et même les bactéries, compromettant ainsi la qualité de l'eau potable pour les humains et la faune sauvage (Verliefde et al., 2007 ; Caracciolo et al., 2012).

II.4.1.4. Pollution acoustique ou sonore

La pollution acoustique, moins connue, se manifeste principalement dans les zones industrielles où l'activité est intense. Elle est causée principalement par le bruit des machines industrielles, des scieries, etc. Cette forme de pollution affecte particulièrement les résidents des zones industrielles ainsi que la faune locale (Kuşku et al., 2018; Hiral et al., 2017).

II.4.2. Pollution par les colorants

II.4.2.1. Historique des colorants synthétiques

L'industrie des colorants synthétiques est émergée en 1856 lorsque le chimiste anglais W. H. Perkin, dans une tentative de synthèse de la quinine artificielle pour soigner le Paludisme, a obtenu la première matière colorante synthétique qu'il a nommé "mauve" (aniline, colorant basique). Perkin a breveté son invention et a mis en place une chaîne de production.

De nouveaux colorants synthétiques ont ainsi fait leur apparition sur le marché, ce processus étant encouragé par la découverte de la structure moléculaire du benzène en 1865 par Kékulé. En conséquence, au début du XXème siècle, les colorants synthétiques avaient presque totalement remplacés les colorants naturels (EncyclopédieUniversalis, 2003).

La production mondiale des colorants synthétiques était estimée à 700 000 tonnes/an en 1991 (aucune donnée récente n'est disponible) (Welham, 2000). On estime qu'il existe environ 8000 colorants synthétiques chimiquement différents, répertoriés dans le Colour Index sous 40000 dénominations commerciales. Chaque colorant y est classé sous un nom

de code indiquant sa classe, sa nuance ainsi qu'un numéro d'ordre (par exemple : CI Acid Orange 7) (Zollinger, 1991).

II.4.2.2. Définition du colorant

Un colorant est défini comme étant un produit capable de teindre une substance d'une manière durable. Les colorants furent pendant très longtemps, extraits des milieux naturels tels que les plantes, les animaux et les minéraux.

Cependant, le coût d'obtention est souvent très élevé avec des procédés d'application fastidieux et peu reproductibles. L'évolution de l'industrie des colorants a été étroitement liée au développement de la teinture synthétique et de la chimie en général. Un colorant proprement dit, est une substance qui possède deux propriétés spécifiques, indépendantes l'une de l'autre : la couleur et l'aptitude à être fixée sur un support tel qu'un textile (Perrin et Scharef, 1995).

Selon leur application et leur utilisation, les colorants synthétiques doivent répondre à plusieurs critères afin de garantir la longévité des produits colorés sur lesquels ils sont appliqués : résistance à l'abrasion, stabilité photolytique des couleurs, résistance à l'oxydation chimique (notamment par les détergents) et aux attaques microbiennes (Pagga et Brown, 1986 ; Zawlotzki et Guivarch, 2004).

Les colorants organiques, particulièrement ceux ayant un caractère acide ou basique prononcé, ont une affinité accrue pour les fibres, ce qui rend leur persistance dans l'environnement et leur biodégradation moins favorables (Capon et al., 1999).

Les matières colorantes se caractérisent par leur capacité d'absorber les rayonnements lumineux dans le spectre visible (de 380 à 750 nm). La transformation de la lumière blanche en lumière colorée par réflexion sur un corps, ou par transmission ou diffusion, résulte de l'absorption sélective d'énergie par certains groupes d'atomes appelés groupes chromophores. La molécule colorante est un chromogène (**Pagga et Brown**, 1986). Plus le groupement chromophore donne facilement un électron, plus la couleur est intense.

II.4.2.3. Nomenclature et classification des colorants

Les colorants synthétiques sont classés selon leur structure chimique et leur méthode d'application sur différents substrats (textiles, papier, cuir, matières plastiques, etc.) (Shindhal, 2021).

II.4.2.3.1. Classification technologique (appellation usuelle)

Les classifications techniques permettent aux utilisateurs de comprendre comment les colorants sont appliqués, leurs domaines d'utilisation et leurs propriétés (telles que la solubilité, l'affinité pour certains types de fibres ou de matériaux et les propriétés de fixation, etc.). Il est souvent difficile de connaître la composition chimique d'un colorant car elle est souvent tenue secrète. Cette classification comprend trois éléments :

- Nom commun de la classe d'application
- Couleur
- Le numéro chronologique enregistré dans le "Color Index"

II.4.2.3.2. Classification technique

Les colorants couramment utilisés dans l'industrie textile, contiennent généralement des groupes acides sulfoniques, ce qui leur confèrent une hydrosolubilité appropriée et leur permet de se lier ioniquement aux sites chargés du réseau polymérique du tissu (**Dore**, 1989). Les colorants peuvent être classer en deux catégories suivant leur origine et synthèse :

> Colorants naturels

Ils sont largement répandus, principalement dans les plantes (bois, racines, graines, fleurs et fruits), ainsi que dans les micro-organismes et le corps des animaux. Les colorants naturels peuvent être présents à l'état libre ou liés à des glucides ou des protéines, par exemple : la garance, la cochenille, l'indigo, et le pourpre qui sont couramment utilisés.

Toutefois, leur importance économique dans l'industrie a considérablement diminué en raison de leur coût élevé. Ils ne sont utilisés que dans l'industrie textile, du cuir et du papier que pour des traitements spéciaux. Ils restent, en revanche très utilisés dans les produits alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques et sont soumis à des réglementations plus strictes.

> Colorants synthétiques

Les colorants synthétiques dominent aujourd'hui le marché, en raison de leur capacité à adapter précisément leurs propriétés à leur utilisation. Ces colorants sont principalement synthétisés à partir des produits pétroliers, notamment du benzène et de ses dérivés (toluène, naphtalène, xylène et anthracène) (Simont, 1982). Leur utilisation est de plus en plus répandue dans les industries de la coloration et des textiles en raison de leur

synthèse aisée, de leur production rapide et de la diversité de leurs couleurs par rapport aux colorants naturels (Griffiths, 1984).

Ainsi, chaque colorant est désigné par sa couleur, sa marque commerciale et un code permettant d'indiquer une nuance (par exemple : R = red; Y = yellow; G = green; B = blue; 2B = more blue) ou une qualité (L = résistant à la lumière) (**Zollinger**, 1987).

II.4.2.3.3. Classification chimique

La classification chimique dépend de la structure chimique du colorant, en particulier de la nature de son groupe chromophore.

> Les colorants azoïques

Les colorants azoïques représentent la catégorie la plus importante (60 à 70 %) de l'ensemble de l'industrie des colorants synthétiques en raison de leur polyvalence, de leur rentabilité, de leur facilité d'utilisation, de leur grande stabilité et de leur haute intensité de couleur (Li *et al.*, 2019 ; Zhang *et al.*, 2019).

Ces colorants possèdent une structure chromophore importante (-N = N-), assurant la solubilité dans l'eau et la fixation sur la fibre (Singh *et al.*, 2015; Louati *et al.*, 2020). Les colorants azoïques sont divisés en trois catégories (monodyes, didyes et polycolorants) en fonction du nombre de groupes azoïques dans leur structure.

Ces groupes sont attachés à des composés aromatiques ou hétérocycliques d'un côté et à des groupes hétérocycliques insaturés, carboxyle, sulfonyle ou aliphatiques de l'autre côté (Al-Tohamy et al., 2020 ; Liu et al., 2020).

> Les colorants indigoïdes

Ils tirent leur appellation de l'Indigo dont ils dérivent. Ainsi, les homologues sélénié, soufré et oxygéné du Bleu Indigo provoquent d'importants effets hypochromes avec des coloris pouvant aller de l'orange au turquoise. Un colorant indigoïde est celui dont la coloration est une variante de l'indigo (bleu-violet). Les colorants indigoïdes sont utilisés comme colorants textiles, comme additifs en produits pharmaceutiques en confiserie, ainsi que dans les diagnostics médecine (Moncada et al., 1991). Le plus important des colorants indigoïdes est l'indigo lui-même.

> Les colorants xanthèniques

Ce sont des composés qui constituent les dérivés de la fluorescéine. Ils sont dotés d'une intense de fluorescence élevée. Peu utilisés en tant que teinture, leur faculté de marqueurs lors d'accidents maritimes ou de traceurs d'écoulement pour des rivières souterraines, est malgré tout bien établie. Ils sont aussi utilisés comme colorants alimentaires, cosmétiques, textiles et en impression (Colin, 1970; Nestmann et al., 1979).

> Les phtalocyanines

Ils ont une structure complexe basée sur l'atome central de cuivre. Les colorants de ce groupe sont obtenus par réaction du dicyanobenzène en présence d'un halogénure métallique (Cu, Ni, Co, Pt, etc.). Parmi les phtalocyanines, le colorant le plus utilisé est la phtalocyanine de cuivre, qui est le plus stable. Les applications les plus importantes concernent le domaine des pigments (**Stolte et Vieth, 2001**).

Les colorants du diphénylamine et du triphénylméthane

Les colorants triphénylméthanes dérivent du triphénylméthane, qui est un hydrocarbure possédant trois cycles phényle liés à un carbone central. On retrouve cette structure de base dans un grand nombre de composés organiques colorés. Les colorants triphénylméthanes et leurs dérivés hétérocycliques constituent la plus ancienne classe de colorants synthétiques (Ghaly et al., 2014; Cao et al., 2019).

> Les colorants nitrés et nitrosés

Ils sont actuellement encore utilisés, du fait de leur prix très modéré lié à la simplicité de leur structure moléculaire caractérisée par la présence d'un groupe nitro (-NO₂) en position ortho d'un groupement électro-donneur (hydroxyle ou groupes aminés).

> Colorants au soufre

Ce sont des colorants de haut poids moléculaire, obtenus par la sulfuration de combinaisons organiques. Ils sont transformés en leuco dérivé sodique par réduction à l'aide de sulfure de sodium. Les colorations obtenues ont une bonne résistance à la lumière ainsi qu'à l'eau ; par contre, ces colorants ne sont pas résistants au chlore (Nguyen et Juang, 2014 ; Khattab et al., 2020).

> Les colorants d'alambic

Ces colorants donnent une couleur bleue (bleu– ciel intense), stable à la lumière et à différentes actions chimiques et thermiques. Ayant des groupements carbonyles, ils sont insolubles dans l'eau. La forme énolique est appelée leyco-composé et, sous l'action d'une base, se transforme en forme soluble, alors utilisable (Jabs et Drutz, 2001).

II.4.2.3.4. Classification selon le domaine d'application (Classification tinctoriale)

Si la classification chimique présente un intérêt pour le fabricant de matières colorantes, le teinturier préfère souvent une classification basée sur les domaines d'application. Ainsi, il est renseigné sur la solubilité du colorant dans le bain de teinture, son affinité pour les diverses fibres et sur la nature de fixation. Les catégories sont alors définies en fonction des auxochromes, permettant une distinction précise.

> Colorants réactifs

Les colorants réactifs représentent la dernière avancée sur le marché des colorants. Leur utilisation est particulièrement significative dans le domaine de l'habillement (la résistance à la lumière n'est suffisante que pour des applications en ameublement).

Ces colorants referment des groupes chromophores provenant essentiellement des familles azoïques, anthraquinoniques et phtalocyanines.

Leur dénomination est associée à la présence d'une fonction chimique réactive, du type triazinique ou vinylsulfone assurant la formation d'une liaison covalente forte avec les fibres. Étant solubles dans l'eau, ils sont couramment utilisés pour teindre le coton et éventuellement la laine ainsi que les polyamides (**Thakur et Chauhan, 2018**; **Barathi** *et al.*, **2020**).

> Colorants directs

Ce sont des colorants à caractères anioniques (R-SO₃Na); ils sont solubles dans l'eau et utilisés en solution aqueuse. Leur solubilité dans l'eau est réduite par l'addition des sels neutres de métaux alcalins (sulfate de sodium, chlorure de sodium, etc.). Les colorants les moins stables à la lumière sont généralement utilisés pour teindre des tissus de doublures, des fils de laine, des tapis et divers articles bon marché (Burkinshaw et Salihu, 2019).

> Colorants de cuve

Les colorants de cuve sont généralement insolubles dans l'eau. Cependant, en présence d'un réducteur alcalin, le dithionite de sodium (Na₂S₂O₄), un colorant de cuve subit une réaction de réduction pour former son leuco-dérivé, un produit incolore ou blanc soluble dans l'eau.

Ce leuco-dérivé présente une affinité pour certaines fibres textiles telles que le coton, le lin, la laine et la soie. Lorsqu'il est exposé à l'air ou à un agent oxydant, le colorant initial insoluble dans l'eau, est régénéré au sein de la fibre.

Les colorants de cuve appartiennent à la classe des anthraquinones et des indigoïdes, et leurs propriétés de résistance en font l'un des groupes les plus significatifs parmi les colorants synthétiques (Christie, 2007; Vanhulle, 2004). Quelques colorants de cuve sont également utilisés comme pigments dans l'industrie des vernis en raison de leur grande stabilité à la lumière.

> Colorants dispersés

Les colorants dispersés, du fait de leur faible solubilité dans l'eau, ont été spécifiquement développés pour teindre des fibres hydrophobes telles que le polyester. Le processus de coloration (en phase aqueuse) implique une fine dispersion de ces colorant dans l'eau, suivie d'une pénétration entre les chaînes du polymère (jusqu'au cœur de la fibre). Cela nécessite un mécanisme de diffusion à haute pression et haute température (Meireles et al., 2018; Bayramoglu et al., 2020).

La plupart de ces colorants appartiennent à la classe azoïque, mais il existe des anthraquinones et quelques représentants mineurs des colorants nitro, méthine, naphthamide et quinophtalone (Christie, 2007; Hunger, 2003).

Nous allons mettre en lumière, l'un de ces colorants dans les prochains chapitres, car il revêt un intérêt particulier dans le présent travail.

II.4.3. Évaluation de la toxicité des colorants

La mesure de la DBO₅ et de la DCO offre une indication fiable de la pollution organique de l'eau, mais ces méthodes seules ne suffisent pas pour évaluer les effets nocifs potentiels des produits chimiques (APHA, 2005). Les effets toxiques des substances inconnues présentent dans les eaux usées complexes ne peuvent être estimés que par des études de toxicité.

L'étude de toxicité implique l'utilisation de techniques bioanalytiques sur divers organismes pour évaluer les effets nocifs des produits chimiques sur ces eaux (Blaise et al., 1988; Slabbert et Venter, 1999). Cette évaluation de la toxicité est effectuée par des tests de toxicité aiguë et d'enrichissement (Schowanek et al., 2001).

Des tests de toxicité aiguë sont communément menés sur des bactéries (*Escherichia coli*), des poissons (*Poecilia reticulata*), des algues (*Chlorella vulgaris*) et des protozoaires (*Vorticella companula*).

Dans ces essais, l'organisme est cultivé dans l'eau d'essai en présence facteurs essentiels à la croissance. Le nombre d'organismes présents dans l'échantillon avant et après incubation est obtenu comparativement à la concentration de l'effluent nécessaire pour affecter 50% des organismes (**Tonkes** *et al.*, 1999) ce qui donne la valeur LC₅₀. Une LC₅₀ élevée indique une faible toxicité. Les méthodes de bioluminescence et de respirométrie sont parmi les bioessais les plus répandus et les mieux étudiés pour évaluer la toxicité.

La méthode de bioluminescence la plus utilisée est le test Microtox®, qui est basé sur la manipulation de la bactérie marine luminescente naturelle *Vibrio fischeri*. Sa luminescence est inhibée par des substances toxiques (Ren, 2004).

En revanche, les tests respirométriques se basent sur le taux de respiration des boues activées ou des organismes de boues, qui peut être réduit en présence des substances toxiques. Ceci est mesuré par le suivi d'adsorption d'oxygène (OECD, 1984).

II.4.4. Impact écotoxicologique des colorants

Diverses industries telles que l'industrie de textile, la peinture, l'encre, le cuir, le papier, les cosmétiques, et les usines alimentaires utilisent les colorants pour teindre le nylon, la laine, la soie, les plastiques ou les produits biologiques.

Selon Saratale *et al.* (2009), plus de 10 000 colorants et pigments différents sont utilisés dans les industries et environ 0,7 million de tonnes de colorants synthétiques sont produits chaque année dans le monde, et environ 280 000 tonnes de colorants textiles sont rejetées dans la nature chaque année (Jin *et al.*, 2007).

Les colorants textiles et de nombreux polluants industriels sont hautement toxiques et potentiellement cancérigènes (Sharma et al., 2018).

Le caractère xénobiotique et tenace des colorants va à terme affecter la structure et le fonctionnement des écosystèmes (Rawat et al., 2016), entraînant notamment de profonds bouleversements. C'est le cas des colorants métalliques complexes pour le biote aquatique et la santé humaine (Ito et al., 2016).

Les eaux résiduaires de l'industrie de textile présentent généralement des problèmes de couleur, de température relativement élevée et de concentrations élevées de DBO₅, de DCO, de solides en suspension, ainsi que de toxicité et de conductivité élevées. Leurs caractéristiques peuvent être extrêmement variables en raison de la diversité des colorants, de pigments, de produits auxiliaires et de procédés utilisés (Arslan, 2001).

La couleur est souvent le premier indicateur de contamination détectée dans les eaux usées, car une quantité non significative de colorants synthétiques dans l'eau (<1 mg/L) est très visible. Les colorants organiques, en tant que polluants persistants, demeurent longtemps dans l'environnement et affectent les organismes aquatiques vivant dans les zones où les effluents industriels sont déversés (Teklit et Kiros, 2020).

Les colorants organiques absorbent et reflètent la lumière du soleil pénétrant dans cours d'eau. En conséquence, les activités photosynthétiques des plantes aquatiques sont perturbées, affectant ainsi la chaîne trophique. En outre, les colorants rejetés dans les cours d'eau forment une fine couche à la surface de l'eau (Pereira et Alves, 2012), réduisant le niveau d'oxygène dissous dans l'eau ce qui affecte, en outre, les organismes marins vivant dans les eaux réceptrices. De même, ces colorants augmentent également la demande biologique en oxygène (DBO₅) et la demande chimique en oxygène (DCO) de l'eau (Pang et Abdullah, 2013).

L'élimination de la toxicité des colorants organiques présents dans les eaux polluées est l'une des voies majeures pour la protection de l'environnement. Les organismes vivants qui sont exposés à ces colorants risquent des effets délétères sur la santé allant des effets aigus aux effets chroniques, en fonction de la concentration et la durée d'exposition.

Environ 10% des colorants fabriqués dans le monde se retrouvent dans l'environnement via les effluents industriels (O'Neill *et al.*, 1999).

II.4.4.1. Rouge sombre 167 dispersé (Dark Red)

Le colorant dispersé trichromatique rouge sombre 167, largement utilisé dans l'industrie automobile et textile, est capable de se dissoudre dans le CO₂ supercritique, il est utilisé pour teindre les fibres synthétiques. **Desai (1992)** a rapporté sa toxicité sur des poissons aquatiques, avec une LC50 située entre 100 et 500 mg/L.

Selon Chequer et al. (2009), ce colorant possède un potentiel mutagène, et il est responsable de la formation d'adduits à l'ADN chez l'homme. (Il peut avoir des impacts négatifs sur la couleur, l'odeur et le goût des eaux de surface, et présente des risques mutagènes et cancérigènes pour les organismes aquatiques et l'homme (Hsu et Stedeford, 2010).

Chapitre III : Stratégies appliquées pour le traitement des eaux usées sortants de l'industrie de textile

III.1. Généralités

L'impact de la toxicité des colorants sur l'environnement a fait l'objet de nombreuses études. Toutefois, en raison de la diversité des colorants utilisés dans l'industrie, la toxicité des différents types de colorants (mortalité, effet mutagène et cancérigène) a été étudiée par plusieurs travaux de recherche, aussi bien sur des organismes aquatiques (poisson, algue, bactéries, etc.) que sur les mammifères (**Shanmugam** *et al.*, 2023). En effet, le traitement des rejets textiles, nécessite l'établissement de chaînes de traitement pour éliminer les différents polluants, compte tenu de leur composition hétérogène. La première étape consiste à éliminer la pollution insoluble par le biais de prétraitements (dégrillage, dessablage, déshuilage, etc.) et/ou de traitements physiques ou physico-chimiques assurant une séparation solide – liquide (**Bouafia**, 2010). Ces techniques de dépollution sont les plus couramment utilisées dans les industries textiles.

En raison de leur stabilité à la lumière du soleil et de leur résistance aux attaques microbiennes, la majorité des colorants ne sont pas dégradés par les traitements conventionnels. Cela a suscité à un intérêt croissant pour la recherche de traitements réalisables et efficaces visant décolorer et dégrader les eaux usées de teinturerie afin de réduire leur impact sur l'environnement (Li et al., 2023).

Les procédés les plus simples et anciens pour éliminer les polluants réfractaires aux traitements biologiques sont des méthodes physiques de transfert de masse, telles que la floculation et l'adsorption sur charbon actif. Toutefois, ces méthodes se contentent de déplacer la pollution dans les grandes quantités de boues ainsi créées et, qui ne sont pas suffisamment efficaces pour résoudre les problèmes liés à la coloration. De plus, elles s'avèrent inefficaces pour les colorants basiques, et la récupération des colorants de cuve par adsorption sur charbon actif est insignifiante (BenMansour et al., 2012).

C'est pourquoi les méthodes physiques sont remplacées par des procédés chimiques de destruction. Ces procédés reposent sur l'oxydation des colorants par des agents chimiques, qui sont généralement des systèmes générateurs de radicaux libres, en particulier le radical hydroxyle (Hammami, 2012).

L'application de microorganismes pour la biodégradation des colorants synthétiques représente une alternative prometteuse. Diverses méthodes biologiques, tant aérobies qu'anaérobies, y compris l'utilisation des boues activées, de cultures mixtes, de champignons, de bactéries et d'algues, ont été explorées pour la biodégradation des colorants synthétiques (Hammami, 2012).

III.2. Méthodes de traitement des eaux usées

D'après **Hao** *et al.* (2000) et **Dos Santos** *et al.* (2007), les techniques de dépollution se divisent en trois types : physiques, chimiques et biologiques

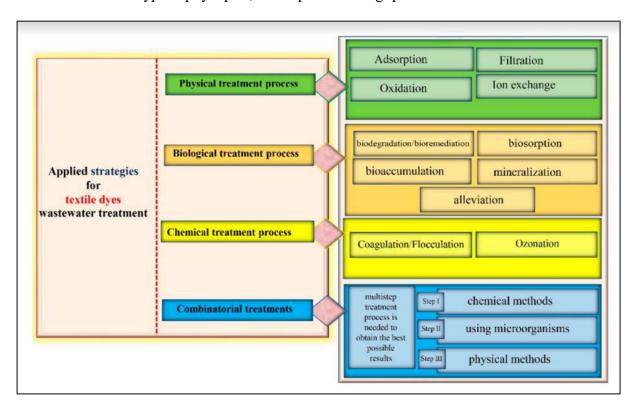


Figure 1 : Stratégies de traitement des rejets de colorants textiles (Ben Slama et al., 2021).

III.2.1. Procédés d'oxydation avancée

Les procédés d'oxydation avancée (POA) sont une technologie respectueuse de l'environnement, reconnue pour son efficacité supérieure par rapport aux autres technologies actuelles. Ils sont définis comme étant des procédés de traitement des eaux opérant à température et pression ambiantes (**Trabelsi**, **2014**).

Les POA jouent un rôle majeur, grâce à leur fort potentiel d'oxydation et leur faible sélectivité vis-à-vis des composés organiques. Ces procédés d'oxydation sont parfaitement adaptés aux effluents industriels contenant des colorants, car ils permettent d'oxyder les substances organiques jusqu'à leur plus haut degré d'oxydation stable (**Bouafia**, **2010**).

Les POA se divisent en deux catégories : homogènes et hétérogènes, selon la procédure de la formation des radicaux HO• : l'activation peut être de nature catalytique, électrochimique et/ou photochimique. Il est à noter que la présence des catalyseurs conduit à l'augmentation de l'efficacité du processus, il existe des catalyseurs hétérogènes tel que des matériaux en carbone, des métaux catalyseurs, ou des semi-conducteurs, par exemple TiO₂, ZnO et WO₃ (Bradu *et al.*, 2017).

Ce traitement oxydant se distingue des autres procédés par les composés cibles car ils sont dégradés plutôt que concentrés ou transférés dans une phase différente (**Kernani**, **2010**). De plus, il est important de noter que les POA sont très efficaces pour l'élimination des émissions avec des valeurs de DCO inférieures à 10 g/L, car des valeurs de DCO élevées nécessitent une grande consommation de réactifs. Par conséquent, les eaux usées à forte charge polluante peuvent être traitées plus efficacement par oxydation humide ou incinération (**Hammami**, **2012**) (Figure 2).

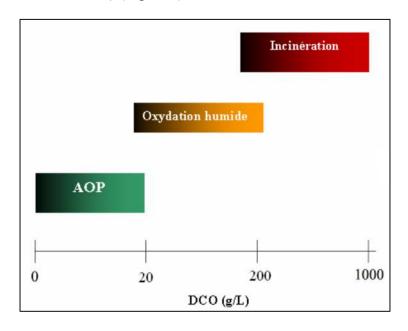


Figure 2 : Désignation des technologies de traitement des eaux usées selon leurs teneurs en DCO (Andreozzi R et al., 1999).

III.2.1.1. Utilisation des procédés d'oxydations avancées

Les procédés d'oxydation avancée POA sont utilisés pour :

- Oxyder des composés minéraux toxiques, tels que les cyanures provenant des effluents de traitements de surface.
- Oxyder des composés toxiques ou inhibiteurs pour les microorganismes.
- Effectuer un prétraitement avant un traitement biologique pour augmenter la biodégradabilité des effluents, améliorant ainsi le rapport DBO₅/DCO).
- Minéraliser des polluants organiques dans le cas d'effluents à forte teneur en DCO atteignant plusieurs centaines de g/L).

