



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences biologique



## Mémoire :

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé :

**Evaluation de la dégradation des colorants  
par une souche d'actinobactéries en vue de  
traitement des eaux usées textiles**

Présenté par : Melle BENYAHIA Amina

Mr GUIDOUM Khayr el dinne

Devant le jury :

Encadrant : Mme SOUAGUI Y. MCB Univ. BBA

Président : Mme ZERROUG A. MCB Univ. BBA

Examinatrice : Mme IRATNI N. MAA Univ. BBA

Année universitaire : 2020/2021

# *Remerciements*

*Nous commençons d'abord par remercier Allah le plus miséricordieux, qui nous a procuré la patience pour aller au bout de notre objectif.*

*Toute notre gratitude à l'égard de Mme. SOUAGUI Yasmina notre encadrante, pour sa patience, sa disponibilité et ses judicieux conseils qui ont contribué à alimenter notre réflexion.*

*Nos vifs remerciements aux membres de jury, la présidente Mme ZERROUG A. et Mme IRATNI N. pour l'examen du document.*

*Aux ingénieurs de laboratoire Mme. GAHFIF Wahiba et Mr. Khalil*

*de nous avoir soutenu durant la période de la réalisation de ce travail, Ainsi qu'à Mr.*

*BENYOCEF Nabil, nous voulons vous dire un sincère merci pour votre soutien votre enseignement et vos conseils précieux.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à la personne la plus chère au monde, à la personne qui m'a donné la vie, source de tendresse et symbole d'espoir tu n'as pas cessé de m'encourager et de me conseiller, aucune dédicace ne saurait exprimer ce que tu mérites pour tous tes sacrifices, ta présence seule me suffit, et ton sourire seule me comble à toi chère **maman**.*

*À mes sœurs et mes frères, qui m'ont toujours soutenu  
et aidé à réaliser mon rêve*

*À mes neveux  
À ma meilleur ami*

*À tous ceux et celles qui me sont chers*

*Avec toute mon affection*

*Amina*

*Je dédie ce projet :*

*A mon cher père,*

*A ma chère mère,*

*Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard,  
de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre  
mes objectifs.*

*A mes deux frères,*

*A mes deux sœurs,*

*Pour ses soutient moral et leur conseils précieux tout au long  
de mes études.*

*A mes chères enseignants : Dr Souagui et Dr Benyoucef ,*

*Pour leurs indéfectibles soutiens et leurs patiences infinies.*

*Ames chères ami(e)s,*

*Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.*

*A toute ma famille*

*Riyad*

## Résumé

La présente étude porte sur des essais de dégradation de colorants par une souche d'actinobactéries du genre *Streptomyces*, pour une éventuelle extrapolation sur des colorants textiles. La méthodologie expérimentale appliquée a pour but d'étudier l'influence de la souche utilisée sur l'intensité et la vitesse de dégradation de différentes concentrations de colorants à savoir, le bleu de méthyle comme colorant azoïque, le rouge Congo, colorant bis-azoïque et le rouge de Phénol.

le meilleure vitesse de dégradation du colorant rouge de Congo ( $0.40 \text{ mg. L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) Comparativement avec celle de blue de méthylène ( $0.21 \text{ mg. L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) et du rouge de phénol ( $0.01 \text{ mg. L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ).

**Mots clés :** actinobactéries, *Streptomyces*, décoloration, minéralisation, colorants textiles, biodégradation.

**Abstract**

This study concerns the application of a biological treatment process for textile dyes. The peculiarity of these processes lies in the use of actinobacteria, in particular the genus *Streptomyces*, produce the extracellular peroxidases which play an essential role in the biodegradation of lignin (Oxidation), resulting in the production of water-soluble polymeric compounds. The ability of actinobacteria to discolor but also to mineralize textile dyes, in particular azois very efficient, the methodology of experimental research has been applied in this thesis in order to study the influence of the strain used on the intensity and rate of degradation of different concentration of textile dyes.

The best rate of degradation of Congo red dye (0.40 mg) compared with that of methylene blue ( $0.21 \text{ mg } L^{-1} \cdot h^{-1}$ ) and phenol red ( $0.01 \text{ mg } L^{-1} \cdot h^{-1}$ ).

**Key words:** actinobacteria, discoloration, mineralization, textile dyes, biodegradation.

## المخلص

تتعلق هذه الدراسة بتطبيق عملية المعالجة البيولوجية لأصبغ النسيج. تكمن خصوصية هذه العملية في استخدام البكتيريا الشعاعية ، ولا سيما جنس *Streptomyces* ، التي تنتج البيروكسيدات خارج الخلية التي تلعب دورًا أساسيًا في التحلل الحيوي للليغنين (الأكسدة) ، مما يؤدي إلى إنتاج مركبات متعددة الوحدات قابلة للذوبان في الماء. قدرة البكتيريا الشعاعية على تغيير اللون ولكن أيضًا على تمعدن أصبغ النسيج ، خاصة الأزوفعالة للغاية، تم تطبيق منهجية البحث التجريبي في هذه الأطروحة من أجل دراسة تأثير السلالة المستخدمة على شدة ومعدل تحلل بتركيز مختلف من المنسوجات الأصبغ. أفضل معدل تحلل لصبغة الكونغو الحمراء (0.40مجم/ل/س) مقارنةً بصبغة أزرق الميثيل (0.21مجم/ل/س) والفينول الأحمر (0.01مجم/ل/س).

الكلمات المفتاحية: البكتيريا الشعاعية ، تغير اللون ، التمعدن ، أصبغ النسيج، التحلل البيولوجي

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Exemples des groupes chromophores et auxochromes des colorants de types azoïques.....	04
<b>Figure 2:</b> Exemple de groupe chromophore et auxochrome des colorants de types anthraquinones.....	05
<b>Figure 3:</b> souche de genre <i>Streptomyces</i> sous la dénomination BS05.....	09
<b>Figure 4 :</b> les solutions mères des colorants textiles .....	10
<b>Figure 5 :</b> série de dilutions décimales de chaque colorant (RC, BM, RP).....	10
<b>Figure 6 :</b> les six tube de chaque colorant (RC, BM, RP) spectrophotomètre UV-visible utilisé .....	12
<b>Figure7:</b> Résultat du test présomptif .....	13
<b>Figure8:</b> Cinétique de dégradation de Bleu de Méthylène .....	15
<b>Figure9:</b> Cinétique de dégradation de rouge de Congo .....	15
<b>Figure10:</b> Cinétique de dégradation de rouge de phénol .....	16



## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> résultats du test présomptif de la dégradation des colorants.....	13
---	----

## Liste des abréviations

- ❖ **BM** : bleu de méthylène
- ❖ **RC** :rouge de Congo
- ❖ **RP** : rouge de phénol
- ❖ **UV** : ultra violet
- ❖  $\lambda$  :Lambda
- ❖ **NaNO<sub>2</sub>**: Nitrite de sodium
- ❖ **KDP (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)** : Dihydrogénophosphate de potassium

# Sommaire

---

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

**Introduction** ..... 01

**Partie I. Synthèse bibliographique** ..... 03

I.1. Classification des colorants ..... 03

I.1.1. Classification chimique ..... 03

I.2. Généralité sur les Actinobactéries ..... 06

I.3. .Traitement biologique..... 06

**Partie II. Partie Expérimentale** ..... 08

I.Matériel et méthodes

I.1. Durée et lieu du travail ..... 08

I.2. Produits ..... 08

I.3. Matériel utilisé ..... 08

I.3.1. Matériel biologique..... 08

I.3.2. Préparation des solutions mères des colorants..... 09

I.3.3. Test d'activité ..... 10

II. Résultats et discussion ..... 13

II.1. Résultats de test d'activité ..... 13

II.2. Spectres d'absorption des colorants étudiés ..... 14

II.3. Cinétiques de biodégradation des colorants ..... 14

**Conclusion** ..... 18

**Références Bibliographiques**

**ANNEXES**

## Introduction

---

Nous vivons dans un monde où tout est coloré, nos vêtements, nos aliments nos produits cosmétiques, pharmaceutiques, etc. (Ben Mansour et *al.*,2009). Les colorants synthétiques dont 15% sont constitués de colorants azotés sont une des principales sources de pollution de l'eau(Ben Mansour et *al.*,2010).

Parmi les nombreuses familles de colorants synthétiques, les colorants azoïques sont les plus largement utilisés (60 à 70 %), ils sont très utilisés surtout au domaine du textile ce qui rend les effluents riches en ces colorants et leurs métabolites (Saratale et *al.*,2013).

Ces colorants sont très stables et relativement peu biodégradables. En raison de leurs effets toxiques et/ou cancérigènes, les fabricants et les industries utilisant ces colorants tentent cependant de réduire l'incidence négative de ces molécules sur l'environnement (Vatandoostarani et *al.*, 2017).

De ce fait, il est indispensable de traiter ces déchets avant de les rejeter dans l'environnement. Plusieurs procédés chimiques et physiques ont été développés pour ces fins mais restent très onéreux et peuvent générer des métabolites plus toxiques(Khandare et govindwar, 2015).

Cependant, la minéralisation complète des colorants avec des micro-organismes est l'une des options les plus fiables pour l'assainissement des eaux usées industrielles contenant des colorants azoïques. la diversité des microorganismes et de leurs différentes voies métaboliques permet de cibler les principales catégories chimiques de colorants (Mohanty et *al.*, 2006 ; Sadettin et Donmez 2007; Liu et *al.*, 2011; Saratale et *al.*,2011; Khalid et *al.*,2012; Prasad et Aikat, 2014 )

Parmi les microorganismes présentent un intérêt de dégradation des colorants sont les actinobactéries. Ces dernières sont des microorganismes procaryotes ayant un pourcentage de guanine-cytosine élevé (supérieur à 55%) qui les différencie des autres bactéries. En outre, elles forment phylogénétiquement une branche a part et sont caractérisées par une très grande diversité morphologique, pouvant aller de la forme cocci à la forme mycélienne parfaite (Goodfellow,2012).

