



Master Sciences et Techniques : Biotechnologie microbienne
MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

Contribution au traitement des effluents de dinanderie de la ville de Fès par filtration

Présenté par :

Loubna ZROUQI

Encadré par :

Pr. Mohammed MERZOUKI

Soutenu le 21 Juin 2013 devant le jury composé de :

-Pr. Mohammed MERZOUKI	: Encadrant
-Pr. Naima EL GHACHTOULI	: Examineur
-Pr. Samira SEFRIOUI	: Examineur
-Pr. Khadija BEKHTI	: Examineur

Lieu du stage : Laboratoire de la biotechnologie de la Faculté des Sciences Dhar el Mahraz-Fès



Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

Nom et prénom: ZROUQI Loubna

Année Universitaire : 2012 - 2013

Titre: Contribution au traitement des effluents de dinanderies de la ville de Fès par filtration

Résumé

Les effluents industriels issus des dinanderies constituent une source de toxicité grave pour l'Homme et pour toute forme de vie dans le milieu naturel récepteur (Oued Sbou) en vue de leurs teneurs élevées en métaux lourds (nickel, cuivre, argent, cyanures...). De ce fait, un traitement avant leur rejet s'avère indispensable pour éliminer la pollution organique et métallique et produire des effluents épurés qui répondent aussi aux normes Marocaines de rejets en vigueur. Dans ce cadre, ce mémoire présente l'ensemble des travaux réalisés au Laboratoire de Biotechnologie de la Faculté des Sciences Dhar El Mahraz-Fès, et qui consistaient à traiter ces effluents par filtration sur colonne. Les systèmes du traitement par filtration sur colonne au charbon actif en poudre, au grignon activé et au *Rhizopus* vivant et mort, ont révélé, après la caractérisation physicochimique, métallique et microbiologique des effluents (synthétique et réel de dinanderie) et des filtrats, une haute capacité de rétention des métaux lourds, avec des abattements qui dépassent 99% d'argent, du cuivre et du nickel, par le charbon actif et le grignon activé, et qui dépassent 99% d'argent, 96% du cuivre et 72% du nickel par le *Rhizopus* vivant. Le *Rhizopus* mort a permis aussi d'obtenir des abattements importants dépassant 99% d'argent, 96% de cuivre et 72% de nickel.

Ces résultats ont permis, donc, de mettre l'accent sur l'importance de la valorisation des déchets d'olives et des champignons dans le traitement des effluents industriels chargés en métaux lourds, en utilisant un procédé de filtration plus économique et rentable.

Mots clés : Métaux lourds, charbon actif, grignon activé, *Rhizopus*, effluent de dinanderie.



Introduction générale

La région de Fès souffre d'un grand problème de pollution des eaux de surface (Oued Sebou) et celles souterraines (nappe phréatique). Cette pollution prend divers origines, domestiques, agricoles et industrielles.

Les principales zones industrielles de Fès sont situées dans les quartiers Dokkarat, Sidi Brahim, Ben Souda, Ain Nokbi et l'ancienne Médina. Alors que, les principales sources de la pollution industrielle proviennent des huileries, tanneries et des dinanderies. Ces dernières sont beaucoup plus menaçantes car leurs rejets sont chargés d'éléments toxiques provoquant des perturbations environnementales. Ces substances toxiques sont principalement des métaux lourds.

Les métaux lourds contenus dans notre environnement (eau, air, sol) peuvent, par des cycles biogéochimiques, se retrouver dans de notre chaîne alimentaire et entraîner une contamination de l'homme par voie orale. Toutefois, un simple passage passif dans notre chaîne alimentaire aurait un impact négatif sur la santé.

Les principaux ions métalliques toxiques dangereux pour les êtres humains, ainsi que d'autres formes de vie sont Cr, Se, Cu, Co, Ni, Cd, Hg, As, Pb... etc. L'enlèvement des contaminants toxiques provenant des eaux usées est l'un des problèmes environnementaux les plus importants (Buasri *et al.*, 2012). Puisque tous les métaux lourds ne sont pas biodégradables, ils doivent être éliminés des cours d'eau pollués pour qu'ils répondent aux normes de rejet en vigueur. (Witek-Krowiak *et al.*, 2011).

Etant donné que les eaux résiduaires des dinanderies sont directement rejetées dans le milieu naturel (Oued Sebou), la capacité d'auto-épuration de ce milieu sera fortement réduite vu que les processus naturels de la décomposition ne vont pas suffire pour éliminer les métaux lourds des dinanderies. Par conséquent, le traitement des ces eaux, avant de les rejeter dans le milieu récepteur, présente une nécessité primordiale.

Dans ce sens, s'inscrit notre étude qui a pour objectifs :

- La caractérisation physicochimique, métallique et microbiologique des effluents des dinanderies de la ville de Fès afin de choisir le système de traitement convenable à leur épuration.



- L'optimisation du traitement des effluents de dinanderies par filtration sur des colonnes d'adsorption.
- L'isolement des souches des biofilms dans le but de les utiliser en bioaugmentation.

Le présent document constitue donc le fruit des travaux réalisés pour atteindre les objectifs précités. Trois grandes parties ont été abordées : la première partie est un aperçu bibliographique qui rassemble quelques données sur la pollution, les métaux lourds et les différents procédés physiques, chimiques et biologiques de l'élimination de la pollution métallique. Alors que la deuxième partie concerne la description du matériel et des différentes méthodes utilisées pour préparer les supports de filtration et caractériser les effluents et les filtrats. La troisième partie présentera donc les résultats obtenus et leur discussion.

En fin, nous donnons une conclusion générale des résultats présentés et des recommandations et perspectives proposées.

Aperçu bibliographique



I-Eau : ressources et contraintes

1-Généralités

Sur la carte des disponibilités mondiales l'Afrique du Nord et le Moyen Orient apparaissent comme la zone la plus menacée. Un constat s'impose d'emblée : 4,3% de la population mondiale ne dispose que de 0,67% des ressources en eau douce renouvelable (Mutin, 2007).

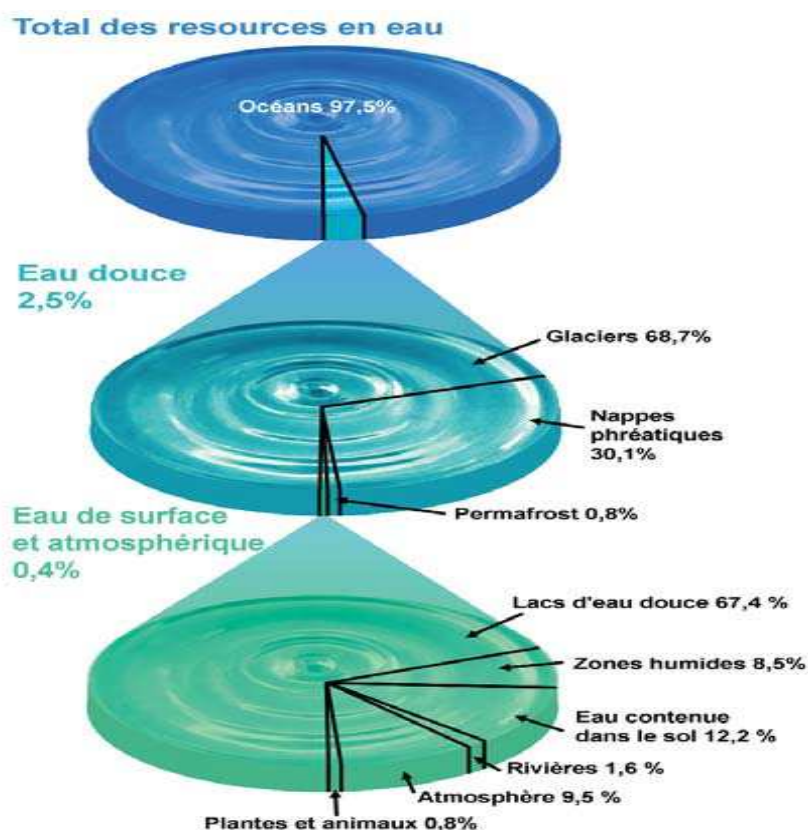


Figure 1 : ressources en eau de la planète bleue.

Source : Résumé du deuxième Rapport mondial des Nations Unies sur la mise en valeur des ressources en eau

L'eau douce ne constitue que 2,5% de l'eau de la planète et se présente essentiellement sous forme gelée dans les glaciers et les calottes glaciaires. Le reste de l'eau douce est principalement stockée dans les nappes phréatiques et seule une petite partie se trouve en surface et dans l'atmosphère.

L'eau est devenue ces dernières années un sujet de préoccupation à l'échelle planétaire. Cette ressource indispensable et irremplaçable est particulièrement mal répartie (Mutin, 2007).

De plus, les pressions qui pèsent sur les ressources en eau sont de plus en plus fortes, principalement en raison des activités humaines - notamment l'urbanisation, la croissance démographique, l'augmentation du niveau de vie, la concurrence croissante pour ces ressources en eau et surtout la pollution.

2-Problématique de la pollution

2-1-Définition



la pollution des eaux signifie selon l'organisation mondiale de la santé (OMS, 1989), toutes modifications des propriétés physiques, chimiques ou biologiques d'une étendue d'eau quelconque d'un pays considéré ou tous rejets de substances liquides, gazeuses ou solides dans une eau, susceptibles de créer une nuisance ou de rendre l'eau dangereuse ou préjudiciable du point de vue santé, sécurité et bien être publique, soit de ses usages à des fins domestiques, commerciales, industriels,...etc.

2-2-Origines de la pollution des eaux

Les origines de la pollution des eaux peuvent être classées en trois catégories :

➤ Pollution domestique

Elle est due aux rejets domestiques qui sont constitués principalement par les eaux de cuisine, de lessive et de toilette, ainsi que l'eau de lavage des locaux. Ce type d'eau, véhicule essentiellement des produits organiques biodégradables caractérisés par des teneurs en azote ammoniacal élevées (Ouaryachi, 1999), des matières en suspension, et des matières dissoutes. La pollution domestique est la cause principale de l'augmentation du phosphore dans les eaux usées, substance responsable, avec les nitrates, des phénomènes d'eutrophisation.

➤ Pollution industrielle

Elle est due aux rejets industriels qui sont caractérisés par :

- une charge minérale dominante, ce qui est le cas des rejets des usines de traitement des minéraux, chargés de matières en suspension. Ceux-ci ont des pH qui s'écartent de la neutralité (Ouaryachi, 1999) ;
- une charge organique dominante, ce qui est le cas des rejets d'abattoirs et des huileries, où les eaux sont très chargées en matières organiques biodégradables ;
- une toxicité élevée due par exemple aux rejets de certaines substances chimiques comme le chrome (issu des tanneries), le cuivre, le nickel et l'argent (issus des dinanderies) ;
- une chaleur élevée comme dans les rejets des centrales électriques.

➤ Pollution agricole

La croissance de la production agricole au moyen de l'agrochimie et de la mécanisation durant ces dernières décennies a entraîné des dégradations des sols et des altérations de la qualité des eaux dans de nombreuses régions du monde, tout en apportant des engrais, des pesticides et des insecticides (Laurant, 2012). Etant donné que les premiers sont riches en azote, ils entraînent une



augmentation de la teneur des eaux superficielles et souterraines en nitrates, ce qui a des incidents sanitaires non négligeables (Gulis et *al.*, 2002). Quand au pesticides et insecticides, ils sont largement utilisés afin d'exterminer les herbes et les insectes propagateurs de maladies pour augmenter la récolte, cependant, ils constituent une source de pollution considérables.

2-3- Paramètres indicateurs de la pollution

L'appréciation de la qualité des eaux de surface se base sur la mesure de paramètres physico-chimiques et chimiques (température, MES, conductivité électrique, pH, DBO₅, DCO, composés azotés et phosphorés) ainsi que sur la présence ou l'absence d'organismes et de micro-organismes aquatiques, indicateurs de la qualité de l'eau.

Ces données peuvent être complétées par l'analyse des métaux lourds, des polychloro-biphényles (PCB), des hydrocarbures aromatiques polycycliques (PCB) ou d'autres matières organiques non biodégradables.

L'ensemble de ces éléments permet donc d'évaluer le degré de pollution des eaux et de conclure quant à la possibilité d'adopter ou non un traitement biologique tout en calculant le rapport DBO₅ / DCO.

II- La pollution de la région de Fès par les métaux lourds

1-L'activité industrielle et artisanale de Fès

La ville de Fès est considérée comme troisième ville industrielle au Maroc après les centres Casablanca et Rabat-Salée. La répartition des industries se caractérise par la dispersion et la diversité des unités industrielles, mais on peut distinguer cinq groupes industriels tous à secteurs multiples, à savoir : quartiers Dokkarat, Ben Souda, Ain Nokbi, Sidi Brahim et l'ancienne Médina. Cette ville, a été caractérisée depuis longtemps par l'importance de son artisanat, pour lequel elle occupe la première place parmi les villes marocaines (Barro, 2001). Elle comporte 481 unités industrielles de dinanderies dont la majorité est localisée dans l'ancienne Médina (Khamlichi, 1997).

2-Les rejets des métaux lourds dans l'eau

Les principales unités polluantes de la région sont les huileries, les tanneries et les dinanderies. Ces derniers se caractérisent par des rejets importants, véhiculant des charges polluantes très élevées,



constituées essentiellement des métaux lourds, acides ou bases, et du cyanure et qui sont directement jetés dans l'oued Sebou.

A cet effet la qualité des eaux des Oueds Fès et Sebou est trop dégradée (Tableau 1). De même, la nappe phréatique est contaminée à cause de l'infiltration des eaux de l'Oued Fès et la défaillance et le manque de réseaux d'assainissement dans certains quartiers industriels

Tableau 1: Concentration et rejet journalier de métaux lourds dans les Oueds de Fès.

Oueds	Chrome total		Cadmium		Plomb		Zinc		Cuivre		Nickel	
	µg/l	Kg/j	µg/l	Kg/j	µg/l	Kg/j	µg/l	Kg/j	µg/l	Kg/j	µg/l	Kg/j
Oued Boukhareb	950	160	3	0,51	50	8,4	166	28,0	75	12,6	31	5,2
Oued Zhoun	938	12,9	10	0,14	65	0,89	263	3,60	75	1,03	38	0,52
Oued Gerouaoua	88	0,70	6	0,048	150	1,20	300	2,40	140	1,12	70	0,56
Oued El Maleh	163	0,69	2	0,01	63	0,27	225	0,95	50	0,21	44	0,19
Oued Mahraz pont Lidou	131	0,41	3	0,04	50	0,67	225	3,00	88	1,17	18	0,24
Oued Mahraz pont Slaoui	63	1,53	3	0,07	38	0,93	163	3,97	50	1,22	50	1,22
Oued Zitoun aval ONE	1700	148	10	0,87	88	7,68	275	24,0	113	9,86	50	4,36
Oued Boukhareb	63	8,55	2	0,27	178	24,1	275	37,3	50	6,78	25	3,39
Oued Fès aval ONE	1775	66,7	4	0,15	105	3,15	288	18,8	113	4,25	38	1,43
Oued Fès embouchure	1247	230	5	0,92	65	11,98	244	45	86	16	43	8

Source: PDA (1991)

3-La toxicité des métaux lourds

Les éléments métalliques sont, sous différentes formes, toujours présents au sein de l'environnement. A l'état de traces, ils sont nécessaires voire indispensables aux êtres vivants (Mohan et al., 2006). A concentration élevée, ils présentent une toxicité plus ou moins forte (Mohan et al., 2002). Il s'agit généralement d'une toxicité spécifique au niveau des systèmes biochimiques à l'intérieur de la cellule. N'étant pas dégradables à l'état métallique, les métaux lourds une fois absorbés, persistent dans l'organisme puis ils sont excrétés (Sabhi, 1998).

La toxicité des métaux lourds peut donc se manifester directement au niveau d'une espèce ou par bioaccumulation au long de la chaîne alimentaire.

La bioaccumulation de substances toxiques peut conduire à des catastrophes, comme dans le cas de la maladie de Minamata qui a touché presque deux millions d'humains, morts ou ont été gravement empoisonnés par du mercure méthylé par des bactéries, puis concentré par les poissons évoluant en



aval des effluents pollués par une usine pétrochimique de Minamata au sud-ouest du Japon, en utilisant comme catalyseur, HgO (Jobin, 2006).

L'intoxication au cadmium, chez la femme enceinte, a été liée à la diminution de la durée de la grossesse, du poids du nouveau-né et récemment, au dysfonctionnement du système endocrinien et/ou immunitaire chez l'enfant (Schoeters *et al.*, 2006). L'exposition au plomb, a été maintes fois, liée à un retard dans le développement neurocomportemental (Lidsky et Schneider, 2003), tout comme le MeHg, qui nuit au neurodéveloppement et implique des effets allant du retard du développement cognitif jusqu'à la mort du fœtus (Castoldi *et al.*, 2003).

Quant à la toxicité du chrome, Bianchi et Levis (1985) ont montré que le chrome hexavalent traverse facilement la membrane cellulaire, en partie par transport actif. Dès qu'il est à l'intérieur de la cellule, il est partiellement réduit à l'état trivalent, qui produit des effets toxiques pour le génome. De même le chrome hexavalent peut constituer des complexes liés à l'ADN, ce qui explique son potentiel mutagène (EPA, 1985). Les composés des chromes trivalent et hexavalent favorisent l'incorporation des nucléotides non complémentaires dans l'ADN (Majone *et al.*, 1979).

III-Procédés de traitements des effluents chargés en métaux lourds

1-La coagulation-floculation :

Le coagulant ajouté à l'eau a pour rôle de transformer les métaux lourds dissout dans l'eau en composés insolubles qui précipiteront. On utilisera alors un procédé de décantation ou de filtration pour finir le traitement. Les coagulants sont des produits chimiques à base de sels de fer et d'aluminium. On peut citer comme exemples : le chlorure ferrique et le sulfate d'aluminium. Le choix du coagulant dépend de la nature de l'eau à traiter, et des tests préalables qui doivent être réalisés. Le pH est entre autres une donnée fondamentale.

Les systèmes de traitements par « électrocoagulation » ou « électrofloculation » sont idéals pour le traitement des eaux polluées en métaux lourds. Leurs procédés sont basés sur le principe des anodes solubles. Il s'agit, d'imposer un courant (ou potentiel) entre deux électrodes (fer ou aluminium) immergées dans un électrolyte contenu dans un réacteur pour générer, in situ, des ions (Fe^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+}), susceptibles de produire un coagulant en solution et de provoquer une coagulation – floculation des polluants que l'on souhaite éliminer. Le champ électrique crée un mouvement d'ions et de particules chargées. Cette action permet de rassembler les matières en suspension sous forme de floccs qu'on élimine ensuite par un procédé physique classique (décantation, flottation, filtration)

(Mohammad *et al.*, 2006). La figure 2 présente le principe du procédé avec des électrodes d'aluminium.

