REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE DR. YAHIA FARES DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

MEMOIRE

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En biologie

Spécialité : ***Microbiologie Appliquée***

Thème

Amélioration de la qualité des eaux usées par un consortium bactérien

Présenté par :

- SLIMANI Aya - TALEB Widad - BENAHMADI Rania

Soutenu publiquement Le : ***23/ 06/ 2022***
devant le jury composé de :

Mme **BOUHERAMA Amina**	MCB	UNIV de Médéa	Encadreur
Mr **DJAWADI Samir**	MCA	UNIV de USTHB	Co-encadreur
Mr **BENHAFRI Nadir**	MAA	UNIV de Médéa	Président
Mr **CHAMI Bouaaza**	MAA	UNIV de Médéa	Examinateur

Année Universitaire **2021 - 2022**

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers, ma chère maman Fatiha Aucune dédicace ne serait exprimée mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consentis pour mon instruction et mon bien-être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance. J'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.
Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices. Le puissant Dieu, le très haut, vous accorde santé; bonheur et longue vie. Je t'aime de tout mon cœur.

Ce travail est dédié à mon père, Aahmed qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. que Dieu vous garde je suis heureuse de vous voyez à mes côtés ce jour, vous resterez toujours mon roi . Qu'Allah vos protége pour nous.

ma chère soeur Sarah qui a toujours éprésente pour me soutenir et m'encourager et surtout de prendre soin de moi et mes affaires de toujours réaliser mes désirs pour me rendre heureuse , ma sœur je t'aime .

ma chère sœur Fatima-Zohra malgre la distance tu restra toujours my best ma moitié merci pour tous conseils et que Dieu te protége et garde ta petite famille .

tous mes frères mes épaules Hamza Amine et Samir

Ce travail est aussi le fruit de vos encouragements et de vos présences de soyez assurés de ma profonde gratitude . Je suis fière et chanceuse de vous avoir a mes cotes .

A mes copines widad et rania que Dieu vous protège et vous procure joie et bonheur et que notre amitié reste jamais

A tous mes collègues de la promotion 2021/2022 surtout l'ensemble des étudiantsqui ont fait leur travail au niveau de laboratoire de la faculté pour l'ambiance Chaleureuse.Je le dédie à tous ceux que j'aime comme une petite preuve d'amour et de reconnaissance.

Aya

REMERCIEMENTS

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreuse Madame BOUHERAMA Amina pour son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail, pour ses orientations, sa patience et sa disponibilité.

Veuillez trouver ici l'expression de nos respectueux, considération et nos profondes admirations pour toutes vos qualités scientifiques et humaines.

Nos remerciements s'adressent également à Monsieur Mohamed pour son précieuse aide et assistance.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury Pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail Et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes l'équipe de ONA -Médéa et toutes personnes qui ont participé deprès ou de loin à la réalisation de ce travail .

Dédicaces

Je tiens à remercier avant tout le bon Dieu .

Je dédie ce modeste travail avec plein d'amour et de respect

A MON TRÈS CHER PÈRE RABEH

A la personne qui représente pour moi la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes cotés pour me consoler quand il fallait. Tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Ta patience sans fin, ta compréhension et ton encouragement sont pour moi le soutien indispensable que tu as toujours su m'apporter. Aucun dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

A MA TRÈS CHERE MÈRE

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquentes soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Tu étais la: constante et forte,inébranlable, ma consolatrice, patiente, la meilleure des amies. Tu es mon réconfort et ma certitude. Mon guide dans l'existence Mon courage sans rage. Un compagnon de vie si sage. Depuis ma naissance ma plus belle chance. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A MON FRERE HICHAM

Mon ange gardien et mon fidèle compagnon dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse, je te remercie pour tous ce que tu a fait pour moi. Je n'oublierai jamais ta faveur et a quel point tu étais excité de me voir ce que je suis.

A MON DEUXIEME PÈRE ABD EL KADER

Merci d'être toujours là pour moi, que dieu te protège

A MES BiNOME RANIA ET AYA

Une excellente collègue est une personne qui comprend que les objectifs de l'équipe sont plus importants que son égo...Alors je vous remercie d'être des collègues excellentes

A MES ADORABLES SŒURS HANAA et AMINA

A MON COUSIN TALEB ADEL

A MES AMIES SIHAM et HANANE

Widad

Dédicace

Avant tout mes sincères remerciement reviennent a Allah le tout puissant pour tous ses dons.

Je remercie les responsables et personnel de la direction de l'office nationale de l'assainissement.

Du profond du mon cœur je dédie ce travail a tous ceux qui me sont chers A mon cher père YAHIA et ma chère maman KHALIDA aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et leurs prières tout au long de mes études et mon bien être.

A mon mariYACINE pour son encouragement permanent, et son soutien morale et a ma belle mère pour sa présence Qu'allah vous gardez pour nous .

A mon cher frère AbdelRAHIM et mon beau frère MOHAMED et mes chères sœurs FATIMA et NAILA a leurs encouragement et son soutien morale .

A ma fille NOURCINE, et ma nièce LOUDJAINE et mon neveu BASSEM.

A mes binômes WIDED et AYA pour ses efforts Pendent les 5 mois, les mots ne suffisent guerre pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

A tous mes enseignants qui m'ont enseignés depuis mon enfance.

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment et a toutes mes copines.

Rania

Liste des tableaux

Tableau	Titre de tableau	Page
1	le mode de traitement en fonction du rapport **(DCO/DBO).**	6
2	Les impacts sanitaires des eaux usées :(ONA.,2005)	9 -10
3	Résultats de gramme	46
4	La densité optique des eaux avant et aprè traitement	47

La liste des figures

Figure	Titre de figure	Page
1	Processus des boues activées (Bassompierre, 2007	14
2	Lagunage naturel	15
3	Le principe d'un lagunage aéré	17
4	Infra structure des niches microbiens	21
5	Plan de la situation géographique de la STEP de Médéa (source Google earth	22
6	Schéma général de la STEP de Médéa	24
6	température enregistrées pour les eaux analysées de la STEP de Médéa	35
7	Potentiel hydrogène enregistrées pour les eaux analysées provenant de la STEP Médea	36
8	Conductivité électrique enregistrées pour les eaux analysées provenant de la STEP Médea	37
9	Taux des nitrates enregistrés pour les eaux analysées provenant de la STEP Médéa.	38
10	Taux des nitrates enregistrés pour les eaux analysées provenant de la STEP Médéa.	39
10	Taux de la DCO pour les eaux analysées provenant de la STEP Médéa	40
11	Taux de la DBO pour les eaux analysées provenant de la STEP Médéa	41
12	Aspect morphologique des parasites observés sous microscope optique à des grossissements 40X et X100.	44
13	Aspect des colonies sur milieu Jensen.	49
14	Aspect des colonies sur milieu NBRIP	49
15	Les valeurs de la DCO enregistrées pour chaque isolat	50

La liste des figures

16	Les valeurs de la DBO5 enregistrées pour chaque isolat	**51**
17	Les valeurs de la concentration de nitrates enregistrées pour chaque isolat	**54**
19	Les valeurs de la concentration de ortho phosphates enregistrées pour chaque isolat	**54**
20	Les valeurs de la concentration de l'ammonium enregistrées pour chaque isolat	**56**
21	Aspect microscopique des isolats testés	**57**
22	Formation des spores	**58**
23	Test catalase résultat positive/négative	**59**
24	Test oxydase positive	**60**
25	virage de couleur dans le mannitol .	**61**
26	Résultat sur milieu Hektoen	**61**
27	Résultat Sur milieu king b	

Liste des abréviations

Abréviation

OMS : Organisation mondiale de la santé.

pH:Le potentiel hydrogène.

°C: degré celsius .

µS/cm: siemens par cm.

DCO: demande chimique en oxygène.

DBO : demande biochimique en oxygène.

ONA : office national de l'assainissement.

DIET: transfert direct des électrons .

STEP :station d'épuration.

E.E : Eaux épurée.

E.B : Eaux brute.

TSA:Gélose trypticase soja.

TSB :gélose tryptone soja.

SCA : gélose de Sabouraud.

Résumé

Les eaux usées ont pris une importance ces dernières années avec le changement climatique et la diminution des ressources en eau. La présente étude a pour but d'améliorer la qualité des eaux usées en utilisant un consortium bactérien, une série d'analyses et de suivi de divers paramètres de pollution ont été effectué

Les analyses physiques et chimiques des eaux usées brutes et traitées issues de la STEP de Oued Lahrech (Médéa) ont montré des valeurs conformes aux normes du JOA et l'OMS. La DCO passent de 460 mg /l a 50 mg/l pendant le mois de mars ,et de 440 mg/l mg/l à 50 mg/l pendant le mois d'avril et la DBO passe de 210 mg /l a 10mg/l pendant le mois de mars et de 170 mg /l a 20 mg/l pendant le mois d'avril. Du même , la teneur en nitrate de 2.3 mg/l à 20 mg/l a cause d'une oxydation de l'ammonium et le phosphate varie de 1.6 mg/l pour l'eau usée brute à 1.2 mg/l.

L' eau usée a été effectué suite à leur capacité à fixer l'azote et à solubiliser les phosphates ou il y'a 12 isolats .Les 12 isolats ont montré une augmentation de la biomasse après incubation avec les eaux usées brute et une modification positive du pH et conductivité électrique du milieu. Les résultats de la DCO, DBO, la teneur en éléments nutritifs a montré que les 12 isolats ont présenté des meilleurs résultats par rapport à l'eau traitée au niveau de la station.

L'identification du consortium sur la base des caractéristiques phénotypique a montré une dominance de Pseudomonas de couleur saumon sur milieu Hektoen avec la présence de quelques colonies vertes a centre noir qui peuvent être des salmonelles.

Les mots clés :consortium bactérien, eaux usées,biodégradation,isolats,souches. L'objectif principal de ce travail est de déterminer l'efficacité de l'utilisation d'un consortium bactérien dans le traitement des eaux usées

Summary

Wastewater has gained prominence in recent years with climate change and dwindling water resources. The present study aims to improve the quality of wastewater using a bacterial consortium, a series of analyzes and monitoring of various pollution parameters were carried out.

Physical and chemical analyzes of raw and treated wastewater from the Oued Lahrech WWTP (Médéa) showed values in accordance with JOA and WHO standards. The COD goes from 460 mg / l to 50 mg / l during the month of March, and from 440 mg / l mg / l to 50 mg / l during the month of April and the BOD goes from 210 mg / l to 10 mg / l during the month of March and from 170 mg/l to 20 mg/l during the month of April. Similarly, the nitrate content of 2.3 mg/l to 20 mg/l due to oxidation of ammonium and phosphate varies from 1.6 mg/l for raw wastewater to 1.2 mg/l.

wastewater was carried out following their ability to fix nitrogen and solubilize phosphates where there are 12 isolates. The 12 isolates showed an increase in biomass after incubation with raw wastewater and a positive change in pH and electrical conductivity of the medium. The results of the COD, BOD, nutrient content showed that the 12 isolates presented better results compared to the treated water at the station level.

The identification of the consortium on the basis of phenotypic characteristics showed a dominance of salmon-colored Pseudomonas on Hektoen medium with the presence of a few green colonies with a black center which may be Salmonella.

Key words: bacterial consortium, wastewater, biodegradation, isolates, strains.

ملخص

اكتسبت مياه الصرف مكانة بارزة في السنوات الأخيرة مع تغير المناخ وتضاؤل موارد المياه. تهدف الدراسة الحالية إلى تحسين جودة المياه العادمة باستخدام اتحاد البكتيريا ، وأجريت سلسلة من التحليلات ورصد معايير التلوث المختلفة.

أظهرت التحليلات الفيزيائية والكيميائية لمياه الصرف الصحي الخام والمعالجة من محطة معالجة مياه الصرف الصحي في واد لحرش (المدينة) القيم وفقًا لمعايير JOA و .WHO ينتقل COD من 460 مجم / لتر إلى 50 مجم / لتر خلال شهر مارس ، ومن 440 مجم / لتر مجم / لتر إلى 50 مجم / لتر خلال شهر أبريل وينتقل الطلب الأوكسجيني البيولوجي من 210 مجم / لتر إلى 10 مجم / لتر خلال شهر مارس ومن 170 ملجم / لتر إلى 20 ملجم / لتر خلال شهر أبريل. وبالمثل ، يتراوح محتوى النترات من 2.3 مجم / لتر إلى 20 مجم / لتر بسبب أكسدة الأمونيوم والفوسفات من 1.6 مجم / لتر لمياه الصرف الخام إلى 1.2 مجم / لتر.

أجريت مياه الصرف الصحي بعد قدرتها على تثبيت النيتروجين وإذابة الفوسفات حيث يوجد 12 عزلة ، وأظهرت العزلات الـ 12 زيادة في الكتلة الحيوية بعد الحضانة بمياه الصرف الصحي الخام وتغير إيجابي في درجة الحموضة والتوصيل الكهربائي للوسط. أظهرت نتائج COD ، BOD، المحتوى الغذائي أن العزلات الـ 12 قدمت نتائج أفضل مقارنة بالمياه المعالجة على مستوى المحطة.

أظهر تحديد الكونسورتيوم على أساس الخصائص المظهرية هيمنة Pseudomonas بلون السلمون على وسط Hektoenمع وجود عدد قليل من المستعمرات الخضراء ذات المركز الأسود والتي قد تكون السالمونيلا.

الكلمات المفتاحية: اتحاد البكتيريا ، مياه الصرف الصحي ، التحلل البيولوجي ، العزلات ، السلالات.

CHAPITRE I: Rappel bibliographique.

I.1. Origine des eaux usées……..2.

I.1.1.1. Les eaux usées urbain…….2.

I.1.1.2. Les eaux usées industrielles……..2.

I.1.1.3. Les eaux agricoles…….3.

I.1.1.4. Les eaux pluviales……3.

I.1.2. Les caractéristiques physique-chimiques des eaux usées…..3.

I.1.2.1. La température……..3.

I.1.2.2. L'odeur……..3.

I.1.2.3. La couleur…….4.

I.1.2.4. Les matières en suspension (MES)…….4.

I.1.2.5. Matières volatiles en suspension (MVS)…..4.

I.1.2.6. Matières minérales(MM)……4.

I.1.2.7. Le pH……4.

I.1.2.8. Oxygène dissous……..5.

I.1.2.9.Conductivité électrique……..5.

I.1.2.10. La demande biochimique en oxygène (DBO)…….5.

I.1.2.11. La demande chimique en oxygène(DCO)…….5.

I.1.2.12. La notion de biodégradabilité et le coefficient de biodégradabilité……6.

I.1.3.Les paramètres nutritif et substance indésirable……..6 .

I.1.3.1.L'azote……6.

I.1.3.2.L'azote ammoniacale ($NH4^{+}$)…….7.

I.1.3.3.Nitrites (NO^{-}_{2})…….7.

I.1.3.4.Nitrates (NO_3)…….7.

I.1.3.5. Le phosphore…….8.

I.1.3.6. Les métaux lourds……..8.

I.1.4.Les caractéristiques microbiologiques ……8.

I.1.4.1.Les bactérie pathogènes……8.

I.1.4.1.1.Clostridium ……8.

I.1.4.1.2.Les salmonelles …..8.

I.1.4.1.3. Escherichia coli …….9.

I.1.4.1.4. Les Virus ……9.

I.1.5.1. Les impacts sanitaires ……9.

I.1.5.2. Les impacts écologiques……..10.

I.2.La station d'épuration ……10.

I.2.1.Paramètres essentiels pour le choix d'une technologie de traitement des eaux Usées ……..11.

I.2.2.Conditions d'implantation d'une station d'épuration …….11.

I.3.Traitement et épuration des eaux ……..12.

I.3.1. Prétraitements physiques ….12.

I.3.1.1. Dégrillage ……..12.

I.3.1.2.Un dégrillage grossier ……12.

I.3.1.3.Un dégrillage fin ……12.

I.3.2.Dessablage ……12.

I.3.3. Dégraissage-déshuilage ……..12.

I.4.Traitements primaires…….13.

I.4.1.Décantation naturelle……13.

I.4.2.Décantation physico-chimique…….13.

I.5.Traitements secondaires (Biologiques)…….14..

I.5.Traitements secondaires (Biologiques)….14.

I.5.2.Traitement biologique par boues activées ….15.

I.5.3.Lagunage …….15.

I.5.4.Lagunage aérée…..16.

I.6.Technologies de traitement par des culture……16.

I.6.1.Bactériennes fixes…16.

I.6.2.Lits bactériens…16.

I.6.3.Les bio-filtres …….17.

I.6.4.Les disques biologiques ……17.

I.7.Traitement tertiaire……17.

I.7.1.La nitrification ……17

I.7.2.La dénitrification…….18.

I.7.3.L'élimination du phosphore……18

I.7.4.Les boues et leur traitement ……18.

I.7.5.La désinfection ……..18.

I.8.Traitements de stabilisation des boues …….19.

I.8.1.conditionnement des boues ……..20.

I.8.2.Séchage……20.

I.8.3.Elimination finale des bouts…….20.

I.9.Traitement biologique nouvelles technologies……..20.

Chapitre II : Matériels et méthodes

II.1. Matériel……23.

II.1.1. Lieu de stage……23.

II.1.2. Matériel non biologique …….24.

II.2. Méthodes……25.

II.2.1. Echantillonnage……25.

II.2.2. Analyses physique…….25.

II.2.2.1. Température……25.

II.2.2.2. Potentiel hydrogène ……25.

II.2.2.3. Conductivité électrique ……25.

II.2.2.4. Matières en suspension ……26.

II.3. Analyses chimique……..26.

II.3.1. Demande chimique en oxygène……26.

II.3.2. Demande biochimique en oxygène ……..27.

II.3.3. Dosage du Nitrate ……27.

II.3.4. Dosage des orthophosphates …….28.

II.4. Recherche des parasites……..29.

II.4.1.Matériel et produits utilisées …….29.

II.5. Recherche des bactéries impliquées dans la biodégradation des eaux usées ……..29.

II.5.1. Dénombrement……..29.

II.5.2. Sélection des isolats ……29.

II.5.3. Fixation d'azote…….29.

II.5.4. Solubilisation des phosphates ……30.

II.5.5. Taux de croissance……30.

II.5.3. Identification phénotypique des isolats…….31.

I

I.5.3.1. Caractérisation morphologique …….31.

II.5.3.2. Type respiratoire……..32.

II .5.3.2.1. Catalase ……..32.

II.5.3.2.2. Oxydase……32.

II.5.3.2.3. Mobilité……..32.

II.5.3.3. Caractérisation physiologique…….32 .

II.5.3.3.1. Température……..32.

II.5.3.3.2. Ph ……..33.

II.5.3.3.3. Salinité ……..33.

II.5.3.4. Identification des genres…….33 .

II.5.3.5.ensemencement sur gélose hektoen …….33.

II.5.3.6.ensemencement sur milieu king B ……..33.

II.5.3.7.ensemencement sur milieu SCA ……33.

II.5.3.8.teste de sporulation ……..34.

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1.Analyses physico-chimiques……35.

III.1.2.Température……..35.

III.1.3.Potentiel d'hydrogène pH…….36.

III.1.4.Conductivité électrique (CE)……37.

III.2.1.1Paramètres de la pollution azotée……38.

III.2.1.2Nitrates ……38.

III.2.1.3.Phosphates (Orthophosphates)…….39.

III.3.1.1.Matières organique et oxydable…….39.

III.3.1.2.Demande Biochimique en Oxygène (DBO 5)…….40.

III.2.Discussion des résultats des Analyses……41.

III.2.1.Demande chimique en oxygène (DCO)…….41.

III.2.2.Demande biochimique en oxygène à 5 jours (DBO5)…….42.

III.2.3.Ions nitrites…….43.

III.2.5.L'ammonium…….46.

III.3. Recherche des parasites……..47.

1. GENRE MONAS……47..

2.GENRE EUPLOTES…….47.

3.NEMATODES……..48.

4.AUTRES ASPIDISCA……..48.

III.4.Recherche des bactéries impliquées dans la Bio-dépollution ……50.

4.1Dénombrement de la flore bactérienne totale…….50.

4.2Caractérisation des isolats…..50.

4.3Caractérisation morphologique……..50.

III.5 Caractérisation biochimique…….54.

5.1.Catalase……..54.

5.2.Oxydase……..55.

5.3.Mobilité ……..55.

5.4. Potentiel hydrogène…….56.

5.5.Salinite……..56.

III.6.Activité métabolique….57.

6.1.Fixation d'azote…….57.

6.2.Solubilisation des phosphates…….57.

III.7.ensemencement dans les milieux sélectifs ……58.

7.1sur Milieu Hektoen …….58.

7.2 Sur milieu king b ……..60.

L'eau est une ressource naturelle très limitée dans les régions arides et semi arides. L'Algérie qui est comptée parmi les pays hydrosensible, est confronté à la rareté des eaux naturelles conventionnelles due à l'insuffisance et à la l'irrégularité des précipitations dans le temps et dans l'espace. Aussi, les ressources en eau existantes en Algérie sont menacées par une pollution causée par les rejets d'eaux urbaines et industrielles dans les milieux récepteurs. Ces eaux usées ou dite aussi résiduelle peuvent contenir de nombreuses substances, sous forme solide ou dissoute, ainsi que de nombreux micro-organismes pathogènes, menacent la qualité de l'environnement dans son ensemble et la santé humaine (Degrémont, 2005; Von Sperling, 2007).

L'Algérie s'oriente vers le traitement des eaux usées afin de satisfaire ses besoins en eau, le traitement de ces eaux usées au niveau des stations d'épuration s'avère indispensable afin de lutter contre leurs effets nocifs dans l'environnement et d'élargir leur spectre d'utilisation en agriculture afin de substituer l'eau potable utilisée pour l'irrigation. Différentes techniques de traitement sont utilisées quelles soient biologiques, physicochimiques ou membranaires (Edeline, 1997; Degrémont, 2005).

Les processus de dégradation dans l'environnement sont généralement effectués par un consortium de microbes plutôt que par un seul type de microbes (Thompson et al., 2005). Le système de traitement qui utilise des cultures microbiennes mixtes fournira des résultats plus efficaces que les cultures individuelles en raison de l'activité catabolique de la culture bactérienne qui se complètent et de la résultante.

Notre travail consiste à évaluer la capacité d'une communauté bactérienne autochtone des eaux usées brutes provenant de la STEP d'Oued Lahrech –Médéa- dans le processus de biodépollution des eaux usées. Pour cela un ensemble d'objectifs a été planifié :

- ✓ Détermination de la qualité physique et chimique des eaux usées brute et traitée de la station d'épuration.
- ✓ Isolement de la communauté bactérienne autochtone des eaux usées brutes.
- ✓ Evaluation de l'effet des isolats bactériens sur la biodépollution des eaux usées.
- ✓ Caractérisation phénotypique, biochimique et physiologique des bactéries a fort pouvoir de biodépollution.

I. Eaux usées

Les eaux entrant dans une station d'épuration sont différenciée par rapport à leur origine (urbaine, industrielle, agricole ou pluviale).

