

TRAITEMENT BIOLOGIQUE DE L'EFFLUENT LIQUIDE ISSU DE L'INDUSTRIE LAITIERE PAR DES CHAMPIGNONS EXOGENES

[BIOLOGICAL TREATMENT OF LIQUID EFFLUENT RESULTING FROM THE DAIRY INDUSTRY BY EXOGENOUS FUNGI]

Bouchra LOUASTE¹, Latifa BOUDINE¹, Noureddine ELOUTASSI², and Mehdi CHAOUCH³

¹Laboratoire de Biotechnologie et de Biologie Moléculaire,
Faculté des Sciences Dhar Mahraz, Fès, Maroc

²Centre Régional des Métiers de l'Education et de la Formation,
BP 49, 30000, VN Fès, Maroc

³Laboratoire de chimie de l'environnement,
Département de Chimie, Faculté des Sciences, Dhar Mahraz, Fès, Maroc

Copyright © 2014 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the *Creative Commons Attribution License*, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: Discharges from dairies are very rich in organic matter. 900 m³/d of liquid waste is discharged daily by the milk processing unit of the City Rabat / Salè. They are a formidable source of pollution because they contain microorganisms, lactose, protein, vitamins and mineral, in addition the management of these effluents concerned producers and actors of the environment.

This work is primarily concerned to the biodegradation of dairy effluent by treatment with fungi. A reactor in batch culture was used in order to study the growth of fungi and removal organic matter. The inoculation is carried out by amplified fungi of the effluent and with unamplified fungi. And to improve the treatment efficiency, the biodegradation was coupled by a buffer reagent LDC₇.

The results show that using amplified fungi in presence of LDC₇ reagent induces a high decrease of COD with a percentage of 85%.

In conclusion, the biodegradation of the effluent from the dairy industry using fungi coupled to LDC₇ is a very promising biotechnological process, which is simple, economical and environmentally friendly and can contribute to the treatment of liquid waste and reduce polluting factors.

KEYWORDS: Dairy effluent, pollution, biodegradation, fungi.

RESUME: Les rejets des industries laitières sont très riches en matière organique. 900 m³/j de déchets liquides sont rejetés quotidiennement par l'unité de transformation de lait de la Ville Rabat/Salè. Ils constituent une source de pollution redoutable par sa richesse en microorganismes, lactose, protéines, vitamines et sels minéraux, en plus la gestion de ces effluents préoccupe les producteurs et les acteurs de l'environnement.

Ce travail s'intéresse essentiellement à la biodégradation de l'effluent laitier par traitement avec des moisissures. Un réacteur en culture batch a été utilisé dans le but d'étudier la croissance des mycètes et d'éliminer la matière organique. L'inoculation est réalisée par des champignons amplifiés sur l'effluent lui-même et par des champignons non amplifiés. Et pour améliorer le rendement de traitement, la biodégradation a été couplée par un réactif tampon le LDC₇. Les résultats

montrent que l'utilisation des champignons amplifiés en présence du réactif LDC₇ induit une forte diminution de la DCO avec un pourcentage de 85 %.

En conclusion, la biodégradation de l'effluent de l'industrie laitière par l'utilisation des mycètes couplée au LDC₇ est un procédé biotechnologique très prometteur, simple, économique et respectueux de l'environnement qui contribue au traitement des rejets liquides et diminue les facteurs polluants.

MOTS-CLEFS: Effluent laitier; pollution; biodégradation; champignons.

1 INTRODUCTION

Ces dernières années, le Maroc est devenu un grand producteur et consommateur de lait et de ses dérivés. Selon le Ministère marocain de l'Agriculture et du Développement Rural, la production annuelle est encore en augmentation [1]. En plus, les rejets de l'industrie laitière constituent non seulement une perte importante de source organique valorisable mais engendrent également un problème de pollution pour l'environnement [2;3;4;5]. Cependant, le traitement de ces résidus est une préoccupation majeure des industriels qui sont soumis à une réglementation de plus en plus exigeante [6]. Et de ce fait, l'élimination ou le traitement des effluents représente une part importante du budget consacré à l'environnement.

En effet, l'effluent rejeté est riche en matières organiques et en bactéries en plus de la variabilité de son acidité [2;4]. Différents types de déchets liquides sont produites au cours de la transformation de lait, on trouve les eaux usées issus des nettoyages de l'équipement et des tuyaux, l'eau de refroidissement, les eaux usées domestiques, le lactosérum acide et sucré [5;7]. Le lactosérum forme l'effluent le plus polluant des déchets des industries laitières. Il est saturé en matière organique présenté essentiellement par le lactose, les protéines, les acides aminés comme la lysine et le tryptophane, les vitamines du groupe B tel que la thiamine et la riboflavine en plus des micro-organismes. Cependant, il est d'une importance indéniable et peut être valorisable à forte valeur ajoutée pour les industriels [2;8;9].