Principe des POA:

C'est dans l'intention de développer des techniques de traitement rapides, moins onéreuses et plus adaptées aux composés organiques réfractaires ou toxiques que les procédés d'oxydation avancée (POAs) ont vu le jour. Les POAs sont des techniques de traitement faisant appel à des intermédiaires radicalaires très réactifs, particulièrement les radicaux hydroxyles (HO•) à température ambiante (Abdessemed, 2009) (Figure 3). Ces procédés incluent des agents oxydants tels que l'ozone (Tableau 1), le rayonnement ultraviolet couplé avec le peroxyde d'hydrogène, le réactif de Fenton, les ultrasons ou leurs combinaisons (Huang et al., 1993 ; Glaze et al., 1987 ; Yue, 1997).

Les radicaux hydroxyles de nature électrophile, sont des réactifs non-sélectifs qui réagissent sur le substrat selon trois types de réaction (Abdessemed, 2009) :

Abstraction d'atome d'hydrogène : $RH + HO \bullet \rightarrow R \bullet + H_2O$

Transfert électronique : $RX + HO \bullet \rightarrow RX \bullet^+ + HO^-$

Addition électrophile : $ArX + HO \rightarrow ArX(OH) \rightarrow$

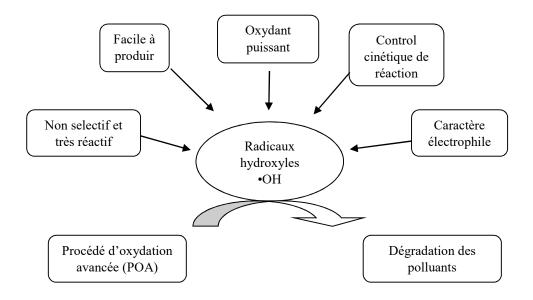


Figure 3 : Caractéristiques du radical hydroxyle •OH (Kefkaf et Yahiaoui, 2020).

Tableau 1 : Potentiel d'oxydation pour différents oxydants dans l'eau en Milieu acide (Zazou, 2015).

| Oxydant | Potentiel d'oxydation (V/ESH) |
|------------------------------------------------------|-------------------------------|
| •OH (Radical hydroxyle) | 2,8 |
| O ₃ (Ozone) | 2,07 |
| H ₂ O ₂ (Peroxyde d'hydrogène) | 1,77 |
| •HO ₂ (Hydroperoxyle) | 1,70 |
| MnO ₄ (Ion permanganate) | 1,67 |
| ClO ₂ (Dioxyde de chlore) | 1,50 |
| Cl ₂ (Chlore) | 1,36 |
| O ₂ (Oxygène) | 1,23 |

III.2.1.2. Types de procédés d'oxydation avancée

La plupart des POA s'avèrent efficaces pour le traitement des eaux usées contenant des colorants, et ceux avec une minéralisation quasi complète des colorants et des intermédiaires. La figure 4 illustre des processus très variés qui n'ont été expérimentés qu'en laboratoire. Les POA englobent plusieurs procédés, comme indiqué par (Kefkaf et Yahiaoui, 2020):

- Des procédés d'oxydation chimiques : impliquant l'utilisation des réactifs comme le réactif de Fenton (H₂O₂/Fe) ; la peroxonation (O₃/H₂O₂) etc.
- Des procédés photochimiques: ces procédés se divisent en deux phases :
- Phase homogène : comprenant la photolyse directe (UV seul) ; la photolyse de H₂O₂ (H₂O₂/UV) ; la photolyse de l'ozone (O₃/UV) ; la photo-Fenton (H₂O₂/Fe/UV) ; la photolyse de persulfate de sodium (Na₂S₂O₈/UV). Ce dernier est le procédé utilisé dans la présente étude.
- Phase hétérogène : refermant la photocatalyse hétérogène (TiO₂/UV).
 - Des procédés électrochimiques : ces procédés se subdivisent en deux types :
 - Directs: incluant l'oxydation anodique.
 - Indirects : comprenant l'électro-Fenton.

• Des procédés électriques :

Englobant la sono-lyse, le faisceau d'électron etc. Plusieurs paramètres peuvent influencer l'efficacité de ces procédés tels que la concentration en oxydant, l'intensité de la lumière UV, le pH, la température etc.

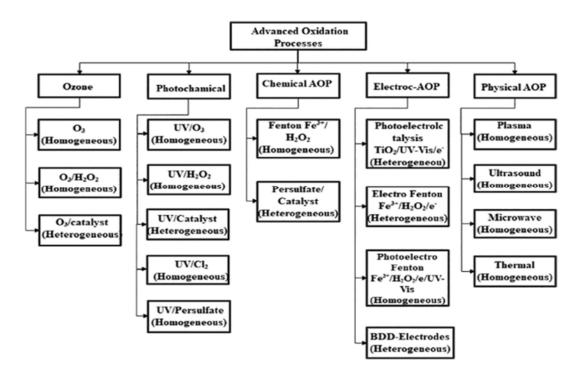


Figure 4 : les cinq différentes classes des procédés d'oxydation avancés.

III.2.1.2.1. Procédé d'oxydation par photolyse du persulfate de sodium (Na₂S₂O₈/UV)

Les technologies de décontamination par persulfate, qui utilisent des procédés radicalaires ou un transfert direct d'électrons, sont des outils très puissants pour le traitement d'un large éventail d'impuretés, le persulfate de sodium (Na₂S₂O₈) a été récemment introduit dans les techniques d'oxydation chimique *in situ* (ISCO).

Il apparaît ainsi que les procédés d'oxydation basés sur l'ion persulfate $(S_2O_8^{2-})$ constituent une technologie émergente pour l'oxydation des composés les plus récalcitrants tels que les solvants chlorés ou éthériques, le 1-4 dioxane, les PCB et les HAP (**Block** *et al.*, **2004**). Le persulfate est l'oxydant le plus fort de la famille des peroxydes. Le potentiel standard d'oxydo-réduction du couple $(S_2O_8^{2-}/SO4^{2-})$.

Cet anion persulfate est ensuite activé par une combinaison des moyens thermiques et chimiques (y compris les variations du pH) pour générer un radical libre sulfate intermédiaire (SO₄•), qui est considéré comme un oxydant puissant (Stanisław *et al.*, 2017).

Cependant, l'oxydation du persulfate est considérée comme peu réactive à la température ambiante. Les réactions du persulfate en demi-cellule en solution aqueuse et les équations d'activation thermique sont données dans les équations 1 et 2.

Le radical sulfate ainsi générer dans l'équation 2 peut amorcer une série de réactions en chaîne lorsqu'il est en contact avec des composés organiques, comme illustré dans les équations de 3-8 (Fagberno et Hamidi, 2015).

$$S_2O_8^{2-} + 2e^- \rightarrow 2SO_4^-$$
 (E0 =2.01) (réaction 1)
 $S_2O_8^{2-} + \text{chaleur} \rightarrow 2SO_4^-$ (réaction 2)
 $S_2O_8^{2-} + X \rightarrow 2SO_4^- + X^{\bullet}$ (réaction 3)
 $X \text{ représente les composés organiques.}$
 $SO_4^{\bullet^-} + H_2O_2 \rightarrow SO_4^{\bullet^-} + \Phi \text{ OH} + HSO_4^{\bullet^-}$ (reaction 4)
 $SO_4^{\bullet^-} + X \rightarrow X^{\bullet} + \text{Produits}$ (réaction 5)
 $OH^{\bullet} + X \rightarrow X^{\bullet} + \text{Produits}$ (réaction 6)
 $X + S_2O_8 \rightarrow SO_4 + \text{Produits}$ (réaction 7)

SO₄• + OH• → Terminaison de la chaîne par des radicaux libres (réaction 8)

De plus, l'activation chimique des persulfates peut être considérée comme une réaction homogène ou hétérogène. Ces deux types d'initiation radicalaire présentent des avantages et des inconvénients, bien que le coût élevé, la stabilité chimique (lixiviation des constituants du catalyseur), le temps de préparation et la stabilité chimique des catalyseurs hétérogènes dans certains cas limitent encore largement leur utilisation dans le traitement de l'eau (Stanisław *et al.*, 2017).

III.2.2. Bioremédiation (processus de traitement biologique)

III.2.2.1. Généralités

La bioremédiation est une approche durable pour la gestion des sites contaminés. Elle utilise des microorganismes et des procédés biologiques naturels, souvent moins invasifs et moins coûteux que les méthodes de dépollution chimiques ou physiques. Elle vise à éliminer, dégrader ou transformer les contaminants présents dans les sols, les eaux usées et d'autres environnements pollués. De plus, elle peut être appliquée à différents types de contaminants, tels que les hydrocarbures, les métaux lourds, les pesticides, les colorants, les nitrates, les sulfates, et d'autres polluants chimiques et biologiques (**Bhawna, 2020**).

Le processus de bioremédiation se produit naturellement par une grande variété de micro-organismes adaptés, présents dans les eaux usées et/ou les zones polluées. Ce processus peut également être induit *in vitro* en isolant et en sélectionnant les microorganismes appropriés, puis en les cultivant à échelle pilote pour permettre le traitement et la décoloration des effluents textiles (Ben Slama et al., 2021).

Les microorganismes utilisés en bioremédiation peuvent être des bactéries, des champignons, des algues ou d'autres organismes ayant la capacité de dégrader naturellement les contaminants en utilisant des enzymes ou d'autres mécanismes biologiques. Elle peut se faire de différentes manières, notamment par bio-stimulation et la bio-augmentation.

La bio-stimulation consiste à fournir aux microorganismes autochtones les nutriments nécessaires pour stimuler leur croissance et leur activité, accélérant ainsi la dégradation des contaminants (Bhawna, 2020).

La bio-augmentation, quant à elle, consiste à ajouter des microorganismes spécifiques dans l'environnement contaminé pour augmenter la population de microorganismes dégradateurs autochtone. D'autres approches, telles que la phytoremédiation, la biodénitrification, peuvent être utilisées seules ou combinées en fonction des besoins spécifiques du site et des contaminants présents pour atteindre les objectifs de restauration environnementale de manière efficace et durable (**Bhawna**, 2020).

La bioremédiation peut être appliquée dans divers contextes, tels que la décontamination des sols pollués par des activités industrielles, agricoles ou urbaines, la restauration des eaux souterraines contaminées par des déversements chimiques, la dégradation des pesticides dans les cultures, la réhabilitation des sites industriels abandonnés, la restauration des zones humides contaminées, et d'autres situations de pollution environnementale.

Tableau 2 : Exemples de microorganismes utilisés dans la biodégradation des colorants de textile (**Ben Slama** *et al.*, **2021**).

| Le colorant de textile | Les microorganismes utilisés |
|------------------------------------|--------------------------------|
| | Flavobacterium caeni sp. |
| Vert de malachite | Enterobacterasburiae XJUHX-4TM |
| | Pandoraea pulmonicola YC32 |
| | Penicillium ochrochloron |
| Cristal violet | Agrobacterium radiobacter |
| | Diaporthe schini |
| Violet basique et bleu Acid 93 | Pseudomonas putida |
| | Candida krusei |
| Vert réactif | Micrococcus glutamicus |
| | moisissures ligninolytiques |
| Rouge acide 27 | Armillaria sp. F022 |
| Direct Bleu 1 and Direct rouge 128 | Trametes versicolor |
| Rouge Congo | Aspergillus niger |
| | Bacillus cohnii |
| Orange Remazol | Pseudomonas aeruginosa |
| Bleu Réactive 13 | Pseudomonas sp. |
| Bleu brillant G | Galactomyces geotrichum and |
| | Bacillus sp. |

III.2.2.2. Décoloration par les bactéries

De nombreuses études ont démontré la capacité des bactéries à dégrader les colorants par la production d'enzymes spécifiques (oxydoréductases, hydrolases, oxygénases, ligninases, peroxydases et laccases) responsables de la décomposition des molécules récalcitrantes.

Contrairement aux champignons et aux actinomycètes, qui dégradent les colorants par voie extracellulaire (avec implication des enzymes comme LiP, MnP, laccases, etc.), les bactéries agissent principalement par voie intracellulaire. Ainsi, l'efficacité décolorante dépend non seulement de l'activité enzymatique cytoplasmique, mais aussi de la capacité des molécules à traverser la membrane cellulaire (Ben Slama et al., 2021).

Selon Mason (2010), les processus métaboliques impliqués par les bactéries incluent:

- Oxydation: cette réaction implique une perte d'électrons suivie d'une production d'énergie. Selon la nature de l'accepteur final d'électrons, le processus d'oxydation peut s'effectuer en conditions d'aérobioses (présence d'oxygène), d'anaérobioses (absence d'oxygène) ou d'anoxies (présence de nitrate).
- **Digestion :** appelée aussi fermentation, ce processus ne nécessite pas un accepteur d'électrons externe et constitue un mécanisme anaérobie de production d'énergie en absence de chaîne de transport d'électrons. La fermentation est provoquée par des bactéries anaérobies capables de décomposer la matière organique en acides et alcools, produisant ainsi du méthane (CH₄) et du dioxyde de carbone (CO₂).
- **Nitrification :** c'est une transformation chimique de l'azote organique en nitrate (NO₃-) par des organismes dits nitrifiants. La nitrification se déroule en trois étapes dans des conditions d'aérobiose :
- Ammonification où l'azote organique est converti en ammoniac (NH₄⁺) par des hétérotrophes.
- Nitritation effectuée par les bactéries nitritantes, majoritairement de l'espèce Nitrosomonas. Ces autotrophes sont responsables de l'oxydation de l'ion ammoniac (NH₄⁺) en nitrite (NO₂⁻). La réaction totale est de la forme :

$$2NH_4^+ + 3O_2$$
 \longrightarrow $2NO_2^- + 4H^+ + 2H_2O$

Nitratation qui est accomplie par les bactéries nitratantes de l'espèce Nitrobacter.
 Ces microorganismes autotrophes transforment l'oxydation du nitrite (NO₂⁻) en nitrate (NO₃⁻). La réaction s'effectue comme suit :

$$2NO_2^- + O_2 \longrightarrow 2NO_3^-$$

- Dénitrification : ce processus, est réalisé par des hétérotrophes facultatifs en conditions anoxiques, par la conversion du nitrate. La dénitrification peut suivre deux activités biologiques différentes :
- Assimilation où le nitrate est réduit en ammoniac, qui peut servir comme source d'azote pour la synthèse cellulaire
- Dissimilation joue un rôle très important dans l'élimination totale du nitrate.
- Floculation: Dans les cultures en suspension, où les microorganismes flottent librement dans les eaux à traiter, ont tendance à s'agglutiner en petits amas appelés bioflocs. Certaines substances biodégradables (particules, colloïdes, grosses molécules) ne sont pas directement absorbées par les bactéries et forment des flocs.
- Absorption : Certains composés organiques comme les substances biodégradables particulaires sont d'abord adsorbés par les micro-organismes et stockées à leur surface avant d'être convertis en substances simples, plus facilement dégradables.
- Hydrolyse: Les molécules organiques complexes sont converties en molécules plus simples par des enzymes, permettant ensuite leur diffusion à travers la membrane cellulaire.

III.2.3. Procédés des traitements hybrides

Le concept de couplage entre différents procédés de traitement a commencé à prendre de l'ampleur autour des années 2000, suite à des travaux novateurs comme ceux menés par **Dercová** et al. (1999). Ces premières recherches ont ouvert la voie à de nouvelles approches de dépollution visant à améliorer l'efficacité et la rentabilité des traitements (tirer parti des avantages de chaque méthode) tout en atténuant leurs limitations individuelles, notamment face à la présence de polluants organiques récalcitrants, caractérisés par leur lente dégradation, leur temps de vie important dans l'environnement et leur impact écotoxicologique (Xie et al., 2010).

La majorité des colorants sont très stables et non biodégradables. Cependant, des recherches ont montré que certains colorants peuvent être partiellement ou complètement biodégradés que, les techniques biologiques soient adaptées à de nombreux polluants organiques, elles ne conviennent pas toujours aux effluents industriels en raison des fortes concentrations de polluants, de leur toxicité pour les microorganismes, ou de leur très faible biodégradabilité. De plus, ces techniques génèrent des quantités importantes de boues biologiques à traiter.

Les eaux usées biorécalcitrantes sont difficiles à traiter biologiquement et nécessitent des techniques supplémentaires, d'épuration, tels que les procédés d'oxydation avancée (POA). Ces procédés fonctionnent à température ambiante et pression normale, et peuvent être combinées avec des traitements biologiques, soit en amont, soit en aval.

Bien que, les POA soient relativement couteux en comparaison avec les traitements biologiques, ils génèrent des produits intermédiaires, résultant de l'oxydation, qui peuvent être facilement biodégradés réduisant ainsi les taux de DCO et de DBO. Il est donc recommandé de coupler ces procédés POA avec des procédés biologiques (Dercová et al, 1999).

Les avantages des procédés hybrides résident dans leur capacité à traiter une gamme plus large de polluants, à réduire les coûts de traitement et à améliorer l'efficacité globale du processus de dépollution. Cependant, la mise en œuvre de ces systèmes complexes nécessite une planification minutieuse et une compréhension approfondie des interactions entre les différentes techniques utilisées (Ward et al, 2003).

Matériel et méthodes

Objectifs

Le présent travail est scindé en trois parties :

La première partie, consacrée à l'analyse et la caractérisation physicochimique de l'effluent, afin d'obtenir une vue d'ensemble de sa composition. Ces informations permettront par la suite d'effectuer des comparaisons pertinentes. De plus, cette étape inclut une étude spécifique sur les colorants, visant à sélectionner celui présentant la meilleure stabilité à différents pH parmi les six colorants (cuves et dispersés) analysés.

La deuxième partie, consacrée à l'analyse microbiologique, vise à isoler et identifier *via* l'approche moléculaire, les souches bactériennes capables de dégrader le colorant et les matières organiques de l'effluent.

La troisième partie, porte sur le suivie de la dégradation de l'effluent et du colorant. Cette partie vise à vérifier l'efficacité des procédés étudiés, à savoir le procédé chimique (NaS₂O₈/UV) et le procédé hybride (POA-bactéries).

Première partie : Analyse et caractérisation physicochimique de l'effluent et du colorant

1. Industrie textile EATIT Batna

1.1. Description de la zone d'étude

Le présent travail porte essentiellement sur l'étude des effluents provenant de l'Entreprise Algérienne des Textiles Industriels et Techniques (EATIT) de la zone industrielle de Kechida, située dans la wilaya de Batna. Ce complexe industriel s'étend sur une superficie d'environ 349 228 m², disposant d'une station d'épuration en panne et hors service depuis des années. Les effluents de ce complexe industriel sont acheminés par des tuyaux vers un bassin de stockage, puis rejetés directement dans l'Oued El Gourzi, situé à proximité de l'industrie, sans aucun traitement préalable. (Figure 5)

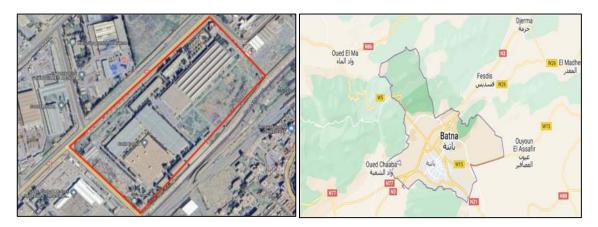


Figure 5: localisation de la wilaya de Batna et de complexe industriel EATIT. (Google Maps)

1.2. Fonctionnement de l'industrie de textile EATIT

Le complexe industriel est scindé en trois grandes unités, à savoir :

- L'unité de filature convertir le coton en fil.
- L'unité de tissage assure la fabrication du tissu composé de 67% de coton et de 33% de polyester.
- L'unité de finissage, la plus importante, est où se déroulent les étapes essentielles de finition des tissus destinés à la fabrication de tenues militaires, en utilisant une variété de produits chimiques.

Le processus de finissage se déroule en quatre étapes principales, chacune jouant un rôle crucial dans la transformation du matériau brut en un produit fini de qualité. (Figure 6)

Dans la première étape, l'ennoblissement et le blanchiment sont essentiels pour préparer le tissu. Ce processus implique l'utilisation de divers produits chimiques tels que le NaOH, le H_2O_2 comme un oxydant et agent de blanchiment, ainsi que l'acide sulfurique, comme agents de stabilisation. Après cela, le tissu subit une maturation dans une machine générant de la vapeur chaude avec un temps de séjour de 1h30min. Enfin, les tissus sont lavés et séchés à l'aide d'équipements spécialisés afin d'obtenir un tissu pur.

La deuxième étape du processus comprend la teinture et l'impression. Les colorants résistants, tels que les colorants de cuve et les colorants dispersés, sont employés pour permettre une pénétration efficace dans le tissu. Le mélange du colorant avec des auxiliaires (un agent tensioactif qui est le mouillant et un agent anti-migrateur) dans des cuves avec l'acide acétique (tampon pH) permet de teindre le tissu, suivi par l'étape de séchage. L'impression, quant à elle, nécessite une préparation minutieuse du colorant dans des cuves contenant un épaississant des auxiliaires, suivie d'une impression précise à l'aide d'une machine spécialisée dotée de cadres rotatifs poreux contiens trois motifs, chacun avec un colorant. Après cette étape, les tissus sont à nouveau séchés. Cette partie de l'ennoblissement (impression, teinture, apprêts) est la plus concernée par la consommation d'eau et le rejet de colorants, solvants, apprêts et autres substances utilisées pour la préparation des fibres.

La troisième étape implique la fixation du colorant, une étape cruciale pour assurer la durabilité des teintures. Pour le polyester, la fixation est réalisée par la chaleur à 210°C pendant 1min 30 secondes, tandis que pour le coton, elle se fait par une vaporisation saturée dans des bacs d'émersion contenant un réducteur, du NaOH et un mouillant. Des procédures d'oxydation par l'acide acétique, du NaOH et du H₂O₂, suivies de lavage avec des détergents, sont effectuées pour éliminer les résidus de colorants non fixés, avant le séchage final.

Enfin, dans la quatrième et la dernière étape, la finition du tissu est effectuée. Cela comprend l'application de produits infroissables, d'adoucissants et d'autres produits chimiques pour améliorer la résistance du tissu. Après cette étape, les tissus sont à nouveau lavés et séchés. Ce processus rigoureux garantit la qualité et la durabilité des produits textiles finis.

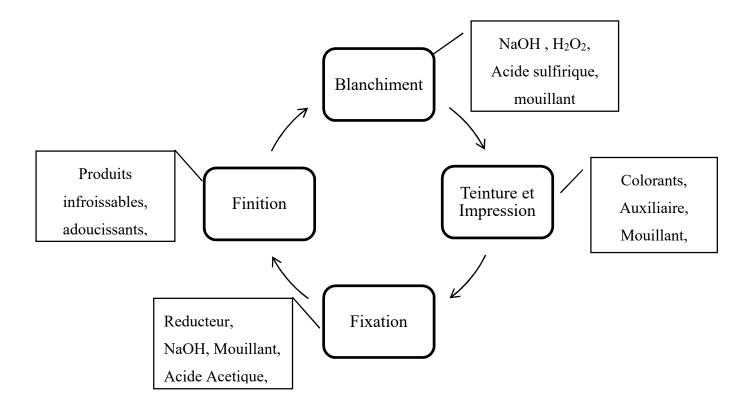


Figure 6 : Schéma présentant les principales étapes et les produits utilisés lors du processus de finissage.

2. Échantillonnage

Des prélèvements *in situ* de l'effluent provenant de l'industrie de textile ont été effectués en mois de Mars 2024 comme suit :

Pour les analyses microbiologiques, les échantillons de l'effluent ont été prélevés dans des tubes coniques stériles de 50 mL (Figure 7a).

Pour les analyses physico-chimiques, le prélèvement a été effectué dans des bouteilles cylindriques en plastique (Figure 7b) préalablement rincées avec de l'eau distillée.

Ces échantillons ont été transportés au laboratoire dans une glacière à 4°C pour les analyses.