1. Origine

1.1. Les eaux usées urbain

Elle préviennent des différents usage domestiques de l'eau elle sont essentiellement porteuses de pollution organiques, elles se répartissent en eaux ménagères, qui ont pour origine les selles de bains et cuisines, et sont généralement chargées de détergent, de graisse, de solvant, de débris organiques, etc. et en eaux vannes, il s'agit des rejets des toilettes chargés de diverses matières organiques azotées et de germes fécaux (Gomella et Guerree ; 1987).

1.2. Les eaux usées industrielles

Elles sont très différentes des eaux usées domestiques, leur caractéristiques varient d'une industrie à l'autre, en plus de matières organiques, azotées, ou phosphorées, elles peuvent également contenir aussi des graisses, des hydrocarbures, des métaux et autres produits industriels (Gaujous ;1995).

Dans certain cas, avant d'être rejetées dans les réseaux de collecte, les eaux industrielles doivent faire l'objet d'un prétraitement de la part des industries. Elles ne sont mêlées aux eaux domestiques que lorsqu'elles ne présentent plus d'enger pour les réseaux de collecte et ne perturbent par leur fonctionnement des usines de dépollution (Gaujous ;1995).

1.3. Les eaux agricoles

L'agriculture est source de pollution des eaux qui n'est pas de toute négligeable car elle apporte les engrais et les pesticides. Elle est la cause essentielle des pollutions diffuses. Les épandages d'engrais nitratés et phosphatés, sous une forme ou en quantité, telle qu'ils ne seraient pas finalement retenus par le sol et assimilés par les plantes, conduisent à un enrichissement en matières azotées ou phosphatées des nappes les plus superficielles et des eaux des cours d'eau ou des retenues. Parmi les polluants d'origine agricole, il faut tenir compte aussi des détergents se lors des applications de traitement des cultures. (Gomella et Guerree ; 1987).

1.4. Les eaux pluviales

Les eaux des pluies se chargent d'impuretés ou contact de l'air (fumées industrielles) et de résidus (huiles, carburants, résidu des pneus, métaux lourds,…) en ruisselant sur les toits et les chaussées des villes. Ces eaux sont traitées dans une station d'épuration urbain lorsque le système d'assainissement et dit «unitaire».

La variation des flux polluant entrent dans la STEP est liée à l'activité humaine (variations journalière, hebdomadaire, saisonnière) même par temps sec et pour les installations ne traitant ni les eaux pluviales et industrielles (Gomella et Guerree ; 1987).

2. Les caractéristiques physique-chimiques

2.1. La température

Il est indispensable de connaître la température exacte de l'eau, car c'est un facteur important dans la vie d'un cours d'eau. Un changement de température affecte les diverses propriétés de l'eau. La température joue un rôle dans la solubilité des sels et des gaz en particulier la conductivité électrique et dans les variations du pH (Rodier et al ,. 1996).

La température optimale pour l'activité des micro-organismes, épurateurs est comprise entre 20°C- 30°C, au-delà, la vitesse de réaction décroît rapidement et le floc bactérien se trouve rapidement épuisé en oxygène.

2.2. L'odeur

L'eau d'égout fraîche a une odeur fade qui n'est pas désagréable, par contre en état de fermentation, elle dégage une odeur nauséabonde (Hynry et Moncly ; 1978).

2.3. La couleur

La couleur de l'eau d'égout d'origine domestique est normalement grisâtre. Une couleur noire indique une décomposition partielle, les autres teintes indiquent un apport d'eau résiduaire industrielle (Hynry et Moncly ; 1978).

2.4. Les matières en suspension

Théoriquement, ce sont les matières qui ne sont ni solubilisées, ni à l'état colloïdale. Les matières en suspension comportent des matières organiques et des matières minérales. Toutes les MES ne sont pas décan tables, en particulier les colloïdes retenus par filtration. En général les M.E.S se subdivisent en matières volatiles (M.V.S) et en matières minérales (M.M). (**ONA ,**2005)

2.5. Matières volatiles en suspension

Elles représentent la fraction organique des matières en suspension. Elles sont mesurées par calcination à 560°C d'un échantillon dont on connait déjà la teneur en MES. Elles constituent environ 70% à 80% des MES (Bontoux ; 1993).

2.6. Matières minérales

On obtient la quantité des matières minérales par la soustraction des matières volatiles des matières en suspension. Elles représentent le résidu de la calcination et correspondent à la présence des sels, silice, poussier (ONA,2005)

2.7. Potentiel hydrogène

La valeur du potentiel hydrgène (pH) est très importante dans les procédés biologiques, le pH d'une eau représente son acidité ou son alcalinité dont le facteur le plus important est habituellement la concentration en anhydride de carbone lié à la minéralisation totale.

Le pH des eaux usées urbaines seules est généralement près de la neutralité, entre7 à 7,5 environ. Un pH différent est l'indice d'une pollution industrielle. L'épuration biologique est possible pour un pH compris entre 6,5 et 8 au-delà de ces valeurs, l'activité biologique décroît rapidement (Aminot et Chausspied ;1983).

2.8. Oxygène dissous

La solubilité de l'oxygène dans l'eau est en fonction de la température, de la pression atmosphérique, de la salinité et de l'agitation. Une eau usée peut contenir de 2 à 8 $mg.l^{-1}$. La détermination de l'oxygène dissous permet de contrôler l'oxygénation des boues activées (Bechac et Boutin ; 1984).

2.9. Conductivité électrique

La mesure de la conductivité donne une idée sur la salinité de l'eau, plus la concentration ionique des sels dissous est grande plus la conductivité est grande, les résultats obtenus sont exprimés en $\mu s.Cm^{-1}$ (Bechac et Boutin ; 1984).

2.10. Demande biochimique en oxygène

La demande biologique en oxygène (DBO) est la quantité d'O_2 nécessaire aux les microorganismes vivants pour assurer l'oxydation et la stabilisation des matières organiques biodégradables présentes dans l'eau usée. Pour être complète, l'oxydation biologique des

matières organiques biodégradables présentes dans l'eau usée. Demande un temps de 21à 28 jours, il s'agit alors la DBO ultime.

Par convention, la DBO ultime, trop longue à aboutir, est remplacée par la DBO_5, c'est-à-dire par la quantité d'oxygène consommée après 5 jours d'incubation à 20°C et à l'obscurité. (ONA,2005). La DBO5 ne représente normalement que la pollution carbonée biodégradable. Elle est exprimée en mg d'O_2.l^{-1}.

2.11. Demande chimique en oxygène

La demande chimique en oxygène (DCO) représente la quantité d'oxygène nécessaire à la destruction chimique de toute matière contenue dans les eaux qu'elle soit biodégradable ou non.

L'oxydation est rendue maximale en utilisant un oxydant qui est très fort, c'est le $K_2Cr_2O_7$ et en présence d'un catalyseur (Ag_2SO_4). Ce test est particulièrement important pour apprécier le fonctionnement d'une station d'épuration. Il permet l'oxydation de 95% environ des matières organiques (Grosclaude ;1999).

2.12. Notion de biodégradabilité et le coefficient de biodégradabilité

La biodégradabilité traduit l'aptitude d'un effluent aqueux à être décomposé ou oxydé par les micro-organismes qui interviennent dans le processus d'épuration biologique des eaux.

Le coefficient de biodégradabilité est exprimé par le rapport DCO / DBO. Ce rapport est proche de 1,5 pour les eaux de vanne toute élévation de ce rapport indique qu'il y'a présence d'une pollution industrielle. Ce rapport renseigne aussi sur le mode de traitement à suivre comme s'est indiqué dans le tableau 1 (ONA,2005)

Tableau 1. Mode de traitement des eaux en fonction du rapport DCO/DBO.

Rapport DCO/DBO	Mode de traitement
1 <DCO/DBO < 2	Traitement biologique
2 <DCO / DBO<3	Traitement biologique avec adaptation de la souche microbienne
DCO / DBO > 3	Traitement physico-chimique

2.13. Les paramètres nutritifs

2.13.1. L'azote

Dans les eaux usées domestiques, l'azote est sous forme organique et ammoniacale, on le dose par mesure du N-NTK (Azote Totale kjeldahl) et la mesure du N-NH_4. La concentration du N-NTK est de l'ordre de 15 à 20 % de celle de la DBO. L'apport journalier est compris entre 10 et 15g par habitant (Grosclaude ;1999).

Azote kjeldahl = Azote ammoniacal + Azote organique (Gaujous ; 1995)

2.13.2. L'azote ammoniacal

L'azote ammoniacal est présent sous forme de solution NH_4, dont les proportions relatives dépendent du pH et de la température. L'ammonium est souvent dominant c'est pourquoi, ce terme est employé pour designer l'azote ammoniacal (Aminot et Chausspied ;1983).

En milieu oxydant, l'ammonium se transforme en nitrites puis en nitrites ; ce qui induit une consommation d'oxygène (Gaujous ; 1995).

2.13.3. Nitrites

Les ions nitrites (NO^-_2) sont un stade intermédiaire entre l'ammonium (nitrosomonas) transforment l'ammonium en nitrites. Cette opération, qui nécessite une forte consommation d'oxygène, est la nitrification. Les nitrites proviennent de la réduction bactérienne des nitrates, appelée dénitrification.

$$4\,NH_4 + 7O_2 \quad \text{(nitrosamines)} \quad 4NO_2^- + 6H_2O + 4H^+$$

Les nitrites constituent un poison dangereux pour les organismes aquatiques, même à de très faibles concentrations. Sa toxicité augmente avec la température. Ils provoquent une dégradation de hémoglobine du sang des poissons qui ne peut plus véhiculer l'oxygène il en résulte la mort par asphyxie chez les nourrissons, l'inaptitude du sang à transporter l'oxygène est la méthémoglobinémie (Gaujous ; 1995).

2.13.4. Nitrates

Les nitrates constituent le stade final de l'oxydation de l'azote organique dans l'eau.les bactéries nitratantes (*Nitrobacte spp.*) transforment les nitrites en nitrates. Cette réaction appelée nitratation s'accompagne aussi d'une consommation d'oxygène.

Les nitrates ne sont pas toxiques, mais des teneurs élevées en nitrates provoquent une prolifération algale qui contribue à l'eutrophisation du milieu. Leur potentiel danger reste néanmoins relatif à leur réduction en nitrates (Servric—ressac et al ., 1995)

Azote global = Azote kjeldahl + Nitrites + Nitrates.

2.13.5. Le phosphore

Le phosphore est présent dans l'eau sous plusieurs formes phosphates, poly phosphates, phosphores organiques…, les apports les plus importants proviennent des déjections humaines et animales, et surtout des produits de lavage. La pollution phosphorée sous ses différentes combinaisons chimiques cause de sérieux problèmes dans les cours d'eau et les dormantes qui les reçoivent en stimulant la croissance des algues c'est-à- dire l'eutrophisation (Bontoux ; 1993).

2.13.6. Les métaux lourds

Les métaux lourds se trouvent dans les eaux usées urbaines à l'état de trace. Des concentrations élevées sont en générale révélatrices des rejets industriels sans aucune doute, leur présentation est nuisible pour l'activité des micro-organismes donc perturbe le processus d'épuration biologique, leur élimination se fait cours de la phase de décantation et la filtration.

3. Les caractéristiques microbiologiques

3.1. Chlostridium

Les clostridi sont des bacilles Gram+ souvent de grande taille isolés ou en chainettes généralement mobiles, parfois capsules de sporules, réduisent les sulfites en sulfures.

La plupart des espaces sont mésophiles certaines psychrophiles d'autres thermophiles sont présentes dans les matières fécales leur aisance dans une nappe souterraine ou alluviale est un signe d'efficacité de la filtration naturel (Moniquetarda ; 1992).

3.2. Salmonelles

Les salmonelles sont des entérobactéries lactose négatif, Bacilles à Gram Négatifs (BGN) les hôtes normaux de l'intestin de l'homme, sont des bacilles ou coccobacilles gram-, oxydase-, catalase+, sporulés, réduisent les nitrates et fermentent le glucose (Moniquetarda ; 1992).

3.3. *Escherichia coli*

C'est une bactérie peu ou pas pathogène, hôte normale de l'intestin et vois exécré de l'homme et des animaux. *Escherichia coli* représente la majeure partie des coliformes fécaux. En effet, leur présence est considérée comme l'indication d'une grande probabilité de trouver des germes très pathogène, donc dangereux pour l'homme.

3.4. Virus

Les virus sont présents aussi en quantité dans les effluents urbain mais sont rarement recherchés en revanche ces analyses sont un peut plus fréquentes dans l'eau superficielle.

4. Les différents impacts des eaux usées

Les impacts d'une pollution des eaux peuvent être classés comme suivants:

4.1. Les impacts sanitaires

Les impacts sanitaires peuvent être liées à l'ingestion d'eau, de poissons …, mais aussi au simple contact avec le milieu aquatique (cas de nombreux parasites). En effet, les impacts sanitaires pouvant intervenir au travers de phénomènes complexes.

L'impact sanitaires d'une pollution est variable dans le temps en fonction de l'usage de l'eau par exemple, la pollution d'une nappe non exploitée n'a aucune impact sanitaire immédiate, mais peut en avoir longtemps après si on utilise cette eau pour l'alimentation en eau potable (A.E.P).

Tableau 2. Les impacts sanitaires des eaux usées

Germes	Organismes	Maladies
Bactéries pathogènes	Salmonelles-Shingles	Typhoïde Dysenterie
Entérobactéries	Colibacilles-Leptospires Mycobactéries	Tuberculose
Vibrions	Vibrion coma	Choléra
Les virus	Entérovirus-Ribovirus Adénovirus-Rota virus	Poliomyélite, méningite Affections respiratoires Diarrhées
Les parasites		Lésions viscérales

4.2. Les impacts écologiques

Les impacts écologiques se mesurent en comparant l'état du milieu pollué par rapport qu'il aurait été sans pollution. Ceci na rien d'évident, la pollution se traduisant parfois uniquemenemt par l'accentuation d'un phénomène naturel.

D'une manière générale, la conséquence sont considérer au travers de la réduction des potentialités d'exploitation du milieu (pêche, aquaculture, tourisme, promenade….), a court et long termes.

La colonisation d'un bassin versant par l'homme et les activités qui s'ensuivent, peut provoquer une accélération dramatique du processus de vieillissement (eutrophisation) d'un lac ou d'un réservoir et considérablement réduire da durée de vie.

Ce processus souvent appelé eutrophisation accélérée, s'accompagne généralement d'une détérioration de la qualité des eaux qui deviennent impropres à de nombreuses utilisation (eau potable, loisirs, usage industriel) et peut entrainer des altérations des communautés biologiques du plan d'eau.

II. Station d'épuration

La station d'épuration est une installation destinée à épurer les eaux usées domestiques ou industrielles et les eaux pluviales avant le rejet dans le milieu naturel. Le but du traitement est de séparer l'eau des substances indésirables pour le milieu récepteur.

Les objectifs principaux d'une station d'épuration dûe à :

_ Protection de la nappe phréatique contre la pollution.

_ Eviter aux agriculteurs l'irrigation des terres agricoles avec les eaux usées.

_ Minimiser le risque des maladies à transmission hydrique.

_ Réutilisation des eaux épurées dans le domaine de l'irrigation.

_ Économie importante de l'eau.

_ Eviter la surexploitation des nappes souterraines.

1. Paramètres essentiels pour le choix d'une technologie de traitement des eaux usées

Les paramètres essentiels qui doivent être pris en compte pour le choix
d'une technologie de Traitement doivent tenir compte:

_ Des exigences du milieu récepteur.

_ Des caractéristiques des eaux usées.

_ Des conditions climatiques (température, évaporation, vent, etc.)

_ De la disponibilité du site.

_ Des conditions économiques (coût de réalisation et d'exploition)

2.Conditions d'implantation d'une station d'épuration

La station d'épuration doit être implantée selon les conditions suivantes:

_ Eviter le maximum les zones inondables.

-Prendre en considération les zones urbanisées et urbanisables à cause des odeurs désagréables, maladies transmissibles par l'air.

_ L'implantation doit être à l'aval du réseau d'assainissement (à l'exutoire) afin d'éviter le relevage et par conséquent le coût élevé.

_ La position de la station d'épuration doit être dans un point ou la collecte des eaux usées se fait au maximum (repérer le point stratégique entre deux agglomérations par exemple)

_ Le rejet des eaux épurées ne doit pas affecter le milieu récepteur (inondation des terres agricoles).

Risques liés à la station d'épuration

_ Risques de chutes, de glissades, liées à la circulation du personnel aux abords immédiats des équipements et matériels

_ Le personnel exploitant peut être contaminé par voie digestive (essentiellement en portant les mains ou les objets souillés à la bouche), par la peau tout au long du processus de traitement de l'eau;

_ Le risque de contamination par voie respiratoire existe à proximité des procédés (Dégrillage,…)

_ Les risques d'incendie et d'explosion liés à la présence de gaz de fermentation ou de résidus de produits inflammables, nécessaires à l'exploitation ou introduits accidentellement par les eaux résiduaires.

_ Les risques d'asphyxie liés aux espaces confinés, aux fosses.

3. Traitement et épuration des eaux

Les eaux usées des agglomérations peuvent être traitées par divers procédés qui reposent sur des phénomènes physiques, chimiques et biologiques, à des degrés d'épuration et à des coûts variables selon le niveau de qualité exigé par le milieu récepteur. Le processus d'épuration des eaux usées comprend plusieurs étapes :

Les prétraitements (physique): Dégrillage, Dessablage, Déshuilage-Dégraissage.

Le traitement primaire (physico-chimique) : Coagulation-floculation, Décantation,

Le traitement secondaire (biologique): Boues activées, Lit bactérien, Lagunage,Disques biologiques.

Le traitement tertiaire.

3.1. Prétraitements physiques

3.1.1. Dégrillage

Le dégrillage permettent de retirer de l'eau les déchets insolubles tels que les branches, les plastiques, serviettes hygiéniques, etc. En effet, ces déchets ne pouvant pas être éliminés par un traitement biologique ou physico-chimique, il faut donc les éliminer mécaniquement. Pour ce faire, l'eau usée passe à travers une ou plusieurs grilles dont les mailles sont de plus en plus serrées.

Un dégrillage grossier

L'eau brute passe à travers une première grille qui permet l'élimination des matières de diamètre supérieur à 50mm

Un dégrillage fin

L'espacement des barreaux est de 20mm, la vitesse moyenne de passage entre les barreaux est comprise entre 0,6 et 1 m/s (Legube., 1996).

3.1.2. Dessablage

Le dessablage débarrasse les eaux usées des sables pour éviter leur sédimentation ultérieure. L'écoulement de l'eau à une vitesse réduite dans un bassin appelé "déssableur" entraîne leur dépôt au fond de l'ouvrage.

Ces particules sont ensuite aspirées par une pompe. Les sables récupérés sont essorés, puis lavés avant d'être soit envoyés en décharge, soit réutilisés.

Le dessablage concerne les particules minérales de diamètre supérieur à 0,2 mm environ

3.1.3. Dégraissage-déshuilage

Le dégraissage-déshuilage vise à éliminer les graisses et les huiles dans les eaux usées, qui peuvent gêner l'efficacité des traitements biologiques qui interviennent ensuite. L'opération s'effectue par flottation. L'injection d'air au fond de l'ouvrage permet la remontée en surface des corps gras. Les graisses et huiles sont raclées à la surface, puis stockées avant d'être éliminées (mise en décharge ou incinération).

3.2. Traitements primaires

3.2.1. Décantation naturelle

Le traitement "primaire" fait appel à des procédés physiques naturels, éventuellement assortie de procédés physicochimiques, tels que la coagulation- floculation.

Les matières en suspension se déposent au fond du bassin et sont épaissies mécaniquement dans une fosse positionnée sous les lamelles. Les matières issues de la décantation primaire constituent les boues primaires.

Elles sont extraites par pompage vers la filière de traitement des boues. L'eau clarifiée est recueillie en surface par des goulottes et dirigée vers le traitement biologique.

3.2.2. Décantation physico-chimique

La turbidité et la couleur d'une eau sont principalement causées par des particules très petites, dites particules colloïdales. Ces particules, qui peuvent rester en suspension dans l'eau durant de très longues périodes, peuvent même traverser un filtre très fin.

Pour les éliminer, on a recours aux procédés de coagulation et de floculation.

Coagulation

La coagulation a pour but principal de déstabiliser les particules en suspension, c'est-à-dire de faciliter leur agglomération. En pratique, ce procédé est caractérisé par l'injection et la dispersion rapide de produits chimiques: sels minéraux cationiques (sels de fer ou d'aluminium).

Floculation

La floculation a pour objectif de favoriser, à l'aide d'un mélange lent, les contacts entre les particules déstabilisées. Ces particules s'assemblent pour former un floc qu'on peut facilement éliminer par le procédé de décantation.

3.3. Traitements secondaires

Les traitements biologiques reproduisent, artificiellement ou non, les phénomènes d'auto épuration existant dans la nature. L'auto épuration regroupe l'ensemble des processus par lesquels un milieu aquatique parvient à retrouver sa qualité d'origine après une pollution. L'épuration biologique a pour but d'éliminer la matière organique polluante biodégradable contenue dans l'eau usée (décantée ou non), en la transformant en partie en biomasse, plus facilement biodégradable. L'autre partie de la charge polluante est éliminée sous forme de substances minérales oxygénées ultimes, produites du métabolisme microbien, en phase soit gazeuse (CO2), soit soluble (Nitrites, phosphates, sulfates…)

Les techniques d'épuration biologiques utilisent l'activité des bactéries présentes dans l'eau, qui dégradent les matières organiques. Ces techniques sont soit anaérobies, c'est-à-dire se déroulant en absence d'oxygène, soit aérobies, c'est-à-dire nécessitant un apport d'oxygène. Parmi les traitements biologiques de base classique on distingue les procédés biologiques extensifs et intensifs.

3.3.1. Les procédés biologiques extensifs

Les techniques dites extensives sont des procédés réalisent l'épuration à l'aide de cultures bactériennes fixées sur support fin (Infiltration-percolation, filtres plantés à écoulement vertical et filtres plantés de roseaux à écoulement horizontal). Ou encore à l'aide de culture bactériennes libres (lagunage naturel, lagunage à macrophytes et lagunage aéré). Les procédés biologiques intensifs: Ils regroupent toute une série de techniques ayant en commun le recours à des cultures bactériennes qui consomment les matières polluantes. Le principe de ces procédés est de localiser sur des surfaces réduites et d'intensifier les phénomènes de transformation et de destruction des matières organiques (GAID, Abdelhader2008) .Les procédés aérobies regroupent Les installations à cultures libres (boues activées), dans lesquelles la culture bactérienne est maintenue en suspension dans le courant d'eaux usées à traiter. Les installations à cultures fixées, (lits bactériens, biofiltres et disques biologiques), où la culture bactérienne " biomasse" reposant sur un support.

3.3.2. Technologie de traitement par des cultures bactériennes libres

Le traitement par des cultures bactériennes libres utilisé jusqu'à maintenant, mettent en œuvre de microorganismes maintenus en suspension sous la forme des flocs au sein du liquide à traiter (Gaid,1993).

