

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالى 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 biologiques



En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences biologiques Spécialité : Microbiologies appliquée

Intitulé

Recherche et isolement de nouvelles souches pour le traitement des eaux usées textiles

Présenté par : Kemoum Maria

Ben khalfallah Imene

Soutenu le: 09/07/2019

Devant le jury :

Président: M.C.B (Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi BBA) Dr.BENSOUILAH Taqiyeddine

Encadrant: Dr. BENYOUCEF Nabil M.C.B (Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi BBA)

Examinateur: Dr. SOUAGUI Yasmina M.C.B(Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi BBA)

Année universitaire: 2018/2019

Remerciements

Nous commençons d'abord par remercier Dieu le Clément, qui nous a procuré la patience pour aller au bout de notre objectif.

Toute notre gratitude,

A Mr. BENYOCEF Nabil notre encadrant, pour sa patience, sa disponibilité et ses judicieux conseils qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Hommages respectueux, aux membres du jury:

Mme. SOUAGUI Yasmina notre présidente

Mr. BENSOUILAH Taqiyeddine notre examinateur

Sincères remerciements,

A l'ingénieur du laboratoire de microbiologie **Mme. GAHFIF Wahiba** et **Mr. Khalil** ingénieur de laboratoire de phytologie de nous avoir soutenu durant la période de la réalisation de ce travail, Aussi à **Mr. Sadrati** de nous avoir aidé

A tous ceux qui nous ont apporté leur support moral et intellectuel tout au long de notre démarche.

A tous nos chers collègues de ma promotion master 2 microbiologie appliquée.

<u>Dédicaces</u>

H'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père.

H la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

H mon grand frère Samir et ma sœur Tina que j'aime énormément.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour mon binôme <u>Manou</u> et mes aimables amies <u>Linda, Sarah</u> et <u>Houda</u> et Riheb et aussi <u>Makhlouf</u>, <u>Oussama, Mohamed</u> et <u>Hamza</u>. Je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

Maria

Dédicaces

H'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père.

H la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

H celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet : mon mari : <u>Sif eddine</u>, et bien sur a mon frère <u>Lotfi, mes sœurs Samra, Lalima, Lamia, Sabeh et Sanae</u> sans oublié mon beau-père <u>Nour eddine</u> que j'aime énormément qui été toujours a mes coté et aussi ma belle-mère <u>Sahira</u> bien aimée.

Hux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour mon binôme <u>Maria</u> et mes aimables amies <u>Khawla, Houda</u> et <u>Ibtissem</u>, je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

Manou.

Table de matières

Liste des tableaux

Liste des figure

-	•	•		, ,		
ı	iste	des	aht	ėv1	latı	ons

Introduction générale	01
Partie I : synthèse bibliographique	
1 Généralité sur les eaux usées	02
I-1 Définition des eaux usées	02
I-2 Les principaux rejets polluants	02
I-2-1 Les eaux usées domestiques	02
I-2-2 Les eaux usées pluviales	03
I-2-3 Les eaux usées agricoles	03
I-2-4 Les eaux usées industrielles	03
II les colorants textiles	04
II-1 Introduction	04
II-2 Classification des colorants	05
II-2-1 Classification technologique ou (appellation usuelle)	05
II-2-2 Classification chimique	05
II-2-2-1 Colorants azoïques	05
II-2-2-2 Colorants anthraquinoniques	06
II-2-2-3 Les colorants du diphénylamine et du triphénylméthane	07
II-2-2-4 Les colorants indigoïdes.	07
II-2-2-5 Les colorants xanthénes	07

II-2-3 Classification tinctoriale	07
II-2-3-1 Les colorants acides au anioniques	07
II-2-3-2 Les colorants basiques au cationiques	08
II-3 Toxicité des colorants azoïques et anthraquinoniques	08
II-4 Pollution engendrée par les colorants textiles et leurs détections	10
III traitement biologique des eaux usées textile	11
III-1 Généralité sur les traitements biologiques	11
III-1-1 Décoloration par les champignons	12
III-1-2 Décoloration par les actinobacteries	12
III-1-3 Décoloration par les algues	13
III-1-4 Décoloration par les levures.	13
III-1-5 Décoloration par les bactéries	14
III-1-5-1Dégradation des colorants azoïques par des bactéries dans des cen oxygène	
Partie II: partie expérimentale IV Matériel et méthodes	
IV.1. Introduction	15
IV.2. Matériel biologique	15
IV.2.1 Isolement et sélection des souches d'intérêt	15
IV.2.1.1.Collecte de matériel végétale.	15
IV.2.1.2. Préparation des suspensions mères.	15
IV.2.1.3. Isolement des souches	16
IV.2.2. Préparation des colorants et méthodologie d'analyse	16
IV.2.2.1. Préparation des colorants	16

IV.2.2.2. Dosage des colorants	17
IV.2.3. Essai de biodégradation des colorants et sélection des souches	17
IV.2.4. Préparation et dénombrement des suspensions de souches positives	18
IV.2.5. Etude cinétique de la biodégradation des colorants	18
IV.2.6. Identification des souches.	18
IV.2.6.1. Mise en évidence de l'activité enzymatique.	18
IV.2.6.1.1. Screening de l'activité cellulasique.	19
IV.2.6.1.2. Screening de l'activité protéolytique	19
IV.2.6.1.3. Screening de l'activité estérasique.	19
IV.2.6.1.4. Screening de l'activité lipolytique	19
V. Résultats et discussion	
V.1. Isolement et purification des souches.	20
V.2. Spectre d'absorption des colorants étudiés.	20
V.3.La sélection des souches ayant un potentiel de biodégradation	22
V.4. Cinétique de biodégradation des colorants.	23
V.5. Identification des souches 1 et 2.	26
V.5.1. Caractérisation phénotypique des souches sélectionnées	26
V.5.2. Mise en évidence de l'activité enzymatique.	26
V.5.2.1. Activité cellulasique.	26
V.5.2.2. Activité proteolytique.	27
V.5.2.3. Activité lipolytique et estérasique.	28
V.5.3. Observation microscopique.	29
Conclusion générale	30
La liste des références bibliographiques	

Annexes

Liste des figures

Titre de la figure	N°de page
Figure I. 1: Exemples des groupes chromophores et auxochromes des	
colorants de type azoiques	6
Figure I. 2: Exemples des groupes chromophores et auxochromes des colorants de type anthraquinnones	6
Figure I. 3: Représentation schématique des effets des effluents de l'industrie textile sur l'environnement	10
Figure I. 4 : Présentation d'un procédé d'ennoblissement textile	11
Figure II.1 : Solutions mères préparées	15
Figure II. 2 : Dilutions décimales et ensemencement des boites de petri	16
Figure II. 3 : Solutions mères des deux colorants	17
Figure III. 1 : Spectre d'absorption du rouge de congo	20
Figure III. 2 : Spectre d'absorption du bleu de méthylène	21
Figure III. 3 : Courbe d'étalonnage de bleu de méthylène	21
Figure III. 4 : Courbe d'étalonnage de rouge Congo	22
Figure III. 5 : Résultats du teste présomptif	23
Figure III. 6 : Cinétique de dégradation de rouge de Congo par les souches sélectionnée	24
Figure III. 7 : Cinétique de dégradation de bleu de méthylène par les souches sélectionnée	25
Figure III. 8 : Aspect des colonies sur milieu King A et King B	26
Figure III. 9 : Résultats de l'activité cellulasique	27
Figure III. 10 : Résultats de l'activité proteolytique	27
Figure III. 11 : Résultats de l'activité lipolytique et de l'activité estérasique	28

Liste des tableaux

Titre du tableau	N°de page
Tableau I: Composant majeurs typiques d'eau usée domestique	2
Tableau II : Longueur d'onde absorbée et couleur du colorant observée	4
Tableau III : Colorant azoïque révèles mutagène et /ou carcinogènes	9
Tableau IV: Résultats teste présomptif	22

Liste des abréviations

DBO: Demande biologique en oxygéne.

TDS: Solides dissous.

Nm: Unité de longueur du Système international.

HAP: Hydrocarbure aromatique polycyclique.

Lip: Lignine peroxydase.

Mnp : Manganèse peroxydase.

UV : Ultra-violet visible.

 λ : La langueur d'onde.

KDP (KH₂ PO₄): Dihydrogénophosphate de potassium.

Na Cl : Chlorure de sodium.

NaNO₃: Nitrate de sodium.

NH ₄**Cl** : Le chlorure d'ammonium.

KNO₃: Le nitrate de potassium.

MgSO₄: Sulfate de magnésium.

CaCl₂: Le chlorure de calcium.

FeCl₃: Le chlorure de fer.

GN: Gélose nutritive.

RC: Rouge Congo.

BM: Bleu de méthylène.

Introduction générale

Introduction

En Algérie, l'eau est une denrée de plus en plus rare et de moins en moins renouvelable, de part les changements climatiques ainsi que l'exploitation non rationnelle, suite à l'industrialisation et l'évolution des modes de consommation.

La pollution des eaux constitue un grand danger pour l'environnement et contribue à la dégradation des écosystèmes. Cette pollution est le résultat de l'utilisation massive des polluants organiques et minéraux d'origine agricole, urbaine et industrielle.

