République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA



FACULTE DE TECHNOLOGIE

DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDES ET ENVIRONNEMENT

Mémoire de fin d'études de Master

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie des procédés de l'environnement

THEME :

Amélioration des procèdes biologiques De traitement des colorants

Proposé et dirigé par

Pr. FERHAT Samira

Dr. MIHOUBI Nadia

Présenté par

DAHMANI Fadia

SAFAH Romaissa

Année universitaire

2023-2024

Dédicace

Tout d'abord louange à Allah qui m'a guidé sur le chemin droit tout aulong de mes études et m'a inspiré les bons pas Je dédie ce travail a :

A mes chers parents pour leurs amours, sacrifices, aides et soutiens,qui m'ont toujours encouragé tout au long de mes études.

Sans vous je ne serai jamais làoù je suis aujourd'hui, j'espère que vous puisiez trouver dans ce travail le fruit de vos labeurs

A la mémoire de ma grand-mère : fatma (Allahyerhamha)

A mes sœurs Meriem ,Souhir, Afef et Fadia Vous êtes des sœurs formidables et vous m'êtes si chères, merci pour le soutien et la confiance que vous m'avez témoigné Puisse Allah renforcera les liens d'amour et de fraternité qui nous unissent.

Et aux plus chers et aux plus gentils enfants de la famille Soulaimene, Saad eddine , abdallah, Idriss et aicha.

A ma belle-famille : ma belle-mère wassila et mon beau-père soufiene

Mes beaux-frères (Seddik et Abderrahmane) Mes belles-sœurs (Hidaya et Meriem)

A mon partenaire de vie, mon mari Aymene.

À mon binôme FADIA.

Aux personnes qui ont été toujours proches de moi, merci pour leurs encouragements et leurs conseils.

SAFAH ROMAISSA

Dédicace

Tout d'abord je remercie ALLAH de m'avoir guidé et donné le courage et la force d'accomplir ce modeste travail.

Je dédie ce travail :à mes chers parents, qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard,

de m'avoir soutenus et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

À mes frères et sœurs, (Mohamed, Amina, Rania,Romaissa et Ramy) pour leurs soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

À Mon binôme Romaissa, pour sa patience et son courage.

A mon ami Lotfi.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin

Pour que ce projet soit réalisé.

DAHMANI FADIA

Remerciements

Avant tout, nous tenant à remercier celui qui nous a protégé, soutenu et surtout donné la foi qui nous a guidé à la réalisation et l'aboutissement de ce travail, nous nous inclinons à dire

« Merci ALLAH ».

*Nous avons la reconnaissance et la gratitude à remercier notre Promotrice la professeure Mme**S.FARHAT** et notre Co-promotrice Dr **N.MIHOUBI** de nous avoir orienté et conseillé afin de réaliser ce modeste travail de recherche.*

Nous commençons d'abord à remercier les membres de jury

D'avoir accepté de consacrer leurs temps à examiner ce travail.

Également, nous remercions Mme. GHRIBI le chef service de laboratoire à l'hôpital de Médéa et toute l'équipe de laboratoire qui nous a beaucoup aidé

En fin, nous remercions les enseignants du département de génie de procèdes pour nous avoir formé et délivré des connaissances précieuses

Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à réalisation de ce mémoire de fin d'études.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو التحلل البيولوجي للأصباغ الاصطناعية التي تعتبر مصدرًا رئيسيًا لتلوث المياه إلى مركبات أقل سمية مركبات أقل سمية بمساعدة الكائنات الحية الدقيقة للمساعدة في حماية البيئة وصحة الإنسان.

في هذه الدراسة، تم استخدام سلالة محددة الهوية ، وهي سلالة (Aeroginosa) فحص قدرة تحلل الميثيلين الأزرق. تأثير بعض العوامل التجريبية، وهي: الأس الهيدروجيني، والتركيز الأولي للميثيلين الأزرق، وتركيز اللقاح البكتيري ومصادر النيتروجين والكربون ,تمت دراسة هذه العوامل بهدف تحسين العملية البيولوجية التخلص من الميثيلين الأزرق أظهرت النتائج أنه بالنسبة للأس الهيدروجيني 10، وتركيز اللقاح البكتيري بنسبة 5%، فإن تحلل حوالي 15 ملغم/لتر.

بالإضافة إلى ذلك، تم الحصول على إزالة 94% من الميثيلين الأزرق باستخدام الجلوكوز كمصدر للكربون.

أظهرت هذه النتائج قدرة سلالة "Pseudomonas Aeruginosa" على استخدام لتحليل الميثيلين الأزرق بفعالية في ظل ظروف محددة.

الكلمات المفتاحية: صبغة، تحلل، الميثيلين الأزرق، (Pseudomonas aeruginosa)، اللقاح البكتيري.

.

Résumé

L'objectif de ce travail consiste en la dégradation biologique de colorants synthétiques considérés comme une source majeure de pollution de l'eau en composés moins toxiques à l'aide de micro-organismes afin de contribuer à la protection de l'environnement et de la santé humaine.

Dans cette étude, une souche identifier *Pseudomonas Aeruginosa*, a été utilisée pour examiner la capacité de dégradation du bleu de méthylène. L'influence decertains facteurs expérimentaux, à savoir : le pH, la concentration initiale de bleu de méthylène, la concentration de l'inoculum bactérien et les sources d'azote et de carbone, a étéétudiée dans le but d'optimiser le processus biologique d'élimination du bleu de méthylène Les résultats ont montré que pour un pH de 10, et une concentration d'inoculum bactérien de5%, une dégradation du bleu de méthylène de l'ordre de 15 mg/L a été obtenue.

De plus, une élimination de 94% du bleu de méthylène a été obtenue en utilisant le glucosecomme source de carbone.

Ces résultats ont démontré la capacité de la souche « *Pseudomonas Aeruginosa* » à être utilisée pour dégrader efficacement le bleu de méthylène dans des conditions spécifiques.

Mots clés: Colorants, Dégradation, Bleu de méthylène, *Pseudomonas Aeruginosa*, Inoculumbactérien.

Abstract

The objective of this work is the biological degradation of synthetic dyes considered a major source of water pollution into less toxic compounds with the help of micro-organisms in order to contribute to the protection of the environment and human health.

In this study, a identfier strain, Pseudomonas Aeruginosa, was used to examine the degradation capacity of methylene blue. The influence of certain experimental factors, namely pH, initial methylene blue concentration, concentration of bacterial inoculum and sources of nitrogen and carbon, has been studied in order to optimize the biological process of elimination of methyllene blue. The results showed that for a pH of 10 and a concentration of 5% bacterial inoculum, a degradation of the methylene blue of the order of 15 mg/L was achieved.

In addition, a 94% elimination of methylene blue was achieved using glucose as a source of carbon.

These results demonstrated the ability of this strain "Pseudomonas Aeruginosa" to be used to effectively degrade methylene blue under specific conditions.

Keywords: Colorants, Degradation, Methylene Blue, Pseudomonas Aeruginosa, Bacterial Inoculum

Sommaire

Titre	Page
Dédicace	
Remerciement	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Sommaire	
Liste Des Figures	
Liste des Tableaux	
Les abréviations	
Introduction générale	1
Chapitre I : Les colorants :	
I Introduction	5
I.1Historique	5
I.2 Utilisation et application industriel des colorants	6
I.3 Classification des colorants	7
I.3.1 Classification chimique	7
I.3.2 : Classification tinctoriale	9
I.4 Impact environnementaux des colorants	14
I.4.1 Danger à court terme	14
I.4.2 Dangers à long terme	15
I.4.3 Toxicité des colorants	16
I.5 Le Bleu de méthylène	17
I.5.1 L'utilisation de bleu de méthylène	18
I.6 Conclusion	18
Chapitre II : Elimination des colorants	
II.1 Introduction	20
II.2 Traitement conventionnelle des eaux contaminé par les colorants	20
II.2.1 Méthodes chimiques	20
II.2.2 Méthodes physiques	20

II.2.3 Méthodes physico – chimique (coagulation – floculation)	21
II.2.4 Méthodes biologique	21
II.2.4.1 Dégradation des colorants par Les champignons	22
II.2.4.2 Dégradation des colorants par les algues	23
II.2.4.3 Dégradation des colorants par La levure	23
II.2.4.4 Dégradation des colorants par La bactérie	23
II.2.4.5 Traitement aérobie	24
II.2.4.6 Traitement anaérobie	24
II.3Conclusions	25
Chapitre III : Matériel et méthodes	
III.1 Introduction	28
III.2. Méthodologie expérimentale	28
III.2.1 Principe	28
III.2.2 Réactif chimique utilisés	28
III.3 Matériel utilisé	30
III.4 Description des appareillage	30
III.5 Micro-organismes et milieux de culture	33
III.5.1 Pseudomonas Aeruginera	34
III.5.2 Préparation du bouillon nutritif	34
III.5.3 Préparation des pré -cultures	34
III.6 Dégradation des colorants	35
III.6.1 Influence de la concentration initiale sur la dégradation des colorants	35
III.6.2 Influence du pH sur la dégradation du bleu de méthylène	36
III.6.3 Influence de la concentration de la souche sur la dégradation des colorants	38
III.6.4 Influence de l'ajout de la source de carbone sur la dégradation des colorants	39
III.6.4 Influence de l'ajout de la source d'azote sur la dégradation des colorants	40
Chapitre IV : Résultats et discussion	
IV.1 Elimination du bleu de méthylène par la bactérie (PA)	43
IV.1.1 Influence de la concentration initiale sur la dégradation du BM	43
IV.1.2Influence du pH sur la dégradation du bleu de Méthylène	45
IV.1.3Influence de concentration de la souche sur la dégradation du bleu de Méthylène	48
IV.1.4 Influence de la source de carbone sur la dégradation du bleu de méthylène	50

IV.1.5 Influence de la source d’azote sur la dégradation du bleu de méthylène	52
IV.2Conclusion	55
Conclusion	57
Références Bibliographiques	

Liste des Figures

Titre	Page
Figure I.1: Squelette anthraquinonique.	7
Figure I.2: Structure d'un Colorant azoïques.	8
Figure I.3: Structure moléculaire d'un colorant indigoïde.	8
Figure I.4: Structure moléculaire d'un colorant xanthène.	9
Figure I.5 : Structure moléculaire d'un colorant nitré et nitrosé.	9
Figure I.6: Structure moléculaire d'un colorant acide.	10
Figure I.7 : Structure moléculaire d'un colorant cationique.	10
Figure I.8: Schéma de la formation du colorant cuve soluble.	11
Figure I.9: Structure du Noir Réactif5 .	12
Figure I.10: Structure moléculaire d'un colorant direct	12
Figure I.11: Structure moléculaire d'un colorant chroma table.	12
FigureI.12 : Structure chimique du bleu de méthylène.	16
Figure II.1: Méthodes d'élimination des colorants.	22
FigureIII.1: Photographie du pH mètre (JENWAY 3305).	30
Figure III.2: Balance électrique.	31
FigureIII.3 : autoclave (OT O12 NUVE).	31
Figure III.4 incubateur (orbital incubator [SI500] STUART).	32
Figure III.5 : Spectrophotométrie UV.	33
Figure III.6 : Pseudomonas Aeruginosa .	34
FigureIII.7 : Préparations du milieu (LB).	34
FigureIII.8 : Identification de la bactérie utilisé (Pseudomonas aeruginosa).	35
Figure III.9: les étapes de biodégradation de BM en fonction de la concentration initial.	35
FigureIII.10: Effet de la Concentration initial du BM sur la dégradation de BM.	36
FigureIII.11 : Etapes de biodégradation de BM en fonction pH.	37
Figure III.12: Effet du pH sur la dégradation de BM.	37
FigureIII.13 : Dégradation de BM en fonction d'inoculum bactérien.	38
FigureIII.14 : incubation des flacons.	38
FigureIII.15 :les étapes de dégradation de BM en fonction d'ajout de source de carbone.	39
FigureIII.16 : Pesage des réactifs (glucose, amidon).	40
Figure III.17 : Etapes de dégradation de BM en fonction d'ajout de source d'azote.	40
Figure III.18 : Ajout de la source d'azote.	41
Figure IV.1: Effet de la concentration initiale du bleu de méthylène sur la dégradation (T=30°C ,pH=7).	43

Figure IV.2: Effet de la concentration initiale du BM sur sa dégradation au cours du temps.	45
Figure IV.3: Effet de pH sur la dégradation de bleu de méthylène (T=30°C, pH=10).	46
Figure IV.4: Impact du pH sur la dégradation du BM au cours du temps.	47
Figure IV.5: Effet de la concentration de la souche bactérienne sur la dégradation de bleu de méthylène.	48
Figure IV.6: Impact de la concentration de l'inoculum bactérien sur la dégradation du BM au cours du temps.	49
Figure IV.7: Effet de la source de carbone sur la dégradation de bleu de méthylène (T=30°C, pH=10).	50
Figure IV.8 : Impact de la source de carbone sur la dégradation du BM au cours du temps.	51
Figure IV.9 : Effet de l'ajout d'une source d'azote sur la dégradation du bleu de méthylène. (T=30C, pH=10, 5% d'inoculum bactérien et glucose).	52
Figure IV.10 : Effet de l'ajout d'une source d'azote (NH_4Cl , $(NH_4)_2SO_4$) sur la dégradation du bleu de méthylène. (T=30C, pH=10, 5% d'inoculum bactérien et glucose).	53

Liste des Tableaux

Titre	Page
Tableau I.1 : Exemples sur les types de colorants.	13
Tableau I.2 : Valeurs limites des paramètres de rejets d'effluents textiles.	15
Tableau III.1: Réactifs chimiques utilisés.	29
Tableau II**I.2:** Caractéristiques de colorant BM.	29

Liste des abréviations

BM : bleu de méthylène.

C_0 : concentration initiale

EPA : agence américaine de protection de l'environnement.

PA : pseudomonas aerogunosa.

pH : potentiel d'hydrogène.

POA : Procédé d'oxydation avancée

UV : ultraviolet

λ : Longueur d'onde

Introduction générale

L'eau est indispensable à la vie. Pour les besoins de l'Homme et de l'environnement, l'eau doit être de bonne qualité. Tout l'équilibre est menacé si la qualité de l'eau est altérée,[1] Par ailleurs, l'eau est un enjeu majeur pour les écosystèmes aquatiques et les communautés qui en sont tributaires. L'industrialisation et l'urbanisation, ainsi que les activités humaines, ont provoqué une augmentation des polluants dans les cours d'eau, les lacs et les océans. Les substances chimiques nocives, les déchets industriels et les excès de nutriments sont autant de polluants susceptibles de causer des dommages à la faune aquatique et à la santé humaine. Les eaux usées qui ne sont pas traitées constituent une importante source de pollution.[2] La pollution de l'environnement par les produits chimiques d'origine industrielle est un sujet d'actualité, celle des eaux est placée au sommet des préoccupations de l'homme à cause de la quantité et la diversité des contaminants rejetés. Des quantités initiales importantes des colorants utilisés dans des nombreux secteurs industriels finissent dans les eaux des rejets.

Actuellement, les rejets de l'industrie du textile sont lourdement chargés en colorants. Ces derniers sont souvent utilisés en excès pour améliorer la teinture ; de ce fait les eaux de rejet se trouvent fortement concentrées en colorants dont la faible biodégradabilité rend les traitements biologiques difficilement applicables, en raison de leur nature xénobiotique, ce qui signifie qu'ils ne sont pas facilement dégradés par les micro-organismes dans le milieu naturel. Cela peut entraîner des effets toxiques sur les organismes vivants et perturber les écosystèmes aquatiques. Ce qui constitue une source de dégradation de l'environnement.

Selon une étude publiée dans (Nature Reviews Earth & Environment) [3] des milliards de tonnes de déchets contenant des colorants sont rejetés chaque année dans les systèmes d'eau, et jusqu'à 80% de ces déchets ne sont pas traités avant d'être rejetés dans les cours d'eau ou utilisés pour l'irrigation dans les pays à faible et moyen revenu.[4] Il est important de traiter les eaux usées contenant des colorants avant de les rejeter dans l'environnement. Il existe plusieurs méthodes de traitement des eaux usées, notamment la coagulation-floculation, la flottation, l'adsorption, la filtration, et la biodégradation.

La biodégradation est une méthode de traitement prometteuse pour les colorants industriels, car elle utilise des micro-organismes pour dégrader les colorants en composés moins toxiques et plus facilement biodégradables. Cette méthode est écologiquement durable et peut être utilisée pour traiter les eaux usées à grande échelle [5].Les techniques physico-

chimiques sont des procédés onéreux et complexes qui génèrent de métabolites cancérigènes et mutagènes en raison de l'élimination partielle des colorants toxiques. Ainsi, il est essentiel de mettre au point des techniques économiques et performantes pour éliminer entièrement les colorants, telles que le traitement biologique.

Le traitement biologique est très efficace pour une large gamme de colorants ,en plus des avantages d'être rentable et respectueux de l'environnement [6,7].Pour notre travail on a choisi le traitement biologique, Les recherches menées dans le laboratoire des sciences et technologie et de chimie à l'université de Médéa YAHIA FARES et le laboratoire de l'hôpital ou s'est déroulé notre stage de fin d'études.