3.3.3. Traitement biologique par boues activées

Le procédé à boues activées consiste à provoquer le développement d'un floc bactérien dans un bassin alimenté en eaux usées à traiter (bassin d'aération) (Kollar, 2004), l'apport d'air dans le bassin d'aération pour la satisfaction de la DBO5 et pour la respiration de la masse cellulaire. Il est destiné à contribuer au brassage et au maintien en suspension des boues activées (Berné et Cordonnie, 1991). Il permet d'obtenir des performances poussées pour éliminer le carbone, l'azote et le phosphore. Le bassin d'aération peut être précéder d'un décanteur primaire dans le but d'éliminer les matières en suspension décan tables et sera suivie d'un clarificateur qui assurera la séparation de l'effluent épurée avec les boues, celle-ci seront en partie recyclée dans le bassin d'aération pour assurer le réensemencement et la concentration permanente, et l'autre parti extraites vers le traitement des boues (Koller ,2004).

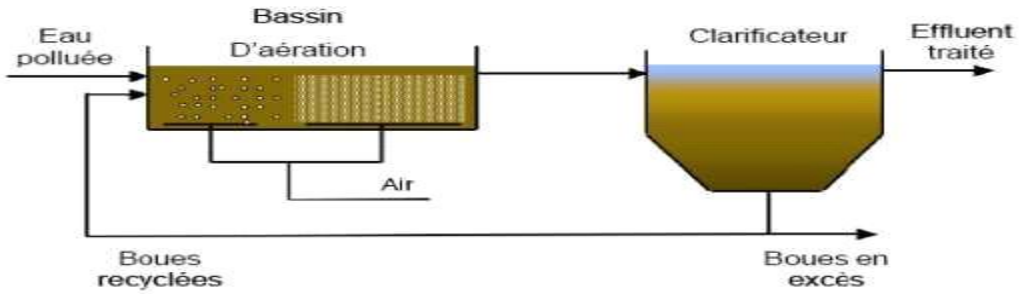


Figure 1. Processus des boues activées (Bassompierre, 2007).

3.3.4. Lagunage

Lagunage naturelle

Les eaux usées admises sur un lagunage naturel sont dégradées par un écosystème constitué essentiellement d'algues microscopiques, de bactéries aérobie et anaérobie et une microfaune adaptée. L'oxygène dissout nécessaire à la respiration bactérienne est produit uniquement grâce aux mécanismes photosynthétiques en présence de rayonnement solaire (Gregorio et al., 2007).

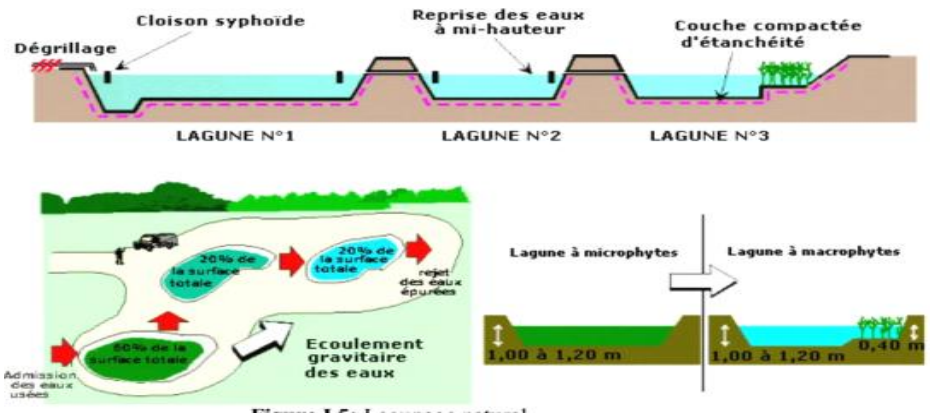


Figure 2. Lagunage naturel

Lagunage aérée

Le lagunage aéré consiste à intensifier l'activité aérobie par un apport artificiel d'oxygène par des aérateurs mécaniques flottants ou fixes ou une insufflation d'air avec un long temps de séjour des effluents dans des bassins pour parvenir à une épuration poussée (Molleta, 2006).

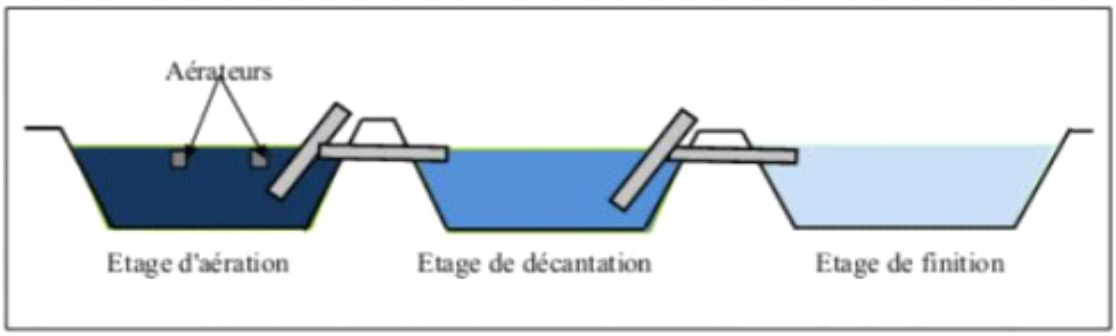


Figure3. Le principe d'un lagunage aéré

3.3.5. Technologies de traitement par des cultures

Bactériennes fixes

Le traitement par des cultures bactériennes fixes regroupe tous les procédés où la biomasse épuratrice est accrochée sur un support solide à travers l'eau à traiter (Gaid,1993).

Lits bactériens

Le principe de fonctionnement d'un lit bactérien consiste à faire ruisseler l'eau à traiterpréalablement décantée sur une masse de matériau (naturelle ou plastique), servant de supportaux microorganismes épurateurs, qui y est formé d'un film épais. Les

microorganismes fixés éliminent les matières organiques par absorption des constituants solubles et en suspension (Degrement,1995).

Les bio-filtres

Les bio-filtres combinent des processus physiques et biologiques par l'utilisation d'un matériau filtrant millimétrique immergé, aéré ou non selon le traitement recherché et sur lequel se fixent les populations bactériennes, qui vont participer à la dégradation de la charge polluante apportée par l'effluent. Sous l'effet du développement de la biomasse et de l'accumulation des MES, le bio-filtre se colmate et nécessite un lavage périodique (le plus souvent quotidien)(DeronzieretChoubert,2004).

Les disques biologiques

Les disques biologiques, faisant appel aux cultures fixées sont constitués par les disques biologiques tournants où se développent les micro-organismes et forment un film biologique épurateur à la surface. Les disques sont semi immergés, leur rotation permet l'oxygénation de la biomasse fixée (Audic,2002).

Traitement tertiaire

Certains rejets d'eaux traitées sont soumis à des réglementations spécifiques concernant l'élimination d'azote, de phosphore ou des germes pathogènes, qui nécessitent La mise en ouvre de traitementstertiaires. Il regroupe toutes les opérations physiques et chimiques qui complètent les traitements primaires et secondaires. 1 L'élimination de l'azote Les stations d'épuration n'éliminent qu'environ 20 % de l'azote présent dans les eaux usées, par les traitements de nitrification idénitrification. Pour satisfaire aux normes de rejet en zones sensibles, des procédés physiques et physico-chimiques complémentaires permettent l'élimination de l'azote par électrodialyse, résines échangeuses d'ions, "stripage" de l'ammoniaque, mais ces traitement ne sont pas utilisés dans le traitement des eaux résiduaires urbaines, pour des raisons de rendement et de coût. L'élimination de l'azote se fait généralement selon un processus biologique en deux étapes importantes.

La nitrification

La nitrification est un processus se déroulant sous l'action de certains microorganismes spécifiques et qui conduit à la transformation de l'ammoniac (ou de l'ammonium) en nitrate en 2 étapes :

- Nitrosation : sous l'action de bactéries nitreuses aérobies
(Nitrosomonas).
- Nitration : par les bactéries nitrifiantes aérobies (Nitrobacter).

La nitrification est une des étapes du traitement d'une eau usée qui vise la transformation de l'ammonium (NH4) en nitrate (NO3). Cette transformation est réalisée par des bactéries, en milieu aérobie.

La dé nitrification

Est un processus anaérobie par lequel les nitrates sont réduits en azote et en oxydes d'azote. Les micro-organismes utilisent les nitrates comme source d'oxydante à la place de l'oxygène et en présence d'une source d'un carbone organique qui doit être apportée dans le milieu.

L'élimination du phosphore

L'élimination du phosphore, ou "dé phosphatation", peut être réalisée par des voies Physico-chimiques ou biologiques. En ce qui concerne les traitements physico-chimiques, l'adjonction de réactifs, comme des sels de fer ou d'aluminium, permet d'obtenir une précipitation de phosphates insolubles et leur élimination par décantation. Ces techniques, Les plus utilisées actuellement, éliminent entre 80 % et 90 % du phosphore, mais engendrent une importante production de boues. Elimination et traitement des odeurs Les eaux usées, chargées en matières organiques particulaires et dissoutes, peuvent induire directement ou indirectement, par l'intermédiaire de leurs sous-produits d'épuration (graisses, boues), la formation d'odeurs désagréables suivant un processus de fermentation. Les odeurs provenant des STEP sont dues aux gaz, aérosols ou vapeurs émises par certains produits contenus dans les eaux usées ou dans les composés se formant au cours des différentes phases de traitement.

Les sources les plus importantes d'odeurs sont

Les prétraitements.

Les boues et leur traitement

Pour éviter ces nuisances, les ouvrages sensibles seront couverts et munis d'un système de ventilation ainsi que d'une unité de traitement biologique des odeurs. On distingue généralement deux types de traitement biologique des odeurs : les bio-filtres etLes bio-laveurs. Dans les premiers, la biomasse est supportée par un plancher spécifique et l'air traverse le massif (souvent de la tourbe). Les seconds réalisent un deuxième filtre grâce à une suspension. La biomasse est libre, et l'épuration se produit dans un réacteur.

La désinfection

Un abaissement de la teneur des germes, parfois exigé pour les rejets dans des zones spécifiques (zones de baignade, zones de conchylicoles) ou dans le cadre d'une réutilisation, il sera réalisé par des traitements de désinfection chimique par:

-Le chlore

Est un oxydant puissant qui réagit à la fois avec des molécules réduites et organiques, et avec

le micro-organisme. Les composés utilisés dans le traitement des eaux usées sont: le chlore gazeux (Cl2), l'hypochlorite de sodium (NaClO) appelé communément" eau de Javel' hypochlorite de calcium (Ca(ClO)2 , le chlore de chaux (CaCl,OCl) et le chlorite de sodium (NaClO2).

-L'ozone(O3)

Est un oxydant puissant, la désinfection par l'O3 est utilisée aux États-Unis, en Afrique du Sud et au Moyen Orient essentiellement. Il permet

l'élimination des bactéries, des virus et des protozoaires. C'est le seul procédé vraiment efficace contre les virus. Les tests de toxicité effectués sur des poissons, des crustacés et des algues n'ont pas permis de mettreen évidence une quelconquetoxicité

Il existe aussi des traitements physiques tel que:

Les rayons ultraviolets

Qui consistent à utiliser des lampes à mercure disposées parallèlement ou perpendiculairement au flux d'eau. Leur rayonnement s'attaque directement aux microorganismes. Ce traitement est très simple à mettre en œuvre, car il n'y a ni stockage, Ni manipulation de substances chimiques et les caractéristiques chimiques de l'effluent ne sont pas modifiées

La filtration

Est un procédé physique qui permet de retenir les microorganismes par rétention àl'aide d'un filtre. Qu'elle soit réalisée sur sable ou sur membrane cette technique exige une épuration secondaire préalable garantissant une élimination assez poussée des matières en suspension. L'élimination des virus, des bactéries et des protozoaires est fonction du milieu poreux, de la vitesse de percolation, de l'épaisseur du massif filtrant et du niveau d'oxydation de l'eau filtrée.

Traitements de stabilisation des boues

Le traitement de stabilisation des boues réside essentiellement dans l'élimination ou la réduction du pouvoir fermentescible des boues organiques, notamment des matières à évolution bactérienne rapide afin d'éviter l'émission d'odeurs désagréables (Koller, 2009). L'empêchement de la fermentation des matières organiques des boues se fait par l'addition de la chaux pour maintenir un pH supérieur à 12 en inhibant toute activité microbienne (Molleta, 2006).

Traitement de l'épaississement et de concentration des boues l'épaississement est la première étape pour réduire le volume des bouestout en augmentant la concentration pour permettre la déshydratation. le concentrateur statique présente deux phases de fonctionnement : La

clarification permet d'obtenir un surnageant pauvre en matière ensuspension, l'épaississeur est alors considéré comme un décanteur, puissous l'action de la pesanteur, la teneur des boues en matière en suspension progresse (Cardot, 1999).

conditionnement des boues

Après l'épaississement, les boues contiennent encore une très forte proportion d'eau, ce qui rend difficile la réduction de leur volume. Elles sont intimement liées à la masse colloïdale de nature hydrophile. Un conditionnement est indispensable pour rendre son exploitation dans les différents équipements (Degrement, 1978). Déshydratation Les procédés de déshydratation ont pour objectif de faire passer la boue de l'état liquide à une consistance plus ou moins solide, qui devra évidemment répondre aux exigences de la destination finale choisie(Koller,2009).

Séchage

Le séchage consiste à évacuer par évaporation l'eau interstitielle présente dans les boues. Dans le cas d'un séchage total, le produit final se réduit pratiquement en matière sèche. Il se réalise avec l'utilisation du lit de séchage qui est constitué par une couche de 30 à 40 cm de sable, reposant sur une couche de gravier. Les boues sont déposées à la surface du sable dans un premier temps, l'eau interstitielle percole rapidement à travers le sable. Un système de drainage permet de la récupérer et de la renvoyer dans le bassin d'aération. Les boues restent à la surface du lit de sable et sèche au cours de temps. Ces boues sèches peuvent être enlevées soit manuellement soit micaniquement (Molleta,2007).

Elimination finale des boues L'élimination finale des boues issues du traitement des effluents des industries agroalimentaires semble être utile à la valorisation en agriculture car ils sont riches en élément fertilisants (Molleta, 2006).

3.4. Nouvelles technologies du traitement biologique

Les eaux usées contiennent principalement trois types de pollution : carbonée,azotée et phosphorée. Ces pollutions peuvent être sous deux formes chimiques :organique ou minérale, et sous trois formes physiques : dissoute, colloïdale ou particulaire . En revisitant l'histoire du traitement biologique des eaux usées, en éliminant le carbone, l'azote et le phosphore des déchets, la clé est de fournir différentes niches microbiennes pour enrichir les micro-organismes fonctionnels, tels que les hétérotrophes, les nitrifiants et les organismes accumulant les polyphosphates.

L'un des systèmes de traitement des eaux usées qu'il est intéressant à développer est un traitement biologique utilisant des micro-organismes. Le système de traitement biologique est adapté au traitement des eaux usées de bière contenant des matières organiques dissoutes et en

suspension. Ce système utilise l'activité microbienne pour oxyder les composés à l'aide d'O2 moléculaire en CO_2 eau, et une nouvelle cellule (Bitton, 2005 ; Nusanthary etal., 2012). Les processus de dégradation dans l'environnement sont généralement réalisés par un consortium de microbes plutôt que par un seul type de microbes seul (Thompson et al., 2005). Un système de traitement qui utilise un mélange de cultures microbiennes fournira des résultats plus efficaces que les cultures uniques en raison de l'activité catabolique des cultures bactériennes. La culture se complètent et les produits de décomposition produits de décomposition d'une culture peuvent être utilisés par d'autres cultures pour poursuivre le processus de décomposition qui peut aider à améliorer l'oxydation des matières organiques dans les eaux usées matière organique (Jadhav et al., 2008). Cette étude a pour but d'obtenir le meilleur consortium microbien capable de traiter les eaux usées et, éventuellement, les eaux usées de la bière déversées dans l'environnement peuvent être réutilisées pour les processus de vie.de Plus réalisation on était lancées pour identifier la fonction et le métabolisme microbiens pour atteindre la possibilité de l'application de nouvelles technologies cependant , qu'on a divers types de micropolluants, y compris les pesticides, les produits pharmaceutiques et les produits de soins personnels, les perturbateurs endocriniens et les nanoparticules. Habituellement, ces composés émergents ont des caractéristiques de faibles concentrations et sont difficiles à éliminer par les technologies conventionnelles de traitement des eaux usées . certains types de micro-organismes peuvent être adaptés à l'émergence de nouveaux composés chimiques, favorisant l'élimination de ces composés émergents . Concept de nexus de niche microbienne pourrait être proposé pour le traitement biologique des eaux usées. Le lien de niche microbienne signifie régler les niches microbiennes pour accueillir diverses communautés microbiennes pour l'élimination efficace des polluants connus et inconnus. Les niches des nouveaux microbes fonctionnels peuvent être différentes des microbes « classiques », ainsi l'étude de la cinétique métabolique, de la diversité et des interactions microbiennes, (par exemple le couplage de flocs en suspension et de biofilm), ces nouveaux micro-organismes ont cruciale pour développer de nouvelles technologies de traitement des eaux usées basées sur l'optimisation des niches microbiennes. Cependant, le DIET peut être une approche cruciale pour améliorer la conversion énergétique des eaux usées. Par la découverte de ce nouveau mécanisme microbien, plusieurs stratégies ont été proposées qui peuvent être potentiellement appliquées pour réaliser la stimulation de DIET afin d'améliorer la méthanogène.

Le Premier est la réglementation basée sur la microbiologie. Une forte abondance de micro-organismes capables de DIET implique souvent la bonne performance de DIET. Enrichir les

acteurs DIET en optimisant leurs niches peut entraîner la dominance de la voie DIET dans les systèmes méthanogènes. Deuxièmement, favoriser l'excrétion de composés extracellulaires et ajuster l'interaction syntrophique pourraient également être appliqués pour de meilleures performances DIET . D'autres stratégies d'élimination des composés émergents grâce au réglage de niche microbienne, des niches microbiennes appropriées pourraient être appliquées pour atténuer la toxicité biologique induite par les composés émergents , De plus, le changement du taux de charge organique pourrait également conduire à une variété de niche de microbes, affectant ainsi les efficacités d'élimination (G.wu et Q.yin.,npj clean water,2020)

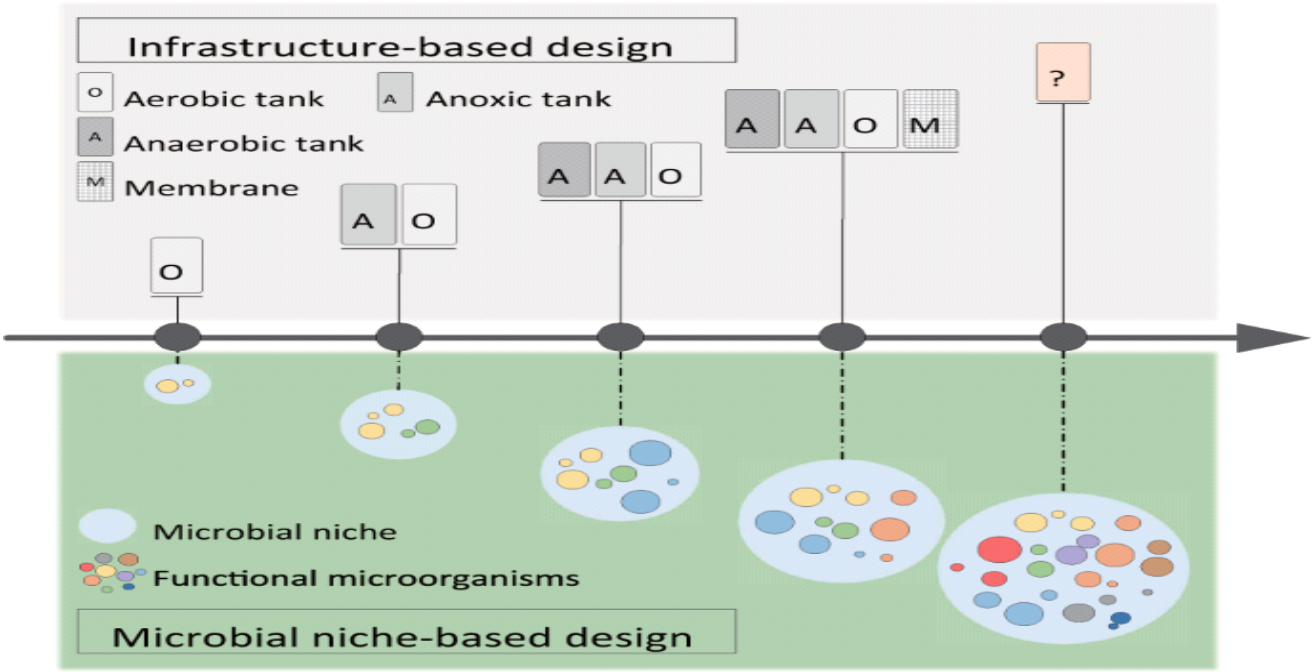


Figure 4. Infra structure des niches microbiens

I. Matériel

1. Lieu de stage

La step de Oued Lahrech se située à 7 kilomètres au sud de la ville de Médéa (Nord-Ouest de l'Algérie) au bord de l'Oued Lahrache dans une zone relativement enclavée de collines. Mise en exploitation en 2007 et exploitée par l'Office Nationale de l'Assainissement (O.N.A) conformément au référentiel ISO 14001 en 2009, elle a pour vocation le traitement des eaux usées domestiques de types boue activée de la ville de Médéa et de ses environs.

Avec capacité de 26,000 m 3 /jour, la STEP est destinée à la protection des eaux de l'oued harbil et de la nappe phréatique de la partie sud de la région de Médéa .