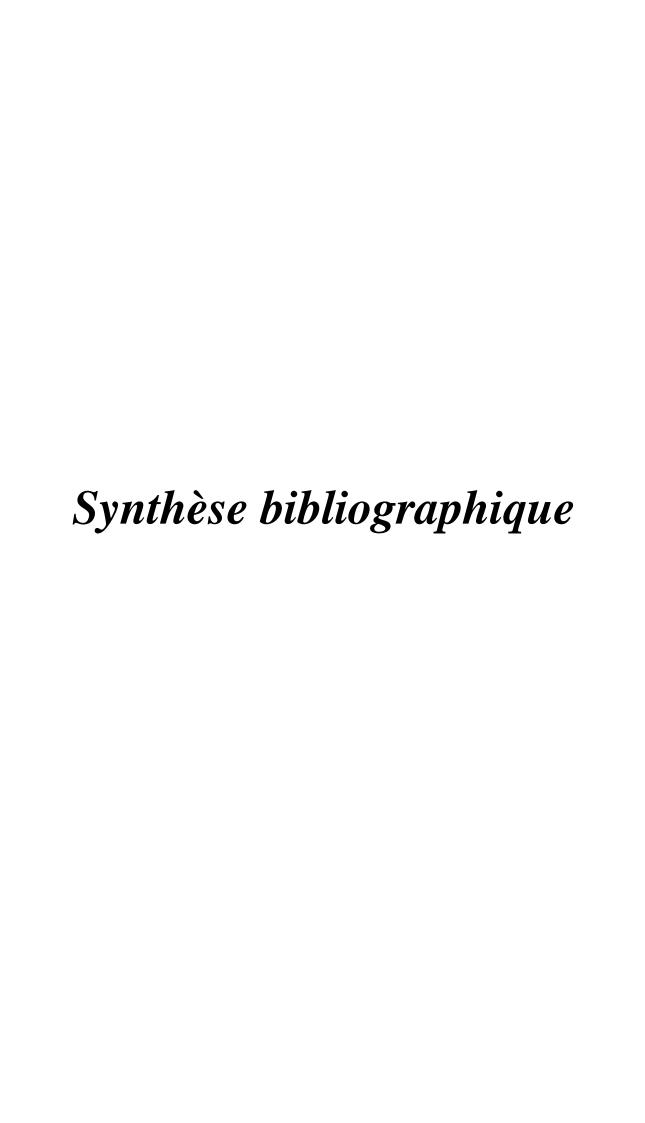
L'industrie textile constitue à nos jours l'un des secteurs à forte consommation d'eau, utilisée principalement pour le lavage des colorants de diverses natures. Cependant, les effluents textiles constitue une menace à l'environnement, d'où la nécessité de traiter cette pollution par le choix et l'application d'un procédé adapté à la nature des polluants à traiter.

Les procédés de traitement de la pollution par les colorants textiles sont soit basés sur des méthodes physico-chimiques, soit des méthodes biologiques utilisant des microorganismes capables de dégrader les colorants visés (Singh et al., 2015). En effet, la sélection de souches à haut potentiel en traitement de la pollution des eaux par les colorants s'avère indispensable, de part la diversité des colorants utilisés avoisinant les 100000, de leurs structures complexes ainsi que leurs résistances à la biodégradation (Selvam et al., 2003).

En générale, la dégradation des colorants se fait soit par clivage des groupements chromophores, soit par transformation des cycles aromatiques (Kodam et al., 2015).

Le présent travail s'intègre dans le cadre de développement des procédés biologiques de traitement de la pollution des eaux textiles par la recherche et la sélection de nouvelles souches à haut potentiel épuratoire et une meilleure adaptation aux variations de la composition de l'effluent à traiter, qui sont les principaux problèmes rencontrés dans les stations de traitement.

Le choix de la rhizosphère de la culture de betterave comme source de bactéries est fondé sur le fait que la partie racinaire de la betterave rouge est riche en colorants, d'où la probabilité de la présence de souches adaptés à cet environnement. En effet, les souches sélectionnées seront testées sur des milieux synthétiques afin d'évaluer dans un premier temps leurs pouvoir de biodégradation.



I-Généralités sur les eaux usées

I.1. Définition des eaux usées

Les eaux usées sont utilisées pour des usages domestiques, industriels ou même agricoles, constituant donc un effluent pollué dans un émissaire d'égout. Ils regroupent les eaux usées domestiques (les eaux vannes et les eaux Ménagères), les eaux de ruissellement et les effluents industriels (eaux usées des usines) (Baumont et al., 2004).

I.2.Les principaux rejets polluants

Les rejets sont de diverses origines classées en:

I.2.1. Les eaux usées domestiques

Ces eaux sont constituées par les eaux usées ménagères provenant des usages domestiques (eaux de bain et de lessive) et les eaux vannes (urines et matières fécales) (Baumont et al., 2004).

Les eaux usées domestiques contiennent des matières organiques dégradables et de matières minérales, ces substances sont sous forme dissoute ou en suspension (Tableau 1) (Regsek, 2002).

Tableau I : Composant majeurs typique d'eau usée domestique.

Constituants	Concentration (mg /l)	
	Fort	moyen
Solides totaux	1200	700
Solides dissous (TDS)	850	500
Solides en suspension	350	200
Azote	85	40
Phosphore	20	10
Chlorures	100	50
Alcalinité (en CaCO ₃)	200	100
Graisses	150	100
DBO ₅	300	200

I.2.2.Les eaux usées pluviales

Ce sont des eaux de ruissellement qui se forment après une précipitation. Elles peuvent être particulièrement polluées surtout en début de pluie par trois mécanismes :

- Le lessivage des sols et des surfaces imperméabilisées ;
- Les déchets solides ou liquides déposés par temps sur ces surfaces sont entrainées dans le réseau d'assainissement par les premières précipitations qui se produisent ;
- Par temps sec, l'écoulement des eaux usées dans les collecteurs des réseaux est lent ce qui favorise le dépôt de matières décantables. Lors d'une précipitation, le flux d'eau plus important permet la remise en suspension de ces dépôts (Regsek, 2002).

I.2.3. Les eaux usées agricoles

L'agriculture est une source de pollution des eaux non négligeable car elle apporte les engrais et les pesticides. Elle est la cause essentielle des pollutions diffuses (**Metahri**, **2012**).

Les pollutions dues aux activités agricoles sont de plusieurs natures :

- ✓ Apport des eaux de surface de nitrate et de phosphate utilisés comme engrais ;
- ✓ Apport de pesticides chlorés ou phosphorés utilisés comme désherbants ou insecticides ;
- ✓ Apport de sulfate de cuivre de composés arsenicaux destines à la protection des plantes (Richarde, 1996).

I.2.4. Les eaux usées industrielles

Les eaux usées industrielles ont généralement une composition plus spécifique et directement liée au type d'industrie considérée. Indépendamment de la charge de la pollution organique ou minérale, de leur caractère putrescible ou non (**Rodier**, 2002).

Les rejets industriels peuvent donc suivre trois voies d'assainissement :

- Ils sont directement rejetés dans le réseau domestique ;
- Ils sont prétraités puis rejetés dans le réseau domestique ;
- Ils sont entièrement traités sur place et rejetés dans le milieu naturel (Baumont et al., 2004).

II – Les colorants textiles

II-1 Introduction

Les colorants furent pendant très longtemps, extraits du milieu naturel : plantes (garance, gaude, indigo..., animaux (cochenille, murex...) et minéraux (**Donzé, 1988**).

Un colorant est une substance qui possède deux propriétés spécifiques, indépendantes l'une de l'autre, la couleur et l'aptitude à être fixée sur un support tel qu'une fibre. Cette dernière propriété résulte de l'interaction entre la molécule du colorant et le substrat à teindre. Ainsi, cette interaction se forme entre la partie réactive de la molécule colorante et la molécule à teindre par formation d'une liaison sélective.

Les colorants peuvent absorber la lumière de longueur d'onde située dans la région visible (350–700 nm); ils sont colorés et détectables même à la concentration de 1 mg.L⁻¹. De plus, l'absorption de la lumière due aux colorants textiles pose un problème pour les plantes aquatiques photosynthétiques et les algues (**Needles, 1986**; **Singh, 2015**).

Tableau II: Longueur d'onde absorbée et couleur du colorant observée (Needles, 1986).

Longueur d'onde (nm)	Couleur absorbée	Couleur observée
400–435	Violet	jaune vert
435–480	Bleu	Jaune
480–490	Vert-bleu	Orange
490–500	Bleu-vert	Rouge
500–560	Vert	Rose
560–580	Jaune-vert	Violet
580–595	Jaune	Bleu
595–605	Orange	Vert-bleu

Cependant, les colorants se distinguent des pigments : les premiers sont solubles dans le bain de teinture (aqueux) tandis que les derniers sont insolubles, ils sont mis en suspension dans un liant organique. Les deux classes se regroupent dans la famille des matières colorantes (Needles, 1986; Defosse, 1991).

II-2 Classification des colorants

Les colorants synthétiques sont classés selon leur structure chimique et leur méthode d'application sur différents substrats (textiles, papier, cuir, matières plastiques, etc.).

II-2-1 Classification technologique ou (appellation usuelle)

La classification technologique permet à l'utilisateur de connaître le mode d'application du colorant, et donc ses domaines d'utilisation, ses propriétés (solubilité, affinité pour tel type de fibres ou matériaux, nature de la fixation ...). Il est souvent difficile de connaître la composition chimique des colorants car la confidentialité sur la composition chimique est généralement préservée. Cette classification comprend trois éléments :

- -Le nom générique de la classe d'application ;
- -La couleur;
- -Le numéro d'ordre chronologique d'inscription au "colour index" (Yang et al., 2005).

II-2-2 Classification chimique

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

II.2.2.1. Colorants azoïques

Les colorants azoïques sont des composés aromatiques, contenant un groupement azoïque (-N=N-) ou plus (colorant diazoïques, triazoïques.. polyazoïques). Ces colorants constituent la plus large classe des colorants synthétiques utilisés dans les applications commerciales. En 1994, la production mondiale en colorants a dépassée 1 million de tonnes, dans laquelle plus de 50% sont des colorants azoïques. 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. De même, les composés azoïques ont montré plusieurs activités biologiques, antibactériennes, antifongiques, pesticides, antivirale et antinflammatoire (**Patai, 1997**).

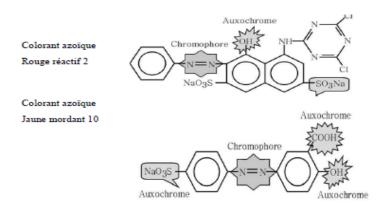


Figure I.1: Exemples des groupes chromophores et auxochromes des colorants de types azoïques

II.2.2.2. Les colorants anthraquinoniques

La structure de ces colorants est basée sur le noyau anthraquinone 9,10 qui présente le groupe chromophore carbonyle : >C=0 sur un noyau quinonique qui est le chromogène. Avec leurs 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**).