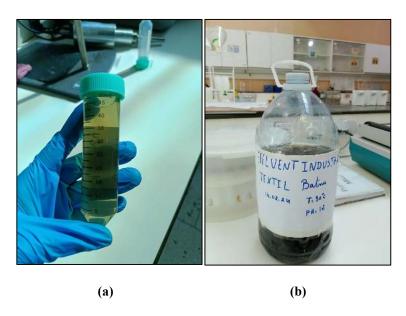


Figure 7 : (a) Effluent destiné pour les analyses microbiologiques, **(b)** Effluent prélevé dans une bouteille en plastique de 5 litres. **(Photo personnelle)**

Le matériel et l'appareillage utilisé pour les analyses des différents paramètres de l'effluent sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 3 : matériel et les méthodes d'analyse pour chaque paramètre.

| Paramètre | Appareil utilisé | Méthode utilisée | Référence du Protocole |
|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------|
| Température (T°C), Conductivité, total des solides dissous et salinité | Multi-paramètres de type Consort(C6030). | Mesure in situ | / |
| рН | pH mètre de type Seven Excellence. | Mesure in situ | / |
| Demande biologique d'oxygène (DBO5) | Enceinte thermostat (WTW: Oxi Top Box) Flacons ombrés d'incubation Oxy-mètre Agitateur magnétique (STUART) Barrou magnétique Pastilles de NaOH | Oxymétrie | Rodier |
| Orthophosphates | Spectrophotomètre à 700-800 nm Cuve en quartz Fiole jaugée Micropipette (1mL) | Spectrophotométrie | Rodier |
| Nitrate NO3 ⁻ | Étuve Capsule de 60 mL Spectrophotomètre à 415 nm Cuve en quartz Fiole jaugée Bain marie Micropipette (1mL) | Spectrophotométrie (Méthode de salicylate de sodium) | ISO 7890-3 1988 |
| Nitrite NO ₂ - | Spectrophotomètre à 435 nm Agitateur magnétique (STUART) Barrou magnétique Micropipette Bain marie Cuve en quartz | Spectrophotométrie (Méthode de Zambelli) | NF T90 013 |
| Azote Kjeldahl | Minéralisateur Kjeldahl (FOSS) Distillateur Kjeldahl (Büchi K-355) Balance de précision Agitateur magnétique Barrou magnétique Support de titration Erlenmeyers Éprouvette graduée Burette graduée Burette graduée Béchers Les matras Kjeldahl | Titrimétrie (Méthode après minéralisation au sélénium) | ISO 5663-1984 (F) |
| Matière en suspension (MES) | Filtre de diamètre de 0,45 µm Pompe à vide Pompe à filtre Balance Étuve à 105C° | Pesée/filtration | AFNOR T90-105 |
| Demande chimique en oxygène (DCO) | Tubes COD Bloc chauffant (WTW : CR 2200) Micropipette (1mL) Balance de précision Spectrophotomètre : HELIOS ZETA (UV-VIS) Cuves en quartz | Spectrophotométrie | AFNOR T90-101 |

3. Paramètres physico-chimiques de l'effluent

3.1. Détermination de la température

La température de l'échantillon a été mesuré *in situ* à l'aide d'un thermomètre. En effet, la température de l'eau influence divers paramètres, notamment la quantité d'oxygène dissous, essentielle à la croissance des différents microorganismes aérobies présents dans notre échantillon, ainsi qu'à la dégradation de la matière organique (**Rodier** *et al.*, 2005).

3.2. Détermination du pH

Le pH, représente le niveau d'acidité ou d'alcalinité d'une solution aqueuse en mesurant la concentration des ions H^+ . Cette mesure est définie par l'équation : $pH = -\log [H^+]$. Le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre Seven Excellence (voir annexe 1) (**Houma, 2009**).

3.3. Détermination de la conductivité électrique (CE)

La mesure de la conductivité est une méthode simple, pour détecter les charges importantes de la pollution minérale. La valeur de la conductivité peut être influencée par la température, le pH et la viscosité. Ce paramètre est mesuré à l'aide d'un multiparamètre de type Consort (C6030) (voir annexe 2), qui permet d'évaluer rapidement et approximativement la conductivité électrique de l'eau en mesurant le passage de l'électricité entre deux électrodes séparées. L'unité de mesure est le micro Siemens par centimètre (µS/cm) (Houma, 2009).

3.4. Détermination de la mesure totale des solides dissous (TDS) et la salinité

La mesure de la TDS est une technique permettant de déterminer la quantité totale des sels, minéraux et métaux dissous dans l'eau, exprimée en g/L. Cette mesure a été réalisée à l'aide d'un conductimètre de type Consort (C6030), qui permet également de mesurer de la quantité du sel présente dans notre effluent (Aminot et al., 1983).

3.5. Détermination de la demande biochimique en oxygène DBO5

La DBO5 représente la quantité d'oxygène nécessaire aux microorganismes pour dégrader l'ensemble de la matière organique d'un échantillon maintenu à 20°C, à l'obscurité, pendant 5 jours.

La détermination de la DBO5 est réalisée selon la méthode décrite par **Rodier** *et al.* (2009), dans un flacon ambré, un volume de 43,5 mL de l'effluent, additionné d'une capsule de NaOH, est soumis à une agitation à l'aide d'un barreau magnétique. Ce flacon contenant le mélange réactionnel est scellé avec un OXITOP et placé dans une enceinte thermostatique (WTW: Oxi Top Box).

La DBO5 est obtenue après 5jours d'incubation dans une étuve à 20°C, et la valeur est calculée selon la formule suivante :

DBO₅ (mg/L) = lecture * Facteur

Lecture : la valeur obtenue après mesure avec l'OXITOP

Facteur: Voir le tableau 4

Tableau 4 : Facteur de conversion de la DBO5 en fonction du volume de la prise de l'echantillon.

| Intervalle de mesure (mg/L) | Volume de l'échantillon (mL) | Facteur |
|--------------------------------|---------------------------------|---------|
| [0-40] | 432 | 1 |
| [0-80] | 365 | 2 |
| [0-200] | 250 | 5 |
| [0-400] | 164 | 10 |
| [0-800] | 97 | 20 |
| [0-2000] | 43.5 | 50 |

3.6. Dosage des orthophosphates

Les orthophosphates, en milieu acide et riche en molybdate d'ammonium, forment un complexe phosphomolybdique. Ce complexe est ensuite réduit en présence de l'acide ascorbique, générant une couleur bleue, est mesurée par spectrophotométrie à 700 nm.

Les orthophosphates sont quantifiés selon le protocole établi par Rodier et al. (2009). Dans des fioles de 25mL, préalablement rincées avec de l'acide nitrique,

20mL de l'échantillon dilué au 1/20 est ajouté à 1mL acide ascorbique et 4mL réactif combiné (catalyseur). Ce mélange est ensuite laissé à stabiliser pendant 30 minutes. L'absorbance est lue dans la plage de [700-800nm]. Le taux des orthophosphates est déterminé à partir d'une courbe d'étalonnage (voir annexe 5).

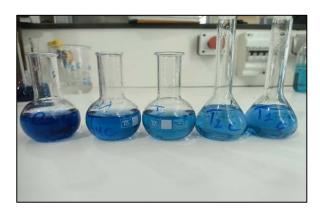


Figure 8 : Gamme étalon du phosphore. (Photo personnelle)

3.7. Dosage des nitrates

En milieu anhydre, lors de la formation de l'acide sulfosalicylique par la réaction de l'acide sulfurique et le salicylate de sodium, il réagit avec les nitrates pour produire un mélange de para et ortho-nitrosalicylates de sodium. En milieu alcalin, l'anion nitrosalicylate est libéré, générant une couleur jaune qui permet ensuite la réalisation d'un dosage colorimétrique à une longueur d'onde de 415 nm (ISO 7890-3 1988).

Le dosage des nitrates est réalisé selon la norme ISO 7890-3 1988.

Pour ce faire, 1mL de solution salicylate de sodium à 0,5% et quelques gouttes de NaOH à 30% sont ajoutés à 10mL d'échantillon centrifugé et dilué à 1/20. Après séchage à 80 °C, 2mL de H₂SO₄ ont été rajouté. Le mélange est laissé à reposer après récupération avec l'acide sulfurique, puis 15 mL d'eau sont rajoutés. Pour obtenir la coloration jaune, 15 mL de tartrate double de sodium et de potassium sont additionnés. L'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 420 nm. Les teneurs des nitrates sont déduites à partir de la courbe d'étalonnage (voir annexe 8).

3.8. Dosage des nitrites

Le dosage des nitrites est réalisé selon la norme **NF T90 013**, en milieu chlorhydrique et en présence d'ions ammonium et de phénol,

l'acide sulfanilique forme un complexe qui réagit ensuite avec des ions NO₂, générant une couleur jaune dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en nitrites.

Dans une fiole, 50 mL d'échantillon dilué à 1/20 sont additionnés de 2 mL de réactif de Zembilli (voir annexe 9), le mélange est laissé à reposer pendant 10 minutes. Ensuite, 2 mL d'ammoniaque sont rajoutés. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 435 nm. Les concentrations des nitrites sont déterminés à partir de la courbe étalon (voir annexe 10).

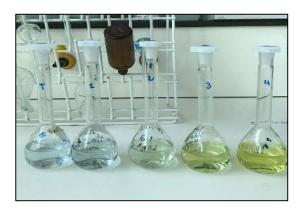


Figure 9 : Gamme étalon des nitrites obtenus. (Photo personnelle)

3.9. Détermination de l'Azote Kjeldahl (NK)

L'azote Kjeldahl est déterminé selon la norme ISO 5663-1984 (F), cette méthode repose sur la minéralisation de l'échantillon pour produire du sulfate d'ammonium, suivie de la libération et la distillation de l'ammoniac, puis du dosage par titrimétrie selon les étapes suivantes :

Minéralisation : l'échantillon est minéralisé dans un minéralisateur Kjeldahl (FOSS) (voir annexe 11). En milieu acide et en présence d'un catalyseur, à une température de 400°C (Conditions de minéralisation), la réaction de la minéralisation se déroule comme suit :

Matière organique + Acide + catalyseur → NH₄⁺ + autres produits de réaction

Distillation : L'ammoniaque (volatil) ainsi formé est entraîné dans le système de distillation à la vapeur (distillateur Kjeldahl Buchi K-355) (voir annexe 12). Les vapeurs condensées par réfrigération, sont recueillies dans un erlenmeyer contenant l'acide borique.

NB: Le minéralisât est un milieu acide. Il est donc nécessaire d'ajouter 50mL d'eau distillée et une quantité suffisante d'hydroxyde de sodium pour neutraliser puis alcaliniser et convertir le NH₄⁺en NH₃.

La réaction de dosage se déroule comme suit :

$$NH_3 + H_3BO_3$$
 \longrightarrow $NH_4^+ + H_2BO_3^-$

Dosage : Dans l'erlenmeyer ayant recueilli le distillat, 2 à 3 gouttes de l'indicateur mixte sont rajoutées. Une titration avec la solution titrante d'acide sulfurique à 0,05mol/L a été faite.

La réaction de dosage se passe comme suite :

$$2(HBO_3^-NH_4^+) + H_2SO_4$$
 \longrightarrow $2H_3BO_3 + (NH_4)_2SO_4$

Méthode de calcul : La concentration en azote Kjeldahl est exprimée en milligrammes par Litre, elle est donnée par la formule :

$$\frac{(2(V1-V0)C\times 1000\times 14)}{V}$$

Avec:

C = concentration (en mol/L) de la solution d'acide sulfurique utilisée pour le dosage.

V₁ = volume (en mL) d'acide sulfurique utilisé pour le dosage de l'échantillon.

 V_0 = volume (en mL) d'acide sulfurique utilisé pour le dosage de l'essai blanc.

V = volume (en mL) de la prise d'essai.

3.10. Détermination de la matière en suspension

La détermination de la matière en suspension selon la norme **AFNOR T90-105** a pour but de mesurer la quantité des particules solides présentes, telles que les minéraux, du sable, de la boue, de l'argile, des débris de roche, des particules de matières organiques (y compris des microorganismes). Cette mesure est effectuée par filtration sous vide ou sous pression, où l'échantillon est filtré à travers un filtre de diamètre de 0,45 µm. Après filtration, le filtre est séché et la masse du résidu retenu sur le filtre est déterminée par pesé.

3.11. Étude spectrale de l'effluent et la mesure des absorbances (Spectre à évolution UV-Visible)

L'étude spectrale de l'effluent a été effectuée en se basant sur la loi de Beer-Lambert. Selon **Trabelsi (2014),** ce paramètre fournit des informations sur la dégradation de la matière organique présente dans l'effluent. Pour obtenir le spectre UV-Vis, un balayage spectral a été effectué afin de déterminer la bande d'absorption de l'effluent filtré et dilué X100 (1/100). La solution a été exposée à un rayonnement avec des longueurs d'onde comprises entre 200-800 nm. A chaque longueur d'onde, l'absorbance a été mesurée pour tracer la courbe en fonction des longueurs d'onde.

3.12. Mesure de la demande chimique en oxygène (DCO)

La DCO, déterminée selon la norme **AFNOR T90-101**, est l'une des principales méthodes pour évaluer la pollution organique globale dans les eaux résiduaires ou naturelles

Dans des tubes, 3 mL de solution acide (voir annexe 15), 0,1 g de sulfate de mercure, 2 mL d'échantillon dilué X500 (d'eau distillée pour le blanc), et 1 mL de dichromate de potassium à 8,33 x 10⁻³ mol/L sont homogénéisés. Après avoir scellé hermétiquement les tubes, ils sont placés dans un bloc chauffant de marque WTW (CR 2200) pendant 2 heures à une température de 148 °C. Ensuite, les tubes sont laissés à refroidir pendant environ 1 heure.

La valeur de la DCO (mg/L) = $[K_2Cr_2O_7]$ initiale - $[K_2Cr_2O_7]$ résiduelle.

La DCO est déterminée à partir d'une droite d'étalonnage par le calcul de la différence entre la valeur du blanc et celle de l'échantillon, qui représente la quantité d'oxydant utilisée (Thomas et Mazas, 1986).

4. Analyse du colorant

Les colorants utilisés dans l'industrie textile sont des substances chimiques appliquées sur les fibres afin de leur conférer une teinte particulière. Dans le cadre de notre étude, six colorants (de types cuves et dispersés) ont été gracieusement fournis par l'industrie textile EATIT Batna. Nous avons ensuite focalisé notre travail sur l'un de ces colorants, en analysant sa bande d'absorption ainsi que son comportement dans une gamme de pH.

4.1. Mesure du pH

La mesure du pH des colorants a été réalisée à l'aide d'un pH-mètre à partir d'une solution de 100ppm (Figure 10).



Figure 10 : les six colorants ayant une concentration de 100ppm. (Photo personnelle)

4.2. Étude du comportement des colorants en fonction du pH

Quatre valeurs de pH (2, 4, 9 et 13) ont été sélectionnées pour étudier le comportement des colorants dans des milieux acides et alcalins et détecter tout changement dans leur bande d'absorption.

Pour ajuster les valeurs de pH, deux solutions distinctes ont été utilisées : une solution d'acide chlorhydrique (HCl) pour diminuer le pH et une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) pour l'augmenter. Deux béchers, chacun contenant 20 mL de colorant à 100 ppm, ont été préparés. Le premier bécher a été utilisé pour augmenter le pH du colorant en rajoutant NaOH, tandis que le second a été utilisé pour diminuer le pH du colorant en ajoutant HCl (Figure 11)

Une étude du comportement des colorants à différents pH a été réalisée par un balayage spectral à l'aide du spectrophotomètre (UV-Visible) pour la détermination de leur bande d'absorption maximale.

4.3. Choix du Colorant

Sur la base de l'étude du comportement des colorants à différents pH et leurs bandes d'absorption maximale le colorant choisie est le Rouge sombre 167 (Red Dark).



Figure 11 : Acidification et Alcalinisation du colorant Rouge sombre 167 (Dark Red) sélectionné.

(Photo personnelle)

4.4. Préparation de la courbe d'étalonnage du colorant Rouge sombre 167 (Dark Red)

Pour réaliser la courbe d'étalonnage, nous avons choisi cinq concentrations du colorant : 100 ppm, 80 ppm, 60 ppm, 40 ppm et 20 ppm (Figure 12). La concentration de 100 ppm est considérée comme solution mère, puis une série de dilutions a été effectuée jusqu'à atteindre 20 ppm en utilisant la formule de dilution $C_1V_1 = C_2V_2$. Ensuite, nous avons ajusté le volume avec de l'eau distillée.



Figure 12 : Gamme étalon du colorant sélectionné Rouge sombre 167 (Photo personnelle)

La mesure a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 532 nm, la longueur maximale d'absorbance du Rouge sombre 167. (Figure 13)

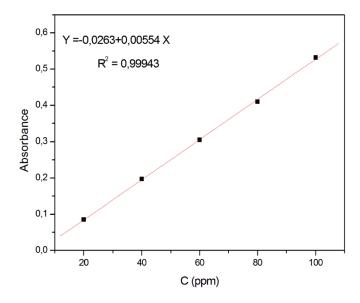


Figure 13 : Courbe d'étalonnage du Colorant Rouge sombre 167 (Dark Red).

Deuxième partie : Isolement et identification moléculaire des souches bactériennes

1. Isolement et repiquage des souches bactériennes

- Après une série de dilutions décimales de l'effluent, un ensemencement a été réalisé sur gélose nutritive à pH 7 afin d'effectuer un dénombrement selon la loi suivante :

$$N = \frac{\varepsilon C}{V(n1+0,1n2)d}$$

où:

 εC : Somme des colonies comptées sur toutes les boites retenues de 2 dilutions successives.

V : Volume de l'inoculum ensemencé en mL.

n1 : Nombre de boites comptées à la plus faible dilution.

n2 : Nombre de boites comptées à la plus forte dilution.

d : Dilution correspondant à la dilution la plus faible.- Après une incubation à 30°C pendant 72h, les souches ayant montré une croissance sont prélevées et repiquées en fonction de leur morphotype (taille, aspect, contour, couleur, etc.)

- En parallèle, des ensemencements sur des milieux alcalins (pH : 8,5, 10, 11 et 12) ont été effectués afin de tester le pouvoir alcaliphile des bactéries.
- Trois purifications ont été réalisées dans le but d'obtenir des colonies bien isolées, qui seront ensuite caractérisées au niveau moléculaire.
- Une Coloration de Gram a été effectuer pour les Cinque souches selon la méthode decrite par **Gram (1884)**.

2. Extraction de l'ADN bactérien

L'ADN génomique est extrait par la méthode décrite par Kumar et al. (2014).

Après une culture de 24 heures sur bouillon nutritif, les cellules bactériennes sont centrifugées, et le culot obtenu est suspendu dans 1 mL de Tris-HCl 10 mM, suivie d'une nouvelle centrifugation à 11 000 rpm pendant 10 minutes à 4°C.

Le surnageant est éliminé et le culot est resuspendu dans 500 μL de Tris-HCl 10 mM, puis vortexé. Ensuite 20 μL de lysozyme (50 mg/mL) sont ajoutés au mélange, qui est vortexé et incubé au bain sec à 37°C pendant 40 minutes.

Après cette incubation, $60~\mu\text{L}$ d'EDTA 0.5~M et $10~\mu\text{L}$ de protéinase K (20~mg/mL) sont ajoutés, suivis d'une incubation à 37°C pendant 10~minutes. Ensuite, $60~\mu\text{L}$ de SDS 10% sont additionnés et le mélange est incubé à 50°C pendant 40~minutes, puis $350~\mu\text{L}$ d'acétate de potassium 3~M ont été rajoutés et le tube est placé au bain de glace pendant 10~minutes.

Le mélange est centrifugé à 12 000 rpm pendant 10 minutes et le surnageant a été récupéré. À ce surnageant, 1 mL d'isopropanol a été ajouté pour précipiter l'ADN, qui est ensuite centrifugé à 10 000 rpm pendant 1 minute. Le culot obtenu est lavé avec 1 mL d'éthanol 70%, centrifugé à nouveau à 10 000 rpm pendant 1 minute et récupéré.

Les tubes sont laissés à l'air libre pendant 30 minutes pour sécher, puis 50 μL d'eau ultrapure sont ajoutés. La concentration et la pureté de l'ADN génomique sont mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre (Nanodrop) (voir annexe 23). Enfin, les échantillons sont congelés à -20°C.

3. Mesure de la concentration et la pureté de l'ADN Génomique

La détermination de la concertation et la pureté de l'ADN est effectuée par la mesure de l'absorbance à 260nm et 280nm selon la formule suivante : $C(\mu g/mL) = (A 260) x50$.

La pureté de l'ADN est indiquée par le rapport (A260/A280). Ce ratio doit être proche de 1,8. Un rapport plus élevé indique une contamination par l'ARN, tant dis qu'une valeur basse suggère la présence des protéines ou des phénols. Les mesures d'absorbance ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre (NanoDrop8000 Thermoscientific).

La concentration d'ADN dans l'échantillon doit être d'au moins $20\mu g/L$, et le rapport d'absorbance enregistré entre $\lambda 260$ et $\lambda 280$ nm doit être compris entre 1,6 et 1,8.

4. Amplification de l'ADN (PCR)

La PCR est une méthode permettant d'obtenir rapidement une quantité importante d'un segment précis d'ADN génomique grâce à l'utilisation de deux amorces de polarités opposées encadrant le fragment à amplifier, l'amplification de l'ADN étant exponentielle (Mullis et al., 1986; Saiki et al., 1985). Pour cette manipulation un kit d'amplification Taq polymérase (Invitrogen By life technologies) a été utilisé.

NB: les amorces utilisées sont des amorces universelles visant à amplifier la région de l'ADN codante pour l'ARN16s, d'une taille de 1500 pdb, à savoir : 27F (5'-AGA GTT TGA TCA TGG CTC AG-3') et 1492R (5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3').

Les réactions PCR sont effectuées pour le couple d'amorces pour les différents isolats bactériens. Dans un volume réactionnel final 40 μ L, sont ajoutés : 1 μ L d'ADN génomique, 27,4 μ L eau Milli-Q, 4 μ L du tampon, 0,8 μ L de dNTPs, MgCl₂ : 3,2 μ L, 1,6 μ L d'amorces et 0,4 μ L de la Taq Polymerase (Belahmadi *et al.*, 2023).

L'amplification est réalisée dans un thermocycleur de type « Veriti 96 Well Thermal Cycler » (voir annexe 25). en appliquant le programme mentionné dans le tableau 5.

| Dénaturation initiale | 94°C | 4 min |
|-----------------------|------|--------|
| 30 cycles | 94°C | 1 min |
| | 55°C | 1 min |
| | 72°C | 2 min |
| Extension final | 72°C | 10 min |
| Maintenir | 4°C | ∞ |

Tableau 5 : Conditions de la PCR pour l'amplification.

5. Purification des amplifiats PCR

Les produits PCR sont purifiés à l'aide du kit de purification Invitrogen (Life Technologies). Pour cela, 4 volumes de solution de liaison (binding buffer B2, contenant de l'isopropanol) sont ajoutés à 1 volume de produit PCR (environ 60 μ L pour 15 μ L de PCR), et le mélange est bien agité.

Le mélange est ensuite transféré dans une colonne de purification (*spin column*) et centrifugé à 10 000 g pendant 1 minute, le filtrat est éliminé. La colonne de purification est replacée dans le même tube, 650 µL de solution de lavage (wash buffer W1, contenant de l'éthanol) sont ajoutés, et le tout est centrifugé à 10 000 g pendant 1 minute.

Le filtrat est à nouveau éliminé, et une centrifugation supplémentaire est effectuée à vitesse maximale pendant 3 minutes pour sécher la colonne. La colonne est ensuite transférée dans un nouveau tube, 30 µL de tampon d'élution (élution buffer E1) sont ajoutés, et le tout est incubé à température ambiante pendant 3 minutes.

Enfin, la solution est centrifugée à vitesse maximale pendant 3 minutes. Les échantillons purifiés sont ensuite congelés à -20°C (Belahmadi et al., 2023).

6. Vérification des amplifiants par Électrophorèse

Cette vérification est réalisée par la méthode décrite par (Belahmadi et al. 2023).

Afin de confirmer le bon déroulement de la PCR et l'amplification de la bonne région de l'ADN, les fragments amplifiés obtenus sont séparés selon leur poids moléculaire par électrophorèse sur gel d'agarose à 2%. La migration a été réalisée en présence du tampon TBE 1X à un voltage constant (de 50 à 100 V) pour une durée de 15 à 20 minutes. Le marqueur de taille utilisé est le 50 pdb (Invitrogen By life technologies).

Le gel est ensuite visualisé dans un system d'imagerie sur gel (Molecular Imager. Gel DOC XR+. BIORAD) (voir annexe 26).

7. Séquençage

Une fois l'ADN purifié, les étapes suivantes sont réalisées :

- Une PCR pour le séquençage (selon le manuel du séquenceur 3500XL Genetic Analyzer. Applied Biosystems / HITACHI) dans les conditions mentionnées dans le Tableau 6.
- Un séquençage (DNA Sequencing by Capillary Electrophoresis, Applied Biosystems Chemistry Guide, Third Edition),

Les séquençages directs des produits PCR ont été effectués par un séquenceur (3500XL Genetic Analyzer. Applied Biosystems / HITACHI) (voir annexe 27), selon la méthode de terminaison de chaîne par didéoxynucléotides. Les résultats sont visualisés sur des chromatogrammes, les 4 types de ddNTP étant marqués par des fluorochromes différents.

Tableau 6 : Conditions de la PCR pour le séquençage.

| Dénaturation initiale | 96°C | 1min |
|-----------------------|------|------|
| 25 cycles | 96°C | 30s |
| | 50°C | 10s |
| | 50°C | 5s |
| Extension final | 60°C | 4min |
| Maintenir | 4°C | 8 |

8. Correction et reconstitution des séquences

La correction et reconstitution des séquences ont été effectuées à l'aide du logiciel (Sequencher 4.1.4), qui permet de visualiser les résultats du séquençage sous forme d'électrophorégramme. Ce logiciel permet une correction manuelle directe des séquences et la suppression des parties initiales ou finales des séquences souvent illisibles ou présentant des pics arrondis (Voir annexe 27)

9. Recherche de similarités

La recherche de similarités entre la séquence d'ADNr 16S et la base de données GenBank du National Center for Biotechnology Information (NCBI) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) a été réalisée en utilisant l'outil d'alignement Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Cette étape permet l'identifier les séquences par homologie avec d'autres séquences et d'affilier l'isolat étudié à un groupe taxinomique.

10. Construction d'arbres phylogénétiques

L'analyse phylogénétique consiste à évaluer les divergences entre plusieurs séquences : plus le nombre de substitutions entre deux séquences est élevé, plus la probabilité que ces deux séquences aient un ancêtre commun est fiable. L'arbre phylogénétique est une représentation des résultats obtenus.

L'analyse génétique évolutive moléculaire a été réalisée par le logiciel (MEGA software) en utilisant *the neighbor-joining method*. Cette approche a permis de générer une matrice de distance par comparaison des séquences d'ADN, cette matrice a été ensuite représentée sous forme d'un arbre phylogénétique.