La construction et la mise en place des équipements électromécaniques de cette station se feront en deux phases permettant ainsi de traiter les eaux d'une population équivalente à 162500 Eq/habitants en première phase (phase actuelle) et à 195000 EH en deuxième phase



Figure 5 .Plan de la situation géographique de la STEP de Médéa (source Google earth)

La filière de traitement correspond ainsi en totalité et successivement :

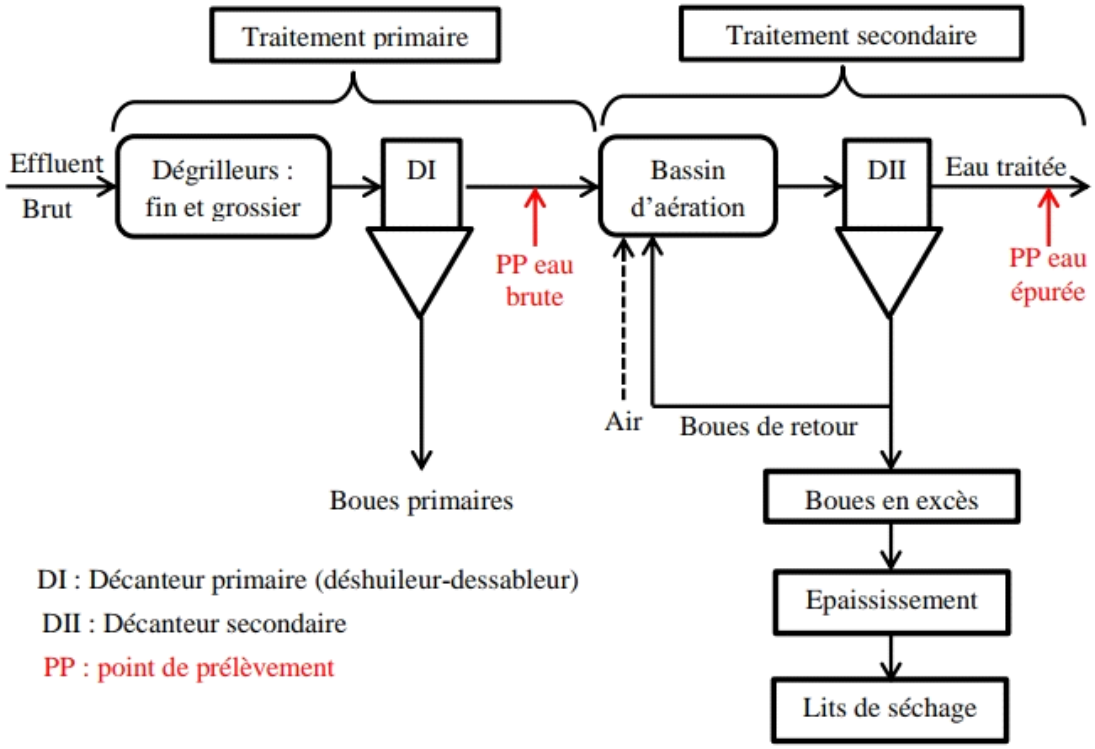


Figure 6 . Schéma général de la STEP de Médéa

2. Matériel non biologique

Durant notre stage de fin d'étude réalisé nous avons utilisé des appareils (Annexe 1), des solutions (Annexe 2) et des milieux de culture (Annexe 3).

II. Méthodes

1. Echantillonnage

Les eaux usées brutes et traitées utilisées pour les différentes analyses pour notre étude ont été collectées durant la période Mars-Avril 2022.

Les eaux usées brutes ont été obtenues a partir de pont d'échantillonnage alors que les eaux traitées purifiées ont été collectées a partir de Bassin de désinfection

Le prélèvement a été réalisé manuellement à la main à l'aide d'une perche dans des bouteilles, probablement rincées avec de bouchées sous l'eau, de 1L de volumes.

Les échantillons collectés ont été conservé au froid à 4°C pendant une journée avant de les transporter au laboratoire de la station d'épuration dans les conditions de froid.

2. Analyses physique

2.1. Température

La mesure de la température des eaux usées brutes est un paramètre de confort pour les usagers. Elle permet également de corriger les paramètres d'analyse dont les valeurs sont liées à la température (conductivité notamment). De plus, en mettant en évidence des contrastes de température de l'eau sur un milieu, il est possible d'obtenir des indications sur l'origine des eaux Dans un volume de 200 ml des eaux, l'électrode d'un thermomètre de type HACH a été plongée à 15 Cm de profondeur sous agitation mécanique. La température correspond à la valeur affichée et exprimé en exprimé en degré Celsius (°C). (Soude Marilyn et al., 2009)

2.2. Potentiel hydrogène

Le pH exprime la différence de potentiel existant entre une électrode de verre et une électrode de référence plongeant dans la même solution. Le potentiel de l'électrode est lié à l'activité des ions H+ (Rodier et al., 2009). Les mesures du pH ont été effectuées à l'aide d'un pH-mètre de type **multi 340i** (pH.CE.Od). L'eau à examiner sera amenée au contact de l'électrode par circulation. La lecture a été faite après stabilisation de la valeur affichée du pH.

2.3. Conductivité électrique

La conductivité mesure la capacité de l'eau à conduire le courant entre deux électrodes. La plupart des matières dissoutes dans l'eau se trouvent sous forme d'ions chargés électriquement. La mesure de la conductivité permet donc d'apprécier la quantité de sels dissous dans l'eau.

Dans un volume de 200 ml des eaux, l'électrode d'un conductimètre de type HACH SENSION 5 a été plongée à 15 Cm de profondeur sous agitation mécanique. La lecture a été

faite après stabilisation de la valeur affichée. La CE exprimée en micro-siemens par centimètre (µS/Cm) ou en milli-siemens par centimètre (mS/Cm).

La conductivité électrique est une mesure de courant conduit par les ions présents dans l'eau. La détermination se fait directement, à l'aide d'un conductimètre.

2.4. Matières en suspension

Les matières en suspension (MES) sont obtenues soit par filtration des effluents peu chargés, soit par centrifugation des solutions, séchage jusqu'à l'évaporation total d'eau (Rodier et al., 2009).

La séparation des MES de l'eau a été réalisé par centrifugeuse (HERMLEZZOO) . 200ml d'eau a été centrifugé à 2500 rpm pendant 20 min Le culot obtenu a été récupéré dans un creuset en porcelaine et mis à sécher à 105°C. Le résidu sec est ensuite pesé. Il correspond aux MES contenues dans l'eau analysée.

La teneur en MES, des eaux brutes et des eaux traitées a été calculée à partir de la formule suivante : **[MES]= (M1-M0) x 1000/V en mg.l^{-1}**

Avec

M0 : la masse en milligrammes de creuset en porcelaine vide (la tare).

M1 : la masse en milligrammes du creuset et de son contenue après séchage à 105°C.

V : le volume en millilitre de la prise d'essai.

3. Analyses chimique

3.1. Demande chimique en oxygène

La DCO consiste à mesurer la quantité d'oxygène nécessaire à l'oxydation des matières oxydables présentes dans l'eau (d'origine organique ou minérale, biodégradables ou non) pendant 2 heures à l'ébullition (150°C) (Ouali, 2001). La DCO est mesurée par voie photométrique.

Trois tube à DCO ont été remplis avec un volume de 10 ml de chaque solution Eau à analyser, Eau distillée (Blanc) et l'hydrogenophtalate de potassium C8H5KO4 (Témoin). Ajouter dans chaque tube 5 ml de dichromate de potassium (K2Cr2O7) et quelques billes en verre (régulateur d'ébullition) et agiter soigneusement avec agitateur magnétique chauffant IKA (RET) pendant quelques minute . Ajouter progressivement dans chaque tube 15 ml d'acide sulfurique concentré.

Les différents tubes ont été placés dans un DCO-mètre de BEHR réglé à une température de 150°C pendant 120 minutes. Après refroidissement des tubes à DCO, 45ml d'eau distillée a été ajouté dans chaque tube pour obtenir un volume total de 75 ml.

Le mélange a été transversé dans un erlenmeyer de 250 ml et a été titré avec la solution ferreuse ou bien la solution d'indicateur (annexe 3) et en agitation dans un agitateur magnitique jusqu'a ce que la coloration bleu vert passe au brun rouge, ensuite en lire le volume V1 qui a été versé lors de traitement.

La DCO, des eaux brutes et des eaux traitées a été calculée à partir de la formule suivante :

DCO = [8000 x C x (V2 – V1)]/ V0

Avec

C : concentration de sulfate de fer et d'ammonium exprimée en (mol/l) (environ 0.12 mol/l).

V0 : volume en ml de la prise d'essai avant dilution éventuelle.

V2 : volume en ml de la solution de sulfate de fer et d'ammonium utilisée pour l'essai à blanc.

V1 : volume en ml de la solution de sulfate de fer et d'ammonium utilisée pour la détermination de l'échantillon. 8000 : ½ masse molaire de l'oxygène par litre. Les résultats sont exprimés en mg d'oxygène par l.

3.2. Demande biochimique en oxygène

La demande biochimique en oxygène (DBO) exprime la quantité d'oxygène nécessaire à la dégradation de la matière organique biodégradable de l'eau usée par le développement de micro-organismes, dans des conditions données. Les conditions communément utilisées sont 5 j (on ne peut donc avoir qu'une dégradation partielle) à 20°C, à l'abri de la lumière et de l'air. Dans ces conditions, elle est nommée la DBO5.

Un volume de 250 ml d'eau à analyser a été placé dans un flacon contenant un barreau magnétique et probablement étiqueté. L'étiquette doit contenir la date du prélèvement, la date de début d'analyse et l'identification de l'échantillon. Une capsule a été introduite dans le flacon et qui contient deux pastilles de NaOH pour capter le DCO. Le flacon a été incubé pendant 5 j à 20 °C, à l'obscurité et sous agitation. Aprés La mesure peut s'effectuer en sélectionnant dans le menu "affichage numérique" en attendant que la valeur affichée se stabilise ; la concentration initiale est donnée en µmoles.l^{-1} .

La seconde mesure, 5 jours après, doit s'effectuer dans les mêmes conditions.

Calculer la DBO5 à partir de ces deux mesures.

DBO5 (mg.l^{-1}) = Lecture au bout de 5 jours x Facteur

3.3. Dosage du Nitrate

Les nitrates constituent le stade final de l'oxydation de l'azote organique dans l'eau. Les bactéries nitratâtes (nitrobacters) transforment les nitrites en nitrates. Les nitrates ne sont pas toxiques ; mais des teneurs élevées en nitrates provoquent une prolifération algale qui contribue à l'eutrophisation du milieu. Leur potentiel danger reste néanmoins relatif à leur réduction en nitrates (Rodier., 2009).

Un volume d'eau à analyser de 25 ml a été mélangé avec 0.5 ml d'Azoture de sodium $NaN3$ et 0.2 ml d'Acide acétique. Le mélange a été séché à une température de 75-88 C°. Après séchage, 1 ml de salicylate de sodium $C7H5NaO3$ suivi d'un séchage à une température de 75-88 C°. Une fois refroidie, 1 ml d'Acide sulfurique H_2SO_4 a été ajouté et laissé reposer environ 10 min. Ensuite, 10 ml d'eau distillé suivi de 10 ml de la solution d'Alcali (NaOH)

Le mélange obtenu a été transvasé dans une fiole jaugée de 25 ml sans compléter et placé dans le bain d'eau à 25 C° pendant 10 min. la fiole a été retiré et complété au volume de 25 ml avec l'eau distillée. Une lecture de la densité optique du mélange a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde λ= 415 nm. La teneur en nitrate a été exprimé en $mg.ml^{-1}$ d'eau en multipliant la teneur en nitrate NO3- (résultat) X4,43

3.4. Dosage des orthophosphates

Le dosage à pour avoir la concentration et le teneur des eaux usées en phosphates

Un volume de 40 ml de l'eau à analyser a été additionné avec 2 ml de molybdate acide. Après agitation, le volume a été complété à 50 ml avec de l'eau distillée. Puis laisser à reposer 30 minutes

L'apparition d'une coloration bleue indique la présence des PO_4^{-3} et puis Une lecture de la densité optique du mélange a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde λ= 880 nm.

4. Recherche des parasites

Agiter le prélèvement d'eau à analyser, puis mettre une goute des boues à l'aide d'une pipette prélever du culot et bien l'étaler sur une lame, Observer au microscope optique X40 grossissement faible puis fort X100.

5. Recherche des bactéries impliquées dans la biodégradation des eaux usées

5.1. Dénombrement

Le dénombrement de la flore bactérienne totale des eaux usées a été réalisé selon la la méthode de suspension-dilution largement utilisée dans la littérature (Weidenbörner et al., 2000 ; Lana et al., 2003).

A partir d'une solution mère de l'eau usée brute (10 ml) une série de dilution a été réalisé allant 10^{-6}. 50µl de chaque dilution a été ensemencé par étalement à la surface du milieu TSA puis incubé à 30°C pendant 24-48H.

Le dénombrement de la microflore bactérienne totale a été réalisé, en multipliant le nombre des colonies comptées (x) par le facteur de dilution (1/d) et par l'inverse du volume ensemencé (V), selon la loi de Kass. Le nombre total des bactéries (N) dans l'échantillon de départ est exprimé par $UFC.ml^{-1}$.

A partir des colonies formées une série de repiquages a été effectuée sur le milieu TSA suivant la méthode des stries d'épuisement jusqu'à l'obtention de cultures pures.

5.2. Sélection des isolats

La recherche et la sélection des bactéries avec une forte capacité de biodégradation a été effectué suivant une méthode d'élimination suite à un ensemble de tests. Il s'agit de : Fixation d'azote, solubilisation des phosphate, hétérotrophie, et la capacité de bio dépollution. Cette dernière a été évaluée par une mesure de la DCO, DBO, la teneur en azote et en orthophosphates.

5.1. Fixation d'azote

La recherche des isolats fixateurs d'azote atmosphérique a été réalisée par ensemencement en stries des isolats d'une culture fraiche âgée de 24 h sur le milieu exempt d'azote JENSEN. Les boites ensemencées ont été incubée à 28 ± 2 ° C pendant 4 jours. La capacité des bactéries à fixer l'azote se traduit par la dégradation du milieu et cela après 10 repiquages (Thompson, 1989).

5.2. Solubilisation des phosphates

La solubilisation des phosphates inorganiques a été déterminée sur le milieu NBRIP (National Botanical Research Institut's Phosphate), contenant 0,5% du phosphate tricalcique (Ca3(PO4)2) comme seule source de phosphate insoluble (Nautiyal, 1999).

Les isolats bactériens frais et âgés de 24h, ont été ensemencées par spot sur la surface du milieu NBRIP à raison de cinq souches par boîte de Petri, puis incubées à 30 °C pendent 14 j. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (Sagervanshi et *al*.**,** 2012).

L'estimation de l'activité de solubilisation a été déterminée par le calcul de l'indice de solubilisation des phosphates (ISP) calculé selon la formule suivante (Sitepu et *al.*, 2007):

5.2. Taux de croissance

L'étude de la capacité de la biodégradation des eaux usées par les différents isolats sélectionnés a été réalisée par un test présomptif pour chaque isolat.

Dans des eppines dorffes de 1,5 mL contiens TSB une suspension bactérienne a été inoculé à laide d'un ance de platine ensuite incubées à 30°C pendant 24H et sous agitation (150rpm) .Après une incubation à 28°C pendant 24H et sous agitation (150rpm), la densité optique (DO) de la solution a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis à une longueur d'onde de 600nm.

Aprés inroduirde le contenu des eppines dorffes dans des flacons de 250 mL,incubées à 30°C pendant 24H et sous agitation (150rpm), et encore mesurer la densité optique (DO) de la solution a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis à une longueur d'onde de 600nm.

Une mesure de la DO à une longueur d'onde de 600nm a été réalisé et un taux de croissance a été calculé par la formule suivante

$$Q = (DOf-DOi)*100$$

Avec

Q : Taux de croissance de l'isolat.

Dof : Densité optique finale de la suspension bactérienne après incubation avec l'eau usée.

Doi : Densité optique initiale de la suspension bactérienne

Les solutions obtenues après ajout des suspensions bactériennes ont été analysés pour leur effet sur le pH, La conductivité, la DBO5, La DCO et la teneur en nitrates et orthophsphates selon les méthodes décrites précédemment.

5.3. Identification phénotypique des isolats

5.3.1. Caractérisation morphologique

L'observation à l'état frais permet d'explorer la mobilité des cellules bactériennes et le mode de groupement et de faire une approche de leur morphologie (Bousseboua, 2002). Une petite goutte d'eau physiologique stérile à été déposée au centre d'une lame stérile, puis une partie d'une colonie bactérienne jeune (18H) à été prélevée par l'anse flambée et dissociée dans la goutte, une lamelle stérile a été ensuite appliquée sur la goutte en évitant la formation des bulles d'air. L'observation microscopique a été réalisée à l'objectif X40 puis X100 (Joffin et Leyral, 2005).

L'identification morphologique des colonies à l'état fixé consiste à une observation microscopique après coloration de Gram (Marchal et Bourdon,1982).

La coloration de Gram est une coloration différentielle de base permet de distinguer deux grands groupes bactériens en fonction de la composition de leurs parois et de leurs affinités aux différents colorants : des bactéries à Gram positifs colorées en violette et Gram à négatifs en rose, et elle permet aussi de déterminer la forme, la taille, l'arrangement, la nature biochimique de la paroi des cellules bactériennes, la vérification de la pureté de l'isolat et permet de visualiser les endospores bactériennes, leurs formes et leurs positionnements.

Un frottis fixé à la chaleur a été coloré pendant une minute au violet de cristal suivie d'un rinçage rapide à l'eau distillée, puis traité pendant une minute par une solution de lugol, et de nouveau rincé rapidement à l'eau distillée. Une décoloration du frottis a été réalisée par un traitant avec l'éthanol 95% pendant 15 à 30 secondes puis rincé à l'eau distillée. Ensuite le frottis a été coloré par la fushine pendant 10 à 30 secondes et après un bref rinçage à l'eau distillée, le séchage du frottis au buvard ou au-dessus de la flamme d'un bec Bünsena été réalisé. L'examen au microscope a été réalisé aux grossissements x40 et x100 à immersion.

5.3.2. Type respiratoire

5.3.2.1. Catalase

Ce test a pour but de mettre en évidence l'acquisition des bactéries de l'enzyme catalase qui dégrade le peroxyde d'oxygène en H_2O_2 en H_2O et O_2.

L'examen a été effectué sur une lame propre et sèche. Une goutte de la crème oxydant à 30 volumes a été déposé puis à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée l'inoculum bactérien a été ajouté ajouter. Un dégagement immédiat des bulles d'air signifie la présence de l'enzyme.

5.3.2.2. Oxydase

La recherche de l'oxydase est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout celle des bacilles à Gram négatif. Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée à oxyder la forme réduite incolore de dérivés méthylés du paraphénylène diamine, en leur forme oxydée semi quinonique rose violacé.

Le test oxydase a été réalisé grâce à des disques d'oxydase prêts à l'emploi contenant de l'oxalate N-diméthyl -paraphényléne diamine. Les disques ont placés sur une lame et une colonie y est déposée avec une pipette Pasteur.

Les bactéries oxydase positives dégradent le substrat sur le disque et donnent une coloration violette foncée après quelques secondes (Marchall et *al*., 1982).

5.3.2.3. Mobilité

L'étude de la mobilité a été réalisée sur milieu Mannitol-mobilité. Ce milieu permet l'étude de la fermentation du mannitol, la mobilité et la réduction du nitrate (enzyme respiratoire).Le test a été procédé par l'ensemencement de la colonie à l'aide d'une pipette Pasteur, par piqûre centrale, jusqu'au fond du tube de gélose, incubée pendant 24 heures à 30°C.

La fermentation du mannitol est traduite par un virage de la couleur du milieu de culture au jaune et les bactéries mobiles envahissent le milieu de culture à partir du point d'ensemencement (Bouras, 2018).

5.3.3. Caractérisation physiologique

Pour une caractérisation physiologique de nos isolats, nous avons retenus un ensemble de critères, il s'agit de : salinité, température, pH, l'alcalinisation/acidification du milieu et la résistance aux antibiotiques et métaux lourds.

5.3.3.1. Température

Pour étudier l'effet de la température d'incubation sur la croissance de nos isolats, des cultures bactériennes jeunes (24H) ont été inoculés sur milieu TSB1/10 et incubées pendant 24-48h sous agitation (150rpm) à différentes températures 10°C, 20°C,30°C et 40°C. La biomasse a été déterminée par une mesure de l'absorbance de la solution à une longueur d'onde de 660nm .

5.3.3.2. pH

Afin de tester la capacité des bactéries à se développer en milieu alcalin et / ou acide, le milieu TSB1/10 a été préparé puis ajusté par l'addition deHCl 1M et/ou du KOH1M pour obtenir une gamme de pH de: 4, 7,10 et 12.

Des cultures bactériennes jeunes (24H) ont été inoculés sur milieu TSB1/10de différents pH puis incubées pendant 24-48h sous agitation (150rpm) et à 28±2°C. La biomasse a été déterminée par une mesure de l'absorbance de la solution à une longueur d'onde de 660nm

5.3.3.3. Salinité

Pour évaluer la capacité de nos souches à croître dans les conditions de salinité, différents concentrations de NaCl ont été ajouté au milieu de culture, il s'agit de 100mM, 200mM et 300mM.

Des cultures bactériennes jeunes (24H) ont été inoculées sur milieu TSB1/10 à différentes concentration de salinité puis incubées pendant 24-48h sous agitation (150rpm) et à 28±2°C. La biomasse a été déterminée par une mesure de l'absorbance de la solution à une longueur d'onde de 600nm.

5.3.4. Identification des genres

Une première orientation dans l'identification des isolats a été réalisée sur différents milieux de culture. Nous avons utilisé différentes milieux de cultures

Ensemencement sur gélose hektoen : Pour l'isolement et à la culture de microorganismes entériques à Gram négatif, en particulier à l'isolement des espèces Shigella et Salmonella issues d'échantillons fécaux, on fait l'ensemencement dans milieu Hektoen par stries des souches et on laisse incuber pendant 48h à 37°C.

Ensemencement sur milieu king B : Pour la détection et la différenciation de *Pseudomonas aeruginosa* qui produit ce pigment fluorescent contrairement à certaines espèces de Pseudomonas qui n'en produisent pas on fait l'ensemencement par stries des souches et on lasse incuber 24h à 37°C.

Ensemencement sur milieu SCA : Permettant la croissance et l'isolement d'une grande variété de levures et moisissures. L'addition de chloramphénicol inhibe la croissance des bactéries Gram positif et Gram négatif on fait l'ensemencement par stries des souches et on laisse incuber pendant 7 jours à 37°C.

5.3.6. Test de sporulation

Permettre de connaître les micro-organismes sous forme de spore de Bacillus.

L'inoculation des souches jeunes de 24H a été effectué dans 1,5 mL contiens TSB à laide ensuite incubées à 30°C pendant 24H et sous agitation (150rpm).

Les suspensions bactériennes ont été incubées pendant 1H à 80°C, puis ensemencé par stries sur TSA suivis d'une incubation à 30°C pendent 24H .

I. Analyses physico-chimiques

1. Température

La température de l'eau est un facteur écologique qui entraine d'importantes répercutions écologiques. Selon Rodier et al., (2005), elle joue également un rôle dans la solubilité des sels et surtout des gaz, dans la dissociation des sels dissous (sur la conductivité électrique) et dans la détermination du pH.

Les valeurs de la température enregistrées (Fig.6) durant les mois de Mars et Avril sont voisines de la température ambiante. A l'entrée de la station, les eaux usées brutes présentent une température de 14.5°C en mois d'Avril et 12.1°C en mois de Mars. Tandis qu'à la sortie, la température moyenne des eaux usées épurées est de 15.1°C en mois d'Avril et 11.8°C en mois de Mars.