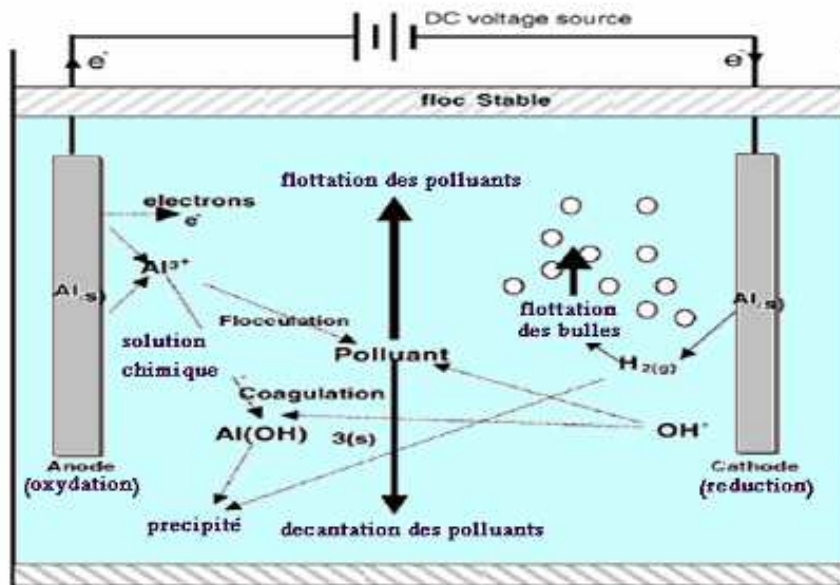


Figure 2 : Schéma du principe de l'électrocoagulation

2-La préchloration

Elle permet au chlore de composer les complexes organiques qui maintiennent les métaux lourds en solution, en le portant à un degré d'oxydation maximum. Une préchloration est souvent recommandable avant la décantation (mais pas dans certains métaux comme le chrome), afin d'obtenir une meilleure qualité de l'eau à traiter.

3-L'électrolyse

C'est un procédé de traitement des eaux présentant une concentration élevée en métaux lourds dissout. Un réacteur utilise le principe de l'électrolyse pour provoquer l'agglomération des particules chargées, telles que les métaux lourds, sur la cathode. L'agglomérat de métal peut ensuite être récupéré et recyclé. Cette technique permet le traitement du : Cadmium, cobalt, cuivre, fer, plomb, manganèse, mercure, zinc et autres métaux lourds (Duveneuil *et al.*, 1997)

4-L'osmose inverse

L'osmose inverse (figure 3) peut être performante pour éliminer les métaux lourds en faible concentration, bien que dans des conditions aérobies, les oxydes métalliques peuvent boucher les

membranes. De plus, l'osmose inverse n'est pas vraiment une méthode rentable, à moins que la concentration en sel de l'eau ne nécessite une déminéralisation plus poussée.

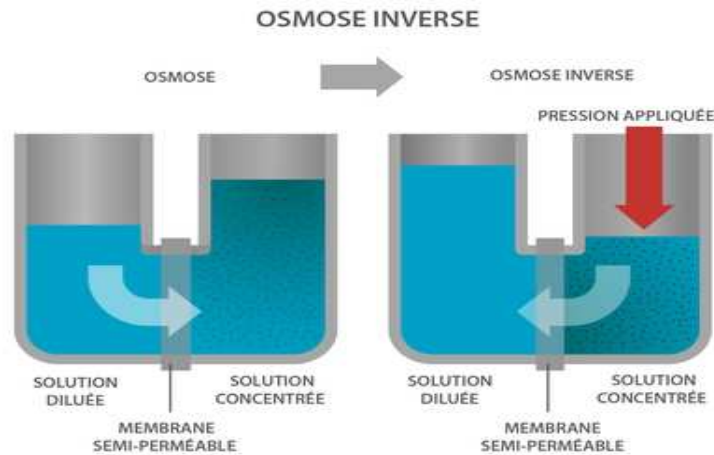


Figure 3 : Schéma du principe de l'osmose inverse

5-Les échangeurs d'ions

Également appelées résines, sont des substances granuleuses insolubles, donc la structure possède un radical acide ou basique. Ces substances sont capables de fixer les cations ou anions minéraux et organiques (Simitzis et *al.*, 2002).

6-Filtres à sable lents

Ce sont des systèmes physiques efficaces très facile à mettre en place. Ils possèdent l'avantage majeur de ne pas utiliser des produits chimiques. La mise en œuvre de la filtration lente permet d'atteindre de bons résultats comme il est rapporté par (Nur, 1998) dont l'élimination de Cu, Cr, Pb et Cd a atteint 99.6, 97.2, 100 et 96,6% respectivement.

7-Adsorption sur charbon actif

L'adsorption est un procédé d'élimination des polluants organiques ou minéraux présents dans des effluents aussi bien liquides que gazeux.

Le principal adsorbant utilisé en pratique est le charbon actif. Il est obtenu à partir de matières organiques (bois, tourbe) carbonisées, puis activées (dégagement des cavités remplies de goudron lors de la carbonisation). Le charbon actif peut être obtenu soit sous forme de poudre avec des pores de quelques μm de dimension, soit sous forme de grain (tableau 2). Il peut être régénéré selon trois procédés de désorption : à la vapeur, thermique et chimique (Naidja, 2010).



L'usage du charbon actif en poudre (CAP) demeure une technique très répandue du traitement de l'eau potable. L'utilisation du CAP améliore le goût et l'odeur de l'eau. C'est aussi un adjuvant de floculation pour la phase finale de la coagulation.

Tableau 2 : Principales caractéristiques du charbon activé (Naidja, 2010).

Caractéristique	Description
Diamètre Effectif	Poudre :8-9 μm ;granules :0,55-1,05 mm. Augmentation du taux d'adsorption et des pertes de charge lorsque la grosseur des grains diminue.
Surface d'adsorption	De 850 à 1500 m^2/g . Plus cette surface est grande plus le charbon activé est efficace.
Nombre de mélasse	Il est associé à la capacité du charbon activé d'absorber les impuretés de masses moléculaires élevées.
Densité brute	Evolution du volume de charbon activé utilisé.

8-Biosorption

La biosorption des métaux lourds est un phénomène complexe. Différents mécanismes piégeant ces métaux tels que la chimisorption, l'adsorption physique, la microprécipitation et l'oxydation / réduction, peuvent survenir au cours du processus. Il est possible que certains de ces mécanismes sont présents simultanément dans une mesure différente dans le processus (Sisca et *al.*, 2009).

Certains biosorbants peuvent recueillir un large éventail de métaux lourds sans priorité spécifique, alors que d'autres sont spécifiques à certains types de métaux (Regine et *al.*, 2000).

8-1-La biosorption en utilisant les bactéries et les levures

Les bactéries sont des microorganismes dont les cellules microscopique n'ont ni une membrane nucléaire ni autre membrane délimitant les organites comme les mitochondries et les chloroplastes. D'autre part, les champignons sont des organismes eucaryotes. La plupart des champignons se développent sous forme de filaments tubulaires appelés hyphes. Une masse d'hyphes entrelacés est appelé mycélium. La chitine, un polymère de N-acétylglucosamine, présente une quantité considérable d'hyphes pour soutenir sa force. En particulier, les parois et les enveloppes des bactéries et des champignons sont les structures responsables de la biosorption car elles contiennent des groupes saturés. Récemment, plusieurs études sur la biosorption des métaux lourds à l'aide des



bactéries, des champignons et des levures ont été élaborées (Ansari et Malik., 2007 ; Kang et *al.*, 2007).

La bactérie *Bacillus licheniformis*, isolée de La province du Hunan, en Chine, a été utilisée pour piéger le Cr (VI) à partir des solutions aqueuses (Jacques et *al.*, 2007). L'extraction de Cr (VI), Ni (II), Cu (II), Zn (II), et de Cd (II) à partir des eaux usées par *Pseudomonas aeruginosa* immobilisée sur le charbon actif granulaire, a été menée dans deux modes différents, à savoir les systèmes fermés et les systèmes de traitement par colonne tout en fixant les concentrations des métaux lourds dans les eaux usées synthétiques conformément avec les concentrations attendus des métaux dans les eaux usées issues des processus de galvanoplastie (Orhan et *al.*, 2006).

Certains composés chimiques des cellules de levure peuvent également agir comme échangeurs d'ions avec fixation rapide et réversible de cations. Volesky et *al.* (1988) ont travaillé sur la biosorption du cadmium par *Saccharomyces cerevisiae* et ont démontré que cette levure est un matériau biosorbant raisonnablement puissant pour le cadmium (Regine et *al.*, 2000).

Tableau 3 : Elimination des métaux lourds par les bactéries (Sisca et *al.*, 2009).

Microorganismes utilisés	Métaux lourds éliminés
<i>Bacillus cereus</i>	Pb(II) et Cu(II)
<i>Bacillus licheniformis</i>	Cr(VI)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cr(VI), Ni(II), Cd(II), Cu(II) et Zn(II)
<i>Staphylococcus xylosus</i>	Cd(II) et Cr(VI)
<i>Escherichia coli</i>	Ni(II) et Cd(II)

8-2-La biosorption en utilisant les moisissures

L'élimination des métaux lourds par des moisissures a été également menée par de nombreux chercheurs. Les genres fongiques les plus connus par leur pouvoir biosorbant sont principalement : *Aspergillus*, *Penicillium*, et *Rhizopus*.

Aspergillus Niger est un champignon filamenteux ascomycète et une des espèces les plus actives dans le genre *Aspergillus*. L'utilisation de ce champignon pour séquestrer les métaux lourds toxiques de la solution a été rapportée par Dursun (2006).

Mungasavalli et *al.* (2007) ont utilisé, dans leur étude, différents produits chimiques tels que l'acide sulfurique, l'hydroxyde de sodium, de l'acétone, le formaldéhyde, le bromure de



triméthylammonium céthyl ...etc pour modifier les produits chimiques de la surface de l'*Aspergillus Niger* afin d'améliorer la capacité de la biosorption (Sisca et al., 2009).

Selon Niu et Volesky (1999), la biomasse fongique, de *Penicillium chrysogenum*, peut extraire l'or à partir d'une solution de cyanure. Cependant, la capacité de la biosorption n'était pas encourageante (Regine et al., 2000). Certains champignons mucorales (*Mucor*, *Rhizopus*) ont montré des propriétés de biosorption métalliques intrigantes, particulièrement très élevées pour l'uranium et le thorium (Volesky, 1987) et par lesquelles les différents modes de dépôt de métaux pourraient être clairement distingués (Regine et al., 2000).

La biosorption en utilisant la flore fongique a été étudiée aussi bien pour les biomasses vivantes que pour les biomasses mortes. En effet, les résultats de l'étude réalisée par Iqbal et al (2005) ont montré que la biomasse morte de *Rhizopus sp*, a une capacité d'adsorption plus élevée par rapport la biomasse d'*Aspergillus sp*. Les différences peuvent être attribuées à la capacité intrinsèque de l'organisme, sa composition chimique de la paroi cellulaire menant divers types d'interaction des métaux avec les champignons (Gadd, 1993).

8-3-La biosorption en utilisant les algues

Les algues représentent un groupe important et diversifié d'organismes ressemblant à des plantes simples, allant de l'unicellulaire aux formes multicellulaires, qui peuvent être vues dans les milieux aquatiques et terrestres. Parfois, les algues peuvent également être trouvées sur la neige et les rochers exposés en symbiose avec un champignon tel que le lichen. Actuellement, les algues sont utilisées comme des engrais, comme sources d'énergie, dans la dépollution, pour la nutrition...etc (Sisca et al., 2009).

Dans le domaine de la lutte contre la pollution, les algues sont utilisées dans les installations de traitement des eaux usées afin de réduire les dangereux contaminants organiques et inorganiques. Les études de la biosorption en utilisant divers types d'algues pour l'élimination des métaux lourds en solution aqueuse ont été menées par différents groupes de recherche (Asku et al., 2000 ; Pavasant et al., 2006 ; Grimm et al., 2008). Les groupes amine, carboxyle, hydroxyle et sulfate de la paroi cellulaire (polysaccharides) des algues agissent comme des sites de liaison pour les métaux. Les caractéristiques de la biomasse, les propriétés physico-chimiques, les métaux cibles et le pH de la solution ont un impact important sur la performance de la biosorption.



a. les macroalgues vertes d'origine marine

La biosorption des métaux lourds par les macroalgues vertes marines a été menée par plusieurs chercheurs. Pavasant et *al* (2006) ont étudié la sorption des certains métaux lourds en utilisant une macroalgue marine verte séchée : *Caulerpa lentillifera*. C'est une macroalgue verte cultivée principalement comme aliment pour animaux et l'homme, mais elle peut également être utilisée pour traiter les eaux usées des exploitations agricoles (Sisca et *al.*, 2009). Ce type particulier d'algues a été également employé dans les bassins de traitement d'un système de culture marine en boucle fermée pour maintenir l'équilibre des composés d'azote (Apiratikul et Pavasant, 2008). Sa croissance rapide a souvent créé des problèmes. Pour cette raison, leur application comme biosorbant est tout à fait attrayant. Pavasant et *al* (2006) ont testé le pouvoir d'éliminer certains métaux comme : Cu (II), Cd (II), Pb (II) et Zn (II) d'une solution par cette algue, en fonction du pH et de la taille des particules et ils ont désigné que les groupes fonctionnels possibles impliqués dans la sorption des métaux à l'aide de ces algues étaient les acides carboxyliques, les amines, les amides, les groupes sulfonyles et les groupes sulfonates.

Deng et *al* (2006) ont étudié également la biosorption de Cu (II) et Pb (II) par une macroalgue verte qui est *Cladophores fascicularis*, en fonction du pH initial, de la température, la concentration en métaux lourds et d'autres ions co-existants. Ils ont indiqué que le processus de la biosorption est dépendante du pH. En conséquence, le pH pourrait affecter la protonation des groupes fonctionnels de la biomasse ainsi que la chimie du métal. Dans des conditions acides, les ligands de la paroi cellulaire sont protonées, et par conséquent des cations métalliques ne peuvent pas se rapprocher en tant que les forces répulsives sont en vigueur. Avec une augmentation du pH, plusieurs ligands avec des groupes amine, carboxyle, et phosphate seraient exposés à des ions métalliques, car ils ont une charge négative, résultant en une force d'attraction (Sisca et *al.*, 2009).

b. Les microalgues vertes de l'eau douce

Plusieurs types de microalgues vertes ont également été utilisés pour l'élimination des métaux lourds de la solution (tableau 4). *Chlamydomonas reinhardtii* est une algue verte unicellulaire mobile rencontrée couramment dans l'eau douce et les sols. La structure de la paroi cellulaire est composée de glycoprotéines riches en hydroxyproline. L'utilisation latente de cette algue comme un biosorbant pour les métaux lourds a été tentée par Tuzun et *al* (2005). Dans leur étude, les métaux : Hg (II), Cd (II) et Pb (II) ont été utilisés comme modèles de métaux lourds. Ils ont



constaté que les groupes fonctionnels chargés de biosorption sur les cellules de *Chlamydomonas reinhardtii* étaient les groupes amines, les acides carboxyliques, les hydroxyles et les carbonyles. En outre, la biosorption du Hg (II), Cd (II) et Pb (II) sur *Chlamydomonas reinhardtii* semble être indépendante de la température sur la gamme de température testée. Ils ont constaté aussi que le processus de la biosorption est influencé par la concentration initiale de l'ion métallique et la concentration de la biomasse, ainsi que le pH. *Chlorella vulgaris*, qui est un phytoplancton très exploité en tant que supplément alimentaire, présente des propriétés intéressantes de sorption proviennent de sa paroi cellulaire poreuse, qui permet un passage libre des molécules et des ions dans la solution aqueuse. Par ailleurs, les mandants de sa paroi cellulaire fournissent une matrice de ligands avec différents groupes fonctionnels capables de lier des divers métaux lourds (Asku et al., 2000). Cette algue peut également extraire l'or des solutions aqueuses (Hosea et al., 1986).

Rao et Khan (2007) ont évalué l'adsorption de Ni (II) et du Cu (II) sur l'algue *Sphaeroplea* et sa forme traitée par l'acide; Ils ont observé une amélioration de la capacité d'adsorption. Cette amélioration suggère que le traitement avec l'acide dissous les composés polysaccharidiques de l'algue dans la couche externe de la paroi cellulaire, créant ainsi des sites de liaison supplémentaires (habituellement des groupes amines). Néanmoins, le mécanisme réel n'est pas encore évident. En outre, plusieurs sites disponibles qui étaient initialement inaccessible sont devenus plus tard disponibles pour l'adsorption du métal (Sisca et al., 2009). Des espèces de *Spirogyra* ont prouvé leur capacité d'être un biosorbant efficace pour l'élimination du Cu (II), en mode discontinu (Gupta et al., 2006) D'autres espèces d'algues ont été également explorées à éliminer les métaux lourds par plusieurs chercheurs (Volesky et al., 2003 ; Martins et al., 2006).

Tableau 4: Elimination des métaux lourds par certaines microalgues de l'eau douce (Sisca et al., 2009).