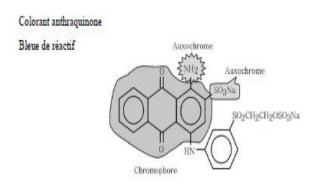


Figure I. 2: Exemple de groupe chromophore et auxochrome des colorants de types anthraquinonnes.

II.2.2.3 Les colorants du diphénylamine et du triphénylméthane

Les colorants triphénylméthanes dérivent du triphénylméthane, qui est un hydrocarbure possédant trois cycles phényle liés a un carbone central. On retrouve cette structure de base dans un grand nombre de composés organiques colorés. Les colorants triphénylméthanes et leurs dérivés hétérocycliques constituent la plus ancienne classe de colorants synthétiques.

II.2.2.4 Les colorants indigoïdes

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.

II.2.2.5 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.

II.2.3 Classification tinctoriale

Si la classification chimique présente un intérêt pour le fabricant de matières colorantes, le teinturier préfère le classement par domaines d'application. Ainsi, il est renseigné sur la solubilité du colorant dans le bain de teinture, son affinité pour les diverses fibres et sur la nature de la fixation.

II.2.3.1. Les colorants acides ou anioniques

Très solubles dans l'eau grâce à leurs groupes sulfonate ou carboxylate, ils sont ainsi dénommés parce qu'ils permettent de teindre les fibres animales (laine et soie) et quelques fibres acryliques modifiées (nylon, polyamide) en bain légèrement acide.

L'affinité colorant - fibre est le résultat de liaisons ioniques entre la partie acide sulfonique du colorant et les groupes amino des fibres textiles (Bauer et al., 2001; Ganech et al., 1994; O'Neil et al., 1999; Pande et al., 2007).

II.2.3.2 Les colorants basiques ou cationiques

C'est la classe des colorants porteurs d'ions positifs et reconnus pour leurs nuances brillantes, les colorants basiques se composent de grosses molécules et ce sont des sels solubles dans l'eau. Ils ont une affinité directe pour la laine et la soie et peuvent être utilisés sur le coton. La solidité des colorants basiques sur ces fibres est très faible. Ces colorants ont bénéficié d'un regain d'intérêt avec l'apparition des fibres acryliques, sur lesquelles ils permettent des nuances très vives et résistantes (Ganech et al., 1994; O'Neil et al., 1999; Bauer et al., 2001; Pande et al., 2007).

II.3 Toxicité des colorants azoïques et anthraquinoniques

Ces deux classes de colorants sont xénobiotiques et récalcitrants, ils présentent des effets toxiques : létales, génotoxiques, multigéniques et cancérigènes pour les organismes aquatiques, les animaux, les plantes, et l'homme (Xu et al., 2007 ; Gottlieb et al., 2003).

En effet, des problèmes de santé très sévères ont été causés par la plupart des colorants azoïques, l'exposition prolongée provoque des problèmes d'allergie cutanée et pulmonaire et de graves problèmes des cancers cutanés et de la vessie (**Sharma et Sobti, 2000**).

De plus, les colorants azoïques sont suspectés d'être cancérigènes et mutagènes, beaucoup plus par la formation des amines aromatiques potentiellement cancérigènes issus surtout de la réduction de ces colorants azoïques sous l'effet de biodégradation anaérobie par les bactéries gastro-intestinales des mammifères (**Xu** et al., 2007).

Ainsi, la toxicité des colorants azoïques est accrue par la nature et la position des substituant sur le noyau aromatique notamment des groupes nitro (-NO₂) et halogènes. Cependant, la substitution avec des groupes carboxyliques ou sulfonates diminue la toxicité (Chung et Cerniglia, 1992).

Tableau III: Colorants azoïques révélés mutagènes et/ou carcinogènes.

Colorants azoïques	Effets mutagène et/ou carcinogène	Références
Soudane I : mono azoïque Soudane II Soudane III : diazoïque Soudane IV Rouge de Para	Mutagène et carcinogène Carcinogène Carcinogènicité non évalué Mutagène Mutagène et carcinogène	(Chen, 2006)
Colorant azoïque à base de benzidine : vert direct 1 ; noir direct 38 ; rouge direct 17 ; rouge direct 28 ; bleue direct 2	Carcinogènes	(Gotlka <i>et al.</i> , 2004)
Bleu disperse 373; violet disperse 93 et orange disperse 37	Très mutagènes et carcinogènes	(Alves de Lim <i>et al.</i> , 2007)
N,N-diméthyl-4-méthyle-4- aminoazobenzéne	Très mutagènes et carcinogènes	(Yahagi <i>et al.</i> , 1975)
Rouge de méthyle et Jaune de méthyle	Très mutagènes	(Chung et al., 1981)
Bleu disperse 291	Mutagènes	(Umbuzeiro <i>et al.</i> , 2005)
3-méthyl-diaminoazobenzéne	carcinogènes	(Medvedev <i>et al.</i> , 1988)
Orange de méthyle	Mutagène	(Duilardet et Hofnung 1993; Ben Mansour <i>et al.</i> , 2009)
Acide violet 7	Mutagène et carcinogène	(Ben Mansour et al., 2009; Ben Mansour et al., 2010)

Les colorants anthraquinoniques sont les colorants les plus résistant à la dégradation à cause de leur structure aromatique spéciale ce qui leur confère une meilleure stabilité de la couleur au cours du temps (Anjaneyulu et al., 2005 ; Banat et al., 1996).

L'absorption des colorants par les rats conduit en leur métabolisme en 1-hydroxy- et 2-hydroxyanthraquinone, le premier provoque le cancer d'estomac, de l'intestin et du foie et le deuxième est mutagénique. (**Brown** *et al.*, **2000**).

Des risques mutagéniques signifiant sur le système nerveux central voire un effet cancérigène mortel de l'homme sont provoqués (Itoh et al., 1996; IARAC, 2011).

De plus, les colorants de la famille 2-aminoanthraquinone sont irritants pour la peau, les yeux et le système respiratoire (**Carmen** *et al.*, **2012**).

II.4 Pollution engendrée par les colorants textiles et leurs détections

L'industrie textile est l'une des industries anciennes et technologiquement complexes dans le monde, cette industrie utilise un grand volume en eau et en matières colorantes. (Carmen et Daniela, 2012).

Cependant, les effluents textiles sont classés parmi les effluents les plus pollués dans les différents secteurs. Ce sont des mélanges complexes contenant plusieurs substances polluantes : colorants, métaux lourds, et des additives chimiques utilisés au cours des opérations de teinture et d'impression (Carmen et Daniela, 2012; Ratna et Padhi, 2012).

Ces composés sont caractérisés par une très bonne stabilité à la lumière, à la température, aux détergents et aux attaques chimiques et microbiologiques (Babuponnusamie et Muthukumar, 2014; Drumond et al., 2013; Torres-Duarte et Vazquez-Duhalt, 2010). Les différents impacts environnementaux provoqués par les colorants sont schématisés sur la figure I. 3:

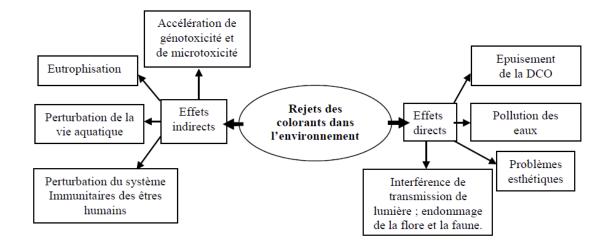


Figure I. 3: Représentation schématique des effets causés par les effluents de l'industrie textile sur l'environnement (**Babuponnusami et Muthukumar, 2014**).

En effet, au cours des différentes étapes de teinture, une bonne quantité de colorant basique est perdue par manque d'affinité avec les surfaces à teindre (Carmen et Daniela, 2012), représentant ainsi une source de pollution esthétique (certains colorants sont visibles en solution à une concentration inférieure à 1 mg.l⁻¹) (Husain et Husain, 2012; Khan *et al.*, 2013).

III- Traitement biologique des eaux usées textiles

III-1 Généralités sur les traitements biologiques

Le secteur textile fait partie des six branches d'activités générant la moitié des flux industriels. Les effluents issus de ce secteur peuvent être très colorés et difficiles à traiter.

La coloration de ces eaux usées est de plus en plus perçue comme une nuisance importante. La plus grande part des effluents est représentée par l'ennoblissement qui englobe les prétraitements (désencollage, blanchissement), la teinture ou l'impression et les opérations qui confèrent aux fibres textiles des propriétés particulières.

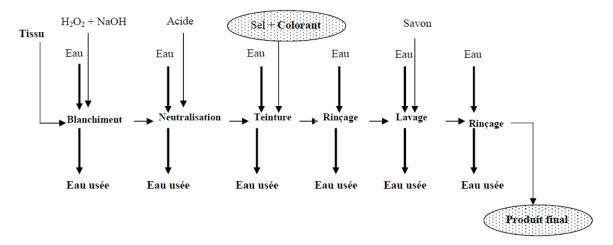


Figure I. 4: Présentation d'un procédé d'ennoblissement textile (Hao et al., 2000).

Les procédés d'épuration par voie biologique sont basés sur la biotransformation microbienne des colorants. Des recherches ont démontré la biodégradation partielle ou complète des colorants par des cultures bactériennes, des champignons et d'algues. Par ailleurs, le traitement biologique pour la dégradation des effluents textiles peut être aérobie, anaérobie ou combiné selon le type de micro-organisme utilisé (; Zimmermann *et al.*, 1984 ; Vijaya et Sandhya, 2003 ; Singh et Singh, 2015).