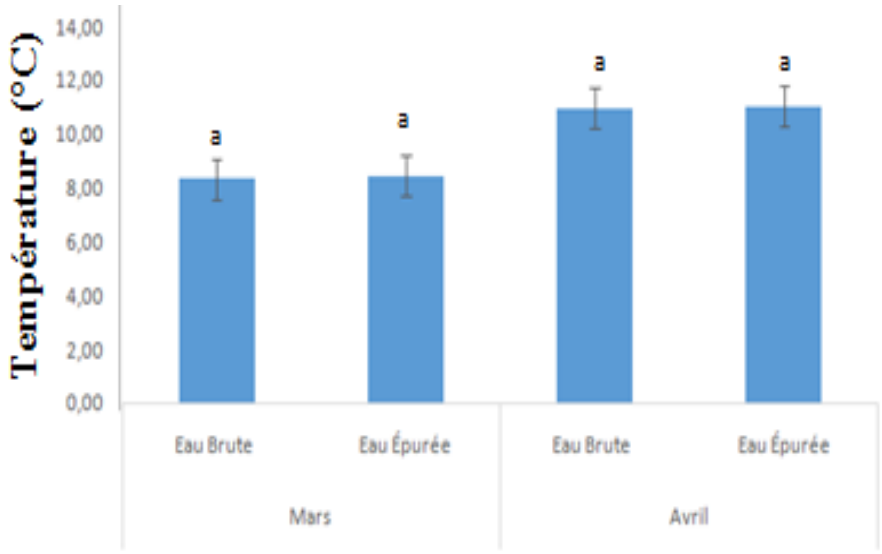


Figure 6. Température enregistrées pour les eaux analysées provenant de la STEP Médéa.

Les valeurs sont données comme la moyenne de 30mesures indépendantes et portant des lettres différentes (a,b) sont significativement différentes les unes des autres selon le test de différence le moins significative (LSD) à $P<0.05$

Ces différentes valeurs sont liées aux conditions climatiques et sont admissibles car elles ne dépassent pas les normes préconisées par le JORA (25°C) et par l'OMS (30°C).

Les valeurs des températures à l'entrée et à la sortie sont proches mais avec une légère augmentation de la température de l'eau épurée, ce qui peut être liée au temps de séjour de l'eau

dans les ouvrages (exposition de l'eau au soleil dans le décanteur etc.) et qui favoriserait d'après Djermakoye (2005), l'autoépuration en accroissant la vitesse de sédimentation, ce qui peut présenter un intérêt pour les stations d'épuration.

2. Potentiel d'hydrogène

Le pH de l'eau usée affecte la solubilité des métaux ainsi que l'alcalinité des sols. La gamme normale du pH dans l'eau usée municipale est de 6,5 à 8,5 (FAO, 2003). Selon Gaid (1993), le pH joue un rôle important dans le processus d'épuration biologique aérobie car la biomasse a besoin d'un pH proche de la neutralité pour compléter son activité épuratrice.

Nos résultats (Fig.7) ont montré que les valeurs du pH de l'eau brute varient entre une valeur minimale de et une valeur maximale de. Celles de l'eau épurée entre une teneur minimale de et une teneur maximale de .Ces résultats ne dépassent pas les normes de rejets Algériennes : 6,5≤ pH≤ 8,5 recommandées par le JORA (2012).

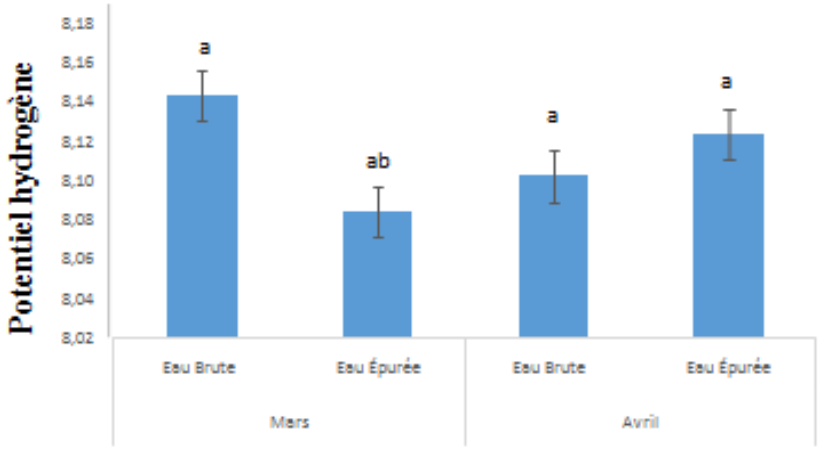


Figure 7. Potentiel hydrogène enregistrées pour les eaux analysées provenant de la STEP Médéa.

Les valeurs sont données comme la moyenne de 30 mesures indépendantes et portant des lettres différentes (a,b) sont significativement différentes les unes des autres selon le test de différence le moins significative (LSD) à P<0.05

Nous avons noté une diminution non significative à P<0.05 de la moyenne du pH après le traitement qui, peut être liée au traitement qu'a subit l'eau brute mais qui reste tout de même idéal car d'après Blinda (2007), des pH compris entre 5 et 9 permettent un développement normal de la faune et de la flore. D'après Rejsek (2002), cette variation est due aux réactions chimiques

et/ou biologiques qui produisent des ions acides ou qui consomment des ions basiques. Donc nous constatons que les valeurs du pH des eaux usées traitées ne présentent aucun risque pour la réutilisation en irrigation (JORA, 2012).

3. Conductivité électrique

La conductivité électrique (CE) est une expression numérique de la capacité d'une solution à conduire le courant électrique. La plupart des sels minéraux en solution sont de bons conducteurs. Par contre, les composés organiques sont de mauvais conducteurs (Devillers et al., 2005).

Les résultats obtenus (Fig.8) lors de la mesure de la conductivité électrique de l'eau brute et épurée ont montré des valeurs allant de 1700µS/cm à 1800 µS/cm en mois d'Avril et de 1500µS/cm en mois de Mars.La différence entre les valeurs de sortie et de l'entrée est probablement due à la sédimentation des sels minéraux dans le clarificateur qui sont concentrés dans les boues. En effet, une conductivité supérieure à 666 µS/cm implique une minéralisation importante des eaux. Ce qui également, est bien explicite dans le tableau (Annexe 6) .

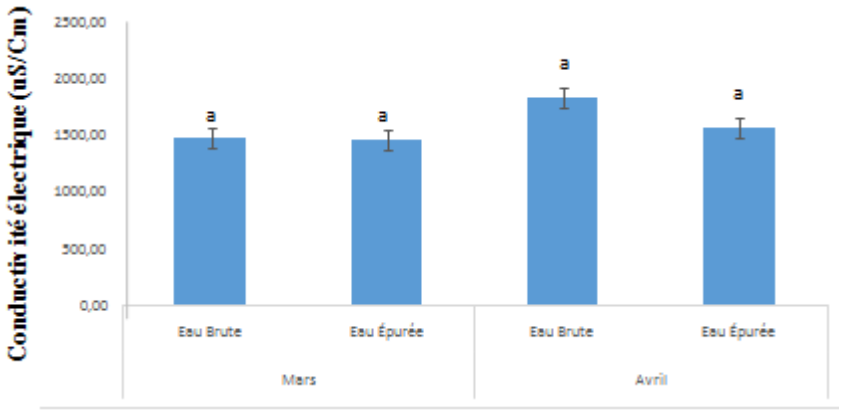


Figure 8. Conductivité électrique enregistrées pour les eaux analysées provenant de la STEP Médéa.

Les valeurs sont données comme la moyenne de 30 mesures indépendantes et portant des lettres différentes (a,b) sont significativement différentes les unes des autres selon le test de différence le moins significative (LSD) à P<0.05

Nous avons noté l'absence de l'effet du mois du prélèvement. D'après Salgui (2001), la CE d'une eau usée dépend essentiellement de la qualité de l'eau primaire potable utilisée, du régime alimentaire de la population et des activités industrielles et humaine.

L'ensemble des valeurs obtenues sont conformes aux normes des eaux destinées à l'irrigation (<3000µS/cm)..La conductivité électrique est l'un des critères permettant de déterminer l'aptitude d'une eau à usage agricole. L'eau apporte toujours au sol une certaine quantité de sels dont la

culture irriguée doit s'accommoder. C'est ce qui rend nécessaire l'étude comparative conductivité électrique et la résistance des différentes cultures à la salinité.

4. Paramètres de la pollution azotée

4.1. Nitrates

Les valeurs de la concentration des nitrates obtenues (Fig.9) varient entre 0mg.l-1 et 2,30mg.l^{-1} pour les eaux brutes et 12,50 mg.l^{-1} et 20 mg.l^{-1} pour les eaux épurées. Ces valeurs restent en dessous des normes du JORA et OMS. La concentration des nitrates des eaux épurées est significativement (P<0.05) supérieure à celle des eaux brutes ceci est due à la nitrification de l'azote ammoniacalen nitrate dans les bassins. Cependant ces résultats sont largement en dessous de la norme (30 mg.l^{-1}) recommandée par le JORA .

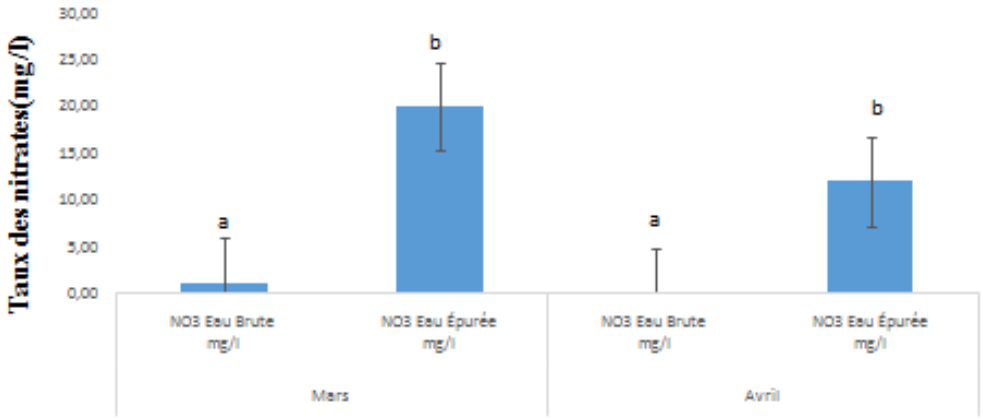


Figure 9. Taux des nitrates enregistrés pour les eaux analysées provenant de la STEP Médéa.

Les valeurs sont données comme la moyenne de cinq mesures indépendantes et portant des lettres différentes (a,b) sont significativement différentes les unes des autres selon le test de différence le moins significative (LSD) à P<0.05

D'un autre côté, une quantité infinie des nitrates dans les eaux de surface est liée soit à la croissance algale accrue dans ces sites, soit au phénomène conjoint de dénitrification qui transforme le nitrate NO_3- en azote NO_2- grâce à la présence de la matière organique. (SLIM et al.,2005).

4.2. Phosphates

Le phosphore peut exister dans les eaux à l'état dissous ou en suspension. Le phosphore total dissous comprend le phosphore organique et le phosphore inorganique qui lui-même inclut les ortho-phosphates et les poly-phosphates . (Rodier et al.,2009)

Les variations de la concentration des phosphates dans l'eau brute et celles des eaux épurées présentent de faibles concentrations largement inférieures aux normes. Les résultats obtenus (Fig.10) sont comprises entre un minimum de 1,60 mg.l^{-1} et un maximum 1,90 mg.l^{-1} pour l'eau brute , tandis que l'eau épurée a comme minimum 1 mg.l^{-1} et maximum 1,4 mg.l^{-1}

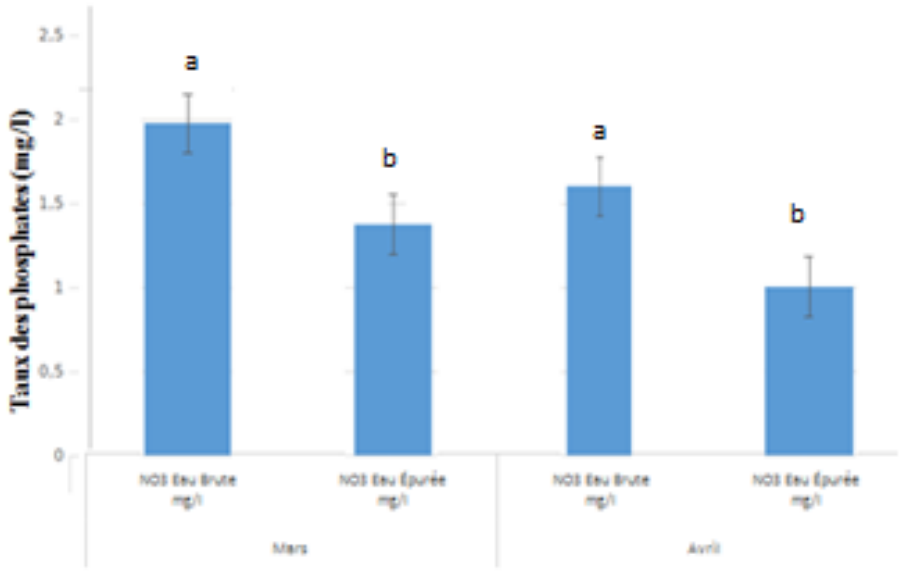


Figure 9. Taux des nitrates enregistrés pour les eaux analysées provenant de la STEP Médéa.

Les valeurs sont données comme la moyenne de cinq mesures indépendantes et portant des lettres différentes (a,b) sont significativement différentes les unes des autres selon le test de différence le moins significative (LSD) à P<0.05

4.3. Matières organique et oxydable

4.3.1. Demande Chimique en Oxygène

La demande chimique en oxygène (DCO) est la quantité d'oxygène consommée par les matières existant dans l'eau et oxydables dans des conditions opératoires définies (Rodier et al.2009). Ces valeurs sont conformes aux normes de l'OMS et du JORA (<90 mg O_2.l^{-1}) mais parfois légèrement supérieures à celles des eaux destinées à l'irrigation (<40 mg O 2 /l). Cette diminution est liées a la dégradation des matières organiques dans l'effluent.

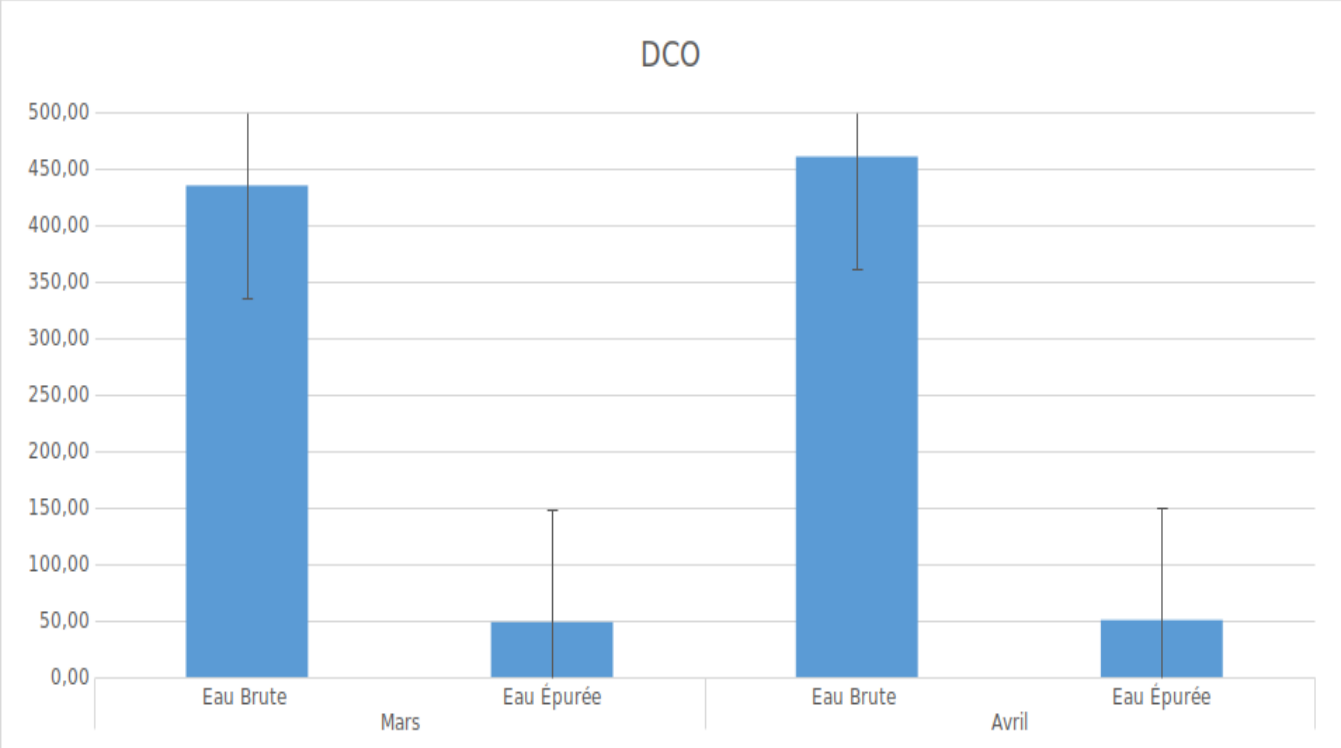


Figure 10. Taux de la DCO pour les eaux analysées provenant de la STEP Médéa.

Les valeurs sont données comme la moyenne de cinq mesures indépendantes et portant des lettres différentes (a,b) sont significativement différentes les unes des autres selon le test de différence le moins significative (LSD) à P<0.05

4.3.1. Demande Biochimique en Oxygène

La mesure de la DBO 5 permet d'évaluer le contenu d'une eau en matières organiques biodégradables, donc son degré de pollution ou sa qualité.

Nos résultats (Fig.11) nous montrent la variation de la DBO 5 des eaux (EB et EE). C'est ainsi qu'à l'entrée nous avons des EB présentant des valeurs qui varient entre 155mg O 2 /l et 250 mg $O_2.l^{-1}$.

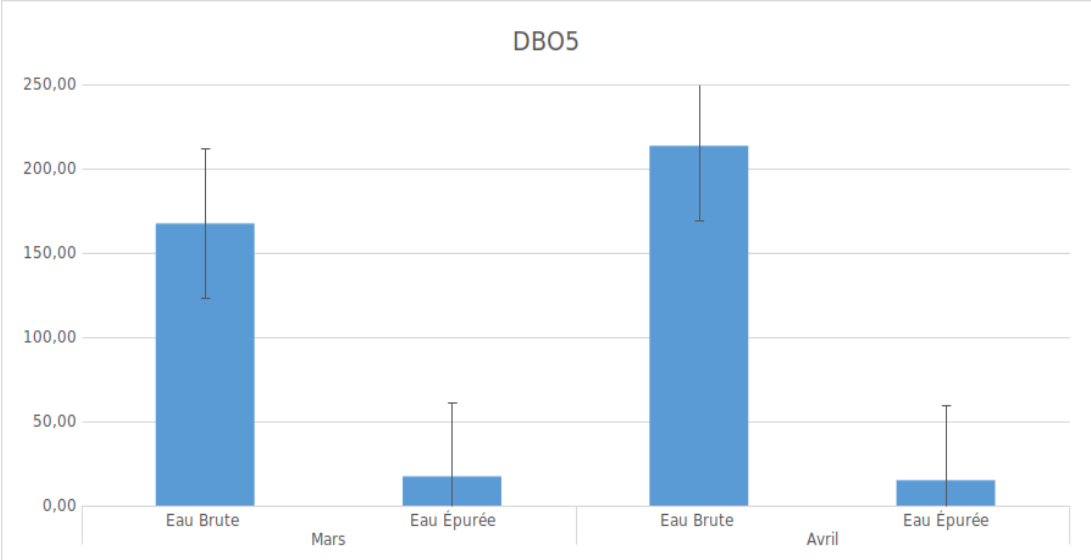


Figure 11. Taux de la DBO pour les eaux analysées provenant de la STEP Médéa.

Les valeurs sont données comme la moyenne de cinq mesures indépendantes et portant des lettres différentes (a,b) sont significativement différentes les unes des autres selon le test de différence le moins significative (LSD) à P<0.05

Par contre les valeurs des EE présentent une stabilité sur un intervalle 7mg $O_2.l^{-1}$ et 15 mg $O_2.l^{-1}$ dont la moyenne 19 mg $O_2.l^{-1}$ est sensiblement égale aux normes OMS, JORA. Cette diminution de la valeur dans les EE est probablement due d'une part, au bon développement des micro-organismes favorisé par un temps de séjour suffisant dans le bassin d'aération et d'autre part à l'âge de la boue.

Cette diminution est cette diminution est liées a la consommation de l'oxygène par les micro-organismes pour dégradation des matières organiques dans l'effluent.

II. Recherche des parasites

Nos observation des eaux usées brute sous microscope optique à différents grossissements (X40 et X100) nous a permis de détecter 4 genres de parasites (Fig.12). Il s'agit de :

1. Genre MONAS

Les membres de ce genre apparaissent comme des petit flagellé de 5 à 20 um de diamètre et corps sphérique (ovale ou rond); mouvements très lents; souvent immobile; en général, il apparaît clair avec une membrane cytoplasmique bien visible; deux flagelles inégaux. Ce genre de parasite est pratiquement toujours présent dans les boues activées, il ne se développe pas en période

d'instabilité et peut être associé à une charge faible et un rendement correct. En forte densité, c'est un indicateur d'apport notable d'effluents particuliers dont les industries animales (abattoirs de volaille, de bétail...). Il ne peut pas être classé en tant qu'indicateur d'un stade précoce d'évolution de la microfaune (démarrage ou anomalies de fonctionnement) comme tous les petites flanellés en général.

2. Genre EUPLOTES

Les membres de ce genre apparaissent comme Petit hypotriche de taille variable suivant l'espèce mais comprise entre 50 et 200 um; corps aplati dorso-ventralement et légèrement allongé; cinq à sept sillons foncés bien visibles sur la face dorsale; présence d'une longue fente bordée de alls sur la moitié du corps (appareil buccal): nombreux cirrhes sur la face Ventrale. Peut être confondu avec Aspidisca costata mais taille plus grande, corps plus longé, fente buccale ciliée bien visible et aucune bosse apparente (ce sont des Iries).

Leurs Présece dans des systèmes stables de moyenne à faible charge, avec un Bveloppement important lorsque la charge diminue et que l'apport d'oxygène est rgement suffisant. ndienteur d'un traitement poussé du carbone et d'une nitrification au moins (toutefois, une espèce a été observée dans une moyenne charge très aérée, ans aucune nitrification).

3. Nématodes

Les membres de ce genre apparaissent comme des macoaires de taille variable mais supérieure à 150 am: vers dont l'extrémité térieure est très effilée; parois lisses absence de sales (nu poils) st neaux (corps non segmenté); animal très souple et relativement mobile. Ce sont des parasites qui puvent être présents en faible quantité dans tous les types d'installation, quel que alt le taux de charge; assez résistants à la sous-aération du milieu. présence n'est pas défavorable au processus épuratoire (remaniemest partant du floc). ne peut pas les considérer comme un indicateur de la qualité du traitement. Par lire, en densité importante, ils sont le signe de dépôts dens le bassin d'aération la décanteur.

4.Genre ASPIDISCA

Ce genre dans microscope ont le même allure générale qu'Aspidisca costata mais de taille pouvant être supérieure (30 & 55 μm) et d'apparence plus transparente; face dorsale non bosselé; plusieurs espèces peuvent être rencontrées :foncés.Aspidisca lynceus: face dorsale plate

présentant uniquement trois sillons Aspidisca turrita: face dorsale plate pourvue d'aucun sillon mais présence d'une épine.