Lors de cette étude Nous visons à créer une méthode unique et novatrice de dégradation des colorants par biodégradation, en utilisant une souche bactérienne, nous nous sommes intéressés a étudier l'élimination du bleu de méthylène (BM) choisi comme modèle de polluant par une souche bactérienne. Nous avons concentré notre attention sur une bactérie spécifique, *Pseudomonas sp (Aeroginosa).*, une souche identifier capable de dégrader efficacement le colorant BM. Cette bactérie a été isolée à partir de sources naturelles et a déjà montré un potentiel prometteur dans la dégradation de divers colorants.

L'objectif principal de cette étude :

1) Optimiser les conditions de dégradation du bleu de méthylène par la bactérie *PA*.
2) Évaluer son potentiel en tant qu'agent de bioremédiation pour le traitement des effluents colorés.

Le but est de non seulement atténuer l'impact environnemental des colorants synthétiques, mais aussi d'offrir une solution de traitement écologique et économique en alternative aux méthodes traditionnelles.

Le mémoire est divisé en deux parties, une partie théorique comportant deux chapitres dont le premier aborde quelques généralités sur les colorants et leurs classifications tandis que le chapitre II est consacré à l'Elimination des colorants.

La deuxième partie, est consacrée à l'étude de la procédure expérimentale ainsi aux résultats et discussion obtenus.

Le travail se termine par une conclusion générale qui regroupe tous les résultats trouvés et desperspectives qui pourront être envisagées dans le futur.

Chapitre I:
Les COLORANTS

I. INTRODUCTION :

Un colorant est par définition une substance fortement colorée qui interagit avec le milieu dans lequel elle est introduite, et le colore en s'y dissolvant et en s'y dispersant. Un colorant possède généralement une très grande aptitude à se fixer par teinture ou impression sur la plupart des matériaux.[8]

L'homme a d'abord utilisé les pigments des « terres colorées », puis ceux des fibres végétales et animales. L'industrie des colorants constitue aujourd'hui un domaine capital de la chimie. Les colorants sont employés pour l'impression et la teinture des fibres textiles, des papiers, des cuirs, des fourrures, des bois, des matières plastiques et des élastomères. Ils servent aussi à préparer des peintures, des encres d'imprimerie, des vernis et, comme additifs, à colorer des produits alimentaires et pharmaceutiques. Ils sont utilisés dans l'industrie des cosmétiques, la coloration des métaux (aluminium anodisé), la photographie (sensibilisateurs), la biologie (coloration des préparations microscopiques), les indicateurs colorés, et certains d'entre eux sont employés en thérapeutique (antiseptiques, anti malariques, etc.) [9]

Les colorants sont généralement des composés organiques, pouvant être classés en deux catégories distinctes : les colorants naturels et les colorants synthétiques. Ces substances colorées trouvent leur utilisation dans divers secteurs industriels. Chaque année, plus de 100 000 colorants différents sont produits à l'échelle mondiale, et entre 8 % et 12 % de ceux qui ne sont pas utilisés sont directement rejetés dans les environnements naturels, principalement dans les cours d'eau. Ces rejets colorés ont engendré divers problèmes écologiques et présentent des risques pour certains organismes.[8] Ainsi, le traitement de ces effluents colorés est impératif pour préserver l'équilibre environnemental et assurer la protection des écosystèmes.

I.1-HISTORIQUE :

La longue histoire des matières colorantes a connu deux périodes, séparées par une année très importante : l'année 1856, pendant la première période, les colorants utilisés étaient uniquement des colorants naturels empruntés aux trois

règnes : végétal, animal et minéral. Ils étaient une trentaine environ [8], dont les noms les plus importants sont :

- L'indigo pour les bleus,
- La garance, l'orseille, la cochenille, le kermès pour les rouges, violets, bruns,

- La gaude, le safran, les grains de perse ou d'Avignon pour les jaunes,
- Le campêche pour les noirs.

L'année 1856 qui sépare les deux grandes périodes de l'histoire des colorants est celle qui vit naître, en Grande Bretagne, le premier colorant synthétique : La Mauvéine, découvert par William Henry Perkin [10]. Dès lors les synthèses se succédèrent rapidement. Les colorants synthétiques furent tout d'abord baptisés de noms de plantes (amarantes, fuchsine, garance, etc.), puis de noms de minerais (vert de malachite, auramine, etc.). Les colorants furent ensuite désignés selon leur constitution chimique (bleu de méthylène, violet de méthyle, vert de naphtalène, etc.) [11].

Actuellement, les fabricants de matières colorantes déposent des marques protégées pour les différentes classes de colorants en fonction de leur procédé d'application. Ainsi, chaque colorant est désigné par sa couleur, sa marque commerciale et un code le caractérisant .Le développement de la production des colorants de synthèse a marqué le déclin progressif et quasi-total des colorants naturels. La production des colorants synthétiques sont disponibles dans le commerce et plus de 700.000 tonnes sont produits annuellement [8].

I.2-UTILISATION ET APPLICATION INDUSTRIELLES DES COLORANTS :

Les colorants jouent un rôle essentiel dans plusieurs industries, ajoutant de la couleuret de la diversité visuelle aux produits finis. Voici une présentation détaillée des principalesindustries où les colorants sont largement utilisés : [8,9]

- **L'industrie textile :** pour teindre les fibres, les tissus et les vêtements.
- **L'industrie alimentaire :** pour améliorer l'aspect visuel des produits alimentaires.
- **L'industrie pharmaceutique :** pour différencier les médicaments et améliorer leuracceptabilité visuelle.
- **L'industrie des plastiques :** pour teinter une variété de produits en plastique, desemballages aux pièces industrielles.
- **L'industrie des cosmétiques** : pour teinter une gamme de produits de beauté etd'hygiène personnelle.

- **L'industrie des peintures et verni** : pour teinter une variété de revêtements, de la peinture murale aux vernis industriels. L'industrie de l'impression, pour imprimer des images et des textes sur divers supports.
- **L'industrie automobile** : pour colorer des pièces intérieures, extérieures et accessoires**.**
- **L'industrie des produits de nettoyage** : pour améliorer l'attrait visuel des produits de nettoyage domestiques et industriels.
- **L'industrie de la céramique** : pour colorer des carreaux, des poteries et des produitscéramiques.

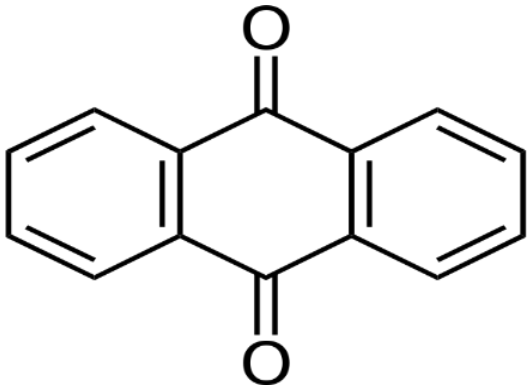
I.3-CLASSIFICATION DES COLORANTS :

Les colorants peuvent être classés selon leur constitution chimique ou leurs méthodes d'application sur divers substrats. La classification basée sur la structure chimique sefocalise sur le chromophore, composé de doubles liaisons conjuguées et souvent de noyaux aromatiques. Les auxochromes, tels que NH_2, OH, COOH, SO_3H, garantissent la solubilité et facilitent la liaison avec le substrat. Ainsi, les auxochromes définissent la classe tinctoriale, distinguant les colorants basiques (groupes aminés) des acides (groupes sulfoniques). Les colorants réactifs illustrent la diversité, formant une liaison covalente avec le substrat et pouvant avoir divers chromophores issus de catégories chimiques variées.[12]

I.3.1. Classification chimique :

La classification des colorants en fonction de leur structure chimique dépend de la nature du chromophore présent dans la molécule :

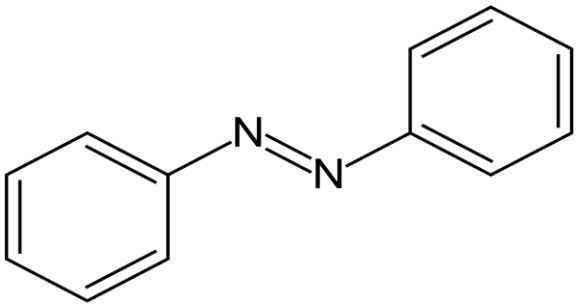
- **Colorants anthraquinoniques**: Sont d'un point de vue commercial, les plus Importants après les colorants azoïques. Leur formule générale dérivée de l'anthracène montre que le chromophore est un noyau quinonique sur lequel peuvent s'attacher des groupes hydroxyles ou amine [12]



FigureI.1 : Squelette anthraquinonique .[12]

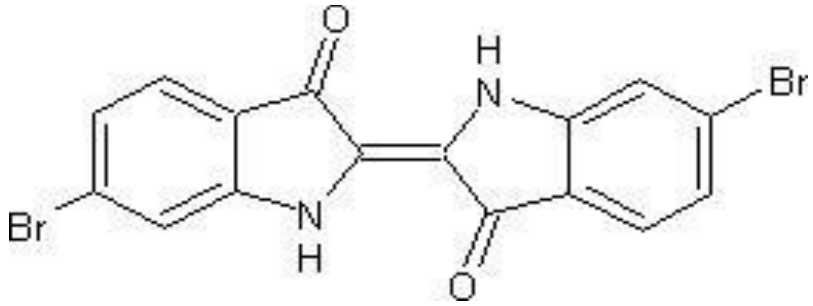
- **Colorants azoïques** :

Les colorants azoïques sont caractérisés par la présence au sein de la molécule d'un groupement azoïque (-N=N-) reliant deux noyaux benzéniques. Cette catégorie de colorant est actuellement la plus répondue sur le plan de l'application, puisqu'elle représente plus de 50% de la production mondiale de matières colorantes. Les colorants azoïques se répartissent en plusieurs catégories : les colorants basiques, acides, directs et réactifs solubles dans l'eau, et les azoïques dispersés et à mordant non-ioniques insolubles dans l'eau. Il est estimé que 10-15% des quantités initiales sont perdues durant les procédures de teinture et sont évacués sans traitement préalable dans les effluents. Or ces composés organiques cancérigènes sont réfractaires aux procédés de traitements habituellement mis en œuvre et sont très résistants à la biodégradation.[13]



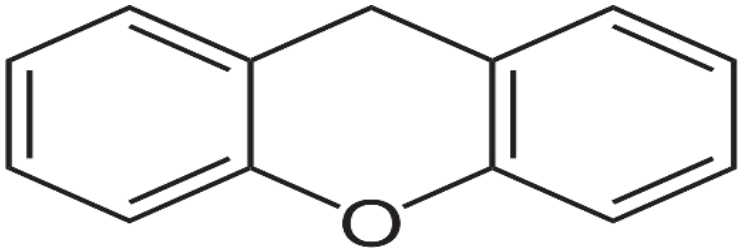
FigureI.2 : Structure d'un Colorant azoïques[13].

- **Colorants indigoïdes** : tirent leur appellation de l'indigodont ils dérivent. Ainsi, les homologues sélénié, soufré et oxygéné du bleu indigo provoquent d'importants effets hypsochromes avec des coloris pouvant aller de l'orange au turquoise.[9]



FigureI.3 : Structure moléculaire d'un colorant indigoïde[9].

- **Colorants xanthène** : Dont le composé le plus connu est la fluorescéine, sont dotés d'une intense fluorescence. Peu utilisés en tant que teinture, leur faculté de marqueurs lors d'accident maritime ou de traceurs d'écoulement pour des rivières souterraines est malgré tout bien établie.[10]



FigureI.4 : Structure moléculaire d'un colorant xanthène [10].

- **Colorants nitrés et nitrosés** : Ces colorants forment une classe très limitée en nombre et relativement ancienne. Ils sont actuellement encore utilisés, du fait de leur prix très modéré lié à la simplicité de leur structure moléculaire caractérisée par la présence d'un groupe nitro (-NO2) en position ortho d'un groupement électrodonneur (hydroxyle ou groupes aminés) [14]

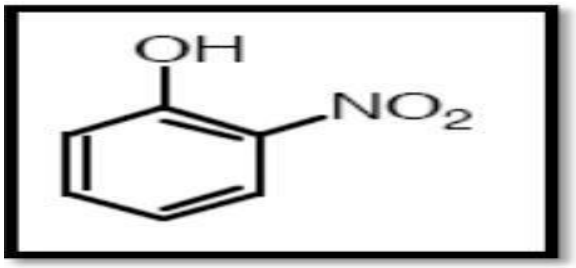


Figure I.5 : Structure moléculaire d'un colorant nitré et nitrosé.[14]

I.3.2. Classification tinctoriale

Sila classification chimique présente un intérêt pour le fabricant de matières colorantes, le teinturier préfère le classement par domaines d'application. Ainsi, il est renseigné sur la solubilité du colorant dans le bain de teinture, son affinité pour les diverses fibres et sur la nature de la fixation. Celle-ci est de force variable selon que la liaison colorant/substrat est du type ionique, hydrogène, de Vander Waals ou covalente. [15]

On distingue différentes catégories tinctoriales définies cette fois par les auxochromes :

- **Colorants acides ou anioniques**

Solubles dans l'eau grâce à leurs groupements sulfonates ou carboxylates, ils sontainsi dénommés parce qu'ils permettent de teindre les fibres animales (laine et soie) et quelques fibres acryliques modifiées (nylon, polyamide) en bain légèrement acide. L'affinité colorant fibre est le résultat de liaisons ioniques entre la partie acide sulfonique du colorant et les groupements amino des fibres textiles.[15]

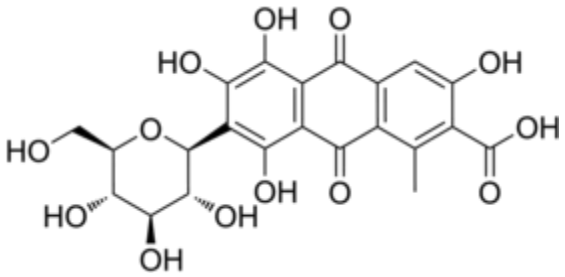
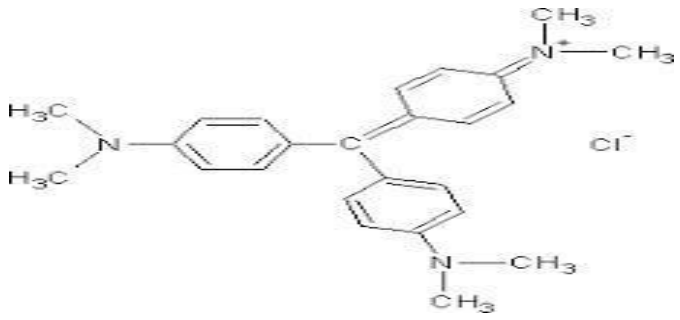


Figure I.6: Structure moléculaire d'un colorant acide [15]

Colorants basiques ou cationiques

Les colorants basiques ou cationiques sont des sels d'amines organiques, ce qui leur confère une bonne solubilité dans l'eau. Les liaisons se font entre les sites cationiques des colorants et les sites anioniques des fibres. En phase de disparaître dans la teinture de la laine et de la soie, ces colorants ont bénéficié d'un regain d'intérêt avec l'apparition des fibres acryliques, sur lesquelles ils permettent des nuances très vives et résistantes.[15]



FigureI.7 : Structure moléculaire d'un colorant cationique [15]

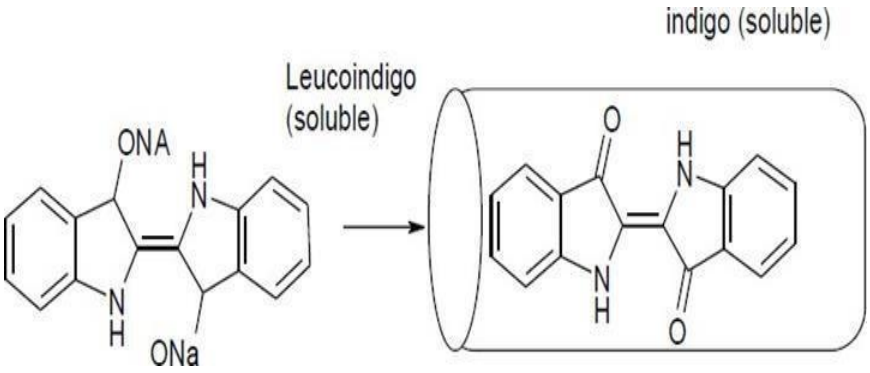
Colorants développés ou azoïques insolubles

Les colorants développés ou azoïques insolubles sont formés directement sur la fibre Au cours d'une première étape, le support textile est imprégné d'une solution de naphtol (copulant). Les précurseurs de la molécule suffisamment petits pour diffuser dans les pores et les fibres sont ensuite traités avec une solution de sel de diazonium qui, par réaction de copulation entraîne le développement immédiat du colorant azoïque.[15]

Colorants de cuve :

Les colorants de cuve sont insolubles et doivent être transformés en leuco- dérivés par réduction alcaline. La teinture se termine par la réoxydation in situ du colorant sous sa formeinsoluble initiale.