III.1.1.Décoloration par les champignons

Les champignons blancs de putréfaction (white-rot fungi) sont capables de dégrader la lignine: structure polymère des plantes. *Phanerochae techrysosporium* est le champignon le plus étudié en regard de la dégradation des xénobiotiques tels que les dioxines, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et autres composés organiques chlorés (Fujian *et al.*, 2001).

Contrairement aux bactéries, la dégradation des colorants par les champignons est extracellulaire. Le mécanisme d'action des deux enzymes LiP et MnP est similaire : le mécanisme commence par l'oxydation de ces enzymes durant leur cycle catalytique par H₂O₂, la forme oxydée ainsi formée serait immédiatement réduite à sa forme d'origine par un substrat qui est le colorant azoïque.

La différence entre ces deux enzymes est que la LiP oxyde les composés aromatiques phénoliques et non phénoliques, alors que le MnP oxyde le Mn²+ en Mn³+, ce dernier étant responsable de l'oxydation des composés phénoliques uniquement (**Banat** *et al.*, 1996; **Fujian** *et al.*, 2001; Eichlerova *et al.*, 2005; Harazono et Nakamura, 2005).

Le traitement des rejets textiles chargés en colorants par les champignons pose beaucoup de problèmes. En effet, l'effluent textile n'est pas l'environnement adéquat pour la croissance et la conservation de la biomasse fongique (Robinson et al., 2001), car le traitement des colorants dans un volume d'eau important (unité de traitement biologique) étant très difficile, il est donc nécessaire de concentrer les colorants en réduisant la quantité d'eau (Nigam et Marchant, 1995; Nigam et al., 1996).

III.1.2. Décoloration par les actinobactéries

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, a été étudiée initialement par trois groupes de chercheurs.

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. souche EC22 et *Thermomonospora fusca* MT800) décolorent significativement le colorant.

Zhou et Zimmermann (1993) ont testé séparément l'aptitude de 159 actinobactéries à dégrader les colorants synthétiques. Cette étude a été réalisée dans des conditions aérobie 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. Dans cette étude, 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).

III.1.3. Décoloration par des algues

L'action décolorante des algues a fait l'objet d'un nombre très limité de travaux. Une étude réalisée par **Jinqi et Houtian** (1992) a montré que les espèces *Chlorella*, *Oscillatoria* et *Spirogyra* étaient capables de dégrader les colorants azoïques. Leurs action décolorante dérive de l'expression d'une azoréductase (enzyme responsable de la fission de la liaison azote-azote) aboutissant à la production des amines aromatiques correspondantes qui sont par la suite complètement oxydées.

III.1.4. Décoloration par les levures

Les études portant sur la dégradation des colorants azoïques par des levures sont très limitées. Ramalho et al (2002) ont testé la souche de levure Candida zeylanoides pour réduire des colorants azoïques comme modèles. En 2004, cette même équipe a pu caractériser l'activité enzymatique responsable de la dégradation des colorants azoïques chez Issatchenkia occidentalis et présenter un an plus tard le système enzymatique d'azoréduction impliqué dans un travail avec Saccharomyces cerevisiae (Ramalho, 2005).

Le nombre de travaux réalisés sur les levures reste très limité en raison de la difficulté à les manipuler et des inconvénients majeurs qu'elles procurent. En effet, outre la difficulté à les cultiver, l'efficacité des levures vis-à-vis des colorants est très faible (la cinétique de décoloration est lente et peut prendre plusieurs dizaines de jours).

III.1.5. Décoloration par les bactéries

Les bactéries impliquées dans la dégradation des colorants peuvent êtres isolées du sol, de l'eau et même des animaux, les réactions de transformations sont de type oxydation ou réduction selon la présence ou l'absence de l'oxygène. (Aspland, 1997; PPAH, 1998; Kodam et Kolekar, 2015).

De nombreuses études ont montré la capacité des bactéries à dégrader les colorants. Contrairement aux champignons et aux actinobactéries, qui dégradent les colorants par voie extracellulaire (implication des LiP, MnP, laccases, etc.), les bactéries agiraient plutôt par voie intracellulaire. L'action décolorante dépendrait alors non seulement de l'activité enzymatique cytoplasmique mais aussi de la filtration des molécules à travers la membrane cellulaire. (Aspland, 1997; PPAH, 1998; Kodam et Kolekar, 2015).

La dégradation complète ou « minéralisation » de colorants azoïques par les bactéries est décrite par la succession de deux étapes essentielles : une azoréduction anaérobie suivie d'une oxydation aérobie des amines aromatiques formées lors de l'étape précédente par une communauté bactérienne mixte. L'azoréduction est décrite comme l'étape clé de la minéralisation des colorants, notamment cette étape est suffisante pour la décoloration des molécules (Aspland, 1997; PPAH, 1998; Kodam et Kolekar, 2015).

III.1.5.1. Dégradation des colorants dans des conditions limitées en oxygène

La dégradation des colorants azoïques par les bactéries, dans des conditions anaérobie, a été très largement étudiée : on y distingue des bactéries strictement anaérobies (*Bacteroides* sp., *Eubacterium* sp., *Clostridium* sp., *Fusobacterium* sp., etc.), anaérobies/aérobies facultatives (*Proteus vulgaris*, *Streptococcus faecalis*, etc.) et aérobies (*Bacillus* sp., *Aeromonas hydrophia*, *Pseudomonas* sp., etc.).

Les conditions de dégradation dans la digestion anaérobie sont adaptées à la réduction des colorants azoïques par clivage de la double liaison N=N appelée azoréduction, entraînant une destruction subséquente des groupes chromophores (celle du système d'électrons π largement délocalisé) mais pas une minéralisation complète. Les amines aromatiques résultantes étant généralement incolores, la réduction azoïque du colorant est aussi désignée dans ce cas par « décoloration » (Aspland, 1997; PPAH, 1998; Kodam et Kolekar, 2015).

Matériel & Méthodes

IV.1. Introduction

Le présent travail a été réalisé au sein des laboratoires de microbiologie et de chimie analytique de l'université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A. Dans cette partie du document, nous exposons la méthodologie expérimentale avec le matériel utilisé.

L'objectif principal de ce travail de recherche, est la sélection de souches bactériennes à haut potentiel en traitement des eaux usées textiles chargées en colorants de diverses natures. Nous avons donc axé notre recherche sur les bactéries qui vivent à proximité de la culture de la betterave rouge (*Beta vulgaris*) caractérisée par une coloration pourpre foncé.

IV.2 Matériel biologique

IV.2.1 Isolement et sélection des souches d'intérêt

VI.2.1.1 Collecte du matériel végétale

La betterave rouge a été collectée pendant le mois de Mars 2019 dans la région de Leflaye, située dans la wilaya de Bejaia- Algérie.

VI.2.1.2 Préparation des suspensions mères

Afin de réalisé le screening sur un grand nombre d'espèces bactériennes, nous avons sélectionné des bactéries à partir de deux solutions mères: la première a été obtenue par dissolution de 10 g de sol prélevé autour des racines de betterave dans 250ml d'eau physiologique stérile, tandis que la deuxième à été obtenue par lavage des racines de la betterave sans les abimés avec de l'eau physiologique stérile jusqu'à l'obtention d'une solution d'un volume total de 250ml.



Figure II. 1 : Les solutions mères des deux échantillons.

IV.2.1.3 Isolement des souches

Nous avons réalisé une série de dilutions décimales de chaque solution mère comprises entre 10^{-1} jusqu'à 10^{-9} (1ml de solution mère dans 9ml d'eau physiologique). Ensuite, 0,1ml de chacune de ces dilutions ensemencé en surface sur des boites de petri contenant de la gélose nutritive avec un étalement en surface. Les boites sont mises ensuite en incubation dans une étuve à 28° C pendant 24h. Les colonies bien séparées ainsi obtenues subissent un isolement et une purification sur le même milieu de culture.

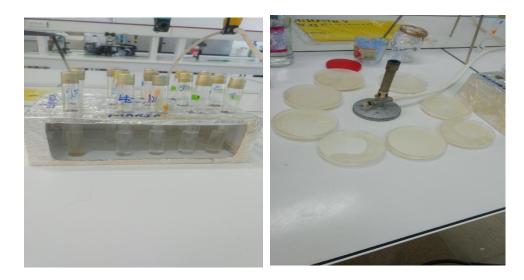


Figure II. 2: Dilutions décimales et ensemencement des boites de pétri.

IV.2.2 Préparation des colorants et méthodologie d'analyse

IV.2.2.1Préparation des colorants

Afin de tester les bactéries ainsi sélectionnées, nous avons choisi le rouge de Congo et le bleu de méthylene comme colorants à dégrader. Le choix de ce deux colorants est motivé par le fait que leur solubilité dans l'eau est élevée d'une part, et de leur utilisation en industrie textile d'autre part. Les colorants choisis appartiennent à la classe des xanthines (le bleu de méthylène: un colorant cationique d'indice CI52015, de formule chimique C₁₆H₁₈N₃SCl et une masse molaire de 319,85 g.mol⁻¹) et la classe des azoïques (le rouge Congo: un colorant anionique (acide) de formule brute chimique C₃₂H₂₂N₆O₆S₂Na₂, de masse molaire 696,7 g.mol⁻¹) (Bandara et *al.*, 1999).

IV.2.2.2 Dosage des colorants

Les colorants sujet à la présente étude, ont été préparés dans de l'eau distillée à raison de 100 mg.L ⁻¹, puis des solutions filles de concentration 2,5; 1,66; 1,25; 1; 0,83; 0,62 et 0,5; 0,33; 0,25; 0,2; 0,16; 0,12 mg.L ⁻¹ respectivement pour le **RC** et **BM** ont été préparées par dilution de la solution mère.

Le spectre d'absorption des deux colorants a été réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible avec l'eau distillée servant de control (blanc). Ensuite, l'absorbance des solutions préparées one été mesuré à la longueur d'onde maximale. Les résultats obtenus, nous permettra de construire une courbe étalon servant d'outil de dosage des colorants étudiés.