Ce sont des indicateurs d'un haut niveau de traitement entrainant des effluents Italtés de très bonne qualité. Leur présence indique une nitrification stable et durable sur l'installation. Ils ne supportent pas les concentrations même moyennes en ammoniaque. peuvent se développer en présence menlaque pouvant être importante).de bassin d'anoxie (teneur en ammoniaque pouvant être important).

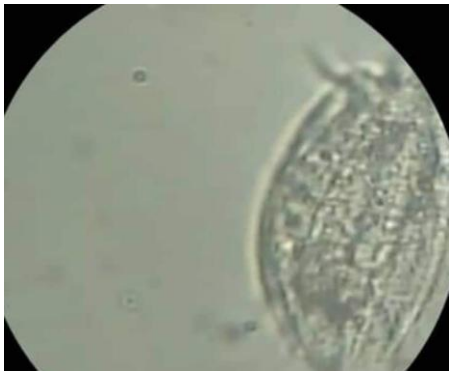
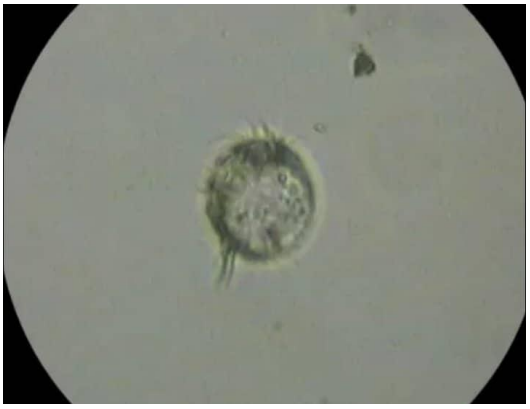
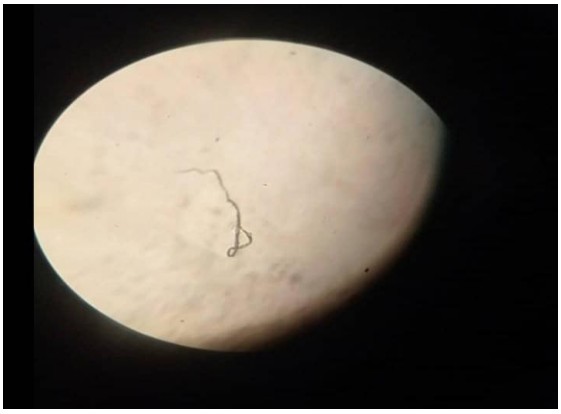
<table>
<tr><td></td><td></td></tr>
<tr><td>a</td><td>b</td></tr>
<tr><td></td><td></td></tr>
<tr><td>c</td><td>d</td></tr>
<tr><td colspan="2"></td></tr>
<tr><td colspan="2">e</td></tr>
</table>

Figure 12. Aspect morphologique des parasites observés sous microscope optique à des grossissements 40X et X100.

a. Chlamydomonas.b. Euplote encystycus.c. ASPIDISCA.d. NEMATODE

III. Recherche des bactéries impliquées dans la Biodépollution

1. Dénombrement de la flore bactérienne autochtone des eaux usées brutes

Le dénombrement de flore bactérienne autochtone des eaux usées brutes a été effectué après une incubation de 48h à 28°C de nos boites. Nous avons dénombré 514. 10^2 UFC.ml^{-1} de dilution 10^{-1}, 462.10^3 UFC.ml^{-1} pour 10^{-2} , 262.10^6UFC.ml^{-1} de dilution 10^{-5}et 110. 10^1 UFC.ml^{-1} de la dilution 10^{-6}. Cette différence de densité entre les cinq dilutions est due au dilution de chacun.

2. Sélection des isolats

27 isolats ont été sélectionnés sur la base des caractéristiques morphologiques et ont été testé pour leur capacité à dépolluer l'eau usées brute provenant de la STEP sur la base de plusieurs tests.

2.1. Fixation d'azote

Les bactéries assurent une fixation biologique de l'azote moléculaire et le transforme en ammoniac, à l'aide d'un système enzymatique complexe connu sous le nom de nitrogénase (Glick, 1995). La croissance des colonies sur le milieu Jensen, étant exempte d'azote, exprime leur capacité à fixer l'azote moléculaire (N2). Sur l'ensemble des 27 isolats 22 ont été capable de fixer le N2 avec une différence du taux de prolifération. 10 isolats montrent une forte capacité de la fixation d'azote et 10 ont montré une capacité moyenne et seulement deux isolats (A1et A14) ont une faible capacité. La fixation de N2 par les bactéries tel que Bacillus, Enterobacter, et Pseudomonas (Tilak et al., (2005) est non symbiotique. La fixation non symbiotique représente en général un flux d'azote plus faible que la fixation symbiotique (Glick,2012).

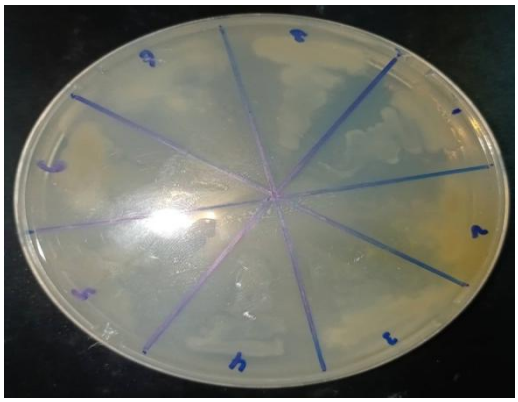
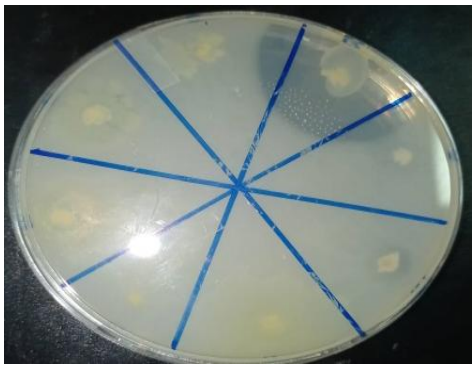


Figure 13. Aspect des colonies sur milieu Jensen.

2. Solubilisation des phosphates

Le phosphore est un élément essentiel pour le développement et la croissance biologique des organismes.

Les résultats obtenus ont montré que tous les isolats ont la capacité de solubiliser le phosphate tricalcique sur le milieu NBRIP solide.



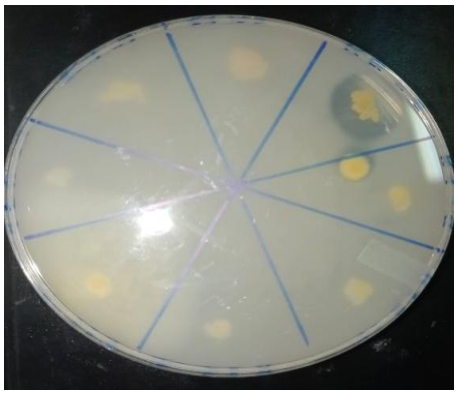


Figure 14. Aspect des colonies sur milieu NBRIP.

Pseudomonas sont connu par un pouvoir de solubilisation modéré des phosphates organiques et inorganiques (Chabot et al., 1993 ; Rodriguez et Fraga, 1999).

La capacité à solubiliser le phosphate inorganique varie d'une souche à une autre En effet, les isolats R6, A1,A4,A3,D6,A2,A8 et D1 présentent une capacité de solubilisation de phosphate plus importante que les isolats A2',A5 et A16 (Annexe) .

La capacité de solubilisation des phosphates a été trouvé chez plusieurs genres bactériens solubilisent les phosphates comme : Bacillus, Enterobacter, Microbacterium Pseudomonas et Serratia (Bhattacharyya et Jha, 2012) .

3. Demande chimique en oxygène

La valeur moyenne de la DCO enregistrée de l'eau usée, à l'entrée de la STEP est indiquée sur les figures précédentes qui est de l'ordre de 404.51± 147.33mg d'O2.l^{-1} .Après nos traitements avec les isolats nous avons obtenus des valeurs de 300 mg d'O2.l^{-1}. Cette petite diminution indique que ces isolats existent dans l'eau mais ne participent pas dans la DCO. D'autres isolats ont donné des valeurs moins de 200 mg d'O2.l^{-1} et même inférieur àe 100 mg d'O2.l^{-1} . Ces isolats ont montré une bonne diminution , cette dernière est inférieure à celle de l'eau brute, ce qui signifie que le traitement effectué sur l'eau brute est très acceptable par rapport à la norme de rejet.

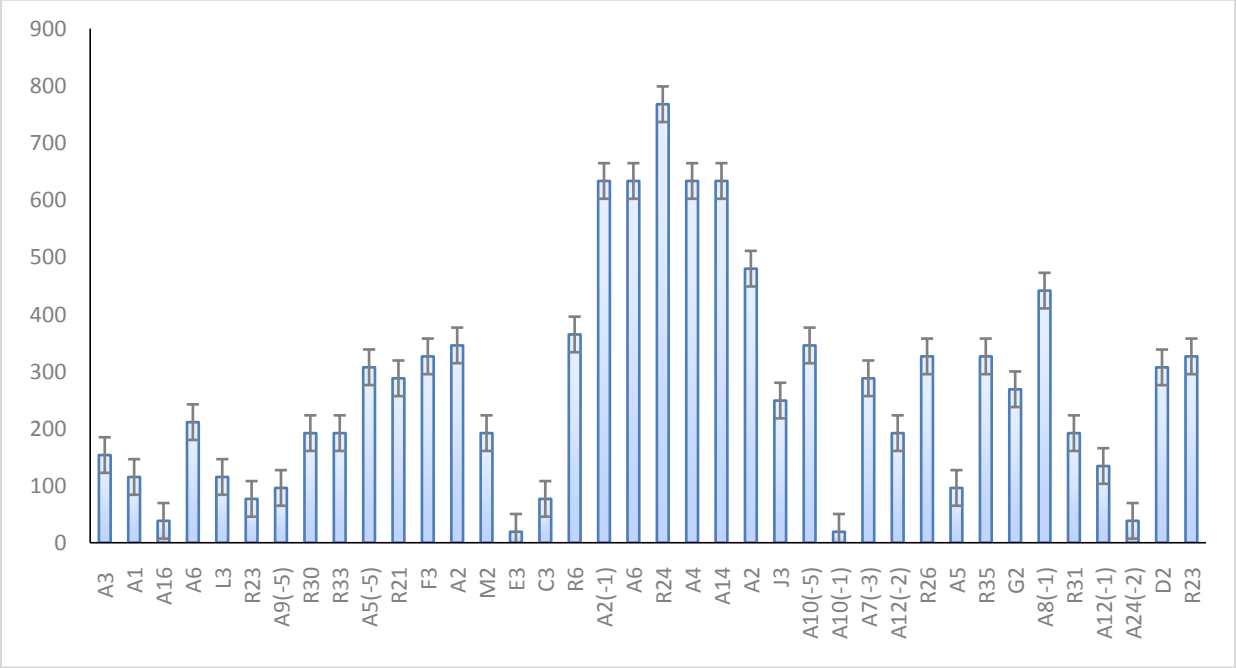


Figure15. Les valeurs de la DCO enregistrées pour chaque isolat .

4. Demande biochimique en oxygène à 5 jours

Nos résultats (Fig.16) montrent que la concentration de la DBO5 de l'eau brute aboutit à une moyenne de 297.14 ±54.68 mg d'O2 /l qui arrive jusqu'à 7 mg d'O2 /l après traitement, ce qui signifie que notre traitement biologique effectué sur l'eau est très acceptable surtout par rapport à la norme de rejet de l'ordre de 30 mg d'O2/l et que l'eau à l'entrée de STEP chargée en matières organiques biodégradables.

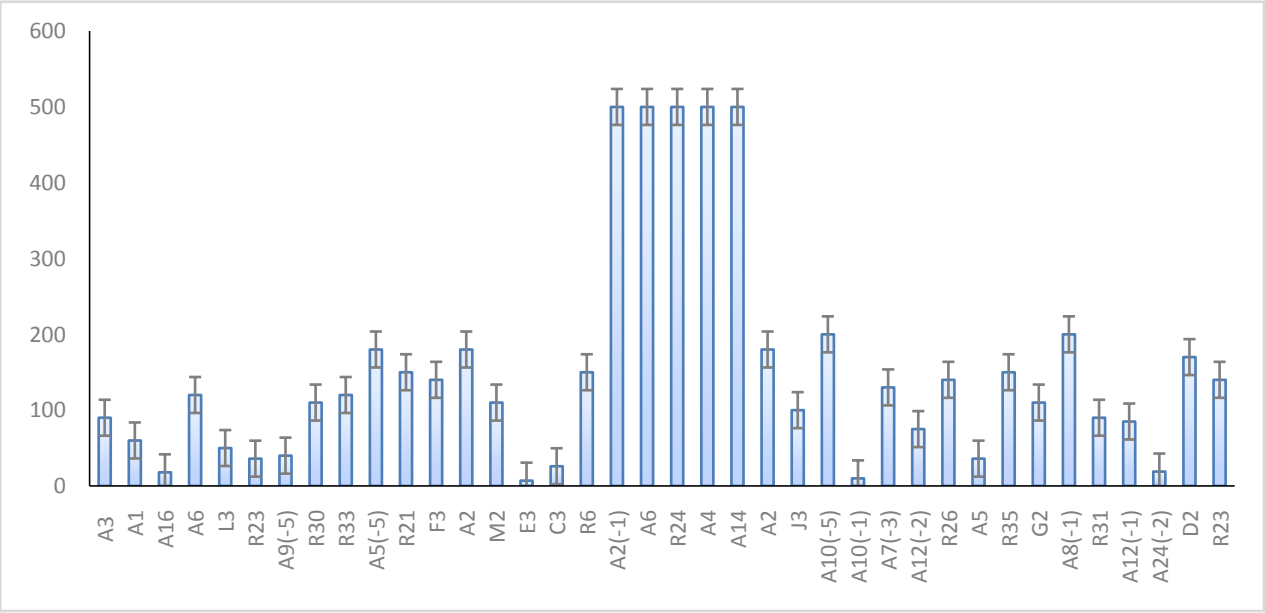


Figure16. Les valeurs de la DBO5 enregistrées pour chaque isolat

5. Taux des ions nitrites

Les teneurs en nitrites sont inférieures à la norme. La moyenne enregistrée est de 0mg pour l'eau brute, après le traitement on marque une diminution de la teneur en nitrates à de nos résultats indiquent une augmentation des nitrates dans l'eau traitée,

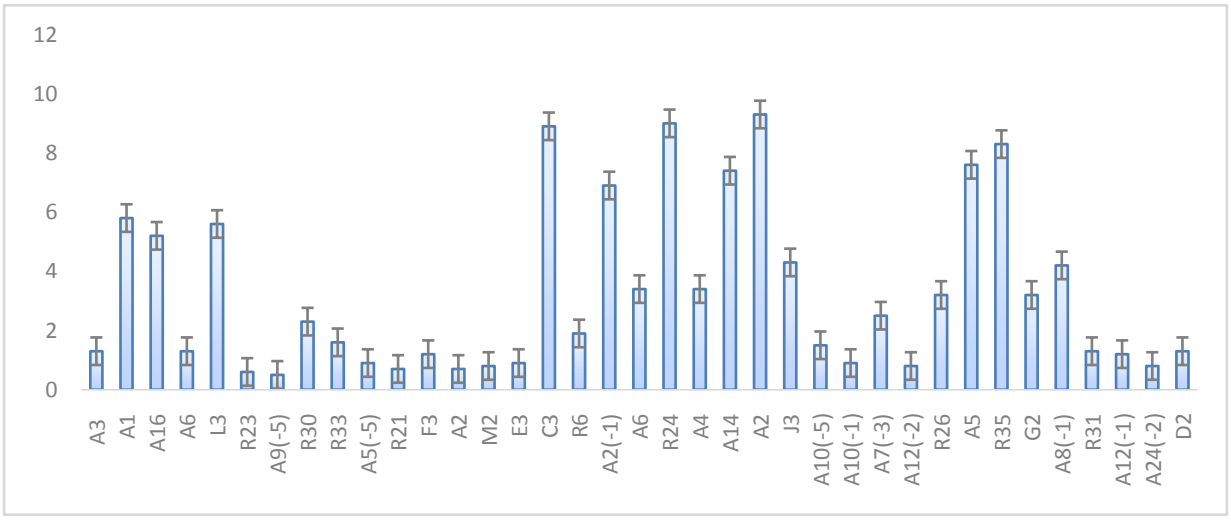


Figure16. Les valeurs de la concentration de nitrates enregistrées pour chaque isolat

6. Ortho phosphate

D'après la figure précédente, les moyennes des ortho phosphates de l'effluent brute sont comme suite : 2 ±1 mg/l. On remarque une petite diminution de la teneur en PO4 même s'elles ne sont pas conformes à la et aussi nos résultats sont inférieurs à ceux de la norme de rejet.

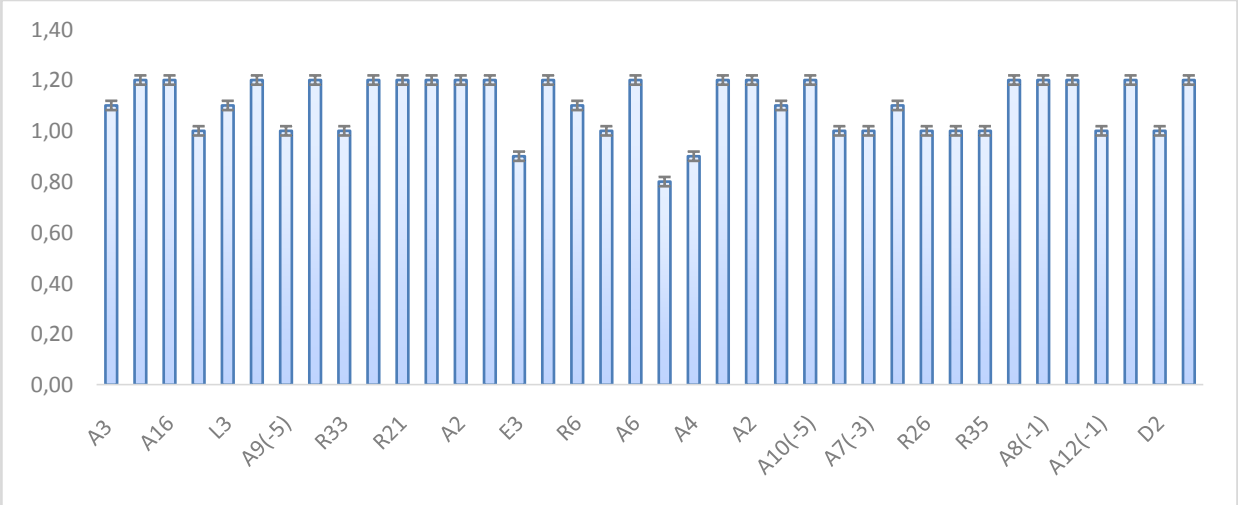
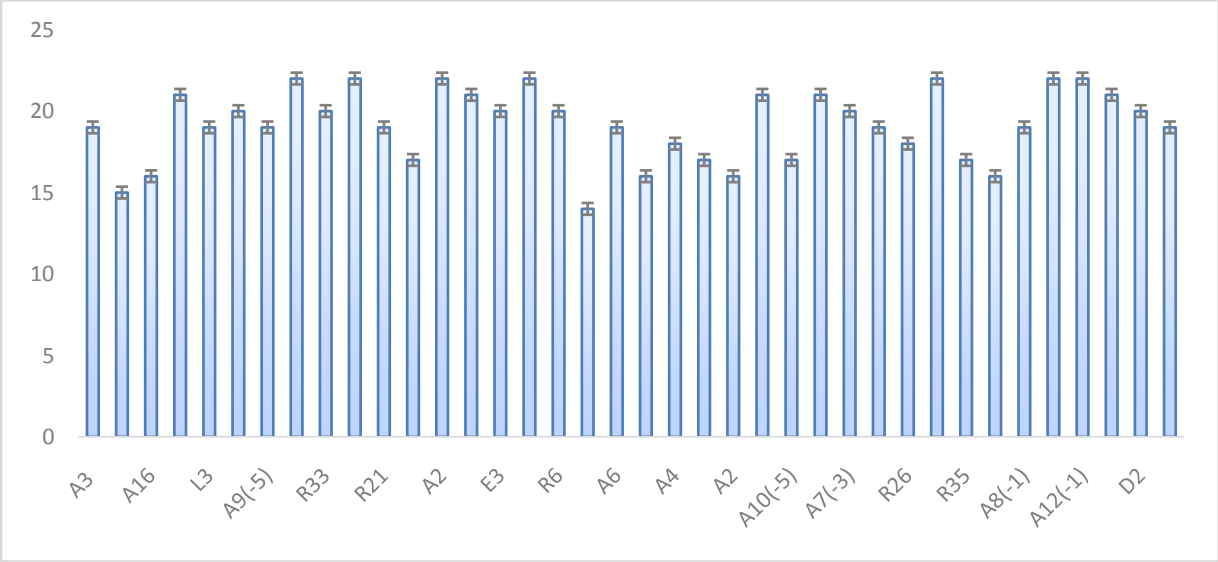


Figure17. Les valeurs de la concentration de ortho phosphates enregistrées pour chaque isolat

7.L'ammonium

Figure 18. Les valeurs de la concentration de l'ammonium enregistrées pour chaque isolat .



Les variations de la concentration des (NH4+) au niveau des eaux brutes sont illustrées sur les figures précédentes. Cette concentration est d'une moyenne de 22.5mg. On remarque une diminution de l'ammonium. Les résultats dans l'ensemble sont satisfaisants

4.2Caractérisation des isolats

La caractérisation phénotypique traditionnelle est toujours admise comme étape primordiale pour l'identification et la séparation des bactéries nouvellement isolées. En dehors de ces informations utiles dans l'étude de la biodiversité et la taxonomie, notamment polyphasique, les caractères phénotypiques offrent des opportunités pour sélectionner des souches efficientes, compétentes et indifférentes aux divers stress environnementaux. Plusieurs critères phénotypiques ont été retenus pour cette étude afin de mieux caractériser nos isolats.

4.3Caractérisation morphologique

Les 12 isolats présentant le meilleur pouvoir de solubilisation de phosphate et fixation d'azote à la fois forment sur le milieu TSA des colonies visibles à l'œil nu après 24-48h d'incubation à 28°C, leur taux de croissance est donc peu variable.