Algues	Les métaux éliminés	pH	Quantité du métal lourd éliminé (mmol/g)	Type de bioreacteur
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> (Microalgae)	Hg (II)	2.0 - 7.0	0.183	BSR
	Cd (II)	2.0 - 7.0	0.149	BSR
	Pb(I)	2.0 – 7.0	0.297	BSR
	Cr (VI)	2.0	0.356–0.492	PBR
	Fe(III)	2.0	0.150–0.325	PBR
	Cd (II)	2.0–5.0	0.0135	BSR
	Ni (II)	2.0–5.0	0.988	BSR
	Cu (II)	2.0–5.0	1.290	BSR



<i>Chlorella vulgaris</i>	Cd (II)	4.0–4.5	0.609–0.770	BSR
	Ni (II)	4.0–4.5	0.482–0.995	BSR
<i>Sargassum</i>	Cu(II)	5.0	Non disponible	PBR
	Cd(II)	5.0	Non disponible	PBR
	Zn(II)	5.0	Non disponible	PBR
	Pb(II)	2.0–7.0	1.260	BSR
<i>Cladonia rangiformis</i>	Cu(II)	2.0–5.0	0.024–0.108	BSR

Note: BSR-Batch stirred reactor; PBR-Packed bed reactor

c. Les macroalgues rouges d'origine marine

Pour avoir une image complète du processus de la biosorption, les caractéristiques chimiques et physiques du biosorbant utilisé doivent être connues. Vilar et *al* (2007) ont tenté de fournir une fonctionnalité complète de mécanisme de la biosorption des métaux lourds sur une algue rouge marine : *Gelidium sesquipedale*. La conception et l'optimisation de ce processus ont été réalisées par étapes pour la caractérisation du biosorbant, la détermination de l'équilibre, la détermination de la cinétique de biosorption/désorption suivie par la détermination du temps de passage dans un réacteur réel (Sisca et *al.*, 2009).

d. Les macroalgues brunes d'origine marine

Les parois cellulaires des algues brunes contiennent généralement trois composantes :

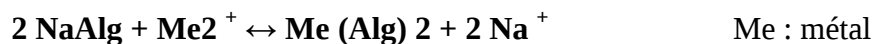
(1) la cellulose qui est le support de structure, (2) l'acide alginique, un polymère de l'acide mannuronique et l'acide guluronique et des sels de sodium, potassium, magnésium et calcium (3) les polysaccharides sulfatés. Ainsi, le carboxyle et le sulfate sont les groupes actifs prédominants dans ce type d'algues (Romera et *al.*, 2007). Les Méthodes de réticulation et d'oxydation peuvent être utilisées pour modifier la composition chimique de la surface de l'algue marine brune comme *Laminaria japonica* (Luo et *al.*, 2006). L'épichlorhydrine et le permanganate de potassium ont été utilisés comme agents de réticulation et d'oxydation, respectivement. Romera et *al* (2007) ont montré que algues modifiés par l'épichlorhydrine ont une capacité d'absorption élevée pour la biosorption de plomb (Pb) en raison de l'augmentation de la quantité de groupes d'acide carboxylique lors de la modification (Sisca et *al.*, 2009).

En dehors de son abondance et de sa capacité de séquestrer le métal, *Sargassum* est particulièrement adaptée pour la biosorption car sa teneur en polysaccharide n'est pas aussi facilement lessivée comme d'autres algues brunes utilisées dans le commerce en tant que source d'alginate. Les propriétés d'échange d'ions de certains polysaccharides naturels ont été étudiées en détail et il est



bien établi que le métal bivalent échange les ions avec des contre-ions des polysaccharides tels que l'acide alginique (dans les algues brunes):

Comme il est indiqué dans la réaction suivante (Regine et *al.*, 2000)



Matériel et méthodes

I-Matériel biologique

1-Effluent brut

Les eaux usées utilisées pour cette étude, ont été apportées de la dinanderie DAR EL KANAR située au cœur de la médina de Fès, 6 BINLAMDOUN. C'est une dinanderie spécialisée dans le

traitement de surface et s'occupe des opérations de nickelage et d'argenture des objets en métal. Ces eaux sont réparties en trois bassins distincts : Bassin de dégraissage, bassin de nickelage et



A



B



C

bassin d'argenture (figure 1).

Figure 1 : Bassins de Nickelage (A) et de dégraissage (B) et d'argenture (C) au sein de la dinanderie.

Afin de maintenir les opérations de nickelage, de dégraissage et d'argenture, cette dinanderie utilise mensuellement 8 kg de sulfate de Nickel, 4 kg de Chlorure de Nickel et 1 kg d'acide borique. Ces valeurs sont relativement faibles comparativement à celles utilisés par d'autres dinanderies de la ville.

Les eaux issues du bassin de dégraissage, d'argenture et de nickelage ont été prélevées directement au sein de la dinanderie avant leur rejet dans les égouts, ramenées au laboratoire séparément puis mélangées à quantité égale vue qu'elles se mélangent à la sortie de l'usine. Le mélange constitue donc ce qu'on a appelé : l'effluent réel ou brut (figure 2).

Figure 2 : L'effluent réel



2-Effluent synthétique

Vu que les quantités des produits utilisés, pour la réalisation des différentes étapes de traitements des objets métalliques, diffèrent d'une dinanderie à une autre, des essais avec un effluent synthétique apparaissent très nécessaires.

La composition chimique de cet effluent est détaillée dans le tableau 1 :



Tableau 1 : Composition chimique de l'effluent synthétique

Solution Synthétique	
AgNO ₃	78,73mg/l
K ₂ Cr ₂ O ₇	2,365 mg/l
3CdSO ₄ , 8H ₂ O	182,55 mg/l
CoCL ₂ , 6H ₂ O	0,1857 mg/l
CuSO ₄	22,607mg/l
FeCL ₃ , 6H ₂ O.....	0,0864 mg/l
PbO ₂	0,01038 mg/l
ZnSO ₄ , 7H ₂ O.....	1,319 mg/l
Ni SO ₄	478,484 mg/l
KCN	50,05 mg/l
KH ₂ PO ₄	57,318 mg/l
NH ₄ CL	444,886 mg/l
NaNO ₂	1,117 mg/l
C ₆ H ₁₂ O ₆ , H ₂ O	3750 mg/l
Oligo-éléments	2 ml/l

La solution minérale contenant les oligo-éléments nécessaires se compose de 0,15 g/l de H₃BO₃ ; 0,03 g/l de KI ; 0,12 g/l de MnCL₂, 4H₂O et de 0,06 g/l de Na₂MoO₄, 2H₂O.

Tous les composés chimiques mentionnés dans le tableau ci-dessus ont été mélangés avec de l'eau distillée et laissés agiter pendant quelques minutes.

II-Préparation des colonnes de sorption

1-Colonne au grignon activé

Le grignon d'olive utilisé pour cette étude a été issu de l'extraction d'huile par une usine de la région de Fès. Un échantillon, de la période oléicole 2011-2012, de 7 kg a été acheminé au laboratoire dans une sachée de plastique propre et fermée.



1-1-Préparation du grignon activé

Dans le but d'activer notre échantillon de grignon formé de pulpes et fragment de noyaux, nous avons procédé à un traitement physicochimique tout en passant par une cascade d'étapes.

Tout d'abord ; des feuilles d'olive, des petits cailloux et d'autres débris ont été éliminés de l'échantillon par triage. Ensuite, dans une bassine de 20 L, plusieurs lavages avec l'eau de robinet ont été effectués pour se débarrasser de toutes impuretés.

Vue sa richesse en matière grasse (sous produit oléique), un prétraitement par déshuilage semblait nécessaire pour éliminer l'huile résiduel.

Le déshuilage a été réalisé par 1,5 L de l'hexane dans une petite bassine, partie par partie.

Le grignon d'olive prétraité a été lavé par la suite avec l'eau courante puis séché à 105°C pendant 2 heures. Le solide obtenu est un grignon épuisé sec et sera carbonisé pour éliminer la matière organique. L'étape de carbonisation a été effectuée dans un four de type OWF 1200 à 400°C pendant 30 minutes.

L'étape suivante consistait à imprégner le grignon carbonisé dans une solution aqueuse d'acide orthophosphorique (3N) à raison de 2 g d'acide /g de grignon.

Le grignon a été donc mis en contact avec la solution de l'imprégnation pendant 3 heures à une température de 110°C. Par la suite, plusieurs lavages avec de l'eau distillé chaude ont été réalisés afin d'éliminer tous les phosphates résiduels et d'avoir un pH neutre (mesuré dans la solution d'épuisement).

Après le lavage, le grignon carbonisé et imprégné a été séché à 105°C puis broyé et stocké pour qu'il soit utilisé comme support d'adsorption des métaux lourds contaminant les effluents de dinanderie. La quantité de grignon obtenue après l'activation est de 170 g.



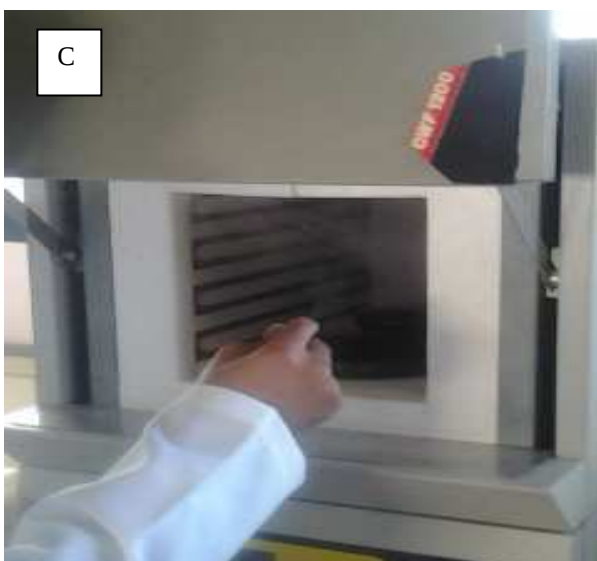
A



B



C



D



E

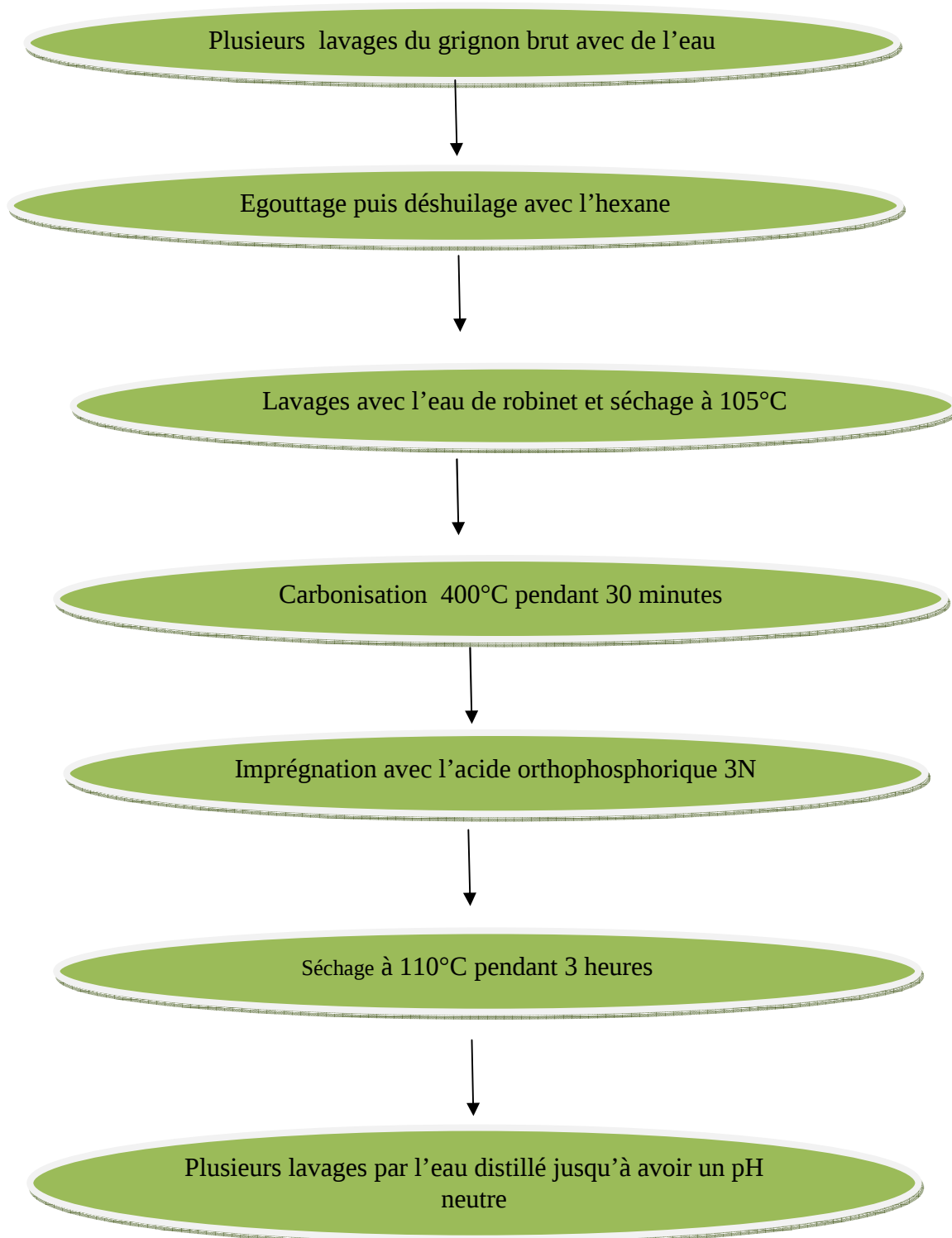


F





Figure 3 : Les différentes étapes et formes de grignon valorisé. (A) grignon d'olive brut. (B) grignon après déshuilage et séchage à 105°C. (C) étape de carbonisation. (D) grignon après carbonisation à 400°C. (E) grignon imprégné dans l'acide phosphorique. (F) égouttage du grignon activé après lavages avec de l'eau distillée chaude.



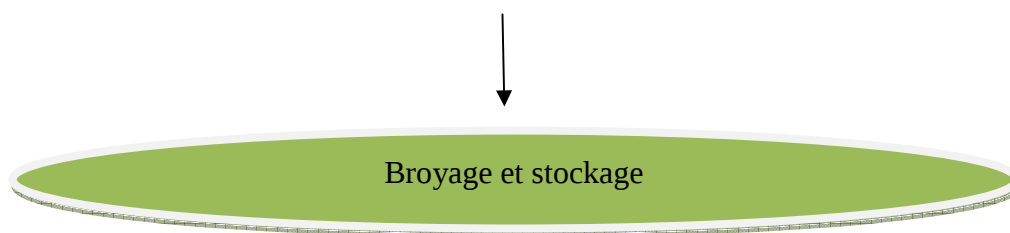


Figure 4: Etapes de préparation du grignon d'olive activé.

1-2-Caractéristiques de la colonne d'adsorption

Le grignon d'olive valorisé par l'activation physicochimique a été mis au garnissage d'une colonne en verre qui constitue la colonne d'adsorption caractérisée comme suit :

Tableau 2 : Caractéristiques de la colonne d'adsorption au grignon activé

Caractéristiques de la colonne au grignon activé	
Volume total	280 ml
Volume utile	120 ml
Quantité du grignon activé	53 g
Granulométrie du grignon activé	20- 30 μm

2-Colonne au champignon

La préparation de la colonne de la biosorption sur champignon a nécessité dans un premier temps l'isolement et l'identification de l'espèce fongique recherchée, afin de la mettre en culture pour récupérer une grande quantité du mycélium qui va être par la suite séchée, broyée, tamisée et enfin stockée .

Dans cette partie, l'espèce recherchée devrait appartenir au groupe des *Mucoraceae* vue que plusieurs données bibliographiques ont montré la capacité d'élimination des métaux lourds de ce groupe de moisissures. Les principaux genres faisant partie des *Mucoraceae* sont : *Absidia*, *Mucor*, *Rhizopus* et *Rhizomucor*.

2-1-Isolement



L'isolement a été réalisé à partir du sol d'un jardin de la FSDM. Une série de dilutions allant de 10^{-1} jusqu'à 10^{-6} a été préparée en mettant 1 g de sol, séché sous la lumière du soleil et tamisé, dans 9 ml d'eau distillée stérile. Par étalement, 100 μ l de chaque dilution ont été étalés sur un milieu solide sélectif pour les champignons, soit le PDA (Potato, Dextrose, Agar) (annexe 1) additionné du chloramphénicol ($25 \mu\text{g.ml}^{-1}$), puis incubés à 30°C et à l'obscurité pendant une semaine.

2-2-Repiquage

Le repiquage a été réalisé à partir de chaque colonie formée en découpant, un fragment de $0,5 \text{ cm}^2$ environ et en l'incubant dans les mêmes conditions précitées.

2-3-Identification

2-3-1-Identification macroscopique :

L'examen à l'œil nu, des boîtes pétri récupérées dans l'étape de l'isolement, permet de cibler plus ou moins, la colonie recherchée tout en basant sur certains critères morphologiques tels que :

- L'aspect : les colonies fongiques peuvent être laineuse, duveteuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses, granuleuses ...
- La taille de la colonie : petite, étendue ou envahissante.
- Le relief de la colonie : il peut être plat ou plissé et la consistance des colonies peut être variable (molle, friable, élastique ou dure).
- La couleur de la colonie : les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, le crème, le jaune, l'orange, le rouge allant jusqu'au violet ou le bleue, le vert, le brun allant jusqu'au noir.

2-3-2-Identification microscopique

a. La microscopie photonique

L'examen microscopique de la colonie fongique a été fait après la réalisation d'un étalement entre lame et lamelle d'un petit carreau de la gélose contenant du mycélium puis une coloration de la préparation par le bleu de méthylène. Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants de diagnose (Cahagnier et Richard-Mollard, 1998).

L'observation microscopique facilite donc la description détaillée, dans le cas des moisissures : du mycélium, des conidies, des chlamydospores, des columelles, des organes de fructification,...



Une fois tous les critères morphologiques et macroscopiques sont rassemblés, l'identification devient plus simple, en se basant sur une clé d'identification intitulée « Moisissures : utiles et nuisibles » de Botton et *al.* (1990).

b. La microscopie électronique à balayage

La microscopie électronique à balayage (MEB ou SEM pour Scanning Electron Microscopy) est une technique de microscopie électronique capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon en utilisant le principe des interactions électrons-matière.

Pour déterminer certaines caractéristiques nécessaires pour l'identification de la souche fongique utilisée et surtout déterminer la morphologie, la taille et la présence ou l'absence de stries des spores, l'observation sous microscope électronique à balayage (MEB) a été réalisée dans la cité d'innovation de Fès après la préparation d'un frottis sec de l'échantillon.

Les étapes suivies pour cette préparation ont été comme suit :

- Etalement d'une partie du mycélium, d'une culture de 6 à 8 jours environ, sur une lame par l'anse.
- Lavage de l'échantillon par une solution de tampon phosphate 50 mM .
- Fixation ensuite avec 100 ml du glutaraldéhyde (1%) pendant quelques minutes.
- Enfin, une déshydratation a été réalisée par l'exposition séquentielle à des concentrations d'éthanol allant de 50% jusqu'à 100%.

Selon Bajpai et *al.*, (2012), l'échantillon doit être post fixé par l'acide osmique ainsi que l'étape de la déshydratation doit être suivie par un séchage avec du CO₂ et par une minéralisation. Cependant, on s'est limité sur les étapes précédemment citées vu le manque des produits coûteux demandés pour les étapes de poste-fixation, de séchage et de minéralisation.

2-3-3-Identification moléculaire

Nous avons essayé, dans ce stage, d'identifier notre souche fongique par la méthode de PCR (Réactions en Chaîne de Polymérisation). Il s'agit d'une méthode d'hybridation moléculaire de haute performance qui permet après le séquençage de déterminer, avec un pourcentage d'identité important, le genre, l'espèce et parfois même la souche de microorganisme en question ; mais conditionnée essentiellement par la réussite de toutes les étapes du procédé à savoir : l'extraction, l'amplification et le séquençage.