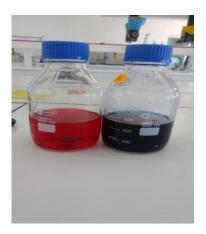


Figure II. 3 : Solutions mères des colorants BM et RC.

IV.2.3 Essai de biodégradation des colorants et sélection des souches

Afin de réaliser un screening des souches isolées à partir de la rhizosphère de la betterave rouge, nous avons réalisé un test présomptif sur chaque isolat, par inoculation d'une série de dilutions de la solution mère (10^{-10} à 10^{-20}) avec les souches isolées. Afin d'éviter toute limitation par manque de substrat, nous avons ajouté en excès une source d'azote (Na NO₃) et une source de phosphore (KH₂PO₄), avec un témoin abiotique servant de contrôle. Les tubes ainsi inoculés ont été incubés à 37°C avec une agitation modérée.

Le test est considéré positif, lorsqu'une diminution de l'intensité de la couleur est observée après 48 heures d'incubation.

IV.2.4 Préparation et dénombrement des suspensions de souches positives

Des colonies d'une culture jeune des souches sélectionnées ont été mises en suspension dans l'eau peptonée, afin de construire une suspension de base servant à préparer les cinétiques de biodégradation des colorants étudiés. Chaque suspension ainsi préparée à subit ensuite un dénombrement afin de déterminer sa charge initiale et de construire une courbe étalon reliant la charge microbienne à la densité otique (à 660nm), afin de construire un outil rapide de suivi de l'évolution de la biomasse au cours du temps.

IV.2.5 Etude cinétique de la biodégradation des colorants

L'étude cinétique a pour objectif de déterminer la vitesse ainsi que les conditions optimales de biodégradation des polluants ciblés. C'est une démarche qui relève de la construction d'un procédé et son optimisation. A cet effet, nous avons construit un réacteur batch d'une capacité de 500ml dans lequel l'eau usée synthétique préparée par dissolution de 5mg de **BM** et 25mg de **RC** dans un litre d'eau distillée a été mise en contact avec la biomasse décolorante avec un excès de source d'azote (NaNO₃) et de phosphore (KH₂PO₄), pour éviter toute limitation de la cinétique par manque de substrat. La concentration en colorants des échantillons prélevés au cours de la cinétique a été déterminée par dosage spectrophotométrique

IV.2.6 Recherche des souches

Dans le but de savoir le genre des souches sélectionnées, nous avons réalisé une identification par repiquage sur des milieux sélectifs **King A** et **King B** par la méthode des stries serrées et incubation à 30°C pendant 24 à 48h.

IV.2.6.1 Mise en évidence de l'activité enzymatique

Afin de déterminer la capacité des isolats à produire des enzymes d'intérêt industriel, plusieurs enzymes ont été recherchées, tels que la protéase, cellulase, amylase, l'estérase et lipase. Après repiquage des souches à partir des boites, le screening a été effectué par la méthode des spots en duplicata. (Carrim et *al.*, 2006).

IV.2.6.1.1 Screening de l'activité cellulasique

La présence de cellulase est révélée par le repiquage des isolats sur le milieu de **Carder (1986)** qui contient en g/L: Na₂HPO₄ (6); KH₂PO₄ (3); NaCl (0,5); NH₄Cl (1); extrait de levure (3); cellulose (7); agar (15); pH 7,2. Le milieu a été autoclavé à 121°C pendant 20 min. Les boites ensemencées ont été incubées pendant 8jours à 37°C (**Carrim et al., 2006**).

A la fin de l'incubation, une solution de lugol (voir Annexe) préalablement préparée a été dispersée sur toute la surface du milieu. Après cinq minutes de contact, l'excès a été éliminé et les boites ont été lavées à l'eau distillée. La présence d'une cellulase extracellulaire se manifeste par l'apparition d'un halo clair autour des colonies (**Herculano et al., 2006**).

IV.2.6.1.2 Screening de l'activité protéolytique

Le milieu de culture utilisé pour cette activité contient en g/l: Extrait de levure (2,5); glucose (1), et agar (15). Le milieu a été ajusté à un pH de 7 et autoclavé pendant 20 min à 121°C. Simultanément, 100 ml d'une solution de lait écrémé à 05 % stérile a été rajouté au milieu. Ce dernier est ensuite ensemencé par la méthode des spots. L'activité protéolytique se traduit par l'apparition d'un halo claire autour des colonies (**Bach et Munch, 2000**).

IV.2.6.1.3 Screening de l'activité estérasique

Le milieu de culture utilisé est celui utilisé par **Sierra** (**1957**). Il contient en g/L: peptone (10); NaCl (5.0); CaCl₂2H₂O (0.1); Tween 80 (1%, v/v) et agar (18). Le pH est ajusté à 7,4. Le milieu est ensemencé et incubé à 30°C pendant 48h. La présence d'une activité estérasique s'exprime par un halo autour des colonies (**Sierra**, **1957**).

IV.2.6.1.4 Screening de l'activité lipolytique

La détermination de l'activité lipolytique est réalisée de la même manière que l'activité estérasique, cependant, le tween 80 est remplacé par le tween 20, et le résultat positif se traduit par la présence d'un halo autour des colonies (**Sierra, 1957**).

Résultats et discussion

V. Résultats et discussion

V.1. Isolement et purification des souches

Les colonies bien séparées ainsi obtenu ont subit un isolement et une purification sur le même milieu de culture (GN) par un repiquage successif. Nous avons isolé 4 souches que nous allons par la suite testé leurs potentiel de biodégradation des deux colorants choisi à savoir le rouge de Congo et le bleu de méthylène.

V.2. Spectre d'absorption des colorants étudiés

La détermination des spectres d'absorption des colorants étudiés (le bleu de méthylène et le rouge de Congo) a été réalisée par la fonction "balayage" d'un spectrophotométre UV-visible, dont les résultats sont illustrés dans les **figures III.1 et III.2.** Les longueurs d'ondes maximales (λ_{max}) des deux colorants sont 584nm et 664nm pour le rouge de Congo et le bleu de méthylène respectivement.

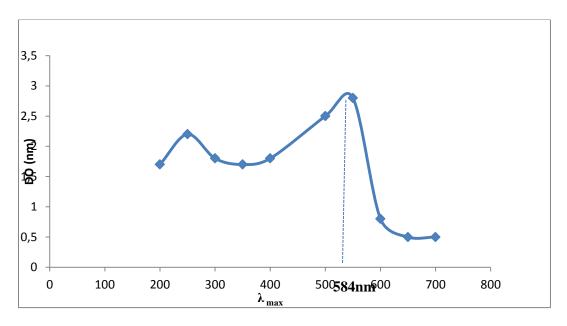


Figure III. 1: Spectre d'absorption du rouge de Congo.

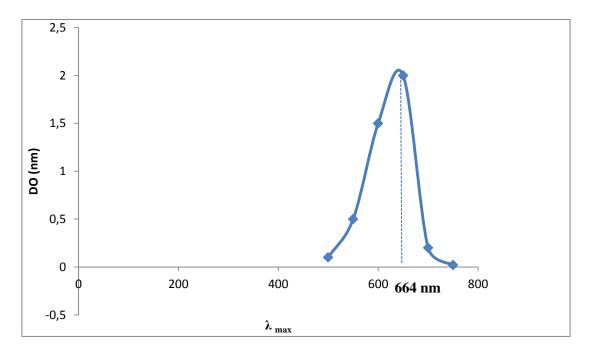


Figure III. 2: Spectre d'absorption du bleu de méthylène.

La détermination des absorbances de la gamme étalon des deux colorants au λ max, nous a permis de tracer les courbes étalons, afin de pouvoir les utiliser comme outil de dosage du colorant au cours des cinétiques de biodégradation. Les valeurs obtenues sont illustrées dans les figures III. 3 et III. 4.

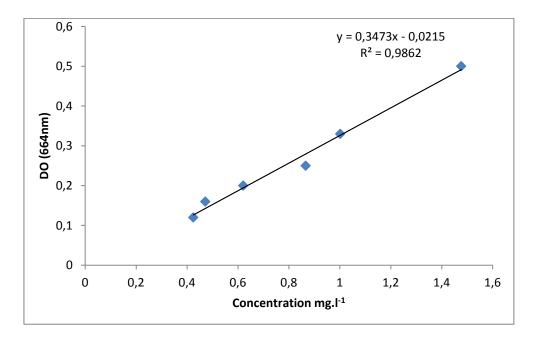


Figure III. 3 : Courbe d'étalonnage du bleu de méthylène.

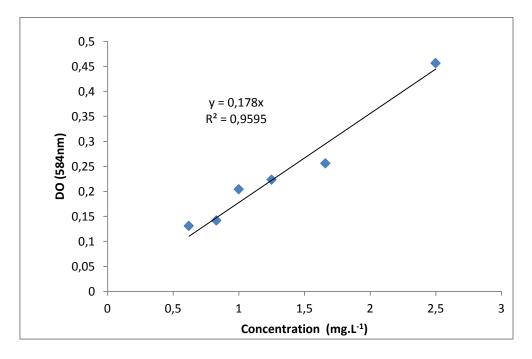


Figure III. 4: Courbe d'étalonnage du rouge de Congo.

V.3. La sélection des souches ayant un potentiel de biodégradation

Afin de réaliser un screening des souches isolées, nous avons réalisé dans un premier temps un test présomptif afin de sélectionner les souches ayant un potentiel en biodégradation des colorants. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau **IV** :

Tableau IV: Résultats du test présomptif

	Souche 1	Souche 2	Souche 3	Souche 4
Rouge Congo	+	+	-	-
Bleu de	+	+	-	-
méthylène				

+: Test positif.

-: Test négatif.

Le test est considéré positif, lorsque l'intensité de la coloration diminue par rapport au témoin abiotique. D'après le tableau ci-dessus deux souches sur quatre, soit un taux de 50% ont montré une aptitude à dégrader le rouge de Congo et le bleu de méthylène.