Troisième partie : suivie de la dégradation de l'effluent et du colorant

Pour répondre de manière objective aux défis associés au traitement des effluents industrielle, particulièrement ceux des industries de textile, il est désormais impératif d'explorer des approches hybrides. La présente étude se focalise sur deux approches de traitement distinctes : un prétraitement chimique combinant le persulfate de sodium et l'expositions aux UV solaires, suivi d'une biorestauration par des bactéries (traitement biologique).

1. Traitement par le procédé d'oxydation avancée (POA) (Na₂S₂O₈/UV).

1.1. Choix de du substrat

Le colorant Rouge sombre (Dark Red), sélectionné pour le présent travail, est considéré comme une molécule récalcitrante, reconnue par sa toxicité et sa persistance dans l'environnement. De même, l'effluent étudié est un mélange de colorants et d'autres matières organiques, constituant une source de carbone.

1.2. Milieu de réaction

Le milieu de réaction sélectionné est un milieu minimum à base des sels (MSM) comprenant uniquement le colorant DARK RED comme source de carbone. La composition détaillée de ce milieu de culture est rapportée dans l'annexe 34.

Le mode opératoire est très simple et il comporte les étapes suivantes :

| Effluent | Dans un bécher de 500 mL, 11.904g du persulfate ont été ajoutés à 250 mL de l'effluent à pH 12. | |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | Dans un bécher de 500mL, 11.904g du persulfate ont été ajouté mL du milieu minimum à pH 7 contenant 100 ppm de colorant | |
| Colorant | 120ppm | Dans un bécher de 500mL, 11.904g du persulfate ont été ajoutés à 250 mL du milieu minimum à pH 7 contenant 120 ppm de colorant. |
| Colorant | 140ppm | Dans un bécher de 500mL, 11.904g du persulfate ont été ajoutés à 250 mL du milieu minimum à pH 7 contenant 140 ppm de colorant. |
| | 160ррт | Dans un bécher de 500mL, 11.904g du persulfate ont été ajoutés à 250 mL du milieu minimum à pH 7 contenant 160 ppm de colorant. |

Les béchers sont ensuite exposés aux rayons solaires sous une agitation continue pendant 60 min. Des prélèvements ont été effectués à différents intervalles de temps (0, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 min) à l'aide de seringues, dans le but de mesurer divers paramètres (Analyse UV-Vis, DO). De plus, l'intensité lumineuse a été évaluée à l'aide d'un radiomètre (UVX) à trois longueurs d'ondes : 254 nm, 310 nm et 365 nm (voir annexe 33).

2. Traitement hybride (POA/biologique)

Le principe fondamental de la biodégradation aérobie repose sur le processus de dégradation des composés organiques, également connus sous le nom de substrats, par des microorganismes tels que les bactéries. Ces réactions d'oxydation se produisent exclusivement dans un milieu aqueux où les consortia microbiens sont présents.

Les substrats varient en termes de biodégradabilité, (le colorant dans notre cas + l'effluent), certains étant facilement dégradables tandis que d'autres sont qualifiés de récalcitrants. L'interaction entre les microorganismes et les substrats peut conduire à divers résultats, notamment la transformation en biomasse et en énergie, l'oxydation complète ou minéralisation, ou une dégradation partielle avec la formation de composés stables par biotransformation, voire une polymérisation plus complexe.

Dans le traitement biologique, les béchers sont préparés de la même manière que le traitement chimique et exposés aux rayons solaires sous une agitation continue. Cependant, il y a une différence : Les béchers ont été préalablement stérilisés, et l'ajout du persulfate a été effectué sous sorbonne afin de maintenir les conditions stériles et d'éviter toute contamination de l'échantillon. Aucun prélèvement n'a été effectué pendant le traitement chimique. Après 60 minutes, les béchers ont été ensemencés avec 12,5 mL d'un consortium composé de 5 souches bactériennes (cultures jeunes) isolées à partir de l'effluent. Ensuite, les béchers ont été incubés à 30°C sous agitation à 150 rpm pendant 15 jours, avec un suivi effectué tous les 4 jours pour mesurer la charge microbienne à 620 nm.

3. Isolement et identification de souches microbiennes pouvant utiliser le colorant comme seule source de carbone et d'énergie

A la fin d'incubation, un prélèvement de 100µL est effectué à partir des béchers afin d'isoler et identifier les souches bactériennes ayant dégradé différentes concentrations du colorant en l'utilisant comme seule source de carbone et d'énergie. L'isolement est réalisé sur gélose nutritive pH 7 et un bouillon nutritif pH 3 et l'identification moléculaire est effectuée en reproduisant les mêmes méthodes décrites précédemment.

Résultats et discussion

Première partie : Analyse et caractérisation physicochimique de l'effluent et du colorant

1. Paramètres physicochimiques de l'effluent avant traitement

Les propriétés physico-chimiques de l'effluent final généré par l'industrie textile EATIT Batna, contenant un mélange de nombreux colorants organiques et divers produits chimiques évacués après les différents procédés, ont été évaluées. Les analyses ont porté sur les données de : pH, température, conductivité, total des solides dissous (TDS), salinité, matière en suspension (MES), DBO₅, DCO (avant et après traitement), azote Kjeldahl, orthophpsphates, nitrates et nitrites.

L'objectif de cette analyse était de comprendre les caractéristiques de l'effluent et d'identifier les méthodes de traitement les plus efficaces pour réduire leur impact environnemental. Les valeurs enregistrées sont représentées dans le tableau 7 :

Tableau 7 : Caractéristiques physico-chimique de l'effluent.

| Paramètres | Unité | Valeur obtenue | Normes nationales | Norme internationales |
|-----------------------------------------|------------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|
| Température | °C | 30 | 30 | <30°C |
| рН | / | 12,236 | 6,5-8,5 | 6,5-8,5 |
| Conductivité électrique (CE) | μS/cm | 18880 | - | - |
| Total des Solide Dissous (TDS) | mg/L | 9240 | - | <1200 |
| Salinité | ppm | 9,3 | - | - |
| Demande Biologique en Oxygène (DBO5) | mg d'O ₂ /L | 50 | 35 | <30 |
| Matière en suspension (MES) | mg/L | 126,66 | 35 | <20 |
| Orthophosphates | mg/L | 0,00550444 | - | - |
| Nitrate | mg/L | 15,8789527 | - | <1m |
| Nitrite | mg/L | 1,0989011 | 1 | <1 |
| Azote Kjeldahl | mg/L | 29,4 | 30 | - |
| Demande chimique en oxygène (DCO) | mg/L | 1248 | 120 | <90 |

Les valeurs enregistrées dans le tableau 7 fournissent une indication de la composition et de la nature de l'effluent. Ces résultats illustres :

La couleur vert foncé de l'effluent a été examinée, mettant en évidence des différences notables par rapport aux recherches antérieures, notamment celles menées par **Talouizte** *et al.* (2020) dans leur étude sur un effluent industriel au Maroc, ont observé une gamme de couleurs allant du bleu au noir, dans les effluents textiles étudiés. Cette variation de la couleur des effluents textiles rejetés est due à la variation des colorants et des pigments utilisés au cours du processus de production.

La température de l'eau influe sur divers paramètres, notamment l'oxygène dissous, la conductivité. Malgré l'utilisation fréquente des températures élevées lors du processus de traitement du tissu,

la température de l'effluent mesurée *in situ* était de 30°C qui corresponde aux valeurs des normes nationales et internationales et inferieure aux valeurs trouvées par **Talouizte** *et al.* (2020) qui ont enregistré des valeurs entre 40-45°C. Cela peut s'expliquer par un stockage de l'effluent avant son diversement dans l'environnent.

Le pH, reflétant de la concentration en ions H⁺ d'une eau (pH = - log [H⁺]). Le pH de l'effluent était de 12,23. Cette valeur est extrêmement élevée que les normes algériennes qui se sitent dans l'intervalle de 6,5 à 8, et les valeurs trouvées par **Talouizte** *et al.* (2020) et **Ghaly** *et al.* (2014) dont les valeurs du pH varient entre 7.2 et 8.1, toutes ces valeurs indiquent l'alcalinité du l'effluent. Cela peut être expliqué par l'utilisation de l'hydroxyde de sodium (NaOH) dans la chaine de traitement du tissu, ce qui a entrainé l'augmentation du pH de l'effluent.

La mesure de la conductivité est un moyen permettant de détecter une contamination minérale en mesurant la quantité totale d'espèces chargées (Ademe, 1999).

- Plus la température augmente plus la conductivité électrique augmente.
- Plus la solution contient de sels d'acides ou de bases, plus la conductivité électrique augmente.
 - Plus la viscosité de la solution est élevée, plus la conductivité électrique diminue.

Une valeur élevée de la conductivité électrique indique également la présence d'une charge importante de pollution minéral. La mesure de la conductivité de l'effluent donne une valeur de 18880 μS/cm, la valeur dépasse largement les valeurs 398–530 μS/cm trouvées par Koli *et al.* (2018) dans leur étude de caractérisation d'un effluent industriel en Inde.

La demande biochimique en oxygène sur 5 jours (DBO₅) est définie comme la concentration en masse d'oxygène dissous, consommée par les microorganismes pour l'oxydation biochimique des matières organiques contenues dans l'échantillon. La DBO₅ est influencée par la nature et la quantité de microorganismes présents dans l'échantillon (**Rodier** *et al.*, 2009).

Dans notre cas, les microorganismes dégradent la matière organique présente dans l'effluent en consommant l'oxygène dissous et en générant le dioxyde de carbone et de l'eau. La formule de cette réaction est expliquée comme suit :

Microorganismes + O_2 + Matière Organique \longrightarrow CO_2 + H_2O + Microorganismes

Les résultats de la mesure de la DBO₅ de l'effluent s'élèvent à 50 mg d'O₂/L. c'est une faible valeur en comparant avec les résultats obtenus par Ali et al. (2009) et Imtiazuddin et al. (2012), mais par rapport à la valeur de la norme algérienne, qui est de 35 mg d'O₂/L, elle est significativement élevée, indiquant une consommation d'oxygène substantielle par les microorganismes. Cela révèle donc une concentration élevée de matière organique biodégradable présente dans l'effluent. Quant à la concentration totale des solides dissous (TDS) de l'effluent, mesurée enregistre une valeur de 9240 mg/L, est supérieur à la norme établie par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), qui fixe un seuil maximal de 1200 mg/L et les valeurs obtenues par Ali et al. (2009). La mesure de la salinité apporte une information globale sur la masse de sels dissous dans une eau, exprimée en ppm ou mg/L. La conductivité et la salinité sont de bons indicateurs du degré de minéralisation d'une eau, car elles sont liées à la quantité de substances dissoutes dans l'eau (Sushil et Sandeep, 2023).

La mesure de la matière en suspension (MES) est déterminée par la pesée, elle permet d'évaluer la teneur des particules non dissoutes dans l'eau, qu'elles soient minérales ou organiques. Cela inclus divers éléments à savoir les argiles, les sables, les limons, ainsi que les matières organiques et minérales de faible dimension, le plancton et d'autres microorganismes aquatiques.

Dans l'effluent examiné, la concentration de MES mesurée atteint une valeur de 126,66 mg/L inferieure aux résultats trouvés par **Guedri et Ghanmi (2020)** dans leur étude sur l'évaluation de la qualité d'un effluent traité par le procédé Fenton. En comparant cette teneur aux normes nationales et internationales, il apparaît que la concentration d'effluent dépasse de manière très significative les seuils autorisés. Cette élévation peut être attribuée à l'utilisation de divers produits chimiques notamment les colorants pendant le processus de fabrication du tissu.

Les orthophosphates (ions PO₄) représentent la forme la plus simple et la plus répandue des phosphates dans l'eau, correspondant à une forme du phosphore minérale oxydé, ils sont le composé prédominant dans la charge totale en phosphate. Généralement, ils ne présentent qu'un faible niveau de toxicité pour les poissons (Huang et al., 2023). Cependant, leur présence en quantité excessive peut favoriser l'eutrophisation.

Selon **Komala** *et al.* **(2020)**, un niveau d'orthophosphate supérieur au-delà à 0,5 mg/L, conformément à la norme de qualité environnementale, orthophosphates est considéré comme préjudiciable à la qualité de l'eau et des cours d'eau.

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent une valeur de 0,0055 mg/L, soit 100 fois inférieure à la norme définie. Cela permet de conclure que la présence des orthophosphates dans l'effluent ne présente aucun impact négatif sur l'environnement.

La formation des nitrates dans les eaux est une étape du cycle de l'azote, un processus naturel régulé par l'activité des microorganismes. Les niveaux enregistrés dans ce travail, avoisinant les 15,87mg/L, dépassent largement la limite fixée par les normes internationales, qui doit être inférieure à 1mg/L, ainsi que les résultats trouvés par Somensi *et al.* (2010). Cette teneur élevée en nitrates dans notre effluent peut s'expliquer par une forte dénitrification, due à la minéralisation de l'azote ammoniacal en nitrates par l'action de bactéries dénitrifiantes (Abbou *et al.*, 2014). En revanche, la faible teneur en nitrites, à seulement 1,09mg/L par rapport à celle obtenue par Fang *et al.* (2012), est expliquée par la conversion des nitrites en nitrates.

L'azote Kjeldahl, en tant qu'indicateur de la disponibilité en nutriments, joue un rôle essentiel pour la croissance des végétaux. Cependant, un excès de cet élément, résultant des rejets industriels, agricoles et domestiques, peut induire une eutrophisation des cours d'eau, ce qui peut être néfaste pour la vie aquatique (Hicks et al., 2022).

La teneur de l'azote Kjeldahl, mesurée dans l'effluent, soit 29,4 mg/L, est conforme à la norme établie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), qui fixe un seuil maximal de 30 mg/L.

La demande chimique en oxygène (DCO) est la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder les matières existantes dans l'échantillon. Cette mesure correspond à une estimation des matières susceptibles d'être oxydées, qu'elles soient d'origine organique ou minérale. Elle est déterminée par l'oxydation de l'échantillon par le dichromate de potassium K₂Cr₂O₇ en présence d'acide sulfurique, de sulfate d'argent (catalyseur) et de sulfate de mercure (Rodier et al., 2009). La DCO totale de notre effluent textile est de 1248 mg/L, dépassant les limites fixées par les normes nationales et internationales ainsi que les valeurs obtenues par Shammi et al. (2016). Les teneurs des différents paramètres déterminés lors de cette études sont très élevées et dépassant largement les normes nationales et internationales admises. Cela souligne la nécessité de traiter cet effluent avant de le déverser dans l'environnement.

4,0 – 3,5 – 3,0 – 0,5 – 0,0 – 0,5 – 0,0 –

2. Évaluation spectrale de l'effluent

300

-0,5

200

Figure 14 : Spectre à évolution UV-VIS du l'effluent brut

500

Longueur d'onde (nm)

700

800

600

La figure 14 présente le spectre d'absorption de l'effluent brut obtenu à pH 12 et dilué X100.

400

Le spectre d'absorbance se divise en deux parties : la première, dans la plage de l'ultraviolet, détecte principalement la présence des composés organiques dans l'échantillon comme rapporté par **Eyrignoux (2013)**, et la seconde, dans l'intervalle du visible, en effectuant un balayage de 400 à 800 nm, suggérant la présence des colorants.

Dans le spectre UV, une forte absorbance est observée, atteignant un maximum de 3,839 à 248 nm. Les valeurs d'absorbance diminuent progressivement pour les longueurs d'ondes allant de 344 nm jusqu'à 800 nm, où des valeurs d'absorbance variant entre 1,758 et 0,024 ont été enregistrées.

Cependant, **Singh** *et al.* (2015), dans leur étude sur les effluents bruts, de l'industrie textile, avant dégradation biologique, ont observé une forte absorbance dans le spectre visible, atteignant une valeur d'environ 2. De plus, ils ont identifié une petite bande dans le spectre UV avec une valeur d'absorption d'environ 0,4. Ces résultats contrastent avec les nôtres, où la forte absorbance est principalement observée dans l'UV, indiquant des différences potentielles dans la composition des effluents. La diminution des absorbances et les différentes bandes d'absorption visibles indiquent la présence de colorants dans l'effluent.

En effet, les colorants industriels absorbent généralement la lumière dans le spectre visible grâce aux groupements chromophores, qui absorbent la lumière dans le visible (400 et 800nm) ou dans le proche UV (autour de 400nm), conférant ainsi des couleurs visibles à la solution (Capon *et al.*, 1999).

3. Analyse du colorant

• Choix du colorant

Dans le but de choisir le colorant le plus stable pour suivre sa dégradation, une étude spectrale du comportement des six colorants à différents pH a été effectuée (Voir annexe 17).

Le choix du colorant répond au critère de stabilité permanente aux variations du pH

Sur la base des spectres obtenus, le colorant rouge sombre a été choisie pour la suite du travail.

L'ensemble des propriétés de rouge sombre 167 sont récapitulés dans l'annexe 22.

• Comportement du rouge sombre 167 (Dark Red 167) en fonction du pH

L'étude du comportement du colorant rouge sombre 167 à différents pH (7, 2,7 et 12,6) a révélé la stabilité spectrale significative, comme illustré dans la Figure 15.

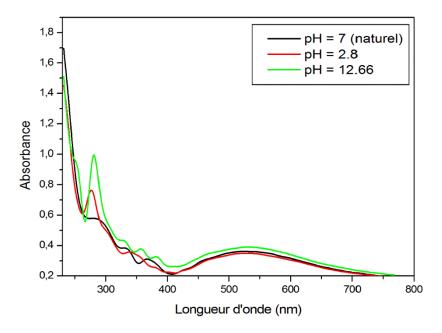


Figure 15: Effet du pH sur l'absorbance du colorant rouge sombre 167.

Le colorant présente une absorbance maximale stable à 532 nm dans le spectre visible, et aucun changement sur la couleur ou de la position des bandes n'est observé. Cette constance indique que la structure chromophore du colorant rouge sombre 167 n'a pas été affectée par les variations de pH dans les conditions étudiées, ce qui suggère une stabilité et résistance chimique aux changements des environnements : acide, neutre et basique. En contraste, l'étude menée par **Aliouche (2017)**, a montré que d'autres colorants comme le jaune d'alizarine a été influencé par alcalinité du milieu.

Deuxième partie : Identification moléculaire des souches bactériennes

1. Isolement et purification des souches bactériennes avant traitement

A l'issu de la mise en culture de l'effluent et après incubation à 30°C pendant 72h sur gélose nutritive, un développement d'un *Consortium* bactérien a été enregistré (Figure 16). Cinque souches ont été sélectionnées et purifiées à partir les deux boites de la solution mère, produisant diverses colonies après repiquage individuel à différents pH afin d'évaluer leur pouvoir alcaliphile (tableau 9).

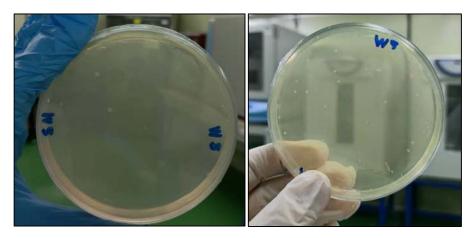


Figure 16 : Consortium bactérien isolé à partir de l'effluent après incubation à 30°C pendant 72h. (Photo personnelle)

2. La charge bactérienne

Le dénombrement bactérien a été calculé pour déterminer la charge bactérienne présente dans l'effluent. Ce dénombrement est exprimé en UFC et présenté dans le tableau 8.

| Tableau 8 : dénombrement des color |
|------------------------------------|
|------------------------------------|

| Répétition | Boite 1 | Boite 2 | Bactéries |
|---------------|---------|---------|---------------|
| Solution mère | 70 | 25 | N= 545 UFC/mL |
| 10-1 | 11 | 14 | |

A l'issu de la mise en culture des isolats purifiés sur gélose nutritive à différents pH (7, 8.5, 10 et 11),

les résultats révèlent des changements significatifs dans la morphologie des colonies en fonction du pH du milieu, affectant ainsi la couleur, l'aspect et la forme des colonies sur toute la gamme du pH testée, de 7 à 11 (Tableau 9).

Tableau 9 : les souches isolées à partir de l'effluent à pH = 7, 8,5, 10 et 11.

| pН | 7 | 8,5 |
|-----------------|------------------------------|------------------------------|
| Résultats | Présence de croissance | Présence de croissance |
| | | 2 2H=8 7c of pH=8 5 |
| | | |
| pН | 10 | 11 |
| pH Résultats | 10 Présence de croissance | 11 Présence de croissance |

Ces observations mettent en lumière le rôle crucial du pH dans la croissance et la morphologie des souches isolées, ce qui peut affecter les enzymes essentielles à la croissance microbienne. En effet, ces enzymes ont des plages de pH optimales,

et des variations de ces plages peuvent inhiber les réactions biochimiques nécessaires à la survie et à la multiplication des cellules. De plus, le pH peut également affecter la perméabilité de la membrane cellulaire, comme rapporté par **Pelmont** (2005).

Certaines souches peuvent développer des mécanismes d'adaptation, tels que la production de pigments de protection, des changements de forme pour réduire la surface exposée, ou modification de la structure de la paroi cellulaire afin de mieux résister aux environnements hostiles, notamment à des pH alcalins. Ces adaptations leur permettant de survivre et de croître dans conditions alcalines extrêmes, et elles—sont donc qualifiées d'alcalitolérantes. (Kampfer, 2014).Par ailleurs, à pH 12, proche de celui de l'effluent à partir duquel l'isolement a été réalisé, aucune souche bactérienne n'a pu pousser. Cela peut être attribué au fait que les communautés microbiennes dans une matrice naturelle présentent un comportement différent par rapport aux conditions *in vitro*, où elles sont cultivées séparément dans des boîtes de Pétri. Cette différence résulte des interactions microbiennes présentes dans leur environnement naturel. Dans un milieu naturel, les interactions microbiennes, telles que la coopération et les échanges métaboliques, jouent un rôle crucial dans le comportement et la survie des bactéries (Davies, 2011), permettant à certaines souches de tolérer des conditions moins favorables, comme un pH plus élevé.

3. Identification moléculaire

Décrite pour la première fois à la fin des années 80, la *Polymerase Chain Reaction* (PCR) est l'une des méthodes les plus largement utilisées en biologie moléculaire pour l'identification des espèces (Saik *et al.*, 1988). Le gène de l'ADNr 16S chez les procaryotes, utilisé comme marqueur phylogénétique présente plusieurs avantages. Il est constitué de domaines hautement conservés entourant des domaines variables, possédant une taille d'environ 1500 nucléotides (Figure 17) aisément séquençables, et sa séquence suffisamment informative (Stackebrandt et Goebel, 1994; Clarridge, 2004; Ludwig, 2007). Par ailleurs, l'ADNr16S est le marqueur génétique le plus couramment utilisé pour l'étude de la phylogénie microbienne et de la taxonomie (Janda et Abbott, 2007) en raison de :

- Présent dans l'ensemble des espèces bactériennes sous forme d'opérons en un nombre variable de copies (Petti, 2007; Woese, 1987).
- Aucune modification de la fonction du gène ADNr16S au fil du temps.

- D'une longueur d'environ 1500 paires de bases, adaptée à des fins informatiques (Janda et Abbott, 2007).
- Composé de sept régions conservées et de neuf régions hypervariables, ces régions hautement conservées servent de cibles pour des amorces dites "universelles" servant à l'amplification in vitro par PCR (Weisburg et al., 1991; Chakravorty et al., 2007).

L'ensemble permet donc théoriquement d'utiliser ce gène pour identifier et détecter toute espèce microbienne.

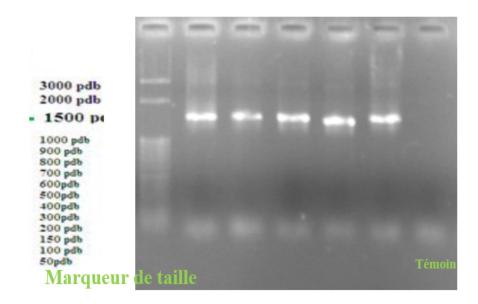


Figure 17: Migration de L'ADNr16S sur gel d'agarose.

Dans cette étude, l'identification bactérienne est fondée sur le comparaison de la séquence étudiée avec celle de la souche type la plus proche représentant l'espèce. Il est généralement admis que si la similarité est inférieure à 97% (pour le gène 16S entier), deux bactéries ne peuvent appartenir à la même espèce. Espèces bactériennes :

Les espèces bactériennes isolées et identifiées à partir de l'effluent sont rapportées dans le tableau 10. Les souches les plus similaires ont été déterminées par NCBI Blast.

