



Année Universitaire : 2017-2018

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Master Sciences et Techniques

BIOTECHNOLOGIE MICROBIENNE

*Evaluation de la capacité épuratrice des souches
bactériennes isolées à partir des lixiviats de la
décharge contrôlée de la ville de Fès*

Présenté par :

❖ Mme. BOUGHADI Imane

Encadré par :

❖ Pr. MERZOUKI Mohammed

Soutenu le 11 Juin 2018 devant le jury composé de :

- ❖ Pr. Mohammed MERZOUKI : Encadrant
- ❖ Pr. Naima El GHACHTOULI : Examinatrice
- ❖ Pr. Soumya El ABED : Examinatrice

Lieu de stage : Laboratoire de Biotechnologie à la faculté des sciences Dhar El Mahraz

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES

☒ B.P. 2202 – Route d'Imouzer – FES

☒ 212 (35) 60 80 14 – 212 (35) 60 96 35 – 212 (35) 60 29 53 – Fax : 212 (35) 60 82 14

Dédicace

*Au nom d'ALLAH le tout puissant le miséricordieux, à son prophète
MOUHAMED, je dédie ce travail.*

A mes très chers parents,

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime de dévouement et le
respect que j'ai toujours eu pour vous, rien au monde ne vaut les efforts fournis
jour et nuit pour mon éducation et mon bien être, ce travail est le fruit de vos
sacrifices et vos efforts.*

A mon cher mari,

*La personne qui a su guider mes pas égarés vers un horizon plus clair, plus
joyeux,*

A mes chers frères et sœurs,

*Vous avez toujours été présents Pour les bons conseils, votre affection et votre
soutien m'ont été d'un grand secours au long de ma vie.*

A vous mes chers professeurs,

En gratitude à votre encouragement, conseils et patience.

A tous mes ami(e)s

Remerciements

Mes premières remerciements s'adressent à mon encadrant Professeur **MERZOUKI MOHAMMED**, et Directeur du laboratoire de biotechnologie à la Faculté des Sciences DHAR EL MAHRAZ, dont les consignes et les remarques divulgués tout au long de mon travail m'ont été d'un grand apport , pour le temps aussi qu'il m'a consacré tout au long de cette période. Je tiens à remercier également madame **EL GHACHTOULI NAIMA** professeur à la Faculté des Sciences et Technique de Fès, pour sa participation au déroulement de ce travail ainsi pour ses consignes et ses remarques. Mes reconnaissantes s'adressent aussi au professeur **EL ABED SOUMYA**, de m'avoir fait l'honneur en acceptant d'évaluer ce travail. Merci à tous les membres du laboratoire de biotechnologie : **OUMAIMA, NABIL, SALOUA, KARIMA, FATIHA, HALIMA, HAJAR, LAILA**, pour leur accueil sympathique, leurs conseils, et réponses à toutes mes interrogations, ainsi que les bons moments que j'ai eu à passer avec vous.

Merci 

DEDICACE ET REMERCIEMENTS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE.....1

PARTIE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Déchets solides au Maroc.....3

I.1. Définition.....3

I.2. Classification des déchets.....3

I.3. Production des déchets.....4

I.4 Impact des déchets sur l'environnement et la santé humaine.....5

II. Lixiviats de la décharge publique contrôlée.....6

II.1. Définition des lixiviats.....6

II.2. Mécanismes de formation de lixiviats.....6

II.3. Types de lixiviats.....7

II.4. Composition des lixiviats.....8

II.5. Types de polluants présents dans les lixiviats.....9

II.6. Mode de fonctionnement d'une décharge contrôlée.....10

III. Procédés de traitement des lixiviats.....11

III.1. Procédés membranaires.....12

III.1.1. Nanofiltration.....12

III.1.2. L'osmose inverse.....12

III.2. Procédés biologiques.....13

III.2.1. Les lagunes.....13

III.2.2. Traitement aérobie.....14

III.2.3. Traitement anaérobie.....14

III.2.4. Réacteur séquentiel discontinu (SBR).....14

III.3. Procédés de traitements physico-chimiques.....16

III.3.1. Filtration.....16

III.3.2. Flottation.....17

III.3.3. Coagulation-floculation.....18

III.3.4. Précipitation chimique.....19

III.3.5. Adsorption.....19

PARTIE 2 : MATERIEL ET METHODES

I. La décharge publique contrôlée de Fès.....21

II. Caractérisation physicochimique et microbiologique des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès.....24

II.1. Analyses physicochimiques des lixiviats de la décharge.....24

II.1. pH.....24

II.2. conductivité électrique.....25

II.3. Demande chimique en oxygène (DCO).....25

II.4. Demande biochimique en oxygène (DBO5).....26

II.5. Matière en suspension (MES).....27

II.6. Dosage des nitrites.....27

II.7. Dosage des nitrates.....27

II.8. Dosage de l'ammonium.....28

II.9. Dosage des orthophosphates.....28

II.10. Dosage des sulfates.....28

II.2. Analyses microbiologiques des lixiviats de la décharge.....29

II.2.1. Flore mésophile aérobie totale (FMAT).....29

II.2.2. Coliformes totaux et fécaux.....29

II.2.3. Streptocoques fécaux.....29

II.2.4. Staphylocoques.....29

II.2.5. Levures.....30

III. Isolement des souches bactériennes à partir des lixiviats.....30

1. Isolement et dénombrement des colonies bactériennes à partir des lixiviats.....30

2. Purification des souches bactériennes.....30

3. Conservation des isolats bactériens.....30

4. Caractérisation des isolats bactériens.....31

a. Etude macroscopique.....31

b. Etude microscopique : coloration de Gram.....31

IV. Traitement des lixiviats par les isolats bactérien.....32

1. Lixiviat utilisé pour le traitement.....32

2. Isolats bactériens utilisés pour le traitement.....32

3. Traitement des lixiviats par les isolats bactériens.....32

V. Etude de l'effet antagoniste des isolats bactériens.....33

PARTIE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Résultats de la caractérisation physicochimique et microbiologique des lixiviats de la décharge publique contrôlée de Fès.....	35
1. Caractérisation physicochimique des lixiviats.....	35
2. Caractérisation microbiologique des lixiviats.....	38
II. Isolement des bactéries à partir des lixiviats.....	39
1. Dénombrement des colonies bactériennes.....	39
2. Caractérisation des isolats bactériens.....	40
a. Caractéristiques macroscopiques.....	40
b. Caractères microscopiques : Coloration de Gram.....	41
III. Traitement des lixiviats de la décharge contrôlée de Fès par bioaugmentation.....	41
1. Etude comparative de la variation de la DCO.....	41
2. Etude comparative de la variation des taux d'élimination de la DCO.....	45
3. Recherche de l'effet antagoniste entre les isolats bactériens.....	49
CONCLUSION GENERALE.....	51
PERSPECTIVES.....	52
LISTE DES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	53
ANNEXES.....	58

Liste d'abréviations :

DBO₅ : Demande Biologique en Oxygène pendant 5 jours

DCO : Demande Chimique en Oxygène

DO : Densité optique

MES : Matières en suspension

NO₃- : Nitrate

NO₂- : Nitrite

NH₄⁺ : Ammonium

PO₄ : Orthophosphate

SBR : Sequencing Batch Reactor

AGV : Acide gras volatiles

MAP : Phosphate d'ammonium magnésien

Da : Dalton

Fe : Fer

Al : Aluminium

Zn : Zinc

Cd : Cadmium

Cr : Chrome

Cu : Cuivre

Ni : Nickel

Mn : Manganèse

Pb : Plomb

NH₄⁺ : Ammonium

CH₄ : Méthane

CO₂ : Dioxyde de carbon

Ca₂⁺ : Calcium

Liste des figures :

➤ Figure 1 : Bassins de stockage des lixiviats de la décharge contrôlée publique de Fès.....	10
➤ Figure 2 : Principe de fonctionnement de l’osmose inverse.....	12
➤ Figure 3 : Principe de fonctionnement du SBR.....	14
➤ Figure 4 : Aspect visuel des Cendres A) volantes à charbon, B) de Foyer (mâchefer).....	16
➤ Figure 5 : Principe de la flottation.....	17
➤ Figure 6 : principe de la coagulation-floculation.....	18
➤ Figure 7 : Principe d’adsorption sur charbon actif.....	20
➤ Figure 8 : L’entrée de la décharge contrôlée de Fès située à 12 km du centre-ville sur la rocade de Sidi Harazem.....	21
➤ Figure 9 : Situation de la nouvelle décharge publique contrôlée.....	21
➤ Figure 10 : Site du prélèvement des échantillons de lixiviats.....	23
➤ Figure 11 : Photo d'un pHmètre.....	24
➤ Figure 12 : Photo d’un DCO-mètre.....	25
➤ Figure 13 : Photo d’un DBO-mètre.....	25
➤ Figure 14 : Schémas explicatif du protocole de recherche des bactéries antagonistes par la méthode de surcouche.....	32
➤ Figure 15 : Photos des boites de Pétri montrant les colonies bactériennes isolées sur la gélose nutritive.....	37
➤ Figure 16 : Photos des boites de Pétri montrant les colonies bactériennes isolées sur LB agar.....	38
➤ Figure 17 : Cinétique d’abattement de la DCO dans les lixiviats traités par les isolats à la concentration de 2%.....	43
➤ Figure 18 : Cinétique d’abattement de la DCO dans les lixiviats traités par les isolats à la concentration de 4%.....	44
➤ Figure 19 : Cinétique d’abattement de la DCO dans les lixiviats traités par les isolats à la concentration de 6%.....	45
➤ Figure 20 : Cinétique d’abattement de la DCO dans les lixiviats traités par les isolats bactériens des suspensions enrichis.....	46

Liste des tableaux :

➤ Tableau 1 : Répartition de la production des déchets ménagers dans quelques régions du Maroc.....	5
➤ Tableau 2 : Caractéristiques principales des différents types de lixiviats.....	7
➤ Tableau 3 : Caractéristiques physicochimiques des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès.....	29
➤ Tableau 4 : Résultats des analyses physicochimiques des lixiviats.....	34
➤ Tableau 5 : Résultats des analyses microbiologiques des lixiviats.....	36
➤ Tableau 6 : Caractéristiques macroscopiques des colonies des isolats bactériens.....	37
➤ Tableau 7 : Résultats de la coloration de Gram des bactéries isolées.....	40
➤ Tableau 8 : Cinétique d'évolution de la DCO dans les lixiviats traités par les isolats bactériens des suspensions enrichies (unités en mg/L).....	41
➤ Tableau 9 : L'action antagoniste des isolats bactériens.....	47

Introduction :

La gestion des déchets solides au Maroc constitue un enjeu économique et environnemental. En effet l'accroissement démographique et l'évolution des modes de vie, de production et de consommation ont entraîné une augmentation importante du volume de déchets solides dans les pays en voie de développement et particulièrement au Maroc.

D'ailleurs, selon le troisième rapport sur l'état de l'environnement du Maroc en 2015, la production globale des déchets solides, au cours de ces dernières années, est d'environ 6,9 millions de tonnes/an. La quantité produite des déchets urbains est de 5,3 millions de tonnes/an, soit l'équivalent de 0,76 kg par jour et par habitant. Celle des déchets ruraux est de l'ordre de 1,6 million de tonnes/an, ce qui équivaut à 0,3 kg par jour et par habitant [1].

Ainsi l'accroissement de la quantité des déchets solides engendre un impact négatif sur la santé publique et l'environnement, notamment au niveau de la saturation des décharges qui constitue une source d'émission d'un gaz à effet de serre qui est le méthane et de la contamination des eaux souterraines et de surface par la percolation ou la lixiviation des matériaux qui y sont déposés.

Le lixiviat est un effluent complexe dont la composition est aléatoire et varie en fonction de la nature des déchets, l'âge de la décharge, la technique d'exploitation et les conditions climatiques [2]. Leur charge polluante est souvent importante. De ce fait les lixiviats devraient subir un traitement avant d'être rejetés vers le milieu naturel.

Dans les pays en voie de développement, et particulièrement au Maroc, le mode de gestion des déchets solides le plus utilisé est la mise en décharge, particulièrement en décharges contrôlées où les déchets urbains sont rejetés à l'état brut. Alors que les déchets industriels et hospitaliers subissent une gestion et un traitement par des sociétés spécialisées. De manière générale, ces décharges sont à l'origine de nuisances multiples et fréquentes : odeurs fétides, chiens enragés, auto incinération et fumées asphyxiantes, poussières et objets volants, biogaz et lixiviats...etc. La conséquence majeure et inévitable d'une mise en décharge est la production d'un lixiviat pouvant émerger de sérieux problèmes écologiques.

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'un projet original financé par le Ministère de l'environnement en 2014 sous la Coordination du Professeur **Mohammed MERZOUKI**, et qui consiste à traiter les lixiviats de la décharge de Fès dans un réacteur séquentiel discontinu (RSD),

couplé à une colonne de filtration à l'échelle pilote. L'objectif principal de ce travail de Master est le suivant :

L'isolement et la sélection des souches bactériennes à partir des lixiviats de la décharge de Fès, afin d'évaluer leur capacité de dégrader la matière organique présente dans ces lixiviats et de les utiliser par la suite dans le traitement par bioaugmentation à l'échelle pilote.

Ce travail est structuré en trois parties :

- ✚ La première partie de ce mémoire est consacrée à l'étude bibliographique portant sur les lixiviats des centres d'enfouissement et de leur impact sur l'environnement, ainsi que sur les différentes méthodes de traitement de cet effluent.
- ✚ Dans la deuxième partie, consacrée aux techniques expérimentales, nous décrivons le matériel et les méthodes employés.
- ✚ Enfin la troisième partie sera réservée à la présentation de l'ensemble des résultats et leur discussion.

Partie I : Revue bibliographique

I. Déchets solides au Maroc

I.1 Définition

Au sens de la loi 28-00 relative à la gestion des déchets solides et à leur élimination, on entend par déchet tous résidus résultant d'un processus d'extraction, d'exploitation, de transformation, de production, de consommation, d'utilisation, de contrôle ou de filtration, et d'une manière générale, tout objet et matière abandonné ou que le détenteur doit éliminer pour ne pas porter atteinte à la santé, à la salubrité publique et à l'environnement [3].

Depuis quelques décennies, le Maroc a connu une forte croissance de la population urbaine. Avec la croissance démographique, l'urbanisation rapide, l'évolution des modes de consommation et l'intensification des activités économiques, la production des déchets est en constante augmentation [4]. Ces déchets sont de nature très variées tels que les déchets des ménages, des unités industrielles, des espaces verts, de l'agriculture et les déchets hospitaliers [5], dont les nuisances deviennent inquiétantes. La plupart des déchets produits sont absorbés par la nature ou dilués par des rejets dans les cours d'eau et/ou dans l'atmosphère.

I.2. Classification des déchets solides

Selon le projet de loi 28-00 relative à la gestion des déchets et à leur élimination [6], on distingue différents types de déchets :

- **Déchets ménagers** : tous déchets issus des activités des ménages, ainsi que les déchets analogues provenant des activités industrielles, commerciales, artisanales ou autres.
- **Déchets industriels** : tous déchets non ménagers résultant d'une activité industrielle, minière ou artisanale ou similaire.
- **Déchets médicaux** : tous déchets issus des activités de diagnostic, de suivi et de traitement préventif, curatif ou palliatif dans le domaine de la médecine humaine ou vétérinaire, des hôpitaux publics, des cliniques et des cabinets privés, de la recherche scientifique ou de laboratoire d'analyses opérant dans ces domaines.
- **Déchets agricoles** : déchets organiques générés directement par des activités agricoles, agro-industrielles ou par l'élevage.