Réputés pour leur bonne résistance aux agents de dégradation. Les colorants de cuve sont encore utilisés, à l'image de l'indigo pour la teinture des articles jean ou denim.[15]



FigureI.8: Schéma de la formation du colorant cuve soluble [15]

- **Colorants réactifs**

Les colorants réactifs contiennent des groupes chromophores issus essentiellement des familles azoïques, anthraquinonique et phtalocyanine. Leur appellation est liée à la présence d'une fonction chimique réactive, de type triazinique ou vinylsulfone assurant la formation d'une liaison covalente forte avec les fibres. Solubles dans l'eau, ils entrent dans la teinture du coton et éventuellement dans celle de la laine et des polyamides.[15]

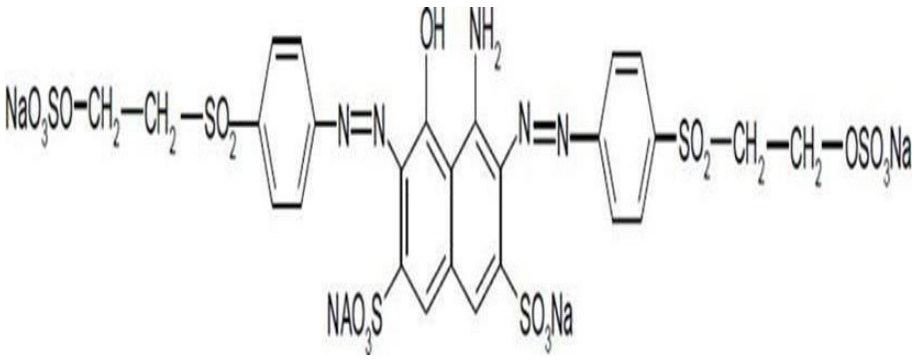
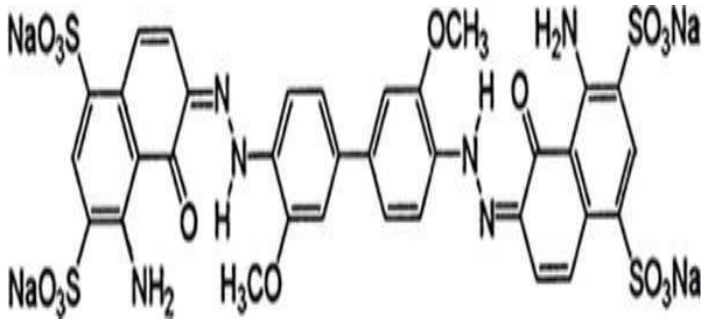


Figure I.9 : Structure du Noir Réactif5 [15].

- **Colorants directs**

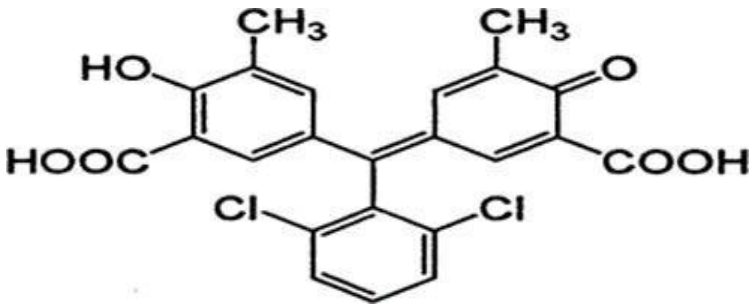
Les colorants directs contiennent ou sont capables de former des charges positives ou négatives électro-statiquement attirées par les charges des fibres .Ils se distinguent par leur affinité pour les fibres cellulosiques sans application de mordant, liée à la structure plane de leur molécule.[15]



FigureI.10 : Structure moléculaire d'un colorant direct [15]

- **Colorants à mordants**

Les colorants à mordants contiennent généralement un ligand fonctionnel capable de réagir fortement avec un sel d'aluminium, de chrome ,de cobalt ,de cuivre, de nickel ou de fer pour donner différents complexes colorés avec le textile.[14]



FigureI.11 : Structure moléculaire d'un colorant chroma table [15]

- **Colorants dispersés**

Lescolorantsdispersésson ttrèspeusolublesdansl'eauetsontappliqués sous forme d'une fine poudre dispersée dans le bain de teinture. Ils sont en mesure, lors d'une teinture à haute température, de diffuser dans les fibres synthétiques puis de s'y fixer [9].

TableauI.1 : Exemples de colorants [16].

Les colorants	Exemples
Colorants anthraquinonique	Rouge d'alizarine
Colorants azoïque	Jaune de Chrome
Les colorants indigoïdes	Indigo
Les colorants xanthane	Rouge de phénol
Les colorants à mordants	Rouge de Garance
Colorants nitres et nitroses	Jaune de Quinoléine
Les colorants acides ou anioniques	Acide p-crésolsulfonique
Les colorants basiques o cationique	Bleu de Méthylène
Les colorants disperses	Dispersion Jaune 83
Les colorants du cuve	Vert de Malachite
Les colorants directs	Jaune Direct 2

I.4 IMPACTS ENVIRONNEMENTAUX DES COLORANTS :

I.4.1 Danger à court terme :

a. Eutrophisation :

Sous l'influence des microorganismes, les colorants libèrent des nitrates et des phosphates dans l'environnement naturel. L'introduction excessive de cessions minéraux peut devenir nocive pour la vie aquatique, compromettre la qualité de l'eau potable et perturber l'écosystème. L'absorption de ces nutriments par les plantes aquatiques accélère leur croissance incontrôlée, entraînant un appauvrissement en oxygène par le biais de l'inhibition de

La photosynthèse dans les couches les plus profondes des cours d'eau et des eaux stagnantes.[17]

b. Sous-oxygénation :

Lorsque des charges importantes de matière organique sont apportées au milieu via des rejets ponctuels, les processus naturels dérégulation ne peuvent plus compenser la consommation bactérienne d'oxygène. Manahan [18] estime que la dégradation de 7 à 8mg de matière organique perdes micro-organismes suffit pour consommer l'oxygène contenu dans un litre d'eau.

c. Couleur, turbidité, odeur :

L'accumulation des matières organiques dans les cours d'eau induit l'apparition de mauvais goûts, prolifération bactérienne, odeurs pestilentielles et colorations anormales. Willmott et al [ont évalué qu'une coloration pouvait être perçue par l'œil humain à partir de 5 10-6 g L-1. En dehors de l'aspect inesthétique, les agents colorants ont la capacité d'interférer avec la transmission de la lumière dans l'eau, bloquant ainsi la photosynthèse des plantes aquatiques.[17].

I.4.2 Danger à long terme :

a. Persistance : Les colorants organiques synthétiques sont des composés impossibles à épurer par dégradations biologiques naturelles [19]. Cette persistance est en étroite relation avec leur réactivité chimique :

- Les composés in saturés sont moins persistants que les saturés,
- Les alcanes sont moins persistants que les aromatiques,
- La persistant ce des aromatiques s'augmente avec le nombre de substituants,
- Les substituants halogène s'augmentent plus la persistance des colorants que les groupements alkyles.[19]

b. Bio-accumulation : Si un organisme ne dispose pas de mécanismes spécifiques, soit pour empêcher la résorption d'une substance, soit pour l'éliminer une fois qu'elle est absorbée, alors cette substance s'accumule. Les espèces qui se trouvent à +l'extrémité supérieure de la chaîne alimentaire, y compris l'homme, se retrouvent xposées à des teneurs en substances toxiques pouvant être jusqu'à mille fois plus élevées quelles concentrations initiales dans l'eau.

C. Cancer : Si la plupart des colorants ne sont pas toxiques directement, une portion significative de leurs métabolites l'est [20]. Leurs effets mutagènes, tératogène ou cancérigène apparaissent après dégradation de la molécule initiale en sous-produits d'oxydation : amine cancérigène pour les azoïques [21], leuco- dérivé pour les triphénylméthanes [22].

I.4.3 Toxicité des colorants :

La toxicité des différents types de colorants (mortalité, effet muta génique et cancérigène) a été étudiée par plusieurs travaux de recherche aussi bien sur des organismes aquatiques (poisson ,algue,bactéries,etc.) que sur les mammifères. En outre ,des recherches ont été effectuées pour étudier l'effet des colorants sur l'activité des bactéries aérobies et anaérobies dans des systèmes de traitement des eaux résiduaires. Des études faites sur divers colorants commerciaux ont démontré que les colorants basiques sont les plus toxiques pour les algues[23, 24] Certaines recherches ont montré que les colorants aminés sont souvent aptes provoquer des irritations de la peau et des dermites. Ces effets avec manifestation d'eczéma et d'ulcération ont été observés chez les ouvriers d'usine de fabrication décolorants de la série du triphénylméthane [25].

Des réactions allergiques, asthme quelquefois et surtout des dermites eczémateuses ont été observés avec divers colorants aminés azoïques, anthraquinoniques, ainsi qu'avec certains colorants du groupe des naphtalènes (chelite de rouge) [26].

Les colorants de synthèse à base d'amines entraînent des risques cancérogènes, des tumeurs urinaires et plus spécialement les tumeurs bénigneset malignes de la vessie [26]. La toxicité des azoïques par exposition aux colorants et à leurs métabolites n'est pas un fait nouveau. Dès 1895, l'augmentation du nombre de cancersde la vessie observée chez des ouvriers de l'industrie textile, est reliée à leur exposition prolongée aux colorants azoïques [27]. D'autre part Les composés de la famille des triphénylméthanes sont des composés reconnus comme étant génotoxiques pour les cellules bactériennes et mammifères [28,29]. Des chercheurs ont établi que le vert malachite, colorant couramment utilisé en industrie et comme antifongique, est un composé fortement cytotoxique pour le mammifère.

La nature cancérigène des triphénylméthanes se manifeste principalement par voie bactérienne [30] Ainsi, le recours à un processus de traitement biologique pour ces composés pourrait conduire à une solution potentiellement plus toxique que celle initiale.

La toxicité des azoïques par exposition aux colorants et à leurs métabolites n'est pas un fait nouveau. Dès 1895, l'augmentation du nombre de cancers de la vessie observés chez des ouvriers de l'industrie textile, est reliée à leur exposition prolongée aux colorants

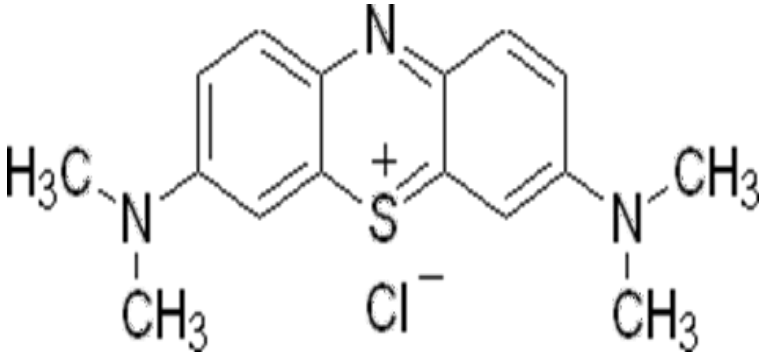
azoïques [27]. Depuis, les travaux effectués sur ces colorants ont démontré que ces composés chimiques présentaient des effets cancérigènes pour l'homme et l'animal. Les effets cancérigènes des composés azoïques s'expriment par leurs dérivés amines [31].

La toxicité des azoïques est accrue par la présence des substituants sur le noyau aromatique notamment des groupes nitro (-NO2) et halogènes (particulièrement Cl). Selon l'EPA(Agence américaine de protection de l'environnement), l'estimation des risques de cancer impose de fixer une concentration limite de3,1µg/L en colorant azoïque dans l'eau potable[27].

Si on en parle sur la toxicité des colorants indigoïdes sont considérés très toxiques et leur contact peut causer des irritations de peau et d'œil, Ils peuvent également causer des dommages permanents à la cornée et sa conjonctive. La consommation de ses colorants peut être fatale, car ils sont cancérogènes et peuvent produire et/ou développer une toxicité neuronale aigüe [32]. Des chercheurs trouvent que Les colorants xanthènes sont toxiques pour un large spectre d'insectes [34,35]. Le mécanisme fondamental par lequel les colorants xanthènes ont un effet toxique sur les organismes vivants est la réaction de photooxydation légère dépendante [36], précédemment connu sous le nom d'action photo-dynamique [37,38].

I.5 BLEU DE METHYLNE :

Le colorant bleu de méthylène est un colorant cationique d'indice CI52015, sa formule est$_{16183}$ et sa masse molaire est de 319.85 g\mol . C'est une molécule organique appartenant à la famille des Xanthines [36;37]. Ce colorant est choisi comme modèle représentatif des polluants organiques détaille moyenne et sa structure chimique représente dans cette figure :



FigureI.12 : Structure chimique du bleu de méthylène.[31]

I.5.1 Utilisation du bleu de méthylène :

Le bleu de méthylène est utilisé intensivement dans différents domaines tels que :la chimie, la médecine, l'art dentaire et l'industrie des colorants. Parmi les usages du bleu de méthylène, en voici quelques-uns [39] :

- ✓ Un colorant vital, il colore certaines structures histologiques ;
- ✓ Il accélère la réduction des méthémoglobines ;
- ✓ Un antiseptique, un antirhumatismal ;
- ✓ Coloration du coton, bois, soie et papier ;
- ✓ Un limiteur optique combiné à un polymère, pour la protection des yeux contre les lasers intenses ;
- ✓ Un photosensibiliseur actif pour le traitement des tumeurs malignes ;
- ✓ Traitement spécifique d'une méthémoglobinémie toxique ;

I.6 CONCLUSION :

Ce chapitre a permis de mettre en lumière l'omniprésence des colorants synthétiques organiques dans divers secteurs industriels, notamment dans le domaine textile, où une multitude de nuances et de familles chimiques sont utilisées. Les interactions entre les textiles et les colorants varient en fonction de la structure chimique des colorants et du type des fibres sur lesquelles ils sont appliqués. Il est fréquent de constater qu'entre 15 et 20 % des colorants sont évacués lors des processus de teinture, se retrouvant souvent dans les effluents déversés directement dans les cours d'eau sans traitement préalable.

Ces rejets chargés en colorants posent deux problèmes majeurs, esthétiques et de santé publique. Des études se sont révélées que, même lorsqu'ils ne sont pas directement impliqués leurs métabolites peuvent causer des maladies telles que le cancer. Par conséquent, il est impératif de traiter les eaux résiduaires contenant des colorants jusqu'à leur minéralisation complète.

Chapitre II:

ELIMINATION DES COLORANT

II.1 INTRODUCTION :

Les colorants sont largement utilisés dans de nombreuses industries, tels que le textile, le papier, la peinture, la pharmaceutique et la cosmétique [23]. Cependant, leurs utilisations entraînent souvent des effluents colorés qui peuvent être nocifs pour l'environnement et la santé humaine. Par conséquent, il est important de développer des méthodes efficaces pour éliminer ces colorants indésirables, classées en deux catégories : physico-chimiques (la coagulation, la floculation, l'adsorption, la flottation, et l'oxydation avancée) et biologiques (utilisation des micro-organismes).[24]

II.2 TRAITEMENT DES EAUX CONTAMINEES :

Dans le domaine du traitement des eaux contaminées par les colorants, plusieurs méthodes conventionnelles sont utilisées pour éliminer ces polluants. Voici une présentation des principales méthodes :

II.2.1 Méthodes chimiques :

- **Les procédés d'oxydation classique :**

Ces méthodes de traitement sont couramment utilisées pour l'épuration d'effluents contenant des polluants organiques, y compris des colorants, en raison de leur mise en œuvre relativement facile. Ces procédés utilisent des oxydants puissants et variés tels que l'hypochlorite de sodium (NaClO ,l'ozone (O_3),ou encore le peroxyde d'hydrogène(H_2O_2), en présence ou non de catalyseur [25].

- **Les procédés d'oxydation avancée (POA) :**

Les POA regroupent des méthodes chimiques, photochimiques ou électrochimiques leur développement est en pleins, depuis environ trois décennies. Elles consistent à dégrader les molécules des colorants en CO_2 et H_2O au moyen de l'UV en présence de peroxyde d'hydrogène [25].

II.2.2 Méthodes physiques :

- **Filtration membranaire :**

La filtration sur membrane pilotée par pression hydraulique se décline en microfiltration, ultrafiltration, nano filtration et osmose inverse.[25]L'effluent passe à travers une membrane semi- perméable qui retient en amont les contaminants de taille supérieure au diamètre des pores, pour produire un perméat purifié et un concentré qui reçoit les impuretés

organiques .Parmi les quatre types des procédés : la nanofiltration et l'osmose inverse sont les plus adaptés à la réduction partielle de la couleur et des petites molécules organiques, mais l'osmose inverse reste la plus répandue [26]

- **Adsorption sur charbon actif :**

Lors de l'adsorption, le polluant est transféré de la phase liquide vers la phase solide. Le charbon actif est l'adsorbant le plus communément utilisé pour la réduction de la couleur [25]. Mais il reste très onéreux. Des recherches ont opté pour valoriser ou utiliser certaines matières naturelles (argile, sciure, écorce et farine de bois…) moins onéreuses pour l'élimination des colorants par adsorption [27].