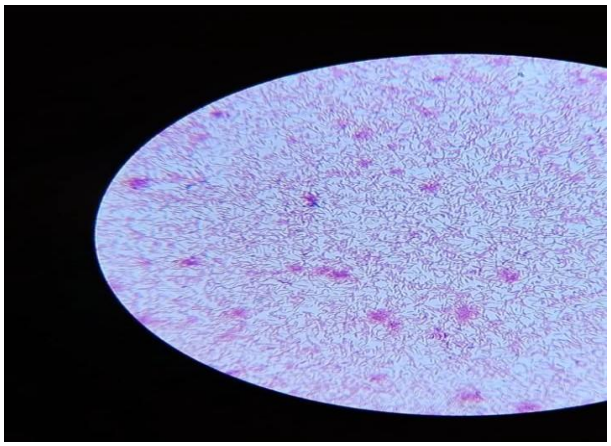
Les colonies formées par nos isolats sont de texture homogène, varies à bord régulier et irrégulier . Elles sont de couleur blanche ou crème peu de couleur jaune et d'autres marron .

L'ensemble de nos isolats ont été soumises à une coloration de Gram. 7 isolats ont présenté une coloration violette ,ont été considérées comme des bactéries Gram positive (Cappuccino et Welsh, 2017). (Fig.xxf) et 5 en couleur rose par conséquent ont étéconsidérées comme des bactéries Gram négative (Cappuccino et Welsh, 2017).

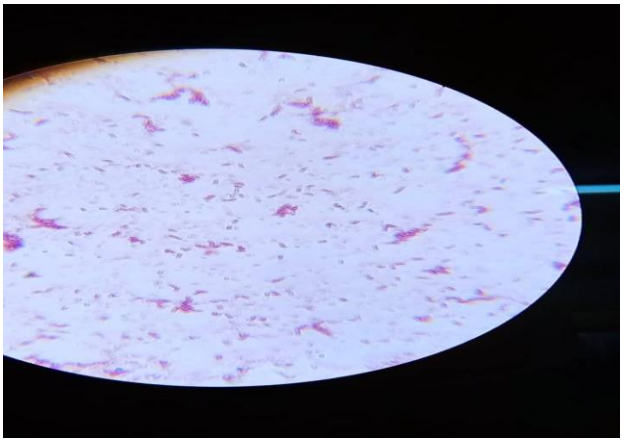
L'ensemble de nos résultats et observations sont similaires avec celles décrites dans le Bergey's Manual of SystematicBacteriology et avec les travaux de Wafula et *al.,* (2014); Demirkan et *al.,* (2014) et Mebarki et Benakli (2018) qui ont montré que les souches du genre Bacillus ont une forme de bacille, Gram positif et forment des spores non déformantes .

Isolats	Code	Forme	Contour	Regroupement
1	**A5**	Bacille	Ronde	Enchaine
2	**A2**	Bacille	Ronde	Enchaine
3	**D1**	Bacille	Ronde	Enchaine
4	**A14**	Bacille	Ronde	Enchaine
5	**A16**	Bacille	Ronde	Enchaine
6	**A8**	Cocobacille	Ronde	Enchaine
7	**A1**	Bacille	Ronde	Enchaine
8	**A4**	Cocobacille	Ronde	Enchaine
9	**A12**	Bacille	Ronde	Grappe de raisin
10	**A14'**	Bacille	Ronde	Enchaine
11	**A12'**	Cocobacille	Ronde	Enchaine
12	**A2'**	Bacille	Ronde	Enchaine

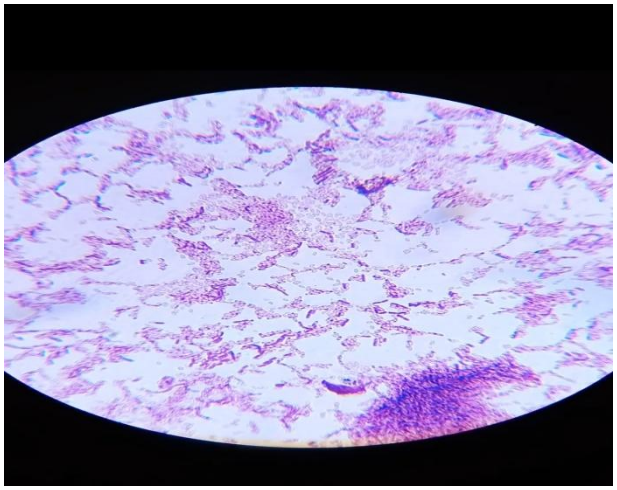
tableau 5 résultats de grame



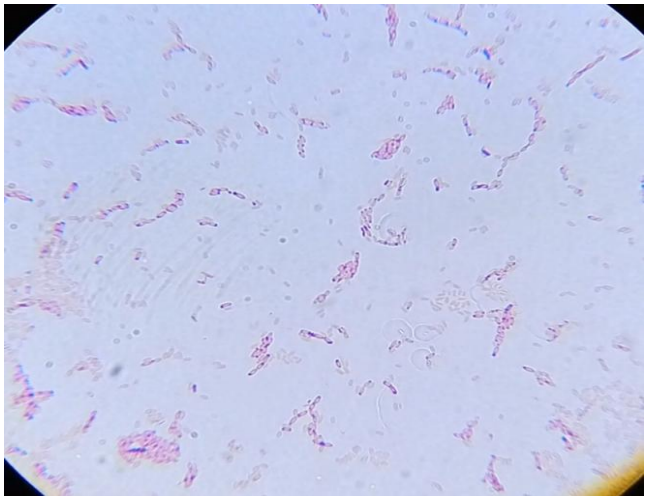
a.Cellules de couleur rose.



b.Cellules de couleur violette.



c. Mode de regroupement en chaine.



d. Mode de regroupement en grappe de raisin .

Fig19:Aspect microscopique des isolats testés.

La prolifération sur milieu TSA de nos isolats après un traitement thermique de 80°C pendant 60 min nous a permis de dire que l'ensemble de ces isolats sont considérés comme étant des thermorésistants. D'après Cazemier et *al*., (2001), la résistance aux fortes températures serait due à trois facteurs principaux, la déshydratation du protoplaste, la minéralisation et l'adaptation thermique. Les deux derniers facteurs induisant une

augmentation de la déshydratation, c'est celle-ci qui serait à l'origine de la thermorésistance des spores (Sugiyama, 1951). La sporulation est une caractéristique principale des bactéries appartenant au genre Bacillus (Vinter, 1987).

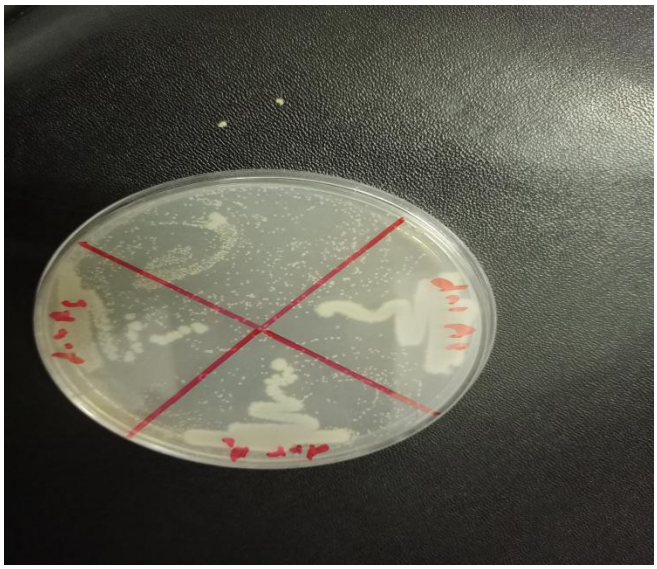


Fig 20 Formation des spores .

III.5 Caractérisation biochimique

5.1.Catalase

La catalase est une enzyme présente chez la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatifs. Elle décompose l'eau oxygénée formée, en eau et en dioxygène. Elle est considérée comme un moyen de survie dans les sols salins (Kim et al., 2005). La présence de cette enzyme s'exprime par un dégagement de bulles d'air, ce dégagement a été détecté chez 9 isolats. Les résultats obtenus (Fig.xx) montrent que la totalité de nos isolats sont révélées catalase positive donc la totalité de nos isolats sont des aéro-anérobies.



Figure 21Test catalase résultat positive/négative.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Bouras (2018),Rayavarapu et Padmavathi (2016), Azrous et Guettafi(2014)etNawab et al (2016) qui ont constaté que les bactéries appartenant au genre Bacillus sont des catalase positive. En effet, l'enzyme catalase est considérée comme un moyen de protection des cellules contre le stress oxydative (Rayavarapuet Padmavathi ; 2016).

5.2.Oxydase

L'ensemble de nos isolats ont été testés pour l'oxydase. Le test oxydase permet de mettre en évidence la capacité d'une bactérie à produire le cytochrome oxydase, qui est une enzyme intervenant à la fin de la chaine respiratoire pour catalyser la fixation d'hydrogène et des électrons sur l'oxygène(Joffin et Leyral,2006).Ce test, standardisé pour l'identification bactériologique (Prescott, 2007)met en évidence la présence d'une cytochrome-oxydase qui oxyde le cytochrome c réduit.

Nos résultats ont montré que isolats sont des oxydases positives. La réponse positive se traduit par l'apparition d'une coloration violette à la surface des disques (Fig.xxb).

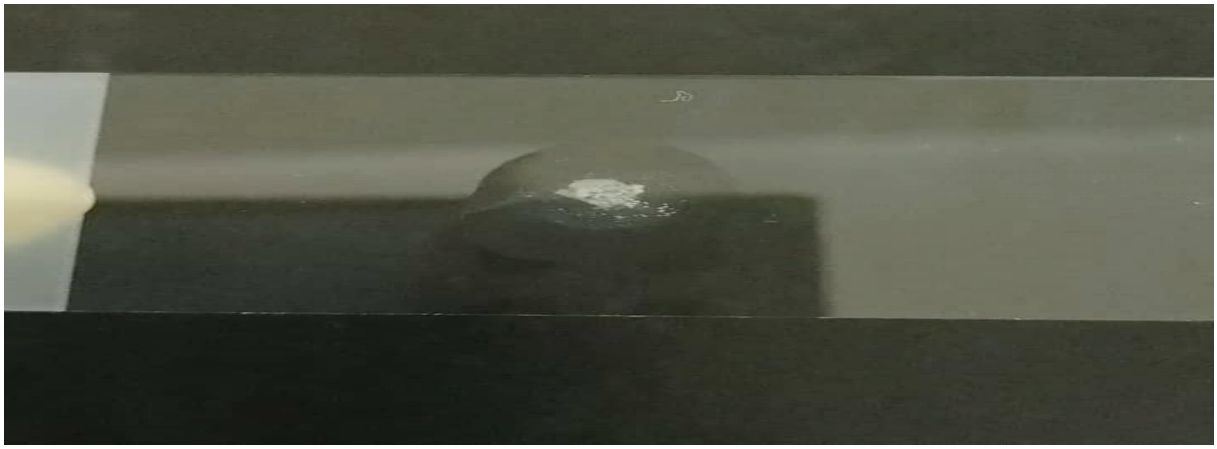


Figure 22 Test oxydase positive .

Le résultat obtenu avec le test oxydase confirme la nature aéro-anaérobie de nos isolats. En effet, le même résultat a été souligné par Azrou etGuettafi (2014) qui ont rapporté que certaines souches telles que *Bacillus sp* isolé à partir d'un sol agricole de la région d´Akbou (Bejaïa) ont été révélée positive pour la recherche de l'enzyme oxydase. Aussi, les travaux de Abdesselam et Latache (2017) ont trouvé que le bactéries appartenant au genre *Bacillus* isolé à partir de deux types de sols présentaient une oxydase positive. Du même, les résultats de Bouras (2018) selon

laquelle les *Bacillus spp.*isolées à partir du sol rhizosphérique de cinq sites différents: Ain Temouchent, Tessala, ITCMI, Sfisef et Kaied Belarbi révélées oxydase positive.

5.3.Mobilité

La détermination de la mobilité de nos isolats à l'état frais a été confirmée par un ensemencement sur le milieu de culture mannitol-mobilité. Les résultats obtenus (Figure) montrent que 8 sont mannitol positif immobiles avec 3 qui sont mobiles Les bactéries mobiles envahissent le milieu de culture à partir du point d'ensemencement dans le tube qui se présente par un trouble.La fermentation du mannitol se traduit par une acidification du milieu qui sera mise en évidence par un virage de la couleur du milieu de culture de rouge (Rouge de phénol) au jaune.L'intensité de la couleur traduit une forte ou une faible capacité à fermenter le mannitol par les souches. En effet, tous nos isolats ont montré une capacité de fermenter le mannitol mais les isolats A5 et A2 et D1 ont mannitol négative .

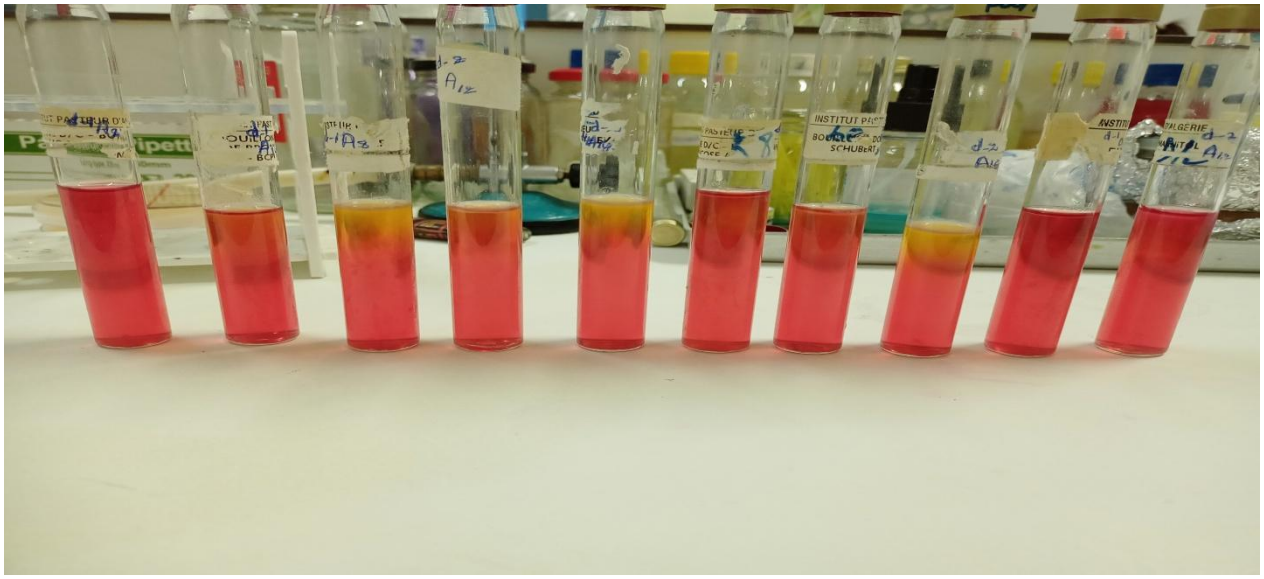


Figure23 virage de couleur dans le mannitol .

5.4. Potentiel hydrogène

Le pH est l'un des facteurs d'influence évidents de l'activité microbienne et des populations dans l'eau . L'effet de la variation de la gamme de pH sur nos isolats a montré que toutes nos souches peuvent croître à pH acide (5),et pH alcalin (10) .

Cette capacité de croissance de nos isolats aux différents pH peut être expliquée par l'existence d'un bon potentiel de tolérance sur une plage de pH large.

5.5.Salinite

Afin de pouvoir tester la tolérance de nos isolats aux stress salin, nous avons provoqué la salinité par l'ajout de NaCl et /ou KCl à différentes concentrations. La totalité des isolats ont montré une prolifération aux différentes concentrations de sel appliqué, aussi pour la tolérance au KCl toutes les souches isolées peuvent tolérer à différentes concentrations de KCl appliquée.

Les résultats que nous avons obtenus sont similaires aux travaux de Praveen Kumar et *al*., (2014) qui ont démontré que la plupart des isolats du genre *Bacillus* peuvent tolérer jusqu'à une concentration de 1.2M de NaCl, ces travaux attestent que ces bactéries semblent avoir une forte tolérance au sel.

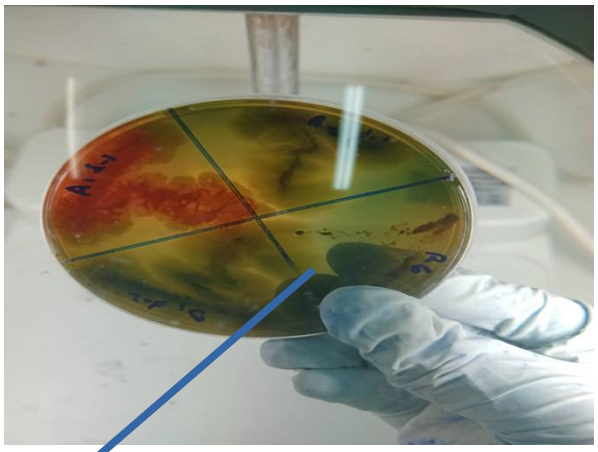
III.6.Activité métabolique

6.1.Fixation d'azote

III.7.ensemencement dans les milieux sélectifs

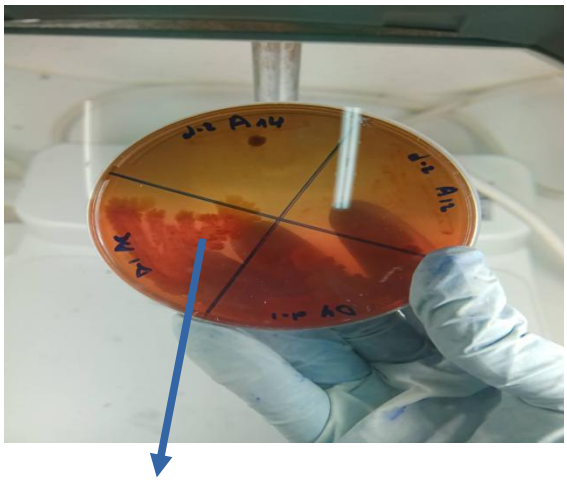
7.1sur Milieu Hektoen

La fermentation d'au moins un des sucres se traduit par une coloration "saumon" des colonies.
L'absence de fermentation se traduit par une coloration bleue ou verte des colonies.
La production d'hydrogène sulfuré (H2S) est caractérisée par des colonies à centre noir.
Nos résultats montre la présence des colonies "saumon" qui sont probablement Escherichia, Levinea, Citrobacter, Enterobacter, Serratia, Yersinia , desColonies bleues-vertes ou vertes : suspicion de Shigella ou de Salmonella ou Pseudomonas (le test de l'oxydase permet de différencier les Pseudomonas). Et des colonies vertes à centre noir qui peuvent être de Salmonella ou de Proteus mirabilis (la recherche de l'uréase permet de différencier P. mirabilis).
Les résultats sont présent dand la figure26



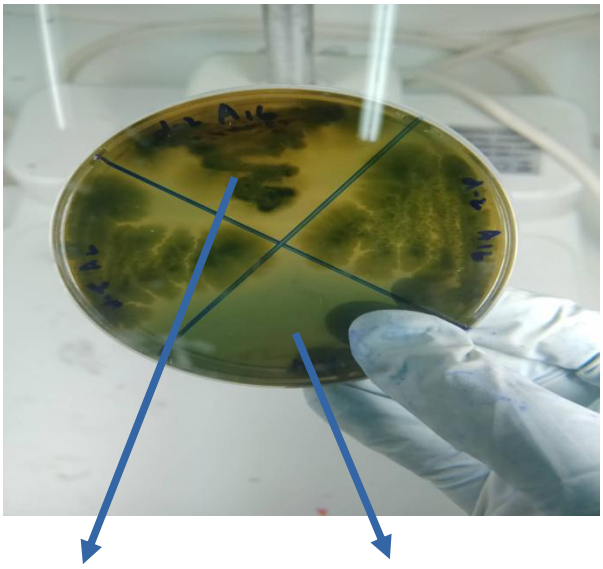
a

colonies bleus-vert



b

colonies saumon



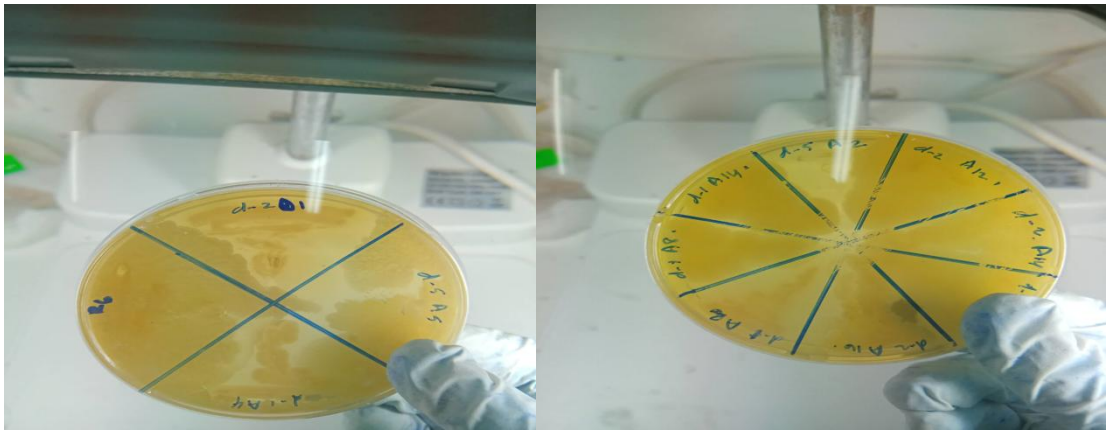
Cd

colonies vert a centre noir colonies bleu

Fig 26Résultat sur milieu Hektoen

7.2 Sur milieu king b

Les isolats forment sur le milieu King b après 24h d'incubation à 28°C sont des colonies vi-sibles à l'œil nu (Figure). Elles sont présentées une dominance (9 isolats) de la couleur jaune et aspect lisse (3isolats) et une forme irrégulière . Les résultats dans la figure 27



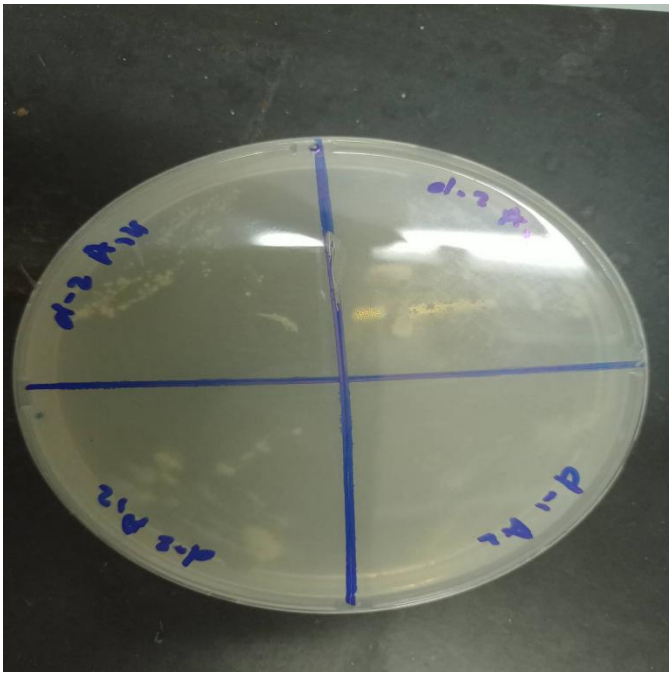
colonies de forme irrégulière colonies d'aspect lisse de couleur jaune

Figure 27Résultat Sur milieu king b

7.2.sur milieu SCA

La plupart des souches donnent un développement des colonies crémeuses à blanches de

forme arondi ,ce qui indique que se sont des levures .