- **Déchets dangereux** : tous déchets qui par leurs constituants ou par les caractéristiques des matières nocives qu'ils contiennent sont susceptibles de nuire à la collectivité ou à l'environnement et dont la liste est fixée par voie réglementaire.
- **Déchets inertes** : proviennent de l'exploitation des carrières, des mines, des travaux de démolition, de construction ou de rénovation et qui ne sont pas constitués ou contaminés par des substances dangereuses ou autres éléments générateurs de nuisances. Ils ne sont pas biodégradables et ne se détériorent pas avec les autres matières avec lesquelles ils entrent en contact.
- **Déchets ultimes** : tous résidus résultant ou non du traitement d'un déchet, qui n'est plus susceptible d'être traité dans les conditions techniques et économiques du moment, notamment par extraction de la part valorisables ou par réduction de son caractère polluant ou dangereux.
- **Déchet encombrants** : tous déchets provenant des ménages qui par leur poids, leur dimension ou leur volume ne peuvent être chargés dans les véhicules de collecte avec les déchets ménages ordinaires et qui doivent faire l'objet d'une collecte spéciale.
- **Déchets biodégradables** : tous déchets pouvant subir une décomposition biologique naturelle anaérobie ou aérobie, comme les déchets alimentaires, les déchets de jardins ainsi que le papier et le carton.
- **Déchets assimilés aux déchets ménagers** : tous déchets qui par leur nature, leur composition, leur caractéristiques sont similaires aux déchets ménagers provenant des activités économiques, commerciales, artisanales ou des établissements collectifs.

I.3. Production des déchets au Maroc

La production des déchets au Maroc a considérablement augmenté pendant des dernières décennies. Cette augmentation est due au degré d'urbanisation lié à l'évolution démographique, ainsi à l'amélioration du niveau de vie et à l'évolution du mode de vie des populations, avec notamment une impressionnante augmentation des déchets d'emballage (biscuits, plats cuisinés ou encore lingettes nettoyantes), en plus des spécificités de la région (touristique, agricole, industrielle, etc). Le grand Casablanca est la région la plus productrice de déchets ménagers par rapport aux autres régions du Royaume [1].

Tableau 1 : Répartition de la production des déchets ménagers dans quelques régions du Maroc [1]

Région	Déchet en (t)
Chaouia-Ourdigha	199 778
Doukala- Abda	103 631
Fès- Boulmane	291 073
Gharb-Chrarda-Benihsen	193 030
Grand Casablanca	1 097 625
Guelmim- Esmara	58 342
Laayoune- Boujdour- Sakia Elhamra	74 460
Marrakech – Tensift – Alhaouz	225 007
Meknès – Tafilalt	182 034
Oriental	272 434
Oued Addahab – Laguirra	12 775
Rabat – Sale – Zemour – Zair	603 177
Souss –Massa – Draa	212 948
Tadla – Azilal	79 200
Tanger – Tétouan	408 104
Taza – Elhoceima	139 885

I.4. Impact des déchets solides sur l'environnement et la santé humaine

L'utilisation intensive et abusive des ressources et le rejet des déchets dans l'environnement contribuent à détériorer notre milieu, Ils provoquent des altérations du milieu environnant à cause de leurs charges en matières en suspension et en polluants organiques dissous qui sont toxiques et peuvent être persistants. Ce changement a un impact sur la société, la santé humaine, l'économie, les espèces vivantes, la production alimentaire, le tourisme et l'écologie [7].

Les rejets sont souvent acheminés dans les décharges et c'est là où la grande contamination des eaux commence, la plupart des décharges se trouvent à l'air libre, quand il pleut les déchets biodégradables se mélangent avec de l'eau et cette réaction produit un carbone organique qui peut provoquer les pluies acides. Par la suite ces pluies acides polluent les différentes sources de l'eau comme les rivières, les fleuves et les océans. De plus, l'eau passe à travers des déchets, descend dans le sol et pendant des jours elle continue jusqu'à ce qu'elle atteigne les nappes phréatiques. En conséquence les nappes phréatiques se retrouvent contaminées avec divers polluants comme les métaux lourds, les produits du nettoyage et les déchets toxiques.

Ainsi la mauvaise gestion des déchets est à l'origine du problème de la santé publique, ces dernières contiennent des germes pathogènes (virus, bactéries, parasites) responsables de nombreuses maladies infectieuses [4], et qui peuvent avoir de nombreux effets néfastes sur la santé comme : l'intoxication et la pollution dues au rejet de produits pharmaceutiques (antibiotiques et médicaments cytotoxiques), la pollution des eaux usées et intoxication par ces eaux, et l'intoxication et la pollution par des éléments ou des composés toxiques, comme le mercure ou les dioxines libérées au cours d'une incinération.

II. Lixiviats de la décharge publique contrôlée

II.1. Définition du lixiviat

Le lixiviat représente la fraction liquide qui provient de la percolation de l'eau à travers les déchets qui y sont déposés. Ce « jus de décharge » résulte donc de la solubilisation de composés lors de la percolation non uniforme et intermittente de l'eau à travers la masse de déchets [8]. Plus communément, le lixiviat provient de l'eau qui percole à travers les déchets en se chargeant bactériologiquement et chimiquement en substances minérales et organiques dissoutes ou en suspension.

II.2. Mécanismes de formation de lixiviat

La genèse du lixiviat dépend principalement de la teneur en humidité [9], lorsque cette dernière dépasse la valeur maximale de rétention qui est définie comme la valeur maximale de liquide que peut retenir un milieu poreux sans produire de percolat [10]. En effet plusieurs facteurs agissent dans la formation des lixiviat y compris les facteurs climatiques et hydrogéologiques (les pluies, la neige, les eaux souterraine), la qualité des déchets (l'âge, la perméabilité, la teneur initiale en humidité, la taille des particules), et les mécanismes internes (décomposition des composés organiques, formation de biogaz et de la chaleur). Les mécanismes de la genèse des lixiviat sont très complexes, ils sont de natures biologique et physico-chimique :

- ❖ **Les mécanismes physico-chimiques:** l'évolution du pH, du pouvoir tampon, de la salinité et du potentiel d'oxydoréduction des solutions percolant à travers les déchets. Ces solutions mettent en œuvre des mécanismes chimiques de solubilisation, de complexation, d'oxydoréduction, d'adsorption, de neutralisation et de transfert de matière.
- ❖ **Les mécanismes biologiques:** les processus biologiques aérobies et anaérobies jouent un rôle prépondérant dans la genèse des lixiviat. En effet, les déchets enfouis servent de substrats aux micro-organismes hétérotrophes (bactéries, levures, champignons) responsables de la dégradation de la fraction organique fermentescible. Les effets de cette activité microbologique peuvent être multiples, directs ou indirects et déclencher des phénomènes physico-chimiques secondaires.

II.3. Types de lixiviats

Trois types de lixiviats ont été distingués :

- **Lixiviats jeunes (< 5 ans)** : Ces lixiviats sont constitués principalement par des acides gras volatiles, ils ont une charge organique élevée biodégradable, suite à leur pH qui est relativement bas (< 6,5) ils peuvent être chargés en métaux (jusqu'à 2 g/l) [11].
- **Lixiviats intermédiaires** :

Ces lixiviats sont caractérisés par un pH voisin de la neutralité, une charge en métaux qui est négligeable et une faible charge organique qui est due à l'émergence des composés de hauts poids moléculaires, en effet au fur et à mesure que la décharge vieillit les déchets se stabilisent.

- **Lixiviats stabilisés (> 10 ans)** :

Ces derniers sont caractérisés par une charge organique très faible et par la présence des composés de haute poids moléculaire tel que les acides fulviques et humiques. Ils correspondent à la phase de maturation de la décharge [12]. Le tableau ci-dessous présente les caractéristiques des différents types de lixiviats.

Tableau 2 : Caractéristiques principales des différents types de lixiviats [11].

	Lixiviats jeunes	Lixiviats intermédiaires	Lixiviats stabilisés
Age de la décharge	< 5 ans	5 à 10 ans	>10 ans
pH	< 6.5	6.5 à 7.5	> 7.5
DCO (g/l)	10 à 20	5 à 10	< 5
DBO ₅ /DCO (Biodégradabilité)	> 0.5 Bonne	0.1 à 0.5 0.2 Assez faible	< 0.1 Très faible
AGV* (% du COT)	> 70	5 à 30	< 5

II.4. Composition des lixiviats

Le lixiviat est un effluent complexe, il caractérise la décharge dont il est issu. Plusieurs paramètres influencent la composition du lixiviat, parmi eux il y a : la nature et l'âge des déchets, leur degré de décomposition, leur taux d'humidité, leur température, le taux d'infiltration de l'eau dans les déchets, les conditions climatiques, l'âge de la décharge et la topographie du site. Malgré sa complexité, les lixiviats relèvent classiquement quatre groupes de polluants [13] :

- ❖ La matière organique dissoute ou en suspension, issue de la biomasse, exprimée généralement en DCO (les AGV, les substances humiques et fulviques...)
- ❖ Les composés organiques anthropiques (hydrocarbures aromatiques, phénols, composés aliphatiques chlorés...)
- ❖ Les composés minéraux majeurs : Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , NH_4^+ , Fe^{2+} , Mn^{2+}
- ❖ Les métaux lourds (Zn, Cd, Cr, Cu, Ni, Pb...) à l'état de traces.

II.5. Types de polluants présents dans les lixiviats

- **Acides gras** : ce se sont des hydrocarbures, formés d'une chaîne de carbones liés à des hydrogènes, présents dans les aliments d'origine animale et végétale. Ils se répartissent en trois grandes familles selon le nombre de doubles liaisons éthyléniques : les acides gras saturés, les acides gras mono-insaturés (la chaîne carbonée contient une double-liaison), et les acides gras polyinsaturés (contenant plusieurs doubles-liaisons).
- **Composés ligno-cellulosiques**

Les composés ligno-cellulosiques (lignine, hémicellulose et cellulose) sont présents dans la paroi des cellules des végétaux. Leur présence dans la décharge est due aux 12 % de déchets verts (bois, herbe, feuilles) et aux 25% de papiers, cartons et journaux entreposés [14].

- **Plastifiants**

Ce sont des oligomères ajoutés aux matériaux, afin de les rendre plus flexibles et résistants, Les principaux plastifiants utilisés sont les esters d'acides dicarboxyliques de haut point d'ébullition appelés : phtalates.

- **Phénols**

Ce sont des composés chimiques aromatiques, très utilisé en industrie des matières plastiques (résines phénoliques, bisphénol A...), ils constituent des polluants de l'air de sol et de l'eau, ils ont été identifiés dans plusieurs lixiviats [15].

➤ **Pesticides**

Ce sont des composés phytosanitaires utilisés pour la lutte contre les organismes qui sont considérés comme nuisibles. Ils rassemblent les insecticides, les fongicides, les herbicides, les parasitocides et plusieurs résidus de pesticides ont été trouvés dans les lixiviats comme : le lindane, le bentazone, le 2,6- dichlorobenzamide, l'atrazine... [15].

➤ **Métaux lourds**

Appelés également éléments-traces métalliques, plusieurs métaux lourds ont été identifiés dans les lixiviats à de faibles concentrations comme le Mg, Fe, As, Cd, Cr, Co, Cu, Pb, Ni et le Zn. Les métaux lourds existants dans les déchets migrent pendant plusieurs années dans les décharges [16].

II.6. Mode de fonctionnement d'une décharge contrôlée

La mise en décharge constitue à l'origine une technique d'élimination des déchets, facile à mettre en œuvre et relativement peu coûteuse, et la plus utilisée dans le monde. Sans gestion adéquate, elle peut toutefois engendrer divers problèmes, tant sur les plans hygiénique et sanitaire, qu'environnemental. Ces dernières années, au Maroc, l'enfouissement des déchets ménagers et assimilés demeure la méthode la plus privilégiée à cause du taux excessif d'humidité qu'ils recèlent d'une part, et la non maîtrise d'autres filières comme l'incinération ou le compostage d'autre part [17].

Le fonctionnement d'une décharge peut être assimilé à un réacteur bio-physico chimique donnant lieu à des réactions et à des évolutions complexes qui aboutissent à la transformation chimique, physique et biologique des déchets. Du fait des conditions géologiques et hydrologiques du site, de la nature des déchets stockés et du mode de gestion de l'exploitation, chaque centre de stockage est un cas unique. Il n'est donc pas envisageable de déterminer avec précision un mode d'évolution qui serait applicable à tous les centres. Cependant, certains phénomènes sont communs à la majorité des sites et peuvent être quantifiés, permettant ainsi de caractériser l'évolution générale d'une installation de stockage, en particulier en ce qui concerne les aspects biologiques, physicochimiques, hydrauliques et géotechniques:

- Les matières biodégradables mises en décharge font l'objet d'une évolution biologique sous l'action des bactéries aérobies puis des bactéries anaérobies, en l'absence de dispositions particulières, l'eau qui s'écoule à travers la masse des déchets produit des lixiviats en se chargeant de substances chimiques et biologiques.

- Les déchets stockés, et souvent les sols qui les entourent, sont constitués de matériaux hétérogènes sur le plan de leur qualité physique. Les casiers et les alvéoles subissent donc des tassements qui modifient leurs caractéristiques mécaniques et géotechniques.
 - Des réactions chimiques ou physiques conduisent à la destruction partielle de la matière et à la solubilisation de certaines espèces ou à leur transformation en gaz [18].
 - Les déchets stockés, et souvent les sols qui les entourent, sont constitués de matériaux hétérogènes sur le plan de leur qualité physique. Les casiers et les alvéoles subissent donc des tassements qui modifient leurs caractéristiques mécaniques et géotechniques.
- L'objectif actuel du stockage de ces déchets est d'assurer un confinement efficace et suffisamment durable des déchets ainsi qu'une maîtrise adaptée des deux types d'effluents générés, les lixiviats et le biogaz, qui sont à l'origine des principaux impacts environnementaux et sanitaires des décharges [5].



Figure 1 : Bassins de stockage des lixiviats de la décharge contrôlée de Fès

III. Procédés de traitement des lixiviats

Les lixiviats sont des effluents complexes, dont la composition est très variable d'où la nécessité du couplage entre les traitements biologiques (aérobies ou anaérobies) qui sont adaptés aux lixiviats biodégradables et les traitements physico-chimiques (précipitation, coagulation/ floculation, adsorption, oxydation, stripping) qui sont préférentiellement utilisés pour des lixiviats stabilisés ou pour éliminer un polluant ciblé.

III.1. Procédés membranaires

III.1.1. Nanofiltration

En raison de ses propriétés uniques entre l'ultrafiltration et l'osmose inverse, la nanofiltration a montré ses preuves dans l'élimination des composés organiques récalcitrants et des métaux lourds provenant des lixiviats [19,20]. Ce procédé a la capacité d'éliminer les particules d'un poids moléculaire supérieur à 300 Da, ainsi que les substances inorganiques à travers des interactions électrostatiques entre les ions et les membranes. La nanofiltration utilise généralement des membranes en polymère moléculaire de coupure entre 200 et 2000 Da [21]. Elle a été utilisée en combinaison avec des méthodes physiques et il s'est avéré que les résultats obtenus sont satisfaisants. En effet, le taux d'abattement de la DCO obtenu est de l'ordre de 70-80% [22].

Toutefois, la réussite de la technologie des membranes nécessite un bon contrôle contre le colmatage. En effet, lors du traitement des lixiviats, les composés présents dans la matrice comme la matière organique et inorganique dissoute et les particules en suspension peuvent colmater la membrane.

III.1.2. L'osmose inverse

L'osmose inverse semble être l'une des méthodes les plus prometteuses dans le traitement des lixiviats. En effet, plusieurs études effectuées à la fois à l'échelle du laboratoire et à l'échelle industrielle ont montré l'efficacité de ce procédé dans l'élimination des contaminants présents dans les lixiviats [23,24]. Les taux d'abattement de la DCO et des métaux lourds sont respectivement supérieurs à 98 et 99%. A partir de 1984, les modules tubulaires et spiraux ont été les premiers utilisés pour le traitement des lixiviats. Une technologie innovante a été introduite sur ce marché en 1988 avec un grand succès, c'est le disque-tube-module (DT-module) mis au point par Pall-Exekia [25].

En dépit de ses avantages, l'osmose inverse présente plusieurs inconvénients qui sont : la faible rétention des petites molécules qui passent à travers la membrane et la possibilité de dépôt de substances dissoutes ou en suspension à la surface externe de la membrane [26]. Autre limitation de l'osmose inverse est la forte consommation d'énergie. Peters [27] a précisé que le coût de la consommation d'énergie représentait environ 60-80% du coût de traitement.