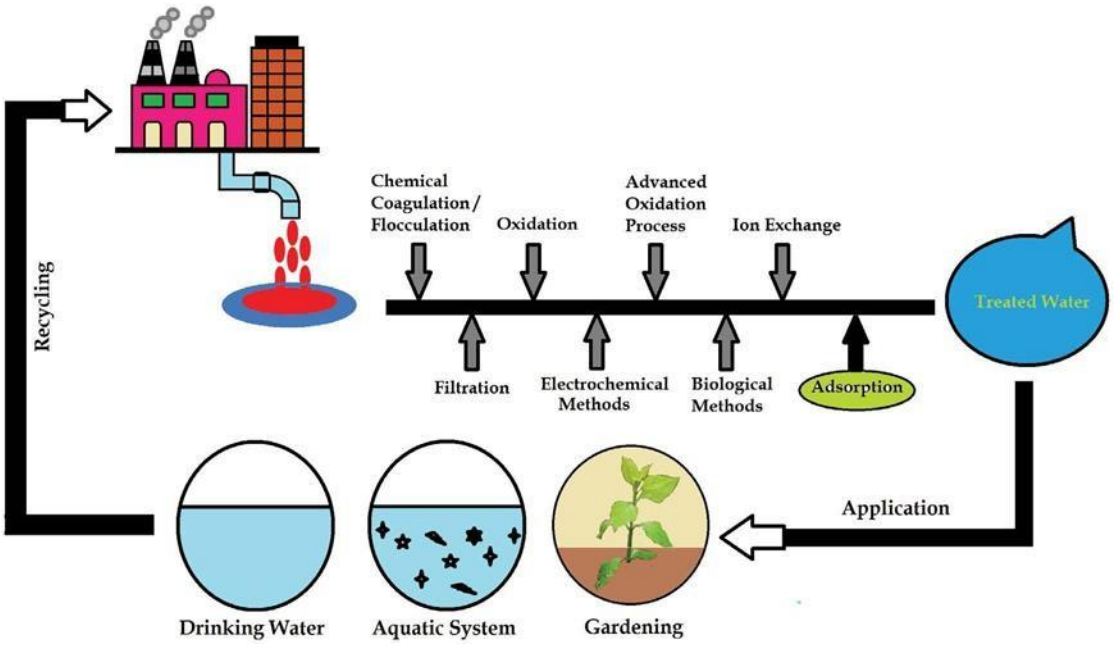
II.2.3 Méthodes physico-chimique : coagulation–floculation :

Sous le terme de coagulation-floculation, on entend tous les processus physicochimiques par les quels des particules colloïdales ou des solides enfin suspension sont transformés par des floculant chimiques en espèces plus visibles et séparables (les flocs). Les flocs formés sont ensuite séparés par décantation et filtration puis évacués. Par ailleurs, la coagulation - floculation ne peut être utilisée pour les colorants fortement solubles dans l'eau.

D'importantes quantités de boue sont formées avec ce procédé : leur régénération ou réutilisation reste la seule issue mais demande des investissements supplémentaires [25].

II.2.4 Méthodes biologique :

Le traitement biologique des colorants est souvent mentionné comme la méthode la plus efficace, du fait qu'elle est écologique et économique (ne nécessite ni produits chimiques ni énergie). Le principe de ce traitement est la transformation des colorants toxiques en molécule plus simples et inoffensives (en eau, en dioxyde de carbone et en divers sels de nature inorganique par voie biologique en utilisant plusieurs microorganismes tels que les bactéries, les champignons, les algues, les levures ou des plantes [28,29,30].



FigureII.1: Méthodes d'élimination des colorants [33].

II.2.4.1 Dégradation des colorants par les champignons :

Les champignons filamenteux sont omniprésents dans l'environnement, habitants des niches écologiques telles que le sol, les plantes vivantes et les déchets organiques, Ils ont la capacité à s'adapter rapidement selon la variation des sources de carbone et d'azote importantes pour leur survie [32].Le mécanisme d'action des deux enzymes LiP et MnP est similaire : le mécanisme commence par l'oxydation de ces enzymes durant leur cycle catalytique par H_20_2 la forme oxydée ainsi formée est immédiatement réduite à sa forme d'origine par un substrat qui est le colorant azoïque La différence entre ces deux enzymes est que la LiP oxyde les composés aromatiques phénoliques et non phénoliques, alors que le MnP oxyde le Mn^{2+} en Mn^{3+}, ce dernier étant responsable de l'oxydation des composés phénoliques uniquement [34,35].

En effet [36], ont constaté que les substituant sulfonés (SO_3H) inhibent fortement la biodégradation des colorants azoïques. Bien que les champignons selon les premiers microorganismes identifiés capables de dégrader les colorants synthétiques et qu'ils se soient montres efficaces dans certains cas compares aux autres microorganismes, le traitement des rejets textiles chargés en colorants par les champignons pose beaucoup de problèmes, En effet, l'effluent textile n'est pas l'environnement adéquat pour la croissance et la conservation de la biomasse fongique [37].

De plus, d'autres polluants présents dans les eaux usées, en particulier les composés aromatiques, peuvent perturber le processus de dégradation fongique des colorants. Ces perturbations peuvent être influencées par divers facteurs tels que la nature des effluents traités, les conditions climatiques, la charge organique et la profondeur de l'eau. Les principaux groupes d'organismes potentiellement affectés comprennent les bactéries, les algues et le zooplancton, et leur composition peut varier en fonction de ces facteurs environnementaux.

II.2.4.2 Dégradation des colorants par les algues :

L'azoréductase des algues était l'enzyme principale responsable de la dégradation des colorants azoïques en amines aromatiques en cassant les liaisons azoïques . Ainsi, la biodégradation de ces colorants est assurée par Chlorellapyrenoidosa, Chlorella vulgaris et Oscillatoriatenuis. Le potentiel des espèces de Cosmarium.sp, appartenant aux algues vertes, a été étudié comme matière biologique viable pour le traitement biologique des colorants triphénylméthanes [40].

Par ailleurs, la plupart des colorants présentent une grande stabilité et une faible capacité de biodégradation. Cependant, bien que ces méthodes soient efficaces pour un large éventail de polluants organiques, elles peuvent souvent se révéler inadéquates pour le traitement des effluents industriels en raison de concentrations élevées de polluants, de leur toxicité potentiellement mortelle pour les microorganismes, ou de leur faible propension à se dégrader naturellement. En outre, ces procédés peuvent engendrer d'importantes quantités de boues biologiques nécessitant un traitement supplémentaire.

II.2.4.3 Dégradations des colorants par la levure :

D'après la littérature, les études portant sur la dégradation des colorants azoïques par des levures sont très limitées. Récemment [42] ont testé la souche de levure *Candida zeylanoides*pour réduire des colorants azoïques. En 2004, cette même équipe a pu caractériser l'activité enzymatique responsable de la dégradation des colorants azoïques chez *Issatchenkia occidentalis* et présenter un an plus tard le système enzymatique d'azoréduction impliqué dans un travail avec Saccharomyces cerevisiae [41].

II.2.4.4Dégradation des colorants par les bactéries :

Les bactéries se sont révélées plus efficaces que les autres microorganismes [40], De nombreuses études ont montré la capacité des bactéries à dégrader les colorants. Contrairement aux champignons et aux actinomycètes, qui dégradent les colorants par voie

extracellulaire (implication des LiP, MnP, etc...), les bactéries agissent plutôt par voie intracellulaire. L'action décolorante dépendent alors non seulement de l'activité enzymatique cytoplasmique mais aussi de la filtration des molécules à travers la membrane cellulaire [44]

Ainsi, plusieurs chercheurs ont prouvé que les cellules de *Kocuriarosea*ont le potentiel de décolorer les colorants azoïques, triphénylméthane et d'autres colorants industriels tels que le vert de malachite, l'orange méthylique, le bleu réactif 25 et le bleu direct 6 , [47] Ces derniers sont dégradés par les bactéries grâce à certains enzymes comme l'azoéductase. Cette enzyme permet en premier lieu le clivage de la liaison azoïque et en seconde lieu l'oxydation des amines aromatiques formés.

Les avantages que présente ce genre de traitement sont résumés dans le fait qu'il est bon marché, que les coûts de fonctionnement sont bas et que les produits finaux obtenus suite à la minéralisation complète du colorant ne sont pas toxiques. Certaines souches échappent cependant à cette condition d'anaérobiose et sont capables de réduire les colorants azoïques en présence d'oxygène. On distingue alors deux catégories de bactéries décolorantes selon leur comportement vis-à-vis de l'oxygène : aérobie et anaérobie [44].

II.2.4.5 Traitement aérobie :

Les polluants sont décomposés dans une unité biologique constituée d'un bassin de boue activée par des bactéries aérobies et autres microorganismes en une boue qui sédimente. Dans le cas idéal, les polluants organiques sont oxydés jusqu'au dioxyde de carbone. Après épuration la boue est séparée des eaux usées par sédimentation dans un décanteur ; une partie est recyclée et le surplus est évacué après pressage ou centrifugation [39].

II.2.4.6Traitement anaérobie :

À l'inverse de la biodégradation aérobie, la digestion anaérobie des composés organiques s'effectue en l'absence d'oxygène et forme du dioxyde de carbone, du méthane et de l'eau. Les méthodes de biotraitement conventionnelles sont sans effet sur la plupart des Colorants synthétiques à cause de leur structure poly aromatique complexe et leur nature Réfractaire. Venceslau et al [43], ont estimé à seulement 10-20 % la réduction de la Coloration par les procédés biologiques [45].

II.3 CONCLUSION :

Les colorants utilisés dans diverses industries peuvent entraîner des effluents colorés nocifs pour l'environnement et la santé humaine. Il existe des méthodes de traitement de ces effluents comprenant des méthodes chimiques, physiques, physico-chimiques et biologiques. Chacune de ces méthodes est efficace et pratique.[46]

En particulier sur la dégradation des colorants par les bactéries sont intéressantes en raison de leur capacité à dégrader les colorants par voie intracellulaire et à produire des produits finaux non toxiques [44]. Cependant, certaines bactéries peuvent nécessiter des conditions anaérobies pour dégrader les colorants, ce qui peut être un défi pour leur utilisation dans des applications pratiques. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour optimiser les conditions de dégradation et améliorer l'efficacité de ces méthodes biologiques.

PARTIE EXPERIMENTALE :

CHAPITRE III :
MATERIEL ET METHODE

III.1. INTRODUCTION :

La dégradation des colorants est un sujet d'intérêt croissant en raison de leur impact néfaste sur l'environnement et la santé publique. L'un des colorants les plus couramment utilisés dans l'industrie est le Bleu de Méthylène, utilisé dans diverses applications, y compris la teinture et l'impression. Cependant, son utilisation peut entraîner une contamination de l'eau et des problèmes de santé pour les organismes aquatiques et les humains. Par conséquent, il est important de trouver des méthodes efficaces pour éliminer le bleu de méthylène présent dans l'eau.

Dans ce chapitre, notre étude est focalisée sur la biodégradation du BM par la bactérie *Pseudomonas sp(aeroginosa*) . Nous présenterons la procédure expérimentale détaillée pour la dégradation du colorant BM ainsi que le matériel et les méthodes utilisés pour la culture bactérienne, la préparation de la solution du BM et sa dégradation.

III.2 METHODOLOGIE EXPERIMENTALE :

III.2.1 Principe :

Le principe de cette étude, consiste en l'utilisation de la bactérie *Pseudomonas sp* pour dégrader le colorant BM en produits non toxiques suivant plusieurs étapes :

- La cultivation des bactéries en utilisant un matériel et des méthodes spécifiques.
- Préparer d'une solution de bleu de méthylène en suivant des instructions et des mesures précises.
- L'ajout des bactéries à la solution de bleu de méthylène pour commencer le processus de dégradation.

Les expériences ont été effectuées au niveau des laboratoires de microbiologie et chimie de l'hôpital et celui de chimie à l'université Yahia Fares de Médéa.

III.2.2Réactifs chimiques utilisés :

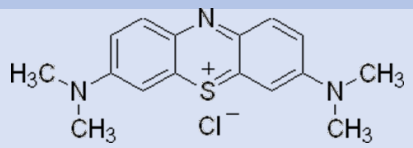
Le tableau III.1 répertorie les réactifs et produits chimiques utilisés pour réaliser les expériences..

Tableau III.1 : réactifs chimiques utilisés.

N°	Réactifs	Formule chimique	Fournisseur
1	Bleu de méthylène	$C_{16}H_{18}ClN_3S$	SIGMA-ALDRICH
2	Bouillon nutritif	\	CONDA
3	Chlorure d'hydrogène	Hcl	CHEM-LAB NV
4	Hydroxyde de sodium	NaOH	SIGMA-ALDRICH
5	L'amidon	$H-[C_6H_{10}O_5]n-OH$	CHEM-LAB NV
6	Glucose	$C_6H_{12}O_6$	SIGMA-ALDRICH
7	Sulfate d'ammonium	$(NH_4)_2SO_4$	BIOCHEM chempharma
8	chlorrure d'ammonium	NH_4Cl	BIOCHEM chempharma

Le **bleu de méthylène** est un composé organique dont le nom en nomenclature systématique est 3,7-bis-phenazathionium, soluble dans l'eau et plus légèrement dans l'alcool. Le bleu de méthylène est un dérivé azoté, c'est le plus couramment utilisé dans la teinture du coton, du bois et de la soie, il se présente sous forme d'une poudre cristalline d'un bleu foncé. Ses caractéristiques sont regroupées dans le tableau III.2:

Tableau III.2: les caractéristiques du colorant BM.[31]

Nom du colorant	Bleu de méthylène
Nom chimique	Chlorure de 3,7- bis (diméthylamino) Phénazathionium
Structure chimique	
Masse molaire (g/mol)	319.85 g\mol
Formule brute	$C_{16}H_{18}ClN_3S$
Origine et famille	Colorant basique
Solubilité dans l'eauà 20°C, (g/L)	40
λmax(nm)	664

III.3 MATERIEL UTILISER :

- Le matériel utilisé dans ce travail :

Pipette	Pissette	Barreau magnétique	Agitateur
Fiole jaugée	Seringue	Spatule	Bécher
Eprouvette gradué	Entonnoir	Micropipette	Boite de pétri stérile
Flacons stériles	Bec bunsen	L'anse de platine	Erlenmeyer

III.4 DESCRIPTION DES APPAREILLAGES

- **Le pH mètre**

Pour mesurer le pH des solutions du colorant, nous avons utilisé un pH-mètre de marque JENWAY 3305. Avant l'utilisation du pH mètre, nous avons étalonné l'appareil par Cinq solutions tampons de pH=4, pH=6, pH=7, pH=10 et pH=12 . Le pH des solutions du bleu de méthylène a été ajusté en ajoutant du NaOHou du HCl. Cette étude nous a permis d'étudier l'effet du pH sur la décoloration.



FigureIII.1 : pH mètre (JENWAY 3305)

- **Balance électronique :**

La balance électrique utilisée pour mesurer les masses.



Figure III.2 : Balance électrique

- **L'autoclave :**

Un autoclave est un récipient hermétique utilisé pour stériliser des matériaux en augmentant la pression pour atteindre une température de stérilisation efficace grâce à la vapeur d'eau. Il est couramment utilisé dans les milieux médicaux, les laboratoires et d'autres endroits pour assurer la stérilité des objets.



FigureIII.3 : autoclave (OT O12 NUVE)

- **L'incubateur :** Cet appareil a été réglé à une température de 30 et une à une vitesse d'agitation de 150 tours/min.



Figure III .4: incubateur ([SI500] STUART)

- **Spectrophotométrie UV-visible** :

L'évolution de la décoloration du bleu de méthylène a été suivie au moyen d'un spectrophotomètre UV/Vis et ce par la détermination des absorbance se ou des densités optiques des solutions Il s'agit d'une méthode d'analyse quantitative. Elle permet de déterminer la quantité de lumière absorbée, proportionnelle à la concentration de cette substance, comme le prévoit la loi de Beer-Lambert.

Avec : $A=\ln \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot L \cdot C$ .....(1)

- A : l'absorbance,
- Ɛ : absorptivité molaire ou coefficient d'absorption,
- L : longueur de la cuve
- C : concentration
- Io : l'intensité du faisceau lumineux monochromatique incident

et I l'intensité du faisceau lumineux émergent.

Pour évaluer le pourcentage de dégradation et la quantité de bleu de méthylène adsorbée à un moment donné, on applique la formule suivante :

$\%D$=[$(DO\ i - DO\ f\ )\backslash\ DO\ i\ ]\times 100$ …… (2)

- DO i : Absorbance initiale à la longueur d'onde maximale du colorant.
- DO f : Absorbance finale après incubation à la longueur d'onde maximale du colorant
-%D : Pourcentage de décoloration après un temps donné.