Tableau 10 : Espèces bactériennes isolées et identifiées à partir de l'effluent selon les résultats de l'analyse ADNr16s.

| | Souche | Identification (numéro nomb d'accès GenBank) nucléotides | | souche type la plus similaire iméro d'accès GenBank) | % de similitude |
|-----------|-------------------|--------------------------------------------------------------------|---------|-----------------------------------------------------------|--------------------|
| S1 | BMSO BkBs 2024 | Microbacterium sp. Strain BMSO BkBs 2024 (PP748530.1) | 1341 bp | Microbacterium aurantiacum strain kitami C2 (037048.2) | 99.85% |
| S2 | MSOsk 2024 | Bacillus sp. (in: firmicutes) strain MSOsk 2024 (PP748531.1) | 1371 bp | Bacillus tequilensis strain 10b (104919.1) | 100.00% |
| S3 | BMSO BkBs 2024 | Sporosarcina sp. Strain BAAA 2024 (PP748532.1) | 751bp | Sporosarcina aquimarina strain SW28 (025049.1) | 91.14% |
| S4 | BMSO BkBs 2024 | Microbacterium sp. strain BMSO MsTr 2024 (PP748533.1) | 761 bp | Microbacterium chocolatum strain DSM 12507 (114984.1) | 99.87% |
| S5 | BMSO BkBs 2024 | Bacillus sp. (in: firmicutes) strain MSOsr 2024 (PP748534.1) | 1391 bp | Bacillus tequilensis strain 10b (104919.1) | 98.35% |

Selon l'analyse de séquence du gène ADNr16S, les souches S1, S2, S3, S4 et S5 ont été respectivement identifiées comme étant : *Microbacterium sp.* strain BMSO BkBs 2024 (PP748530.1), *Bacillus sp.* (*in: firmicutes*) strain MSOsk 2024 (PP748531.1) ,*Sporosarcina sp.* strain BAAA 2024 (PP748532.1), *Microbacterium sp.* strain BMSO MsTr 2024 (PP748533.1) et *Bacillus sp.* (*in: firmicutes*) strain MSOsr 2024 (PP748534.1) (tableau 10). Ces séquences ont été comparées à la base de données NCBI *GenBank* en utilisant le programme BLAST, et les souches les plus similaires sont :

> S1: Microbacterium aurantiacum strain kitami C2 (037048.2)

Est une bactérie du genre *Microbacterium*, isolée à partir des eaux usées, elle se présente sous forme de bâtonnets courts ; à Gram positif ; non sporulée ; pigmentés en orange ; immobile ; aérobie ; capable de croître à 37C°. Cette espèce a été décrite pour la première fois par **Takeuchi** et **Hatano** en 1998. Les bactéries du genre *Microbacterium* sont des organismes ubiquitaires dans les environnements telluriques et aériens, et sont des contaminants fréquents des produits laitiers et des denrées alimentaires. Ils sont rarement considérés comme des pathogènes pour l'homme (**Jackman**, 1995). Cette bactérie peut être cultivée à un pH de 6 à 8 avec un optimum de croissance à pH 7, et à une température comprise entre 30 et 37 °C, l'optimum étant à 30 °C.

> S2: Bacillus tequilensis strain 10b (104919.1)

Le genre *Bacillus*, appartenant à la famille des *Bacillaceae*, qui sont des bactéries à Gram positif, sporulées, en forme de bâtonnet. Il a été décrit pour la première fois à la fin du 19^{ème} siècle par Ferdinand Cohn et Robert Koch (**Cohn**, 1962; **Koch**, 1962). Ces bactéries peuvent être isolées à partir des environnements, tels que l'eau douce, l'eau saline, le sol, les plantes, les animaux et l'air (**Pignatelli** *et al.*, 2009).

L'espace *Bacillus tequilensis* est une bactérie aérobie ou anaérobie facultatif, à Grampositif, de forme bâtonnet et mobile. Elle a été isolée à partir d'un échantillon prélevé dans une tombe à puits vieille d'environ 2 000 ans, située dans l'État mexicain de Jalisco, près de la ville de Tequila (**Ash** *et al.*, 1991).

Elle peut se développer sur le sol à température optimale d'environ 28-37 °C et une plage de pH comprise entre 5,5 et 8. Cette bactérie présente une capacité significative à éliminer les colorants sombres et dangereux des effluents des industries du textile. De plus, elle possède et un grand potentiel de bioremédiation et de dégradation des polluants organiques persistants, et est même utilisée pour la décontaminer des sites de distillerie (Rameshkumar et al., 2013). Le genre Bacillus, appartenant à la famille des Bacillaceae, se compose de bactéries à Gram positif, sporulées, de forme bâtonnet. Il a été décrit pour la première fois à la fin du 19ème siècle par Ferdinand Cohn et Robert Koch (Cohn, 1962; Koch, 1962). Ces bactéries peuvent être isolées dans une variété d'environnements, tels que l'eau douce, l'eau salée, le sol, les plantes, les animaux et l'air (Pignatelli et al., 2009).

> S3: Sporosarcina aquimarina strain SW28 (025049.1)

Le nom du genre dérive de la combinaison du mot grec spora ("spore") et du mot latin sarcina ("paquet", "ensemble"), en référence à sa capacité à forme des endospores et à l'agencement typique des cellules (figure 18). Ce genre appartenant à la famille des *Bacillaceae*, a été décrit pour la première fois en 1936 par **Kluyver et Niel**. Parmi les espèces de ce genre, *Sporosarcina ureae*, la première à être décrite et désignée comme espèce type, ainsi que d'autres telles que *Sporosarcina aquimarina*, isolée de l'eau de mer. Ces bactéries se caractérisent par leur aptitude à former des spores et à tolérer diverses conditions environnementales, notamment des niveaux élevés de salinité. La majorité ont un optimum de croissance à pH 7.2-9.5 et de température 22-28 °C, bien que certaines puissent tolérer jusqu'à 42 °C.

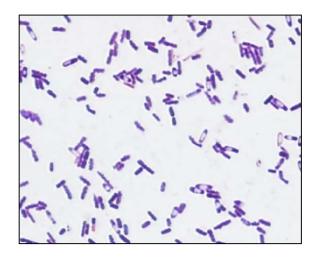


Figure 18 : Sporosarcina sp. Sous miroscope après coloration de Gram, objectif x100. (Photo persenelle)

Par exemple, *Sporosarcina aquimarina*, est une bactérie hétérotrophe facultative, a Gram positif qui présente un pH optimal de croissance de 6 et une plage de température de 10 jusqu'à 37 °C. Elle est capable d'utiliser l'urée grâce à l'enzyme uréase. De plus, elle a été étudiée pour son rôle bénéfique en agroécologie, notamment pour sa capacité à promouvoir la croissance des plantes dans des sols contaminés par des hydrocarbures ou dans des environnements salins (**Yoon et al., 2001**). Des études récentes menées par **Huang et al. (2022**), ont mis en évidence que d'autres espèces du genre *Sporosarcina*, notamment *Sporosarcina pasteurii*, peuvent être utilisées efficacement dans des processus de bioremédiation pour stabiliser les contaminants métalliques comme le plomb (Pb), le zinc (Zn) et le cadmium (Cd) dans le sol.

Cette bactérie a démontré une réduction significative des concentrations par lixiviation des métaux lourds dans le sol traité, favorisant ainsi la formation de liaisons carbonatées contribuant à la stabilisation des contaminants. *In vitro*, *Sporosarcina pasteurii* a également montré une capacité à remédier efficacement aux solutions contaminées par des métaux lourds tels que le cadmium et le chrome (**Huang** *et al.*, 2022). Ces résultats suggèrent que *Sporosarcina pasteurii* possède un potentiel prometteur pour la bioremédiation des sols et des solutions contaminés par des métaux lourds, offrant ainsi des perspectives d'applications dans des contextes variés de dépollution environnementale.

> S4: Microbacterium chocolatum strain DSM 12507 (114984.1)

Selon Clise (1948), *Microbacterium chocolatum* a été isolée d'une contamination de culture par Mhknutsen en 1944 d'eau de mer ou boue marine, est une bactérie aérobie obligatoire, à Gram positif, de forme bâtonnet. Elle présente une bonne croissance sur des supports solides en présence de l'oxygène. La température optimale pour sa croissance se situe génélement entre 28-37 °C. Par ailleurs, elle a un grand potentiel de bioremédiation et de dégradation des polluants organiques persistants, et est même utilisée pour la décontamination des milieux récepteurs d'une grande variété de pesticides (Erguven *et al.*, 2019).

> S5: Bacillus tequilensis strain 10b (104919.1)

Les analyses de séquençage et de BLAST révèlent que les souches S2 et S5 appartiennent à la même espèce, *Bacillus tequilensis*. Cette conclusion est étayée par notre étude, où les cultures sur gélose nutritive montrent que les deux souches sont morphologiquement quasi identiques, bien qu'avec quelques différences (tableau 9). La souche S2, identifiée à 100% comme *Bacillus tequilensis*, forme des colonies légèrement plus petites que celles de la souche S5 qui présente une similitude de 98.35% seulement et une texture plus visqueuse.

• Construction d'arbres phylogénétiques

Un arbre phylogénétique permet de visualiser les relations évolutives entre les organismes. Chaque nœud de l'arbre correspond un regroupement de plusieurs organismes formant ainsi une unité taxinomique ou taxon. Les branches illustrent les relations généalogiques entre ces taxons, et les longueurs des branches peuvent être proportionnelles à la distance d'évolution entre les organismes. Les schémas des arbres phylogéniques des bactéries isolées au cours de notre étude sont représentés dans les figures suivantes :

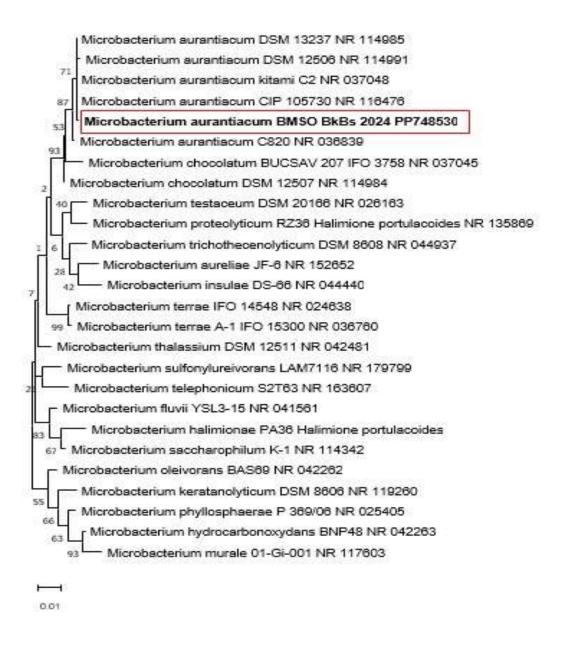


Figure 19 : Arbre phylogénétique de Microbacterium aurantiacum strain BMSO BkBs 2024.

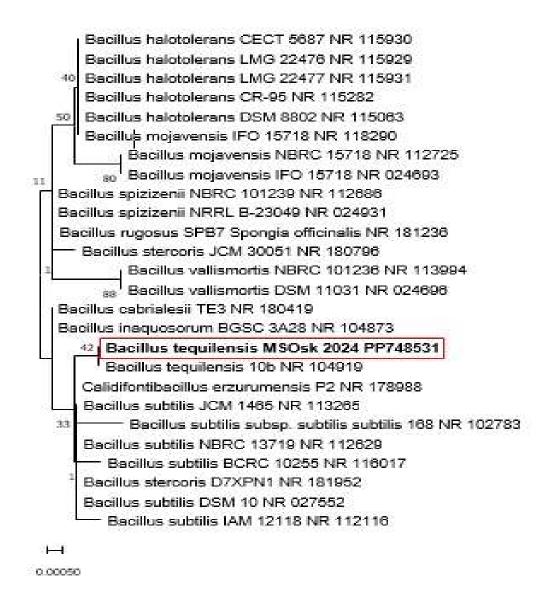


Figure 20 : Arbre phylogénétique de Bacillus tequilensis strain MSOsk 2024 (in : firmicutes).

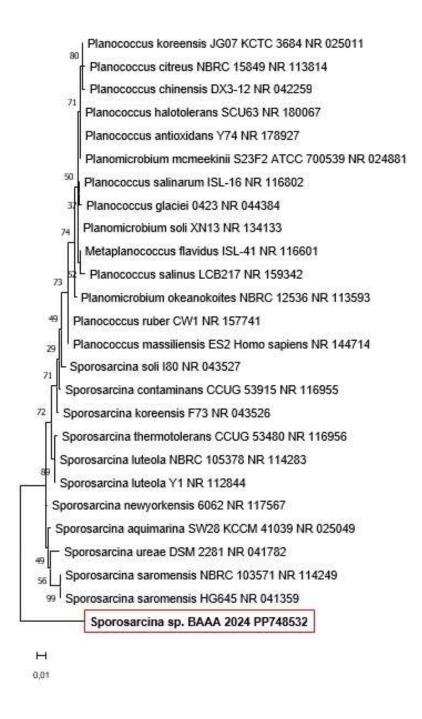


Figure 21 : Arbre phylogénétique de Sporosarcina sp. strain BAAA 2024.

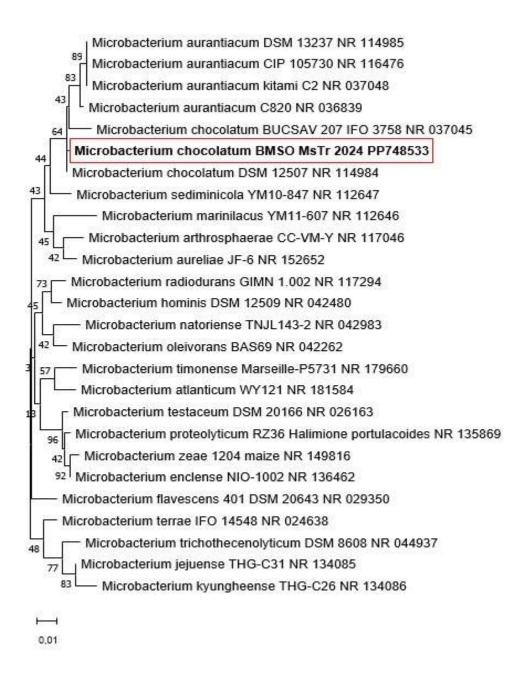


Figure 22: Arbre phylogénétique de Microbacterium chocolatum strain BMSO MsTr 2024.

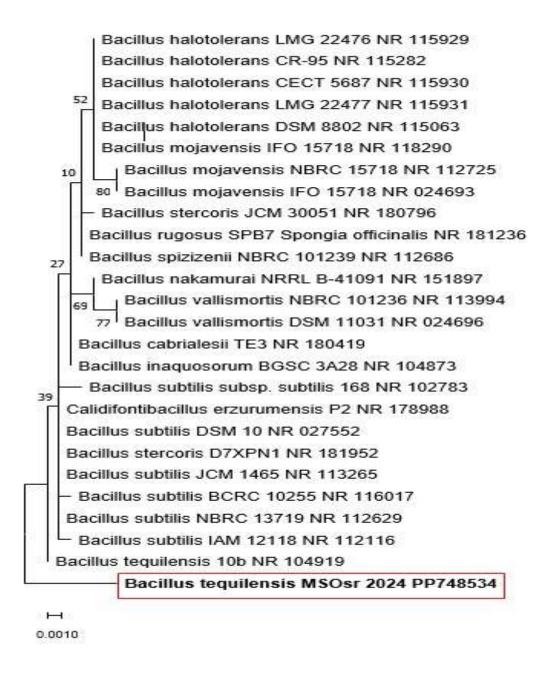
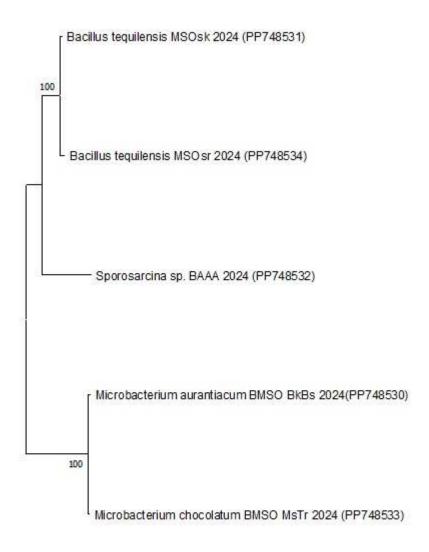


Figure 23 : Arbre phylogénétique de Bacillus tequilensis strain MSOsr 2024 (in : firmicutes).



H 0.02

Figure 24 : Arbre phylogénétique regroupant les cinq souches isolées.

Plusieurs études ont été menées dans le but d'isoler et d'identifier des microorganismes à partir d'effluents industriels, notamment ceux provenant de l'industrie textile. L'objectif est d'évaluer leur potentiel de bioremédiation des sites contaminés par des polluants, en particulier les colorants utilisés dans ces industries.

Kumar et al. (2016) ont isolé cinq souches bactériennes, dont trois appartenant aux genres Bacillus, Exiguobacterium et Acinetobacter. L'analyse des séquences d'ADN ribosomique a révélé qu'une souche présentait une similarité supérieure à 98 % avec Bacillus cereus. Une autre étude, menée par Roy et al. (2018) au Bangladesh, a isolé une souche bactérienne identifiée comme Enterobacter sp. CVSI à partir d'un effluent textile. Abbas et al. (2014) ont également isolé deux bactéries, identifiées comme Enterobacter sp. et Klebsiella pneumoniae.

Ces variations dans les genres bactériens trouvés peuvent être attribuées à divers facteurs environnementaux (le pH, la température, la saison, etc.), ainsi qu'au site d'échantillonnage, à la composition de l'effluent d'où les bactéries sont isolées, et à la position géographique. Toutes ces études sont en accord avec nos résultats, confirmant l'impact des conditions environnementales et des caractéristiques spécifiques des effluents sur la diversité microbienne.

Troisième partie : Suivie de la dégradation de l'effluent et du colorant

1. Traitement par le Procédé d'Oxydation Avancée (POA) (Na₂S₂O₈/UV)

Les procédés d'oxydation avancés (POA) génèrent un oxydant très réactif non spécifique appelé radical hydroxyle (HO•), capable de décomposer une large gamme de polluants organiques dans l'eau et les eaux usées (Wojnárovits *et al.*, 2017).

• Oxydation par le persulfate (Na₂S₂O₈)

La chimie de la réaction du persulfate est complexe et comprend une réaction radicalaire en chaîne impliquant des étapes d'initiation, de propagation et de terminaison, ainsi qu'un piégeage des radicaux. Le persulfate (PS) ou le peroxodisulfate (PDS) se présente sous trois formes de sel ; potassium, sodium et ammonium (**Behrman et Dean, 1999**).

L'ion persulfate (S₂O₈²-) est l'un des agents oxydants les plus puissants en solution aqueuse, capable de dégrader la matière organique et les colorants présents dans les effluents industriels (Sonntag et Gunten, 2012 ; Fan et al., 2014).

Toutefois, ce sel est très stable à température ambiante, et les réactions impliquant cet ion sont généralement lentes. Peu de données sont disponibles sur les constantes d'acidité de cet anion. Bien que, ce sel est très soluble dans l'eau, sa solubilité est difficile à quantifier à cause de l'existence de la réaction d'hydrolyse (Huling et Pivetz, 2007; Behrman et Dean, 1999):

$$S_2O_8^2 + H_2O \leftrightarrow H_2SO_5 + SO_4^2$$

Activation thermique du persulfate

L'activation thermique du persulfate en solution aqueuse résulte en la coupure homolytique de la liaison O-O (Bartlett et Cotman, 1949). Il se décompose généralement par voie radicalaire, produisant souvent des radicaux sulfates et des radicaux hydroxyles (Luo et al., 2015). Ces auteurs, proposent le mécanisme complet de la décomposition du persulfate en solution aqueuse selon les équations suivantes :

$$S_2O_8^{2-} \leftrightarrow 2SO_4^{-} \bullet$$

 $2SO_4^{-} \bullet + 2H_2O \leftrightarrow 2HSO_4^{-} + 2HO \bullet$
 $2HO \bullet \leftrightarrow H_2O + 1/2 O_2$

Dans cette étude, l'efficacité de l'oxydation avancée utilisant le persulfate de sodium activé par les UV solaires (Na₂S₂O₈/UV) a été évaluée pour la décoloration de l'effluent et du colorant Dark Red 167, avec une intensité de 254nm = 2,975 ; 310nm = 21,325 ; 360nm= 37,6 (Voir annexe 33). Cette activation est réalisée en appliquant une énergie externe suffisante pour dépasser l'énergie des liaisons peroxy (140-213,3 kJ/mol), permettant ainsi la rupture des liaisons dans le persulfate (PS) et la génération de radicaux sulfate ou hydroxyle (Stanislaw et al., 2017). Nos résultats montrent qu'une clarification notable de l'effluent est observée après 60 minutes de traitement (figure 25). En comparaison, Stanislaw et al. (2017) ont conclu que, bien que les persulfates soient efficaces pour l'assainissement des eaux, leur décomposition dépend fortement des techniques d'activation et de la composition de la matrice de l'eau. Les persulfates non activés réagissent lentement, mais les radicaux libres générés accélèrent ces réactions.

De plus, **Stanislaw** *et al.* (2017) ont trouvé qu'un pH acide (environ 3) favorise une décontamination rapide, tandis que des pH élevés peut augmenter les taux de réaction en activant d'avantage les persulfates et en accélérant les réactions des radicaux avec les composés déprotonés. Cela confirme que le pH initial de la réaction joue un rôle important dans l'oxydation du persulfate des eaux usées textile (Fagbenro et hamidi, 2015).

Ces résultats sont également corroborés par les études de Liang et al. (2007) et block et al. (2004). Ils ont signalé que, bien que le persulfate soit très réactif à un pH inférieur à 3, un pH supérieur à 10 est également favorable. Dans notre cas, un pH élevé de 12,236 pour l'effluent a probablement contribué à l'efficacité du procédé, confirmant que les conditions de pH influencent significativement les processus de dégradation des polluants.





t =60min final

Figure 25 : Effluent avant et après traitement par procédé d'oxydation avancé (Na₂S₂O₈/UV).

Pour étudier l'impact du colorant rouge sombre 167 à différentes concentrations, nous avons maintenu la concentration de persulfate constante à 0,2 M, tandis que les concentrations de colorant ont été variées de 100 à 160 ppm. La Figure 26 montre la décoloration des solutions du colorant. Particulièrement pour les faibles concentrations à savoir 100ppm et 120ppm, atteignant respectivement des valeurs de 0,4 et 0,7. Les résultats révèlent qu'une diminution considérable de la concentration du colorant se produit lorsque le colorant est dégradé (Figure 27).

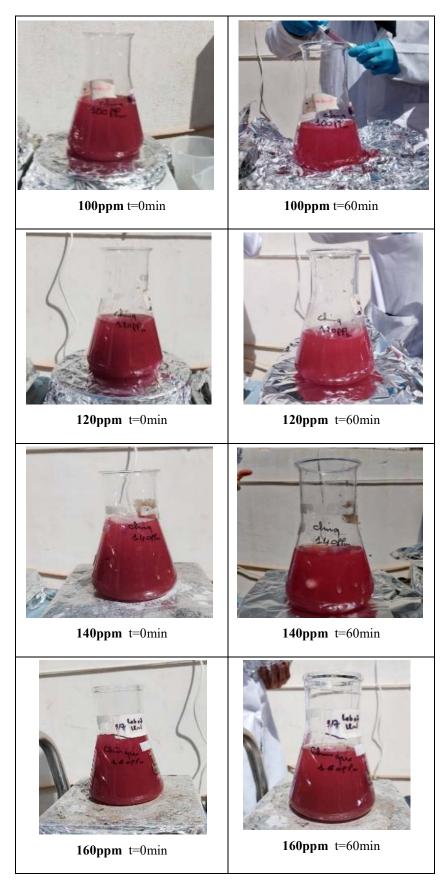


Figure 26 : Colorant rouge sombre 167avant et après traitement par procédé d'oxydation avancé (Na₂S₂O₈/UV) à quatre concentrations.

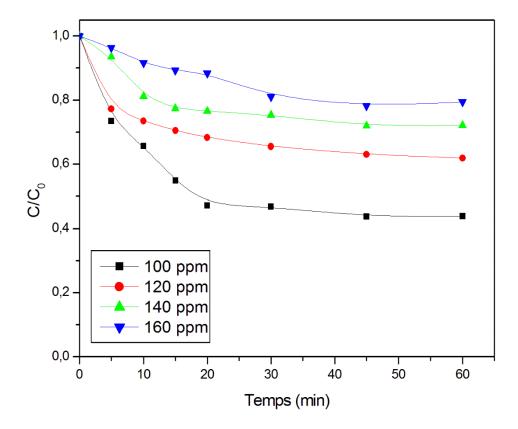


Figure 27 : Dégradation du colorant Rouge sombre 167 à différentes concentrations par le système chimique $Na_2S_2O_8/UV$, ($[Na_2S_2O_8]_0 = 0.2~M$; irradiation solaire).

Nous constatons que l'efficacité de la décoloration diminue à mesure que la concentration initiale du colorant augmente, illustrant une relation inversement proportionnelle entre la concentration du colorant et son taux de dégradation.

De manière similaire, Rasoulifard *et al.* (2012) ont étudié cet effet sur colorant rouge direct 23, variant de 5 à 40 ppm avec une concentration de persulfate constante (7,5 mM). Ils ont constaté que l'efficacité de la décoloration diminue avec l'augmentation de la concentration initiale du colorant. Cette observation est attribuée au fait que le rapport entre les radicaux actifs générés et le colorant diminue à mesure que la concentration de colorant augmente. De plus des concentrations élevées de colorant peuvent réduire la pénétration de la lumière UV, diminuant ainsi le taux de génération de radicaux sulfate et hydroxyle (Devi *et al.*, 2009). Ces conclusions sont cohérentes avec nos observations, où une concentration plus élevée de colorant réduit l'efficacité du procédé de décoloration, confirmant l'importance de la concentration initiale du colorant dans les procédés d'oxydation avancée.

2. Traitement hybride (POA/biologique)

Après 60 minutes de traitement chimique, les béchers ont été ensemencés avec un *Consortium* de bactéries, incubés pendant 16 jours à 30°C et sous agitation (150rpm). Des prélèvements ont été effectués tous les quatre jours afin de suivre la biodégradation des échantillons. La figure 28 montre les résultats de biodégradation avant et après incubation. Les bactéries ont dégradé la matière organique présente, ce qui a entrainé une clarification des solutions., une clarification notable a été observée au 16^{éme} jour.

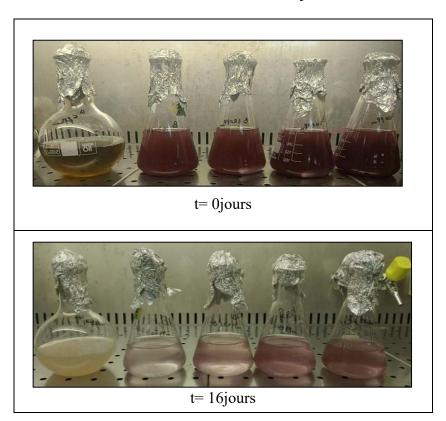


Figure 28 : Biodégradation de l'effluent et du rouge sombre 167 (POA+biologique).