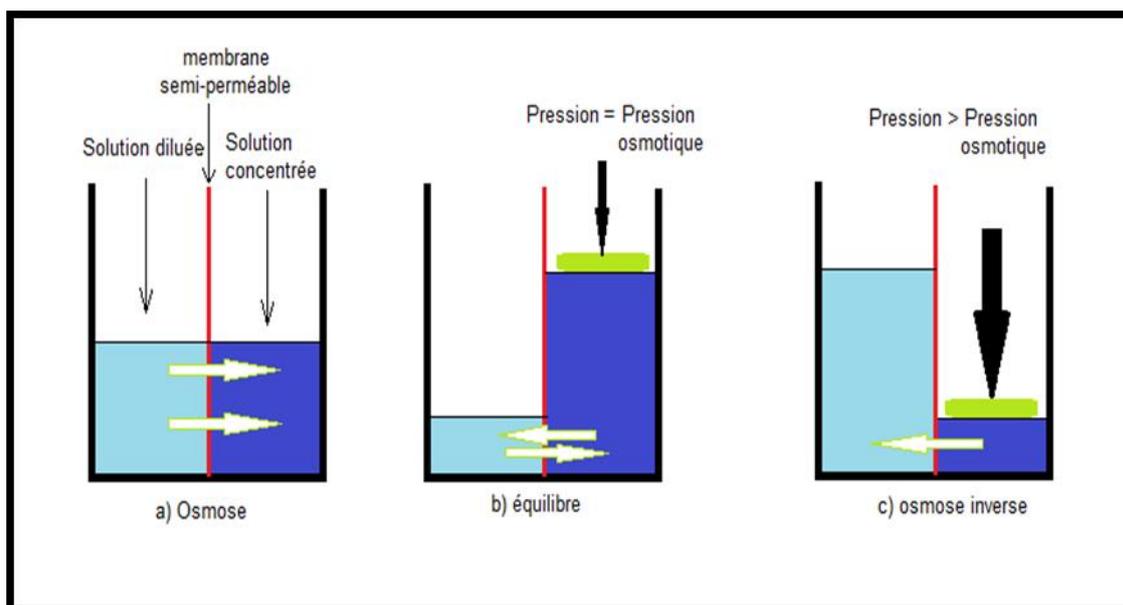


Figure 2 : Principe de fonctionnement de l'osmose inverse

III.2. Procédés biologiques

Le traitement du lixiviat par voie biologique est surtout applicable et efficace sur des lixiviats jeunes et non stabilisés [28], il permet d'éliminer simultanément la pollution organique et azotée. La biodégradation se fait par l'intervention des microorganismes qui sont capables de dégrader les composés organiques dans des conditions aérobies ou anaérobies.

En présence d'oxygène ces composés sont éliminés sous forme de CO₂ avec production des boues, alors qu'en absence d'oxygène ces derniers sont éliminés sous forme de biogaz : mélange gazeux comprenant principalement du CO₂ et CH₄. [29].

III.2.1. Les lagunes

Le lagunage peut contribuer à l'épuration des lixiviats fortement biodégradables grâce à la présence de larges surfaces d'adsorption sur des sédiments, des plantes ou encore des racines, à des interfaces aérobies-anaérobies ainsi qu'à une population microbienne active très variée. Les performances du traitement dépendent essentiellement du temps de séjour (20 à 30 jours) et de l'homogénéisation au sein de la lagune (transfert d'oxygène, contact bactéries / effluent).

Cette technique est largement utilisée dans les pays en voie de développement du fait de leur rusticité, du peu de compétences techniques exigées et surtout des faibles coûts de fonctionnement et de maintenance engendrés [28].

III.2.2. Traitement aérobie

Le traitement biologique aérobie fait intervenir des microorganismes présents naturellement dans le milieu naturel et qui permettent la dégradation des polluants présents, les bactéries peuvent être libres (boue activée, lagunage) [30], ou fixées (lit bactérien, filtres plantés, filtres à sable, bio-filtre) ou même sous forme de biodisques. L'O₂ peut être apporté naturellement par le vent ou artificiellement à travers des turbines dans les petites installations de lagunage et dans les stations d'épuration de type "boues activés". Ce processus est révélé efficace dans l'élimination des polluants organiques et de l'ammoniac, mais il présente certains inconvénients tels que : La demande d'une grande période d'aération [31], La haute demande énergétique et l'excès de la production de boues, une inhibition microbienne due à la haute teneur en azote ammoniacal [29].

III.2.3. Traitement anaérobie

La dégradation anaérobie consomme peu d'énergie contrairement à la digestion aérobie et produit très peu de matière solide, En outre, il est possible d'utiliser le CH₄ produit pour réchauffer le digesteur qui travaille habituellement à 35 °C. Le majeur inconvénient de ce procédé est sa sensibilité aux substances toxiques [3].

III.2.4. Réacteur séquentiel discontinu (SBR)

Le procédé SBR est un procédé de Réacteur Séquentiel Discontinu ou en anglais sequencing batch reactor (SBR) dont le fonctionnement est basé sur le temps, contrairement aux procédés à boues activées classiques, basés sur l'espace. Ainsi sa particularité réside dans le fait que toutes les phases du traitement (aération, décantation et clarification), se déroulent dans une même cuve, qui en fonction de l'étape il tient le rôle du bassin d'aération (traitement aérobie), agitation (traitement anaérobie) et du décanteur (séparation des phases solides et liquide). Le premier SBR fut installé au début des années 1900 et fonctionnait selon un système de remplissage et de vidange alternatif. Le système SBR était efficace au niveau du traitement mais demandait une surveillance constante. Il fut donc abandonné et refit surface à la fin des années 1970 suite à la mise au point d'appareils de régulation automatiques fiables et peu coûteux. L'évolution et la popularisation de ces équipements ont fait en sorte que, de nos jours, le procédé SBR est devenu très concurrentielles à bien des égards : économie, performance et fiabilité [32].

Le procédé SBR repose sur le principe du traitement biologique aérobie des effluents par cycles. Les avantages de ce procédé sont les suivants :

- ❖ Procédé compact.
- ❖ Coûts d'installation et de fonctionnement plus faibles.

- ❖ Rendement épuratoire élevé.
- ❖ Pas de recirculation des boues.
- ❖ Elimination de l'azote en raison que dans le procédé SBR, il y'a une phase aérobie permettant l'oxydation de l'azote ammoniacal en nitrite puis en nitrate (nitrification), suivie éventuellement d'une phase anaérobie permettant une dénitrification.
- ❖ Elimination du phosphore par modification des séquences de fonctionnement, mais sans ajout d'ouvrages supplémentaires.
- ❖ Bonne fiabilité technique.
- ❖ Besoin en main d'œuvre limité.
- ❖ Possibilités e rejet direct des effluents traités dans le milieu naturel.

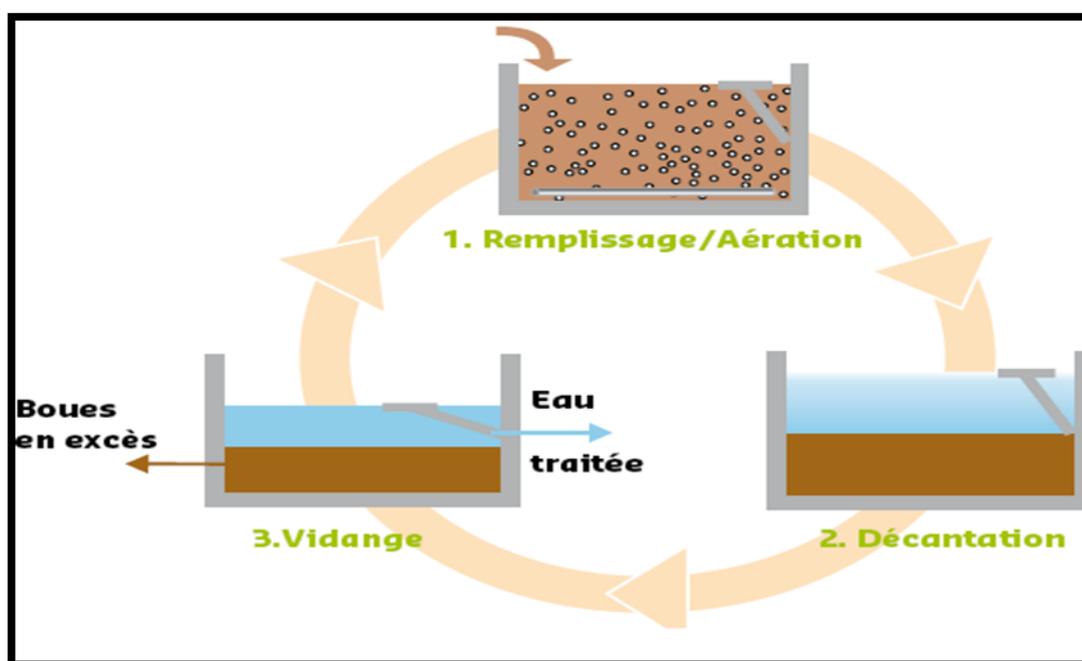


Figure 3 : Principe de fonctionnement du SBR

III.3. Procédés de traitement physico-chimiques

III.3.1. Filtration

La filtration est la technique la plus largement répandue pour traiter les effluents en raison de la faible dépense énergétique qu'elle entraîne, de la faible technicité demandée pour son entretien et de sa facilité d'intégration au site. Elle repose sur l'utilisation des certains supports ayant une capacité épuratrice importante. On peut distinguer :

- **les filtres à sable :**

Un filtre à sable est constitué de plusieurs couches de sable de qualité et de granulométrie adéquate, à travers lesquelles circule l'eau à vitesse relativement faible, la filtration sur sable permet d'enlever les particules solides suspendues dans l'eau.

Les principes d'épuration mis en œuvre sont donc simples:

- La décantation préalable des effluents bruts, effectuée dans un ouvrage spécifique, permet un premier abattement des MES.
- La filtration des matières en suspension résiduelles s'effectue essentiellement en surface du filtre.
- La dégradation de la pollution dissoute est réalisée par la biomasse présente dans le filtre.
- La limitation du développement de la biomasse bactérienne est obtenue par auto-oxydation au cours des phases de repos.
- L'oxygénation des massifs filtrants s'effectue naturellement par échange gazeux avec l'atmosphère [33].

- **Les cendres volantes :**

Les cendres volantes sont des poudres fines issues de la combustion du charbon pulvérisé dans les chaudières des centrales thermiques. Elles sont entraînées par les flux des rejets gazeux engendrés par la réaction de combustion et sont ainsi captées par des filtres électrostatiques qui les séparent de ces rejets gazeux. Les cendres volantes possèdent un pouvoir pouzzolanique qui se manifeste par deux phénomènes successifs: la combinaison avec la chaux pour former des composés insolubles (silicates de chaux hydratés stables) puis le durcissement [5].

Les cendres de foyer (ou mâchefers) sont aussi des résidus solides issues de la combustion du charbon dans une centrale thermique. Contrairement aux cendres volantes qui sont très fines et récupérées au niveau des électro-filtres, les cendres de foyer ont une forme granulométrique similaire au sable et sont récupérées à la sortie de la chaudière puis refroidies à l'eau.

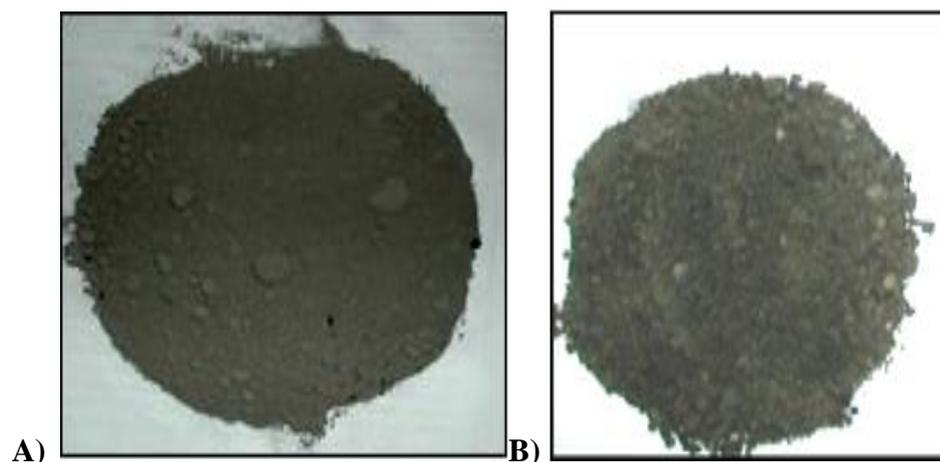


Figure 4 : Aspect visuel des Cendres A) volantes à charbon, B) de Foyer (mâchefer).

- **Charbon active :**

Les charbons actifs se caractérisent essentiellement par l'existence d'un réseau poreux bien développé constitué majoritairement de micropores et de mésopores de différents diamètres, possédant un pouvoir adsorbant très important. Par conséquent, ces derniers constituent les adsorbants les plus fabriqués et les plus utilisés industriellement [5].

III.3.2. Flottation

Pendant de nombreuses années, la flottation a été largement utilisée. Elle est basée sur l'élimination des colloïdes, des ions, des macromolécules, des micro-organismes et des fibres, cependant, jusqu'à ce jour, très peu d'études ont été consacrées à l'application de la flottation pour le traitement des lixiviats. L'utilisation d'une colonne de flottation comme une étape de post-traitement pour éliminer l'acide humique résiduel (composés non biodégradables) des lixiviats de décharges. Sous les conditions optimales, près de 60% d'acide humique a été éliminé.

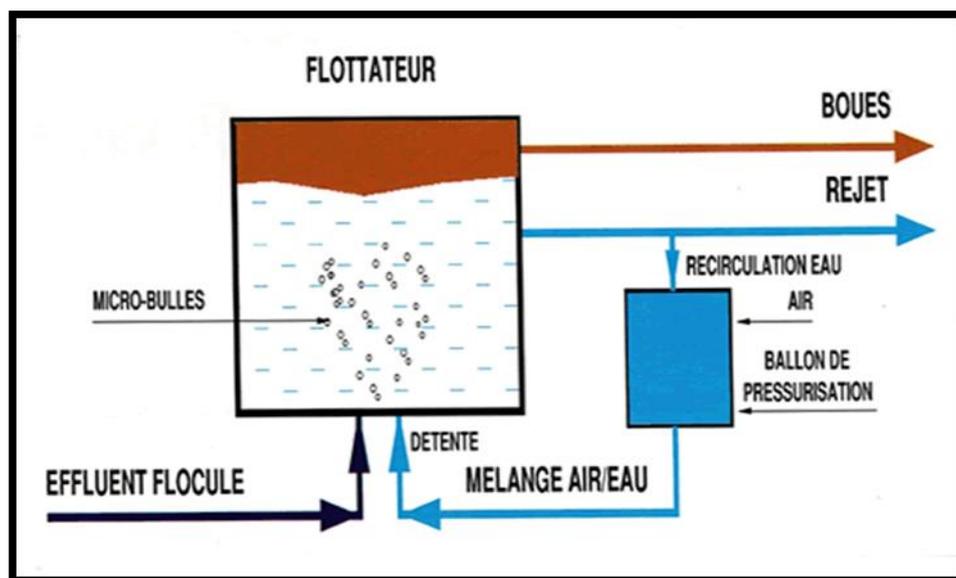


Figure 5 : Principe de la flottation

III.3.3. Coagulation-Floculation

La coagulation a pour but principal de déstabiliser les particules en suspension c'est-à-dire de faciliter leur agglomération. Ce procédé est caractérisé par l'injection et la dispersion de produits chimiques (coagulants). Il consiste à ajouter à l'eau un électrolyte permettant de neutraliser les charges négatives qui sont à l'origine du maintien en suspension stable.

On utilise généralement des sels d'un métal trivalent, Fe^{3+} ou Al^{3+} . Le choix du coagulant et du floculant dépend de la nature de l'eau à traiter, et des tests préalables qui doivent être réalisés. La floculation a pour but de favoriser, à l'aide d'un mélange lent les contacts entre les particules déstabilisées. Ces particules s'agglutinent pour former un floc qu'on pourra éliminer par décantation.