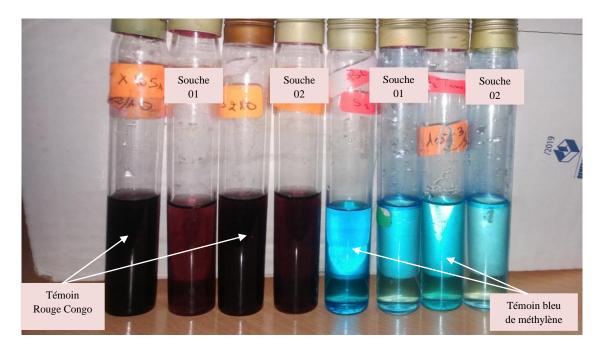
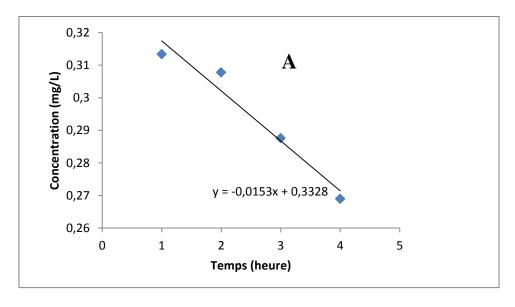


Figure III. 5 : Résultat du test présomptif.

V.4. Cinétiques de biodégradation des colorants

Afin de mettre en évidence l'activité des souches choisies, et dans un souci d'optimiser les conditions de la bioréaction de dégradation des colorants sujet de cette étude, nous avons mis la biomasse enrichie des deux souches en contact avec les colorants avec des quantités suffisantes en azote et en phosphore dans un réacteur batch, afin d'éviter les limitations par le manque de substrat. Les colorants utilisés servent de source de carbone.

Les résultats obtenus (**Figures III. 6 et III. 7**) montrent que la vitesse cinétique est linéaire et d'ordre 1. La vitesse de dégradation du colorant (rouge Congo) par la souche 2 est meilleure comparativement à la souche 1. En effet, la souche 2 avait montré une grande aptitude à dégrader le rouge Congo avec une vitesse cinétique de 0,044mg.L⁻¹.h⁻¹, alors que la vitesse enregistrée avec la souche 1 était de 0,15 mg.L⁻¹.h⁻¹. Cette différence observée est due probablement aux capacités de la souche 2 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.



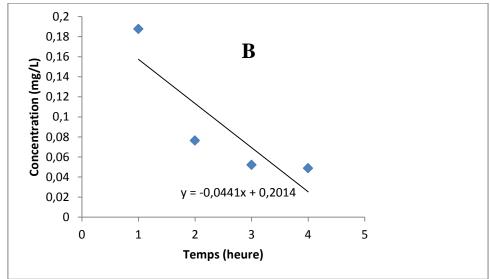
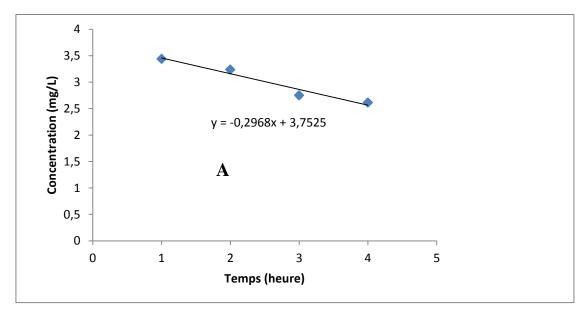


Figure III. 6: Cinétique de dégradation de **RC** par les souches sélectionnées (A- Souche 1, B-Souche 2).



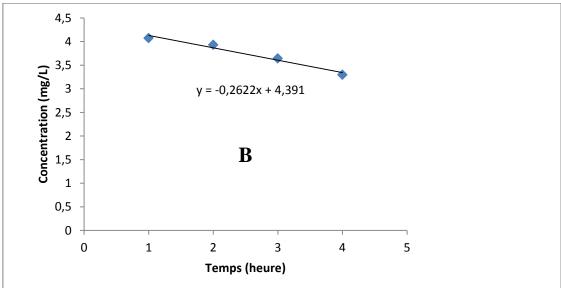


Figure III. 7: Cinétique de dégradation du bleu de méthylène par les souches sélectionnées (A- Souche 1, B-Souche 2).

Pour le bleu de méthylène, les vitesses spécifiques enregistrées sont de même ordre quelque soit la souche utilisé (0,26 mg.L⁻¹.h⁻¹), ceci peut être expliqué par la difficulté de dégradation du bleu de méthylène par les souches bactériennes, surtout lorsqu'en compare les vitesses spécifique de dégradation enregistrées pour les deux colorants. On s'aperçoit donc que le bleu de méthylène est difficilement biodégradable, comparativement au rouge de Congo.

V.5. Identification des souches 1 et 2

Après l'incubation des boites contenants les milieux **King A** et **King B** à 30° C pendant 24 à 48h les résultats sont les suivants :

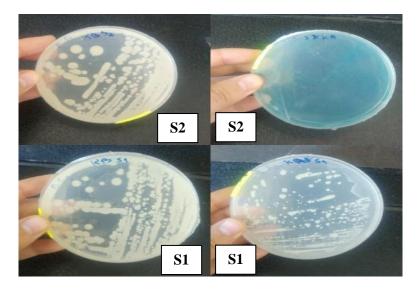


Figure III. 8: Aspect des colonies sur les milieux King A et King B.

En se basant sur l'aspect des colonies sur milieu solide, ces dernières représentent une diversité de taille (grande, moyenne et petite colonies), forme (colonies bombées), et consistance ce qui nous orientent vers le genre de *Pseudomonas*.

V.5.1. Caractérisation phénotypique des souches sélectionnées

Afin de bien orienter l'identification des souches sélectionnées, il faut exploiter les caractères de différenciation des genres bactériens. Le choix de tests biochimiques à effectuer est fait en se basant sur les observations des bactéries à l'état frais et le Gram, (annexe) et d'autres caractères propres à certaines espèces bactériennes.

V.5.2. Mise en évidence de l'activité enzymatique

Les deux isolats (souche 1 et 2) ont été testés pour évaluer leur capacité à produire diverses enzymes tels que la cellulase, estérase, protéase et lipase.

V.5.2.1. Activité cellulasique

Ce test permet de mettre en évidence la capacité des bactéries à décomposer la cellulose, l'apparition d'un halo jaune orangé autour des colonies indique la présence d'une cellulase (**Figure III. 9**).

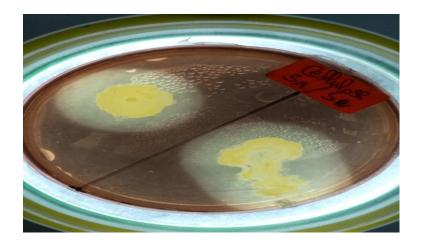


Figure III. 9: Résultat de l'activité cellulasique.

Les cellulases bactériennes jouent un rôle important dans la dégradation des débris de plantes, des parois cellulaires fongiques, l'inhibition de la germination des spores, de l'élongation du tube germinatif et de la croissance fongique, ainsi que dans le bio contrôle des pathogènes et des maladies de plantes.

V.5.2.2. Activité protéolytique

Cette activité se traduit par la présence d'un halo clair autour des colonies, visible sans l'ajout d'aucun réactif (**Figure III. 10**).



Figure III. 10 : Résultats de l'activité protéolytique.

Dans notre travail les deux isolats ont été capables de dégrader les protéines sur gélose au lait écrémé (**Figure III. 10**).

Les protéases d'origine microbienne sont parmi les enzymes les plus secrétées (Ningthoujam et al., 2009). La dégradation des protéines par les protéases microbiennes joue un rôle important dans le cycle d'azote au niveau du sol en le rendant disponible pour les plantes et les micro-organismes (Petit et Jobin, 2005). Les protéases sont les enzymes les plus importantes dans le domaine industriel, elles comptent environ 40% des ventes mondiales. Elles sont généralement utilisées dans les détergents, l'industrie alimentaires, le cuir, le traitement de la fabrication du fromage, la récupération de l'argent et certains traitements médicaux et pharmaceutiques (Muthulakshmi et al., 2011).

V.5.2.3. Activité lipolytique et estérasique

La présence d'une activité estérasique et lipolytique s'exprime par la présence d'un halo autour des colonies (**Figure III. 11**).



Figure III. 11: Résultats de l'activité lipolytique et de l'activité estérasique.

L'activité lipolytique et l'activité éstérasique sont observées chez les deus souches selectionées.

La synthèse des lipases et des estérases par les bactéries testées contribue à la dégradation de la matière grasse et par conséquent, ces bactéries pourraient participer au recyclage de la matière organique en fournissant les éléments nécessaires aux plantes (Azrou et Guettafi, 2014).

V.5.3. Observation phénotipique

Nous avons réalisé une observation microscopique des bactéries à l'état frais pour vérifier la pureté des isolats, leur taille, la forme et le type de regroupement des cellules bactériennes ainsi qu'une coloration de Gram.

Apres l'observation microscopique, les souches obtenues sont des bacilles de forme bâtonnée, à paroi Gram négatif.

Les résultats des testes réalisés ont permis de classer les souches obtenues de genre *Pseudomonas* qui forment un large groupe colonisant le sol, les plantes et l'eau (**Allaire**, **2005**).

Dans le sol les *Pseudomonas* représentent une grande fraction de la communauté microbienne partageant leur milieu avec des commensaux appartenant principalement aux genres *Bacillus* et *Actinomyces*. On les retrouve un peu partout, particulièrement sur les systèmes racinaires des plantes (**Allaire**, **2005**).

Les différentes espèces de *Pseudomonas* qui colonisent la rhizosphère possèdent plusieurs caractéristiques qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique. Elles sont connues pour produire les composés antimicrobiens et les enzymes extracellulaires (lipase, estérase, xylanase, pectinase, amylase, protéase et cellulase) (Allaire, 2005).