Généralement, plusieurs techniques de valorisation ou de traitement des effluents sont utilisées, mais le choix de la technique dépend essentiellement des caractéristiques physicochimiques et biologiques des rejets et de la nature des milieux récepteurs [8;10]. Au Maroc et dans la plupart des cas, ces effluents ne sont ni traités, ni valorisés, par contre ils sont déversés directement dans les milieux récepteurs [6].

Afin de valoriser l'effluent laitier de LVRS par des procédés biotechnologique, nous avons réalisé des études qui se sont intéressés à la production des sucres simples à partir du lactose issu de lactosérum [4] et au traitement de cet effluent par des procédés physicochimiques [10] et des procédés biologiques pour la production de bioéthanol et de biométhanol [2,4].

Ce travail est une suite de ces travaux et il a pour but la caractérisation qualitative et quantitative de l'effluent laitier global brut de la Ville Rabat/Salè suivie par un traitement biologique innovant de l'effluent laitier en utilisant une biomasse fongique spécifique permettant de réduire davantage la pollution carbonée sans augmenter la production de boues. Les champignons ont été amplifiés dans un bioréacteur sur l'effluent lui-même, en plus les facteurs influençant ce type d'épuration ont été déterminé et le procédé de traitement a été optimisé en plus l'efficacité de différents tests a été contrôlée.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 SUBSTRATS ET CARACTÉRISATION DE LACTOSÉRUM

Le substrat utilisé est le rejet de l'industrie laitière de la Ville Rabat / Salè. Il est collecté pendant plusieurs périodes de l'année. Les échantillons de l'effluent brut total (ELT) ont été mélangés et conservés à 4°C jusqu'à usage. L'échantillonnage et la conservation ont été faits selon le guide général pour la conservation et la manipulation des échantillons [12].

Pour se rapprocher aux conditions naturelles, aucune stérilisation des effluents n'a été effectuée. La caractérisation et l'analyse physico-chimique de l'effluent ont été réalisées selon les normes [12].

Et pour les analyses bactériologiques, le dénombrement des streptocoques fécaux ont été effectué sur gélose incubés à 37°C et la numération des coliformes fécaux est réalisée par la méthode du nombre le plus probable après culture sur bouillon de lactose incubés à 44,5°C [13].

2.2 PROCÉDÉ DE TRAITEMENT BIOLOGIQUE

2.2.1 SOUCHES UTILISÉES

Dans ce travail, nous avons utilisé un mélange (Asn-Muh-Gag) de trois souches de champignons *Aspergillus niger*, *Mucor hiemalis* et *Galactomyces geotrichum* fourni par le laboratoire biotechnologique de la Faculté des Sciences Dhar Mehraz (FSDM), Fès, Maroc (figure 1).

Les mycètes ont été conditionnées dans un bidon opaque de 5L sous forme d'un mélange liquide d'inoculum en présence d'un milieu nutritif à base de lactose.

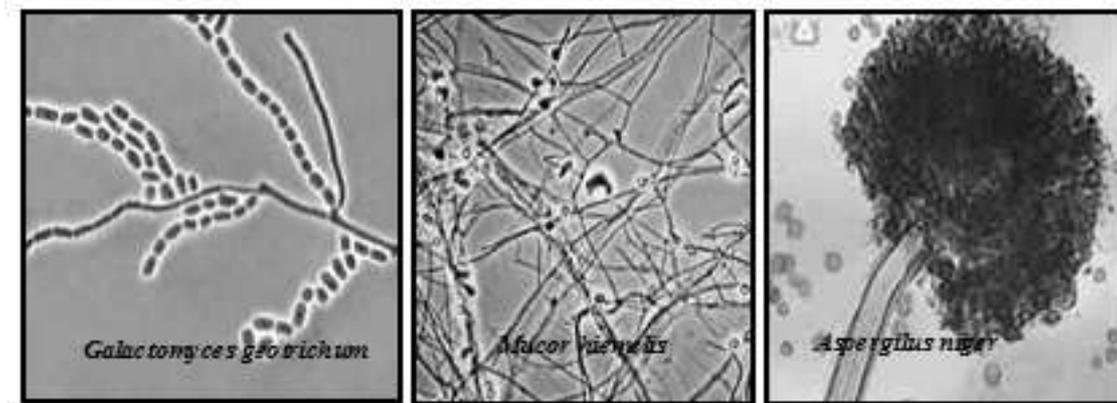


Fig. 1 : Le mélange fongique (Asn-Muh-Gag) utilisé dans le traitement biologique

Les photos sont prises par microscope électronique à balayage de laboratoire

2.2.2 CONDITIONS DE CULTURE

30 mL de mélange fongique par litre ont été ajoutés au milieu de culture dans des bédiers de 2 litre. Pour la biodégradation de l'effluent laitier, ce dernier est inoculé par 30 mL par litre de champignons amplifiés ou non amplifiés. L'inoculum est amplifié sur lactosérum doux ou directement sur l'effluent (ELT) lui-même.

Dans les mêmes conditions, des témoins ont été préparé pour étudier le comportement des bactéries endogènes et l'effet des champignons exogènes.