La coagulation-floculation peut être utilisée avec succès dans le traitement des vieux lixiviats [34]. Elle est largement utilisée comme un prétraitement [35] avant l'osmose inverse ou avant les procédés biologiques pour protéger la biomasse de l'agression des éléments toxiques des rejets (cas des boues activées) ou encore comme la dernière étape de traitement afin d'éliminer la matière organique bio-récalcitrante. Le sulfate d'aluminium, le sulfate ferreux, le chlorure ferrique et le chloro-sulfate ferrique ont été couramment utilisés comme coagulants.

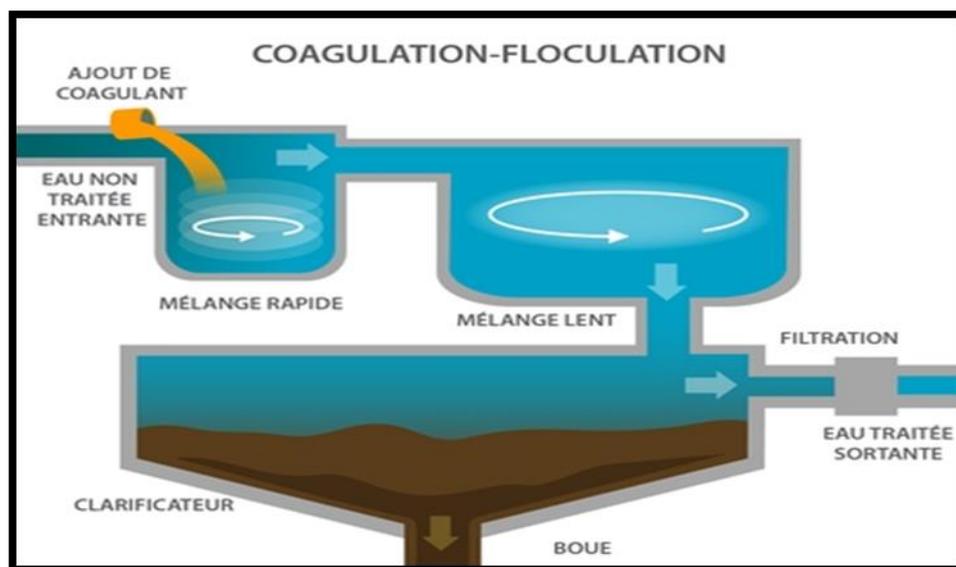


Figure 6 : principe de la coagulation-floculation

III.3.4. Précipitation chimique

La précipitation chimique a été utilisée pour l'élimination des composés organiques bio-récalcitrants, de l'azote ammoniacal et des métaux lourds à partir des lixiviats [36, 37]. Au cours de la précipitation chimique, les ions dissous dans la solution se transforment en composés insolubles par des réactions chimiques. De la même manière, les métaux présents dans la solution précipitent sous forme d'hydroxydes. Plusieurs agents de précipitation peuvent être utilisés en fonction de la nature de la cible (métaux lourds ou $\text{NH}_3\text{-N}$), on trouve la chaux et le (phosphate d'ammonium magnésien (MAP)).

La précipitation chimique est une technique efficace, simple et peu coûteuse mais elle présente beaucoup d'inconvénients parmi eux il y a : la forte dose de précipitant nécessaire, la sensibilité du processus au pH, la production de boues et la nécessité de poursuivre l'élimination des boues [38].

III.3.5. Adsorption

L'une des raisons principales qui a motivé l'application de l'adsorption au traitement des lixiviats est son critère de non sélectivité vis-à-vis des composés organiques. Ainsi, les substances biodégradables et non-biodégradables sont éliminées comme par exemple les substances humiques et les composés halogénés [39].

L'adsorption des polluants sur charbon actif, en colonne ou sous forme de poudre donne un bon taux d'abattement de la DCO par rapport aux méthodes chimiques et ce quelle que soit la concentration initiale de la solution en matière organique, Ce procédé permet également

d'abatre de manière très satisfaisante les composés responsables de la coloration de l'effluent.

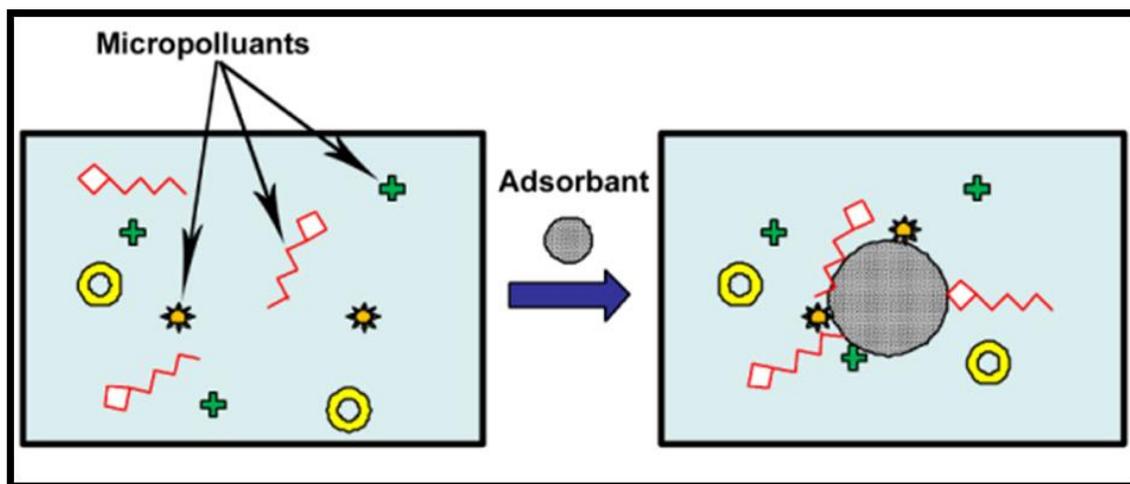


Figure 7 : Principe d'adsorption sur charbon actif

Partie I : Matériel et méthodes

I. La décharge publique contrôlée de Fès

La gestion déléguée de la décharge contrôlée de Fès rentre dans le cadre d'un contrat de 10 ans entre la commune urbaine de Fès, et le groupement Américano-Marocain constitué par deux sociétés "Edgeboro international" et "Ecomed de Gestion de déchet", qui prend en charge l'aménagement, la construction, le financement, l'équipement et l'exploitation de la décharge.

En effet l'exploitation de la décharge publique contrôlée de Fès a démarré le 02 avril 2004. Le 31 mai 2005, un flux de 38 790 véhicules a été enregistré avec un tonnage de 249 145 T. Les déchets sont enfouis par couches de 3 m au moyen d'engins spéciaux. La zone exploitée est couverte, en surface et sur les versants, par une couche de terre perméable de 15 mètres, pour empêcher les envols notamment de sacs de plastiques, le dégagement des odeurs, la prolifération des insectes et la formation de feu.

Cette infrastructure moderne a été réalisée en vue de pallier les nuisances et odeurs de l'ancienne décharge des "Oudayas", qui s'approche de plus en plus des habitants, en raison de l'urbanisation rapide. La décharge publique sauvage de Fès a été utilisée depuis 1981, elle arrive bientôt à saturation [40].

C'est pourquoi les ordures de la ville de Fès sont envoyées à la nouvelle décharge contrôlée (route Sidi Harazem).

Cette nouvelle décharge, implantée dans la commune d'Aïn Beda, traite plus de 800 tonnes de déchets solides par jour dont près de 700 tonnes d'ordures ménagères.



Figure 8 : L'entrée de la décharge contrôlée de Fès située à 12 km du centre-ville sur la rocade de Sidi Harazem.

✚ Cadre géographique

Le site étudié est la décharge publique contrôlée de la ville de Fès située au Sud-Est de la ville de Fès (Maroc), à 11 km du centre-ville, dans la commune d'Ain Bida sur la route de Sidi Harazem, elle s'étale sur une superficie de 120 hectares.

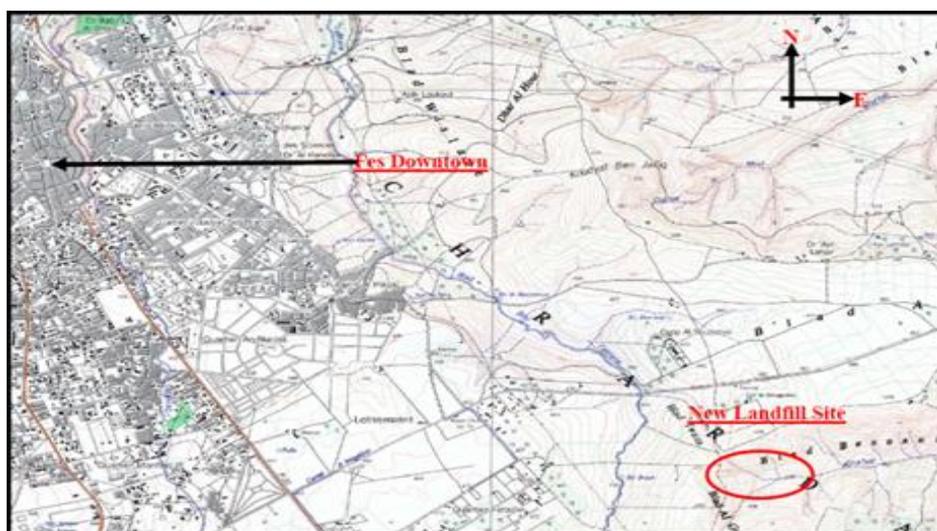


Figure 9 : Situation de la nouvelle décharge publique contrôlée

Cadre géologique, hydrogéologique et hydrologique

Les terrains de la décharge sont de nature argileuse et donc imperméable. Ceci est très important surtout qu'à quelques kilomètres de la décharge se trouve la source thermale de Sidi Hrazem. La couche d'argile est de plus de 50 m de profondeur ainsi plus on va vers la profondeur, plus l'argile devient imperméable, de plus aucune nappe phréatique n'a été rencontrée jusqu'à 80 mètres. Le site se trouve dans une cuvette à l'amont du bassin versant.

Cadre climatologique

La ville de Fès est située dans le bassin de Meknès-Fès ; elle bénéficie d'un climat méditerranéen mais fortement mâtiné de continentalité et subissant l'effet des versants des montagnes. Le froid hivernal rappelle très souvent la neige abondante du Moyen Atlas à quelques kilomètres au sud de la ville, l'hiver de Fès peut, en fonction de l'altitude, s'avérer très froid et l'été très chaud et sec.

La moyenne annuelle des précipitations de l'ordre de 500 mm et celle des températures de l'ordre de 17°C. Un régime annuel de précipitations constitué par l'alternance de deux périodes distinctes ; une pluvieuse du mois d'octobre au mois d'avril et une sèche répartie du mois de juin au mois décembre [41].

Stratégie d'échantillonnage

Des échantillons de lixiviats ont été prélevés à partir de la décharge contrôlée de la ville de Fès.

Les échantillons destinés aux analyses physico-chimiques ont été prélevés dans des flacons en verre d'une capacité de 100 mL. Pendant le prélèvement, le flacon a été tenu à l'aide d'une main puis plongé dans le lixiviat, goulot dirigé à contre-courant, selon les recommandations de Rodier et al., (2009) [42]. Le flacon a été rempli de lixiviat, puis retiré et fermé hermétiquement. Les échantillons destinés à l'isolement des microorganismes ont été prélevés dans des flacons en verre stérilisés par autoclavage (121 °C, 1 bar pendant 20 min). Les échantillons soigneusement étiquetés ont été placés dans une glacière et transportés aussitôt au laboratoire.

Les échantillons destinés à être traités par nos souches ont été prélevés à partir du collecteur des lixiviats. Ces derniers ont été prélevés de la même manière que précédemment décrit, et ensuite transportés dans des bouteilles en polyéthylène tenus au frais pendant le transport. Ces lixiviats ont été par la suite stockés au réfrigérateur à 4°C de manière à limiter toute activité biologique. Les analyses physicochimiques et microbiologiques des lixiviats ont été réalisées dès réception des lixiviats. Or, bien qu'une partie de la matière organique du lixiviat puisse être considérée comme réfractaire à l'oxydation, Lagier (2000) a montré qu'après 15 jours de stockage au contact de l'air, la DCO pouvait diminuer de 9%.



Figure 10 : Site du prélèvement des échantillons de lixiviats

II. Caractérisation physicochimique et microbiologique des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès

Le grand souci de la décharge publique contrôlée de Fès est de trouver le traitement convenable des lixiviats et pour cela, il est nécessaire de savoir les valeurs des paramètres physico-chimiques de ces lixiviats. De plus, la connaissance de ces paramètres permet non seulement le choix de la méthode du traitement mais aussi de savoir le degré de pollution de ces lixiviats.

1. Analyses physicochimiques des lixiviats

La caractérisation physicochimique des échantillons de lixiviats a été réalisée par la mesure de différents paramètres, parmi eux on distingue :

1.1. pH

Le potentiel hydrogène (ou **pH**) mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (dans les lixiviats, plus couramment le pH mesure l'acidité ou la basicité des lixiviats. La mesure du pH est réalisée par le pH-mètre à batterie de marque Hanna Instruments HI 9126 Digital.



Figure 11 : Photo d'un pH-mètre

1.2. Conductivité électrique

La mesure de la conductivité électrique constitue une bonne appréciation du degré de minéralisation du lixiviat où chaque ion agit par sa concentration et sa conductivité spécifique. Elle est mesurée au laboratoire à l'aide d'un conductimètre de type HANNA INSTRUMENT.

1.3. Demande chimique en oxygène (DCO)

La demande chimique en oxygène (DCO), est la quantité d'O₂ consommée par la matière organique oxydable chimiquement dans le lixiviat. Elle permet d'évaluer la charge polluante des lixiviats. L'échantillon est dilué avant d'être analysé du fait de sa richesse en différents éléments minéraux et organiques, puis mélangé avec une petite quantité de sulfate de mercure (0,04 g), afin de complexer les chlorures, 3 ml de sulfate d'argent jouant le rôle de catalyseur et 1ml de dichromate de potassium comme oxydant fort. Le mélange est soumis au DCO mètre pendant 2h à 150°C. Puis, Les valeurs de la DCO sont déterminées par mesure de la densité optique par spectrophotomètre type UV/visible de marque JENWAY6105, à une longueur d'onde de 585 nm. Les résultats sont exprimés en mg d'O₂/l.



Figure 12 : Photo d'un DCO-mètre

1.4. Demande biochimique en oxygène (DBO₅)

La DBO₅ représente la quantité d'O₂ nécessaire pour oxyder les matières organiques dissoutes par des microorganismes aérobies. Elle est calculée au bout de 5 jours dans le noir et à une température de 20°C. Sa détermination est réalisée à l'aide un DBO-mètre de type OxitopR IS6 (ET 618-4/619-4).



Figure 13 : Photo d'un DBO-mètre

1.5. Matière en suspension (MES)

Les matières en suspension sont déterminées par centrifugation qui est une méthode réservée aux eaux trop chargées contenant beaucoup de matières colloïdales. Les MES étant susceptibles de variations dans les 24 h suivantes. Il convient de pratiquer cette mesure très rapidement dans les 6 h qui suivent.

L'eau est centrifugée à 8000 tr pendant 10min le culot est recueilli, séché à 105°C et pesé, il est ensuite calciné à 600°C et pesé de nouveau, les résultats sont exprimés comme suite :

- La teneur en mg/L de la matière totale en suspension est $((P2-P1)/V)*1000$
- La teneur en g/L de la fraction minérale est $((P3-P1)/V)*1000$
- Les matières organiques sont : matière totale-matière minérale.

La teneur de l'eau en MES (g/L) est exprimée par la relation suivante : $((P1-P0)/V)*1000$.

1.6. Dosage des nitrites

Il s'agit d'un dosage colorimétrique dans lequel l'acide sulfurique en milieu chlorhydrique forme avec les ions NO_2^- en présence d'ions NH_4^+ et de phénol un complexe coloré en jaune dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en NO_2^- .

Une dilution de 1/10 est réalisé en mélangeant 5 ml de l'échantillon avec 45 ml de l'eau distillée, puis le réactif de zambelli est ajouté, le mélange est bien agité et laissé reposer pendant 10 min, puis additionné par 2 ml d'ammoniac pur. La lecture est effectuée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 435 nm.