Ces micro-organismes peuvent être étudiés pour leur potentiel de biodégradation et biorestauration.Les actinobactéries sont particulièrement adaptées au traitement des eaux usées, en raison de leurs différentes voies métaboliques fonctionnant dans un large éventail de

conditions environnementales et de la survie dans des conditions extrêmes (Lee et *al.*, 2012 ; Mahajan et Balachandran,2012).

Le présent travail porte sur l'évaluation de la dégradation des colorants synthétiques par une souche d'actinobactéries du genre *Streptomyces* sous la dénomination BS05, en utilisant le bleu de méthyle comme colorant azoïque, le rouge de congo, colorant bis-azoïque et le rouge de Phénol (colorant azoïque utilisé pour contrôler le pH des piscines).

# Partie I. Synthèse bibliographique

---

## I - Généralités sur les colorants

Les colorants textiles synthétiques sont exclusivement composés de produits organiques. les colorants textiles peuvent être classés selon leur composition chimique (azoïques, anthraquinoniques, au soufre, à base de triphénylméthane, indigoïdes, à base de phtalocyanines, etc.) ou selon leur domaine d'application.

Un colorant doit posséder, outre sa couleur propre, la propriété de teindre. cette propriété résultant d'une affinité particulière entre le colorant et la fibre est à l'origine des principales difficultés rencontrées lors des traitements, en effet, selon le type d'application et d'utilisation, les colorants synthétiques doivent répondre à un certain nombre de critères: résistance à l'abrasion, stabilité photolytique des couleurs, résistance à l'oxydation chimique (notamment aux détergents) et aux attaques microbiennes, (Guivarch,2004), les caractéristiques propres aux colorants organiques accroissent leur persistance dans l'environnement et les rendent peu disposés à la biodégradation (Pagga, 1986).

### I.1. Classification des colorants

Contrairement à l'usage établi en chimie organique, la terminologie employée dans le domaine des colorants n'obéit à aucune règle absolue, une classification rationnelle des matières colorantes organiques présente de grandes difficultés. certains auteurs regroupent ces colorants d'après leur constitution chimique, en tenant compte de la nature des chromophores qui les composent : groupement azoïque, anthraquinone, triarylméthane et phtalocyanine(Seyewetz et Sisley, 1896) d'autres les regroupent d'après les diversités des technologies d'application : colorants anioniques (acides, à mordant-acide, directs, réactifs, de cuve, colorants au soufre) ou cationiques (basiques) (Venkataraman, 1901), Les noms commerciaux rappellent les nuances, leur emploi principal ou le nom de leur inventeur. Les chiffres et les lettres qui suivent parfois le nom précisent la nuance ou certaines propriétés comme la résistance à la lumière ou à divers agents.

#### I.1.1. Classification chimique

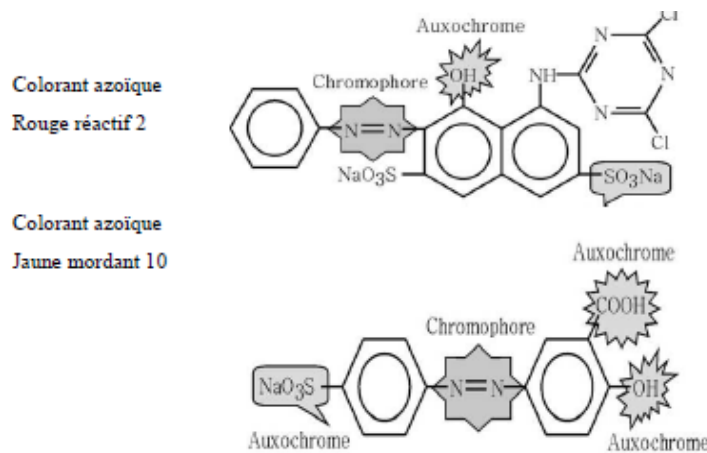
Le classement des colorants selon leur structure chimique repose sur la nature du groupement chromophore qui les compose on distingue :

- **Colorants azoïques**

Les colorants azoïques sont des composés aromatiques, contenant un groupement azoïque (-N=N-) ou plus (colorant diazoïques, triazoïques..polyazoïques)(**figure 1**).

Ces colorants constituent la plus large classe des colorants synthétiques utilisés dans les applications commerciales ces derniers, trouvent plusieurs applications dans différents domaines: textile, alimentaire, cosmétique, papetière... etc(Chang et Lin, 2001).

Cependant, les composés azoïques sont des composés analytiques utilisés comme des indicateurs de pH et des indicateurs de complexométrie.



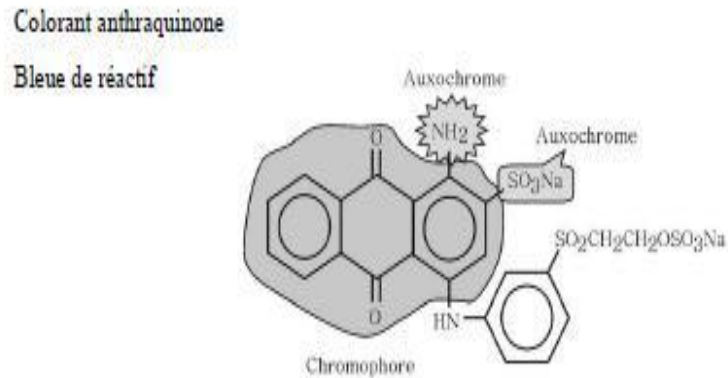
**Figure1:**Exemples des groupes chromophores et auxochromes des colorants de typesazoïques.

- **Les colorants anthraquinoniques**

La structure de ces colorants est basée sur le noyau anthraquinone 9,10 qui présente le groupe chromophore carbonyle:>C=O sur un noyau quinonique qui est le chromogène (**figure 2**).

Avec leur large gamme de nuances (toutes les couleurs du spectre du visible) mais particulièrement bleue et turquoise, ces colorants constituent la deuxième classe de colorants commerciaux(15% des colorants synthétiques) (Hunger, 2003).Les colorants anthraquinoniques complètent les colorants azoïques jaunes, orange et rouges (Aspland, 1997).

En effet, ils constituent la classe des colorants présentant la plupart du temps les meilleures stabilités à la lumière et aux agents chimiques (Perrin, 1993).



**Figure 2:**Exemple de groupe chromophore et auxochrome des colorants de types anthraquinone.

- **Les colorants du diphenylamine et du triphenylméthane**

Ils tirent leur appellation de l'Indigo dont ils dérivent. ainsi, les homologues sélénié, soufré et oxygéné du bleu Indigo provoquent d'importants effets hypsochromes avec des coloris pouvant aller de l'orange au turquoise (Seghir, 2014).

- **Les phtalocyanines**

Ont une structure complexe basée sur l'atome central de cuivre. les colorants de ce groupe sont obtenus par réaction du dicyanobenzène en présence d'un halogénure métallique (Cu, Ni, Co, Pt, etc.) (Ben Mansour et al, 2010).

- **Les colorants xanthènes**

Le composé le plus connu est la fluorescéine, ils sont dotés d'une intense fluorescence. Peu utilisés en tant que teinture, leur usage est bien établi comme marqueurs lors d'accidents maritimes ou comme traceurs d'écoulement pour des rivières souterraines, des flux de rejets... etc (Brown et al., 2000).



## **I.2. Généralités sur les actinobactéries**

Les actinobactéries sont des bactéries symbiotiques à Gram positif qui présentent un certain nombre de caractéristiques analogues à celles des champignons. La plupart d'entre eux se trouvent dans le sol et incluent certaines des formes les plus typiques de la vie terrestre, jouant un rôle important dans la décomposition de la matière organique, telle que la cellulose et la chitine. L'adaptation à l'habitat terrestre est très ancienne, dans le sol ce sont les êtres les plus abondants, représentant en moyenne 64% de la biomasse bactérienne (Mariat, 1958, sans doute la source la plus riche en petites molécules de la planète. Leurs composés présentent une incroyable variété de structures chimiques et d'activités biologiques (dans la nature et en laboratoire).

Les actinobactéries ont un potentiel pour produire une variété d'enzymes (Jenson et Lauro, 2008), possédant plusieurs applications aussi bien dans l'agro-alimentaire que dans le pharmaceutique (Schmid et Verger, 1998; Pandey et al., 2000). Ils produisent d'autres métabolites secondaires dotés d'une large gamme d'activités, telle que les vitamines (vitamines C, E, et A) (Dekkers et al., 1996; Kaczmarek et al., 1999). Les herbicides, les pesticides, les antibiotiques (Dasari et al., 2012), les antiviraux (Lee et al., 2007) et antiparasitaires (Pimentel-Elardo et al., 2010).

Plusieurs souches d'actinobactéries ont été rapportées avec la capacité de décolorer les réactifs (l'antraquinone, la phtalocyanine et les azoïques) (Zhou et al., 1993).

## **I.3. Traitement biologique**

Le traitement des eaux usées textiles par des procédés purement biologiques peut être possible même sans l'inclusion d'autres sources de carbone, par exemple les eaux usées municipales. Cette question a fait l'objet de recherches intensives ces dernières années. Une telle situation avait déjà été prédite par (McKay, 1979) qui concluait que la décoloration par les systèmes biologiques recevrait une attention accrue à l'avenir.

Parmi les nombreux systèmes biologiques disponibles sont:

- Les réacteurs aérobies à boues activées ou à biofilms rotatifs (Shaul et al., 1991; Jiang & Bishop, 1994).
- Réacteurs aérobies-anaérobies à lit tassé (Schliephake et al., 1993; Line et al., 1994).
- Réacteurs aérobies-anaérobies à lit fluidisé (Seshadri et al., 1994).

- Réacteurs aérobies-anaérobies séquentiels en lots ou à flux continu (Loydet *al.*, 1992 ; Ganesh et *al.*, 1994 ; Oxspring et *al.*, 1996).
- Réacteurs anaérobies discontinus (Carliell et *al.*, 1995).

# Partie II. Partie Expérimentale

---

## I - Matériel et méthodes

### I.1. Durée et lieu du travail

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de Microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers de l'université Mohamed El Bachir El IBrahimi (B.B.A). Notre étude s'est étalée sur une période d'un mois (avril 2021).