Conclusion générale

Conclusion:

L'objectif du présent travail est de contribuer à l'amélioration des procédés de traitement des effluents issues de l'industrie textile chargés en colorants, qui constituer une nuisance à l'homme et à l'environnement dans la mesure ou la plupart d'autre eux sont toxiques et se dégradent lentement.

Notre travail s'intègre dans le cadre du développement des procédés biologiques de traitement de la pollution de eaux de l'industrie du textile, par la recherche de souches bactériennes à haut potentiel en biodégradation des colorants, afin de construire une biomasse performante permettant de traiter efficacement les effluents rejetés en vue d'une meilleure protection des ressources hydriques.

Nous nous somme donc arrivés à isoler deux souches bactériennes avec un bon potentiel en biodégradation des colorants synthétiques à partir des racines de la betterave rouge, avec une appartenance au genre *Pseudomonas*.

L'étude cinétique de la biodégradation du bleu de méthylène et du rouge de Congo avec les souches sélectionnées a montré que le bleu de méthylène est difficilement biodégradable, comparativement au rouge de Congo, ou les souches bactériennes le dégradent facilement.

Références bibliographiques

Allaire M. (2005). Diversité fonctionnelle des *Pseudomonas* producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères conifères en pépinières et en milieu naturel. 90, 4-12.

Alves de Lima R.O., Bazo A.P., Favero D.M., Salvadori., Rech C.M., De Palma Oliveira

et Umbuzeir O.(2007). Mutagenic and carcinogenic potential of a textile azo dye processing plant effluent that impacts a drinking water source, *Mutation Res*, 626, 53-60.

Anjaneyulu Y., Chary N.S., Suman Raj. (2005). Decolourization of industrial effluents - available methods and emerging technologies, *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 4, 245–273.

Aspland J.R. (1997). Textile dyeing and coloration, Research Triangle Park, *American Association of Textile*, Chemists and Colorists.

Azrou S et Guettafi N. (2014). Recherche de caractères d'intérêt agricole chez certaines bactéries rhizosphèriques, Université *Abderrahmane Mira* de *Bejaia*, P23.

 ${\mathcal B}$

Babuponnusami A., Muthukumar K. (2014). A review on Fenton and improvements to the Fenton process for wastewater treatment. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2, 557–572.

Bach H. J., Munch J. C. (2000). Identification of bacterial sources of soil peptidases. *Biol Fertil Soi*, 31, 219-224.

Banat I.M., Nigam P., Singh D et Marchant R. (1996). Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents, A review. *Bioresour. Technol.*, 58, 217-227.

Bauer C., Jacques P et Kalt A. (2001). Photooxidation of an azo dye induced by visible light incident on the surface of TiO2, *J. Photochem. Photobiol. A Chem.*, 140, 87-92.

Baumont S., Camard J P., Lefranc A., Franconi A. (2004). Réutilisation des eaux usées, risques sanitaires et faisabilité en Île-de-France, *Rapport ORS*, pp 220.

Ben Mansour H., Mosrati R., Corroler D., Ghedira K., Bariller D et Chekir-Ghedira L. (2010). Acid violet 7 and its biodegradation products induce chromosome aberration, lipid peroxidation and cholinesterase inhibition in mouse bone morrow, *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

Brown J.P. (2000). A review of the genetic effects of naturally occurring flavonoids, anthraquinones and related compounds, Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology, 75, 243-277.

C

Carmen Z., Daniela S. (2012). Textile Organic Dyes – Characteristics, Polluting Effects and Separation/Elimination Procedures from Industrial Effluents-A Critical Overview, *Organic Pollutants Ten Years After the Stockholm Convention-Environmental and Analytical Update*, Edition Dr. Tomasz Puzyn, 55-87.

Carrim A. J., Barbosa E. C. and Gonçalves V. J. D., (2006). Enzymatic Activity of Endophytic Bacterial Isolates of Jacaranda decurrens Cham. (Carobinha-do-campo). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 49, 353-359.

Chen B.Y. (2006). Toxicity assessment of aromatic amines to *Pseudomonas luteola*, chemostat pulse technique and doseresponse analysis, *Proc. Biochem*, 41, 1529–1538.

Chung K.T., Cerniglia C.E. (1992). Mutagenicity of azo dyes, Structure-activity relation ships, *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 277, 201-220.

Chung KT., Ful E.G et Andrews A.Y. (1981). Mutagenicity testing of some commonly used dyes, *Appl, Environ, Microbiol*, 42, 641-648.

 \mathcal{D}

Defosse R. (1991). Colorants et pigments, Techniques de l'Ingénieur, A 3233p1.

Donzé J.J. (1988). Colorants textiles, Techniques de l'Ingénieur, K 350, 1.

Drumond C.F.M., Anastácio F.E.R., Cardoso J.C., Zanoni M.V.B. (2013). Textile Dyes, Dyeing Process and Environmental Impact, *Chapter 6. Eco-Friendly Textile Dyeing and Finishing*, 151-176.

Eichlerova I., Homolka L., Lisa L et Nerud F. (2005). Orange G and remazol brilliant blue R decolorization by white rot fungi *Dichomitus squalens, Ischnoderma resinosum* and *Pleurotus calyptratus*, Chem osphere, 60, 398–404.

 ${m {\it F}}$

Fujian X., Hong zhang C et Zuohu L. (2001). Solid—state production of lignin peroxidase (LiP) and manganese peroxidase (MnP) by *Phanerochaete chrysosporium* using steam-exploded straw as substrate. *Bioresour. Technol*, 80, 149-151.

G

Ganesh R., Boardman g.d., Michel S. (1994). Fate of azo dyes in sludges. *Water Res*, 28, 1367-1376. Golka K., Kopps S et Mysla Z.W. (2004). Carcinogenicity of azo colorants, influence of solubility and bioavaibility, *Toxicol Lett*, 151, 203-210.

Gottlieb A., Shaw C., Smith A., Wheatley A., Forsythe S. (2003). The toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolourisation, *Journal of Biotechnology*, 101,49-56.

 \mathcal{H}

Harazono K. et Nakamura K. (2005). Decolorization of mixtures of different reactive textile dyes by the whiterot basidiomycete *Phanerochaete sordida* and inhibitory effect of polyvinyl alcohol. *Chemosphere*, 59, 63-68.

Hao O.J., Kim H. et Chiang P.C. (2000). Decolorization of wastewater. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 30, 449-505.

Herculano P.N., Lim D. M. M., Fernandes M. J. S., Neves R. P., Souza-Motta C. M. (2011). Isolation of Cellulolytic Fungi from Waste of Castor (Ricinus communis). Curr Microbiol., 62, 1416-1422

Hunger K. (2003). Industrial Dyes, Chemistry, Properties, Applications, Edition Dr. *Klaus Hunger, Frankfurt, Germany*.

Husain Q. (2010). Peroxidase mediated decolorization and remediation of wastewater containing industrial dyes, *Review of Environmental Science and Biotechnology*, 9, 117–140.

Husain Q., Husain M. (2012). Peroxidases as a Potential Tool for the Decolorization and Removal of Synthetic Dyes from Polluted Water, *chapter 15, Environmental Protection strategies for Sustainable Development, Strategies for Sustainability*, Springer Science Business Media B.V. 453-498.

IARAC M. (2011). Some chemicals present in industrial and consumer products, food and drinking water, *Word Health Organization*, Lyon, France, 101, 41-70.

Itoh K., Kitade C., Yatome C. (1996). A pathway for biodegradation of an anthraquinone dye, C.I disperse red 15, by a yeast strain Pichia anomala, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 5, 413–418.

 ${\mathcal K}$

Khan R., Bhawana P., Fulekar M.H. (2013). Microbial decolorization and degradation of synthetic dyes, *Review of Environmental Science Biotechnology*, 12, 75–97.

Kodam K.M., Kolekar Y.M. (2015). Bacterial Degradation of Textile Dyes, Microbial Degradation of Synthetic Dyes in Wastewaters, Environmental Science and Engineering, *Springer International Publishing Switzerland* 243-266.

Kuhad R.C., Gupta R., Pal K.Y. (2012). Microbial Decolorization of Colored Industrial Effluents, *Chapter 35. Microorganisms in Environmental Management*, Springer Science Business Media B.V, 787-813.

 \mathcal{M}

Medvedev Z.A., Crowne H.M et Medvedeva M.N. (1988). Age related variations of hepatocarcinogenic effectof azo dye (3'-MDAB) as linked to the level of hepatocyte polyploidization. *Mech. Ageing Develop.*, 46, 159-174.

Metahri M.S. (2012). Elimination simultanée de la pollution azotée et phosphatée des eaux usées traitées, par des procédés mixtes, Cas de STEP Est de ville de Tizi-Ouzou, *Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou*, pp 172.

Muthulakshmi C., Gomathi D. G., Ravikumar G., Kalaiselvi M. et Uma C. (2011). Purification and Charb acterization of Protease by *Aspergillus flavusunder* Solid State Fermentation. *Journal of Biological Siences Production*. Volume 4, Number 3, 137-148.

Needles H.L., (1986) Textile fibers, dyes, finishes, and processes, Noyes Publications Mill Road, Park Ridge, New Jersey, USA.

Nigam P., Banat I.M., Singh., D Marchant R. (1996). Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes. *Proc. Biochem.*, 31, 435-442.

Nigam P., Marchant R. (1995). Selection of a substratum for composing biofilm system of a textileeffluent decolorizing bacteria. *Biotechnol. Lett.*, 17, 993 - 996.

Ningthoujam D. S., Kshetri P., Sanasam S. & Nimaichand S. (2009). Screening, Identification of Best Producers and Optimization of Extracellular Proteases from Moderately Halofilic Alkalithermotolerant Indigenous Actinomycetes. *World Aoolied Sciences Journal*. 7, 907-916.

0

O'Neill C., F.R Haw kes., D.L Haw kes., N.D Lourenc., H.M Pinheir., W Delee. (1999). Colour in textile effluents – sources, measurement, discharge consents and simulation: a review. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 74, 10009–10018.