1.7. Dosage des nitrates

En présence de salicylate de sodium il y a formation d'un complexe paranitro-salicylate de sodium, ce complexe est coloré en jaune et absorbe la lumière à 415 nm.

1ml de salicylate de sodium est ajouté à 1ml du lxiviat et à 9 ml de l'eau distillé, puis évaporé au bain marie et laisser refroidir, le résidu est repris par 2ml d'acide sulfurique concentré en ayant prendre soin de l'humecter complètement, enfin 15 ml de l'eau bidistillée sont ajoutés et 15ml de tartrate double de sodium et de potassium qui développe la coloration jaune.

1.8. Dosage de l'ammonium

En milieu alcalin et en présence de nitroprusiate qui agit comme catalyseur, les ions NH_4^+ traités par une solution de chlore et le phénol donnent du bleu d'indophénol susceptible d'un dosage colorimétrique.

Dans un erlenmeyer propre, 18 ml d'eau distillé sont ajoutés à 2 ml d'échantillon, puis 1ml de solution de nitroprusiate de sodium et 1ml de la solution chloré sont additionnés, le mélange est bien agité puis placé à l'obscurité pendant 6h au moins, la lecture des résultats est effectuée au spectrophotomètre à 630 nm.

1.9. Dosages des orthophosphates

En milieu acide les orthophosphates forment avec les molybdate d'ammonium et le tartrate double de sodium et de potassium, un complexe phosphomolybdique qui est réduit par l'acide ascorbique et qui développe une coloration bleue susceptible d'un dosage spectrophotométrique à une longueur d'onde de 880 nm.

2ml d'échantillon à analyser sont ajoutés à 18ml d'eau distillé et 1ml d'acide ascorbique le mélange est agité énergétiquement, puis 4ml du réactif combiné sont ajoutés, le mélange est laissé au repos pendant 30min, la lecture est effectuée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 880 nm.

1.10. Dosage des sulfates

En milieu chlorhydrique les sulfates se précipitent à l'état de sulfate de baryum le précipité ainsi obtenue est stabilisé à l'aide d'une solution de tween 20.

Une dilution de 1/10 de l'échantillon est réalisée, c'est-à-dire 45 ml de l'eau distillée sont additionnés à 5ml du lixiviat, puis 1ml de l'acide chlorhydrique au 1/10 et 5 ml de solution de chlorure de baryum stabilisé sont ajoutés, le mélange est agité énergétiquement puis laisser reposer 15min. La lecture est effectuée au spectrophotomètre à 650 nm.

2. Analyses microbiologiques des lixiviats

Des analyses microbiologiques des échantillons des lixiviats ont été réalisées au sein du laboratoire une fois par 15 jours juste après prélèvement, afin d'éviter toute modification éventuelle de la concentration microbienne. Une série de dilutions décimales des échantillons dans l'eau distillée stérile a été réalisée. Un volume de 0,1 ml de la dilution appropriée a été étalé en surface sur des boîtes de pétri contenant le milieu gélosé convenable.

Les microorganismes analysés :

a. Flore mésophile aérobie totale (FMAT):

Le dénombrement des FMAT a été effectué sur gélose nutritive (GN) par étalement en surface d'un volume de 100 µL. La lecture des boîtes a été réalisée après 24 heures d'incubation à 30 °C.

b. Coliformes totaux et fécaux

Le dénombrement des coliformes totaux et fécaux a été réalisé sur milieu DL (Désoxycholate lactose agar). Les boîtes étalées sont incubées à 44°C pour les coliformes fécaux, et à 37°C pour les coliformes totaux pendant 24 heures.

c. Streptocoques fécaux

Le milieu de culture utilisé est Slanetz et Bartely. L'incubation des boîtes a été effectuée à 37°C pendant 24 à 48 heures.

d. Staphylocoques

Les staphylocoques ont la particularité de pousser sur les milieux hypersalés et sont capables de fermenter le mannitol (Chapman.,1945). Ainsi, ils ont été dénombrés sur gélose de Chapman contenant 75 % de NaCl et le mannitol comme source de carbone. L'incubation a été faite à 37°C pendant 24 à 48 h.

e. Levures

Le milieu YPG a été utilisé pour le dénombrement des levures, auquel est ajouté le chloramphénicol (25 µg/ml) et l'ampicilline (50 µg/ml) comme antibiotiques afin d'inhiber toute croissance bactérienne. L'incubation a été réalisée à 30°C pendant 48 à 72 heures.

III. Isolement des souches bactériennes à partir des lixiviats

1. Isolement et dénombrement des colonies bactériennes à partir des lixiviats

L'isolement et le dénombrement des bactéries présents dans les effluents de lixiviat ont été réalisés par la méthode indirecte de dilution en série ($10^{-1}, 10^{-5}$) et de culture sur boîte de pétri [43]. Deux milieux de culture ont été utilisés pour l'isolement : le milieu LB (luria-Bertani) et La gélose nutritive.

Après 48 h d'incubation à 30°C, les colonies bactériennes ont été dénombrés. Parmi les boîtes comptables on ne considéra que la boîte qui a donné un nombre de colonies compris entre 30 et 300 colonies. Le nombre d'UFC est calculé par la relation suivante :

$$\text{UFC/ml} = N \times F / V$$

Avec N : Nombre de colonies, F : Facteur de dilution, et V : Volume étalé en ml

2. Purification des souches bactériennes

La purification des isolats bactériens a été réalisée par ensemencement par épuisement sur 3 cadrans. Les colonies d'aspects différents ont été repiquées sur des boîtes de Pétri contenant le milieu LB agar et d'autres la gélose nutritive jusqu'à l'obtention d'une culture pure.

3. Conservation des isolats bactériens

La conservation des souches bactériennes a été réalisée par ajout d'un volume de 800 µl de la préculture bactérienne dans des tubes eppendorf stériles contenant 200 µl de glycérol stérile (100%). Les tubes ont été par la suite conservés à -80°C.

4. Caractérisation des isolats bactériens

a. Etude macroscopique

L'étude macroscopique à l'œil nu est le premier examen effectué à partir des cultures pures obtenues. Elle est basée sur la détermination de l'ensemble des critères morphologiques tels que :
Forme, taille, couleur, et opacité, surface...

Tableau 3 : les éléments d'identifications macroscopiques des colonies bactériennes

Forme	Taille	Couleur	Elévation	Opacité	Surface
-Ronde	-Punctiforme	-Blanche	- Convexe	-Opaque	-Lisse
-Irrégulière	-Non punctiforme	-Jaune...	- Concave -Plate	-Translucide -Transparent	-Rugueuse...

b. Etude microscopique : coloration de Gram

Cette technique permet de distinguer et de classer les bactéries selon les propriétés de leur paroi. En effet les bactéries à Gram positive sont dotées d'une simple paroi riche en peptidoglycane, tandis que les bactéries à Gram négative leur paroi est moins riche en peptidoglycane mais pourvues d'une membrane externe supplémentaire.

❖ Réalisation du frottis bactérien

La réalisation du frottis bactérien se fait par une simple fixation à l'eau, une colonie isolée est ajoutée à l'aide d'une anse stérile à une goutte d'eau distillée stérile préalablement déposée sur une lame en verre, étalée à la surface de la lame puis fixée à la chaleur à l'aide d'un bec benzène.

❖ **Réalisation de la coloration**

- Coloration par le cristal violet (30 secondes à 1 minute) puis rinçage à l'eau.
- Mordantage au lugol (30 secondes à 1 minute) puis rinçage avec l'eau.
- Décoloration rapide à l'aide de l'alcool (20 à 30 secondes), puis rinçage de la préparation à l'eau.
- Recoloration à la Fuchsine (30 secondes à 1 minute) puis lavage à l'eau et séchage.
- Observation microscopique à l'aide d'un microscope optique en ajoutant une goutte d'huile à immersion objectif 100 (grossissement*1000).

IV. Traitement des lixiviats par les isolats bactérien

La bio-augmentation est une technique mettant en œuvre des micro-organismes (généralement des bactéries, nématodes, protozoaires et champignons) afin de traiter des milieux aquatiques pollués par divers polluants métalliques ou carbonés, azotés ou phosphorés. Les microorganismes employés peuvent être issus de sélections réalisées à partir d'échantillons environnementaux (eau, sols, sédiments, boues, etc.). Ils sont ensuite cultivés en masse et inoculés dans leur environnement d'origine ou dans un autre environnement. Des microorganismes génétiquement modifiés peuvent être utilisés à ce titre mais leur introduction dans l'environnement doit faire l'objet de contrôles plus poussés [44].

1. Lixiviat utilisé pour le traitement

Plusieurs études ont montré que les lixiviats âgés sont riches en matière organique non biodégradable donc ils présentent une résistance au traitement biologique [45]. De ce fait les échantillons de lixiviats utilisés pour le traitement par nos isolats bactériens correspondent à des lixiviats jeunes. Ces dernières ont été prélevées le mois avril 2018 à partir de la décharge publique contrôlée de la ville de Fès.

2. Isolats bactériens utilisés pour le traitement

Pour le traitement des lixiviats par bio-augmentation, nous avons utilisé les isolats bactériens, utilisés séparément à différentes concentrations (2%,4% et 6%).

3. Traitement des lixiviats par les isolats bactériens

Les essais de traitement des lixiviats par bio-augmentation ont été réalisés dans des Erlenmeyers de 250 mL contenant 100 mL de lixiviats dilué au 1/4 par l'eau distillée.

Premièrement ces derniers ont été stérilisés par autoclavage à 121 °C, 1 Bar, pendant 20 min afin de tuer toute forme microbienne indigène présente naturellement dans le lixiviat, puis inoculés par les cellules bactériennes à différentes concentrations (2%, 4%, et 6%, v/v) afin de déterminer la concentration qui donne le meilleur taux d'abattement de la DCO.

Les erlenmeyers ont été incubés à 30°C sous agitation à 150 rpm. Des témoins dépourvus de cellules bactériennes ont été préparés et incubés dans des conditions analogues. Des prélèvements ont été réalisés chaque 3 h pour la détermination de la DCO.

V. Etude de l'effet antagoniste des isolats bactériens

❖ Méthode de surcouche :

Pour mettre en évidence le pouvoir antagoniste des isolats sélectionnés, nous avons procédé d'abord par la méthode de surcouche ; décrite par Tagg et al en 1979 [46], avec modification, qui est une méthode rapide et moins coûteuse, permettant de cribler dans une même boîte de pétri plusieurs isolats.

Comme le montre le schéma ci-dessous, les bactéries testées sont d'abord repiquées en spots sur la gélose nutritive et incubées pendant 12-24h à 30°C, le repiquage par spot consiste à prélever à l'aide d'une anse stérile une petite colonie et de la bien écraser sur la boîte gélosée tout en réalisant un petit cercle. Dès que la période d'incubation est terminée, les boîtes sont recouvertes par une surcouche (milieu gélosé ; à 0,4% de gélose ; maintenu en surfusion à 45°C) et inoculée par 100 µl de préculture fraîche ($Do_{600nm} = 0,8$) de notre bactérie cible indicatrice. Après solidification, les boîtes sont incubées à la température optimale de croissance à 30°C pendant 48-72h. Le résultat est considéré positif autrement dit, une bactérie telle est antagoniste si elle est entourée d'une auréole d'inhibition de croissance de la bactérie indicatrice.

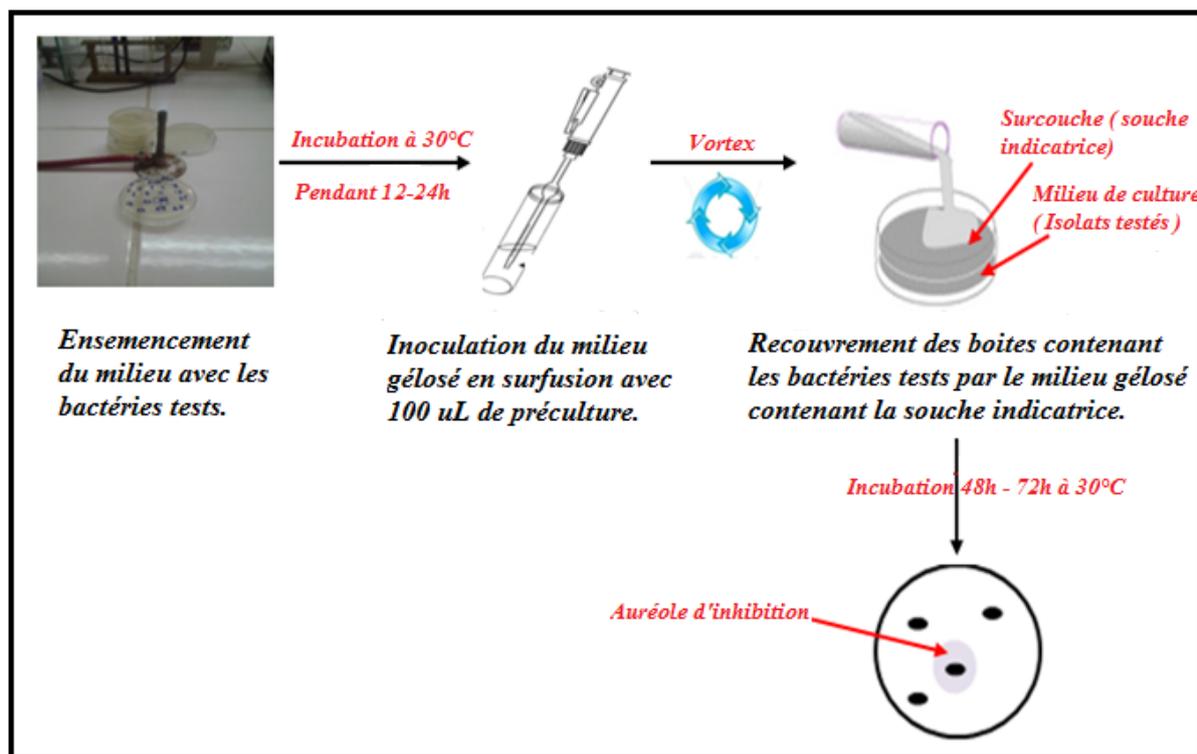


Figure 14 : Schémas explicatif du protocole de recherche des bactéries antagonistes par la méthode de surcouche.

Partie II: Résultats et discussion

I. Caractérisation physicochimique et microbiologique des lixiviats de la décharge publique contrôlée de Fès

1. Caractérisation physicochimique des lixiviats

Afin de caractériser notre effluent de lixiviats de la décharge publique contrôlée de la ville Fès, et voir s'il répond à la norme Marocaine de rejet, nous avons effectué plusieurs fois les analyses physico-chimiques du lixiviat brut.

Le tableau 3 représente les résultats des analyses physicochimiques des lixiviats de la décharge contrôlée de Fès. D'après ce tableau, nous constatons que les lixiviats de la décharge sont caractérisés par :

- ✓ un pH légèrement basique, avec une valeur moyenne de 7,81 et qui se situe dans l'intervalle des limites de rejets dans les eaux superficielles et souterraines qui est compris entre 5,5 et 8,5.
- ✓ Une conductivité électrique très concentrée d'une moyenne de 38,17 ms/cm et qui est inférieure aux normes marocaines de rejet (2,700 ms/cm).
- ✓ Des concentrations moyennes d'ammonium, de nitrates et nitrites respectivement de 38,34, 16,64 et 10,84mg/l.
- ✓ Une concentration moyenne de sulfate de 644,72 mg/l et qui est supérieure à la norme marocaine (500 mg/l).
- ✓ Une concentration moyenne d'orthophosphate de 12,07mg/l qui est énormément supérieure à la norme (2 mg/l).
- ✓ La valeur moyenne de la DCO obtenue est de 4880,64mg/l et qui est extrêmement supérieure à la norme (120mg/l).
- ✓ La valeur moyenne de la DB05 obtenue est de 813 mg/l qui est largement supérieure aux normes (40 mg/l).

Tableau 4: Caractéristiques physicochimiques des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès.