❖ Extraction l'ADN

L'extraction du génome a été réalisée par le choc thermique ; c'est une technique simple dont le protocole est le suivant :

- Dans un tube épendorf: mettre en suspension la quantité prélevée par anse, d'une culture bien sporulée dans 100 µl d'eau distillée stérile.
- Congélation à -20°C pendant 15 min.
- Décongélation à 99°C pendant 10 min .
- Refaire la 1^{ère} et la 2^{ème} étape 3 à 4 fois.
- Centrifugation à 7000 rpm pendant 10 min .
- Prendre 2 µl pour la PCR.

Dans cette étape, trois répétitions ont été réalisées pour notre échantillon, ainsi que la réalisation d'un témoin positif et un témoin négatif qui ne contient que de l'eau distillée stérile.

❖ Amplification

L'amplification par PCR est une hybridation génique in vitro qui permet d'avoir plusieurs copies d'un fragment d'acide nucléique (ADN ou ARN) en présence de l'ADN polymérase thermorésistante et des amorces spécifiques.

- Région cible :

La région ITS (Internal Transcribed Spacers) a été choisie pour l'identification des espèces fongiques. Elle a été largement décrite par différents travaux de recherche (White *et al.*, 1990 ; Geiser *et al.*, 2007). C'est une région très conservée chez les champignons et qui inclut la séquence nucléotidique codant pour la sous unité ribosomale 5,8 S.

- Amorces

Le couple d'amorce universelle qui a été utilisé pour cette amplification est : ITS1 / ITS4

ITS1 : 5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3' (White *et al.*, 1990)

ITS4 : 5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3' (White *et al.*, 1990)

- Mélange réactionnel

La composition du mélange réactionnel a été réalisé dont le volume final dans chaque tube ependorf est 20 µl (Tableau 3).



Tableau 3: Composition du mélange réactionnel.

Réactifs	Concentration initiale de la solution mère	Volume prélevé (µl)	Concentration finale dans le mélange réactionnel
Tampon de la Taq	10 X	2	1 X
MgCl ₂	25 mM	1,2	1,5 mM
dNTPs	1 mM	4	0,2 mM
ITS1	10 µM	2	1 µM
ITS4	10 µM	2	1µM
Taq polymérase	5 U/µl	0,2	0,05 U/µl
H ₂ O	-	6,6	-
ADN	-	2	-

Durant la préparation du mélange réactionnel, les conditions aseptiques ne sont pas exigées ; Cependant, toutes les manipulations doivent être effectuées dans la glace pour empêcher le déclenchement de toute réaction non désirable.

Dans chaque tube ependorf, les composantes du mélange réactionnel ont été ajoutées en respectant l'ordre suivant : H₂O, Tampon de la Taq MgCl₂ dNTPs les amorces, la Taq et l'ADN. L'ensemble des tubes a été immédiatement placés dans le thermocycleur pour l'amplification.

- Condition de l'amplification

La PCR a été effectuée au laboratoire de la biotechnologie de la FSDM, dans un thermocycleur qui est programmé, pour chacune des étapes de la PCR, comme suit :

Première étape : - Dénaturation initiale à 94 °C pendant 3 minutes

Deuxième étape : - Dénaturation à 94°C pendant 1,5 minute

- Hybridation à 55°C pendant 1,5 minute

- Elongation à 72°C pendant 2 minutes;

Troisième étape : - Elongation finale à 72°C pendant 15 minutes

La 2^{ème} étape a été répétée plusieurs fois.

❖ **Migration sur gel d'agarose**

Les fragments d'ADN amplifié ont été contrôlés par migration sur gel d'agarose 2% additionné de 5 μ L de bromure d'éthidium (10 mg/mL) dans un tampon d'électrophorèse TAE (Tris-Acétate-EDTA).

Après 30 à 45 minutes de migration à 90 volts, les produits de la PCR seront visualisés sous les UV.

❖ Séquençage

Le séquençage est la dernière étape qui serait effectuée à la cité d'innovation de Fès par méthode de Sanger, dans le cas d'avoir des bandes d'ADN bien visibles sur le gel de migration.

2-4-Mise en culture

La souche isolée et identifiée a été mise en culture dans un milieu de culture liquide de Bertrand additionné de CaCl_2 (Annexe 2), qui est bien adapté aux besoins alimentaires des moisissures de la famille des Mucoraceae.

Pour récolter le mycélium, des erlens de 250 mL, 500 mL et d'un litre contenant respectivement 25, 50 et 100 mL du milieu Bertrand, ont été ensemencés par des fragments de 0,5 cm^2 environ, d'une culture solide bien sporulée (âgée de 10 jours à deux semaines). L'incubation a été faite dans les mêmes conditions précitées pour l'isolement et le repiquage.



Figure 5 : Les boues du mycélium obtenues après l'incubation.

2-5-Séchage

Après l'incubation, le milieu de culture a été éliminé et les boues de mycélium ont été récupérées et séchées à 30°C pendant une nuit. Ce mycélium a été considéré comme champignon vivant alors que le champignon mort est celui qui a été récolté de la même façon que le vivant, sauf qu'il a subi un autoclavage à 110°C pendant 20 minutes avant qu'il soit séché à 30°C.



Figure 6 : Séchage des boues du mycélium à 110°C.

2-6-Broyage

Le mycélium séché (vivant et mort), a été broyé par un broyeur de type Moulinex puis tamisé sur un tamis de porosité de 0,1 cm² (figure 7).



Figure 7 : Mycélium sous forme poudre.

Sous forme de poudre, la biomasse a été mise en contact avec l'effluent synthétique et réel de dinanderie en la plaçant dans une colonne (lit fixé) de verre dont les caractéristiques sont les suivantes :

Tableau 4: Caractéristiques des colonnes de sorption sur champignon mort et vivant

Caractéristiques	Champignon vivant	Champignon mort
Volume total	72 ml	120 ml
Volume utile	13 ml	65 ml
Quantité de poudre de champignon	12 g	9 g

3-Colonne au charbon actif

L'adsorption sur charbon actif a été utilisée à titre comparatif vue sa performance épuratrice très connue. La quantité du charbon actif en poudre (CAP) utilisée a été : 100 g, et la colonne de verre a été de 500 ml et de 215 ml respectivement pour le volume total et le volume utile.

Pour les quatre colonnes garnies au charbon en poudre, au grignon activé et au champignon mort et vivant, l'effluent à traiter est pulvérisé uniformément en haut des réacteurs et percole par gravité à travers les supports (Merzouki, 2001). L'efficacité de traitement a été appréciée analytiquement par le suivi des taux d'abattement des différents paramètres.

Le taux d'abattement de chaque paramètre X est exprimé en % suivant la formule :

$$\% \text{ abattement (X)} = \frac{C_i(X) - C_f(X)}{C_i(X)} \times 100$$

C_i : Concentration initiale de X avant traitement.

C_f : Concentration finale de X après traitement.



Figure 8 : Les différentes colonnes de filtration utilisées pour l'épuration des effluents de dinanderie.

III-Caractérisation physicochimique et microbiologique des effluents et des filtrats

La caractérisation physicochimique et microbiologique, des effluents réel et synthétique ainsi que les filtrats issus des colonnes de sorption, a concerné les paramètres suivant : température, pH, conductivité électrique, matières en suspension, demande chimique en oxygène (DCO), demande biologique en oxygène (DBO₅), ortho phosphates, azote ammoniacale, nitrites, et nitrates.

Le dénombrement des germes indicateurs de pollution microbiologique (flore mésophile aérobie totale, Coliformes, staphylocoques, streptocoques, champignons et levures) a été aussi effectué afin



de déterminer le degré de pollution des effluents de dinanderie d'une part, et d'évaluer la capacité épuratrice de chaque support d'une autre part.

1-Analyses physiques

a. La température

La température a été mesurée au laboratoire, à l'aide d'une sonde intégré au pH mètre de type HANNA INSTRUMENTS. Elle est exprimée en °C.

b. La conductivité électrique

La conductivité électrique mesure l'aptitude d'une solution aqueuse à permettre le passage d'un [courant électrique](#) suite au déplacement libre des conducteurs électriques comme les sels et les métaux lourds (fer, cuivre, aluminium, zinc, plomb... etc). L'unité de conductivité est le micro-siemens par centimètre ($\mu\text{S}/\text{cm}$). Elle est mesurée au laboratoire à l'aide d'un conducti-mètre de type HANNA INSTRUMENT.

c. Les matières en suspensions (MES)

Les matières en suspension ont été déterminées par la méthode de centrifugation décrite par Rodier (1996). Un volume V représentant l'échantillon est centrifugé à 3000 tours/min pendant 15 min. Le culot ainsi obtenu est recueilli dans un creuset préalablement séchée à 105°C et pesé (P_i). Ensuite, le godet de centrifugation est rincé par de l'eau distillée, puis déposé dans le même creuset. Finalement, le creuset est mis à l'étuve à 105°C jusqu'à l'obtention d'une masse constante P_f (généralement après 24h). Ainsi la concentration des MES est traduite par La différence de masse entre les deux poids P_i et P_f en appliquant la formule suivante :

$$MES = \frac{P_f - P_i}{V} \times 1000 \quad (\text{g/l})$$

P_i =Poids du creuset taré

P_f =Pois final du creuset après séchage à l'étuve pendant 24 heures à 105°C

V : Volume centrifugé

2-Analyses chimiques

a. pH

Le pH (potentiel Hydrogène) mesure la concentration en ions H^+ de l'eau. C'est un paramètre qui caractérise un grand nombre d'équilibre physicochimique. Il est mesuré au laboratoire par un pH mètre de type HANNA INSTRUMENTS.



b. Demande chimique en oxygène (DCO)

Le carbone organique dissous n'est pas la seule forme de carbone présente dans les eaux. Il existe aussi des formes inorganiques et des formes organiques particulières comme les débris végétaux et les micro-organismes, d'où vient la nécessité de mesurer la DCO. C'est un paramètre qui permet d'évaluer la concentration en matières organiques ou minérales, dissoutes ou en suspension dans l'eau, au travers de la quantité d'oxygène nécessaire à leur oxydation chimique totale.

Le principe de la méthode est basé sur une oxydation à ébullition (150°C pendant 2heures) des matières oxydables, par un excès de dichromate de potassium en milieu acide et en présence de sulfate d'argent comme catalyseur et du sulfate de mercure comme complexant des ions chlorures. Les valeurs de le DCO sont déterminées par spectrophotométrie type UV/visible de marque JENWAY6105 et à une longueur d'onde de 585 nm (Rodier, 1996). Elle est exprimée en mg d'O₂/l.

c. Demande biologique en oxygène (DBO₅)

La DBO₅ est la quantité d'oxygène nécessaire à la dégradation de la matière organique biodégradable d'une eau par les micro-organismes dans des conditions bien déterminées. La mesure de la teneur en oxygène dissous a été réalisée par l'incubation d'un volume estimé à partir de la valeur de la DCO de l'échantillon d'eau à analyser dans un DBO-mètre de type Oxitop^R IS6 (ET 618-4/619-4). L'incubation de l'échantillon a duré cinq jours, à l'obscurité et à une température de 20°C. Les valeurs de la DBO₅ sont exprimées en mg O₂/l.

d. Orthophosphates

Les orthophosphates ont été dosés selon la méthode de molybdate d'ammonium décrite par Rodier (1996). Le principe se base sur la formation d'un complexe entre les orthophosphates et le molybdate d'ammonium. Ce complexe est réduit par l'acide ascorbique en composé fortement coloré en bleu qui présent des valeurs maximales d'absorption vers 880 nm.

e. Ions ammonium

Les ions ammonium ont été dosés par la méthode au bleu d'indophénol. En milieu alcalin et en présence du nitroprussiate de sodium qui agit comme catalyseur, les ions ammonium (NH₄⁺) traités par une solution hypochlorite de sodium et de phénol donnent du bleu d'indophénol susceptible d'un dosage par colorimétrie. La lecture est faite au spectrophotomètre à UV/visible type JENWAY6105 à la longueur d'onde de 630 nm (Rodier, 1996).



f. Nitrites

Le dosage des ions nitrites a été réalisé, selon Rodier (1996), par la méthode au réactif de Zambelli. L'acide sulfanilique en milieu chlorhydrique en présence d'ions NH_4^+ et le phénol forme avec les ions NO_2^- un complexe coloré en jaune dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en NO_2^- .

g. Nitrates

Le principe de dosage des nitrites se base sur la formation d'un complexe paranitro-salicylate de sodium en présence du salicylate de sodium. Ce complexe est coloré en jaune et absorbe la lumière à 435 nm (Rodier, 1996).

h. Métaux lourds

Le dosage des métaux lourds a été effectué à la cité d'innovation de Fès par spectroscopie d'émission atomique avec Plasma Couplé par Induction (ICP : Inductively Coupled Plasma). Le plasma utilisé est un gaz plus ou moins ionisé, électriquement neutre. C'est dans le plasma qu'ont lieu les phénomènes d'émission.

Les métaux lourds analysés sont : l'Argent, le cadmium, le cobalt, le cuivre, le fer, le nickel, le plomb et le zinc.

3-Analyses microbiologiques

Après la préparation des séries de dilution des effluents et des filtrats, un volume de 100 μl a étéensemencé par étalement sur le milieu gélosé convenable.

3-1-La flore mésophile aérobie totale

Le milieu de culture utilisé est la gélose nutritive à pH 7. L'incubation des boîtes a été faite à 30°C pendant 24 heures (Marchal et *al.*, 1982 ; Maury, 1987).

3-2-Les coliformes totaux et fécaux

C'est le milieu gélosé Désoxycholate Lactose (DL) qui a été utilisé. Les boîtes étalées sont incubées à 44°C pour les coliformes fécaux et à 37°C pour les coliformes totaux pendant 24 heures (Marchal et *al.*, 1982 ; Maury, 1987).

3-3-Les streptocoques fécaux.



Le milieu de culture utilisé est Slanetz et Bartely additionné au TCC. L'incubation des boîtes a été effectuée à 37°C pendant 24 à 48 heures (Marchal et *al.*, 1982 ; Maury, 1987).

3-4-Les staphylocoques

C'est le milieu de Chapman qui a été utilisé pour l'isolement des staphylocoques. L'incubation des boîtes de pétrie a été effectuée à 37°C pendant 24 à 48 heures (Marchal et *al.*, 1982 ; Maury, 1987).

3-5-Les levures

Le milieu de culture utilisé est YPG, auquel est ajouté le chloramphénicol à raison de 25 µg/ml afin d'inhiber toute croissance bactérienne. L'incubation a été réalisée à 30°C pendant 48 à 72 heures.

3-6-Les champignons

Pour les champignons, Le milieu utilisé a été sabouraud additionné du chloramphénicol (25 µg/ml), l'incubation des boîtes ensemencées est effectuée à 30°C pendant 3 à 7 jours.

IV-Décoloration

Les matières colorantes se caractérisent par leur capacité à absorber les rayonnements lumineux dans le spectre visible. De ce fait, un balayage spectral a été réalisé afin de déterminer la longueur d'onde pour laquelle l'absorption de l'échantillon est maximale. En effet, tous les échantillons absorbent fortement la lumière à 340 nm, et le pourcentage de la décoloration a été calculé selon la formule suivante :

$$\% \text{ de décoloration} = (\text{absorbance}_{340} \text{ effluent} - \text{absorbance}_{340} \text{ sortie} / \text{absorbance}_{340} \text{ effluent}) \times 100$$

V-Isolement des souches des biofilm

La recherche de souches formant le biofilm a concerné les quatre supports de l'étude, à savoir le charbon actif, le grignon valorisé, le champignon vivant et le champignon mort.

Une quantité d'un gramme de chacun des supports a été mise aseptiquement dans des erlens de 100 ml et mélangée avec 5 ml de l'eau physiologique stérile à 0,9% de NaCl, puis agitée pendant 30 minutes.

Une série de dilution allant de 10^{-1} jusqu'à 10^{-6} a été préparée, puis 0,1 ml de chaque dilution a été étalé sur des boîtes contenant les milieux de culture sélectifs:

- Chapman



- Slanetz et Bartely
- Désoxycholate lactose
- YPG
- Extrait de Malt additionné de chloramphénicol
- Milieu sélectif des bactéries dénitrifiantes.

Résultats et discussion

I-Identification de l'espèce fongique utilisée pour la biosorption

1-Identification macroscopique et microscopique

Etant riche par des différents microorganismes, le sol nous a permis d'isoler sur le milieu PDA plusieurs colonies fongiques qui se diffèrent par leurs caractères macroscopiques et microscopiques. En effet, les colonies isolées appartenant principalement au genre *Fusarium*, *Helminthosporium* et *Rhizopus* (Figure 1 et 2).

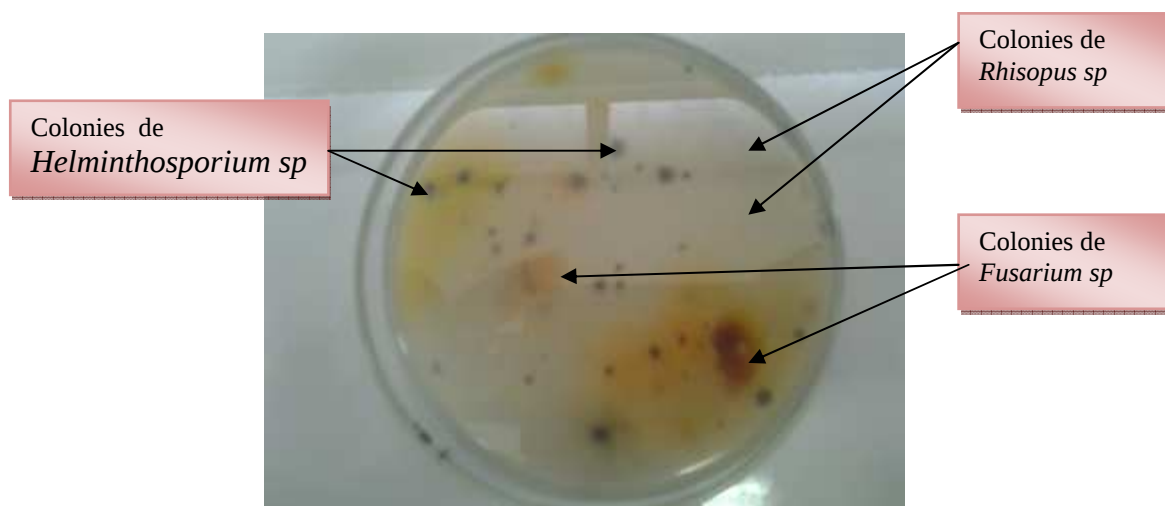


Figure 1 : La principale flore fongique isolée à partir du sol

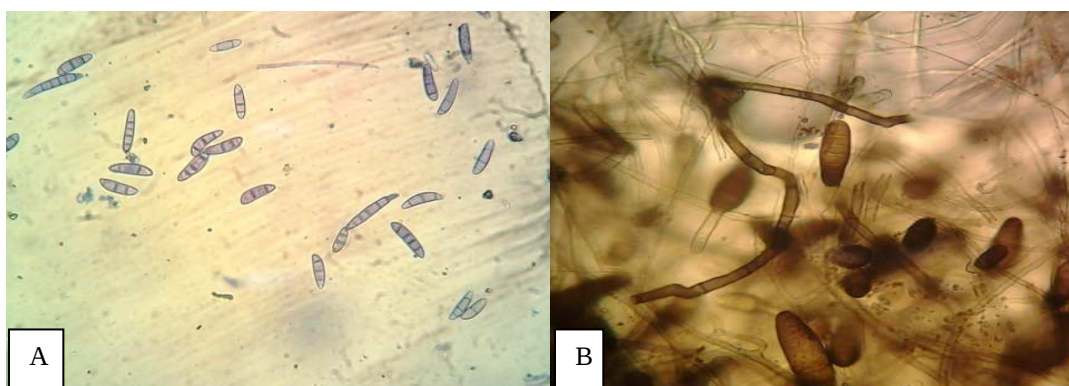


Figure 2: Le mycélium et les conidies de *Fusarium sp* (A) et d'*Helminthosporium sp* (B) observées sous microscope photonique G : x 400 .