FigureIII.5 : Spectrophotométrie UV-vis

III.5 MICROORGANISMES ET MILIEU DE CULTURE :

La bactérie utilisée dans cette étude est une souche identifier utilisée pour le contrôle des disques d'antibiotiques. Elle a été fournie par l'hôpital de Médéa. Les bactéries ont été cultivées dans un bouillon nutritif constitué de (eau distillée, 8g\L de (LB)) bien mélangé jusqu'à dissolution complète, pendant 24 heures à une température de 30°C.

III.5.1 Pseudomonas Aeruginosa :

Pseudomonas Aeruginosa est une bactérie de la famille des *Pseudomonadaceae* en forme de bâtonnet, aérobie stricte, Gram négatif, cytochrome-oxydase positive, mobile par cils polaires produisant les pigments de fluorescéine et de pyocyanine. Cette bactérie métabolise une grande variété de composés organiques et est résistante à plusieurs antibiotiques et désinfectants. Elle est très répandue dans l'environnement. On la retrouve dans les eaux, la végétation et le sol. Elle résiste assez bien à des températures élevées. [40]

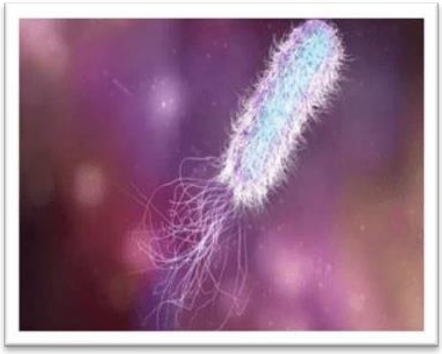


Figure III.6 :*Pseudomonas Aeruginosa*[40].

III..5.2 Préparation du bouillon nutritif :

Les bactéries ont été cultivées dans un bouillon nutritif qui constitué (l'eau distillée ,8g\Lde (LB) bien mélangée jusqu'à dissolution complète) puis la stérilisation du bouillon à l'autoclave à 120°C pendant 30minutes.



Figure III.7 : Préparation du milieu (LB)

III.5.3. Préparation des précultures

Les souches bactériennes isolées ont été inoculées dans 20 mL de bouillon nutritif BN (préparé à partir d'eau, de peptone et d'extrait de levure), puis incubées pendant 24 heures à une température de 30°C.



Figure III.8 : Identification de la bactérie utilisée (*Pseudomonas Aeruginosa*)

III.6 DEGRADATION DES COLORANTS :

La capacité des bactéries à dégrader les colorants a été testée dans différentes conditionsphysico-chimiques telles que la concentration initiale du colorant, le pH, la concentration de la souche bactérienne et l'effet des sources de carbone et d'azote sur la décoloration du BM.

III.6.1 Influence de la concentration initiale sur la dégradation du BM :

L'effet des concentrations initiales de colorant a été étudié en faisant varier la concentration initiale entre 1mg/L et 20 mg/L, en introduisant les précultures obtenues avec 1% de colorant et un pH de 7. Les cultures ont été incubées pendant 72h à une température de 30°C et une agitation de 150 tours\min.

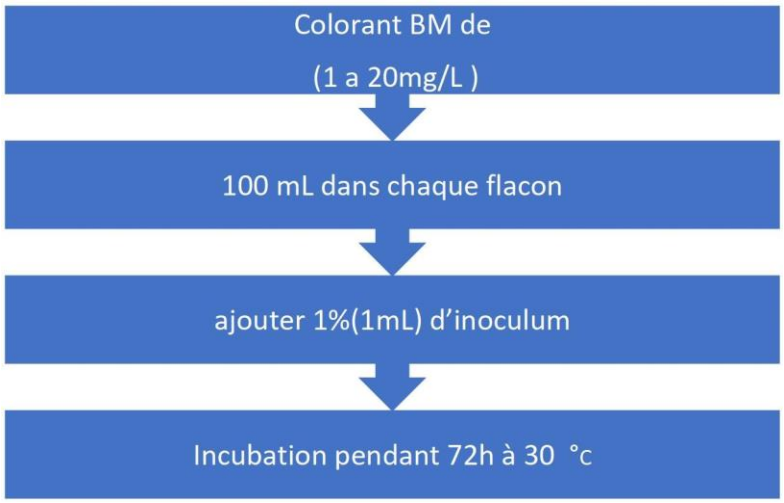
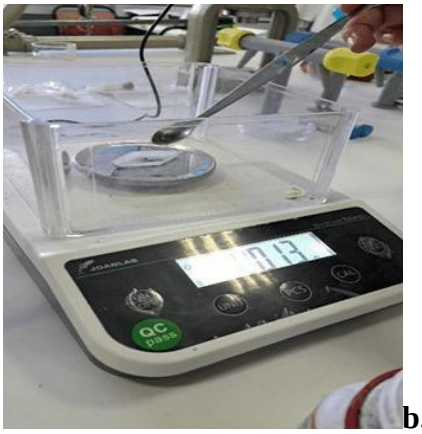
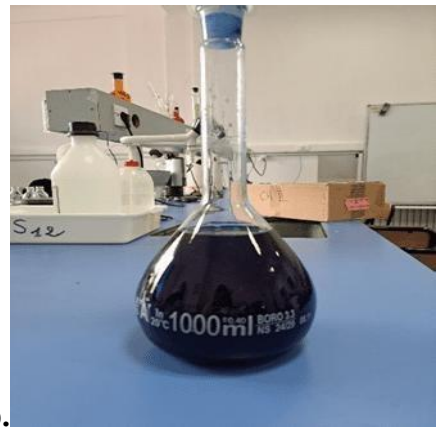


Figure III.9 : les étapes de biodégradation du BM en fonction de la concentration initiale.

Manipulation effectuée pour tester l'effet de la concentration du BM :

a. 

b. 

d. 

c. 

Figure III.10 : Effet de la concentration initiale du BM.

(a- pesage du BM, b-solution BM, c-inoculation de la souche, d-incubation des flacons.)

III.6.2 Influence du pH sur la dégradation du bleu de Méthylène :

L'influence du pH sur l'élimination du BM a été étudiée sur une gamme de pH de 4 à 12, à une température d'incubation de 30°C et à une concentration initiale de 15 mg/L. Les cultures ont été incubées à 30°C dans un agitateur à 150 tours/min. Le pH a été ajusté par l'ajout d'une solution du NaOH (0,1 M) ou du Hcl (0,1 M)

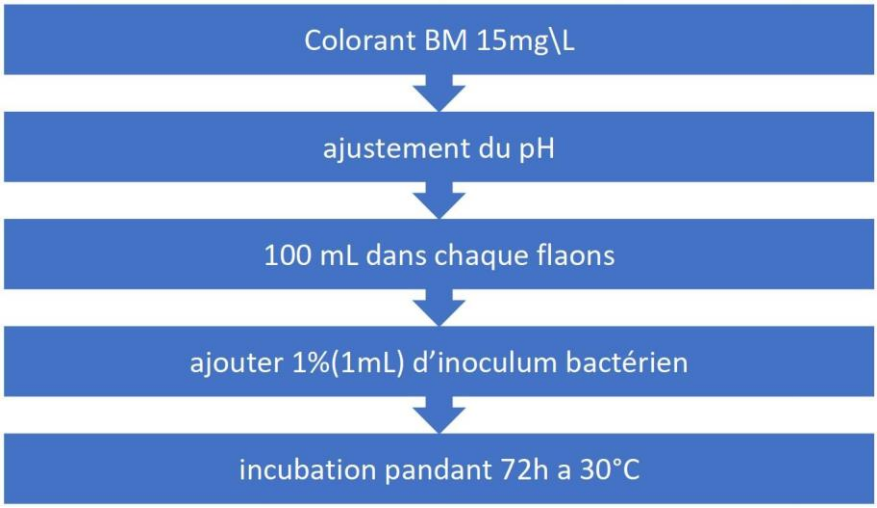


Figure III.11 : Etapes de biodégradation de BM en fonction de pH.

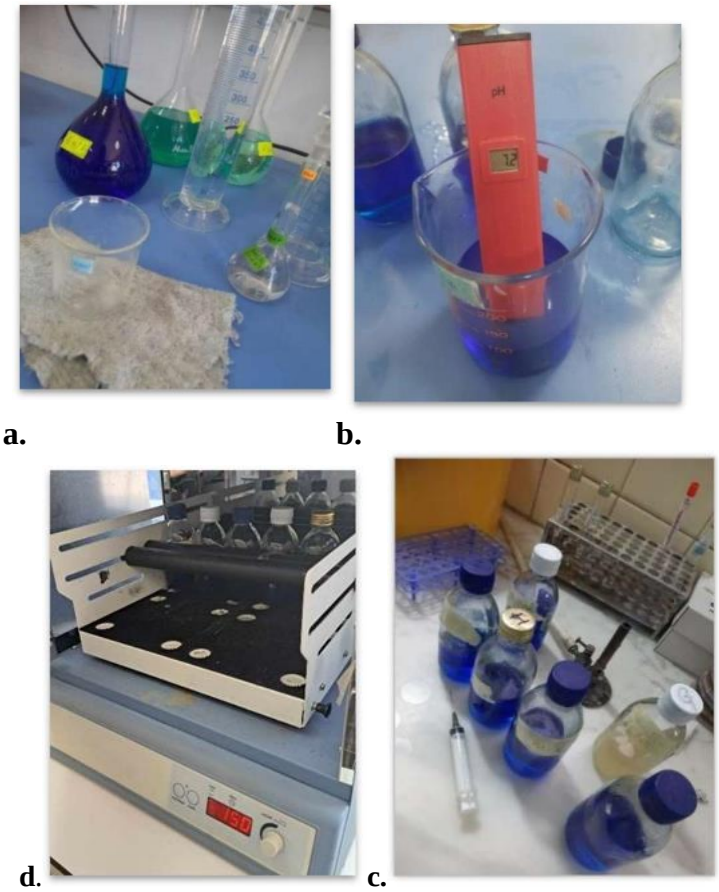


Figure III.12 : les manipulations du l'effet du pH sur la dégradation de BM. (a\b-ajustant du pH ,c-inocultion de la souche,d- incubation)

III.6.3 Influence de la concentration de la souche sur la dégradation du BM :

L'influence de la concentration de la souche sur l'élimination de la BM a été étudiée sur un intervalle de concentration de 1% à 5% et un pH 10 à une température d'incubation de 30°Cet à une vitesse d'agitation de 150 tr\minet une concentration initiale de 15 mg/L.

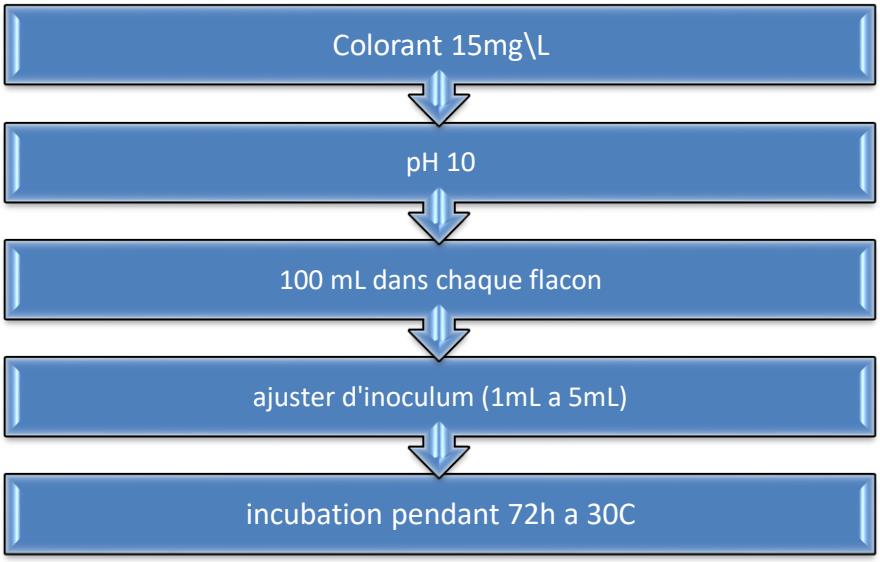


Figure III.13 :Etapes de dégradation de BM en fonction de a concentration de l'inoculum

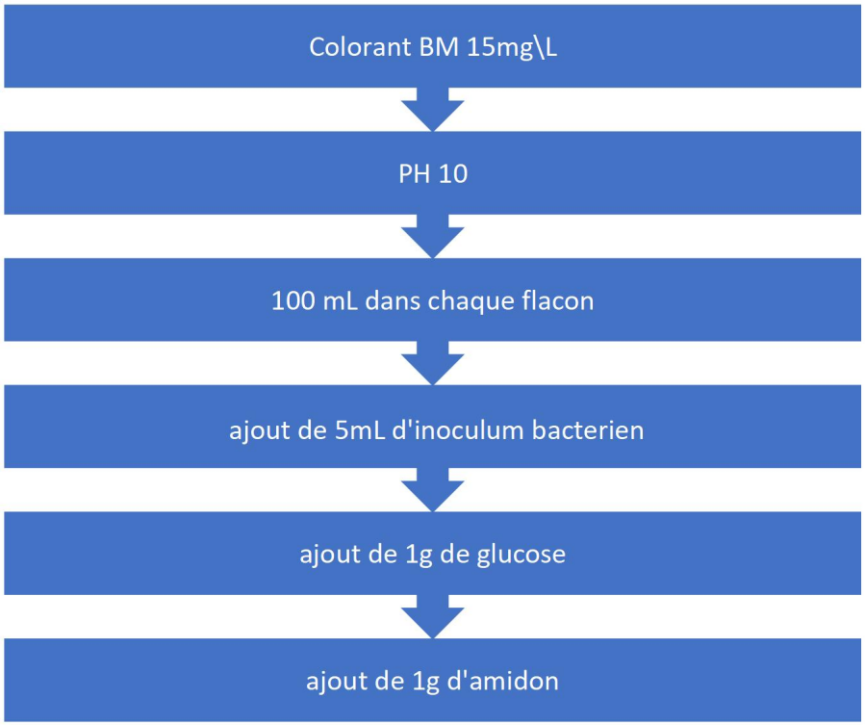
.



Figure III.14: incubation des flacons

III.6.4 Influence de la source de carbone sur la dégradation du BM

L'effet de la source de carbone a été déterminé en ajoutant 1g de glucose ou d'amidon comme source de carbone à des solutions du BM de concentration de 15mg/L à pH10, à une température d'incubation de 30°Cet à une vitesse d'agitation de 150 tr\min.



FigureIII.15: les étapes de dégradation de BM en fonction de la source de carbone.

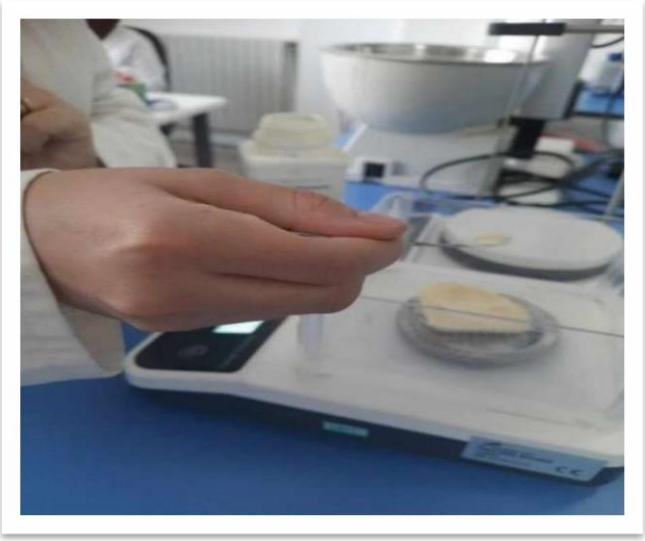


Figure III.16 : Pesage des réactifs (glucose, amidon).

III.6.5 Influence de l'ajout de la source d'azote sur la dégradation des colorants :

L'effet de la source d'azote a été déterminé en ajoutant 1g de sulfate d'ammonium aux solutions du BM de concentration de 15mg/L à pH10, à une température d'incubation de 30°Cet à une vitesse d'agitation de 150 tr\min.