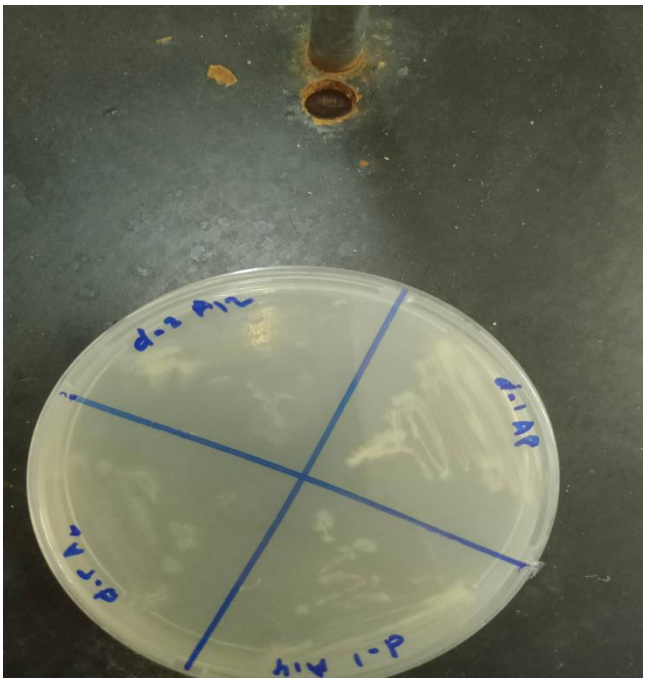


Figure28 Résultat sur milieu SCA

Conclusion

Notre travail a pour but de minimiser la charge polluante des eaux usées de la station d'épuration de la ville de Médéa qui sont chargées en matières organique. Cela a été fait par l'utilisation d'un consortium bactérien, qui a été obtenus par l'isolement de différentes souches au niveau des eaux usées, 12 isolats ont été retenues et ont montré leur efficacité dans la biodégradation de l'effluent.

Les souches isolées ont engendrés une bonne dégradation de la matière organique, ou nous avons notés réduction des paramètres de pollution (DCO et DBO) ce qui nous a permis d'atteindre un rendement épuratoire élevé.

La concentration des nitrates auprès d'eau brute est supérieure à celle d'eau épurée, ceci est dû à la nitrification de l'azote ammoniacal (NH4+ _NH 3-) en nitrate dans les bassins. Les variations de la concentration des phosphates des eaux brutes et des eaux épurés présentent des faibles concentrations largement inférieures aux normes.

La DBO des eaux brutes présentent des valeurs faibles dans les eaux épurées aux normes OMS, JORA, ce qui signifie un bon développement des micro-organismes favorisé par un temps de séjour suffisant dans le bassin d'aération et aussi part l'âge de la boue.

La valeur moyenne de la DCO enregistrée de l'eau usée de la STEP diminue après le traitement, ce qui signifie que le traitement effectué sur l'eau brute est très acceptable par rapport à la norme de rejet.

Nous pouvons conclure par le fait que notre consortium bactérien agit d'une manière positif sur l'épuration des eaux usées, ce qui nous permettra de diminuer l'utilisation des traitements chimiques nocif à long terme pour la santé humaine.

Références Bibliographique

A

AMINOT A., CHAUSSPIED M.,1983. Manuel des analyses chimique en milieu marin CNEXO, **aspects généraux de la pollution des eaux.**

B

BONTOUX J., 1993. Introduction à l'étude des eaux douces: eaux naturelles, eaux usées , eaux de boisson. Edition Technique et Documentation Lavoisier

Bousseboua, 2002université mentouri ; Année de publication :2002; Importance : 269p.

G

GAUJOUS D., 1995. La pollution des milieux aquatiques : aide-mémoire. Edition technique et documentation Lavoisier.

GOMELLA C., GUERREE H., 1987.Le traitement des eaux publiques, industrielles et privées. Edition Eyrolles Paris.

GROSCLAUDE G., 1999. L'eau : usage et polluants. Edition INRA

GAID, A.E 1993. Traitement des eaux usées urbaines. Paris : technique de l'ingénieur 28p

GAID, A.K.1984. Epuration biologique des eaux usées urbains. Tome 1 et 2, Alger.261 p

GAUJOUS, D.1995. La pollution des milieux aquatiques : aide-mémoire. Edition Technique et Documentation Lavoisier. 220 p.

GROSCLAUDE, G. 1999. L'eau : usage et polluant. Volume 1. Tome : 2. Paris : INRA. 210 p.

H

HYNRY MONCLY., 1978., mémento d'assainissement, Edition EYROLLES, Paris.

J

J.PIERRE BECHAC. P, BOUTIN., 1984. Traitements des eaux usées paris

JORA, 1993 : Journal Officielle de la République Algérienne, Décret exécutif n° 93-160 du 10 juillet 1993 réglementant les rejets d'effluents liquides industriels, 442p.

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N°41 (JORA), 2012.Les spécifications des eaux usées épurées utilisées à des fins d'irrigation. Ministère des ressources en eau. Algérie. Pp19-21

R

RODIER J., C.BAZIN, J-P. CHAMBON, H. CHAMPSAUR, L. RODI., 1996 L'analyse de l'eau, eaux naturelles, eau résiduaires, eau de mer: 8emeédition. avec la collaboration de : (Edition-Dunod, tec, Paris).

RODIER, J., LEGUBE, B., MERTEL, N. et BRUNET, R. 1996 . Analyse de l'eau :Eaux naturelles, Eaux résiduaires, Eau de mer. Edition Dunod, Paris. 1384

p.

RODIER, J., LEGUBE, B., MERTEL, N. et BRUNET, R. 2005. L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer.8éme édition. Paris : DUNOD.

RODIER, J., LEGUBE, B., MERTEL, N. et BRUNET, R. 2009. L'analyse de l'eau. 9eme édition.1526p.

RODIER J., LEGUBE, B., MERTEL, N. et BRUNET, R., 1984. L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer. 5éme ; édition DUNOD. **Paris,668.**

S

SEVRIN-RESSAC J., DE LA NOUE J., PROULX D., 1995., Le recyclage du lisier de proc par lagunage. Edition Technique et Documentation Lavoisier .

SALGHI, R. 2001. Différentes filières de traitement des eaux, Ed univ IZ Rabat. P22.

SEAAL. 2009. Conditions générales de manipulation en microbiologie ; société des Eaux et de l'Assainissement d'Alger : SEAAL.13p.

SCHMIDT, P. 2005. Guide pratique de l'eau et de l'assainnissement.grp Ed. Berger-levrault. Pp: 18-19.

SHUVAL, H-I. 1991. Parasitic disease and wastewater irrigation. In: sanitation in developing countries. Ed. Oxfoam and the Ross Institute of Tropical Hygienne,Chichester, John Wiley, Dacey, A. 215p.

Sagervanshi et *al*., 2012.Isolation and characterization of phosphate solublizing bacteria from anand agriculture soil

Sitepu et *al*., 2007 Texture and structural refinement using neutron diffraction data from molybdite (MoO3) and calcite (CaCO3) powders and a Ni-rich Ni50. 7Ti49. 30 alloy

M

MEMOIRE FIN D'ETUDE., 2009 Etude de l'efficacité de la chaîne de traitement de la station d'épuration de la ville de HADJ Institut national ABOU BAKR BELKAYD spécialisé de la formation en industries Agro-alimentaires de SIDI ABDELKADER Blida

MONIQUETARDA HENNRY., 1992. chemine des eaux Edition CANADA.

cours microbiologie (TRT 3)., 2007., Institut national ABOU BAKR BELKAYD spécialisé de la formation en industries Agro-alimentaires de SIDI ABDELKADER Blida.

Memoire fin d'étude 04-07-2009: Diagnostic du réseau d'Assainissement de centre ville de MEFTAH (W.BLIDA) Ecole nationale superieure de l'hydraulique.

MOUMOUNI DJERMAKOYE MOUSSA, H .2005. Les eaux résiduaires des tanneries et des teintureries : caractéristiques physico-chimiques, bactériologiques et impacte sur les eaux de surface et les eaux souterraines «Mali». Thèse pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie. Faculté de Médicine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie. 119 p.

Marchal et Bourdon,1982. Source: collection Biologie appliquée1982, pages 482 p., réf. bibl., . Editeur: Doin, Paris.

N

Nautiyal, 1999. An Efficient Microbiological Growth Medium for Screening Phosphate Solubilizing Microorganisms. Federation of European Microbiological Societies (FEMS)

O

Office International de l'Eau. 05/04/2005 Caractérisation des eaux usées.
DFE/ CNFME /L: \utilisât\JP\F07\DOCPDA~1\Caractérisation des EU.doc\

W

WARTHER, J. et OGADA, T. 1999. Sewag sludge combustion. Progress in energy and combustion science. Pp: 55-116.

Weidenbörner et al., 2000 ; Lana et al., 2003.Organic and Inorganic Fluorine Chemistry

Annexe 1

Filières de traitement :

Voici une vue d’ensemble des différents ouvrages de la station d’épuration de Médéa. La filière de traitement correspond ainsi en totalité et successivement :

Prétraitement mécanique constitué de :

Dégrillage grossier manuel et un dégrillage mécanique fin dans le dégrilleur



Grilles lamellaires du dégrilleu



Enceinte de prétraitement

Deux ouvrages de dessablage et déshuilage





(Déshuileur et Déssableur)

raitement biologique constitué de :

Ouvrage de répartition

Deux bassins d’aération avec 6 aérateurs de surface chacun





Bassin d’aération

Décantation secondaire et pompage des boues en excès constituées de :

Deux décanteurs secondaires circulaires.

Ouvrage de pompage des boues activés et de recirculation des boues



Décanteur secondaire



Station de pompage et filtrats

Désinfection et comptage de l’eau épurée constitués de :





Bassin de désinfection et poste et station de chloration

Epaississeur et séchage des boues constitué de :

Un épaississeur de boues









Station de pompage des boues épaissies

Station de pompage des filtrats et des eaux troubles

Séchage de boue constituée de : 23 lits de séchages

Aire de stockage des boues





Annexe 2

Matériels pour les analyses physico-chimiques

Appareils

- Agitateur magnétique chauffant IKA (RET)
- Appareil pour DCO (6 flacons) BEHR
- Balance 0-2 kg
- Balance 220g (KERN) d=0.1 mg
- DBO-mètre
- Centrifugeuse (HERMLEZZOO) avec accessoires (rotor pour gros tubes)
- Conductimètre
- Congélateur à -18°C
- Dessiccateur
- Etuve avec thermostat + 110 °C
- Four à moufle max. 1000 °C
- Hotte
- Incubateur pour DBO (AQUA hytic)
- Microscope optique
- Multi-paramètre (cond.-TDS-DO-PH-sal.) HACH
- Oxymètre
- Papiers filtre à 0.45 µm.
- PH mètre
- Pompe à vide (suspenseur)
- Réfrigérateur.
- Spectrophotomètre (HACH) DR 4000

Verreries

- Becher
- Creusets
- Eprouvette 1l.100ml
- Erlenmeyer
- Fioles 250ml, 500ml
- Flacons avec bouchons pour DBO 5
- Lames
- Lamelles
- Pissettes

Pipettes 1ml, 5ml, 20ml

Tubes à essai

Colorants, réactifs et produits chimiques :

Acide acétique

Acide ascorbique

Acide chlorhydrique

Acide sulfurique

Azoture de sodium

Dichromate de potassium

Eau distillée

Fixateur (lugol)

Hydroxyde de sodium

Salicylate de sodium

Sulfate d'argent

Sulfate de mercure

Composition des différents réactifs et solutions des analyses physico-chimiques

L'azote ammoniacal N-NH 4

Solution de tartrate double de sodium potassium

Tartrate double de sodium potassium …….500g.

Eau distillée …….q.s.p 1000 ml

Réactif de Nessler

Iodure de potassium …….....36,5g.

Iodure de mercure ……50 g.

Hydroxyde de potassium ……150g.

Eau distillée …….q.s.p 1000 ml.

Nitrates NO 3

Acide sulfurique H 2 SO 4 ……. 1.84 g/ml.

Acide acétique CH 3 COO H *f* ……1.05 g / ml.

Alcali : Na OH *f* ……..200 g/l

Dissoudre avec précaution 200 g de postilles d'hydroxyde de sodium dans environ 800 ml d'eau.

Ajouter 50 g de l'acide éthylène diamine tetraacetique (Na 2 EDTA) dihydraté

Laisser refroidir à la Température ambiante et compléter à 1 litre avec de l'eau.

Conserver dans une bouteille en polyéthylène.

Ce réactif est stable indéfiniment.

Azoture de sodium : C NaN 3 = 0.5 g/l

Dissoudre avec précaution 0.05 g d'azoture de sodium dans environ 90 ml d'eau puis compléter à 100 ml avec de l'eau.

Conserver dans une bouteille en verre.

Ce réactif est stable indéfiniment.

Salicylate de sodium : ƒ HO –C 6 H 4 – COONa = 10 g/l

Dissoudre 1 g de salicylate de sodium dans 100 ml d'eau.

Conserver dans une bouteille en verre ou en polyéthylène.

Préparer cette solution chaque jour au moment de l'emploi.

Nitrate, solution mère ƒ N = 1000 mg/l : Dissoudre 7,215 g de nitrate de potassium (KNO3). Préalablement séchée à 105 C° pendant au moins 2 heures dans environ 750 ml d'eau.

Transvaser dans une fiole jaugée de 1 litre et compléter avec de l'eau.

Conserver la solution dans une bouteille en verre pendant une durée ne dépassant pas 2 mois.

Nitrate, solution étalon ƒ N = 100 mg/l

Transvaser à la pipette 50 ml de la solution mère à 1000 mg/l dans une fiole jaugée de 500 ml, et compléter au volume avec de l'eau.

Conserver dans une bouteille en verre pendant une durée ne dépassant pas 1 mois.

Orthophosphates

Acide sulfurique: C(H 2 SO 4) = 9 mol/l et 4.5 mol/l.

Introduire 500 ml d'eau dans un bécher de 1 l. Ajouter avec précaution sous agitation continue, 500 ml d'acide sulfurique (ƒ = 1.84 g/ml).

Introduire 500 ml d'eau dans un bécher de 1 l .Ajouter avec précaution sous agitation continue 500 ml d'acide sulfurique 9 mol / l et bien mélanger

Acide ascorbique : 100 g/l

Dissoudre 10 g d'acide ascorbique (C6 H8 O6) dans 100 ml d'eau.

Conserver dans une bouteille en verre foncé au réfrigérateur.

Stabilité = 2 semaines et il peut être utilise tant qu'aucune coloration n'apparait

Molybdate acide, solution I :

Dissoudre 13 g d’heptomolybdate d’ammonium tetrahydraté (NH 4)6NO7O244H2O dans 100 ml d’eau

Dissoudre 0.35 g de tartrate de potassium et d’antimoine hemihydraté K (sbO C4 H4O6 ½ H2O dans 100ml d’eau.

Ajouter, tout en agitant la solution de molybdate (a) à 300 ml de la solution d’acide sulfurique 9 mol / l.

Ajouter la solution de tartrate (b) et bien mélanger

Stabilité au moins 2 mois.

Solution mère 50 mg/l

sécher quelques gramme de K H 2 PO 4 jusqu'à masse constante à 105 C°.

Dissoudre 0.2197 g de K H 2 PO 4 dans 800 ml H 2 O.

Ajouter 10 ml H 2 SO 4 4.5 MOL/L et compléter avec de H 2 O jusqu'à 1000 ml.

Conserver dans un flacon en verre au réfrigérateur, elle est stable au moins 1 semaine. Solution fille 2 mg/l

Ajouter à la pipette 4 ml de la solution mère dans une fiole jaugée de100 ml.

Compléter au volume avec de l’eau.

Préparer cette solution le jour de l’emploi

Demande chimique en oxygène DCO

I -Dichromate de Potassium : (K 2 Cr 2 O 7) :C (K 2 Cr 2 O 7) = 0.040 mol/l contenant du sel de mercure.

Dissoudre 80g de sulfate de mercure (HgSO 4) dans 800 ml d’eau. Ajouter avec précaution 100 ml d’acide sulfurique pour (f =1.84 g/l) laisser refroidir.

Ensuite dissoudre 11.768 g de dichromate de potassium préalablement séché à 105 C° pendant 2 h, dans la solution transvaser la solution quantitativement dans une fiole jaugée et diluer à 1000 ml. *La solution est stable pendant au moins 1 mois.

II Acide sulfurique – sulfate d’argent : (Acide sulfurique à préparer)

Ajouter 10 g de sulfate d’argent (Ag2SO4) à 35 ml d’eau. Ajouter par portions 965 ml d’acide sulfurique pour (f =1.84 g/l), la dissolution est favorisée par agitation, laisser reposer 1 ou 2 jours.

*Témoin : Hydrogenophtalate de potassium : Dissoudre 0.1062 g d’ Hydrogenophtalate de potassium préalablement séché à 105 C° dans de l’eau et diluer à 250 ml. La solution est stable au moins 1 semaine si elle est conservée à 4 C°. La solution à une valeur théorique de DCO de 500 mg/l

III Sulfate de Fer et d’Ammonium : Solution titrée

C« (NH 4) 2 Fe (SO 4) 2 6 H 2 O » = 0.12 mol/l.

Dissoudre 4.7 g de sulfate de Fer et d’Ammonium dans l’eau .Ajouter 2 ml d’acide sulfurique pour (f =1.84 g/l) refroidir et diluer avec de l’eau à 100 ml.

III – 1 Acide sulfurique dilué C ((H 2 SO 4) = 4 mol/l :

Ajouter à environ 250ml d’eau, par portion et avec précaution 110 ml d’acide sulfurique pour (f =1.84 g/l), laisser refroidir et diluer à 500 ml.

III-2 Ferroine : Solution d’indicateur

Dissoudre 0.35 g de sulfate de Fer (Fe SO 4 7H 2 O), on 0.5 g de sulfate de Fer et d’Ammonium hexahydrate (NH 4) 2 Fe (SO 4) 2 6 H 2 O dans de l’eau.

Ajouter 0.75 g de phénanthroline 1.10 monohydratée C 12 H 8 N 2 H 2 O, et agiter jusqu’à dissoudre. Diluer à 50 ml.

*Cette solution reste stable pendant quelques moins si elle est conservée à l’obscurité.

Annexe 3

Matériels pour les analyses microbiologiques :

Appareillage

Autoclave

Bain marie

Bec-bunsen

Incubateur à 37°C et à 30°C

Lance de platine

Paillasse

Pince stériles

Stérilisateur

boites de petri

Verrerie

Flacons 250 ml

Tubes à essai

Pipettes pasteur

Réactifs, colorants et additifs

Eau distillée

Eau de javel

Les compositions des solutions :

Eau physiologique

NaCl	9g
Eau distillée	1L

Cristal violet

Violet de gentiane	1g
Acide phénique	2 g
Alcoolà 95%	10ml
Eau distillé	100ml

Lugol

I2	1g
KI	2g
Alcool à 95%	10ml
Eau distillée	100ml

Fuchsine

Fuchsine basique	1g
Acide phénique	5g
Alcool à 95%	10ml
Eau distillée	100ml

Annexe 4 : Préparation et composition des milieux de culture pour 1litre

Technique de préparation :

Pour chacun des milieux, les ingrédients sont pesés à l'aide d'une balance de précision et déposés dans une fiole jaugée puis rajouter le volume d'eau distillée à raison de 1000 ml. Le pH est mesuré par un pH-mètre puis ajusté par l'ajout soit du KOH ou du HCl ensuite répartir dans des flacons de 250 ml et autoclavés à 115°C pendant 15 minutes, une fois refroidies (45°C), l'antifongique (Terbinafine carbohydrate) est rajouté à raison de 5ml/l à l'aide d'un micro-filtre stérile de diamètre 0.22µm.

Jensen

CaCO3	2g
K2HPO4	1g
MgSO4.7H2O	0,5g
NaCl	0,5g
FeSO4.7H2O	0,1g
Na2MoO4.2H2O	0,05g
Glucose	20g
Agar	15g

NBRIP

Glucose	10g
Ca3(PO4)2	5g
(NH4)2SO4	0.1g
NaCl	0.2g
MgSO4.7H2O	0.25g
KCl	0.2g
Agar	15g

TSA 1/10

TSB	3g
Agar	15g

Mannitol et mobilité

Mannitol	2g
Peptone	20g
Nitrate K	1g
Rouge de phénol 4%	4ml
Agar	4g

King B

Peptone	20g
Glycerol	10g
K2HPO4	1.5g
MgSO4	1.5g
Agar	15g

SCA (Starch Casein Agar)

casein	0.3g
KNO3	2g
MgSO4.7H2O	0.05g
K2HPO4	2g
NaCl	2g
CaCO3	0.02g
FeSO4.7H2O	0.01g
Agar	18g

Gélose Hektoen g/l

Protéose-peptone	12,0 g
Extrait de levure	3,0 g
Lactose	12,0 g
Saccharose	12,0 g
Salicine	2,0 g
Citrate de fer III et d’ammonium	1,5 g
Sels biliaires	9,0 g
Fuchsine acide	0,1 g

Bleu de bromothymol	0,065 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Thiosulfate de sodium	5,0 g
Agar	15,0 g

pH = 7,5

Annexe 5: coloration de Gram

La coloration de Gram a été réalisée selon la technique suivante :

- Déposer une goutte d‘eau physiologique stérile sur une lame bien propre.
- Prélever un échantillon de colonie et mélanger avec la goutte d‘eau, strier et sécher par passage rapide sur la flamme d‘un bec benzen.
- Couvrir le frottis par du cristal violet pendant 60 secondes.
- Laver à l‘eau distillée pendant 5 secondes.
- Ajouté du lugol pendant 60 secondes.
- Laver à l‘eau distillée pendant 5 secondes.
- Décoloré avec l’alcool 95%. Pendant 15 min.
- Laver à l‘eau distillée pendant 5 secondes.
- Ajouter la fuschine et laisser pendant 60 secondes.
- Laver à l‘eau.
- Après séchage déposer une goutte d‘huile à immersion sur le frottis et observer au microscope à au grossissement (× 100).

Les cellules Gram+ absorbent la couleur du cristal violet et demeurent bleues violettes en apparence,
contrairement aux cellules Gram- qui apparaissent distinctement rosâtres.

Annexe 6

Valeurs de conductivités	Minéralisations correspondantes
Conductivité < 100	Minéralisation très faible
100 < conductivité < 200	Minéralisation faible
333 < conductivité < 666	Minéralisation moyenne accentuée
666 < conductivité < 1000	Minéralisation importante
Conductivité > 1000	Minéralisation élevée

Tableau : Relation entre la teneur en sel dissous d’une eau et sa conductivité.