### I.2. Produits

- **Produits chimiques**

Dihydrogénophosphate de potassium( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), Nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ),

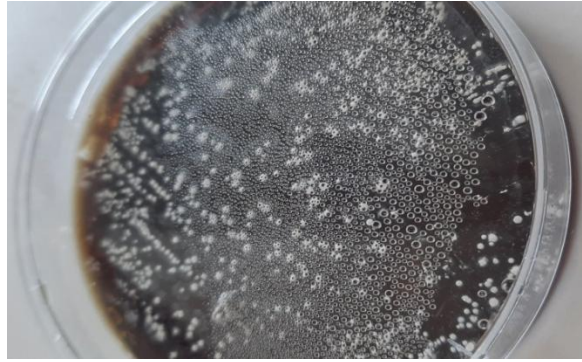
- **Colorants**

- Blue de méthylène (formule chimique  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_3\text{SCl}$  et une masse molaire de 319,85 g.mol<sup>-1</sup>)
- Rouge de congo (formule chimique  $\text{C}_{32}\text{H}_{22}\text{N}_6\text{O}_6\text{S}_2\text{Na}_2$ , de masse molaire 696,7 g.mol<sup>-1</sup> PH= 5,2)
- Rouge de phénol (formule chimique  $\text{C}_{19}\text{H}_{14}\text{O}_5\text{S}$ , de mass molaire 354,376 g.mol<sup>-1</sup> PH= 6,8)

### I.3. Matériel utilisé (ANNEXE I)

### I.4. Matériel biologique

La souche utilisée dans notre étude est une souche d'actinobactéries appartenant au genre *Streptomyces* sous la dénomination BS05, elle a été isolée et identifiée par notre encadrant Dr. SOUAGUI Y. à partir d'un échantillon de sol d'une région aride du sud algérien, Boussaâda



**Figure3:** La souche *Streptomyces* sp. BS05

## **I.5. Préparation des solutions mères des colorants**

### **5.1. Préparation des solutions des sources d'azote et de phosphore**

Source d'azote : dissolution de 1g de ( $\text{NaNO}_2$ ) dans 9ml d'eau distillée.

Source de phosphore : dissolution de 1 g de ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) dans 9ml d'eau distillée (SARR A, 2005).

### **5.2. Préparation des solutions mères**

-**Au bleu de méthylène:**0,1g de bleu de méthylène dissoute dans un 100 ml d'eau physiologique.

- **Au rouge de Congo:**3,06 g de rouge de Congo dissoute dans un 100 ml d'eau physiologique.

- **Au rouge de phénol:**0,1g de rouge de phénol dissoute dans un 100 ml d'eau physiologique.

Bien mélanger les solutions mères des colorants à l'aide d'un barreau magnétique sur plaque chauffante jusqu'à l'obtention d'une solution homogène (SARR A, 2005).



**Figure4** :Les solutions mères des colorants utilisés

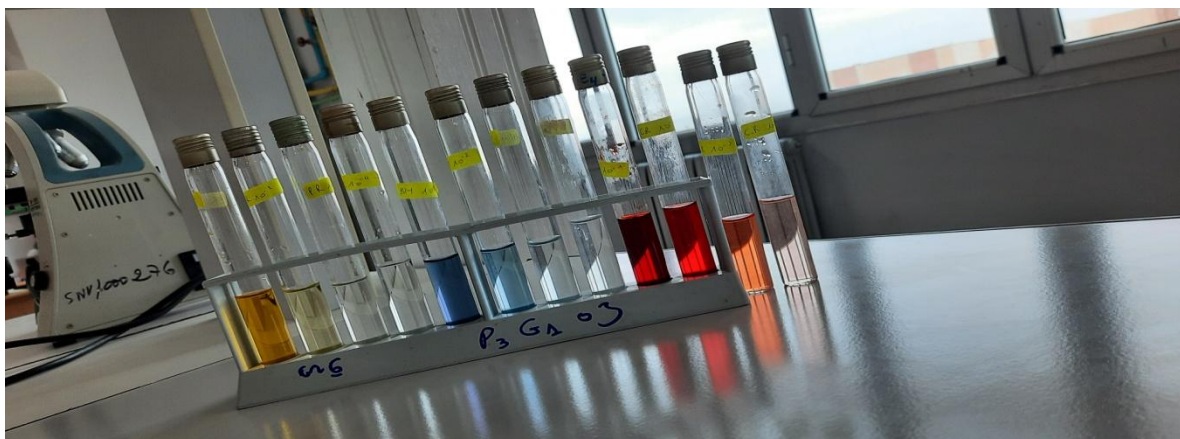
### 5.3. Test d'activité

Nous avons réalisé une série de dilutions décimales de chaque solution mère de  $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-4}$  (**Figure 5**) (1ml de solution mère dans 9ml d'eau physiologique stérile les tubes bien mélangés à l'aide d'un vortex) (les tubes et le matériel utilisé ont été stérilisés).

Ensuite, nous avons ajouté une source d'azote ( $\text{NaNO}_2$ ) et une source de phosphore ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), avec un témoin servant pour l'observation de la diminution de la concentration des colorants.

Enfin, on a inoculé avec la souche d'actinobactéries, *Streptomyces* sp. BS05 en excès de biomasse (pour avoir des résultats visuels et rapides) à l'aide d'une anse de platine flambée.

Les tubes ainsi inoculés ont été incubés à  $28^\circ\text{C}$  pendant 72 heures.



**Figure 5**: Série de dilutions décimales de chaque colorant (RC, BM, RP).

## **I.6. Etude cinétique de la biodégradation des colorants**

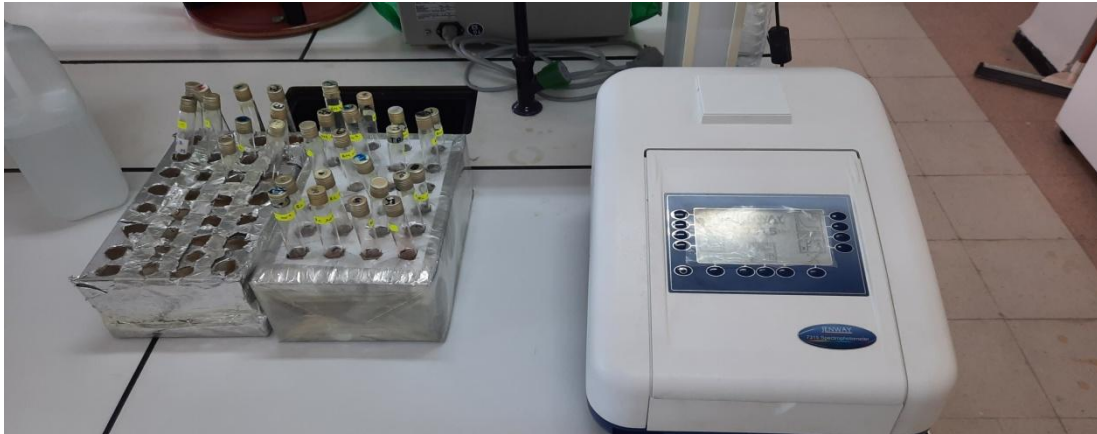
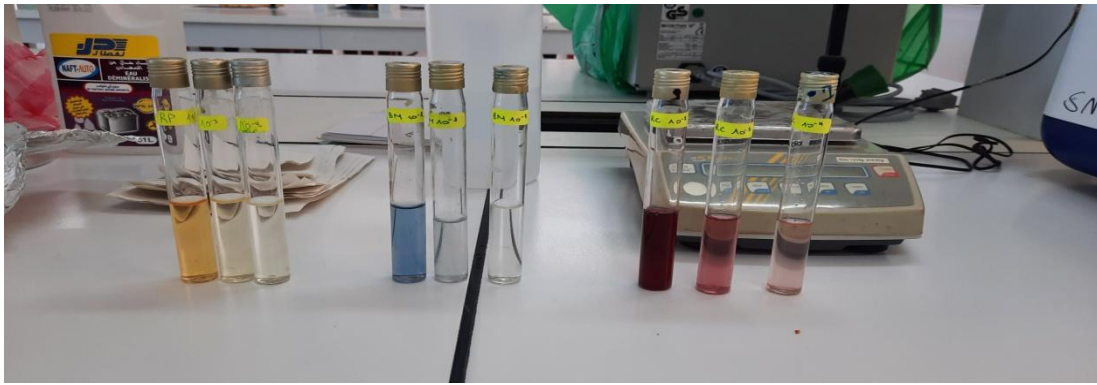
L'étude cinétique a pour objectif de déterminer la vitesse ainsi que les conditions optimales de biodégradation du colorant utilisé, c'est une démarche qui relève de la construction d'un procédé et son optimisation.

### **6.1. Préparation des tubes**

Nous avons réalisé une série de dilutions décimales de chaque solution mère de  $10^{-1}$  jusqu'à  $10^{-6}$  (1ml de solution mère dans 9ml d'eau physiologique stérile) (ANNEXE I).

ensuite, nous avons ajouté une source d'azote ( $\text{NaNO}_2$ ) et une source de phosphore ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), On a choisis six tubes de chaque colorant, bien mélangés puis inoculés avec la souche *Streptomyces* sp. BS05), les tubes sont mis ensuite en incubation dans une étuve à  $44^\circ\text{C}$ . la lecture au spectrophotomètre a été faite chaque une heure.

le spectre d'absorption des trois colorants a été réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible avec l'eau physiologique servant de control (blanc), l'absorbance des solutions préparées a été mesurée à la longueur d'onde maximale. Les résultats obtenus nous permettront de construire une courbe d'étalonnage servant comme outil de dosage des colorants étudiés (**Figure 6**).



**Figure 6:** La lecture des absorbances pour les six tubes de chaque colorant (RC, BM, RP) au spectrophotomètre (UV-visible).