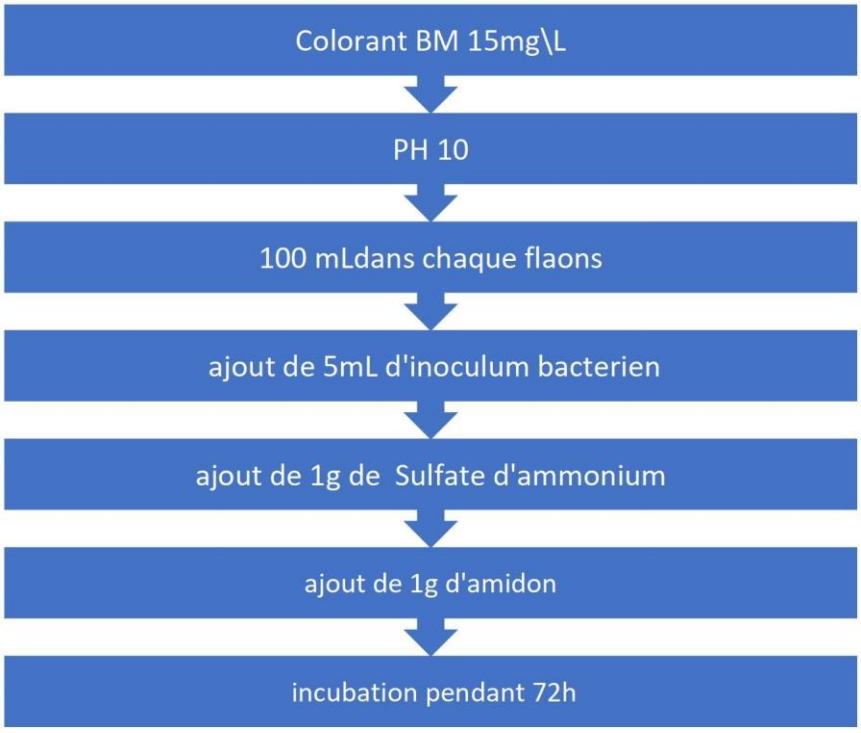


Figure III.17 :les étapes de la dégradation du BM en fonction de la source d'azote.

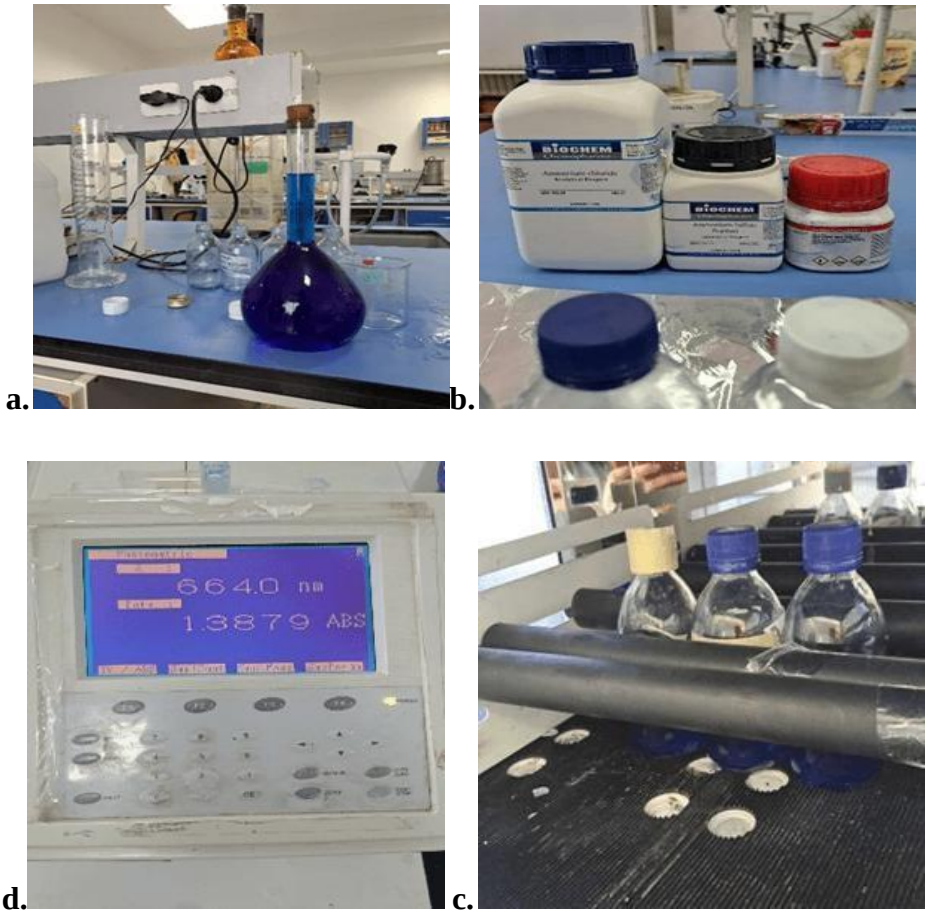


Figure III.18 : Ajout de la source d'azote. (a-préparation du solution BM ,b-l 'ajout des réactifs, c-incubation des flacon C- les manipulation sur UV)

CHAPITRE IV:

RESULTATS ET DISCUSSION

IV.1 ELIMINATION DU BM PAR LA BACTERIE PA :

Dans cette partie du travail, nous avons examiné les caractéristiques de la dégradation du bleu de méthylène par la bactérie Pseudomonas aeruginosa ; dans le laboratoire de chimie Département des sciences technologiques, Université YAHIA FARES de Médéa et le laboratoire de microbiologie et chimie de l'hôpital de Médéa, lieu où nous avons réalisé notre stage et où nous avons obtenu la bactérie PA ; une souche modifiée génétiquement utilisée pour contrôler les disques d'antibiotique extraits d'êtres humains.

IV.1.1 Influence de la concentration initiale sur la dégradation du BM :

Pour cette étude , différentes quantités de BM allant de 1mg\l à 20mg\l, dans des flacons d'incubation avec un pH de 7 et une température de 30°C. Ensuite, nous avons ajouté 1% (1ml)d'inoculum bactérien dans chaque flacon. Les résultats expérimentaux sont présentés dans les illustrations suivantes :

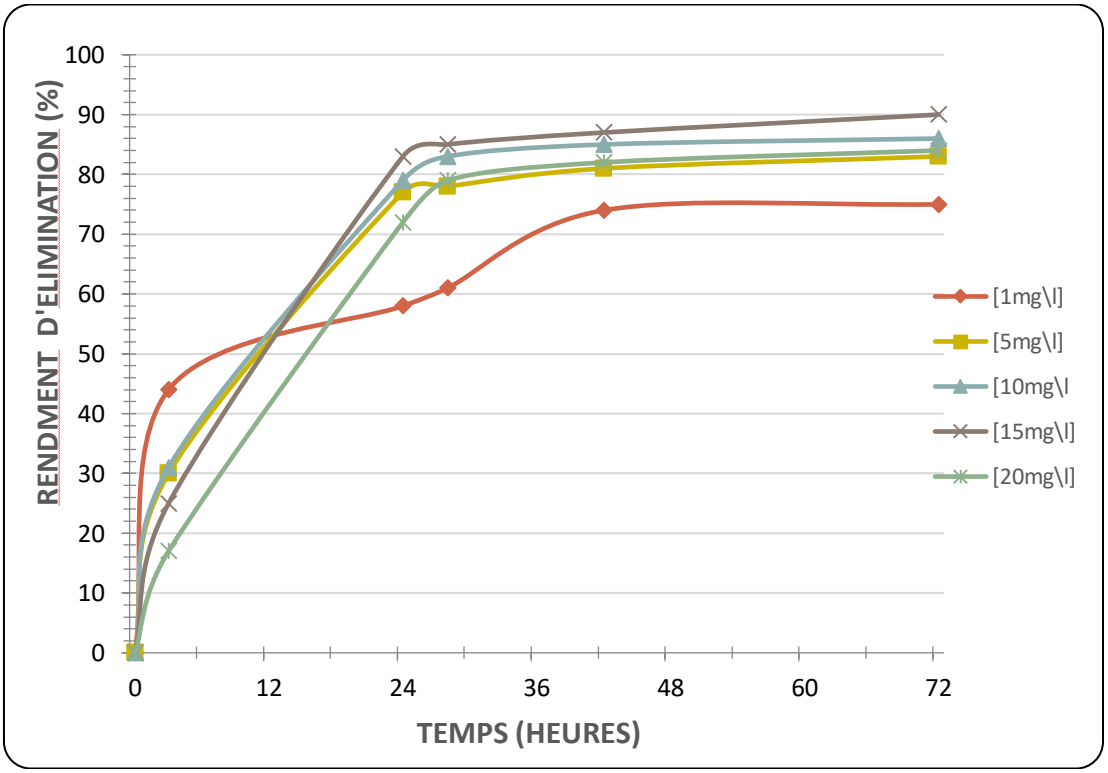
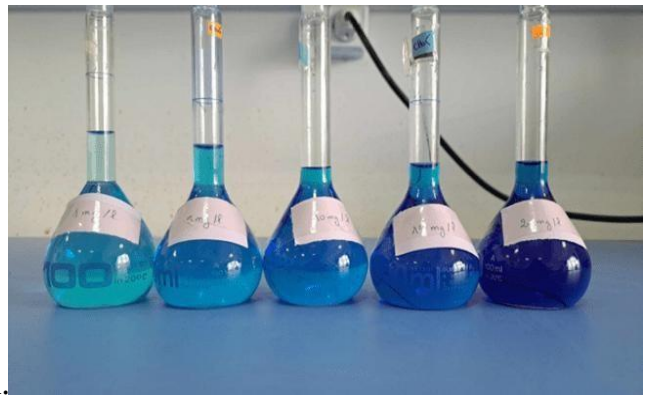


Figure IV.1 : Effet de la concentration initiale du BM sur la dégradation (T=30°C ,pH7).

L’évolution du taux de dégradation du bleu de méthylène par la bactérie PA à Différentes concentrations du BM est illustré sur la figure IV.1 (1mg/L, 5 mg/L, 10 mg/L,15 mg/L, 20 mg/L). Ceci montre que la dégradation du BM est rapide pendant les premières 24H puis un ralentissement pour des temps plus longs, (72h) une élimination maximale d’environ 90% duBM a été obtenue à une concentration initiale de 15mg/L Ce résultat est en accord avec celuitrouvé par Zhang et al. (2019), qui ont également observé une augmentation de la concentration du BM conduisait à un pourcentage d’élimination plus élevé du bleu de méthylène.[48]

Ce résultat suggère que la bactérie Pseudomonas possède la capacité de dégrader le bleu deméthylène à une concentration de 15mg /L. Par conséquent, iI est recommandé d’utiliser cerésultat pour développer des stratégies de bioremédiation visant à traiter les effluents industriels.

a.



b.

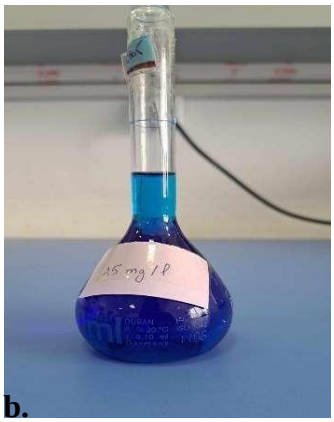


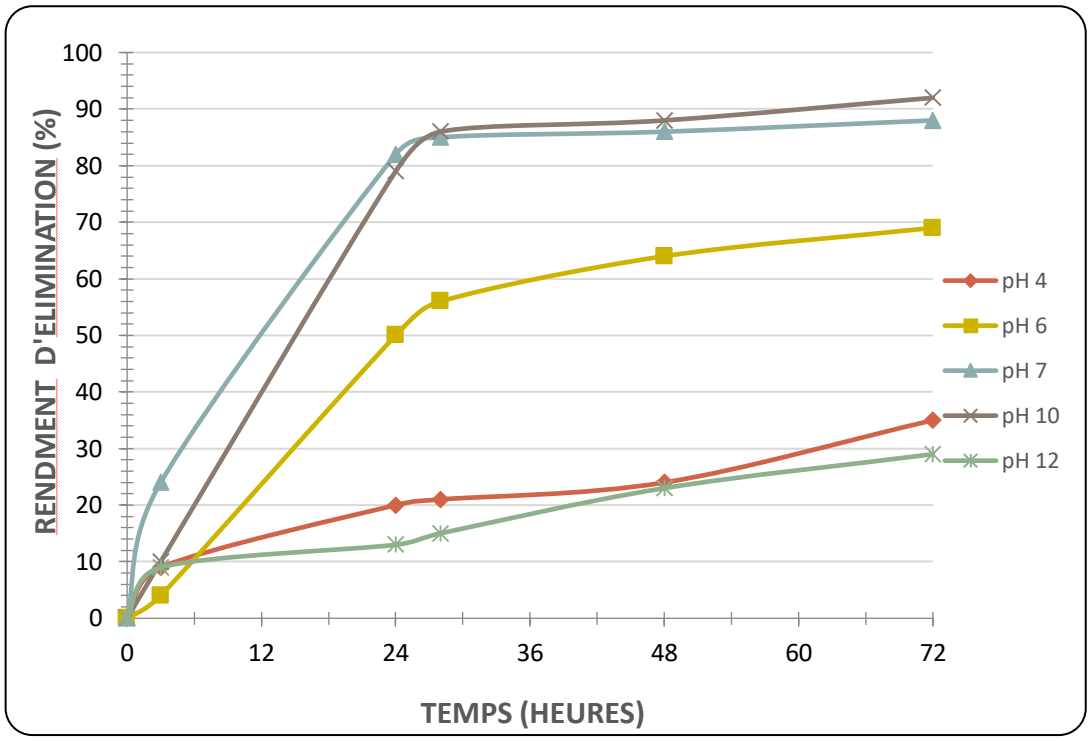


Figure IV.2: Effet de la concentration initiale du BM sur sa dégradation (a-les fioles aprèsl'incubation , b- avant l'incubation de 15mg\l, c- après l'incubation de 15mg\l).

IV.1.2. Influence du pH:

L'objectif de cette étude visait à évaluer l'influence du pH sur la capacité de dégradation du bleu de méthylène par la bactérie Pseudomonas en ajoutant dans chaque fiole 1% (1 mL) d'inoculum bactérien et en faisant varier le pH de 4 à 12 en utilisant du NaOH (0,1N) ou du HCl (0,1N) pour ajuster le pH.

Il est important de noter que les conditions expérimentales optimales, telles que la Concentration initiale du BM (15 mg/L), la durée incubation (72 heures) et la température(30°C), ont été maintenues constantes tout au long de cette expérience. Cela permettra une analyse plus approfondie des résultats obtenus et une meilleure compréhension de l'effet du pH sur la dégradation du bleu de méthylène par la bactérie PA.



.

FigureIV.3: Effet du pH sur la dégradation de bleu de méthylène à différents Ph

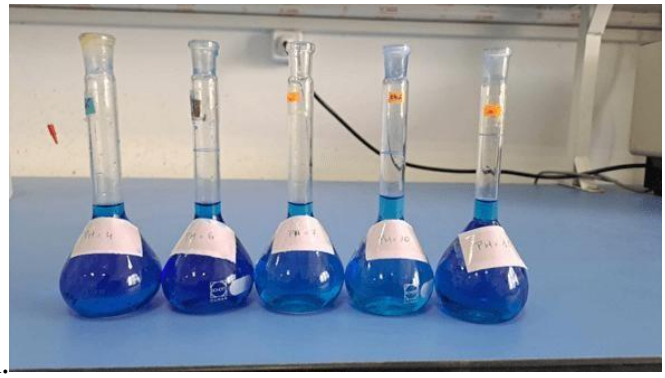
Cette figure présente l'influence du pH sur la dégradation du bleu de méthylène par la bactériePA pour une concentration initiale de 15 mg/l et une température de 30°C. Le graphique montre le pourcentage de bleu de méthylène éliminé au fil du temps à différents niveaux de pH. Ces résultats montrent que le taux de dégradation est plus élevé a un pH de10 a(92%) après 72h d'incubation.

A un pH égal à 12, la dégradation bactérienne du bleu de méthylène est faible, avec 29% d'élimination après 72 heures, Quand le pH égal à (pH 4 et pH12) le taux d'élimination du BM est faible , avec une élimination d'environ 30 % après 72 heure À pH 7 et 10, on observe

une augmentation significative de la dégradation du BM , avec 88 % et 92% d'élimination, respectivement, après 72 heures d'incubation. Le pH optimal pour la dégradation bactérienne du BM semble se situer autour de 10, avec environ 90 % d'élimination après 72 heures, Cela peut nous aider à conclure que la bactérie utilisée préfère le milieu neutre ou légèrement basique pour dégrader le BM, sachant que nous avons opté pour un pH égal à 10 dans cette étude même si les pourcentages d'élimination de pH7 sont presque identiques.

Ces résultats sont confirmés par plusieurs chercheurs qui ont montré que le pH optimal pour la décoloration est souvent compris entre 5,10et Selon Saratale et al., (2011) le pH optimal pour l'enlèvement de BM est souvent entre 5 et 10 [50,51]

Dans l'ensemble, cette figure met en évidence l'importance du pH dans la dégradation bactérienne du bleu de méthylène et suggère que la bactérie Pseudomonas est capable de dégrader efficacement le bleu de méthylène à des niveaux de pH neutres à légèrement alcalins.

a.