La figure 29 présente un graphique illustrant la biodégradation du colorant rouge sombre 167 à différentes concentrations et à différents points de prélèvement à partir de tubes centrifugés contenant le colorant. Les résultats indiquent une diminution significative de la concentration du colorant au cours du temps, grâce à l'action bactérienne, avec une dégradation presque totale observée dans les premiers jours pour toutes les concentrations testées.

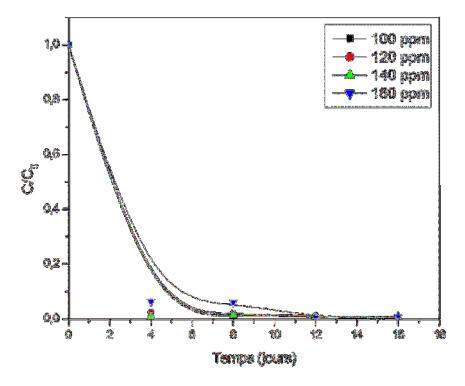


Figure 29 : Dégradation du colorant Rouge sombre a différentes concentrations par le système hybride (chimique Na₂S₂O₈/UV+ biodégradation par bactérie. ([Na₂S₂O₈]₀ = 0.2 M ; irradiation solaire).

Les bactéries ont utilisé le colorant comme seule source de carbone et d'énergie pour assurer leur croissance. En comparaison, les études menées par Wojnárovits et al. (2017), Forgacs et al. (2004) et Ghoreishi et al. (2003) ont exploré la combinaison les procédés d'oxydation avancés biologique pour le traitement de colorants synthétiques tels que le noir réactif 5 (RB5). Nos résultats démontrent une efficacité similaire dans la dégradation rapide du colorant par voie biologique, soulignant ainsi le potentiel des bactéries à décomposer les colorants en utilisant des mécanismes naturels de dégradation.

• Indice de couleur de la dégradation de l'effluent (Color Number (CN)

L'indice de couleur (CN) a été déterminé par la méthode décrite par **Tizaoui** *et al.* (2007). Le CN repose sur la mesure du coefficient d'absorption spectrale (SAC) dans le domaine visible à trois longueurs d'onde différentes, comme montré dans la réaction (CN) (Tizaoui *et al*, 2007). L'évolution du "*Color Number*" (CN) fait référence aux changements de couleur observés au fur et à mesure que l'effluent est traité. "*The Color Number*" est une mesure utilisée pour évaluer la quantité de substances colorées présentes dans l'effluent.

L'indice de couleur est calculé par l'équation suivante : $CN = \frac{Abs^2 436 + Abs^2 524 + Abs^2 600}{Abs 436 + Abs 524 + Abs 600}$

Dans cette équation, les valeurs Abs 436, Abs 524, Abs 600 représentent les mesures d'absorbance obtenues aux longueurs d'onde 436, 524 et 600 nm respectivement.

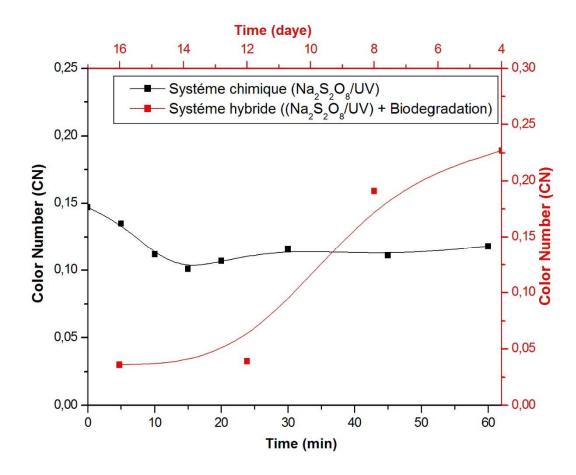


Figure 30 : Suivi de l'indice de couleur pour les deux systèmes utilisés.

Les résultats obtenus indiquent une diminution rapide et significative de l'indice de couleur (CN) de l'effluent pour les deux procédés (chimique POA et hybride). Dans le cas du traitement chimique, les valeurs du CN du système Na₂S₂O₈ / UV diminuent progressivement, et au-delà de 20 minutes, elles se stabilisent à environ 0,12.

En revanche, pour le traitement hybride, une diminution notable des valeurs du CN est observée au fil du temps, avec une décoloration de l'effluent devenue plus marquée, avec un CN atteignant 0,02. Cette réduction peut être attribuée à la biodégradation des composés organiques contenus dans l'échantillon, préalablement traités par le système Na₂S₂O₈ / UV, qui réduit la concentration des polluants et les dégrade en composés plus simples. Ces composés dégradés sont alors plus facilement utilisables par les bactéries comme source de carbone et d'énergie, facilitant ainsi leur biodégradation et conduisant à une clarification de la couleur (Ambaye et Hagos, 2020), comme illustré dans la figure 30.

Evolution du pH

Généralement, après chaque fermentation, une diminution du pH du milieu est observée, résultant de la formation de divers acides organiques produits lors du processus de fermentation des composés organiques. Cette diminution du pH atteint une valeur d'environ 5.5 (Gevorgyan et al., 2022; Shen et al., 2022).

Cependant, dans notre cas, nous avons enregistré des niveaux de pH acides dès les premiers jours de la biodégradation. Après seulement 4 jours d'incubation le pH diminue à 3, puis ,à environ 2,096 après le 8^{éme} jour. Cette tendance à la baisse se poursuit progressivement pour atteindre une valeur avoisinante 1,9 à la fin de la l'incubation (Figure 31). Cette diminution ne peut être expliquée uniquement par la formation d'acides organiques ou acides aminés soufrés. Cette observation pourrait être attribuée à l'utilisation du sulfate par les bactéries comme accepteur final d'électrons, un processus résultant de l'activation thermique combinée avec les radiations UV solaire du persulfate lors de la dégradation chimique (réaction 1).

$$S_2O_8^{2-} \stackrel{\Delta}{\leftrightarrow} 2 SO_4^{-\bullet}$$
 (réaction 1)

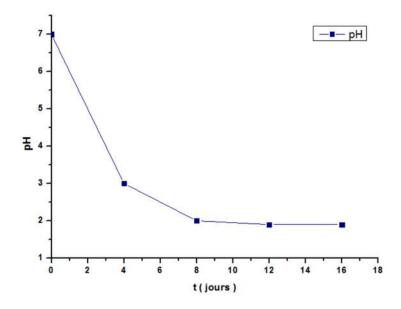


Figure 31 : Évolution de la diminution du pH sur 16 jours.



Figure 32 : Échelle de Couleurs Indiquant le pH acide de l'échantillon à la fin d'incubation. (Photo personnelle)

• Réduction de sulfate par bactéries sulfitoréductrices

Les microorganismes réducteurs de sulfate ont été considérés comme un groupe phénotypique, associé à d'autres bactéries réductrices de soufre (Norbert et al., 1981), chez les Deltaprotéobactéries, les bactéries réductrices de sulfate sont classées dans les ordres Desulfobacterales, Desulfovibrionales et Syntrophobacterales.

Ce groupe représente le plus grand ensemble de bactéries réductrices de sulfate, comprenant environ 23 genres (Gerard et al., 2008). Tant dis que, le deuxième groupe de bactéries réductrices de sulfate le plus important se trouve parmi les Firmicutes, comprenant les genres Desulfotomaculum, Desulfosporomusa, Desulfosporosinus et Bacillus. (Les Bacillota anciennement Firmicutes constituent un embranchement du règne des Bacteria. Leur nom dérive de Bacillus, le genre type de cet embranchement (Gibbons et al., 1971). Les bactéries sulfitoréductrices, y compris Bacillus, ont la capacité de réduire les sulfates en sulfures, favorisant ainsi la synthèse d'acides aminés soufrés comme la cystéine et la méthionine ainsi que de coenzymes (Le Gall, 1975).

La réduction des sulfates en conditions aérobies est un processus très complexe. Elle débute par l'activation des sulfates par la formation de la phosphoadénosine 5'-phosphosulfate, puis leur réduction en sulfite (SO₃²⁻). Ensuite, le sulfite est directement réduit en sulfure d'hydrogène (H₂S) par la sulfite-réductase assimilative (réaction 2) (LeGall et Fauque, 1988) (Figure 33). Ce sulfure d'hydrogène est ensuite oxyde en acide sulfurique, ce qui provoque une diminution du pH du milieu (Reaction 5).

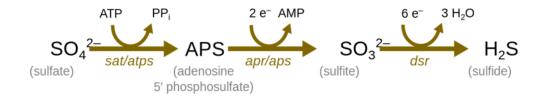


Figure 33 : Réduction des sulfates en conditions aérobies.

$$SO_4^{2-} + 8H^+ + 8e^- \rightarrow H_2S + 2H_2O$$
 (Réaction 2)

Réactions de la Formation d'acide sulfhydrique :

$$H_2S \rightarrow HS^- + H^+ (Réaction 3)$$

$$HS^- \rightarrow S_2^- + H^+$$
 (Réaction 4)

Réaction de la formation d'acide sulfurique :

$$2H_2S + 3O_2 \rightarrow 2H_2SO_4$$
 (Réaction 5)

3. Souches microbiennes montrent un potentiel de décoloration de l'effluent et du colorant (après traitement)

À la fin du traitement, une diminution brusque du pH des échantillons traités a été constatée, suggérant une modification de la composition chimique du milieu. Cette modification est probablement due à la dégradation des matières organiques résiduelles et à l'accumulation de produits acides résultant de la biodégradation.

Après traitement biologique, seulement deux souches bactériennes du genre *Bacillus* (Figure34) ont parvenu à résister aux changements des conditions de cultures, notamment au pH. Une étude menée par **Barathi** *et al.* (2019) sur la bactérie *Bacillus firmus*, confirme que les bactéries de ce genre possèdent la capacité de dégrader les colorants utilisés dans l'industrie textile. Cette recherche a démontré que *Bacillus firmus* a un potentiel significatif pour dégrader le colorant réactif bleu 160 sans produire de produits toxiques pour l'environnement (**Barathi** *et al.*, 2019). De plus sa capacité à dégrader les colorant, le genre *Bacillus* est également réputé pour son utilisation étendue dans la bioremédiation, notamment pour l'élimination des polluants organiques récalcitrants comme les hydrocarbures (Valizadeh *et al.*, 2024).

Ces observations confirment, d'une part, l'efficacité du traitement appliqué pour l'élimination des polluants, et d'autre part, la capacité des bactéries à résister à des variations importantes de pH, passant de pH 12 au départ à pH 2 à la fin du traitement.



Figure 34 : Souches obtenues après traitement « Bacillus tequilensis».

Cependant, les deux souches bactériennes du genre *Bacillus* ont été repiquées sur un bouillon nutritif à pH 3, similaire au pH des échantillons traités. Aucune croissance n'a été observée, ce qui pourrait être dû à leur capacité à sporuler dans des conditions défavorables, telles que ce pH acide, expliquant ainsi leur résistance jusqu'à la fin du traitement.

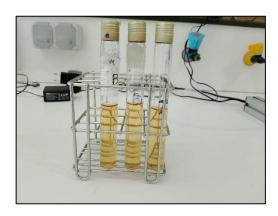


Figure 35 : Absence de croissance des deux souches bactériennes du genre *Bacillus* à pH 3.

4. Efficacité de la combinaison des procédés physicochimiques et biologiques pour la dégradation des composés organiques

La Figure 35 présente le taux d'élimination du colorant rouge sombre 167 à quatre concentrations, par les deux procédés appliqués, illustré sous forme d'histogrammes. Pour le traitement chimique, le taux d'élimination du colorant est le plus élevé à une concentration de 100 ppm, atteignant 41,80 %. Pour les autres concentrations, le taux d'élimination est inférieur à celui observé à 100 ppm, mais reste significatif, avec un taux de 30,16 % à une concentration de 160 ppm, ce qui peut être attribué à l'effet de la concentration sur la dégradation. Pour le traitement hybride, le taux d'élimination du colorant est supérieur à celui du traitement chimique seul, quelle que soit la concentration. En effet, il atteint une valeur de 99,86 % à une concentration de 100 ppm et 99,50 % à une concentration de 160 ppm, la plus élevée testée. Le traitement chimique initial réduit la concentration du colorant, permettant ainsi aux bactéries de dégrader plus efficacement le colorant restant.

Ces résultats soulignent l'importance de combiner les deux procédés pour une élimination plus efficace du colorant.

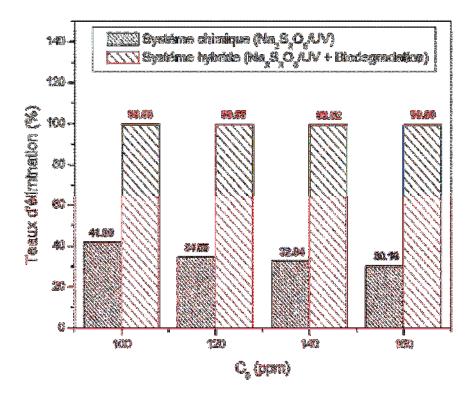


Figure 35 : Comparaison du taux d'élimination du colorant Rouge sombre par les différents systèmes.

Les procédés d'oxydation avancés ont été reconnus comme très efficaces pour améliorer la biodégradabilité de différentes eaux usées récalcitrantes (Vedrenne et al., 2012; Vilar et al., 2011).

Le traitement biologique des eaux usées textiles varie considérablement, allant de la culture bactérienne à la culture fongique ou de levures jusqu'aux consortia microbiens (Singh et al., 2015). Les bactéries, par exemple, sont capables de dégrader les colorants azoïques de manière significative dans des conditions successives anaérobies et aérobies. Les enzymes bactériennes telles que l'azoréductase, la laccase et la peroxydase peuvent dégrader ces colorants azoïques avec des taux de dégradations prometteurs (Sarkar et al., 2017).

Tous ces travaux confirment la pertinence du couplage des procédés d'oxydation avancé avec un traitement biologique pour l'élimination des composés organiques toxiques présents dans les effluents industriels.

Conclusion

En réponse aux préoccupations croissantes concernant la pollution industrielle, notamment, celle générée par l'industrie textile, cette étude s'est concentrée sur l'évaluation et le traitement des effluents de l'industrie textile EATIT Batna, avec une attention particulière portée à l'élimination du colorant rouge sombre 167. L'objectif principal de cette étude est de mettre en évidence l'intérêt du procédé hybride combinant les procédés d'oxydation avancé (POA) utilisant le Na₂S₂O₈/UV avec un traitement biologique par des bactéries, pour la dégradation d'un colorant présent dans les rejets de l'industrie textile.

La caractérisation physico-chimique initiale de l'effluent a révélée des préoccupations majeures, notamment un pH extrêmement alcalin de 12,236, une forte charge de la matière organique et des niveaux élevés de polluants. Les indicateurs de pollution tels que la DBO₅, la concentration en matières en suspension MES, les total des solide dissous (TDS), la conductivité électrique (CE), nitrates, nitrites, et la DCO dépassent les normes nationales en vigueur, soulignant ainsi la nécessité de traiter cet effluent avant son rejet dans l'environnement.

L'identification moléculaire des espèces bactériennes indigènes de l'effluent a révélé la présence de 5 souches bactérienne appartenant aux trois genres bactériens suivants : *Bacillus, Sporosarcina, Microbacterium* Les résultats du traitement ont démontré une efficacité remarquable, en particulier pour le traitement hybride, qui a montré une performance significative pour l'élimination des différentes concentrations du rouge sombre 167 et la réduction de la pollution organique dans l'effluent.

A la fin du traitement, la diminution du pH à une valeur extrêmement acide de 1.9, est dû à la présence de *Bacillus tequilensis* MSOsk 2024 (PP748531) et *Bacillus tequilensis* MSOsr 2024 (PP748534), qualifiées de bactéries sulfitioreductrice ayant la capacité de réduire le sulfate issu de la dégradation du persulfate (Na₂S₂O₈), en sulfite, qui est ensuite converti en H₂S puis en acide sulfurique (H₂SO₄), la principale cause de cette chute de pH.

Ces résultats soulignent le potentiel des approches hybrides comme solution efficace pour le traitement des effluents des industries de textiles. Cette étude apporte ainsi une contribution significative à la recherche de solutions durables pour la gestion de la pollution industrielle, avec des implications potentielles pour la préservation de l'environnement et de la santé publique. En termes de perspectives pour le présent travail, nous envisageons de :

➤ Poursuivre des recherches supplémentaires visant à optimiser ces méthodes et à évaluer leur faisabilité à l'échelle pilote, afin d'introduire ce type de

- processus de bioremédiation au niveau des stations d'épurations des eaux usées de ces industries.
- ➤ Remédier à la diminution significative du pH 1,9, afin d'étayer la possibilité de déverser l'effluent traité directement dans l'environnent. Dans le cas échéant, nous envisageons même d'utiliser le produit de traitement hybride de l'effluent pour neutraliser le pH extrêmement élevé de l'effluent d'origine, contribuant ainsi à sa restauration avant toute éventuelle élimination.

Références

- [1] Abahi K.S., Akodogbo H.H., Gouton T.R.R., Adje D.D.S.A., Gnohossou P.M et Piscart C. (2023) Evaluation de l'Effet des Eaux Usées Industrielles sur la Qualité de l'Eau de la Rivière Klou au Centre du Bénin. European Scientific Journal, 19 (3), p: 148. ff10.19044/esj.2023.v19n3p148ff. ffhal-03978398f
- [2] Abbas S.Z., Riaz M., RamzanN., Tariq M.Z., Shakoori F.R., Rafatullah M. (2014) Isolation and characterization of arsenic resistant bacteria from wastewater. *Environmental Microbiology Braz. J. Microbiol* [en ligne], 45 (4). https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000400022
- [3] Abrahart N.E et Whewell C.S. (2024) textile. *Britannica*. https://www.britannica.com/topic/textile
- [5] Ali N., Hameed A et Ahmed S. (2009) Physicochemical characterization and Bioremediation perspective of textile effluent, dyes and metals by indigenous Bacteria. *Journal of Hazardous Materials* [en ligne], (164) 1, p : 322-328. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.08.006
- [6] Aliouche S. (2017) Etude de l'élimination de deux colorants (Cristal violet et Jaune d'alizarine) par des procédés photochimiques en milieu homogène (lumière artificielle et solaire) et en milieu hétérogène (TiO2/UV et ZnO/UV). Cas de la transformation photocatalytique du Jaune d'alizarine sur un support transformé : ZnO-Bi2O3/UV. Thèse de doctorat : Chimie Analytique, Physique et Environnement. p : 221.
- [7] Al-Tohamy R., Sun J., Fareed M.F., Kenawy E.R et Ali S.S. (2020) Ecofriendly Biodegradation of Reactive Black 5 by Newly Isolated Sterigmatomyces Halophilus SSA1575, Valued for Textile Azo Dye Wastewater Processing and Detoxification. *Sci. Rep*, 10.
- [8] Andreozzi R., Caprio V., Insola A et Marotta R. (1999) Advanced oxidation process (AOPs) for water purification and recovery, Catal Today 53, p: 51-59.
- [9]APHA, (2003) Standard Methods for Water and Wastewater Analysis, 21st edition, Washington DC, USA.
- [10] Arslan I. (2001) Treatability of a simulated disperse dye-bath by ferrous iron coagulation, ozonation, and ferrous iron-catalyzed ozonation, *Journal of Hazardous Materials*, (85), Issue 3, P: 229-24. https://doi.org/10.1016/S0304-3894(01)00232-1.
- [11] Asim K.R.C. (2017) Sustainable chemical technologies for textile production. *The Textile Institute Book Series* [en ligne], P: 267-322. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102041-8.00010-X

- [12] Babu Ponnusami A., Sinha S., Ashokan H., Paul M. V., PrashantHariharan S., Arun J., Gopinath K.P., Le Q. H et Pugazhendhi A. (2023) Advanced oxidation process (AOP) combined biological process for wastewater treatment: A review on advancements, feasibility and practicability of combined techniques. *Environmental Research*, (237)1. https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116944
- [13] Barathi S., Karthik C., Nadanasabapathi S et Padikasan (2020) I.A. Biodegradation of Textile Dye Reactive Blue 160 by *Bacillus Firmus* (*Bacillaceae: Bacillales*) and Non-Target Toxicity Screening of Their Degraded Products. *Toxicol. Rep*, 7, p: 16–22.
- [14] Bartlett P.D et Cotman J.D. (1949) Journal of the American Chemical Society, (71), p: 1419-1422.
- [15] Bayramoglu G., Kunduzcu G et Arica M.Y (2020) Preparation and Characterization of Strong Cation Exchange Terpolymer Resin as Effective Adsorbent for Removal of Disperse Dyes. *Polym. Eng. Sci*, 60, p: 192–201.
- [16] Behrman E.J., Dean D.H. (1999) Sodium peroxydisulfate is a stable and cheap substitute for ammonium peroxydisulfate (persulfate) in polyacrylamide gel electrophoresis, J. *Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl*, (723) 325–326.
- [17] Ben Mansour H., Boughzala O., Dridi D., Barillier D., Chekir-Ghedira L et Mosrati R. (2011) Les colorants textiles sources de contamination de l'eau : CRIBLAGE de la toxicité et des méthodes de traitement. *sciences de l'eau* [en ligne], 24, 3, p : 193-327 (page consultée le 06/04/2024). https://doi.org/10.7202/1006453ar
- [18] Blaise C., Sergy G., Wellis P., Bermingham N et Van Coillie R. (1988) Biological testing Development, application, and trends in Canadian environmental protection laboratories." Environmental Toxicology 3, 4, p : 385-406.
- [19] Bouabdesselam H., Liazid A et Bouzidi Y. (2005) La politique environnementale en Algérie :réalités et perspectives. *Environnement, Ingénierie & Développement*, N°38 2ème Trimestre2005, p : 29-33.
- [20] Bouafia S. (2010) Dégradation des colorants textiles par le procédé d'oxydation avancée basé sur la réaction de fenton. Thèse de doctorat : Génie des procédés science et techniques de l'environnement. Université Saâddahlab faculté des sciences de l'ingénieur. 154 p.
- [21] Bradu, Corina, Elena-AlinaOlaru, Monica Magureanu, et GrégorioCrini. (2017) Chapitre XIV. Procédés d'oxydation avancée pour le traitement des eaux. In Eaux industrielles contaminées, édité par Nadia Morin-Crini et GrégorioCrini. Besançon: Presses universitaires de Franche-Comté. https://doi.org/10.4000/books.pufc.11177
- [22] Bruno L., Fávaro-Polonio C., João A. et Polonio J (2019). Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms. Biotechnology Research and Innovation [en ligne], 3(2) (page consultée le 03/04/2024). https://doi.org/10.1016/j.biori.2019.09.001.
- [23] Burkinshaw S.M et Salihu G. (2019) The Role of Auxiliaries in the Immersion Dyeing of Textile Fibres: Part 5 Practical Aspects of the Role of Inorganic Electrolytes in Dyeing Cellulosic Fibres with Direct Dyes. *Dyes Pigment*, 161, p: 581–594.

- [24] Chenini H. (2012) Etude de la dégradation par voie photochimique de polluant organique "Orange G" en milieu aqueux homogène et hétérogène, Thèse de doctorat, Université de Constantine 1.
- [25] Cao D.J., Wang J.J., Zhang Q., Wen Y.Z., Dong B., Liu R.J., Yang X et Geng G. (2019) Biodegradation of Triphenylmethane Dye Crystal Violet by Cedecea Davisae. Spectrochim. Acta Part A Mol. *Biomol. Spectrosc*, 210, p : 9-13.
- [26] Capon M., Courilleu V et Valette C. (1999) Chimie des couleurs et des odeurs, Nantes, Culture, et technique, Paris: Cultures et Techniques, Formation, ISBN-10 : 2950244424.
- [27] Cartwright M. (2023). The Textile Industry in the British Industrial Revolution *World History Encyclopedia*. [en ligne]. (page consultée le 03/04/2024). https://www.worldhistory.org/article/2183/the-textile-industry-in-the-british-industrial-rev/.
- [28] Chequer F. M. D., Angeli J. P. F., Ferraz E. R. A., Tsuboy M. S., Marcarini J. C., Mantovani, M. S *et al.* (2009) The azo dyesDisperse Red 1 and Disperse Orange 1 increase the micronucleifrequencies in human lymphocytes and in HepG2 cells. *MutationResearch/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 676 (1-2), p: 83-86.
- [29] Colin A. (1970) Chimie organique, Tome 2, éditions paris.

D

- [30] Davies J. (2011) Interactions in the Microbial World. *Nature Reviews Microbiology*.
- [31] Desore, A et Narula S.A (2018). An Overview on Corporate Response towards Sustainability Issues in Textile Industry. *Environ. Dev. Sustain*, 20, p: 1439–1459.
- [32] Devi L.G., Girish S et Mohan K., (2009) Central European Journal of Chemistry, (7) 468.
- [33] Dore M. (1989) Chimie des oxydants et traitement des eaux, Edition Paris.

E

- [34] Encyclopédie UNIVERSALIS. (2003) Les colorants.
- [35] Europarl. (2020) Production et déchets textiles : les impacts sur l'environnement (infographies) [en ligne], 218 (page consultée le 03/04/2024). https://www.europarl.europa.eu/topics/fr/article/20201208STO93327/production-et-dechets-textiles-les-impacts-sur-l-environnement-infographies

F

- [36] Fan G., Cang L., Fang G., Qin W., Ge L et Zhou D. (2014) Electrokinetic delivery of per-sulfate to remediate PCBs polluted soils: effect of injection spot, Chemosphere (117) p: 410–418.
- [37] Forgacs E., Cserhati T et Oros G. (2004) Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. Environ Int (30) p: 953–971.