## II. Résultats et discussion

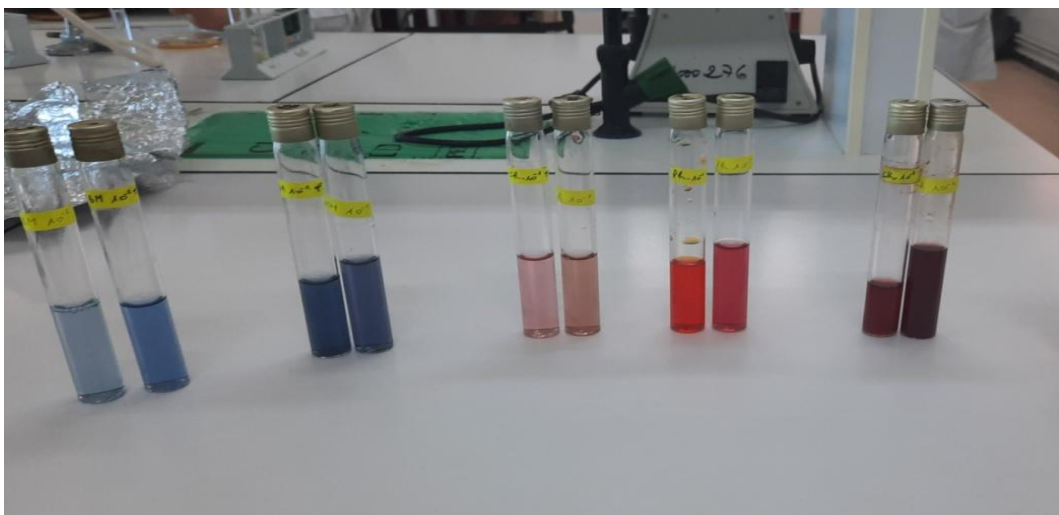
### II.1. Résultats du test d'activité

Les résultats du test présomptif de la dégradation des colorants sont représentés sur le **tableau 1** et la **figure 7**. Le test est considéré comme positif (+), lorsqu'une diminution de l'intensité de la couleur est observée après 72 heures d'incubation ; et négatif (-) lorsqu'il y a absence de diminution de l'intensité de la couleur.

**Tableau 1:** Résultats du test présomptif de la dégradation des colorants

Colorant	rouge de congo		bleu de méthylène		rouge de phénol	
	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-2}$	$10^{-1}$	$10^{-1}$	$10^{-2}$
Résultats	-	+	+	+	+	+

- Le test présomptif est considéré positif et particulièrement important car il permet de confirmer la capacité de dégradation et l'effet de cette bactérie sur les colorants utilisés.



**Figure7:** Résultat du test présomptif



## II. 2. Spectre d'absorption des colorants étudiés

On a déterminé l'absorbance ( $\lambda_{\max}$ ) des 3 colorants, les longueurs d'ondes maximales ( $\lambda_{\max}$ ) des trois colorants sont de 584nm, 664nm et 443 nm pour le rouge de congo, le bleu de méthylène et le rouge de phénol, respectivement (ANNEXE II). Ce qui nous a permis de tracer les courbes d'étalonnages de ces 3 colorants (ANNEXE II), afin de pouvoir les utiliser comme outil de dosage du colorant au cours des cinétiques de biodégradation.

## II.3. Cinétiques de biodégradation des colorants

Afin de mettre en évidence l'activité de *Streptomyces* sp. BS05, et le suivi de la dégradation des colorants, nous avons mis la biomasse en contact avec les colorants avec des quantités suffisantes en azote et les colorants utilisés servent de source de carbone.

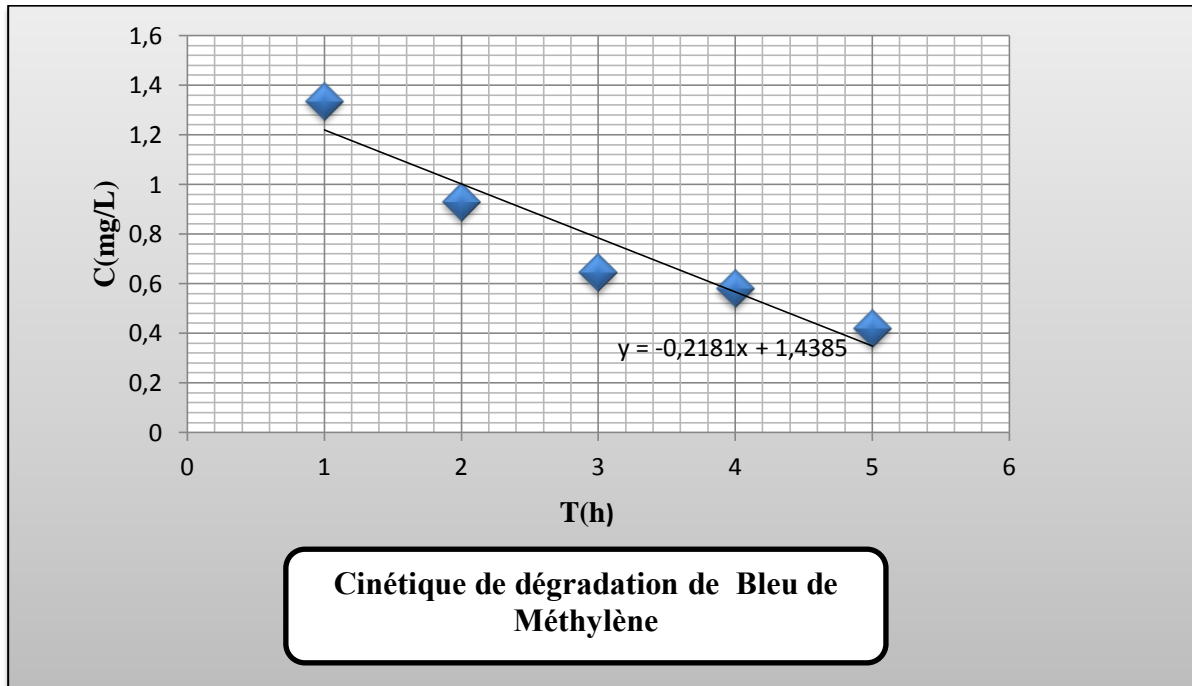
Nous avons fait varier la concentration du tube, le suivi de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde est représenté dans les **figures 4, 5,6**(ANNEXE II).

La représentation de l'absorbance des solutions des différentes concentrations est linéaire. On remarque que les absorbances augmentent progressivement en fonction de la concentration.

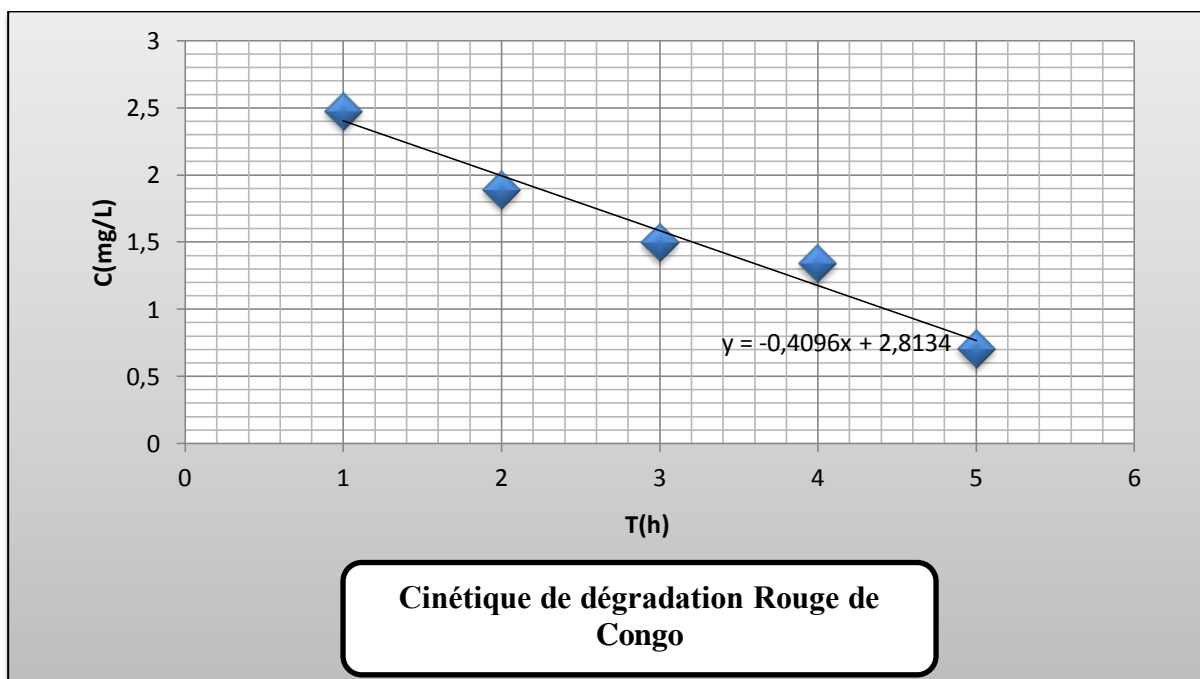
Les coefficients de corrélation est de l'ordre de (BM :0,891\_RC :0,916\_RP :0,994) dont l'équation de la droite d'étalonnage est (BM :A = 0.300, RC : A = 0,158, RP : A = 5,825).

Afin de suivre la dégradation des colorants, nous avons suivi l'absorbance en fonction de temps (une mesure chaque heure) les résultats sont représentés sur les **figures 8, 9 et 10**.