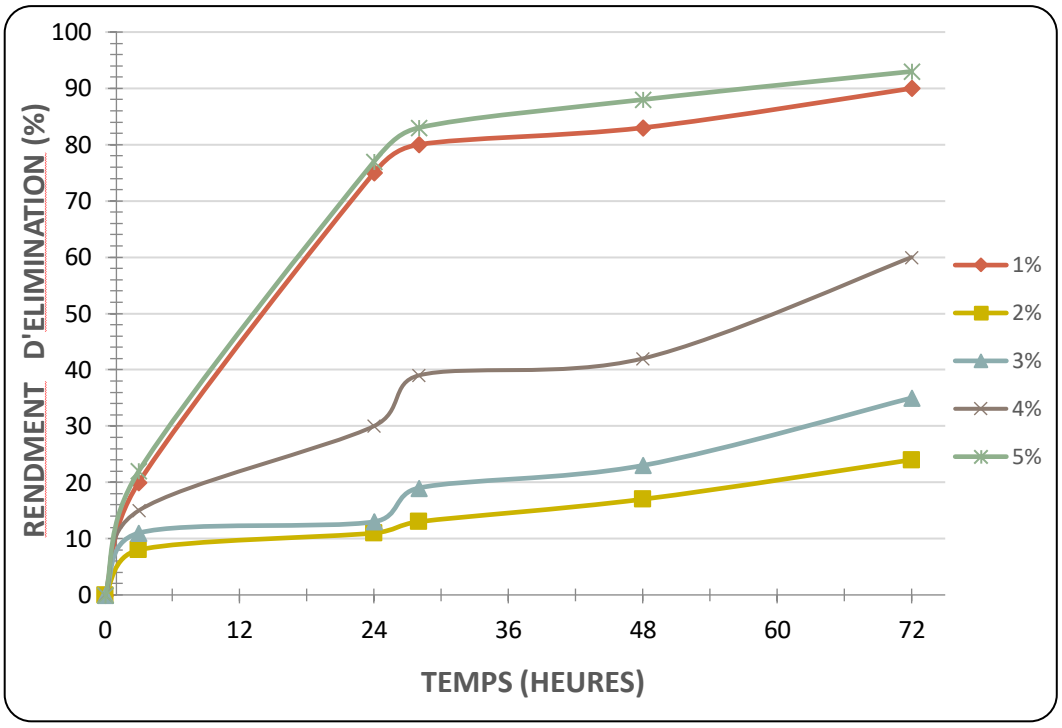
b.

c.

FigureIV.4 : Effet du pH sur la dégradation du BM (a- les fiole après l'incubation ,-b avant l'incubation de pH10, c- après l'incubation de ph 10)

IV.1.3. Influence de la concentration de la souche sur la dégradation du BM:

La figure IV.5représente les résultats permettant d'évaluer l'effet du pourcentage d'inoculum bactérien allant de 1% à 5% sur la dégradation du BM par la bactérie PA .Les conditions expérimentales optimales, telles que la concentration initiale de BM (15 mg/L), pH 10, la durée d'incubation (72 heures) et la température (30°C), ont été maintenues constantes tout au long de cette expérience.



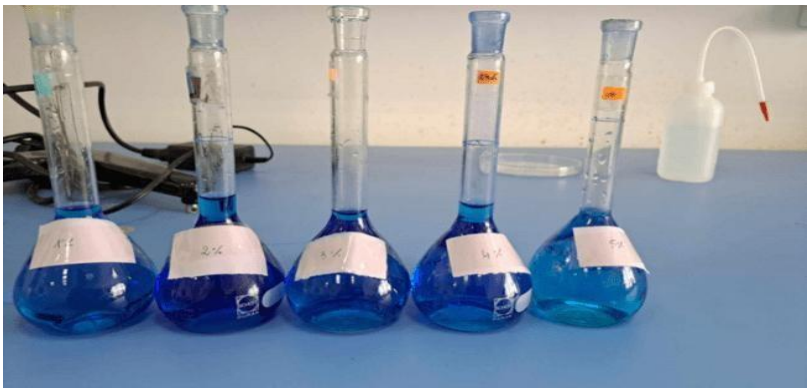
FigureIV.5 : Effet de la concentration de la souche bactérienne sur la dégradation de bleu de méthylène.

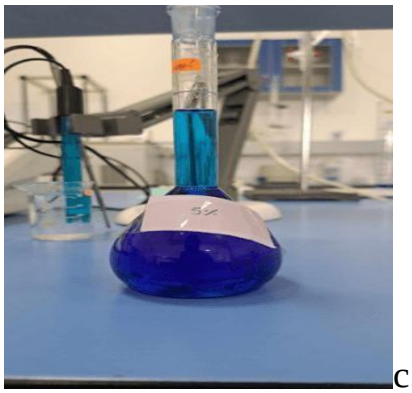
A la lumière des résultats trouvés, l'augmentation du pourcentage d'inoculum bactérien ait un effet positif sur la dégradation du BM. Un plus grand nombre de bactéries peut augmenter l'efficacité de dégradation et potentiellement améliorer le pourcentage d'élimination du BM. Il est à noter que le pourcentage maximal d'élimination atteignant environ 93 % a été obtenu lorsque la concentration de la souche bactérienne était de 5 %;. Une légère diminution du pourcentage d'élimination a été observée pour de faibles pourcentages d'inoculum bactérien.

Par ailleurs ; pour 4% et 2% d'inoculum bactérien, les taux d'élimination du BM étaient de 60%, et 24% après 72 heures. Cela peut être attribué à divers facteurs, tels que des modifications de l'activité métabolique de la souche bactérienne ou une faible disponibilité en oxygène, pouvant affecter négativement la dégradation du bleu de méthylène. Ces résultats sont en accord avec une étude publiée dans le (Journal of Environmental Management),[47] qui ont constaté que 95 % du BM ont été dégradés à l'aide d'une souche Bacillus cereus dans des conditions optimales (concentration initiale de 10mg\L , pH7, T=30°C).[44]

De plus, les résultats trouvés dans cette étude sont en parfaite accord avec les travaux réalisés par Chen et Wang, [49] qui ont constaté que l'efficacité de décoloration du bleu de méthylène augmentait avec le pourcentage d'inoculation de la bactérie (4-5%)

Il est important de souligner que des études supplémentaires, y compris des répétitions expérimentales et des analyses statistiques, peuvent confirmer ces observations et évaluer plus précisément l'effet du pourcentage d'inoculum bactérien sur la dégradation du BM.

a. 

b. 

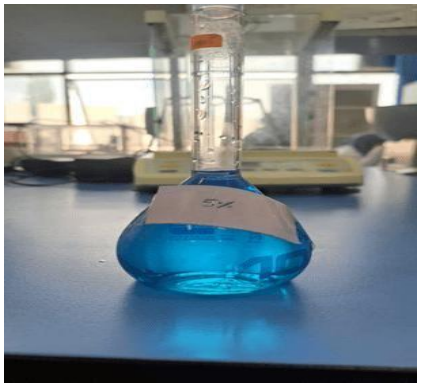
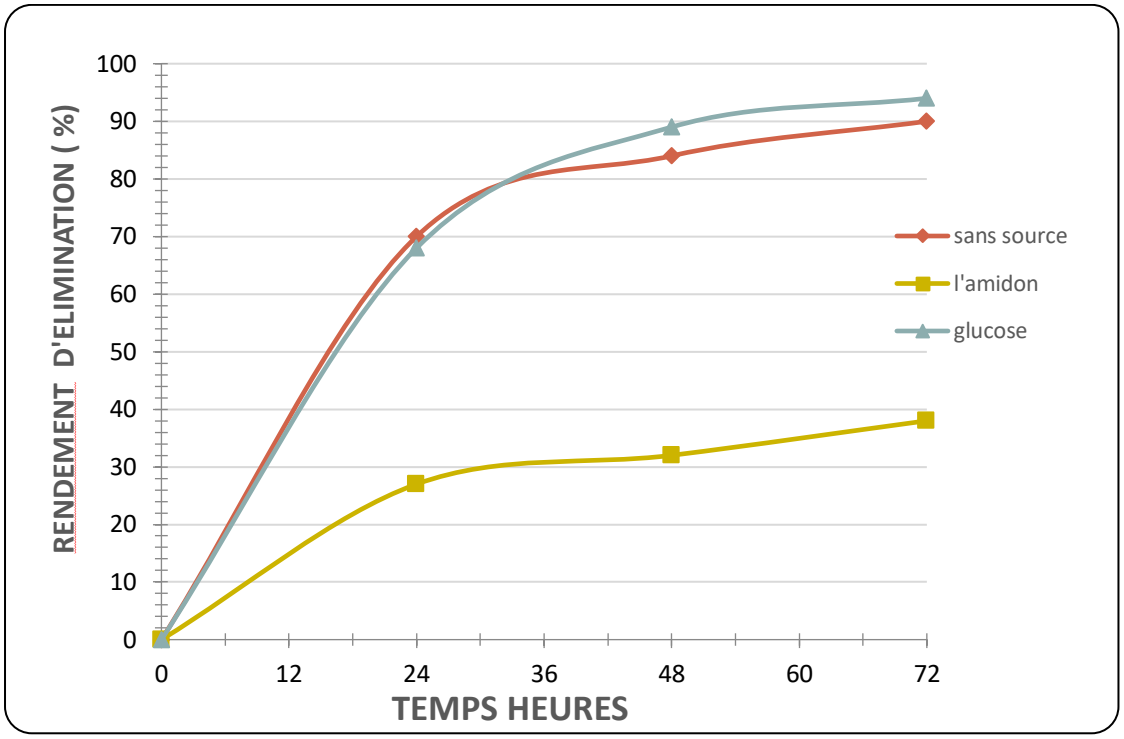
c. 

Figure IV.6: Effet de la concentration d'inoculum bactérien sur la dégradation du BM.(a- les fiole aspres l'incubation , b- avant l'incubation de 5% d'inoculum ,c- après l'incubation de 5% d'inoculum)

IV.1.4 Influence de la source de carbone sur la dégradation du BM :

Pour cette étude, deux sources de carbone en l'occurrence l'amidon et le glucose ont été testées en tant que source de carbone qui peut fournir une source d'énergie supplémentaire pour les bactéries, ce qui peut augmenter leur activité métabolique et leur capacité à dégrader le BM de manière plus efficace. Les conditions opératoires (pourcentage d'inoculum 5%, température30°C, pH 10 concentration initiale du BM 15mg/L) ont été maintenues constantes tout au long des expériences



FigureIV.7: Effet de la source de carbone sur la dégradation de bleu de méthylène (T=30°C ,pH=10).

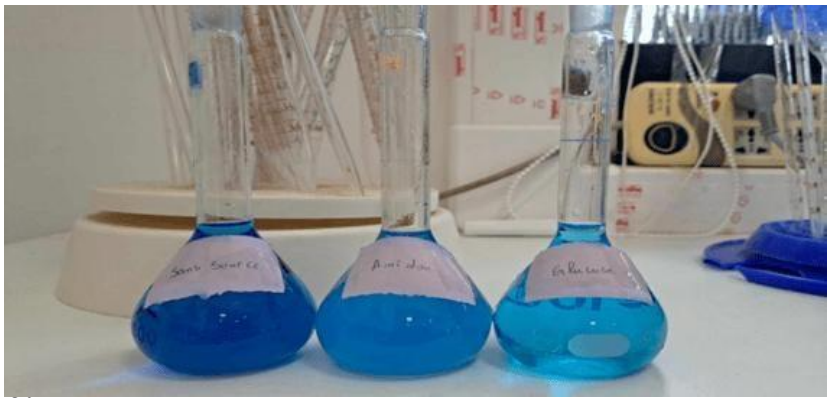
La figure montre l'influence de différentes sources de carbone sur la dégradation du bleu de méthylène par la bactérie PA, L'expérience a été réalisée avec une concentration initiale de 15mg/l de bleu de méthylène, une température de 30°C et un pH de 10 et l'ajout de 5% d'inoculum bactérien PA ,Le graphique suit le pourcentage d'élimination du BM en fonction du temps (heures) pour deux sources de carbone différentes (amidon, glucose), La figure montre que le choix de la source de carbone a un impact significatif sur la dégradation du bleu de méthylène par la bactérie. La dégradation de BM est plus efficace lorsque le glucose est utilisé comme source de carbone.

La bactérie est très efficace pour dégrader le bleu de méthylène lorsque le glucose est ajouté comme source de carbone, avec des pourcentages d'élimination atteignant 94%. En revanche,

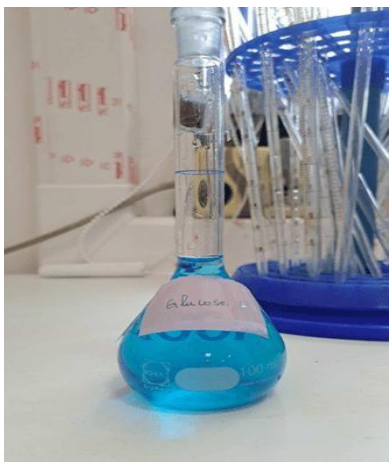
le pourcentage d'élimination est beaucoup plus faible lorsque de l'amidon est utilisé,dépassant à peine 30 %.

L'illustration laisse entendre que le processus de dégradation de BM est plus stable avec l'utilisation du glucose comme source de carbone, L'influence des sources de carbone sur la dégradation du bleu de méthylène est cohérente avec une étude de Wang et al. (2018) qui ontconstaté que le glucose était une source de carbone plus efficace que l'amidon pour la dégradation du bleu de méthylène [16].

Pour résumer, le choix de la source de carbone a un impact important sur l'efficacité et la stabilité de la dégradation du bleu de méthylène par la bactérie PA. Il semble que le glucose soit une source de carbone plus performante que l'amidon pour ce faire.



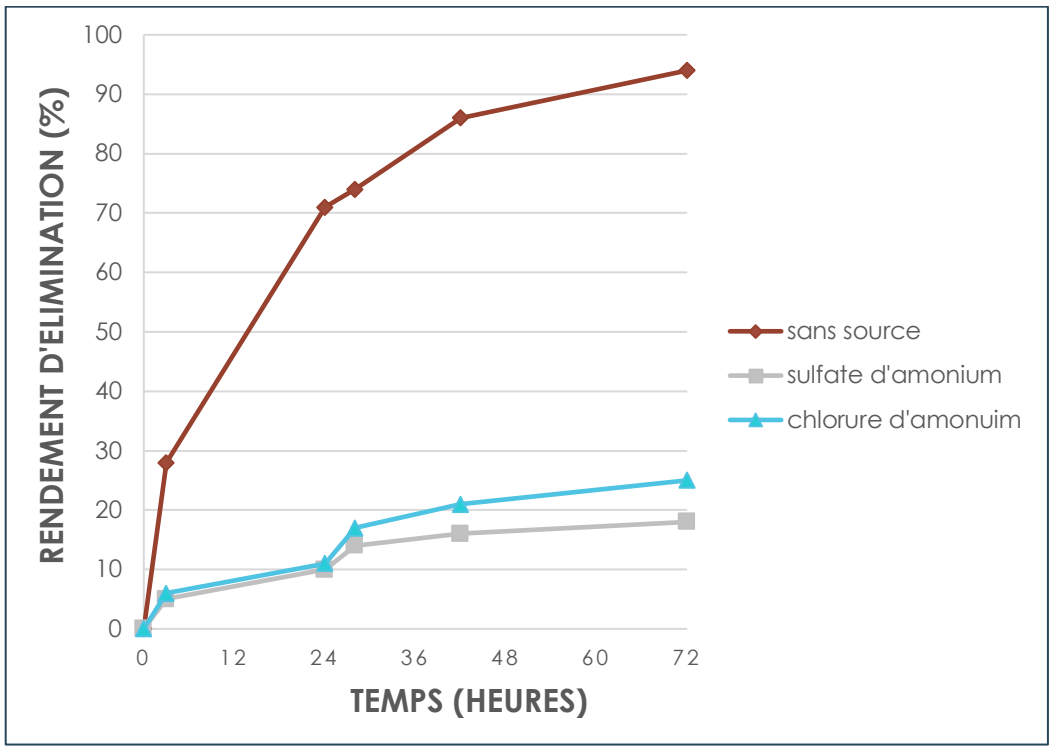
b. 

c. 

FigureIV.8 : Effet de la source de carbone sur la dégradation du BM (a- les fiole aspresl'incubation ,b- fiole avant l'incubation du glucose , c- après l'incubation du glucose)

IV.1.5 Influence de la source d'azote :

Dans cette étude, deux sources d'azote ont été testées en l'occurrence (chlorure d'ammonium et sulfate d'ammonium) dans le but de voir leurs influences sur la capacité d'élimination du BM par la bactérie Pseudomonas. Pour ce faire, toutes les conditions opératoires ont été maintenues constantes (15 mg\L de BM, pH 10 , 5 % d'inoculum bactérien du, glucose comme source de carbone, une température de 30°C et 72 h d'incubation,).



FigureIV.9: Effet de l'ajout d'une source d'azote (NH_4Cl , $(NH_4)_2SO_4$) sur la dégradation du bleu de méthylène. (T=30C, pH=10, 5% d'inoculum bactérien et glucose).