- [38] Gevrogyen H., Khalatyan S., Vassilian A et Trchounian K., (2022) Metabolic pathways and pH regulation in *Escherichia coli* during the fermentation of glucose and glycerol in the presence of formate at pH 6.5: the role of FhlA transcriptional activator. *FEMS Microbiology Letter* [en ligne], (369) 1, p: 235-240. https://doi.org/10.1093/femsle/fnac109
- [39] Ghaly A.E., Ananthashankar R., Alhattab M et Ramakrishnan V.V. (2014) Production, Characterization and Treatment of Textile Effluents: A Critical Review. *J. Chem. Eng. Process Technol*, 5, p: 1–18.
- [40] Ghoreishi S.M et Haghighi R. (2003) Chemical catalytic reaction and biological oxidation for treatment of non-biodegradable textile effluent. *Chemical Engineering Journal* [en ligne], (95) 1-3. https://doi.org/10.1016/S1385-8947(03)00100-1
- [41] Gibbons NE et Murray RGE (1978) Proposals Concerning the Higher Taxa of Bacteria. *Int J SystEvolMicrobiol.*, 28(1) p : 1-6.
- [42] Griffiths J. (1984) Developments in the light absorption properties of dyes-color and photochemical reaction. Developments in the chemistry and technology of organic dyes, society of chemistry industry, *Oxford*, p: 1-30.
- [43] Guivarch E. (2004) Traitement des polluants organiques en milieu aqueux par procédé électrochimique d'oxydation avancée Electro-Fenton. Application à la minéralisation des colorants synthétique, Thèse de doctorat, Université de Marne- La Vallée.

Η

- [44] Hammami S (2008). Étude de dégradation des colorants de textile par les procédés d'oxydation avancée. Application à la dépollution des rejets industriels. Thèse de doctorat : Géomatériaux. Université de Marne la Vallée, p : 175.
- [45] Hiks D. T., Kuns C. M., Raman C., Bates T. Z et Nagarajan S. Simplified Method for the Determination of Total Kjeldahl Nitrogen in Waste water . Environement [en ligne], (9) 5, p: 55. https://doi.org/10.3390/environments9050055
- [46] Houma F (2009). Modelisation et cartographie de la pollution marine et de la bathymetrie a partie d'imagerie satellitaire. Thèse de doctorat : science de l'univers et environnement, Universite de Val de Marne.
- [47] Hsu C. H et Stedeford T. (2010) Cancer risk assessment: Chemical carcinogenesis, hazard evaluation and risk quantifica-tion. *Hoboken: John Wiley & Sons*.
- [48] Huang X., Dalsgaard J., Aalto S.L., Lund I et Pedersen P.B. Influence of dietary phosphorus on orthophosphate accumulation in recirculating aquaculture systems with rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) [en ligne], (103). https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2023.102363
- [49] Huling S.G et Pivetz B. (2007) *In-situ* chemical oxidation–engineering issue. EPA/600/R-06/072.

- [50] Imtiazuddin S.M., Mumtaz M et Mallick K.A. (2012) Pollutants of wastewater characteristics in textile industries. *J Basic App Sci*, 8 p : 554–556.
- [51] ISO. (1989) Water quality determination of biochemical oxygen demand after n days (BODn) part 2: method for undilutedsamples, ISO 5815:1989, modified. International Organization for Standardization, Geneva.
- [52] ISO. (2004) Water quality determination of phosphorus ammonium molybdate spectrometricmethod, ISO 6878:2004. International Organization for Standardization, Geneva.
- [53] Ito T., Adachi Y., Yamanashi Y et Shimada Y. (2016) Long termnatural remediation process in textile dye polluted river sedi-ment driven by bacterial community changes. *Water Research*, 100, p: 458-465

J

- [54] Jabs C.F.I et Drutz H.P. (2001) The role of Intraoperative cystoscopy in prolapse and incontinence surgery . *Am J Obstet Gynecol*, 185, p: 1368-1373.
- [55] Jin W., Luming M., Yunlu C., Yunqin C., Yan L. et Xiaosong Z (2016). Catalytic ozonation of organic pollutants from bio-treated dyeing and finishing wastewater using recycled waste iron shavings as a catalyst: Removal and pathways. *Water Research* [en ligne], 92 (page consultée le 03/04/2024). https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.01.053.
- [56] Jin X., Liu G., Xu Z et Tao W. (2007) Decolorization of a dye industry effluent by Aspergillus fumigatus XC6. *Applied microbiology and biotechnology*, 74, no. 1 p : 239-243.

K

- [57] Kampfer P. (2014). Encyclopedia of Food Microbiology. In: Second edition. *Elsevier*, United Kingdom, p: 32-48.
- [58] Kefkaf S et Yahiaoui K. (2020) Valorisation des procédés d'oxydation avancée. Application du procédés Photo-Fenton pour l'élimination des polluants émergents. Mémoire Master Recherche : Génie des procédés. Saad dahleb Blida, p : 41.
- [59] Kettab A., Mitiche R et Bennaçar N. (2020) De l'eau pour un développement durable : enjeux et stratégies. Sciences de l'eau, 21, 2, p : 247-256.
- [60] Khattab T.A., Abdelrahman M.S et Rehan M. (2020) Textile Dyeing Industry: Environmental Impacts and Remediation. *Environ. Sci. Pollut. Res*, 27, p: 3803–3818.
- [61] Kuşku H., YiğitM., ErgünS., Yiğit Ü et Taylor N. (2018) Acoustic Noise Pollution from Marine Industrial Activities: Exposure and Impacts. *Aquatic Research*, 1(4), p : 148-161. DOI: 10.3153/AR18017

L

[62] Larry L,. Barton et Guy Fauque D., (2009) Biochemistry, physiology and biotechnology of sulfate-reducingbacteria, *Applied Microbiology*, (68), p: 41–98. DOI 10.1016/S0065-2164(09)01202-7

- [63] Bacteriessulfato-reductrices: Le Gall R.J. (1975)Enzymologie de la reductiondissimilative des sulfates. Plant Soil 43, **p**: 115-124 https://doi.org/10.1007/BF01928480
- [64] Leal Filho W., Ellams D., Han S., Tyler D., Boiten V. J., Paço A., Moora H et Balogun A. (2019) A review of the socio-economic advantages of textile recycling. Journal of Cleaner Production[en ligne], 218, p : 10-20 (page consultée le 17/04/2024). https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.01.210
- [65] Li M., Li Xi., Wang L., Pei Y., An M., Liu J., Zheng X et Tang K. (2021) Highly efficient and selective removal of anionic dyes from water using a cellulose nanofibril/chitosan sponge prepared by dehydrothermal treatment. *Journal of environmental Chemical Engineering* [en ligne], 9 (5). https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105745
- [66] Li W., Mu B et Yang Y. (2019) Feasibility of Industrial-Scale Treatment of Dye Wastewater via Bio-Adsorption Technology. *Bioresour. Technol*, 277, p: 157–170.
- [67] Li W., Yu X., Na L., Jie C., Jing L., Pei W et Xuwen H. (2024) Temporal assembly patterns of microbial communities in three parallel bioreactors treating low-concentration coking wastewater with differing carbon source concentrations. *J Environ Sci (China)* [en ligne], 137 p: 455-468 (page consultée le 06/04/2024). 10.1016/j.jes.2023.03.005
- [68] Liu S.H., Tsai S.L., Guo P.Y et Lin C.W. (2020) Inducing Laccase Activity in White Rot Fungi Using Copper Ions and Improving the Efficiency of Azo Dye Treatment with Electricity Generation Using Microbial Fuel Cells. *Chemosphere*, 243.
- [69] Loehr R.C., Pollution Control for Agriculture. *Academic Press*, 1977, New York, NY, p. 382.
- [70] Louati I., Elloumi-Mseddi J., Cheikhrouhou W., Hadrich B., Nasri M., Aifa S., Woodward, S et Mechichi T. (2020) SimultaneousCleanup of Reactive Black 5 and Cadmium by a Desert Soil Bacterium. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 190.
- [71] Luo C., Ma J., Jiang J., Liu Y., Song Y., Yang Y., Guan Y et Wu D. (2015) Simulation and comparative study on the oxidation kinetics of atrazine by UV/H₂O₂, UV/HSO₅-,UV/S₂O₈²⁻, *Water Res*, (80) p: 99–108.
- [72] Jean-Baptiste M. (2019). Elimination des polluants organiques des effluents industriels aqueux par plasma non-thermique de type glidarc et le procédé photo-Fenton : Optimisation des procédés et mécanisme d'oxydation des polluants. Thèse de doctorat : Sciences et Techniques de l'Environnement. de l'Université Paris-Est et l'Université de Yaoundé I, p : 136.

M

- [73] Meireles G., Daam M.A., Sanches A.L., Zanoni M.V., Soares A.M., Gravato C et Oliveira, D.P. (2018) Red Disperse Dyes (DR 60, DR73 and DR 78) at Environmentally Realistic Concentrations Impact Biochemical Profile of Early Life Stages of Zebrafish (DanioRerio). *Chem.-Biol. Interact*, 292, p: 94–100.
- [74] Mishra R K., Mohammad N et Roychoudhury N. (2016). Soil pollution: Causes, effects and control. *VanSangyan*, (3)1.

- [75] Moncada S., Palmer R.M., et Higgs E.A. (1991) Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology . *Pharmacol. Rev*, 43, p: 109-142.
- [76] MorderIntelligence. (2024) Industrie textile Analyse de la taille et des parts Tendances et prévisions de croissance (2024 2029) [en ligne], 218 (page consultée le 17/04/2024). https://www.mordorintelligence.com/fr/industry-reports/global-textile-industry-growth-trends-and-forecast-2019---2024
- [77] Merouani S. (2009). Dégradation sonochimique de la Rhodamine B en solutions aqueuses:
- [78] Muriel, et al. (2007) Présence et devenir des hormones stéroïdiennes dans les stations de traitement des eaux usées. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, volume 20, numéro 1, p. 89–108. https://doi.org/10.7202/015739ar
- [79] Muyzer G et Stams J. M. A. (2008) The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria », Nature Reviews. Microbiology, (6), no 6, p : 441–454. DOI 10.1038/nrmicro1892

N

- [80] Nathanson J.A (2024) environmental pollution. *Britannica* [en ligne], (page consultée le 22/05/2024).
- [82] Nestmann E.R., Douglas G.R., Matula T.I., Grant C.E et Kowbel D.J. (1979) Mutagenic activity of rhodamine dyes and their impurities as detected by mutation induction in Salmonella and DNA damage in chines hamster ovary cells. *Cancer Res*, 39, p: 4412-4417.
- [83] NguyenT.A et Juang R.S. (2013) Treatment of Waters and Wastewaters Containing Sulfur Dyes: A Review. *Chem. Eng. J*,219, p: 109–117.
- [84] Norbert P., Widdel F et Trüper H.G. (1981) The Dissimilatory Sulfate-ReducingBacteria. *The Prokaryotes*, Springer Berlin Heidelberg, p : 926–940.

0

- [85] O'Neill C., Freda R.H., Dennis L.H., Nidia D.L., Helena M. P et DeléeW. (1999) Colour in textile effluents—sources, measurement, discharge consents and simulation: a review. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 74, no.11 p: 1009-1018.
- [86] Oller I., Malato S et Sánchez-Pérez J.A. (2011) Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for wastewater decontamination—A review. *Science of The Total Environment* [en ligne],(409) 20. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.08.061
- [87] Organisation for Economic Cooperatrion and Development (OECD). (1984) Activated Sludge Respiration Inhibition Test, OECD Method, 209, OECD, Paris, France.
- [88] Özkara1 A et Akyıl1 D. (2018) Environmental Pollution and Pollutants on the Ecosystem: A Review. *Turkish Journal of Scientific Reviews*, 11 (2), p:11.

- [89] Pagga U., et Brown D. (1986) The degradation of dyestuffs part II: behavior of dyestuffs in aerobic biodegradation tests. *Chemosphere*, 15, p: 479-491.
- [90] Pang Y.L and Abdullah A.Z. (2013) Current status of textile industry wastewater management and researchprogress in Malaysia: a review. *Clean–Soil, Air, Water*, 41, no. 8 p: 751-764.
- [100] Pelmont J. (2005) Biodégradations Et Métabolismes: Les Bactéries Pour Les Technologies De L'environnement. Edition EDP Science, France, p 593.

Perrin R et Scharef J.P. (1995) Chimie industrielle, Tome 2, Edition Masson, Paris.

[101] Ponnusami A.B., Sinha S., Ashokan H, Paul M. V., Hariharan S.P., Arun J., Gopinath K.P., Le Q. H. et Pugazhendhi A. (2023) Advanced oxidation process (AOP) combined biological process for wastewater treatment: A review on advancements, feasibility and practicability of combined techniques. *Environmental Research* [en ligne], (237) 1. https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.116944

[102] Puig, F., Cantarero S. et Verdone, F (2022). Coronavirus versus the textile industry: cluster lessons for future challenges. *Fash Text* [en ligne], 9 (10) (page consultée le 03/04/2024). https://doi.org/10.1186/s40691-021-00284-3.

R

- [103] Rawat D., Mishra V et Sharma R. S. (2016). Detoxification of azodyes in the context of environmental processes. *Chemosphere*,155, p:591-605.
- [104] Ren S. (2004) Assessing wastewater toxicity to activated sludge: recent research and developments. *Environment international*, 30, no. 8 p : 1151-1164.

S

- [105] Saratale R.G., Saratale G. D., Chang J. et Govindwar S.P. (2009) Decolorization and biodegradation of textiledye Navy blue HER by Trichosporon beigelii NCIM-3326. *Journal of Hazardous Materials*, 166, no. 2-3 p : 1421-1428.
- [106] Savin I.I et Butnaru R. (2008) Wastewater characteristics in textile finishing mills, *Environ.Eng. Manag. J.7*, p: 859–864.
- [107] Schowanek, Diederik, K. Fox, M. Holt, F. R. Schroeder, V. Koch, G. Cassani, M. Matthies et al. (2001) "GREAT-ER: anew tool for management and risk assessment of chemicals in river basins Contribution to GREAT-ER No. 10." WaterScience and Technology 43, no. 2 p: 179-185.
- [108] Shammi M., Kashem M. A., Rahman M. M., Hossain M. D., Rahman R. et Uddin M. K. (2016) Health risk assessment of textile effluent reuses as irrigation water in leafy vegetable *Basella alba*, *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, (5), no. 2.

- [109] Shanmugam S., Sekar H., Govindarajan R., Venkatesan A., Samraj A., Aruliah R et Muthusamy G. (2023) Impact of textile dyes on human health and bioremediation of textile industry effluent using microorganisms: current status and future prospects. *J Appl Microbiol* [en ligne], 16;134(2) (page consultée le 06/04/2024). 10.1093/jambio/lxac064
- [110] Sharma B., Dangi A. K et Shukla P. (2018) Contemporary enzyme based technologies for bioremediation: A review. *Journal of Environmental Management*, 210, p: 10-22.
- [111] Shen D., He X., Weng P., Liu Y et Wu Z. (2022) A review of yeast: High cell-density culture, molecular mechanisms of stress response and tolerance during fermentation. *FEMS Yeast Research* [en ligne], (22) 1. https://doi.org/10.1093/femsyr/foac050
- [112] Shindhal T., Rakholiya P., Varjani S., Pandey A., Ngo H.H., Guo W., Ng H.Y., et Taherzadeh M.J. 2021 A Critical Review on Advances in the Practices and Perspectives for the Treatment of Dye Industry Wastewater. *Bioengineered*, 12, p: 70–87.
- [113] Simont G. (1982) Guide des techniques de l'ennoblissement textile, Chapitre 11, Edition industrie textile.
- [114] Singh R.L., Singh P.K et Singh R.P. (2015) Enzymatic Decolorization and Degradation of Azo Dyes—A Review. *Int. Biodeterior. Biodegrad*, 104, p: 21–31.
- [115] Singh R.L., Singh P.K et Singh R.P. (2015) Enzymatic decolorization and degradation of azo dyes—a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, (104) p : 21–31.
- [116] Slabbert J. L. et Venter E. A. (1999) Biological assays for aquatic toxicity testing. *Water science and technology*, 39, no. 10-11p: 367-373.
- [117] Somensi C.A., Simionatto E.L., Bertoli S.L, Wisniewski Jr. A et Radetski C.M. (2010) Use of ozone in a pilot-scale plant for textile wastewater pre-treatment: Physico-chemical efficiency, degradation by-products identification and environmental toxicity of treated wastewater. Journal of hazadrou of Materials [en ligne], (175) 1-3, p : 235-240. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.08.006
- [118] Stanisław W., Holger V., Klaudiusz Grubel., Vinod V., Miroslav Č et Dionysios D. (2017). Chemistry of persulfates in water and wastewater treatment. Chemical *Engineering Journal* [en ligne], 330, (page consultee le 02/05/2024). https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.07.132.
- [119] Stolte M. et Vieth M. (2001) Pathologic basis of mucosal changes in the esophagus. What the endoscopist can (and must). Acta Endosc, 31, p:125-130
- [120] Sushil K. B. et Kumar S. (2022) To study on development and treatment of textile waste water by using microbiological processes and root-bed treatment in Jhunjhunu, Rajasthan. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences* [en ligne], 23(02), p: 175–181. https://doi.org/10.30574/gscbps.2023.23.2.0205

T

[121] Talouizte H., Merwouki M., Benlmlih M et Amraoui M.B. (2020) Chemical Characterization of Specific Micropollutants from Textile Industry Effluents in Fez City, Morocco. *Journal of chemistry* [en ligne], (page consultee le 30/05/2024).

- [122] Thakur S et Chauhan M.S (2018) Treatment of Dye Wastewater from Textile Industry by Electrocoagulation and Fenton Oxidation: A Review. *In Proceedings of the Water Quality Management*, p: 117–129.
- [123] Tonkes., Marcel., Graaf P et and Graansma J. (1999) Assessment of complex industrial effluents in the Netherlands using a whole effluent toxicity (or WET) approach. *Water Science and Technology*, 39, no. 10-11 p:55-61.
- [124] Trabelsi H. (2014) Etude de la dégradabilité et de la toxicité des colorants par ozonation et photocatalyse. Thèse de doctorat : Chimie. la Faculté des Sciences de Monastir, 142 p.

V

- [125] Valizadeh S., Enayatizamir N., Ghomsheh H.N., Motamedi H., Moghadam B.Kh et Bogard M. (2024) Bioremediation of Crude Oil Contaminated Saline Soil Using a Bacterial Consortium and Different Carriers. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*. 129 (5). https://doi.org/10.1029/2023JG007874
- [126] Verliefde A., Cornelissen E., Amy G., Van der Brugge B et van Dijk H. (2007). Priority organic micropollutants in water sources in Flanders and the Netherlands and assessment of removal possibilities with nanofiltration, *Environmental Pollution*, 146, p: 281-289.
- [127] Von Sonntag C., von Gunten U. (2012) Chemistry of Ozone in Water and Waste water Treatment, IWA Pub., London; New York.

W

- [128] Walter L., Dawn E., Sara H., David T., Valérie J., Arminda P., Harri M. et Balogun A (2019). A review of the socio-economic advantages of textile recycling. *Journal of Cleaner Production* [en ligne], 218 (page consultée le 03/04/2024). https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.01.210.
- [129] Welham A. (2000) The theory of dyeing (and the secret of life). J. Soc. *Dyers Colour*, 116 p: 140-143.
- [130] Wojnárovits L., Takács E et Szabó L. (2017) Gamma-ray and electron beam-based AOPs. In: Stefan MI (ed), Advanced oxidation pro- cesses for water treatment: fundamentals and applications. *IWA publishing*, London.
- [131] Wu J., Ma L., Chen Y., Cheng Y., Liu Y et Zha X. (2016) Catalytic ozonation of organic pollutants from bio-treated dyeing and finishing wastewater using recycled waste iron shavings as a catalyst: Removal and pathways. Water Research [en ligne], 92, p: 140-148 (page consultée le 17/04/2024). https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.01.053

\mathbf{Z}

- [132] Zazou H. (2015) Dégradation de pesticides dans l'eau par les procédés d'oxydation avancée (POA). Thèse de doctorat : Sciences et Techniques de l'Environnement : Université Paris-Est et Université Ibn Zohr d'Agadir, p : 174.
- [133] Zhang L., Shao Q et Xu C. (2019) Enhanced Azo Dye Removal from Wastewater by Coupling Sulfidated Zero-Valent Iron with a Chelator. *J. Clean. Prod*, 213, p: 753–761.
- [134] Zhenwang L., Zhenluc L. et jranjan L. (2000) The pt dye molecular structure and its chromophoric lumnescences mechanism , 15th Word conference on non-destructive testing.

- [135] Zollinger H. (1987) Synthesis, Properties of Organic Dyes and Pigments, In: Color Chemistry. *VCH Publishers*, p : 92-102.
- [136] Zollinger H., (1991) Color Chemistry. Synthesis, Properties and Applications of OrganicDyes and Pigments, 2nd Ed, VCH.

Annexes

Annexe 1 : pH mètre.



Figure 1 : pH mètre de type SevenExcellence. (Photo personnelle)

Annexe 2 : multi-paramètres.



Figure 2 : multi-paramètres de type Consort (C6030). (Photo personnelle)

Annexe 3: Facteur de conversion de la DBO5 en fonction du volume de pris

| Intervalle de mesure (mg/L) | Volume de l'échantillon (mL) | Facteur |
|--------------------------------|---------------------------------|---------|
| [0-40] | 432 | 1 |
| [0-80] | 365 | 2 |
| [0-200] | 250 | 5 |
| [0-400] | 164 | 10 |
| [0-800] | 97 | 20 |
| [0-2000] | 43.5 | 50 |

Annexe 4: l'enceinte thermique



Figure 3: l'enceinte thermique (WTW OxiTop). (Photo personnelle)

Annexe 5 : protocole de Dosage des orthophosphates

Réactifs:

- Solution : acide ascorbique : 2g/100ml H₂O_D
- Solution d'acidesulfurique (d=1,84) H_2SO_4 15% : 15ml H_2SO_4 /100ml H_2O_D .
- Solution tartrate double d'antimoine et de potassium : 0,28g/100ml H₂O_D.
- Solution molybdate ammonium 4g/100ml H₂OD.
- Réactif combine (Catalyseur) :
- 50ml de la solution d'acide sulfurique (d=1,84) 15%.

- 5ml de la solution tartrate double d'antimoine et de potassium.
- 15ml de molybdate ammonium.
- Compléter a 100ml Eau d'ionisée. (Conserver le réactif au réfrigérateur à 4°C).

Mode Opératoire:

1-échantillon

L'échantillon est dilué au 1/20. Le pH de l'échantillon est ensuite ajusté pour être compris entre 2 et 7. 20 ml de cet échantillon sont versés dans des fioles de 25 ml, préalablement rincées avec de l'acide nitrique. 1 ml d'une solution d'acide ascorbique (20 g/L) est ajouté, ainsi que 4 ml de réactif combiné. La coloration est laissée à se stabiliser pendant 30 minutes, puis une lecture est réalisée au spectrophotomètre dans la plage de 700-800 nm.

2-courbe d'étalonnage

Solution mère:

100 ml d'eau ionisée sont ajoutés à 219,7 mg de dihydrogénophosphate de potassium préalablement desséché à l'étuve à 100°C.

Solution fille:

La solution mère diluer au 1/50 avec l'eau d'ionisée.

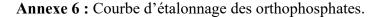
Préparation de la courbe d'étalonnage du phosphore

En suivant le volume indiqué dans le tableau :

Pour chaque fiole, 1 ml d'acide ascorbique est introduit, puis agité. Ensuite, 4 ml du réactif combiné sont ajoutés et le mélange est soigneusement agité. Le volume est complété à 25 ml si nécessaire. La couleur est laissée à se stabiliser pendant 30 minutes. La mesure est ensuite effectuée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 700 ou 800 nm.

Tableau 3: les valeurs de dosage de la courbe d'étalonnage des orthophosphates.

| N de fiole | T | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-------------------------------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|
| Solution | | | | | | |
| Solution étalon de phosphore | 0 | 1 | 5 | 10 | 15 | 20 |
| 1mg/L | | | | | | |
| H ₂ O _D | 20 | 19 | 15 | 10 | 5 | 0 |
| Correspondance de phosphore | 0 | 0,001 | 0,005 | 0,010 | 0,015 | 0,020 |
| Acide ascorbique | 1ml | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Réactif combine | 4ml | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |



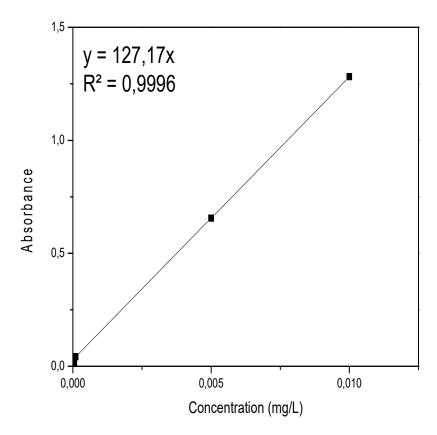


Figure 4: Courbe d'etalonnage des orthophosphates.

Annexe 7 : Protocole de Dosage des nitrates

Réactifs:

- -Solution de salicylate de sodium à 0,5%;
- -Solution NaOH 30%;
- -H₂SO₄ pur;
- -Tartrate double de sodium et de potassium :

400 g de NaOH sont ajoutés à 500 ml d'eau, puis la solution est laissée à refroidir. 60 g de tartrate double de sodium et de potassium sont ensuite ajoutés. Le volume est ajusté à 1000 ml avec de l'eau distillée, puis la solution est conservée dans des flacons en polypropylène (PP).