L'examen macroscopique de la colonie semble appartenir au groupe des Mucorales, montre qu'il s'agit d'une colonie blanchâtre avec revers brun grisâtre. Elle se caractérise par ses hyphes aériens et son envahissement rapide sur toute la boîte (Figure 3).

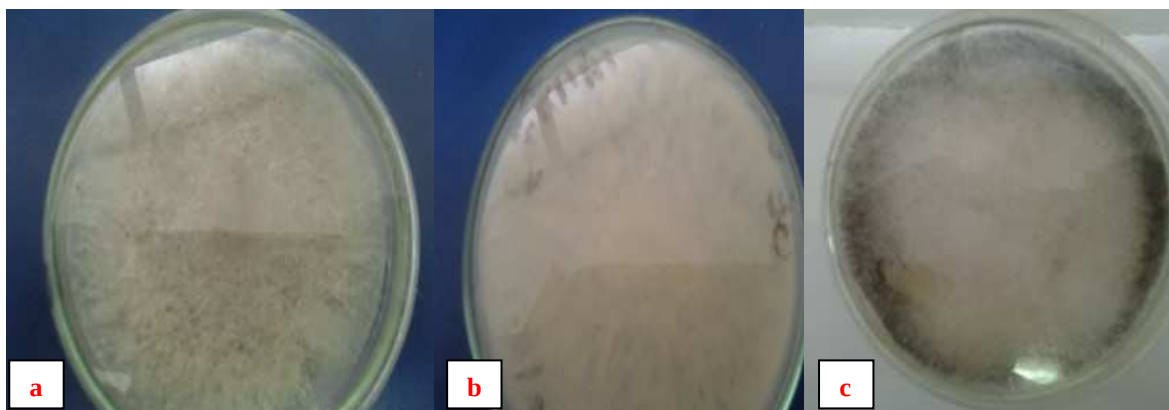


Figure 3: colonie (a) et revers (b) de l'espèce fongique identifiée d'une culture âgée de 5 jours (a et b) et de 10 jours (c).

La microscopie photonique a mis en évidence la présence d'un mycélium non cloisonné avec des spores endogènes dans les sporocystes. Ces deux points caractérisent fortement les moisissures de groupe Mucorales.

L'observation microscopique a montré aussi la présence des sporocystes et des sporocystophores fortement pigmentés. Les sporocystophores sont non ramifiés regroupés en 2 à 5 avec des rhizoïdes à la base. Ces rhizoïdes sont des formes caractéristiques de trois genres appartenant au groupe *Mucorales* à savoir : *Rhizopus*, *Actinomucor* et *Rhizomucor*.

Cependant, la présence des sporocystes avec apophyse nous permet de sélectionner entre les trois genres et de choisir *Rhizopus* comme étant le genre le plus convenable (Figure 4).

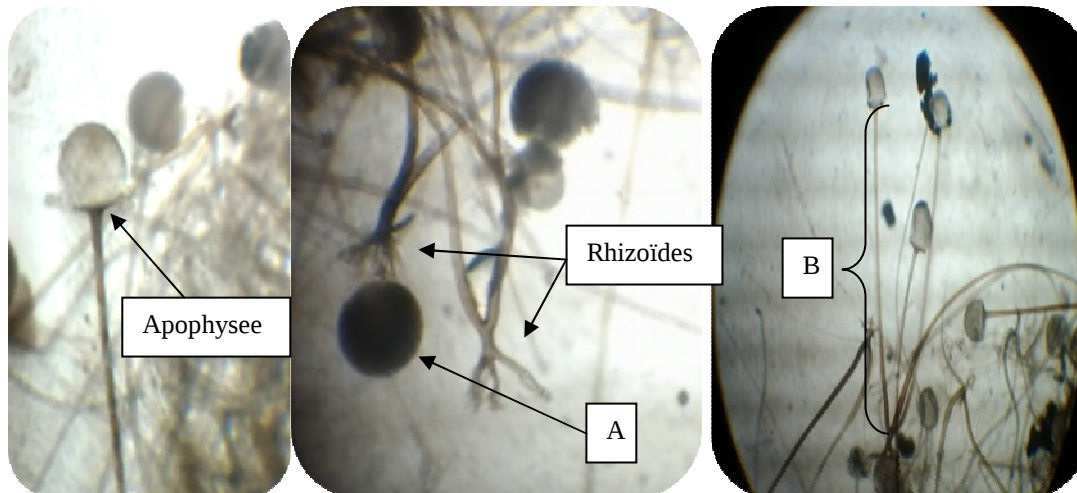


Figure 4: Certaines composantes caractéristiques du genre *Rhizopus* observées sous microscope photonique G : x 400 (sporocyste (A) ; sporocystophore (B)).

La détermination de l'espèce semblait très délicate surtout en absence d'une culture bien purifiée. Or, plusieurs paramètres peuvent nous servir à suggérer une des espèces du genre *Rhizopus*. En effet, l'observation par microscope électronique à balayage (MEB) a montré des spores irrégulières et anguleuses, des columelles globuleuses à ovoïdes de 40 à 70 μm , et surtout des sporocystophores qui dépassent 1,5 mm de hauteur (figure 5 et 6). De plus, l'absence totale des chlamydospores au niveau des stolons nous a ramené à conclure que *Rhizopus stolonifer* (synonyme : *Rhizopus nigricans*) pourrait être l'espèce isolée.

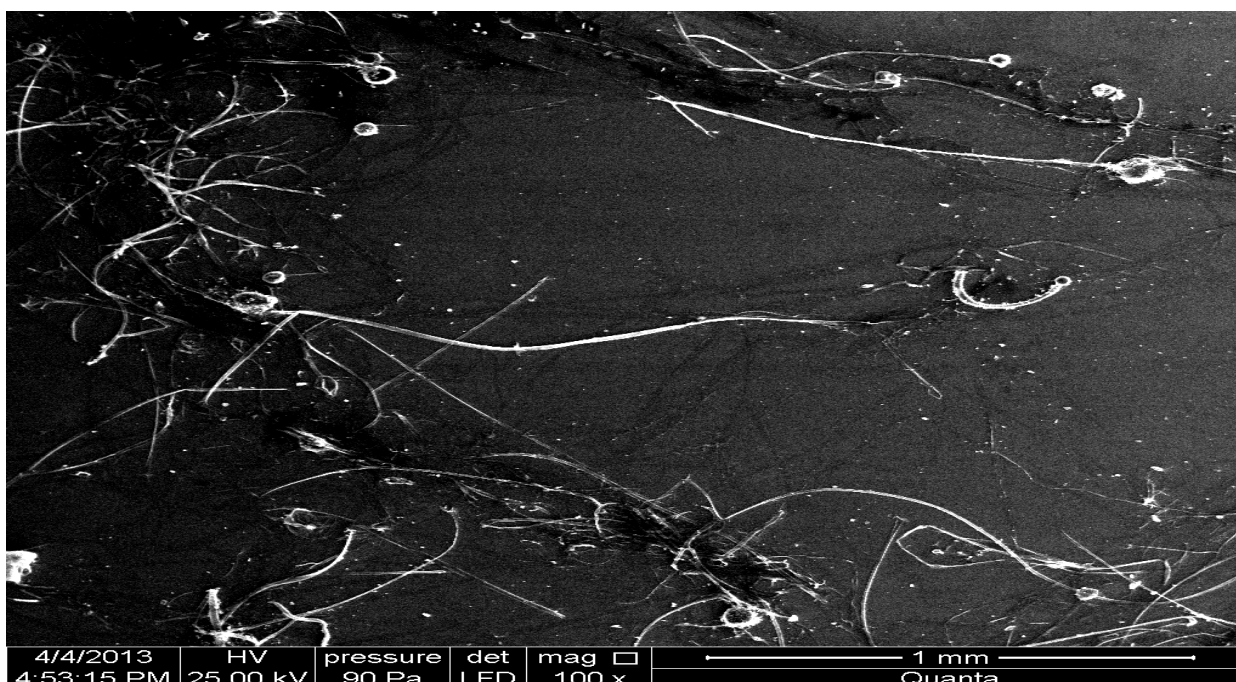


Figure 5: Sporocystophores qui dépassent 1,5 mm de hauteur observées par le MEB.

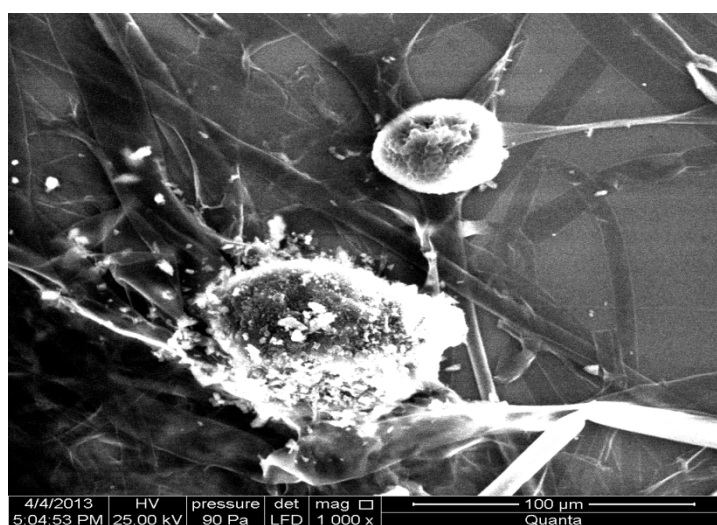


Figure 6: Columelle de 40 à 70 µm observée par le MEB

2-Identification moléculaire

Nous n'avons pas pu réussir l'identification moléculaire par la méthode d'hybridation moléculaire PCR. Le profil électrophorétique obtenu après migration sur gel d'agarose n'a montré aucune bande d'ADN bien isolée. C'est seulement un « smear » d'ADN qui a été révélé (Figure 7).

L'absence des bandes d'amplification pourrait être expliquée par l'échec de l'étape d'extraction, du génome fongique, par la méthode du choc thermique à cause de la rigidité de la paroi fongique

constituée principalement de la chitine. Il fallait donc procéder à un protocole d'extraction d'ADN pour les cellules eucaryotes, ou plus simplement essayer d'optimiser la technique du choc thermique en jouant sur le temps de congélation et décongélation ainsi que sur le nombre des répétitions de ces deux étapes. Il est apparu donc qu'il fallait aussi réaliser une première migration sur gel d'agarose pour s'assurer, en particulier, de la réussite de l'étape d'extraction.

La forte concentration du génome eucaryotique, dans le cas d'une bonne extraction d'ADN, pourrait aussi affecter la qualité de l'amplification tout en bloquant l'activité de la Taq polymérase et par conséquent, une dilution de 1/5 ou 1/6 devrait être effectuée.

Etant donné que les amorces utilisées jouent un rôle primordiale dans l'hybridation moléculaire, le contrôle de leur qualité, sur gel d'agarose et en présence des marqueurs de taille, devait peut être aussi effectué.

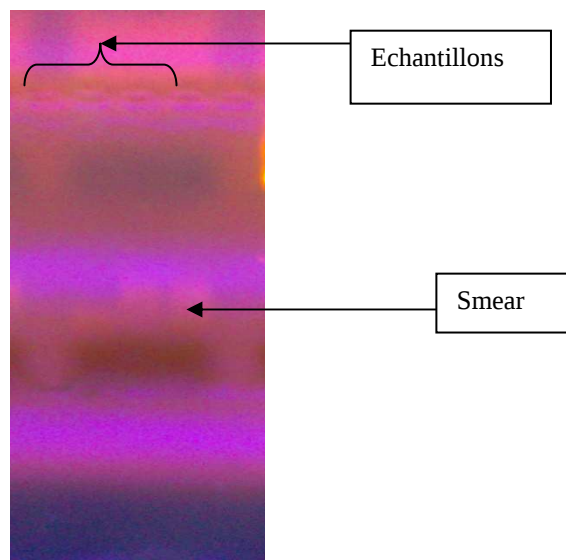


Figure 7: Le profil électrophorétique obtenu après migration des produits de la PCR.

II- Etude de l'optimisation du traitement de l'effluent de dinanderie

1-Caractérisation physico-chimique, microbiologique et métallique de l'effluent de dinanderie

La caractérisation de l'effluent réel de dinanderie a concerné la détermination des valeurs moyennes pour chaque paramètre étudié (physicochimique, métallique et microbiologique), connus comme étant un indicateur de la qualité d'eau, ainsi que la comparaison de ces valeurs obtenues avec celles fixées par les normes Marocaines des rejets direct et indirect.



1-1-Caractérisation physicochimique

Les résultats des analyses physicochimiques de l'effluent de dinanderie sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1: Caractérisation physicochimique de l'effluent de dinanderie.

	Valeur minimale	Valeur maximale	Valeur moyenne	Normes Marocaines du rejet direct	Normes Marocaines du rejet indirect
Température (°C)	12	23	17,5	30	35
pH	6,90	7,58	7,24	6,5-8,5	6,5-8,5
Conductivité électrique (µs/cm)	6400	6700	6550	2700	2700
DCO (mg d'O ₂ /L)	2054	3600	2827	500	1000
DBO ₅ (mg d'O ₂ /L)	9	30	19,5	100	500
NO ₂ ⁻ (mg/L)	0,06	0,12	0,09	-	-
NO ₃ ⁻ (mg/L)	20,72	26,96	23,84	-	-
NH ₄ ⁺ (mg/L)	0,05	0,2	0,125	-	-
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	0,68	1,43	1,055	10	10
MES (mg/L)	300	800	550	50	600

D'après les valeurs enregistrées dans le tableau 1, nous pouvons conclure plusieurs constatations :

- L'effluent de dinanderie ne répond ni aux normes de rejet direct ni indirect surtout en termes de DCO, des matières en suspension (MES) et de conductivité électrique. Les valeurs élevées observées pour les trois paramètres pourraient être expliquées essentiellement par les concentrations des produits utilisés au cours des opérations réalisées surtout dans le bassin de dégraissage et de nickelage à savoir :
 - Cyanure de sodium (NaCN)
 - Hydroxyde de sodium anhydre (NaOH)
 - Carbonate de sodium (Na₂CO₃)



- Chlorure de nickel hexahydrate ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
- Sulfate de nickel ($\text{Ni SO}_4 (\text{H}_2\text{O})_6$)

En effet, les valeurs de la conductivité électrique s'expliquent par la présence des ions Na^+ , Cl^- , OH^- et SO_4 , dans ces bassins de traitement des pièces métalliques.

- Le rapport $\text{DBO}_5 / \text{DCO}$ permettant de juger la biodégradabilité d'un effluent et d'apprécier le système convenable pour son traitement est très inférieur à 0,2. De ce fait, l'effluent de dinanderie pourrait être jugé comme étant non traitable par voie biologique, d'où vient la nécessité de procéder à un système de traitement physique ou chimique.
- La teneur faible en phosphate (1,055 mg/L) apparait logique vue l'absence de l'utilisation des détergents dans les bassins de rinçage ou de dégraissage.

1-2-Caractérisation métallique

Le dosage des métaux lourds a montré que l'effluent de dinanderie se caractérise par une charge métallique très importante dépassant largement les normes de rejet Marocaines (tableau 2).

Les principaux polluants métalliques observés sont : l'argent, le cuivre et le nickel. Ces éléments proviennent de l'utilisation des sels de cuivre, des chlorures de nickel, du sulfate de nickel, et du cyanure d'argent au cours des opérations de cuivrage, nickelage et d'argenture. Selon les normes Marocaines, les effluents rejetés dans les eaux de surfaces ne doivent pas dépasser 0,5 mg/L en cuivre, 0,5 mg/L en nickel et 0,1 mg/L en argent, et ceux rejetés dans un réseau d'égouts ne dépassent pas 1 mg/L en cuivre, 0,5 mg/L en nickel et 0,1 mg/L en argent.

Cependant, les concentrations détectées dans l'effluent sont : 3,053 mg/L, 10,640 mg/L et 150,939 mg/L respectivement pour l'argent, le cuivre et le nickel. Ces substances constituent un risque pour le milieu récepteur et pour l'homme. En effet, le cuivre est fatal pour les algues à des concentrations aussi faibles que la ppm (Ramade, 1992). L'absorption de doses excessives de cuivre par l'homme entraîne des irritations sévère de la muqueuse, la corrosion cutanée, des irritations cérébrales suivies par des dépressions...etc. Quant au nickel, presque toutes ses formes chimiques sont cancérogènes. Une longue exposition au nickel soluble (1 mg/m^3) peut augmenter le risque du cancer des poumons (Kasprzak, 2003).

Tableau 2 : Concentrations moyennes en métaux lourds contaminant l'effluent de dinanderie



Métaux lourds	Valeur moyenne (mg/L)	Normes Marocaines du rejet direct
Argent (Ag)	3,053	0,1
Cadmium (Cd)	< 0,01	0,2
Cobalt (Co)	0,048	0,5
Chrome total (Cr)	0,201	2
Cuivre total (Cu)	10,640	0,5
Fer (Fe)	< 0,01	3
Nickel (Ni)	150,939	0,5
Plomb total (Pb)	0,037	0,5
Zinc (Zn)	0,137	5

1--Caractérisation microbiologique

Les analyses microbiologiques effectuées sur l'effluent brut de dinanderie ont été répétées trois fois et ont montré l'absence totale de toute contamination par les microorganismes recherchés (Coliformes fécaux, coliformes totaux, streptocoques fécaux, staphylocoques, levures et champignons). Seulement la flore mésophile aérobie totale qui a été trouvée. Elle est estimée à 130 UFC/mL.