- Les courbes de dégradation

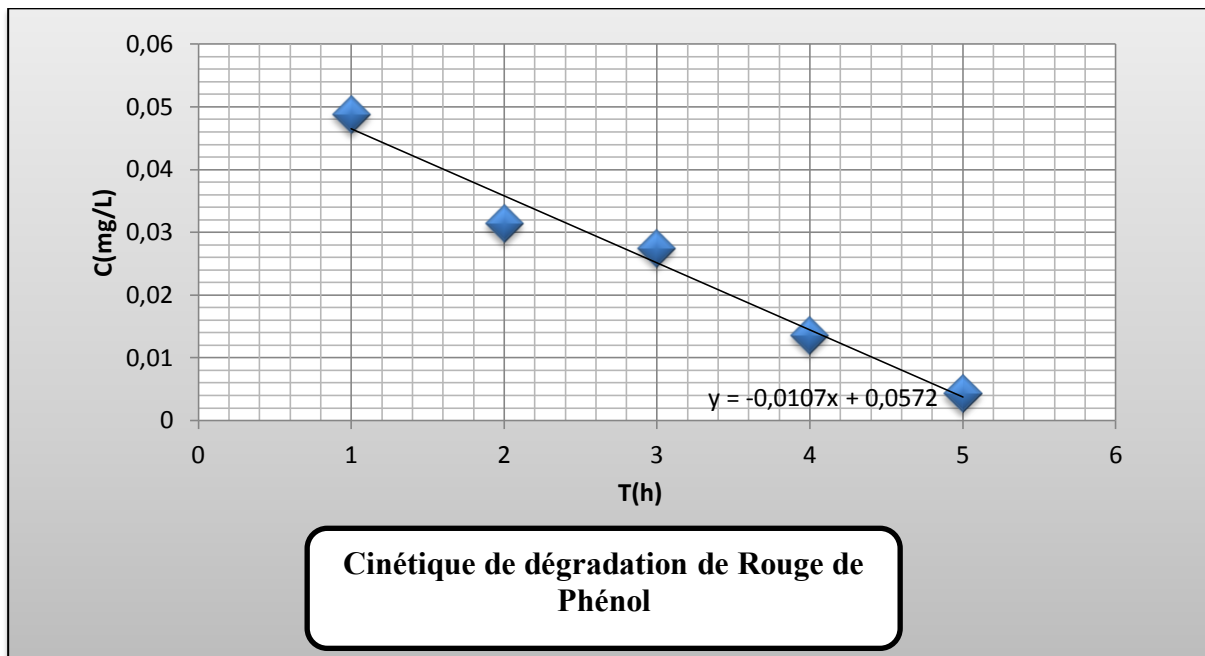


**Figure8:** Cinétique de dégradation de bleu de méthylène. ( $10^{-3}$ ) La vitesse enregistrée avec le bleu de méthylène était de  $0,21 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ .



**Figure9:** Cinétique de dégradation de rouge de Congo. ( $10^{-3}$ )

La souche avait montré une grande aptitude à dégrader le rouge Congo avec une vitesse cinétique de  $0,40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ .



**Figure 10:** Cinétique de dégradation de rouge de phénol .(  $10^{-3}$  )

Le rouge de phénol a été dégradé avec une vitesse de  $0,01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ .

Il ressort de ces résultats que la vitesse cinétique est linéaire et d'ordre 1. La vitesse de dégradation du colorant rouge de Congo ( $0.40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) est meilleure comparativement avec celle de dégradation du bleu de méthylène ( $0.21 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) et du rouge de phénol ( $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ). Cette différence observée est probablement due à la capacité de la souche *Streptomyces* sp. BS05 de s'adapter à cette nouvelle source de carbone, la bactérie synthétise donc facilement les outils nécessaires pour la dégradation du rouge de Congo en vue de l'utiliser comme source de carbone.

Les actinobactéries, en particulier le genre *Streptomyces*, produisent les peroxydases extracellulaires qui jouent un rôle primordial dans la biodégradation de la lignine (Oxydation), aboutissant à la production de composés polymériques hydrosolubles. La capacité des actinobactéries à décolorer mais aussi à minéraliser les colorants textiles, notamment azoïques (Zhou et al., 1993)

Ball et al., 1989, ont testé 20 souches d'actinobactéries, représentant un large éventail de ce genre, pour leur capacité à décolorer le Poly R (colorants alimentaire). Ces auteurs ont observé que seulement trois souches (*Streptomyces badius* 252, *Streptomyces* sp. EC22 et *Thermomonospora fusca* MT800) décolorent significativement le colorant.

Zhou et *al.*,1993, ont également testé séparément l'aptitude de 159 actinobactéries à dégrader les colorants synthétiques. Cette étude a été réalisée dans des conditions aérobies sur des effluents textiles similaires contenant séparément des colorants réactifs de structures différentes (le rouge réactif 147 et le bleu réactif 116).Les auteurs ont isolé83 souches capables de décolorer et de minéraliser ces colorants.

Enfin, un groupe de l'université de l'Idaho a testé la capacité des microorganismes ligninolytiques: champignons blancs de putréfaction et *Streptomyces*, à décolorer et minéraliser des colorants textiles(Zhou et *al.*,1993).

14 souches de streptomycètes se sont révélées efficaces sur la dégradation de deux colorants : le Poly B 411 et le Poly R 478. Les auteurs ont suggéré l'implication de peroxydases dans le processus de décoloration (Pasti et *al.*,1990).

## Conclusion

---

L'objectif de cette étude est d'évaluer la capacité de dégradation de colorants chimiques par une souche d'actinobactéries, *Streptomyces* BS05, afin de contribuer aux procédés de traitement des effluents issues de l'industrie textile chargés en colorants.

Les résultats obtenus au cours de cette étude montrent que les colorants utilisés à savoir le bleu de méthylène, le rouge de Congo et rouge de phénol, étaient facilement biodégradable par la souche d'actinobactéries *Streptomyces* BS05 avec une meilleure vitesse de dégradation de rouge Congo ( $0.40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ) Comparativement avec celle de Blue de méthylène ( $0.21 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ), et du rouge de phénol ( $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ ).

Ces bactéries sont largement distribuées dans l'écosystème et peuvent fonctionner dans un large éventail de conditions environnementales, ils peuvent avoir une meilleure survie grâce à la présence de différents mécanismes d'adaptation, ces bactéries sont des systèmes enzymatiques efficaces capables de dégrader complètement les colorants textiles dans une large gamme de conditions optimale, par conséquent, la souche *Streptomyces* BS05 pourrait être appliquée pour le traitement des eaux usée textiles, ceci étant une perspective au présent travail, afin de compléter et de déterminer la capacité de la souche *Streptomyces* SB05 de dégrader les colorants issus de l'industrie textile.

## Références Bibliographiques

---

### A

- ✓ **Adams, S. D., Fusco, W. & Kanzelmeyer, T.** (1995). Ozone, hydrogen peroxide/ozone and UV/ozone treatment of chromium- and copper-complex dyes: decolorization and metal release. *Ozone Sci. Engng.*, 17, 149-162.

### B

- ✓ **Ball A.S., W.B. Betts et A.J. McCarthy.** (1989). Degradation of lignin-related compounds by Actinomycetes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 1642-1644.
- ✓ **Ben Mansour H., Mosrati R., Corroler D., Ghedira K., Bariller D et Chekir-Ghedira L.** (2010). Acid violet7 and its biodegradation products induce chromosome aberration, lipid peroxidation and cholinesterase inhibition in mouse bone marrow. *Envir, Sci Pollut Res.*, 17, 1371-1778.
- ✓ **Ben Mansour H., Mosrati R., Corroler D., Ghedira K., Bariller D et Chekir-Ghedira L.** (2009). Mutagenicity and genotoxicity of acid yellow 17 and its biodegradation products. *Drug Chem. Toxicol.*, 32, 222-229
- ✓ **Ben Mansour H., Oualid Boughzala., Dridi D., Barillier D., Chekir-Ghedira L et Mosrati R** (2011). Les colorants textiles sources de contamination de l'eau : CRIBLAGE de la toxicité et des méthodes de traitement Revue des sciences de l'eau. *Journal of Water Science.*, 24, 209-238.
- ✓ **Brown, B.E.** (2000). The significance of pollution in eliciting the 'bleaching' response in symbiotic cnidarians. *Int. J. Environ. Pollut.*, 13, 392-415.

### C

- ✓ **Carliell, C. M., Barclay, S. J., Naidoo, N., Buckley, C. A., Mulholland, D. A. & Senior, E.** (1995). Microbial decolorisation of a reactive azo dye under anaerobic conditions. *Water SA (Pretoria)*, 21, 61-69.
- ✓ **Chang J.S. et Y.C. Lin** (2000). Fed-batch bioreactor strategies for microbial decolorization of azo dye using a *Pseudomonas luteola* strain. *Biotechnol. Prog.*, 16, 979-985.
- ✓ **Chang, C. J. & Lin, J. C.** (1994). Elimination of dyestuffs slurry pollution using liquid phase oxidation. *J. Chinese Inst. Chem. Engng.*, 25, 215-220.

### D

- ✓ **Dasari. V.R.R.K, Muthyala. M.K.K, Nikku. M.Y, Donthireddy. S.R.R.** (2012). Novel Pyridinium compound from marine actinomycete, *Amycolatopsis Alba* var. nov, DVR D4 showing antimicrobial and cytotoxic activities in vitro. *Microbiol Res.*, 167, 346-51.

- ✓ **DeAngelis, F. E. & Rodrigues, G. S.** (1987). Azo dyes removal from industrial effluents using yeast biomass. *Arquivos De Biologia E. Tecnologia (Curitiba)*., 30,301-309.
  - ✓ **Dekkers. J, Van Doornen. L, Kemper. H .**(1996).The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *Sports Med (Auckland, NZ)*.,21, 213–38.
- G**
- ✓ **Ganesh, R., Boardman, G. D. &Michelsen, D.** (1994). Fate of azo dyes in sludges. *Water Res.*, 28, 1367-1376.
  - ✓ **SBAI, G., OUKILI, K., LOUKILI,M.**(2016). Study of the degradation of the colouring agents of textile application on theMethylene blue.,16, 272-279.
  - ✓ **Groff, K. A.** (1991). Textile wastes. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 63,459-462.
  - ✓ **Groff, K. A.** (1993). Textile waste--textile industry wastewater waste disposala review. *Water Environ. Res.*, 65, 421-423.
  - ✓ **Govindan.**(2016). optimization of physical parameter for azodye degradation *Asian.journal of multidisciplinary studies.*,4,6.
  - ✓ **Guivarch**( 2004) Environmental Aspects of Textile Dyeing ,69
- H**
- ✓ **Hosono, M., Arai, H., Aizawa, M., Yamamoto, I., Shimizu, K. &Augiyama, M.** (1993). Decoloration anddegradation of azo dye in aqueous solution supersaturated with oxygen by irradiation of high-energyelectron beams. *Appl. Radiat. Iso.*, 44, 1199-1203.
  - ✓ **Huang, C. R., Lin, Y. K. & Shu, H. Y.** (1994). Wastewater decolorization and TOC-reduction by sequential treatment. *Am. Dyestuff Reporter.*,83, 15-18.
- Hunger K.** (2003). Industrial Dyes, Chemistry, Properties, Applications, *Edition Dr. Klaus Hunger, Frankfurt.Germany.*217-223
- J**
- ✓ **Jiang, H. & Bishop, P. L.** (1994). Aerobic biodegradation of azo dyes in biofilms.*Water Sci. Technol.*, 29, 525-530
- K**
- ✓ **Kaczmariski. M, Wójcicki. J, Samochowiec. L, Dutkiewicz. T, Sych. Z.**(1999). The influence of exogenous antioxidants and physical exercise on some parameters associated with production and removal of free radicals. *Pharmazie*; 54,303-6.
  - ✓ **Khandare, R. V., &Govindwar, S. P.** (2015). Textile dye degradation potential of plant laccase significantly.,10, 1039-1041.
  - ✓ **Kuehni, RG.** (2002). The early development of the Munsell system. *Color Research and Application/p.*,20–27.