Mode opératoire :

1-Echantillon:

1 ml de solution de salicylate de sodium à 0,5 % est ajouté à 10 ml d'échantillon centrifugé et dilué, suivi de quelques gouttes de NaOH. L'échantillon est ensuite séché à l'étuve à 80 °C. Après séchage, 2 ml de H₂SO₄ sont ajoutés. Le mélange est laissé à reposer après récupération avec l'acide sulfurique, puis 15 ml d'eau sont ajoutés. Pour obtenir la coloration

jaune, 15 ml de tartrate double de sodium et de potassium sont ajoutés. L'absorbance est ensuite mesurée au spectrophotomètre à 420 nm.

2-Courbe d'étalonnage :

Solution mère:

Le nitrate de potassium est ajouté et le volume est ajusté à 50 ml avec de l'eau distillée.

Solution fille:

2,5 ml de la solution mère sont ajoutés à 50 ml d'eau distillée.

Tableau 1 : les valeurs de dosagee la courbe d'étalonnage des nitrates.

| N ^o de fiole | T | 1 | 2 | 3 | 4 |
|-------------------------|---------------------------------------------------------|----------------|-----------------|----------------------------|-----------------------|
| solution | | | | | |
| solution | 0 | 1 | 2 | 5 | 10 |
| salicylates | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| NaOH | | | trois gouttes | | |
| observation | Laisser sé | cher a l'étuve | (80°C), puis aj | outer 1ml H ₂ S | O ₄ + 15ml |
| | H_2O_D+ 15ml NaOH (200g NaOH + 50 EDTA/1L H_2O_D). | | | | |
| Cons (mg/L) | 0 | 0,5 | 1 | 2,5 | 5 |
| DO (nm) | 0 | 0,108 | 0,209 | 0,413 | 0,548 |

Annexe 8 : Courbe d'etalonnage des nitrates.

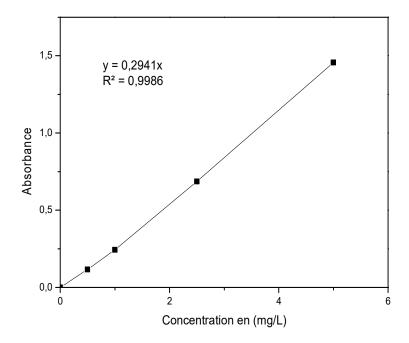


Figure 5 : Courbe d'étalonnage des nitrates.

Annexe 9 : Protocole de Dosage des nitrites.

Réactifs:

- > Ammoniaque pur
- Réactif de zembili préparé à partir de :

Phénol cristallisé, Acide sulfanilique, Acide chloridrique pur, Chlorure d'ammonium, Ammoniaque.

Mode opératoire :

Dans une fiole, 26 ml de HCl, 0,5 g d'acide sulfanilique et 0,75 g de phénol cristallisé sont ajoutés. Le mélange est légèrement chauffé au bain-marie jusqu'à dissolution complète, puis 13,5 g de chlorure d'ammonium sont ajoutés. Le mélange est laissé à refroidir et le volume est ajusté à 100 ml avec de l'eau distillée.

1- Echantillon

À 50 ml d'échantillon, 2 ml de réactif de Zembilli sont ajoutés, puis le mélange est laissé à reposer pendant 10 minutes. Ensuite, 2 ml d'ammoniaque sont ajoutés. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 435 nm.

2-Courbe d'étalonnage

Solution mère:

Ajouter 0,23g de nitrite de sodium dans 11 de H₂O_D

Solution fille:

Ajouter 1ml de la solution mère a 100ml de H₂O_D.

Préparation de la courbe d'étalonnage des nitrites

En suivant le volume indiqué dans le tableau 5 :

Tableau 2 : les valeurs de dosage de la courbe d'étalonnage des nitrites.

| № de fiole | T | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|----------------|----|-------|------|------|------|------|
| solution | | | | | | |
| SF (0,0023g/l) | 0 | 1 | 5 | 10 | 15 | 20 |
| H2OD | 50 | 49 | 45 | 40 | 35 | 30 |
| Reactifzembili | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| (ml) | | | | | | |
| Ammoniaque | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| [mg/L] | 0 | 0,046 | 0,23 | 0,46 | 0,69 | 0,92 |

Annexe 10 : Courbe d'étalonnage des nitrites.

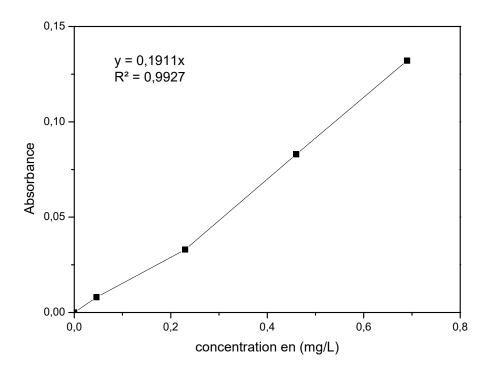


Figure6: Courbe d'étalonnage des nitrites.

Annexe 11 : Minéralisateur Kjeldahl FOSS et Matras contient l'échantillon minéralisé après l'ajout de l'eau distillée.



Figure 7 : Minéralisateur Kjeldahl FOSS et Matras contient l'échantillon minéralisé après l'ajout de l'eau distillée. **(Photo personnelle)**

Annexe 12 : distillateur Kjeldahl (Büchi K-355) avant et après distillation.



Avant distillation

Après distillation

Figure 8: distillateur Kjeldahl (Büchi K-355) avant et après distillation. (Photo personnelle)

Annexe 13 : Détermination de la matière en suspension.

Mode opératoire :

Avant le début de l'opération, le filtre en fibre de verre vide est pesé à l'aide d'une balance analytique. Ensuite, le filtre est placé (partie lisse vers le bas) dans l'entonnoir du système de filtration et le système est connecté à un dispositif d'aspiration sous vide. 30 ml de l'échantillon bien agité sont mesurés dans une éprouvette graduée. Pendant l'opération, la vanne est ouverte pour libérer la pression qui se produit. Après la filtration, le filtre est récupéré avec précaution de l'entonnoir et séché dans une étuve à 105 °C pendant 8 heures. Ensuite, le filtre est pesé pour déterminer la quantité de matière en suspension.

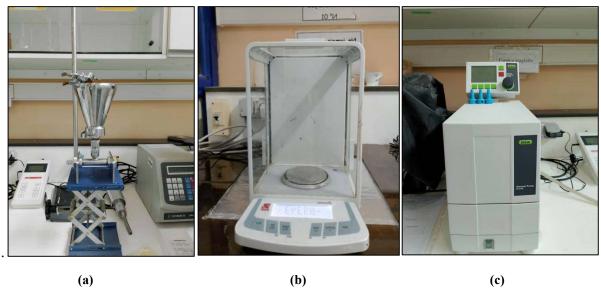


Figure 9 : Les équipements utiliséspour la détermination de la matière en suspension : (a) Rompe à filtre, (b) Balance (Discovry), (c) pompe à vide (BUCHI)(Photo personnelle)

Méthode de calculs :

La première répétition :

 $\frac{\{(le\ poids\ du\ premiers\ filtre-le\ poids\ du\ filtre\ vide)\}}{le\ volume\ de\ l'effluent\ filtré}$

La deuxième répétition :

 $\frac{\{(le\ poids\ du\ deuxiemmefiltre-le\ poids\ du\ filtre\ vide)\}}{(le\ volume\ de\ l'effluent\ filtré)}$

$$moyenne = \frac{la \ premiere \ repetition + la \ deuxiemme \ repetition}{2}$$

Annexe 14: Loi de beer lamber

 $A = \varepsilon$. L.C

Avec:

A: Absorbance,

ε: Coefficient d'extinction molaire en L.mol-1.cm-1,

L : épaisseur de la cellule optique en cm,

C: la concentration en mol/L.

Annexe 15: Protocole de la Mesure de la demande chimique en oxygène (DCO).

>Réactifs

- H2SO4 concentré (d = 1,83) contenant Ag2SO4 (6,6 g/L)
- HgSO4 purifié en poudre
- K2Cr2O7 8,33.10-3 mol.L -1 (2,4518 g/L)

▶ Protocole opératoire (Méthode 5 - 150 mg/L)

Dans un tube, sont introduits successivement : 3 mL de la solution acide, 0,1 g de sulfate de mercure, 2 mL d'échantillon dilué 500 fois (ou d'eau distillée pour le blanc), et 1 mL de dichromate de potassium 8,33.10-3 mol/L. Après fermeture hermétique et homogénéisation, les tubes sont placés dans un bloc chauffant de marque WTW (CR 2200) (figure 18) pendant 2 heures à 148 °C. Ensuite, ils sont laissés à refroidir pendant environ 1 heure.

• La valeur de la DCO (mg/L) = [K2Cr2O7] initiale - [K2Cr2O7] résiduelle.

Annexe 16: Bloc Chauffant.



Figure 10: Bloc Chauffant (Photo personnelle)

Annexe 17: Mesure du pH des colorants.

La mesure du pH des colorants a été réalisée à l'aide d'un pH-mètre à partir d'une solution de 100ppm du colorant :

Tableau 3 : les valeurs obtenues après la mesure du pH des six colorants.

| colorant | Jaune | Blue | Olive cuve | Rouge | Brun jaune | Brun |
|----------|-------|----------|------------|-----------|------------|------|
| | cuve | dispersé | | sombre167 | dispersé | cuve |
| pН | 7 | 7,1 | 7 | 7 | 6,9 | 6,8 |

Tableau 4 : les valeurs obtenues après l'étude spectrale des colorants.

| colorant | Jaune | Blue | Olive | Rouge | Brun jaune | Brun |
|------------|-------|----------|-------|-----------|------------|------|
| | cuve | dispersé | cuve | sombre167 | dispersé | cuve |
| Absorbance | 440 | 400-500 | 420 | 500-550 | 450 | 500 |
| (nm) | | | | | | |

Annexe 20 :Préparation de la courbe d'étalonnage du colorant Rouge sombre 167: La concentration de 100 ppm est considérée comme solution mère, puis une série de dilutions a été effectuée jusqu'à atteindre 20 ppm en utilisant la loi de C1VI = C2V2. Ensuite, nous avons ajusté le volume avec de l'eau distillée.

| 100 ppm | 25mg 250ml H ₂ 0D |
|---------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 80 ppm | $V_{80ppm} = 80*50/100$ $V_{80ppm} = 40ml \text{ ajuster au } 50ml \text{ avec } H_2O_D$ |
| 60 ppm | $V_{60ppm} = 60*50/100$ $V_{60ppm} = 30ml$ ajuster au 50ml avec H_2O_D |
| 40 ppm | V_{40ppm} = 40*50/100 V_{40ppm} = 20ml ajuster au 50ml avec H ₂ O _D |
| 20 ppm | $V_{20ppm} = 20*50/100$ $V_{20ppm} = 10ml$ ajuster au 50ml avec H_2O_D |

Annexe 21 : les valeurs obtenues après la mesure de l'absorbance de la courbe d'étalonnage du colorant rouge sombre 167.

| Concentration en | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |
|------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| ppm | | | | | |
| Absorbance | 0,085 | 0,197 | 0,305 | 0,410 | 0,532 |

Annexe 22: propriétés du colorant rouge sombre 167.

| Nom | Disperse Red 167-1 | | | |
|----------------------------|----------------------------------------------------------------|--|--|--|
| Type de produit | Colorant dispersé insoluble dans l'eau | | | |
| Synonymes | Disperse Red 354, Ccris 8991, Einecs 216-251-6 | | | |
| État physique | Poudre sèche | | | |
| Formule moléculaire | C22H24ClN5O7 (isomère) | | | |
| Densité | 1.36 | | | |
| Point de fusion | 127 °C | | | |
| Point d'ébullition | 707.2 °C à 760 mmHg | | | |
| | | | | |
| Indice de réfraction | 1.6 | | | |
| Point d'éclair | 381.5 °C | | | |
| logP | 5.15080 | | | |
| La valeur de pH appropriée | de 4 à 5 | | | |
| pour la teinture | | | | |
| Domaine d'utilisation | Le colorant convient à la méthode de teinture haute | | | |
| | température (plus de 200 °C) et haute pression, peut être | | | |
| | utilisé pour l'impression directe sur polyester, peut | | | |
| | également être utilisé pour la décharge du polyester/coton, | | | |
| | fond peu profond. | | | |
| | non adapté à la teinture acrylique et ne peut pas être utilisé | | | |
| | avec des agents alcalins contenant des colorants actifs pour | | | |
| | l'impression au plasma. | | | |
| La formule chimique | *** | | | |
| | | | | |
| | MG TO | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

Annexe 23: Protocole de l'extraction de l'ADN bactérien.

Préparation des solutions :

| Tris-HCL 2M (pour | Tris base: 242g |
|----------------------|---------------------------------------------------------------|
| 1000ml) | H2O UP: 1000ml, le pH est ajusté à 8 avec du NaOH 2N |
| EDTA 0,5M (pour | EDTA: 146,1g |
| 1000ml) | H2O UP: 1000ml, le pH est ajusté à 8 avec du NaOH 2N ensuite |
| | la solution est autoclave à 120°C pendant 15min. |
| SDS soduimdodecyl | SDS: 10g |
| sulfate 10% (pour | H2O UP: 100ml, le pH est ajusté à 7.2 avec du NaOH 2N ensuite |
| 100ml) | la solution est autoclave à 120°C pendant 15min |
| Lysozyme (pour 1ml) | Lysozyme : 50mg |
| | H2O UP: 1ml |
| Protéinase K (pour | Protéinase K : 20mg |
| 1ml) | H2O UP: 1ml |
| Acétate de Potassium | Acetate de potassium à 5M : 2,94g/6ml |
| | Acide acétique : 1,15ml |
| | H2O UP: 2,85ml |

Mode opératoire :

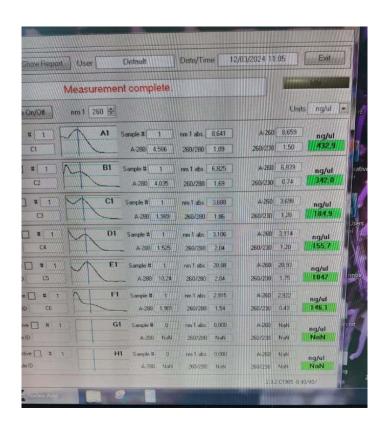
Après une culture de 24 heures en bouillon nutritif, les cellules sont centrifugées et le culot est resuspendu dans 1 ml de Tris-HCl 10 mM, suivi d'une nouvelle centrifugation à 11 000 rpm pendant 10 minutes à 4°C. Le surnageant est éliminé et le culot est resuspendu dans 500 μl de Tris-HCl 10 mM, puis vortexé. On ajoute ensuite 20 μl de lysozyme (50 mg/ml) au mélange, qui est vortexé et incubé au bain sec à 37°C pendant 40 minutes. Après cette incubation, 60 μl d'EDTA 0,5 M et 10 μl de protéinase K (20 mg/ml) sont ajoutés, suivis d'une incubation à 37°C pendant 10 minutes. Ensuite, 60 μl de SDS 10% sont ajoutés et le mélange est incubé à 50°C pendant 40 minutes. On ajoute alors 350 μl d'acétate de potassium 3 M et le tube est placé au bain de glace pendant 10 minutes. Le mélange est centrifugé à 12 000 rpm pendant 10 minutes et le surnageant est récupéré. À ce surnageant, 1 ml d'isopropanol est ajouté pour précipiter l'ADN, qui est ensuite centrifugé à 10 000 rpm pendant 1 minute. Le culot obtenu est lavé avec 1 ml d'éthanol 70%, centrifugé à nouveau à 10 000 rpm pendant 1 minute et récupéré. Les tubes sont laissés à l'air libre pendant 30 minutes pour sécher, puis 50 μl d'eau ultra-pure sont ajoutés. La concentration et la pureté de

l'ADN génomique sont mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre (Nanodrop). Enfin, les échantillons sont congelés à -20°C.



Figure 11 : Spectrophotomètre (NanoDrop8000 ThermoScientific) (Photo personnelle)

Annexe 24: Résultats de l'extraction de l'ADN.



Annexe 25: Protocole de l'amplification de l'ADN (PCR).

Mode opératoire :

Dans un tube eppendorf on met :

- Taq polymérase : 0,4µl

- MgCl2 : 3,2 μ l

- DNTP: 0,8µl

- Tampon : 4 μl

- Amorce F : 1,6 μl

- Amorce R : 1,6 μl

- Extrait D'ADN : 1µl

- H2O UP : 27,4 μl.

Témoin : Tous les ingrédients de la PCR sont mis dans un tube eppendrof à part l'extrait D'ADN. Puis on procède à l'amplification dans un thermo-cycler (Veriti 96 Well Thermal Cycler) (figure 20) dans les conditions rapportées dans le tableau ci-dessous : **(Tian et al., 2008).**

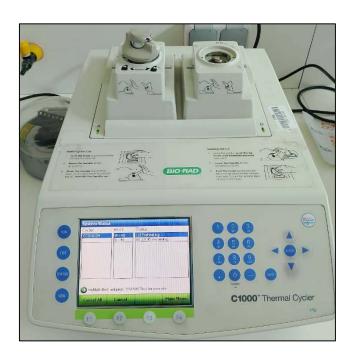


Figure 12: Thermo-cycler (Veriti 96 Well Thermal Cycler). (Photo personnelle)

Annexe 24 : Protocole de la Purification à partir de produit PCRpar la méthode décrite par (Tian, et al., 2008)

Les produits PCR sont purifiés à l'aide du kit de purification Invitrogen (Life Technologies). Pour cela, 4 volumes de solution de liaison (binding buffer B2, contenant de l'isopropanol) sont ajoutés à 1 volume de produit PCR (environ 60 µl pour 15 µl de PCR), et le mélange est bien agité. Le mélange est ensuite transféré dans une colonne de purification (spin column) et centrifugé à 10 000 g pendant 1 minute, le filtrat est éliminé. La colonne de purification est replacée dans le même tube, 650 µl de solution de lavage (wash buffer W1, contenant de l'éthanol) sont ajoutés, et le tout est centrifugé à 10 000 g pendant 1 minute. Le filtrat est à nouveau éliminé, et une centrifugation supplémentaire est effectuée à vitesse maximale pendant 3 minutes pour sécher la colonne. La colonne est ensuite transférée dans un nouveau tube, 30 µl de tampon d'élution (élution buffer E1) sont ajoutés, et le tout est incubé à température ambiante pendant 3 minutes. Enfin, la solution est centrifugée à vitesse maximale pendant 3 minutes. Les échantillons purifiés sont ensuite congelés à -20°C.

Annexe 26 : Protocole de l'Electrophorèseà 2%.

Réactifs:

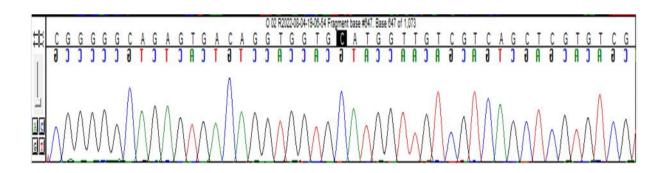
- Tris, Borate, EDTA TBE *1;
- -Gel stain pour la fluorescence;
- -Tampon de charge;
- -Le marqueur de taille utilisé est 50 pdb (Invitrogen By life technologies);
- -Cuve d'électrophorèse à voltage 50 volts pendant 45min.



Annexe 27 : Protocole de la PCR pour le séquençage (selon le manuel du sequençeur 3500XL Genetic Analyzer. AppliedBiosystems / HITACHI).



Annexes 28 : Électrophoregrame d'une séquence d'ADNr16S.



Annexes 29 : classification de la souche Microbacterium aurantiacum

Règne: Bacteria

Embronchement: Actinomycetota

Classe: Actinomycetes
Ordre: Micrococcales

Famille: Micronacteriaceae

Genre: *Microbacterium*

Espèce: Microbacterium aurantiacum

Annexes 30 : classification de la souche Bacillus tequilensis

Règne: Bacteria

Embronchement: Bacillota

Classe: Bacilli

Ordre: Caryophanales

Famille: bacillaceae

Genre: Bacillus

Espèce: Bacillus tequilensis

Annexes 31 : classification de la souche Sporosarcina aquimarina

Règne: Bacteria

Embronchement: Bacillota

Classe: Bacilli

Ordre: Bacillales

Famille: Plancococcaseae

Genre: Sporosarcina

Espèce: Sporosarcina aquimarina

Annexes 32 : classification de la souche Microbacterium chocolatum

Règne: Bacteria

Embronchement: Actinomycetota

Classe: Actinomycetes
Ordre: Micrococcales

Famille: Micronacteriaceae

Genre: Microbacterium

Espèce: *Microbacterium chocolatum*

Annexe 33 : la mesure de l'intensité solaire.

Tableau 6 : la mesure les irradiations solaires durant le procédé d'oxydation avancé.

| | calibrage = 20 mw/cm ² | | calibrage = 20 mw/cm ² l'intens | | sité en fonction du | ı temps |
|-----------------------|-----------------------------------|-----------------------|--------------------------------------------|-----------------------|---------------------|---------|
| 254 nm | | 310 nm | | 365 nm | | |
| intensité (mw/cm²) | X20 | intensité (mw/cm²) | X20 | intensité (mw/cm²) | X20 | |
| 0,14 | 2,8 | 0,1 | 2 | 1,68 | 33,6 | |
| 0,15 | 3 | 1,18 | 23,6 | 1,86 | 37,2 | |
| 0,15 | 3 | 1,19 | 23,8 | 1,59 | 31,8 | |
| 0,14 | 2,8 | 1,19 | 23,8 | 1,91 | 38,2 | |
| 0,15 | 3 | 1,2 | 24 | 1,99 | 39,8 | |
| 0,15 | 3 | 1,2 | 24 | 1,93 | 38,6 | |
| 0,15 | 3 | 1,22 | 24,4 | 2,02 | 40,4 | |
| 0,16 | 3,2 | 1,25 | 25 | 2,06 | 41,2 | |
| La moyenne | 2,975 | | 21,325 | | 37,6 | |

Annexe 34 : composition du milieu minimum à base des sels.

Tableau 5: Composition du milieu MSM.

| Ingredients | formule | (g/L) |
|---------------------------------------|-------------------------|-------|
| Chloride de sodium | NaCl | 0,5 |
| Sulfate d'ammonium | (NH4)2SO | 40,1 |
| Nitrate de sodium | NaNO3 | 0,2 |
| Sulfate de magnesium heptahydraté | MgSO4,7H ₂ O | 0,025 |
| Potassium phosphate dibasictrihydraté | K2HPO4.3H2O | 1 |
| Phosphate dipotasique | KH2PO4 | 0,4 |
| pH =7 | | |

Année universitaire: 2023-2024

Présenté par : BENAISSA Kaouther BOUDIAF Sirine

Etude de l'élimination d'un colorant contenue dans les rejets d'industrie de textile par un procédé hybride (Biologique/POA)

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Appliquée

L'étude vise à évaluer la qualité des effluents émis par l'industrie textile EATIT Batna et à examiner l'élimination du Colorant rouge sombre 167 par un procédé hybride combinant un POA (Na₂S₂O₈/UV) et biologique (bactéries). La caractérisation physicochimique de l'effluent, réalisée par la mesure de 12 paramètres physicochimiques, a révélé un pH extrêmement alcalin (pH = 12,236) ainsi qu'une forte charge organique. La pollution minérale est marquée par une conductivité élevée de 1888 µS/cm, une teneur en azote Kjeldahl de 29,4 mg/L, une forte teneur en nitrates 15,88 mg/L. Les indicateurs de pollution montrent une DBO₅ de 50 mg d'O₂/L et une concentration en matières en suspension de 126,66 mg/L, dépassant les normes nationales admises. L'identification moléculaire d'une sélection d'un Consortium bactérien autochtone de l'Effluent a permis d'identifier cinq souches bactériennes appartenant à : Bacillus tequilensis MSOsk 2024 (PP748531), Bacillus tequilensis MSOsr 2024 (PP748534), Sporosarcina sp. BAAA 2024 (PP748532), Microbacterium aurantiacum BMSO BkBs 2024 (PP748530), Microbacterium chocolatum BMSO MsTr 2024 (PP748533). L'étude comparative des procédés de traitement a démontré que, dans des conditions optimales, le système (Na₂S₂O₈/UV) présente un indice de décoloration de 0,12 CN pour l'effluent et une décoloration très significative des solutions contenant le colorant. En revanche, le traitement hybride (Na₂S₂O₈/UV) + Consortium bactérien a montré des taux d'élimination du Colorant de l'ordre de 99,86 % et de 0,02 CN pour l'effluent. A la fin du traitement, deux souches Sulfitoréductrices du genre Bacillus à savoir : Bacillus tequilensis (MSOsk 2024/MSOsr 2024), ont été identifiées capables de dégrader le rouge sombre 167 et de faire baisser le pH du milieu de culture jusqu'à une valeur de 1,9. Les résultats obtenus démontrent qu'une approche hybride combinant un système (Na₂S₂O₈/UV) et un Traitement biologique est une alternative très efficace pour traiter les effluents de l'industrie textile, contribuant ainsi à la protection de l'environnement. De plus, il est envisageable d'utiliser l'Effluent traité pour neutraliser le pH alcalin de l'effluent.

Mots-clefs: Effluent, Traitement, Colorant, Pollution, POA, Bactérie, Bioremédiation

Laboratoires de recherche: Centre de Recherche en Biotechnologies.

Présidente du jury : Dr. ABDELAZIZ Ouided (MCB - UConstantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : Dr. BELAHMADI Mohamed Seddik Oussama (MRB – C.R.Bt, Constantine).

Co-encadrante: Dr. MEGHNOUS Ouissem (MCB - UConstantine1 Frères Mentouri).

Examinatrice: Dr. BOUCHERIT Zeyneb (MAA - UFM Constantine 1)