 ${\mathscr F}$

Pande Y., Singh A. P., L Iyengar. (2007). Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *Int. Biodeter. Biodegrad.*, 59, 73-84.

Pasti M.B., Pomett O. A. L., Nuti M.P. (1990). Crawford DL.lLignin-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.

Perrin R., Scharff J.P. (1993). Chimie industrielle 1, Edition MASSON, Paris.

Petit J. and Jobin P. (2005). La fertilisation organique des cultures Les bases, *Fédération d'agriculture biologique du Québec*.

PPAH. (1998). Pollution Prevention and Abatement Handbook, Dye Manufacturing. World Bank Group 298–301

Quillardet P. et Hofnung M. (1993). The SOS chromotest: a review. *Mutation Res./Rev. Gen. Toxicol.*, 297, 235-279.

Ramalho D. C. F (2005). Degradation of dyes with microorganisms studies with Ascomycete yeasts., Université de Minho, Portugal, 14 p.

Ramalho P.A., Sch olze H., Card oso M.H., Ramalh M.T., Oliveira- Camp A.M. (2002). Improved conditions for the aerobic reductivedecolourisation of azo dyes by *Candida zeylanoides*. *Enzyme Microb*. *Technol.*, 31, 848-854.

Ratna B., Padhi S. (2012). Pollution due to synthetic dyes toxicity & carcinogenicity studies and remediation, *International Journal of Environmental Sciences*, 3, 940-955.

Regsek F. (2002). Analyse des eaux, aspect réglementaire et techniques, Edition scrérén CRDPA quitaine, Bordeaux.

Richarde C. (1996). Les eaux; les bactéries; les hommes et les animaux; Edition Elsevier; Paris, P138.

S

Sharma M.K., Sobti R.C. (2000). Rec effect of certain textile dyes in *Bacillus subtillis*, *Mutation Research/Genetic, Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 465, 27-38.

Sierra G. A. (1957). A simple method for the detection of lypolytic activity of microorganisms and some observations on the influence of the contact between cells and fatty substracts. Antonine van Leeuwenhoeck, 28, 15-22.

Singh L., Sing V.P. (2015). Textile Dyes Degradation, A Microbial Approach for Biodegradation of Pollutants, Microbial Degradation of Synthetic Dyes in Wastewaters, Environmental Science and Engineering, *Springer International Publishing Switzerland* 187-204.

Singh S.N., Mishra S., Jauhari N. (2015). Degradation of anthroquinone Dyes Stimulated by Fungi, Microbial Degradation of Synthetic Dyes in Wastewaters, Environmental Science and Engineering, *Springer International Publishing Switzerland*, 333-352.

 ${\mathcal J}$

Torres C. D., Vazquez-Duhal R. (2010). Applications and Prospective of Peroxidase Biocatalysis in the Environmental Field, Chapter 8, *Biocatalysis Based on Heme Peroxidases, Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, 179-206.

Umbu zeiro G.A., Freeman H., Warren S.H., Kummrow F et Claxton L.D. (2005). Mutagenicity evaluation of the commercial product CI Disperse Blue 291 using different protocols of the *Salmonella assay*, *Food Chem Toxicol*, 43, 49-56.

 \boldsymbol{v}

Vijaya P. P., Sandhya S. (2003). Decolorization and Complete Degradation of Methyl Red by a Mixed Culture, *The Environmentalist*, 23, 145–149.

 ${\mathfrak X}$

Xu H., Heinze T.M., Chen S., Cerniglia C.E., Chen H. (2007). Anaerobic metabolism of 1-amino-2-naphtholbased azo dyes (Sudan dyes) by human intestinal microflora, Applied Environmental Microbiology, 73, 7759-7762.

 \boldsymbol{y}

Yahagi Y., Degawa M., Seino Y., Matsushima T., Nagao M., Sugimura T et Hashimoto Y. (1975). Mutagenicity of mutagenic azo dyes and their derivatives, *Cancer Lett*, 1, 91-96.

Yang G.P., Zhao Y.H., Lu X.L., Gao X.C. (2005). Colloid, Surf, A 264, 179–186.

Z

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.

Zhou W et Zimmermann W. (1993). Decolorization of industrial effluents containing reactive dyes by actinomycetes. *Microbiol. Lett.*, 107, 157-161.



Annexe I:

Materiels:

Les instruments

- ✓ Flacons stériles
- ✓ Micropipette
- ✓ Tube à essai stériles
- ✓ Pipette Pasteur
- ✓ Portoir
- ✓ Boites de Petri
- ✓ Balance électrique
- ✓ Bec Bunsen
- ✓ Autoclave ✓ Etuve
- ✓ Agitateur-plaque chauffante
 ✓ Un spectrophotomètre
 ✓ Bain marie

- ✓ Vortex
- ✓ Distillateur
- ✓ Compteur de colonies

Annexe II:

Milieux de culture :

✓ Gélose nutritive(GN):

Dissoudre 28g dans un litre d'eau distillé, autoclaver à 121 °C pendant 15min .

Composants	Quantité en g/l
extrait de viande	1,0g/L
extrait de levure	2,5g/L
peptone	5,0g/L
chlorure de sodium	5,0g/L
Agar	15g/L

Gelose KingA:

La gélose King A est utilisée pour la caractérisation des *Pseudomonas* par la mise en évidence de la production de pyocianine.

Dissoudre 45 g de poudre dans un litre d'eau distillé, autoclaver à 121° C pendant 15min .

Ajouter 10 cm³ de glycérol après autoclavage.

Composants	Quantité en g/l	
peptone dite "A"	20 g	
glycérol	10 g	
sulfate de potassium	10 g	
chlorure de magnésium	1,4 g	
agar purifié	12 g	
рН	7,2	

Gélose King B

La gélose King B permet la production de la pyoverdine , pigment jaune vert fluorescent sous lumière ultra-violette, par certains *Pseudomonas* .

Dissoudre 37 g de poudre par un litre. Stérilisation classique. Ajouter 10 mL de glycérol après autoclavage.

Composants	Quantité en g/l
Peptone dite B	20g
Glycérol	10g
Hydrogénophosphate de potassuim	1,5g
Sulfate de magnésuim heptahydraté	1,5g
Agar purifié	12g
рН	7,2g

Eau physiologique (EP)

Dissoudre 9g de NaCl dans 1000ml d'eau distillé (pH = 7), autoclaver à 121°C pendant 15mn

Annexe III

Les étapes de coloration de Gram

- Réaliser un frottis ou un étalement : A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on dépose une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame bien propre ;
- Ensuite, une colonie bien isolée sera prélevée avec une pipette Pasteur et dissociée dans la goutte ;
- Fixer la préparation à la flamme du bec bunsen, la faire sécher soigneusement puis la laissée refroidir ;
- La lame sera totalement imbibée par le violet de gentiane pendant 1 min ;
- Rinçage de la lame avec de l'eau distillé ;
- le frottis sera recouvré par le Lugol pendant 1 min ;
- Lavage de nouveau avec de l'eau distillé;
- L'ajout de l'alcool jusqu'à la disparition de la couleur violette pendant une dizaine de secondes puis un lavage rapide sera effectué;
- Coloration de nouveau avec une solution de fuchsine diluée pendant 1 min ;
- Lavage de nouveau avec de l'eau distillé puis séchage à l'air;
- ➤ Observation au microscope optique, à l'aide d'huile d'immersion ;

Classification de la souche *Pseudomonas*

Régne Bacteria

Division Proteobacteria

Classe Gammaproteobacteria

Ordre Pseudomonadales

Famille Pseudomonadaceae

Genre Pseudomonas

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى اختيار سلالات بكتيرية عالية الإمكانات في المعالجة البيولوجية لتلوث المياه بواسطة أصبغة النسيج

في الواقع تم اخذ هذه البكتيريا من جذور الشمندر الأحمر ويعتمد اختيار هذه المنطقة على حقيقة أن المحصول المحدد ذو لون احمر قوي, وبالتالي وجود سلالات تتكيف مع هذه البيئة في حين أظهرت النتائج انه من بين السلالات المعزولة توجد اثنتان ذو نشاط جيد لزوال الصبغة.

كشفت الدراسة الحركية أن السلالات المختارة لها قدرة عالية في إزالة الأحمر الكونغو مقارنة بالأزرق الميثيلي, كما اظهر التعرف على السلالات المختارة انتمائها الى نوع Pseudomonas.

الكلمات المفتاحية: المعالجة البيولوجية, تلوث المياه, سلالات بكتيرية, الشمندر الأحمر, أصبغة النسيج.

Résumé

Cette étude a pour objectif de sélectionner des souches bactériennes à haut potentiel en traitement biologique de la pollution des eaux par les colorants textiles. En effet, une sélection à été faite à partir de la rhizosphère de la betterave rouge. Le choix de cette zone, est fondé sur le fait que la culture choisie est fortement colorée en rouge, et par conséquent la présence de souches adaptés à cet environnement.

Les résultats ont montré que parmi les souches isolées, deux présentent une bonne activité de dégradation des colorants. L'étude cinétique à révélée que les souches choisies ont d'un grand potentiel de dégradation vis-à-vis du rouge Congo comparativement au bleu de méthylène.

L'identification des souches sélectionnées à montré une appartenance de ces dernieres au genre Pseudomonas.

Mots clés: traitement biologique des eaux, les eaux usées, souches bactériennes, la betterave rouge, colorants textiles.

Abstract

The aims of this study is to select bacterials strains with hight potential in textile wastewater treatment from red beet. The choice of this area is based on the fact that the selected crop is strongly colored red, and therefore the presence of strains adapted to this environment.

The results showed that of the isolated strains, two show good dye degradation activity.

The kinetic study revealed that the selected strains have a high degradation potential vis-à-vis the red Congo compared to the methylene blue. The identification of the selected strains showed their belonging to the kind of *Pseudomonas*.

Key words: biological treatment, water pollution, bacterial strains, red beet, textile dyes.