## L

- ✓ **Lee, J.G, Yoo, I.D, Kim, W.G** .(2007). Differential antiviral activity of benzastatin C and its dechlorinated derivative from *Streptomyces nitrosporeus*. *Biol Pharm Bull.*,30,795–7.
- ✓ **Lin, S. H. & Lin, C. M.** (1993). Treatment of textile wastewater by ozonation and chemical coagulation. *WaterRes.*, 27, 1743-1748.
- ✓ **Lin, S. H. & Liu, W. Y.** (1994). Continuous treatment of textile water by ozonation and coagulation. *J. Environ. Engng (N. Y.)*,120, 437-446.
- ✓ **Loyd, C. K., Goardman, G. D. & Michelsen, D. L.** (1992). Anaerobic/aerobic treatment of a textile dye wastewater. *Hazard. Ind. Wastes.*,24, 593-601.

## M

- ✓ **Mao, H. Z. & Smith, D. W.** (1995). Toward elucidating mechanism and kinetics of ozone decolorization and dechlorination of pulp-mill effluents. *Ozone Sci. Engng.*,17, 419-448.
- ✓ **McKay, G.** (1979). Waste colour removal from textile effluents. *Am. Dyestuff Reporter.*, 68, 29-36.
- ✓ **Mincer T. L., Jensen P.R., Kauffman C.A and Fenical W.** (2002). Widespread and persistent populations of a major new marine actinomycete taxon in ocean sediments. *App Environ Microbial.*,68, 5005-5011.
- ✓ **Mariat, F.** (1958). Physiologie Des Actinomycetes Aerobies Pathogenes. *Mycopathologia et Mycologia Applicata.*,9, 111–149.
- ✓ **Mishra, G. & Tripathy, M.** (1993). A critical review of the treatments of decolorization of textile effluent. *Colourage.*,40, 35-38.
- ✓ **Mohanty S, Dafale N, Rao NN.**(2006). Décoloration microbienne du noir réactif 5 dans un Réacteur anaérobie-aérobie à deux étages utilisant des boues textiles activées acclimatées. *Biodégradation.*,17, 403 – 413

## N

- ✓ **Nawar, S. S. & Doma, H. S.** (1989). Removal of dyes from effluents using low-cost agricultural byproducts. *Sci. Total Environ.*, 79, 271-279.

## O

- ✓ **Ogfitveren, U. B. & Kopalal, S.** (1994). Color removal from textile effluents by electrochemical destruction. *J. Environ. Sci. Health.*,29, 1-16.
- ✓ **Oxspring, D. A., McMullan, G., Smyth, W. F. & Marchant, R.** (1996). Decolorization and metabolism of the reactive textile dye, Remazol-Black-B, by an immobilized microbial consortium. *Biotechnol. Lett.*, 18, 527-530.

## P

- ✓ **Pagga** (1986) The Degradation of Dyestuffs Part II.,59, 455



- ✓ **Pandey. A, Nigam .P, Soccol. C.R, Soccol. V.T, Singh .D and Mohan. R.**(2000). Advances in microbial analysis. *Biotechnol. Appl. Biochem.*,31, 135-152.
  - ✓ **Pasti, M.B., A.L. Pometto et M.P. Nuti.**(1990). Crawford DL.Lignin-solubilizing ability of actinomycetes isolated from termite (Termitidae) gut. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 2213-2218.
  - ✓ **Patai S.** (1997). The chemistry of the hydrazo, azo and azoxy groups, *Edition John Wiley and sons, Chichester*, 570.
  - ✓ **Paul R. Jensen et Federico M. Lauro.**(2008).An assessment of actinobacterial diversity in the marineenvironment.,94, 51.
  - ✓ **Perrin R., Scharff J.P.** (1993).*Chimie industrielle 1, Edition MASSON, Paris.*
  - ✓ **Prasad SS, Aikat K.** (2014). Étude de la biodégradation et de la bio-décoloration du colorant azoïque par Enterobacter sp .SXCR. *Environ Technol.*,35, 956 – 965.
- S**
- ✓ **Sadettin S, Donmez G.** (2007). Bioaccumulation simultanée de colorant réactif et de chrome(VI) en utilisant des thermophiles Phormidium sp. *Enzyme Microb Technol* .,41, 175 – 180
  - ✓ **Saratale RG, Saratale GD, Kalyani DC, Chang JS et Govindwar SP.** (2009). Décoloration et biodégradation améliorées du colorant textile azoïque Scarlet R en utilisant le consortium microbien développé-GR. *Biores. Technol.*,100, 2493–2500.
  - ✓ **SARR A.** (2005). Mécanismes d'élimination de l'azote et du phosphore dans les eaux usées domestiques traitées par lagunage sous climat sahélien - Possibilités et limites de leur réutilisation comme fertilisants en agriculture urbaine à Ouagadougou, travail de diplôme, EIER, 105
  - ✓ **Schliephake, K., Lonergan, G. T., Jones, C. L. & Mainwaring, D. E.** (1993). Decolorization of a pigment plant effluent by Pycnoporus cinnabarinus in a packed-bed bioreactor. *Biotechnol. Lett.*, 15, 1185-1188.
  - ✓ **Schmid. R. D and Verger. R.**(1998). Lipases: Interfacial enzymes with attractive applications. *Angew.Chem. Int. Ed.*,37,1608-1633.
  - ✓ **SEGHIR BAKIR Hafsa.**(2014) . analyse spectral en chimie.,14.
  - ✓ **Seshadri, S., Bishop, P. L. & Agha, A. M.** (1994). Anaerobic/aerobic treatment of selected azo dyes in wastewater. *Waste Mgmt.*,15, 127-137.
  - ✓ **Seyewetz A. et P. Sisley.** (1896). *Chimie des matières colorantes artificielles. Vol57,*
  - ✓ **Shaul, G. M., Holdsworth, T. J., Dempsey, C. R. & Dostall, K. A.** (1991). Fate of water soluble azo dyes in the activated sludge process. *Chemosphere.*,22, 107-119
  - ✓ **Shu, H. Y., Huang, C. R. & Chang, M. C.** (1994). Decolorization of mono-azo dyes in wastewater by advanced oxidation process: a case study of acid red 1 and acid yellow 23. *Chemosphere.*,29, 2597-260.
  - ✓ **Spadaro, J. T. & Tenganathan, V.** (1994). Peroxidase catalysed oxidation of azo dyes: mechanism of disperse Yellow 3 degradation. *Arch. Biochem. Biophys.*,312, 301-307.

**U**

- ✓ **Ulker, B. &Savas, K.** (1994). Color removal from textileeffluents by electrochemical destruction. *J. Environ. Sci.Health* .,29, 1-16.

V

- ✓ **Venkataraman K.** (1901). The analytical chemistry of synthetic dyes .,471.

W

- ✓ **Wilking, A. &Frahne, D.** (1993). Textile effluent-treatment methods of the 90s. *Melliand English.*,74, 325-328.

Z

- ✓ **Zhou W. et W. Zimmermann.**(1993). Decolorization of industrial effluents containing reactive dyes by actinomycetes. *Microbiol.*,107, 157-161.
- ✓ **Zimmermann T., Gasser F., Kulla H. G., Leisinger T.** (1984). Comparison of two bacterial azoreductases acquired during adaptation to growth on azo dyes. *Archives of Microbiology.*,138, 37-43

# ANNEXES

---

## ANNEXE I:

### Matériel utilisé

- Dans cette étude les mesures spectrophotométrique UV visible ont été réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible (JENWAY7315) qui permet de suivre la décoloration des solutions grâce à l'absorbance qui s'évoient en fonction du temps de traitement

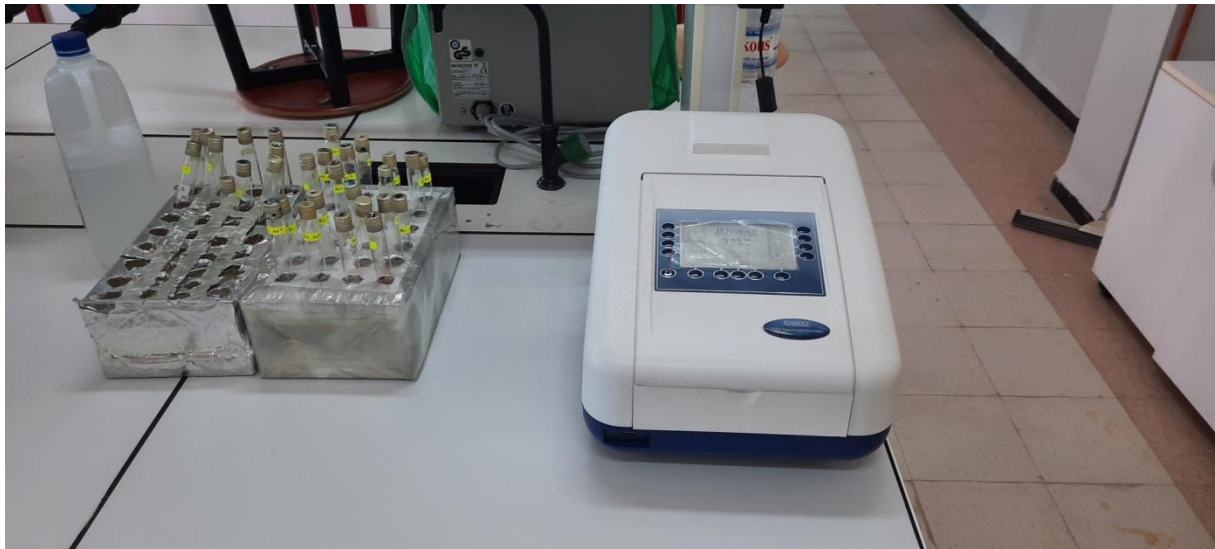


Étuve / Plaque chauffante / Vortex / Barreau magnétique / Micropipette



Bec Bunsen /Eprouvette / Erlenmeyer / spectrophotomètre UV/visible / Tubes a cultures