	Valeur Min	Valeur max	Valeur Moy	Valeurs limites générales de rejet dans les eaux superficielles et souterraines
pH	7,45	8	7,81	5,5-8,5
Conductivité électrique (ms/cm)	36	39,6	38,17	2,700
NH ₄ ⁺ (mg/l)	20,27	73,67	38,34	-
NO ₃ ⁻ (mg/l)	5,8	22,73	16,64	-
NO ₂ ⁻ (mg/l)	1,24	16,76	10,84	-
SO ₄ ⁻ (mg/l)	506,26	742,08	644,72	500
PO ₄ ⁻ (mg/l)	8,56	14,67	12,07	2
DCO (mg/l)	2212,12	8248	4880,64	120
DBO ₅ (mg/l)	400	1350	813	40
MES (g/l)	1,53	8,85	5,71	30

D'après la caractérisation physicochimique des effluents de lixiviats, il s'est avéré que ces derniers ne répond pas aux normes de rejet marocaines en ce qui concerne la DCO, la DBO₅, les PO₄⁻ et les SO₄⁻, ce qui montre que leur rejet dans le milieu naturel ne devrait pas se faire sans traitement préalable. D'où la nécessité du traitement avant le rejet dans les milieux naturels pour éviter tous les risques.

Le pH est légèrement neutre à alcalin, ceci concorde avec les résultats trouvés par A. Rassam et al [47].

En effet les valeurs du pH obtenues dans les lixiviats pourraient être liées à la faible concentration des composés organiques volatiles, lors de la fermentation acide qui constitue la première phase de la décomposition anaérobie des déchets. Les percolats jeunes sont riches en composés organiques volatiles. Au cours de cette phase, les valeurs du pH enregistrées sont généralement inférieures à 4 [48]. Au fur et à mesure du vieillissement de la décharge, le lixiviat s'appauvrit en composés organiques volatiles. Ceci va alors entraîner une augmentation du pH à 7 ou plus.

En ce qui concerne la conductivité électrique les fortes valeurs obtenues pourraient être due à la présence du sel dans les déchets de la décharge [49].

L'azote ammoniacal NH_4^+ constitue le principal agent réducteur dans les lixiviats de la décharge. C'est un bon indicateur de la pollution générée par les déchets urbains, il représente à long terme un polluant important. En effet les valeurs enregistrées pendant la saison sèche sont très importantes par rapport à celles obtenues durant les périodes humides ce qui explique l'effet de la dilution [50].

Les ions nitrites présentent une teneur moyenne de 10,84 mg/L témoignant d'une pollution d'origine organique. On considère que la situation est critique à partir d'une concentration de plus de 3 mg/L [51]. En effet la présence des nitrites dans les lixiviats provient de la réaction de nitrification et notamment la nitrosation qui est réalisée par des bactéries nitrosantes (*Nitrosomonas*), pourtant la présence des ions nitrate NO_3^- est due à la nitrification qui est effectuée par des bactéries nitrifiantes (*Nitrobacter*).

La DCO ou la demande chimique en oxygène représente la quantité d'oxygène consommée par les matières oxydables chimiquement contenues dans l'eau. Elle représente la majeure partie des composés organiques mais également des sels minéraux oxydables (sulfures, chlorures.etc).

En effet une forte valeur de la DCO indique une forte charge organique. Cette dernière varie selon différents facteurs tels que la pluviométrie, la nature et la quantité des déchets ainsi que l'âge des lixiviats.

Les valeurs de la DCO obtenues durant cette étude varient entre 2212,12 et 8248 mg/L avec une moyenne de 4880,64 mg/L. Ceci montre un pouvoir polluant des lixiviats, ce qui peut engendrer des perturbations potentielles. Cette forte charge organique des lixiviats est apportée en grande partie par les déchets putrescibles et papiers-cartons (matière organique non synthétique) et par les plastiques (matière organique synthétique) [52].

2. Caractérisation microbiologique des lixiviats

L'analyse microbiologique du lixiviat brut a montré une forte charge microbienne (Germes totaux (GT) avec une concentration de 78.10^4 U.F.C/ ml) avec principalement les germes indicateurs de la pollution fécale: les Streptocoques Fécaux (SF) avec $15. 10^3$ U.F.C/ ml et absence des coliformes Fécaux (CF). Pour les Coliformes totaux, ils sont présents avec une concentration de $24. 10^4$ U.F.C/ ml, et les levures avec $2.3 10^5$ U.F.C/ ml.

Tableau 5 : Résultats des analyses microbiologiques des lixiviats

Types des germes	Lixiviat brut
Germe totaux (UFC/ML)	$78 10^4$
Coliformes totaux (UFC/mL)	$24 10^4$
Coliformes fécaux (UFC/mL)	0
Streptocoques fécaux (UFC/mL)	$15 10^3$
Staphylocoques (UFC/mL)	$11 10^3$
Levures (UFC/mL)	$2,3 10^5$

II. Isolement des bactéries à partir des lixiviats

1. Dénombrement des colonies bactériennes

Le dénombrement de la flore aérobie mésophile revivifiable présente dans les lixiviats a donné un nombre de $1.53 \cdot 10^7$ UFC/ml sur milieu LB agar et $4.5 \cdot 10^4$ UFC/ml sur la gélose nutritive.

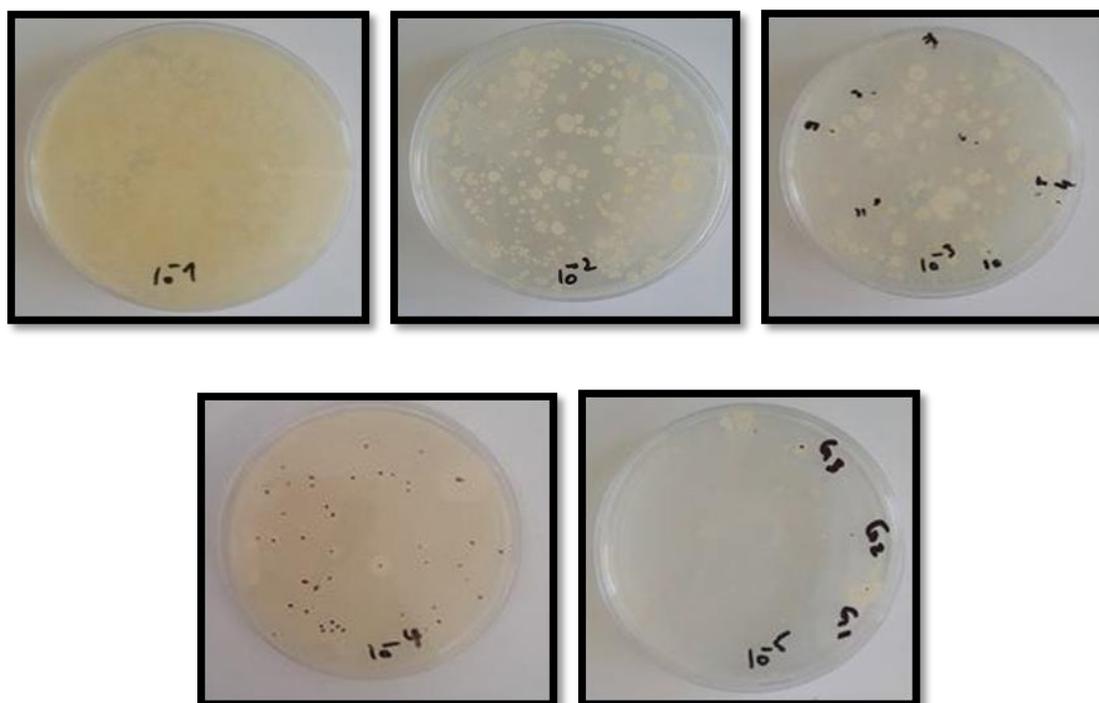


Figure 15 : Photos des boîtes de Pétri montrant les colonies bactériennes isolées sur la gélose nutritive

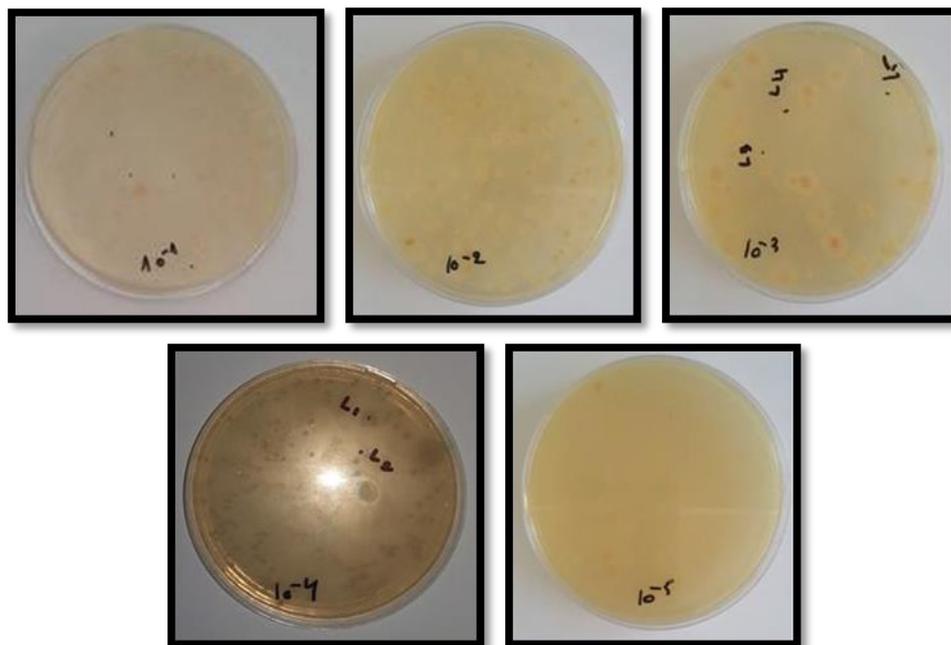


Figure 16 : Photos des boîtes de Pétri montrant les colonies bactériennes isolées sur LB agar

2. Caractérisation des isolats bactériens

a. Caractéristiques macroscopiques

La détermination des caractères macroscopiques a été réalisée après isolement et purification des bactéries. Nous avons détecté 12 morphotypes différents, 5 morphotypes sur milieu LB agar et 7 morphotypes sur la gélose nutritive.

Tableau 6 : Caractéristiques macroscopiques des colonies des isolats bactériens

Souches	Forme	Taille	Couleur	Elévation	Opacité	Surface
L1	Ronde	Punctiforme	Blanche	Convexe	Opaque	Lisse
L2	Ronde	Punctiforme	Blanche	Convexe	Transparente	Lisse
L3	Ronde	Punctiforme	Blanche	Convexe	Transparente	Lisse
L4	Ronde	Punctiforme	Blanche	Convexe	Transparente	Lisse
L5	Ronde	Non Punctiforme	Blanche	Convexe	Opaque	Lisse
G1	Ronde	Punctiforme	Blanche	Plate	Opaque	Lisse
G3	Ronde	Punctiforme	Blanche	Plate	Opaque	Lisse
G4	Irrégulière	Punctiforme	Blanche	Plate	Opaque	Rugueuse
G7	Irrégulière	Punctiforme	Blanche	Plate	Transparente	Lisse
G9	Irrégulière	Non punctiforme	Blanche	Plate	Opaque	Lisse
G10	Ronde	Punctiforme	Blanche	Convexe	Opaque	Lisse
G11	Ronde	Non punctiforme	Blanche	Convexe	Opaque	Lisse

*Si le diamètre de la colonie est inférieur à 1mm : punctiforme, non punctiforme pour le cas contraire

b. Caractères microscopiques : Coloration de Gram

Après isolement et purification des bactéries, une observation microscopique de chaque isolat a été effectuée tout en réalisant la coloration de Gram, afin de déterminer le type de Gram de chaque isolat bactérien et donc faciliter leur identification. Les résultats sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 7 : Résultats de la coloration de Gram des bactéries isolées.

Souches	Forme	Gram
L1	Bacille	-
L2	Bacille	-
L3	Bacille	-
L4	Bacille	-
L5	Bacille	-
G1	Bacille	-
G3	Bacille	-
G4	Coccobacille	+
G9	Cocci	+
G10	Bacille	-
G11	Cocci	+

Les résultats de la coloration de Gram montrent que la plupart des bactéries isolées à partir des effluents de lixiviat sont surtout des bacilles à Gram négatif. Ces résultats sont en accord avec des résultats rapportés par Boothe et al. en 2001 [53].

III. Traitement des lixiviats de la décharge contrôlée de Fès par bioaugmentation

1. Etude comparative de la variation de la DCO

Des essais de traitement ont été effectués sur des lixiviats non dilués et des lixiviats dilués à ½. Les résultats ont donné des taux d'abattement de la DCO très faibles ne dépassant pas 10 %. De ce fait les lixiviats ont été dilués au ¼. Les essais de traitement par les isolats bactériens ont donné des résultats plus intéressants. Ceci concorde avec des résultats obtenus par Ceçen et Cakiroglu (2001) et Ceçen et Aktas (2004)

[54], qui ont rapporté que le traitement des lixiviats dilués augmente le pourcentage d'abattement de la DCO. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 8 : Cinétique d'évolution de la DCO (mg/L) dans les lixiviats traités par les isolats bactériens à différentes concentrations (2%, 4% et 6%).

Temps	Isolat G1			Isolat G3			Isolat G4			Isolat G9		
	2%	4%	6%	2%	4%	6%	2%	4%	6%	2%	4%	6%
T_{0H}	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000	8000
T_{3H}	7818	7587	7860	7636	7842	7927	7719	7678	7704	7472	7272	7381
T_{6H}	6606	6678	7442	6945	7309	7272	7083	7349	7684	6315	6763	6824
T_{24H}	6436	5842	6363	6303	7224	6390	6990	6760	7008	6072	6254	6581
T_{48H}	6157	5369	6157	6181	6606	6351	5854	5648	6900	5781	5878	5975
T_{72H}	5927	5300	5139	5733	6521	6278	5640	5645	6254	5454	4569	5563
T_{96H}	4909	4836	5033	5006	6290	5557	6109	5600	6211	5139	4560	4242
T_{120H}	3048	10206	5078	4072	5418	6996	6803	7321	8109	6224	4230	6775
T_{144H}	8890	10181	9090	8412	8751	8990	8824	9466	9806	8245	8254	8254

Les résultats du tableau 6 montrent que le traitement des lixiviats par les isolats bactériens G1, G3, G4 et G9 réduit généralement la DCO. La valeur minimale enregistrée après traitement des effluents de lixiviat est de 3048 mg/L après un temps de séjour de 120 h (5 jours). Or la norme marocaine exige une valeur de rejet des lixiviats de 120 mg/L pour la DCO. En effet, selon l'analyse bibliographique, il n'existe pas de travaux rapportant le traitement des lixiviats par des souches pures ou en consortium. Les traitements les plus efficaces des lixiviats sont surtout les combinaisons de traitement physiques/chimiques et biologiques. L'intérêt de ce travail réside dans la sélection des souches bactériennes qui s'adaptent à la toxicité des lixiviats et qui auraient une forte potentialité de dégradation de la matière organique et donc la diminution de la DCO, ainsi la détermination de la concentration de la souche qui va donner un meilleur taux d'élimination de la DCO. Ces bactéries seraient par la suite utilisées pour le traitement des lixiviats de la décharge contrôlée de Fès par bioaugmentation, en les injectant dans le réacteur séquentiel discontinu (RSD). Ainsi afin de sélectionner les isolats les plus performants en termes de dégradation de la matière

organique, nous avons calculé le taux d'abattement de la DCO pour chaque isolat à différent concentrations (2%, 4% et 6%). Les taux d'abattement sont présentés dans les figures 18, 19, 20, 21 et 22.

D'autres souches bactériennes ont été testées pour leur capacité de dégradation de la matière organique présente dans les effluents de lixiviat et donc la diminution de la DCO. Ces dernières ont été isolées le mois de mai 2015, à partir du lixiviat de la décharge contrôlée de Fès dans le laboratoire de biotechnologie microbienne à la Faculté des Sciences Technique de Fès sous la direction du Professeur EL Ghachtouli Naima, après enrichissement dans des métaux lourds tels que Cr, Fe et Al de concentrations respectivement de 10, 30 et 5 mg/L. Les résultats sont présentés dans le tableau 7.