Les eaux résiduaires de dinanderie répondent donc aux normes en terme microbiologique vue qu'elles se caractérisent par une faible charge microbiologique qui pourrait être due surtout à la toxicité des métaux lourds contaminant, en grande quantité, ce genre d'effluent.

En conclusion, les résultats de la caractérisation des trois composantes physicochimique, microbiologique et minérale, ont révélé la nécessité de procéder à un système de traitement capable d'éliminer ou, au moins, de diminuer les principaux polluants (métaux lourds, DCO, MES et conductivité électrique) de l'effluent de dinanderie pour que ce dernier soit déversé dans l'environnement sans aucun risque sanitaire.

2-Performance de la dépollution par filtration sur les colonnes d'adsorption

Afin d'éliminer la charge polluante potentiellement présente dans les eaux résiduaires de dinanderie, trois colonnes de filtration ont été montées simultanément et traversées par l'effluent



puis les débits ont été calculés. Les valeurs moyennes enregistrées sont 0,25 ml/min pour le grignon activé; 0,45 ml/min le *Rhizopus* vivant et 0,9 ml/min pour le charbon actif en poudre.

Au début du procédé de traitement, les rendements de la filtration ont été faibles. De ce faite, nous n'avons présenté dans cette partie que les abattements moyens obtenus après stabilité et formation du biofilm en fonction du temps.

2-1-Abattement des polluants physicochimiques

Les résultats obtenus pour les abattements des paramètres physicochimiques étudiés sont présentés dans les deux figures 8 et 9.

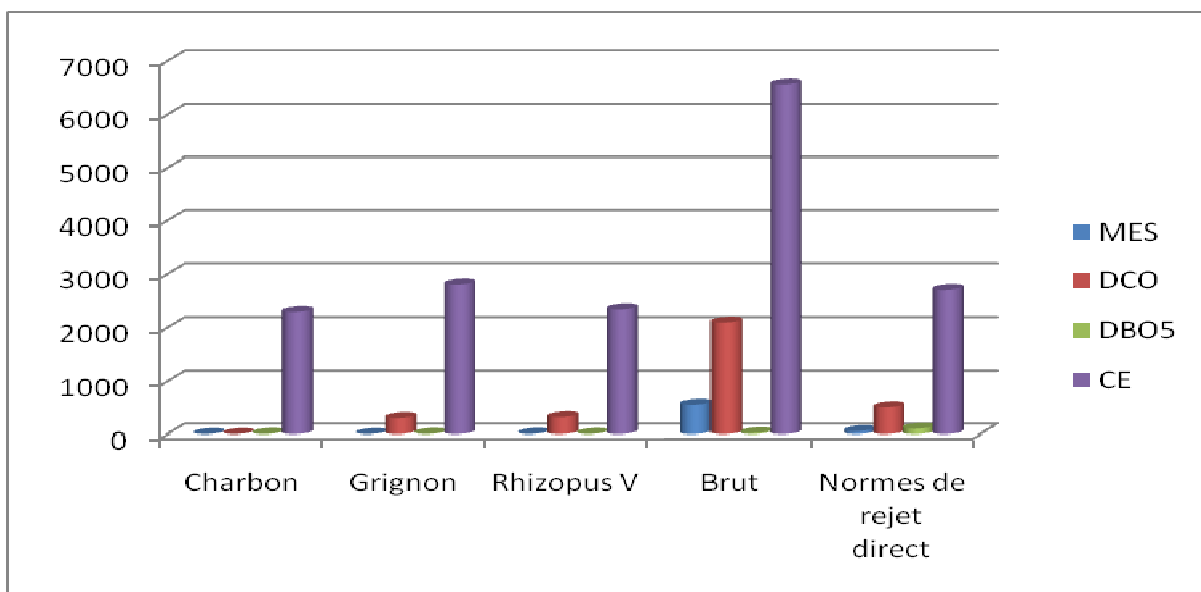


Figure 8: Concentrations en mg/l de la DBO₅, la DCO, de la conductivité électrique et des MES dans le filtrat et le brut après 3 semaines du lancement des procédés de filtration.

Selon la figure 8, nous pouvons constater la diminution des quatre paramètres de pollution ; à savoir la DCO, la DBO₅, les MES et la conductivité électrique, après traitement par filtration sur le charbon actif, le grignon valorisé et le *Rhizopus* vivant.

Les meilleurs abattements ont été obtenus par la colonne au charbon actif dont les taux d'abattement sont: 100 % pour la DCO, la DBO₅ et les MES et 65% pour la conductivité électrique avec 2300 μ s/cm (norme : 2700). L'adsorption sur le grignon activé a permis aussi d'avoir des abattements importants de 100% pour les MES et la DBO₅, de 86% de la DCO avec 300 mg/L (norme = 500 mg/L) et de 58% pour la conductivité électrique avec 2800 μ s/cm.

Concernant la biosorption par le champignon vivant *Rhizopus*, les rendements obtenus après 3 semaines ont été 99%, 85%, 80% et 64% respectivement pour les MES (5mg/L), la DCO (316 mg/L), la DBO₅ (4 mg/L) et la conductivité électrique (2350 μ S/cm).

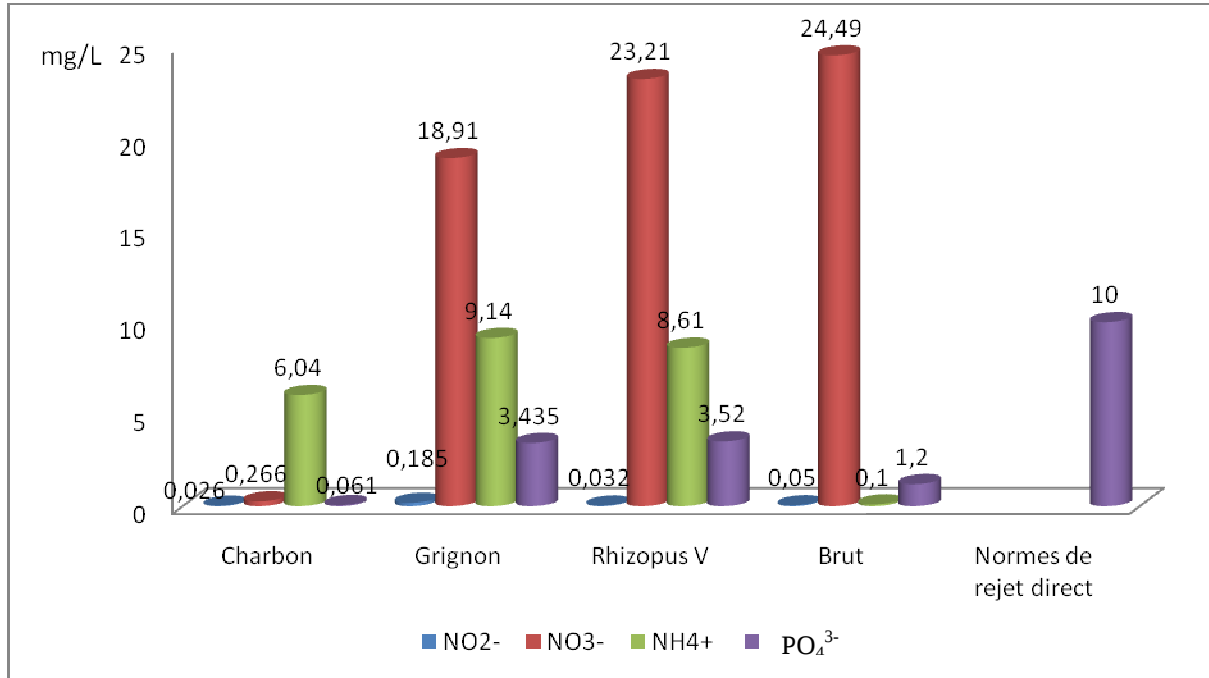


Figure 9 : Evolution des nitrites, des nitrates, des ions ammonium et des orthophosphates après 3 semaines du lancement de procédé de filtration.

La présentation graphique de l'évolution de la dépollution azotée et phosphatée (figure 9), montre que pour tous les filtrats, les concentrations des orthophosphates sont inférieures à la valeur fixée par les normes Marocaines des rejets directs. Cependant, nous observons une évolution des orthophosphates vers l'augmentation et non pas vers l'abattement surtout pour le filtrat du grignon activé et du *Rhizopus* vivant (*Rhizopus V*). Cette augmentation pourrait être expliquée dans le cas du champignon, par la libération des groupements phosphatés suite à la lyse cellulaire lors de l'étape de broyage et qui ont été élués par l'effluent traversant le support fongique. Tandis que pour le grignon activé, deux phénomènes pourraient expliquer cette augmentation :

- ❖ Le premier suggère que l'étape de l'imprégnation dans l'acide orthophosphorique, au cours de l'activation du grignon, a laissé des groupements d'orthophosphates non éliminés par les lavages avec de l'eau distillée chaude.
- ❖ Le deuxième propose l'existence des bactéries déphosphatantes relargant leurs phosphates intracellulaire en anaérobiose.



Contrairement au grignon et au champignon, le charbon actif nous a permis d'avoir un abattement important des orthophosphates qui a atteint 95%.

En ce qui concerne l'élimination des nitrates par le grignon activé et le *Rhizopus*, nous observons un faible pourcentage d'élimination estimé respectivement à 23% et 5%. Ceci pourrait être expliqué par la faible capacité de rétention des ces adsorbant et/ou par l'intervention des microorganismes dénitrifiants responsables de la transformation des nitrates en azote gazeux et qui sont en faible quantité:



Il pourrait s'agir donc de la « respiration des nitrates », qui est une alternative à la respiration aérobie: en présence de faibles concentrations d'oxygène ou en son absence, les nitrates jouent le rôle d'accepteur final d'électron (Iribar, 2007).

Pour les nitrites, la colonne au champignon a montré un abattement important estimé à 83% tandis que pour la colonne du grignon activé, une évolution vers la production est observée (de 0,05 mg/ml pour le brut à 0,185 mg/ml pour le filtrat), ceci est expliqué probablement par le phénomène inverse ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$) en cas de la dénitrification.

Quant à la pollution azotée, les meilleurs rendements ont été obtenus par la colonne au charbon actif avec un abattement de 98% pour les nitrates (NO_3^-) et de 50% pour les nitrites (NO_2^-). Ce fort abattement des nitrates est du à une forte rétention de ces ions par le charbon actif qui possède une structure silicoalumineuse chargée positivement permettant de retenir les nitrates et les nitrites chargés négativement.

Quant aux ions ammonium, aucune des filtrats n'a montré un abattement, au contraire, une augmentation de la concentration des ions NH_4^+ a été constatée principalement pour le grignon activé. Ce qui pourrait s'expliquer par l'existence de la matière azotée dans la colonne d'adsorption. En effet, les matières azotées totales constituent 5 à 10% de la quantité totale des grignons d'olives (Nefzaoui, 1984).

2-2-Evolution des polluants microbiologiques

Les résultats obtenus pour décrire l'évolution des polluants microbiologiques, avant et après la filtration, sont présentés dans la figure 10.

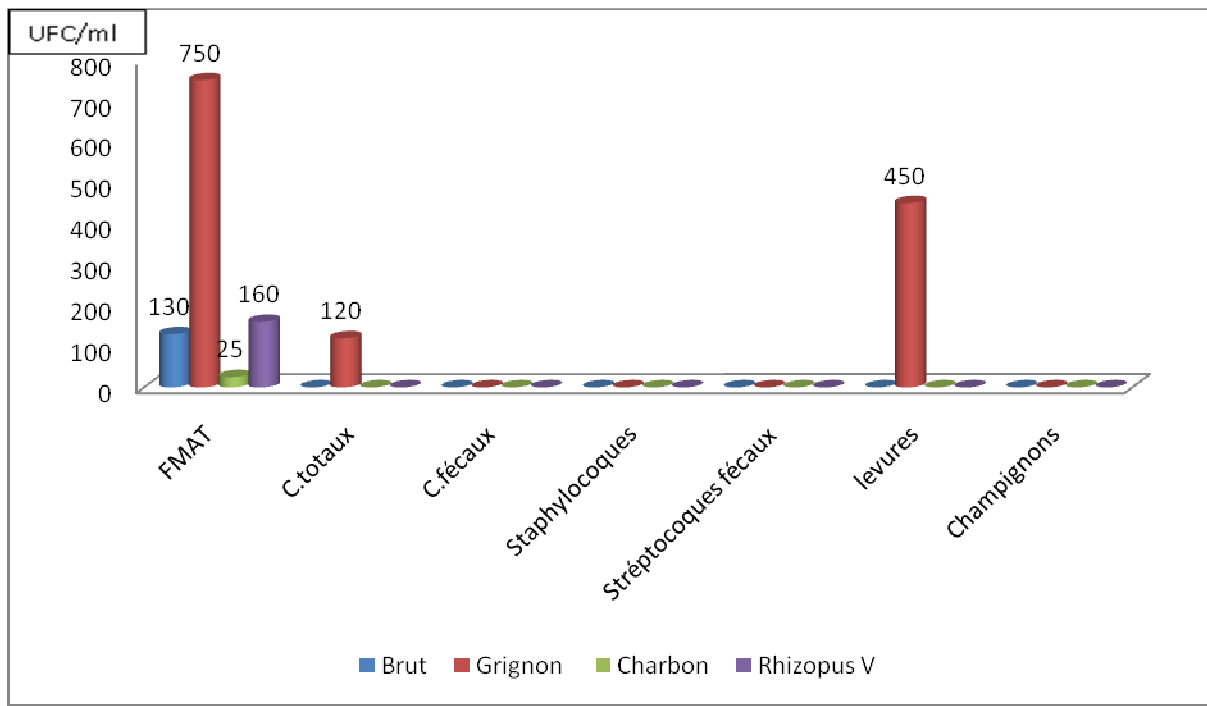


Figure 10: Evolution de la flore microbiologique dans le filtrat de chaque colonne après 3 semaines de traitement.

D'après la figure 10, nous observons l'absence totale des contaminants fécaux et pathogènes (staphylocoques) pour tous les filtrats obtenus.

Quant aux restes des microorganismes suivis, le filtrat du charbon actif a montré une faible concentration en flore mésophile aérobie totale avec un taux d'abattement de (80%) alors que pour les coliformes, les levures et les champignons aucune colonie n'a été détectée.

Concernant le *Rhizopus* vivant, la flore mésophile aérobie totale dénombrée est estimée à celle de l'effluent brut. Ceci s'explique par le fait que ces microorganismes n'ont pas été adsorbés sur la colonne de champignons vue la présence des vides entre les granules de *Rhizopus* en poudre.

Pour le grignon valorisé, l'apparition des coliformes totaux et des levures, avec l'augmentation de la flore mésophile aérobie totale, a été bien constatée. Ce qui pourrait attribuer à une contamination microbiologique du grignon après son activation et/ou à des erreurs de manipulation.

2-3-Abattement des polluants métalliques

Afin de déterminer la capacité, des nos colonnes de filtration, à éliminer les métaux lourds contenus dans l'effluent de dinanderie, deux dosages ont été effectués : l'un après quelques jours du commencement de la filtration (tableau 3) et l'autre après trois semaines du traitement (tableau 4).



Tableau 3: Abattement des métaux lourds après 5 jours de traitement d'effluent de dinanderie.

		Ag	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
Effluent brut	Concentration (mg/L)	3,053	<0,01	0,048	0,201	10,640	<0,01	150,939	0,037	0,137
Charbon actif	Concentration (mg/L)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,086	<0,01	<0,01
	Abattement (%)	-	-	-	-	-	-	99,94	-	-
Grignon activé	Concentration (mg/L)	<0,01	<0,01	0,014	0,052	0,143	<0,01	0,248	<0,01	0,167
	Abattement (%)	-	-	69,92	73,97	98,65	-	99,84	-	+
Rhizopus vivant	Concentration (mg/L)	1,621	<0,01	<0,01	<0,01	13,934	<0,01	1,955	<0,01	0,189
	Abattement (%)	46,89	-	-	-	+	-	98,70	-	+

+: Augmentation de la concentration du métal dans le filtrat

- : Rendement supérieur à 99,9%

Le dosage des métaux lourds au début du traitement (tableau 3) a révélé une haute performance d'élimination du nickel par les trois colonnes d'adsorption : le charbon actif (99,94%), le grignon activé (94,84%) et le *Rhizopus* vivant (98,70%).

Pour le reste des métaux, les abattements obtenus par le charbon actif pourraient être estimés à 100% vu que les valeurs obtenues sont inférieures à la valeur détectable par l'appareil de dosage (< 0,01). Alors que pour le grignon activé certains métaux ont été éliminés, avec des taux d'abattement importants de 69,92% pour le cobalt avec 0,014 mg/L (norme : 0,5 mg/L), de 73,97% pour le chrome avec 0,052 mg/L (norme : 2 mg/L), de 98,65% pour le cuivre avec 0,143 mg/L (norme 0,5 mg/L) et de l'argent (>99,9%), or, d'autres n'ont pas été éliminés comme le zinc avec 0,167 mg/L (norme : 5 mg/L).

Pour le champignon vivant *Rhizopus*, l'argent a été moyennement éliminé (abattement de 50%) avec 1,162 mg/L (norme : 0,1 mg/L), tandis que le zinc et le cuivre n'ont pas été éliminés. Cette apparition pourrait être d'origine fongique (cytochromes, pigments) après la lyse de certaines cellules par le broyage et l'élution. Ce qui provoque la libération de ces métaux dans le filtrat. Selon Boiron (1996), des traces d'éléments tels que le cuivre, le manganèse, le zinc et le



molybdène, sont nécessaires à la plupart des moisissures pour la production des cytochromes, des pigments, des acides organiques, etc.

Tableau 4: Abattement des métaux lourds après 3 semaines de traitement d'effluent de dinanderie.

		Ag	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
Effluent brut	Concentration (mg/L)	3,053	<0,01	0,048	0,201	10,640	<0,01	150,939	0,037	0,137
Charbon actif	Concentration (mg/L)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
	Abattement (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Grignon activé	Concentration (mg/L)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,247	<0,01	<0,01
	Abattement (%)	-	-	-	-	-	-	99,84	-	-
Rhizopus vivant	Concentration (mg/L)	<0,01	<0,01	<0,01	0,055	0,388	<0,01	41,482	<0,01	0,020
	Abattement (%)	-	-	-	72,64	96,35	-	72,52	-	85,07

L'examen du tableau 4, nous a permis de ressortir la capacité importante et très remarquable d'élimination des métaux lourds issus de la dinanderie par le charbon actif et le grignon valorisé et même après les 3 semaines de traitement, l'abattement de nickel s'est fixé à la même valeur 99,8%. Alors que pour le *Rhizopus*, cet abattement s'est diminué de 98,7% (tableau 3) jusqu'à 72,52% (tableau 4). Cette diminution est due probablement à un début de saturation des sites fixateurs du nickel.