**Figure 1:** Matériel utilisé



**Figure 2:** spectrophotomètre mesure l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde connue (584nm, 664nm et 443 nm pour le rouge Congo, le bleu de méthylène et le rouge de phénol)



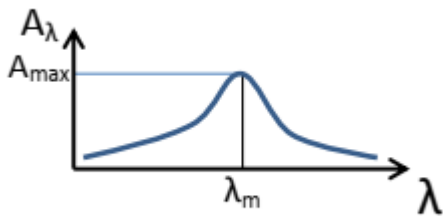
**Figure 3:** Réalisation d'une série des dilutions décimales a partir de la solution mère de chaque colorant

## ANNEXE II:

### Déterminer l'absorbance maximal d'une solution coloré

- **Spectre d'absorption de la solution**

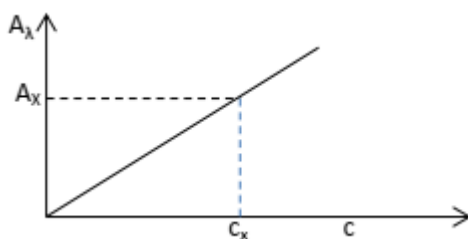
L'absorbance  $A_\lambda$  dépend de la longueur d'onde  $\lambda$ . Pour déterminer la longueur d'onde  $\lambda_{\max}$  à laquelle l'absorbance sera maximale, il faut mesurer l'absorbance de la solution pour un grand nombre de longueurs d'onde et tracer alors la courbe  $A_\lambda = f(\lambda)$  qui présente un maximum  $A_{\max}$  lorsque  $\lambda = \lambda_{\max}$ .



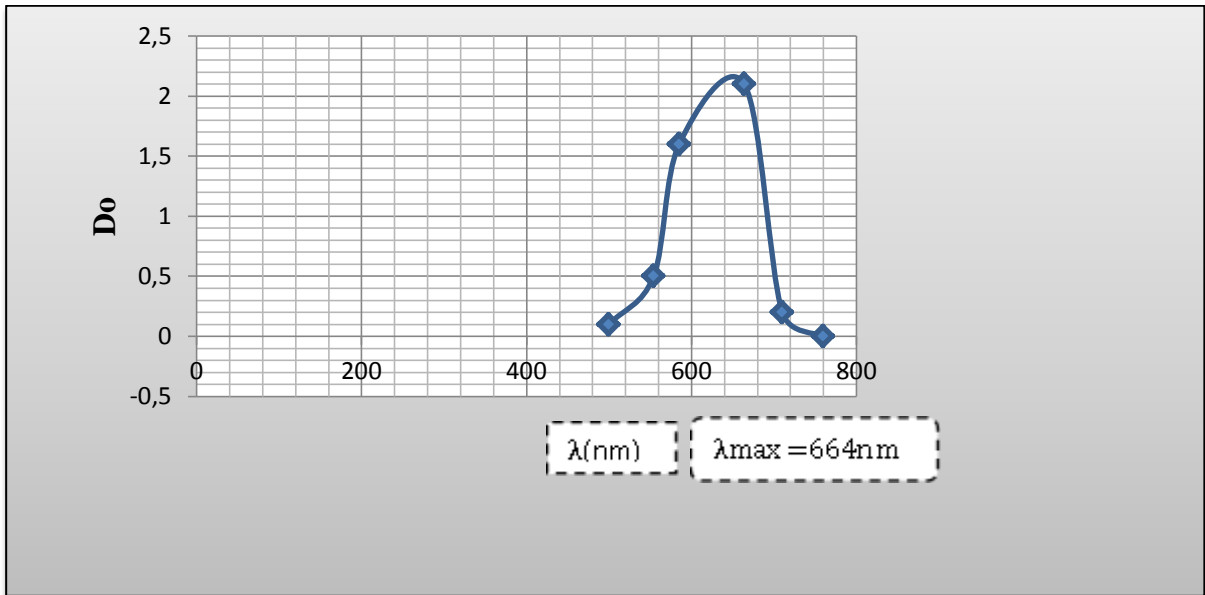
- **Réalisation de courbe d'étalonnage de chaque colorant**

Le dosage par étalonnage consiste à déterminer la concentration d'une solution en mesurant son absorbance.

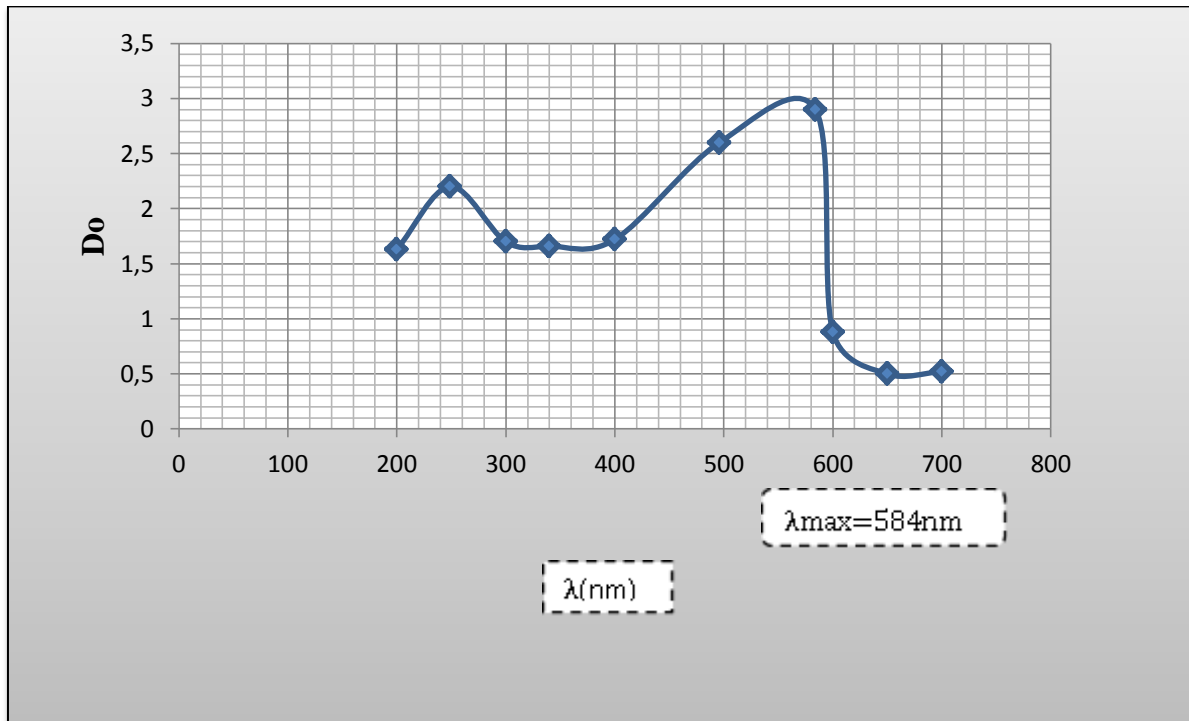
La loi de Beer-Lambert ( $A_\lambda = \epsilon_\lambda l c$ ) nous montre que l'absorbance  $A_\lambda$  est proportionnelle à la concentration  $c$ . En mesurant l'absorbance de solutions de concentration croissante (gamme d'étalonnage), on peut donc tracer la droite d'étalonnage  $A = f(c)$ .



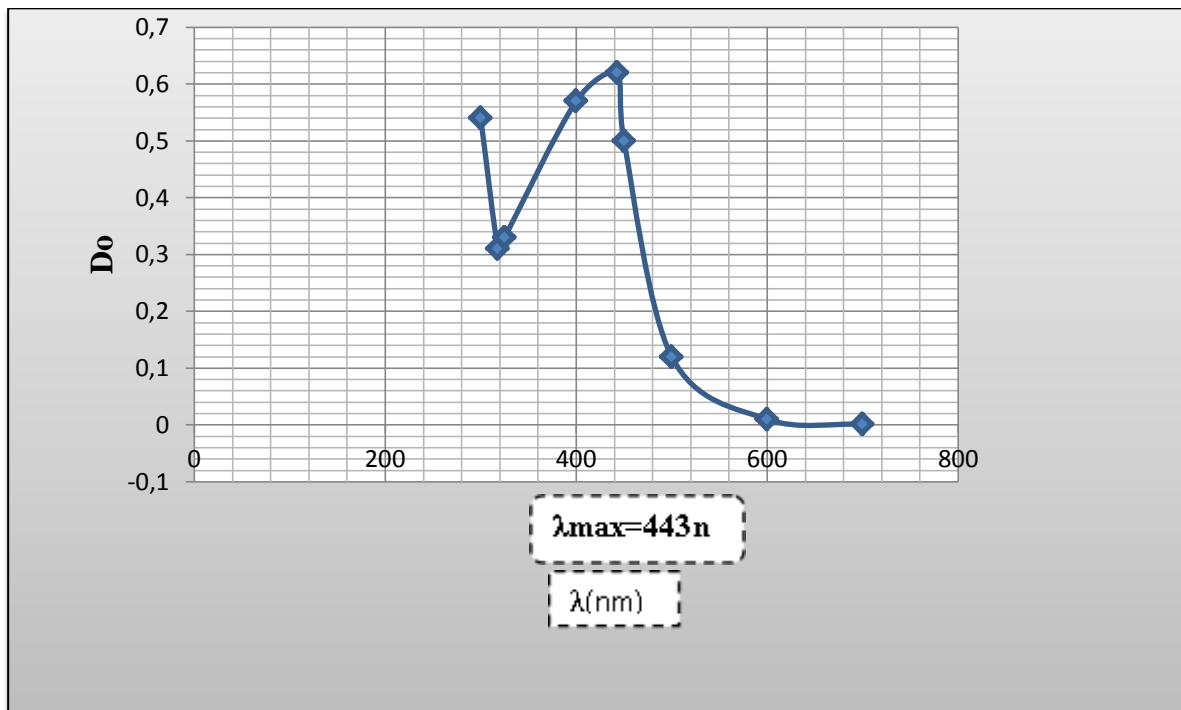
### Spectre d'absorption des solution (BM,RP,RC)