Tableau 9 : Cinétique d'évolution de la DCO dans les lixiviats traités par les isolats bactériens des suspensions enrichies (unités en mg/L)

	Isolat 13			Isolat 7			Isolat E6		
Temps	2%	4%	6%	2%	4%	6%	2%	4%	6%
T_{0H}	11848	10696	11575	10454	14151	11121	12909	21121	10818
T_{24H}	13121	14454	7454	11424	10939	9212	14181	15393	13454
T_{48H}	16575	11878	2975	26757	8696	8393	155454	12463	14818
T_{72H}	15363	17424	11424	13399	13454	9939	27878	18363	6181

Le tableau 7 représente la cinétique d'évolution de la DCO dans les lixiviats traités par les isolats bactériens des suspensions enrichies. Les résultats montrent que la valeur de DCO a diminuée après traitements par les isolats: E6 (à 6%), 6 (à 4%) et 13 (à 4%). La valeur minimale obtenue est 2975 mg/l et qui est supérieure à la norme de rejet marocaine (120 mg/l). Après 48h d'incubation, une augmentation de la DCO est observée chez les trois souches bactériennes et qui peut être expliqué par la mort des cellules. Cette mortalité pourrait s'expliquer par la présence des micropolluants organiques et minéraux qui ont un effet bactéricide.

2. Etude comparative de la variation des taux d'élimination de la DCO

La qualité de l'effluent après traitement par bioaugmentation par les différents isolats bactériens en termes de la DCO est résumée dans les figures 17, 18, 19, 20 et 21.

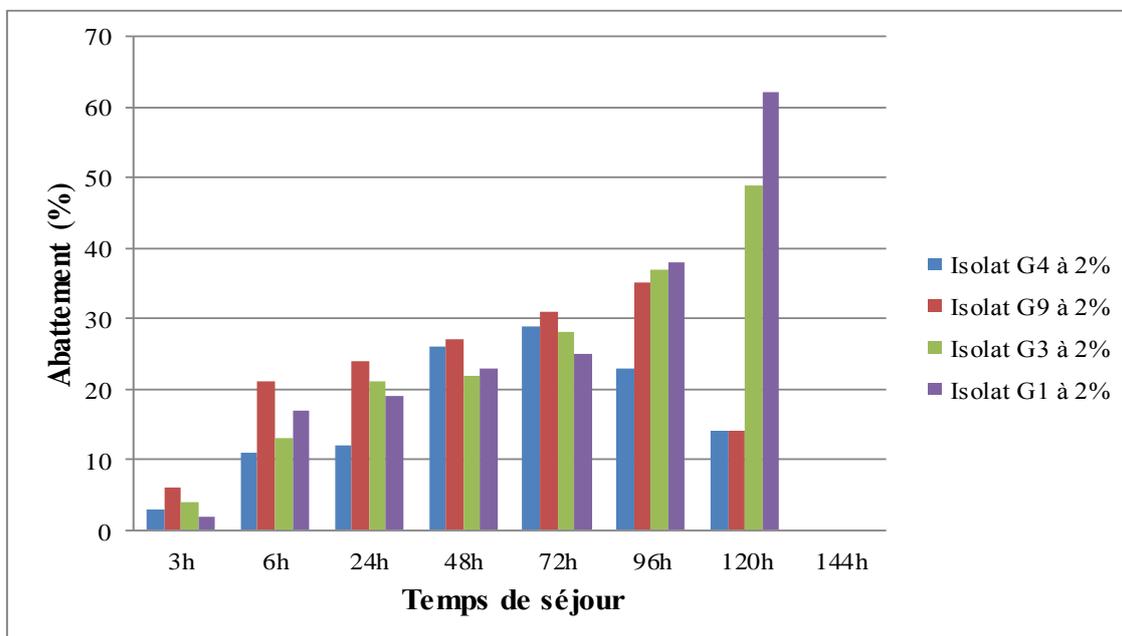


Figure 17 : Cinétique d'abattement de la DCO dans les lixiviats traités par les isolats à la concentration de 2%.

D'après la figure 17 représentant la cinétique de l'abattement de la DCO dans les lixiviats traités par les isolats à une concentration de 2%, nous pouvons en déduire que les isolats présentent un potentiel important d'abattement de la DCO et une cinétique d'évolution de l'abattement. Par conséquent, un rendement moyen vis-à-vis du traitement des lixiviats. Au bout de 3 heures, on remarque que le taux d'abattement est très faible pour les différents isolats (de 2 % à 6 %).

Entre 6 heures et 120 heures (5 jours) d'incubation, nous remarquons une augmentation importante des taux d'abattement de la DCO de tous les isolats avec un taux maximal atteint chez l'isolat G1 de 62 %. Une chute du taux d'abattement est observée chez tous les isolats après 120 heures d'incubation et qui peut être expliqué par la mort des cellules. Cette mortalité pourrait s'expliquer par la présence des micropolluants organiques et minéraux qui ont un effet bactéricide.

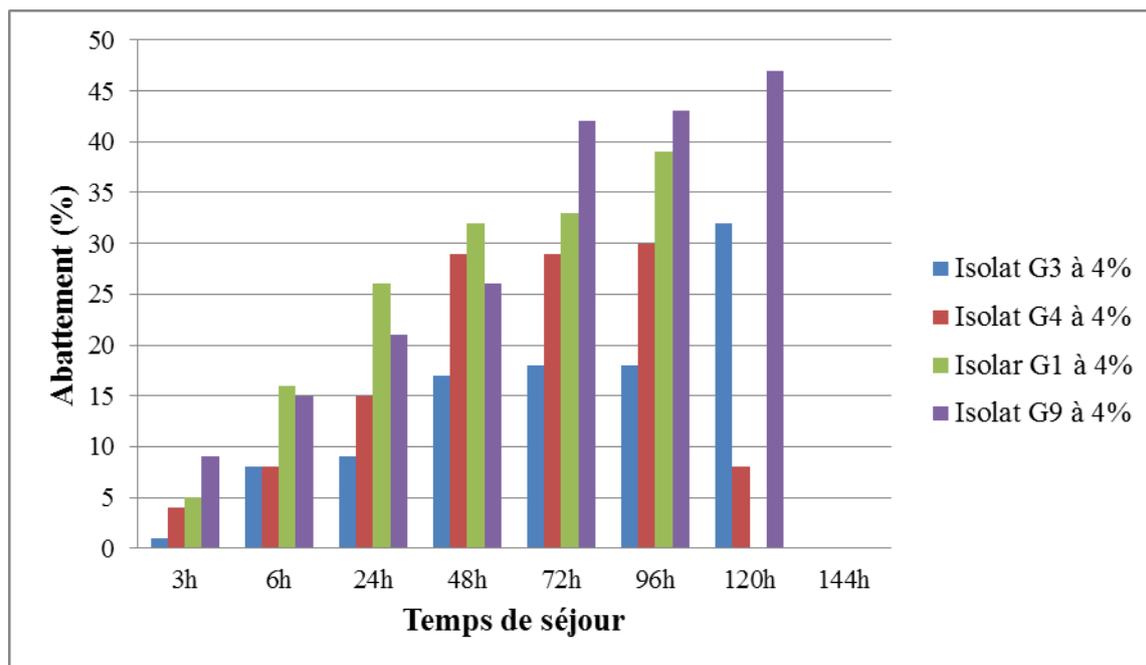


Figure 18 : Cinétique d'abattement de la DCO dans les lixiviats traités par les isolats à la concentration de 4%.

D'après la figure 18 représentant la cinétique de l'abattement de la DCO dans les lixiviats traités par les isolats à une concentration de 4%, on peut remarquer que les isolats présentent un potentiel moyen de réduction de la DCO et une cinétique d'évolution de l'abattement. Par conséquent, un rendement moyen vis-à-vis du traitement des lixiviats et moins important que celui obtenue dans le cas du traitement par une concentration de 2% de la souche.

En effet après 3 heures d'incubation le taux d'abattement de la DCO augmente progressivement jusqu'à ce qu'il atteigne des valeurs maximales après un temps de séjour de 120 heures chez les isolats G9 et G3 avec des taux d'abattement respectivement de 47% et 32%, et des taux d'abattement de l'ordre de 30% et 39% respectivement chez les isolats G4 et G1 après 96 heures d'incubation.

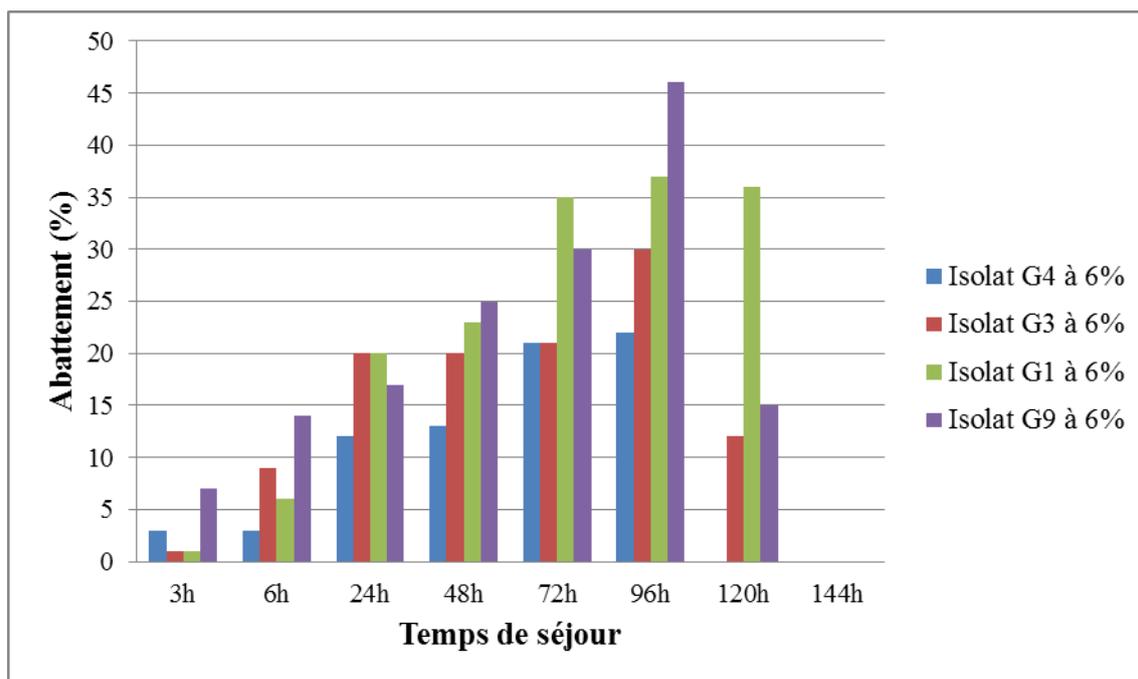


Figure 19 : Cinétique d'abattement de la DCO dans les lixiviats traités par les isolats à la concentration de 6%.

La figure 19 représente les résultats de la cinétique d'abattement de la DCO dans les lixiviats après traitement par les isolats bactériens à une concentration de 6%. D'après le graphe, on peut remarquer que le traitement par les isolats à une concentration de 6% présente un potentiel moyen de réduction de la DCO et moins important que celui obtenu à des concentrations de 2% et 4% de la souche. Ainsi le meilleur taux d'abattement est enregistré après 96 heures d'incubation (4 jours) chez les isolats G9, G4, G3, et G1 avec des pourcentages d'abattement de 46%, 22%, 30%, et 37% respectivement.

Les performances de la bioaugmentation, en termes d'abattement de la DCO sont différentes. La qualité du rejet s'améliore lors de la diminution de la concentration de la DCO de l'effluent et de la concentration de la souche à 2%. Cette concentration permet un bon développement bactérien. Par contre le traitement avec une concentration de 4% et 6% de la souche bactérienne pourrait entraîner une compétition entre ces bactéries, qui pourrait conduire à la diminution d'activité de la population qui permet de dégrader la matière organique présente dans les lixiviats.

➤ **Etude de la variation du taux d'abattement de la DCO après traitement par les isolats des suspensions enrichis :**

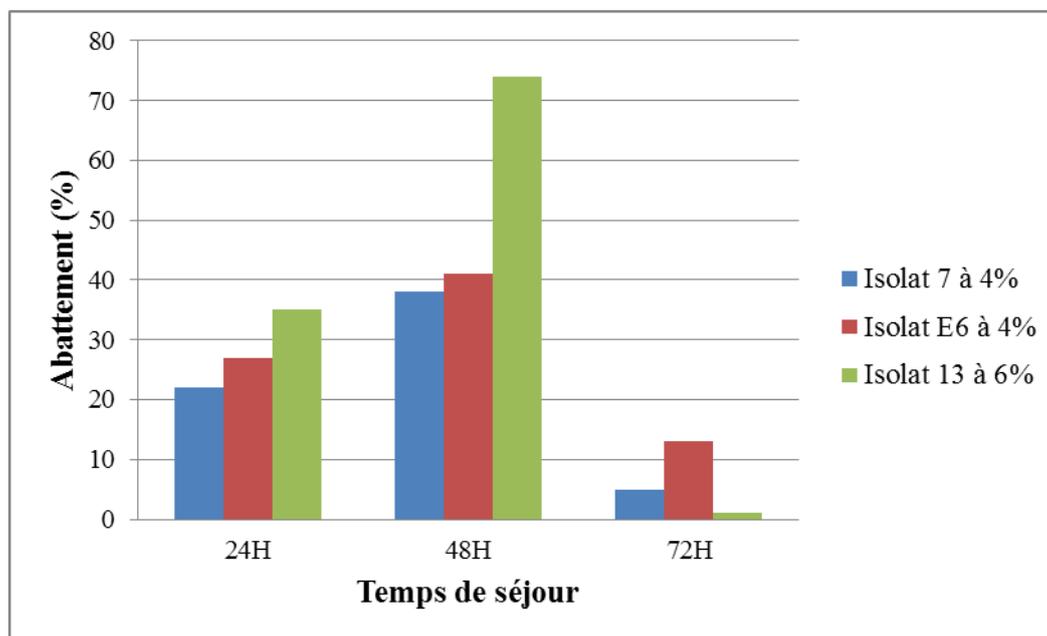


Figure 20 : Cinétique d'abattement de la DCO dans les lixiviats traités par les isolats bactériens des suspensions enrichis.

D'après la figure 20 représentant la cinétique de l'abattement de la DCO, on remarque que les isolats des suspensions enrichis présentent un potentiel important de réduction de la DCO et une cinétique d'évolution de l'abattement. Par conséquent un rendement élevé vis-à-vis du traitement des lixiviats. Au bout des 24 heures, nous remarquons que le taux d'abattement est moyen pour les différents isolats (de 22% à 35%). En ce qui concerne le taux d'abattement au bout des 48 heures, nous remarquons une augmentation des taux d'abattement de tous les isolats (de 41% à 74%). Ce qui montre l'effet du temps de séjour sur le taux d'abattement. Une chute du taux d'abattement est observée chez tous les isolats et qui pourrait être expliqué par la mort des cellules. Cette mortalité pourrait s'expliquer par la présence des micropolluants organiques et minéraux qui ont un effet bactéricide.

3. Recherche de l'effet antagoniste entre les isolats bactériens

La recherche de l'effet antagoniste entre les isolats bactériens a été réalisée tout en testant l'ensemble des isolats via la méthode de surcouche. Cette technique a permis de montrer que certains de nos isolats sont doués d'une activité antimicrobienne et présentent un effet antagoniste entre eux, puisqu'ils sont entourés de petites auréoles d'inhibition.

En effet d'après les résultats présentés dans le tableau 8. Nous constatons que l'isolat G4 présente un effet antibactérien contre G9 et G1, les diamètres de l'auréole obtenue sont respectivement de 4 mm et 9 mm, pourtant ce dernier n'a pas d'effet sur l'isolat G3.

L'isolat G3 présente un effet antimicrobien contre l'isolat G1 et G9 avec un diamètre d'inhibition de 15 mm et 20 mm respectivement. Mais il ne présente pas un effet antimicrobien contre l'isolat G4.