Pour le reste des métaux, le *Rhizopus* a montré un abattement important d'argent, du chrome (72,64%), et surtout du cuivre (96,35%) et du zinc (85,07%) ; l'abattement de ces deux derniers métaux permet de renforcer la suggestion donnée précédemment pour expliquer l'évolution d'abattement de ces substances (Cu et Zn) par la formation du biofilm permettant une adsorption et/ou biosorption de ces métaux lourds par la flore microbienne spécifique si c'est le cas d'une biosorption.



Les travaux réalisés par Chouchene (2010) ont montré des capacités moyennes d'élimination du cuivre (64%) et du nickel (39%) par adsorption sur les grignons d'olives brut non activés. Cela dit que la valorisation thermique des grignons d'olives constitue la méthode la plus appropriée pour augmenter la capacité de rétention des polluants (métaux lourds), ainsi que pour la réduction de ces sous-produits oléicoles.

2-4-Evolution de la DCO et la coloration en fonction du temps

La figure suivante (figure 11) présente les abattements de la DCO et de la coloration dans les filtrats en fonction du temps :

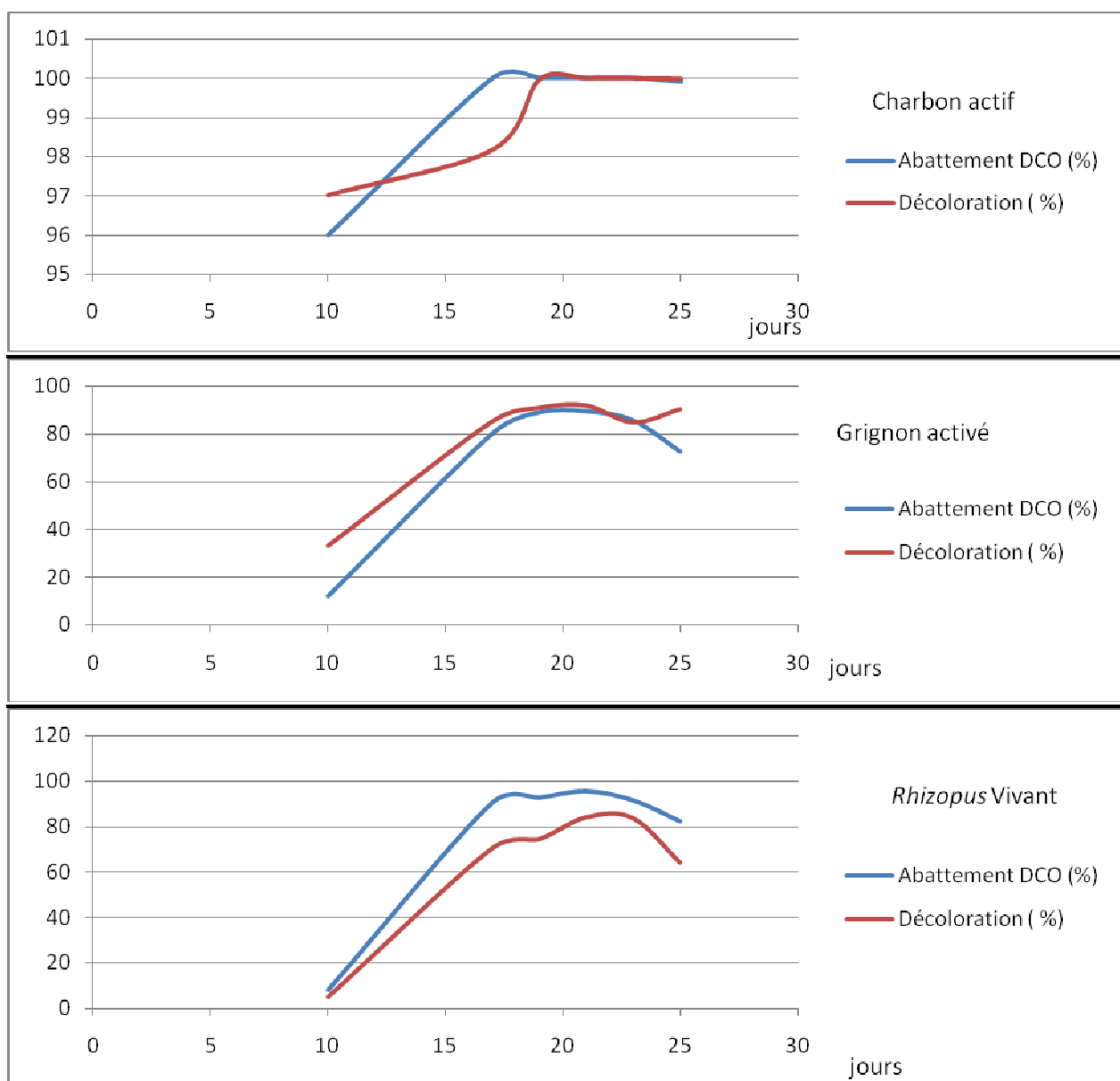




Figure 11: Evolution des abattements de la DCO et de la coloration en fonction du temps.

Comme le montre les courbes de la figure 11, les abattements de la DCO et de la coloration sont en concordance pour toutes les colonnes de filtration : La décoloration et l'élimination de la DCO s'évaluent de la même façon en fonction du temps.

Le charbon actif apparait le plus performant, dès les premiers jours de traitement, pour la décoloration ainsi que pour l'abattement de la DCO, avec un taux maximal de 100%. Alors que pour le grignon activé et le *Rhisopus* vivant, les taux maximaux de la décoloration (96% et 85% respectivement) n'ont été obtenus qu'après 18 à 21 jours.

La performance de la décoloration observée pour le charbon actif en poudre a été montrée par plusieurs auteurs (Ramakrishna et al, 1997, Malik, 2002).

III-Etude de l'optimisation du traitement de l'effluent synthétique

1- Caractérisation physicochimique de l'effluent synthétique

Les résultats obtenus pour la caractérisation du milieu synthétique (tableau 5) ne s'écartent pas largement de ceux obtenus pour l'effluent réel de dinanderie. Les mêmes polluants sont présentés (DCO, MES et la conductivité électrique) avec une augmentation remarquable de la DCO et surtout de la conductivité électrique. Ceci est attribué aux grandes quantités des sels utilisés pour préparer le milieu synthétique (les métaux lourds sont entraînés sous forme de sels dans le milieu).

Tableau 5: Caractérisation physicochimique de l'effluent synthétique.



	Valeur moyenne	Normes Marocaines du rejet direct	Normes Marocaines du rejet indirect
Température (°C)	19,5	30	35
pH	7,33	6,5-8,5	6,5-8,5
Conductivité électrique (µs/cm)	20350	2700	2700
DCO (mg d'O ₂ /L)	3983,33	500	1000
DBO ₅ (mg d'O ₂ /L)	14	100	500
NO ₂ ⁻ (mg/L)	0,112	-	-
NO ₃ ⁻ (mg/L)	9,744	-	-
NH ₄ ⁺ (mg/L)	9,055	-	-
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	4,664	10	10
MES (mg/L)	570	50	600

2- Caractérisation métallique

L'examen des résultats présentés au tableau 6, met en évidence une charge métallique très importante par rapport à l'effluent réel de dinanderie. En plus de l'argent, le nickel et le cuivre, ce milieu va nous permettre d'étudier l'abattement des nouveaux métaux non existants dans l'effluent réel (exemple : le cadmium).

Tableau 6 : Concentration moyenne des métaux lourds dans le milieu synthétique.

Métaux lourds	Valeur moyenne (mg/L)	Normes Marocaines du rejet indirect
Argent (Ag)	11,472	0,1
Cadmium (Cd)	87,910	0,2
Cobalt (Co)	0,181	1
Chrome total (Cr)	0,540	2



Cuivre total (Cu)	3,969	1
Fer (Fe)	<0,01	3
Nickel (Ni)	108,465	0,5
Plomb total (Pb)	0,020	0,5
Zinc (Zn)	0,310	5

3-Caractérisation microbiologique

Après le dénombrement, la flore mésophile aérobie totale a été de l'ordre de $1,15 \cdot 10^2$. Ce résultat apparaît semblable à celui de l'effluent brut réel. Quant aux germes restants, l'effluent réel de dinanderie comme l'effluent synthétique préparé au laboratoire a montré l'absence totale de toute contamination bactériologique.

4-Performance de la dépollution par filtration sur les colonnes d'adsorption

4-1-Abattement des paramètres physicochimiques

Les figures 12 et 13 illustrent les résultats de l'évolution de la DCO, la DBO5, les MES, la matière azotée et la matière phosphatée.

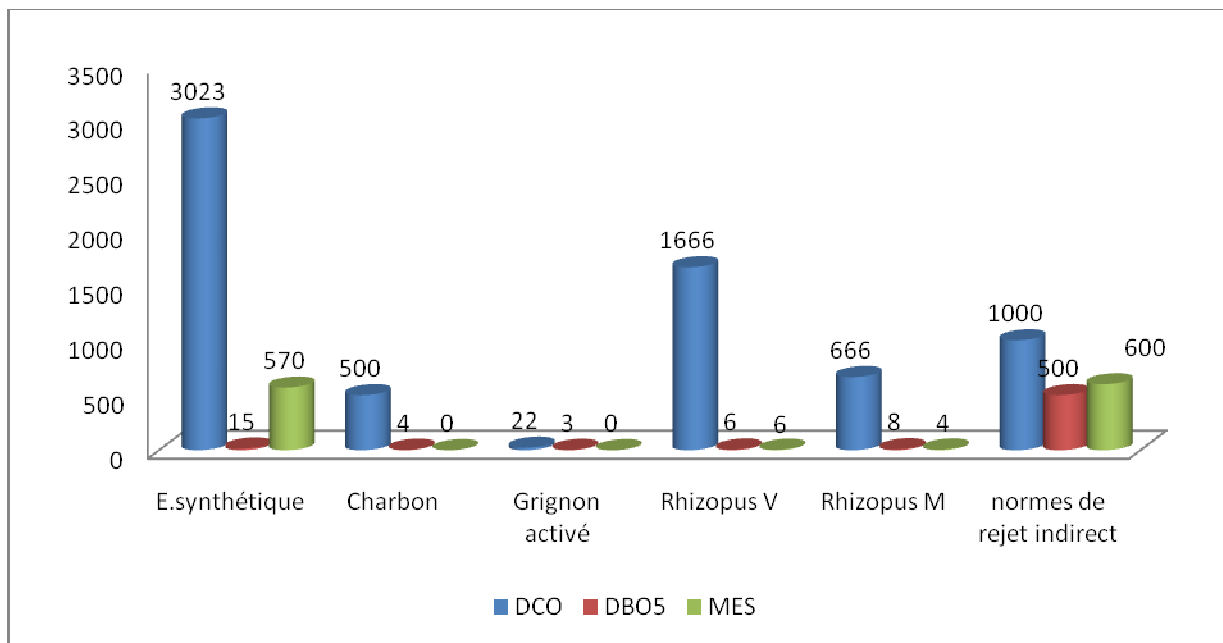


Figure 12 : Abattement de la DBO₅, la DCO et des MES après 7 jours de traitement d'effluent synthétique.

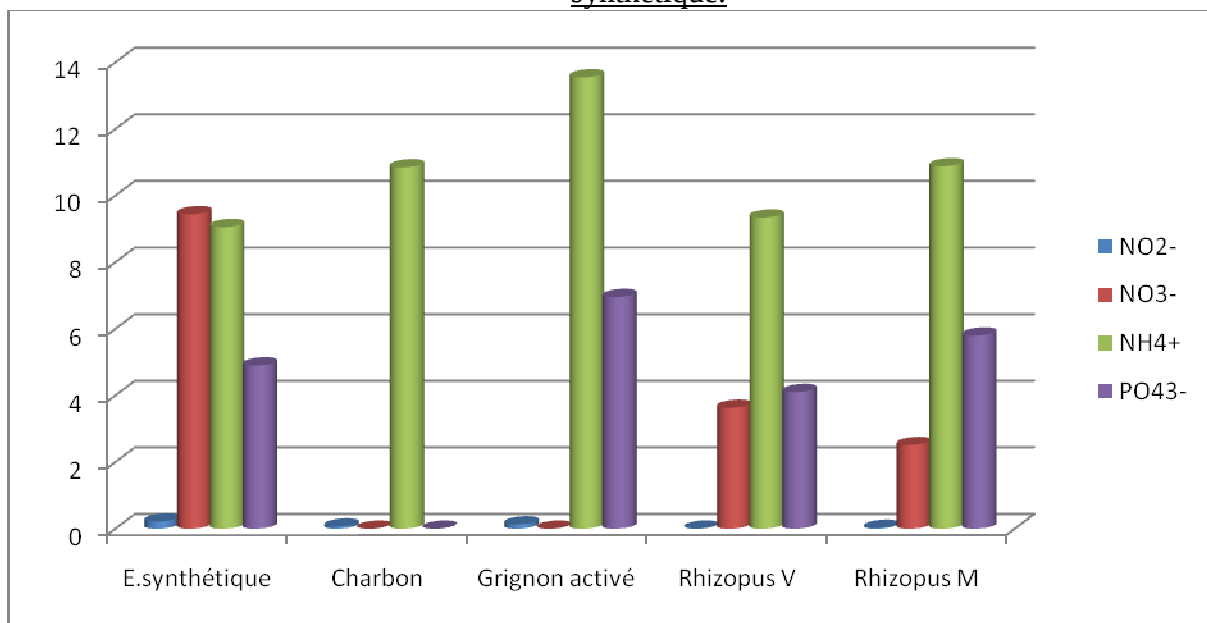


Figure13: Abattement des nitrites, des nitrates, des ions ammonium et des orthophosphates après 7 jours de traitement d'effluent synthétique.

Les deux figures 12 et 13 montrent l'abattement des différents paramètres physicochimiques étudiées. Dans cette partie, une colonne garnie de *Rhizopus* mort (*Rhizopus* M) s'ajoute aux colonnes : du charbon actif, du grignon activé et du *Rhizopus* vivant.



Le grignon valorisé a permis d'avoir un abattement de 100% des MES, de 92,2% de DCO et de 85% de conductivité électrique. Ces rendement remarquables sont expliqués, d'une forte probabilité, par l'influence du temps de contact entre l'effluent et l'adsorbant surtout que nous avons noté une diminution du débit (de 0,25 ml /min jusqu'à 0,1 min/ml).

Pour le charbon actif, les abattements obtenus sont : 100% pour les MES, 87,2% de la conductivité électrique et de 83,4% de la DCO.

Quant aux colonnes de champignon, le *Rhizopus* mort (RM) et le *Rhizopus* vivant (RV) ont donné presque les mêmes abattements en termes de conductivité (88% pour RV et 88,2% pour RM) et des MES (99,2% pour RV et 99% pour RM). Cependant, les abattements de la DCO ont été largement différents (45% pour RV et 88% pour RM), probablement à cause de la saturation des sites fixant la charge organique (DCO), en prenant compte de la différence du temps séparant le montage de la colonne RV et celui de la colonne RM.

En ce qui concerne la dépollution azotée et phosphatée (figure13), l'évolution des abattements serait expliquée de la même façon que l'effluent réel. L'abattement total des nitrates par le grignon renforce la suggestion de la dénitrification précédemment signalée.

4-2-Evolution des germes microbiologiques

Comme pour l'effluent brut de dinanderie, les analyses microbiologiques de l'effluent synthétique ont continu à donner, pour le grignon, de la flore mésophile aérobie totale (6.10^2 UFC /ml), des coliformes totaux (10^2 UFC/ml) et des levures ($5. 10^3$ UFC/ml).

Pour le reste des colonnes, aucun germe n'a été détecté dans le filtrat sauf la flore mésophile aérobie totale qui a été d'ordre de 10 à 3.10^2 UFC/ml.

4-3-Abattement des polluants métalliques

L'observation du tableau 7 permet de confirmer encore une fois la capacité importante de la rétention, aussi bien pour le charbon actif que pour le grignon activé, pour tous les métaux lourds à savoir l'argent, le cadmium, le cobalt, le cuivre, le nickel et le zinc.

Tableau 7: Abattement des métaux lourds après une semaine de traitement d'effluent synthétique



		Ag	Cd	Co	Cr	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
Effluent synthétique	Concentration (mg/L)	11,472	87,910	0,181	0,540	3,969	<0,01	108,465	0,020	0,310
Charbon actif	Concentration (mg/L)	<0,01	0,012	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
	Abattement (%)	-	99,99	-	-	-	-	-	-	-
Grignon activé	Concentration (mg/L)	<0,01	0,016	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,144	<0,01	<0,01
	Abattement (%)	-	99,98	-	-	-	-	99,87	-	-
Rhizopus vivant	Concentration (mg/L)	1,249	6,236	0,037	0,158	3,218	<0,01	95,291	<0,01	0,107
	Abattement (%)	89,11	92,91	79,67	70,67	18,92	-	12,15	-	65,61
Rhizopus mort	Concentration (mg/L)	0,683	42,312	0,073	0,070	0,607	0,241	48,096	<0,01	0,173
	Abattement (%)	94,05	51,87	60	86,97	84,72	-	55,66	-	44,18

A l'exception du nickel et du cuivre, le champignon vivant a révélé une bonne capacité éliminatrice de l'argent (89,11%), du cadmium (92,91%) et du cobalt (79,67%).

Ces résultats sont obtenus après une semaine de traitement avec le milieu synthétique et après 6 semaines d'utilisation des colonnes d'adsorption. De ce fait, les faibles rendements enregistrés pour le cuivre (18,92 %) et le nickel (12,15%), dans le cas de *Rhizopus* vivant, s'expliquent par une saturation des groupements fixateurs du nickel et du cuivre. Par conséquent, une régénération de la colonne doit être réalisée.

Quant au *Rhizopus* mort, les abattements obtenus sont moyennement importants pour le cadmium (51,87%), le cobalt (60%) et le zinc (44,18%), alors qu'ils sont très importants pour l'argent (94,05%), le chrome (86,97%) et le cuivre (84,72%). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que la colonne au *Rhizopus* mort n'est pas complètement saturée en terme d'adsorption des métaux lourds. Dans le cas où la saturation sera complète, une régénération de la colonne, par un éluant, pourrait



être effectuée pour la réutilisation. Selon Bishnoi et Garima, (2005), l'acide phosphorique et l'acide chlorhydrique sont des éluants convenables pour une biomasse de *Rhizopus* ou de *Penicillium*.

L'ensemble de ces résultats nous laisse donc conclure que le *Rhizopus* est un champignon capable d'éliminer les différents métaux lourds soit vivant ou mort, ce qui ouvre les portes devant de nouveaux axes de recherches visant principalement la valorisation des déchets fongiques issus des industries agro-alimentaires et pharmaceutiques.