**Figure4:** Spectre d'absorption du bleu de méthylène



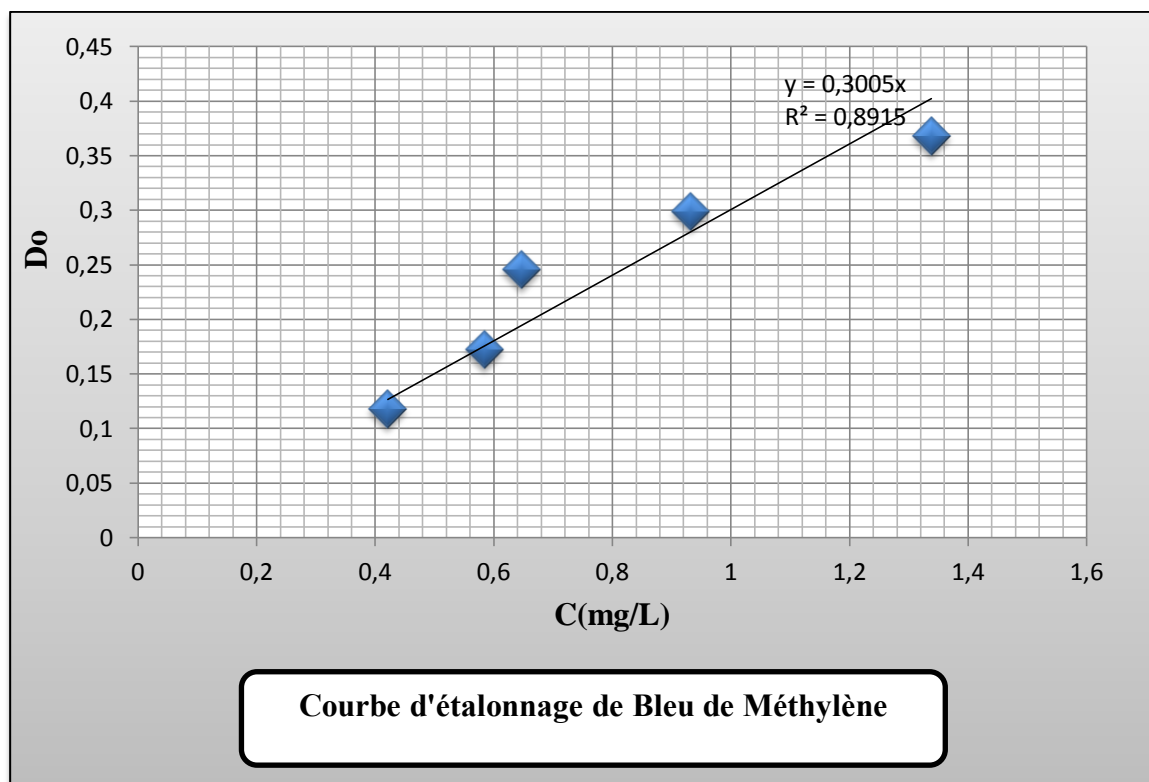
**Figure5:** Spectre d'absorption du rouge de Congo



**Figure6:** Spectre d'absorption du rouge de phénol

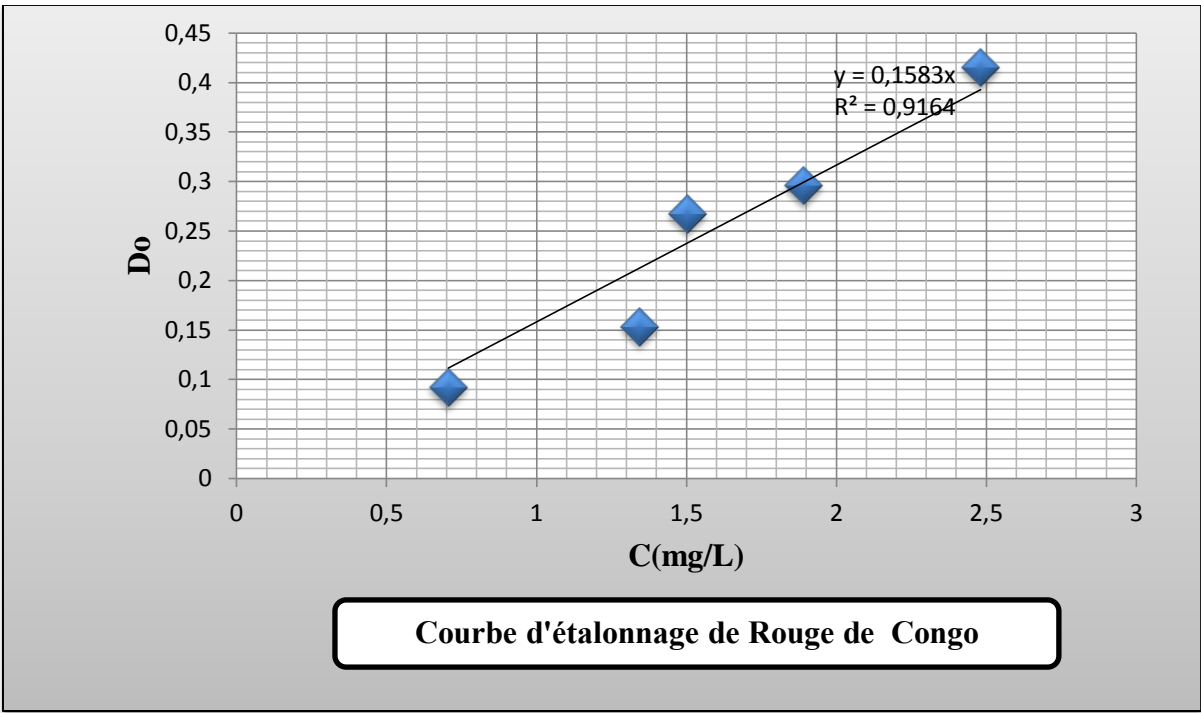
### Cinétiques de biodégradation des colorants (BM,RP,RC)

- Les courbes d'étalonnage

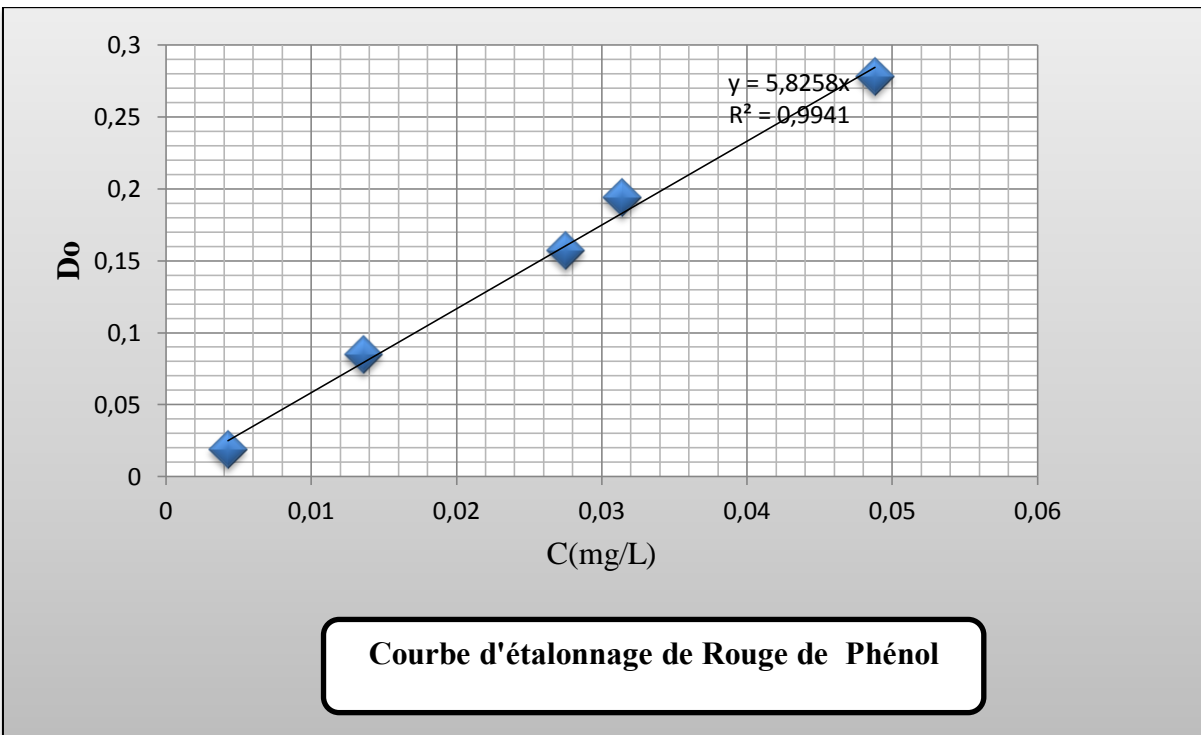


**Figure7:** Courbe d'étalonnage de Bleu de Méthylène





**Figure8:** Courbe d'étalonnage de rouge de Congo



**Figure9:** Courbe d'étalonnage de rouge de phénol