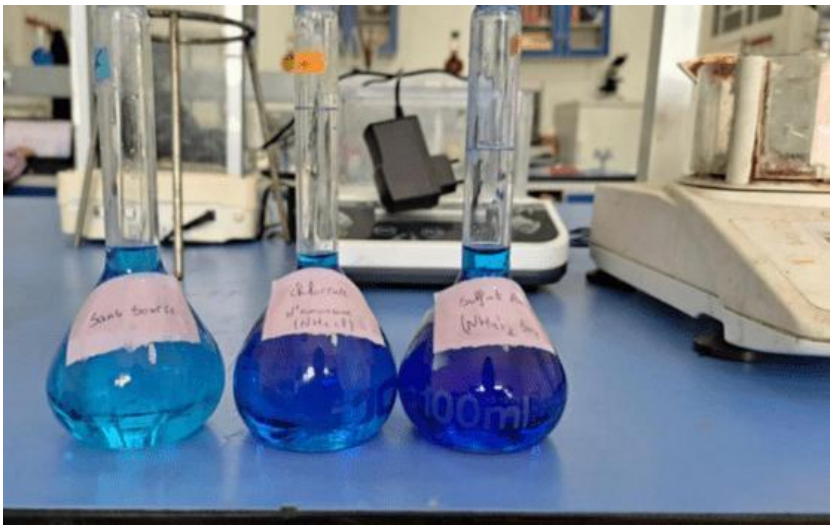
Le schéma montre comment les différentes sources d'azote affectent la décomposition du bleude méthylène.

On observe que la décoloration du BM par l'action de chlorure d'ammonium (NH_4Cl) se produit à un rythme plus élevé lorsqu'il n'y a pas d'autres sources présents jusqu'à un taux d'élimination de 25%, tandis que l'ammonium sulfate subit une décoloration régulière, maisplus lente que dans d'autres conditions a un taux d'élimination de 18% a 72heure d'incubation .

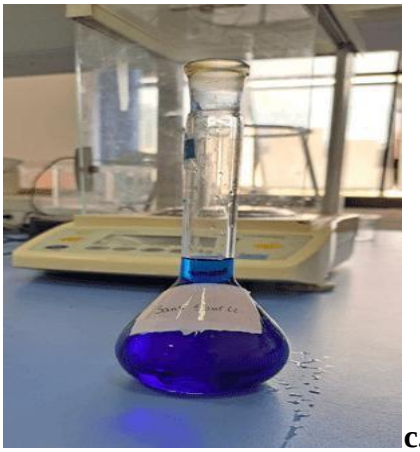
L'impact des sources d'azote sur la dégradation du BM par la bactérie pseudomonas diffère d'une étude de Li et al. (2019), qui ont constaté que le sulfate d'ammonium était la source d'azote la plus efficace pour la dégradation du BM par la bactérie pseudomonas [45] , tandis que notre étude a montré que l'absence de source d'azote lors de la dégradation de BM par labactérie *pseudomonas est* la condition la plus efficace a un taux d'élimination de 94%.

En ce qui concerne la dégradation du BM par la bactérie PA, ces études ont montré que la bactérie peut dégrader le bleu de méthylène sans l'ajout de sources d'azote supplémentaires. Cependant, certains facteurs peuvent influencer l'efficacité de la dégradation, tels que la concentration initiale de BM, le pH, la concentration d'inoculum bactérien et la présence d'autres nutriments comme l'ajout de source de carbone (le glucose)..

a.



b.



c.

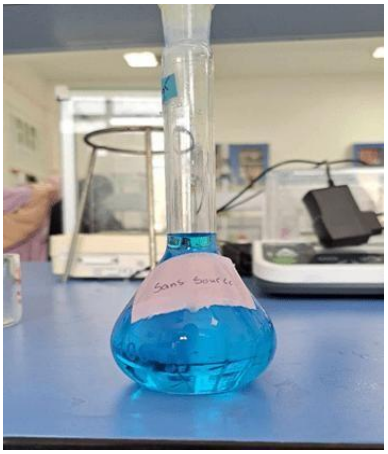


Figure IV.10 : : Effet de l'ajout d'une source d'azote (NH_4Cl , $(NH_4)_2SO_4$) sur la

Dégradation du bleu de méthylène. (a- les fioles après l'incubation ,b- avant l'incubation ,c- après l'incubation sans source <optimal>).

IV.2. CONCLUSION :

Notre travail qui a porté sur la décoloration du bleu de méthylène par la bactérie pseudomonas aeruginosa a eu plusieurs conditions et des essais pour des résultats satisfaisantes, on a constaté que :

- L'utilisation de la bactérie pseudomonas avec une concentration de 5% et un pH de 7 à10 pour 15mg\l de BM est efficace après 72 heures d'incubation, ce qui entraîne une élimination de bleu de méthylène d'environ 93%. Cela nous a permis de conclure que l'élimination était efficace.
- L'ajout de source de carbone (glucose) a joué un rôle essentiel dans l'amélioration de la biodégradation de BM par la bactérie Pseudomonas aeroginosa à la suite des conditions optimales : 15mg\l de BM, pH 10, 5% d'inoculum bactérien de Pseudomonas et l'ajout du glucose a entraîné une augmentation qui a conduit à une élimination de BM de 94%.

.

CONCLUSION GENERALE

La dégradation des colorants, notamment le bleu de méthylène, est un défi majeur dans le traitement des eaux usées et la protection de l'environnement. Cependant, les bactéries telles que la *Pseudomonas Aeruginosa* ont montré une grande efficacité dans la dégradation de ces polluants.

Les résultats de cette étude montrent que la concentration initiale, pH du colorant et la concentration de la souche bactérienne sont des facteurs clés qui influencent la dégradation du bleu de méthylène.

- En particulier, il a été démontré que le pH optimal pour la dégradation bactérienne du bleu de méthylène se situe autour de 10, avec une élimination maximale de 92% après 72 heures d'incubation.
- De plus, la concentration initiale du colorant a un bon impact sur la décoloration du BM dans lequel on a obtenu un pourcentage d'élimination très élevé 90%
  à c= 15mg/l
- D'autre part l'effet de la concentration de la souche bactérienne sur la dégradation du bleu de méthylène a été étudié, montrant que des concentrations plus élevée (5%) de la souche bactérienne augmentent l'efficacité de la dégradation, jusqu'à un pourcentage de 93% d'élimination.
- La bactérie est particulièrement efficace dans la dégradation du bleu de méthylène lorsque le glucose est ajouté comme source de carbone, avec des taux d'élimination allant jusqu'à 94% environ
- En fin ; Concernant la biodégradation du BM par la bactérie PA , les expériences ont démontré que la bactérie peut éliminer le bleu du BM sans l'utilisation de sources d'azote supplémentaires.

- Toutefois, il est possible que certains éléments influent sur l'efficacité de la dégradation, comme la concentration initiale de BM, le pH, la concentration d'inoculum bactérien et la présence d'autres nutriments tels que l'ajout d'une source de carbone (le glucose).

Ces résultats montrent que la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* est capable de dégrader efficacement le bleu de méthylène dans des conditions optimales, ce qui ouvre des perspectives pour l'utilisation de cette bactérie dans la bioremédiation des eaux usées et la protection de l'environnement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] Von der Ohe, P. C., Prüß, A., Schäfer, R. B., Liess, M., de Deckere, E. Water quality indices across Europe—a comparison of the good ecological status of five river basins ». Journal of Environmental Monitoring, 9(8), (2007) p.970-978.

[2] Kristensen, P., Whalley, C., Néry, F., Zal, N. Trine European waters—assessment of status and pressures 2018. European Environment Agency.EEA Report No 7/(2018).

[3] Simpkins, G., Davis, C. From academia to a career in scientific publishing. Nat Rev Earth Environ 5, 331 (2024). https://doi.org/10.1038/s43017-024-00549-7

[4] A. A. Adebayo, A. O. Adebayo, and O. A. Adebayo ,"Methylene blue dye: Toxicity and potential elimination technology from waste water ".published in Results in Engineering, 2022.

[5] S. K. Sharma, S. K.Chakraborty, and S. P. Singh, "Biodegradation of textile dyes by bacteria: A review" published in Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2016.

[6] Wang, Y., et al., « Resuscitation, isolation and immobilization of bacterial species for efficient textile waste water treatment : a critical review and update ». Science of the Total Environment, 2020. 730: p. 139034.

[7] Zdarta, J., et al., « Multi-faceted strategy based on enzyme immobilization with reactant adsorption and membrane technology for biocatalytic removal of pollutants: A critica lreview ». Biotechnology advances, 2019. 37(7): p. 107401.

[8] B.Maba, « dégradation des effluents textiles(cas d'un colorant synthétique :le bleu de méthylène) par procède «Fenton » en utilisant la latérite », Mémoire de master, Eau et Assainissement, Institut International d'Ingénierie (2IE), Burkina Faso. (2014),44 p.

[9] Mansour, H.B., et al., «Les colorants textiles sources de contamination de l'eau :CRIBLAGEdelatoxicitéedesméthodesdetraitement».Revuedessciencesdel'eau,2011. 24(3): p. 209

[10] S.A.Kaboré, « Décoloration du bleu de méthylène en solution aqueuse par des charbons fonctionnalises avec des oxydes de mangaanèse », Mémoire de master, Eau etAssainissement, Institut International d'Ingénierie (2IE), Burkina Faso, 2015.50 p

[11] R. Djeralfia,A.A. « Fakir, Elimination du bleu de méthylène par le procédé d'oxydationavancée«Fenton»»,Mémoiredemaster,Chimie,UniversitéAkliMohandOulh adj -Bouira-,2015.76p

[12] J.L.BRISSET,N.DUBREUIL,JLELIEVRE,pol.J.appl.chem,XXXIX,z4(1998)p 557- 571

[13] B.BESTALI,D.MOUSSA,A.ADDOU,J.L.BRISSET,eur.phys.J.appl.phys.4(199 8)p 171-179

[14] J.MACK,J.R.BOLTON, « photo chimestry of nitrite and nitrate sinaquous solution .J.of photo chemistry and photo biology», A chemistry128 (1999) p 1-13

[15] R.Djebar, « etude de la decoloration du BM en milieux heterogene et homogne»,GPE.2019

[16] J.S. Taylor, E.P. Jacobs. « Water treatment membrane processes. Reverse Osmosisand Nanofiltration », McGraw-Hill, New York.1996

[17] WillmottN.J.,GuthrieJ.T.,NelsonG., «The biotechnology approach to colour removal from textile effluent »,JSDC,(1998),114,38-41.

[18] ManahanS.E., « Environnemental Chemistry »,6eEd,U.S.A . :Lewispublisher,(1994).

[19] PaggaU.,BrownD., «The degradation of dyes tuffs partII :behaviour of dyes tuffs in aerobic biodegradation tests ».Chemosphere. 15,4(1986)479-491

[20] Ganeshr., « Fateofazodyeinsludges».Th.:Chim.:Virginia polytechnic institute andstate university : (1992), p: 193.

[21] Tsuda S.,Matsusaka N.,Madarame H.,«The come tassay in eight To use organs: result with 24 azocompounds »Mutation Research,(2000),465, 11-26

[22] CulpS.J.,BelandF.A.HeflichR., «Mutagenicity and carcinogenicity inrelation to DNA adduct ».

[23] M. F. M. Aziz and N. A. Yusoff, "Recent developments in the treatment oftextile dye waste waterusing adsorption technology," Journal of Environmental Management, vol. 112, no. 3, pp. 561–571, 2013.

[24] J. Zhang, J. Zhou, and J. Tang, "Recent advances in biodegradation of azodyesby bacteria," Journal of Chemical Technology and Biotechnology, vol. 86, no. 3, pp. 275–284, 2011.

[25] Khazi M.B, Avavind. R et Vivuthagiri.T, « recert advances in the biodegradation of phenol », Asiary-EXO-BIOL-SCI, vol 1(2)-2010:219-234.

[26] Soltani .M, « distribution lipidiques et voies métaboliques chez quatre bactéries Gram » negatives hydro carbonuclastes, variation en fonction de la source de carbone », thèse de doctorat, université de paris 6. .2004

[27] Philippeaux J, « Etude de la biodégradation de p.olymères biodégradables ». Rapport de stage IUT Nîmes – Ecole des Mines d'Alès. 2013.

[28] Varjani, S.J., et al., «Synergistic ex-situ biodégradation of crudeoil by Halotolerant bacteriale consortium of indigenous trains isolated from on shore sites of Gujarat », India. International Biodeterioration & Biodegradation, 2015. 103: p. 116-124.

[29] Kumar, A., et al., « Genetically engineered bacteria for the degradation of dye and other organic compounds », in Abatement of Environmental Pollutants2020, Elsevier. p. 331350.

[30] Ahmad, A., et al., «Recent advances in negeneration dye removal technologies:novel search for approaches to reprocess waste water ». RSC advances, 2015. 5(39): p. 30801-30818.

[31] Contreras, M., et al., « Bio-removal of methyl en blue from aqueous solution by Galac to mycesgeotrichum KL20A ». Water, 2019. 11(2): p. 282.

[32] Saratale, R.G., et al., « Bacterial decolorization and degradation of azo dyes :are view .Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers », 2011. 42(1): p. 138-157.

[33] «Acritical review on recent developments in the low-cost adsorption of Dyes from waste water » P.Senthil Kumara,*, G. Janet Joshibaa, Carolin C. Feminaa, P. Varshinia, S. Priyadharshinia M.S. ArunKarthicka, R. JothiranibaDepartment of Chemical Engineering .172 (2019) 395–416 December

[34] Balan D.S.L. et R.T.R. Monteir , « Decolorization of textile indigo dye by ligninolytic .fungi. J ». 2001. Biotechnol., 89, 141–145.

[35] white rot fungi Dichomitussqualens, Ischnodermaresinosum and Pleurotuscalyptratus. Chemosphere, « Eichler ova I.Orange G and remazolbrilliant;blue R decolorization » , 2005. 60, 398–404.

[36] Kulla H.G. et T. Leisinger . « Interference of aromatic sulfo groups in the microbial degradation of the azo dyes orange I and orange II. Arch. Microbiol »., 1983.135, 1-7.

[37] Robinson . « Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment Technologies with a proposed alternative. Bioresour. Technol »., 2001.77, 247-255.

[38] Dali, Z.Y., Bouabdasselem, H., Bettahar, N, Élimination des composés organiques par des argiles locales, Volume 567, Issue 10, 10/2006, Pages 1235-1327Chimie. 9 (2006) 1295–300

[39] T. Kurbus, Y.M. Slokar, A.M. « Le Marechal, Dyes Pigments » P 67-78. 2002.

[40] RAMALHO P.A., H. SCHOLZE, M.H. CARDOSO, M.T. RAMALHO et A.M. OLIVEIRA-CAMPOS, « Improved conditions for the aerobic reductive decolourisation of azo dyes by Candida zeylanoides ». Enzyme Microb. Technol., 2002.31, 848-854.

[41] Šafaříková, M., et al., «Biosorption of water-soluble dyes on magnetically modified Saccharomyces cerevisiae subsp. Uvarumcells ». Chemosphere, 2005. 59(6): p. 831- 835.

[42] RAMALHO, DCF. « Degradation of dyes with microorganisms studies with Ascomyceteyeasts »., Université de Minho, Portugal,2005. 14 p.

[43] «Revue des sciences de l'eau Journal of Water Science Volume 24 », numéro 3, 2011, p. 193-327

[44] «Acriticalreview on recentdevelopments in the low-cost adsorption of Dyesfromwastewater » P. SenthilKumara,*, G. Janet Joshibaa, Carolin C. Feminaa, P. Varshinia, S. Priyadharshinia M.S. Arun Karthicka, R. JothiranibaDepartment of Chemical Engineering .172 (2019) 395–416 December

[45] C.I. Pearce, JR. Lloyd, JT. Guthrie, « The removal of colourfrom textile waste water using whole bacterial cells: a review, Dyes and Pigments », 58 (2003)179–196.

[46] M. A. H. El-Gendy, M. A. M. Abdel-Halim, and A. A. M. El-Sikaily, "Decolorization of textile waste waterusing a new bacterials train," Desalination and Water Treatment, vol. 54, pp. 3011–3016, 2015.

[47] Ariffin, F., Che Anuar, N.E.M. Biodegradation of methylene blue by bacteria strains isolated from contaminated soil. Malaysian Applied Biology, 51(3), (2022)25–35.

[48] Pavan, F.A., A.C. Mazzocato, and Y. Gushikem, « Removal of methylene blue dye from aqueous solutions by adsorption using yellow passion fruit peel as adsorbent ». Bio resource Technology, 2008. 99(8): p. 3162-3165.

[49] Taylor, J.S., Jacobs, E.P. Water treatment membrane processes. Reverse Osmosis and Nanofiltration . McGraw-Hill, New York.1996.]

[50] Chen K.-C., Wu J.-Y., Liou D.-J. & Hwang S.-C. J. (2003). Decolorization of the textile dyes by newly isolated bacterial strains. J. Biotechnol., 101, 57-68.

[51] Kılıç N. K., Nielsen J. L., Yüce M. & Dönmez G. (2007). Characterization of a simple bacterial consortium for effective treatment of wastewaters with reactive dyes and Cr (VI).Chemosphere, 67, 826-831.