IV-Identification des biofilms

La recherche de la flore microbienne constituant les biofilms a concerné les quatre colonnes de filtration tout en utilisant des milieux divers sélectifs. Les résultats de l'isolement ont révélé la formation du biofilm seulement sur la colonne au grignon activé.

Par conséquent, les abattements obtenus pour les différents polluants étudiés ont été le résultat d'une adsorption sur le charbon actif et sur le champignon mort et vivant, et d'une adsorption/biosorption sur le grignon activé.

À partir du grignon, nous avons pu isoler les germes suivants :

- Des levures
- Des coliformes
- Des staphylocoques jaunes soupçonnés d'être *Staphylococcus aureus*. La confirmation par un test catalase et Dnase devait être effectuée.
- Des bactéries dénitrifiantes homogènes, de petite taille et de couleur blanche.

La présence des bactéries dénitrifiantes confirme donc l'abattement des nitrates par biosorption sur le grignon valorisé.

En conclusion, cette partie d'étude a permis d'isoler des bactéries et les levures isolées qui peuvent être utilisées, par la bioaugmentation, dans le traitement des effluents de dinanderie.

Conclusion générale

L'objectif de notre étude consistait à optimiser un système de traitement des effluents de dinanderie par filtration sur colonne d'adsorption.



En effet, des colonnes d'adsorption sur le charbon actif, le grignon activé et le champignon mort et vivant, ont été préparées, et des essais sur l'effluent synthétique et l'effluent réel de dinanderie ont été effectués. Ainsi des suivis physicochimiques, microbiologiques et métalliques des effluents et des filtrats ont été réalisés afin d'évaluer la capacité épuratrice de chacun de ces support de filtration.

La caractérisation de l'effluent de dinanderie a révélée une forte charge polluante en terme de DCO (2827 mg d'O₂/L), des MES (550 mg/L), de conductivité électrique (6550 µs/cm) et des métaux lourds comme : l'argent (3,053 mg/L), le cuivre (10,640 mg/L) et le nickel (150,939 mg/L) vue la spécificité de cet effluent qui s'est avéré non traitable par voie biologique puisque le rapport DBO₅/DCO est inférieur à 0,2.

Les abattements obtenus après trois semaines de traitement sont les suivants :

- Pour le charbon actif : 100% de la DCO, de la DBO₅ et des MES et 65% de la conductivité électrique, 100% d'argent, 100 % de cuivre et 100% de nickel.
- Pour le grignon valorisé : 86% de la DCO, 100% de la DBO₅ et des MES, 58% de la conductivité électrique, 100% d'argent, 100% de cuivre et 99,84% de nickel.
- Le *Rhizopus* vivant : 85% de la DCO, 80% de la DBO₅, 64% de la conductivité électrique, 99% des MES, 100% d'argent, 96,35 % de cuivre et 72,52% de nickel.

Quant aux résultats de la décoloration, nous avons obtenus des rendements atteignant jusqu'à 100% pour le charbon actif, 96% pour le grignon activé et 85% pour le champignon vivant.

Concernant l'effluent synthétique, presque les mêmes valeurs on été retrouvées pour la caractérisation physicochimique, microbiologique et métallique avec une apparition de nouveaux métaux comme le cadmium.

Les résultats des analyses effectuées après 7 jours de filtration, sur les mêmes colonnes précédemment utilisées avec une nouvelle colonne garnie de *Rhizopus* mort, ont montré les abattements suivants :

- Pour le charbon actif : 83,4% de la DCO, 87,2% de la conductivité électrique, 100% des MES, 100% d'argent, 100% de cuivre, 100% de nickel et de 99,99% de cadmium.
- Pour le grignon valorisé : 92,2% de la DCO, 85% de la conductivité électrique, 100% des MES, 100% d'argent, 100% de cuivre, 99,87% de nickel et de 99,98 % de cadmium.



- Le *Rhizopus* vivant : 45% de la DCO, 88% de la conductivité électrique, 99,2% des MES, 89,11% d'argent, 18,92% de cuivre, 12,15% de nickel et de 92,91% de cadmium.
- Le *Rhizopus* mort : 88% de la DCO, 88,2% de la conductivité électrique, 99% des MES, 94,05% d'argent, 84,72% de cuivre, 55,66% de nickel et de 51,87% de cadmium.

L'étude du biofilm a permis d'isoler, à partir de la colonne au grignon activé, des Staphylocoques, des coliformes, des levures et des bactéries dénitrifiantes.

En conclusion, le charbon actif a montré, dès les premiers jours de traitement, une haute performance épuratrice qui pourrait être comparable à celle du grignon activé surtout pour la rétention des métaux lourds.

Perspectives

Pour mener à l'appui les résultats obtenus, certaines perspectives apparaissent importantes à prendre par considération

- Refaire la PCR pour la souche fongique utilisée pour une identification plus fiable et plus détaillée.
- Utiliser d'autres adsorbants pour le traitement des effluents de dinanderie tels que : les argiles, les cendres...
- Tester la capacité d'éliminer la pollution métallique par filtration en utilisant d'autres supports garnis de : *Fusarium sp*, *Mucor sp*, *Aspergillus sp*, *Pénicillium sp*...etc



- Etudier l'influence de certains paramètres physiques et chimiques sur l'adsorption sur le grignon et le champignon comme la taille des granules, le pourcentage de vide, les concentrations initiales des métaux lourds, le temps de séjours,
- Essayer d'isoler d'autres germes du biofilm sur d'autres milieux sélectifs et de les identifier par les techniques moléculaires afin de les mettre au profit de la bioaugmentation.
- Appliquer ces supports d'adsorption (grignon activé et champignon) pour le traitement des effluents autre que la dinanderie (textile, tannerie...).
- Penser à une extrapolation de ces procédés de filtration à grande échelle dans le but d'une valorisation des déchets (grignon d'olives, champignon...) d'une part, et de dépolluer les effluents de dinanderie d'autre part. Ce type de traitement a l'avantage économique et environnemental.

Références bibliographiques :

Aksu. Z, Acikel.U,(2000). Modelling of a single-staged bioseparation process for simultaneous removal of iron(III) and chromium(VI) by using chlorella vulgaris,Biochem.Eng. J. 4 229–238.

Ansari M.I, Malik A, (2007). Biosorption of nickel and cadmium by metal resistant bacterial isolates from agricultural soil irrigated with industrial wastewater, Bioresource Technol.(98) 3149–3153.

Apiratikul R, Pavasant P, (2008). Batch and column studies of biosorption of heavy metals by caulerpa lentillifera, Bioresource Technol. 99 2766–2777.

Bajpai VK, Kang SC, Heu SG, Shukla S, Lee SW, Baek KH, (2010). Microbial conversion and anticandidal effects of bioconverted product of cabbage (Brassica oleracea) by Pectobacterium carotovorum pv. carotovorum 21. Food Chem Toxicol 48:2719—24.

Barro, (2001). Plan local de l'habita et du développement urbain de Fès.

Bianchi, V. et Levis, A.G, (1985). Mechanisms of chromium genotoxicity. Dans: Carcinogenic and mutagenic metal compounds. Gordon and Breach Science Publ., Londres, R.-U. p. 269



Bishnoi NR et Garima, (2005). Fungus-an alternative for bioremediation of heavy metal containing wastewater: a review. *J. Sci. Ind. Res.*, 65 .pp. 93–100.

Boiron P. (1996). Organisation et biologie des champignons. Nathan. Paris. P. 19-79.

Botton B, Breton A, Fevre M, Gauthier S, Guy Ph, Larpent J.P, Reymond P.,Sanglier J.J, Vayssier Y,Veau P, (1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle. Edition Masson, 511p

Buasri1.A, Chaikut.N, Tapang.K, Jaroensin S, Panphrom.S, (2012). Biosorption of Heavy Metals from Aqueous Solutions Using Water Hyacinth as a Low Cost Biosorbent *Civil and Environmental Research*. pp 2222-2863

Cahagnier B et Richard-Molard D, (1998). In : Moisissures des aliments peu hydratés. Lavoisier.Tec et Doc. Paris. p 152.

Castoldi A.F., Coccini T., Manzo L., 2003. Neurotoxic and molecular effects of methylmercury in humans. *Rev. Environ. Health*, 18: 19–31.

Chouchene. A, (2010). In : Etude expérimentale et théorique de procédés de valorisation de sous-produits oléicoles par voies thermique et physico-chimique.Université de Haute Alsace.

Deng L, Su Y, Su H, Wang X, Zhu X, (2006). Biosorption of copper(II) and lead(II) from aqueous solutions by nonliving green algae *Cladophora f. ascularis*: equilibrium, kinetics and environmental effects, *Adsorption* 2 267–27

Dursun A.Y, (2006) A comparative study on determination of the equilibrium, kinetic and thermodynamic parameters of biosorption of copper (II) and lead(II) ions onto pretreated aspergillus niger, *Biochem. Eng. J.* (28) 187–195.

Duverneuil. P, Fenouillet.B, Chaffot.C, (1997). Récupération des métaux lourds dans les déchets et boues issues des traitements des effluents : état de l'Art. Association Record. P 134.

Gadd, G M (1993). Interaction of fungi with toxic metals. *New Phytol* 124: 25-60.

Geiser DM, Klich MA, Frisvad JC, Peterson SW, Varga J et Samson RA (2007). The current status of species recognition and identification in *Aspergillus*. *Studies in Mycology* 59: 1-10

Grimm. A, Zanzi. R, Bjornbom.E, Cukierman A.L, (2008). Comparison of different types of biomasses for copper biosorption, *Bioresource Technol.* 99

Gulis, G., Czompolyova, M., Cerhan, J. H.,(2002). An Ecologic Study of Nitrate in Municipal Drinking Water and Cancer Incidence in Travna District, Slovakia. *Environmental Research*, 88, 182-187



Gupta V.K, Rastogi A, Saini V.K, Jain N, (2006). Biosorption of copper(II) from aqueous solutions by *spirogyra* species, *J. Colloid Interface Sci.* 296 59–63.

Hosea M, Greene B, McPherson R, Henzl M, Alexander MD, Darnall DW (1986). Accumulation of elemental gold on the alga *Chlorella vulgaris*. *Inorg Chim Acta* 123:161–165

Iqbal. A, Shaheen. Z, Farah. A, (2005). Heavy Metal Biosorption potential of *Aspergillus* and *Rhizopus* sp. isolated from Wastewater treated soil. *J. Appl. Sci. Environ. Mgt.* Vol. 9 (1) 123 – 126

Iribar A, (2007). In : Composition des communautés bactériennes dénitrifiantes au sein d'un aquifère alluvial et facteurs contrôlant leur structuration: relation entre structure des communautés et dénitrification. Université Toulouse III

Jobin .P, 2006. Maladies industrielles et syndicats au Japon, éditions de l'EHESS.

Kang. S, Lee. J, Kima. K, (2007). Biosorption of Cr(III) and Cr(VI) onto the cell surface of *pseudomonas aeruginosa*, *Biochem. Eng. J.* (36) 54–58.

Jacques R.A, Limaa E.C, Dias S.L.P, Mazzocato A.C, Pavan F.A, (2007). Yellow passionfruit shell as biosorbent to remove Cr(III) and Pb(II) from aqueous solution, *Sep. Purif. Technol.* (57) 193–198.

Kasprzak K.S, Sunderman U F.W, Salanikow K, (2003). Nickel carcinogenesis. *Mutat. Res.* 533 (1-2), 67,.

Khamlichi, L. (1997). Etude de la survie des indicateurs de la Pollution fécale et de la répartition des Bactéries Blessées dans les eaux usées de la ville de Fès. Thèse de doctorat de 3^{ème} cycle, Fac. Sc. Dhar el Mahraz Fès

Laurent, F. (2012). Agriculture et pollution de l'eau : modélisation des processus et analyse des dynamiques territoriales. Thèse de doctorat, Fac Sc. Maine France.

Lidsky T.I., Schneider J.S., 2003. Lead neurotoxicity in children: basic mechanisms and clinical correlates. *Brain* 100: 284–293.

Luo F, Liu Y, Li X, Xuan Z. Ma J, (2006). Biosorption of lead ion by chemically modified biomass of marine brown algae *laminaria japonica*, *Chemosphere* 64 1122–1127.

Majone F. et Rensi D., 1979. Mitotic alterations, chromosome aberrations and sister chromatid exchanges induced by hexavalent and trivalent chromium on mammalian cells in vitro. *Caryologia*, 32: 379.

Malik P.K, (2002). Use of activated carbons prepared from saw dust and rice-husk for adsorption of acid dyes: a case study of acid yellow 36. *Dyes Pigments*, 56, pp. 239-249.

Marchal N, Bourdon J.L, Richard C, (1982). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin éditeurs, Paris, 482 pages.

Martins B.L, Cruz C.C.V, Luna A.S, Henriques C.A, (2006). Sorption and desorption of Pb²⁺ ions by dead sargassum sp biomass, *Biochem. Eng. J.* 27 310



Maury M. (1987), Milieux et réactifs de laboratoire. Microbiologie et immunologie Diagnostic Pasteur, 727.

Merzouki M, (2001). Déphosphatation anoxique d'effluents par voie biologique : Optimisation et mise en œuvre d'un procédé intégré de dépollution azotée et phosphorée. Thèse de Doctorat d'Etat. 150 p.

Mohammad R. M, Farshid P. S, Babak B, Hydrodynamics and oxygen transfer behaviour of water in diesel microemulsions in a draft tube airlift bioreactor, Chem. Eng. Proc, 46, 334-342 (2006).

Mohan .D et Singh K.P,(2002).Water Res. 36 2304–2318.

Mohan .D, Pittman C.U, P.H. Steele Jr, (2006).Colloid Interface Sci. 297 489–504.

Mungasavalli D.P, Viraraghavan T, Jin Y.C, (2007). Biosorption of chromium from aqueous solutions by pretreated aspergillus niger: batch and column studies, Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects 301 214–223.

Mutin Georges, (2007). Le Monde Arabe face au défi de l'eau : Enjeux et conflits, Lyon, France, Service Général des Publications Lyon 2,

Naidja . L, (2010). Elimination du colorant orange II en solution aqueuse par voie photochimique et par adsorption. Univ. Mentouri.Constantine.Algérie.

Nefzaoui A, (1984). Importance de la production oléicole et des sous-produits de l'olivier. In : Etude de l'utilisation des sous-produits de l'olivier en alimentation animale en Tunisie. Étude FAO production et santé animales 43, Rome

Nur Muhammad, (1989). Removel of Heavy Metals by Slow Sand Filtration Loughborough University of Technology.

Niu H, Volesky B (1999) Characteristics of gold biosorption from cyanide solution. J Chem Tech Biotechnol (74)778–784

OMS, (1989). L'utilisation des eaux usées en agricultures et en aquaculture : recommandation à visées sanitaires. Rapp.tech.

Orhan. Y, Hrenovic. J, Buyukgungor. H, (2006). Biosorption of heavy metals from wastewater by biosolids, Eng. Life Sci.(6) 399–402.

Ouarychi, M. (1999). Contribution au traitement et à la valorisation des déchets solides et liquides de tanneries et de dinanderie implantées à Fès – Thèse d'état, Fac. Sc. Dhar el Mahraz Fès

Pavasant. P, Apiratikul.R, Sungkhum.V, Suthiparinyanont. P, Wattanachira.S,

Tuzun I, Bayramoglu G, Yalcin E, Basaran G, Celik G, Arica M.Y, (2005).Equilibrium and kinetic studies on biosorption of Hg(II), Cd(II) and Pb(II) ions onto microalgae chlamydomonas reinhardtii, J. Environ. Manage. 77 85–92.



RADEEF,(1991). Plan directeur de l'assainissement (PDA) du grand Fès. Mission A. rapport final, volume 1..

Ramade F. (1992). Précis d'écotoxicologie. Paris, Masson. 224 pp.

Ramakrishna K.R., Viraraghavan T,(1997). Dye removal using low cost adsorbents, Water Sci. Technol.36 189-196.

Rao R.A.K, Khan N.A, (2007). Removal and recovery of Cu(II), Cd(II) and Pb(II) ions from single and multimetal systems by batch and column operation on neem oil cake (NOC), Sep. Purif. Technol. 57 394–402.

Regine H. S, Vieira1.F, Volesky.B,(2000). Biosorption: a solution to pollution?. International microbiol.(3)17–24

Rodier J, (1996). L'analyse de l'eau (eaux naturelles, eaux résiduelles et eaux de mer) 8^{ème} édition, Dunod, Paris. .

Romera E , Gonzalez F, Ballester A, Blazquez M.L, Muñoz J.A, (2007).Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae, Bioresource Technol. 98 3344–3353.

Ronchetti N,R, Koppe J.G, (2006). Cadmium and children: exposure and health effects. *Acta Paediatr.* 95 (Suppl.), 50–54

Sabhi, Y. (1998). Etude des Tendances des Contaminations des organismes Marins de la Côte Méditerranéenne Marocaine par les Métaux Lourds (Hg, Cd, Pb, Cr, Ni, Tl, Zn et Cu). Aspects Environnementaux et expérimentaux.Thèse de doctorat d'Etat, Fac. Sc. Dhar el Mahraz Fès.

Schoeters G, Den Hond E, Zuurbier M, Naginiene R, Van den Hazel P, Stilianakis Simitzis.L Zoumpoulakis et S SoulisAdami (2002). DSC curing study of catalytically synthesized maleic-acid-based unsaturated polyesters. *Polymère International*, p 308-318;

Sisca O. L, Novie F, Felycia E. S, Jaka S, Suryadi I, (2009). Studies on potential applications of biomass for the separation of heavy metals from water and wastewater.Biochemical Engineering Journal (44) 19–41.

U.S. Environmental Protection Agency. 1985. Health effects criteria document for chromium. Criteria and Standards Division, Office of Drinking Water, Washington.

Vilar V.J.P, Botelho C.M.S, Boaventura R.A.R. (2007). Modeling equilibrium and kinetics of metal uptake by algal biomass in continuous stirred and packed bed adsorbents, Adsorption 13 587–601.

Volesky. B, (1987) Biosorbents for metal recovery. Trends Biotechnol (5) 96–101.

Volesky B et Kuyucak N (1988). Biosorbent for gold. US Patent No. 4,769,233

Volesky B, Weber J, Park J.M, (2003). Continuous-flowmetal biosorption in a regenerable



sargassum column, Water Res. 37 297–306.

White TJ, Bruns T, Lee S et Taylor J (1990). Amplification and direct sequencing of fungi ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Ninsky JJ, White TJ (Eds.), *PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, San Diego, CA, pp. 315-322

Witek-Krowiak, A., Szafran, R.G. & Modelski, S. (2011), “Biosorption of heavy metals from aqueous solutions onto peanut shell as a low-cost biosorbent”, *Desalination* 265, 126-134.