Tableau 8 : L'action antagoniste des isolats bactériens

Isolats bactériens	Effet antagoniste	Diamètre (mm)
G4/ G9	+	4
G4/G1	+	9
G3/G1	+	15
G3/G4	-	-
G1/ G9	-	-
G9/ G3	+	20

(-) : absence ; (+) : présence

Il est à noter que les souches indicatrices vont coloniser tout le milieu, alors que la molécule antimicrobienne produite par les isolats tests va diffuser dans la surcouche afin d'inhiber la croissance des bactéries indicatrices.

L'étude de l'effet antagoniste entre les isolats bactériens est très importante dans le traitement des effluents de lixiviat par bioaugmentation, car il nous permet de connaître les souches qui peuvent être utilisées en consortium, afin de favoriser la dégradation de la matière organique présente dans les lixiviats et donc d'augmenter le taux d'élimination de la DCO. Dans notre cas, on peut utiliser en consortium les isolats : G3 et G4 ; G1 et G9.

Conclusion :

Cette étude, qui s'inscrit dans le cadre général de la protection de l'environnement et la dépollution de l'eau, s'est focalisée sur l'isolement et la sélection des souches bactériennes à partir des lixiviats de la décharge contrôlée de la ville de Fès, afin de les utiliser par la suite dans le traitement par bioaugmentation à l'échelle pilote.

Nos résultats indiquent que :

L'évaluation des paramètres physico-chimique et microbiologique de l'effluent brut, a montré que cet effluent ne répond pas à la norme de rejet Marocaine en termes de : la DCO, les MES, le nitrate, l'ammonium, les nitrites l'orthophosphate et le sulfate. Ainsi que les germes recherchés, représentent les paramètres les plus fortement chargés, ce qui montre leur rejet direct dans l'environnement sans aucun traitement préalable.

Nous avons isolé 11 morphotypes différents à partir des lixiviats, 5 morphotypes sur milieu LB agar et 7 morphotypes sur la gélose nutritive. La plupart des bactéries isolées sont des bacilles à Gram négatif.

L'évaluation de la performance du traitement des lixiviats par nos isolats bactériens a montré que le traitement du lixiviat par nos souches bactériennes à une concentration de 2%, présente un potentiel moyen d'abattement de la DCO, avec un taux d'abattement de l'ordre de 62%. En revanche le traitement des lixiviats par les isolats des suspensions enrichis à une concentration de 6% a donné un taux d'abattement de la DCO plus important, de l'ordre de 74%.

La recherche de l'effet antagoniste entre nos isolats bactériens a été effectuée par la méthode de surcouche. Les résultats ont montré que certains de nos isolats sont doués d'une activité antimicrobienne et présentent un effet antagoniste entre eux, puisqu'ils sont entourés de petites auréoles d'inhibition.

Le traitement des lixiviats par nos isolats bactériens ont été utilisées au traitement des lixiviats dans le système RSD à l'échelle pilote, par bio-augmentation en les injectant avec d'autres isolats dans la cuve d'aération (RSD) le lundi 28 mai 2018. Ce travail rentre dans le cadre du projet financé par le ministère de l'environnement Marocain.

Perspectives:

Nous avons pu atteindre nos objectifs, mais il nous reste un certain nombre de travaux pour compléter cette étude tels que :

- ❖ L'identification moléculaire de nos isolats bactériens qui est en cours de faisabilité.
- ❖ Etude de l'effet antagoniste entre les souches bactériennes isolées à la FSDM et la FST.
- ❖ Tester les souches que nous avons isolées à la FSDM et celles isolées à la FST en culture mixte à l'échelle du laboratoire.
- ❖ Suivre la bio-augmentation à l'échelle pilote avec nos souches bactériennes pour l'épuration du lixiviats, afin de tester leurs performances en termes d'abattement de la matière organique.

Liste des références bibliographiques :

- [1]. Ministère délégué auprès du ministre de l'énergie des mines, de l'eau et de l'environnement, chargé de l'environnement, 3^{ème} rapport sur l'état de l'environnement du Maroc (2015).
- [2]. **Khattabi H. (2002)** thèse de doctorat : intérêt de l'étude des paramètres hydrogéologiques et hydrobiologiques pour la compréhension du fonctionnement de la station de traitement des lixiviats de la décharge d'ordures ménagères d'Etueffont (Belfort, France).
- [3]. **Berthe C. (2006)** thèse de doctorat : Etude de la matière organique contenue dans des lixiviats issus des différentes filières de traitement des déchets ménagères et assimilés.
- [4]. Rapport sur le secteur des déchets solides au Maroc. (2013) Situation actuelle et perspectives de développement. Ministère de l'aménagement du territoire, de l'eau et de l'environnement et Secrétariat d'état chargé de l'environnement, direction de surveillance et de la prévention des risques .p 4.46-51.
- [5]. **EL Fadel H. (2012)** thèse de doctorat : Traitement physico-chimique et biologiques des lixiviats de la décharge publique contrôlée de la ville de Fès : Application des procédés de filtration, coagulation-floculation et du SBR.
- [6]. Loi n° 28-00 relative à la gestion des déchets et à leur élimination.
- [7]. **Tabet. M - Aoul. (2001)** Types de traitement des déchets solides urbains évaluation des coûts et impacts sur environnement. Rev. Energ. Ren, (2001) 97- 102.
- [8]. **Trabelsi S. (2002)** thèse de doctorat de l'Université Paris- Est et Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie : Etudes de traitement des lixiviats des déchets urbains par les procédés d'oxydation avancée photochimiques et électrochimiques : application aux lixiviats de la décharge tunisienne "Jebel Chakir".
- [9]. **El-fadel M., Findikalis A.N. ETy Leckie J.O. (1997)**. Environmental impacts of solid waste landfilling. Journal of Environmental Management, 50, 1-25.
- [10]. **El-Fadel M., Bou-Zeid E., Chahine W and Alayli B. (2002)** Temporal variation of leachate quality from pre-sorted and baled municipal solid waste with high organic and moisture content, Waste. Manage. 22/269-282.

- [11]. Institut de Veille Sanitaire, Stockage des Déchets et santé publique. Synthèse et recommandation. Rapport rédigé à la demande des ministères respectivement chargés de l'environnement et de la santé Françaises (2004).
- [12]. **Kulikowska D., Klimiuk E. (2008)** the effect of landfill age on municipal leachate composition, *Bioresource. Technol.* 99 5981-5985.
- [13]. **Matejka G., Rinke M, Mejbri R., Bril H. (2008)** Pollution engendree par un lixiviat de décharge d'ordures ménageres: Bilan hydeique et caracterisation. *Environmental Technology*, 15:4, 313-322.
- [14]. **Ademe (2000)**. In : Déchets municipaux. Ademe (Ed), 2ème édition, Paris, p 11.
- [15]. **Tahiri A. A., F. Laziri, Yachaoui Y., S. El Jaafari, Tahiri A.H., (2014)** .Etude Des Polluants Contenus Dans Les Lixiviats Issus De La Décharge Publique De La Ville De Mèknes (Maroc), *European Scientific Journal*
- [16]. **Jensen D.L., Ledin A. (1999)** Christensen T.H., Speciation of heavy metals in landfill-leachate polluted groundwater, *Water Res.* 33 2642-2650.
- [17]. **Saadi S., Sbaa M., EL Khormouz M. (2016)** physio-chimical chracterization of oujda city landfill leachates (Eastern Morocco). *Sciencelib*, ISSN 2111-4706.
- [18]. **Trabelsi S. (2012)** Thèse de Doctorat de l'Université Paris- Est et Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie : Études de traitement des lixiviats des déchets urbains par les Procédés d'Oxydation Avancée photochimiques et électrochimiques. Application aux lixiviats de la décharge tunisienne "Jebel Chakir". Thèse de Doctorat de l'Université Paris- Est et Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie.
- [19]. **Linde K and Jönsson A.S. (1995)** Nanofiltration of salt solution and landfil leachate, *Desalination.* 103- 223– 232.
- [20]. **Chaudhari L.B and Murthy Z.V.P. (2010)** Treatment of landfill leachates by nanofiltration, *J. Environ. Manage.* 91/1209-1217.
- [21]. **Pronost R and Matejka G. (2000)** Les lixiviats de décharges d'ordures ménagères. Production, caractérisation, traitement, *Environnement et Technique.* 196/25-29.
- [22]. **Trebouet D., Schlumpf J.P., Jaouen P and Quemeneur F. (2001)** Stabilized landfill leachate treatment by combined physicochemical–nanofiltration process, *Water Res.* 35/2935–2942.
- [23]. **Linde K., Jönsson A.S and Wimmerstedt R. (1995)** Treatment of three types of landfill leachate with reverse osmosis, *Desalination.* 101/21-30.

- [24]. **Ushikoshi K., Kobayashi T., Uematsu K., Toji A., Kojima D and Matsumoto K. (2002)** Leachate treatment by the reverse osmosis system, *Desalination*. 150-121-129.
- [25]. **Renou S., Givaudan J.G., Poulain S., Dirassouyan F and Moulin P. (2008)** Landfill leachate treatment: Review and opportunity, *J. Hazard. Mater.* 150/ 468-493.
- [26]. **Choo K.H and Lee C.H., (1996)** Membrane fouling mechanism in the membrane-coupled anaerobic bioreactor, *Water Res.* 30 /771 – 1780.
- [27]. **Peters T.A. (1999)** Past and future of membrane filtration for the purification of landfill leachate, *Proceedings of the 7th International Landfill Symposium Sardinia, Italy* 335–344.
- [28]. **Renou S., Poulain S., et granair j., (2008)**, les filières classiques de traitement des lixiviats 311 :66-73.
- [29]. **Lema J.M., Mendez R., Blazquez R., (1988)** Characteristics of landfill leachates and alternatives for their treatment: a review, *Water. Air. Soil. Pollut.* 40 223-250.
- [30]. **Mehmood M.K., Adetutu E., Nedwell D.B., Ball A.S., (2009)** In situ microbial treatment of landfill leachate using aerated lagoons, *Bioresour. Technol.* 100 2741-2744.
- [31]. **Loukidou M.X., Zouboulis A.I., (2001)** Comparaison of two biological treatment process using attached-growth biomass for sanitary landfill leachate treatment, *Environ. Pollut.* 111 273–281.
- [32]. **Génie et modélisation des bioprocédés de l’environnement I. Séminaire : Sequencing batch reactor. Ecole polytechnique fédérale de lausanne. Oct. (2004).**
- [33]. **Bourserie S., Chodzko R., Follet L., Fuchs F., Lesavre J., Liberge S., Miltgen F., Pouget E., Riffaud J.L., Saillard S., Salome C and Switala O., (2001)** Epuration des eaux usées domestiques par filtration sur sable.
- [34]. **Silva A.C., Dezotti M and Sant’Anna Jr G.L., (2004)** Treatment and detoxication of a sanitary landfill leachate, *Chemosphere*.55/207–214.
- [35]. **Amokrane A., Comel C and Veron J., (1997)** Landfill leachates pretreatment by coagulation flocculation, *Water Res.*31/2775-2782.
- [36]. **Ozturk I., Altinbas M., Koyuncu I., Arikian O., Gomec-Yangin C., (2003)** Advanced physicochemical treatment experiences on young municipal landfill leachates, *Waste. Manage.* 23 441–446.
- [37]. **Çeçen F., Gürsoy G., (2000)** Characterization of landfill leachates and studies on heavy metal removal, *J. Environ. Monit.* 436–442.

- [38]. **Kurniawan T.A., Lo W.H., (2006)** Chan G.Y.S, Physico-chemical treatments for removal of recalcitrant contaminants from landfill leachate, *J. Hazard.Mater.* 28 80-100.
- [39]. **Bouchet C., (2015)** traitement des lixiviats : des effluents complexes qui nécessitent un traitement poussé.
- [40]. **Chtioui H., Khalil F., Souabi S., and Aboulhassan M.A., (2008)** Evaluation de la pollution générée par les lixiviats de la décharge publique de la ville de Fès. *Déchets–revue francophone d’écologie industrielle - N° 49 - 1er Trimestre*
- [41]. **El Bouhali I., (2001)** : Etudes physicochimique, Bactériologique et faunistique à l’interface superficiel/interstitiel de deux cours d’eau dans la vallée sud de l’ouest Fès. Thèse de Doctorat d’état Fac.sc.fès
- [42]. **Rodier J., Legube B., Merlet N., Coll., (2009)** L’analyse de l’eau, 9ème édition. Ed. Dunod Paris. ISBN: 978- 2-10-054179-9.
- [43]. **Cambier P, Schvartz C, Van Oort F., (2009)** Contaminations métalliques des agrosystèmes et écosystèmes péri-industriels. P: 70.
- [44]. Field applications of genetically engineered microorganisms for bioremediation processes. *Curr Opin Biotechnol.* (2000) Jun;11(3):286-9.
- [45]. **Li, X. Z., Zhao, Q. L., (2001)** Efficiency of biological treatment affected by high strength of ammonium-nitrogen in leachate and chemical precipitation of ammonium-nitrogen as pretreatment. *Chemosphere* 44 (1), 37-43,
- [46]. **Tagg JR, Bannister LV., (1979)** Fingerprinting beta-haemolytic streptococci by their production of and sensitivity to bacteriocine-like inhibitors. *J MedMicrobiol.* Nov;12(4):397 411.
- [47]. **Rassam A., Bourkhiss B.,Chaouch A., El watik L., Chaouki H and Ghannami M., (2012)** Caractérisation de lixiviats des décharges contrôlées au Maroc et solutions de traitement : cas de lixiviats de la ville d’AL Hoceima. ScienceLib Editions Mersenne : Volume 4, N ° 120204 -ISSN 2111-4706.
- [48]. **Tchobqnglous G., Theisen H., Vigil S., (1993)** Integrated Solid Waste Management, McGraw-Hill International Edition, New York, 978 p.
- [49]. **Kouame K.I., (2007)** Pollution physico-chimique des eaux dans la zone de la décharge d’Akouedo et analyse du risque de contamination de la nappe d’Abidjan par un modèle de

simulation des écoulements et du transport des polluants. Thèse de Doctorat, Université d'Abobo Adjamé, Côte d'Ivoire, 212 p.

[50]. **Christensen J.B., Baum A., Albrechtsen H.J., Heron G. (2001).** Biogéochimie de landfill leachate plumes, *Appl. Geochem.*, Vol 16, 659- 718. EL KHA.

[51]. **Lisee., (2004)** “Contrôle van de fysicochemische kwaliteit van de viswaters vanhet Brussels Hoofdstedelijk Gewest”, rapport effectué pour le compte de l'IBGE.

[52]. **Lagier T., François V., Parlanti E., Lamotte M., Feuillade G and Matejka G., (2000)** Comparative characteristics of humic substances and dissolved organic carbon of a sanitary landfill leachate. *Proceedings IHSS, Tenth International Meeting of the International Humic Substances Society, Toulouse*, 529-532.

[53]. **Boothe D. D. H., Smith M. C., Gattie D. K., Das K.C., (2001)** Characterization of microbial populations in landfill leachate and bulk samples during aerobic bioreduction. *Advances in Environmental Research*, 5 : 285-294,

[54]. **Ceçen, F., Aktas, O., (2004)** Aerobic co-treatment of landfill leachate with domestic wastewater. *Environmental Engineering Science* 21 (3), 303-312.

Annexes :

❖ **Composition du milieu YPG (Yeast, Peptone, Glucose) dans un litre de l'eau distillée:**

- ✓ Extrait de levure : 10 g
- ✓ Peptone : 10 g
- ✓ Glucose : 10 g
- ✓ Agar : 17 g

Dissoudre les composants à chaud après stérilisation à 120°C pendant 20 minutes.

❖ **Composition du milieu LB (Luria-Bertani) dans un litre de l'eau distillée :**

- ✓ Peptone 10g
- ✓ Extrait de levure 5g
- ✓ Chlorure de sodium 10g
- ✓ Agar 18g

❖ **Composition du milieu GN (Gélose nutritive) dans un litre de l'eau distillée :**

- ✓ Extrait de viande 1g
- ✓ Extrait de levure 2.5g
- ✓ Peptone 5g
- ✓ Chlorure de sodium 5g
- ✓ Agar 15g