Ainsi, tous les milieux de culture ont été séparés en deux série égales, la première série est inoculée par le mélange alors que la deuxième série n'est pas inoculée. Les différents milieux de culture ont été incubés à température ambiante et agités sur shaker rotatif. Tous les milieux ont été oxygénés par une pompe à l'air (figure 2).



Fig. 2 : Bioréacteur utilisé pour la biodégradation de l'effluent laitier

2.2.3 ANALYSES DE LA CROISSANCE MYCÉLIENNE

Durant le traitement, la croissance mycélienne (CM600) est déduite par la différence des mesures de turbidité à 600 nm (spectrophotomètre UNICO 1100). La lecture a été réalisée sur l'effluent brut (CM600bt), puis sur le surnageant (CM600st) après centrifugation de 40 ml d'échantillon (centrifugeuse JOUAN R412) pendant 15 min à 4.000 tours/min et à 4 °C.

La CM600 est calculés selon la règle suivante : $CM600 = CM600bt - CM600st$.

L'évolution de la matière organique est suivie par mesure de la DCO soluble qui est mesurée selon la méthode Hach, la lecture est effectuée au spectrophotomètre Hach DR/2010.

Pour améliorer l'abattement de la DCO, nous avons adopté le réactif LDC₇ qui est très utilisé pour le traitement des effluents agroalimentaire. Aussi, il a la particularité d'avoir un fort pouvoir tampon [13]. Pour cela, nous avons ajouté 7,5 ml de LDC₇ dans les préparations.

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 CARACTÉRISATION DE L'EFFLUENT

Généralement au Maroc, la production laitière connaît deux périodes; une haute lactation (de mars à septembre) et une basse lactation (d'octobre à février). La moyenne annuelle du volume des déchets liquides rejetés par LVRS est 900 m³/j (dont 7,5 m³/j de lactosérum) avec 4,7 litre d'effluent liquide / litre de lait traité. Le tableau 1 montre la composition de l'effluent.

Tableau 1: Composition physico-chimique moyenne de l'effluent laitier (LVRS) pendant les deux périodes de l'année (basse et haute lactation)

	MES g.L ⁻¹	DCO g.L ⁻¹	DBO ₅ g.L ⁻¹	P g.L ⁻¹	NTK g.L ⁻¹	MG g.L ⁻¹	pH
Basse lactation	2,8	10,7	5,5	0,13	0,44	13	6
Haute lactation	4,1	11,29	6,3	0,34	1,36	18	9

MES: Matières en suspension ; DCO: Demande Chimique en Oxygène; DBO₅: Demande biologique en Oxygène pendant 5 jours; NTK: Azote Kjeldahl; P: Phosphore; MG: Matière Grasse.

Les résultats obtenus montrent que la charge polluante de l'effluent laitier est très variable. Cela est dû à sa composition principale en eaux blanches de rinçage des opérations et de nettoyage en place avec un volume total de 60 à 90 % et aussi à la présence de 1 à 3 % de produits laitiers perdus au cours de la transformation du lait.

Le tableau 2 présente les caractéristiques de différents constituants de l'effluent laitiers de LVRS selon les différentes étapes de transformation.

Tableau 2 : Composition physico-chimique moyenne de l'effluent laitier (LVRS) pendant les deux périodes de l'année (basse et haute lactation)

Type d'effluent	pH	Volume par litre de lait	DCO (g/L)	DCO/D BO ₅	NTK (g/L)	MES (g/L)	P (g/L)	Graisse (g/L)
Eaux blanches	5	3,8	3	2,1	0,2	1	0,18	0,4
Lactosérum produit lactique	4,5	1,2	50	1,7	2,1	3,5	0,4	0,6
Lactosérum pattes pressées	7,1	0,91	75	1,4	1,1	10,4	0,3	0,4
Mélange Eaux blanches et lactosérum	4 à 6	3,9	11	1,3	0,5 à 1	1,3	0,3	0,2

MES: Matières en suspension ; **DCO:** Demande Chimique en Oxygène; **DBO₅:** Demande biologique en Oxygène à 5 jours; **NTK:** Azote Kjeldahl; **P:** Phosphore total; **MG:** Matière Grasse.

Les valeurs enregistrées de MES, DCO, DBO₅, Azote total Kjeldahl et Phosphore total ainsi que les valeurs de pH et de température dépassent largement les valeurs fixées par les normes marocaines [15]. La composition de ces effluents s'apparente à celle du lait plus ou moins dilué. Les rapports DCO/DBO₅, sont compris entre 1,5 et 2, ce qui confère à ces effluents une bonne biodégradabilité [4, 13]. De plus, le ratio moyen DBO/NTK/P de 100/6/4 est satisfaisant par comparaison aux besoins du traitement biologique (100/5/1), avec cependant un léger excédent de phosphore. Il convient toutefois de s'assurer de la disponibilité de ces éléments pour les micro-organismes épurateurs [2, 14, 16].

Aussi, la moyenne annuelle du volume des déchets rejetés par LVRS est légèrement élevée en comparaison avec une autre étude [7]. Il serait donc nécessaire au cours de la transformation du lait, de réduire les volumes d'eaux résiduelles rejetées pour se situer dans les normes entre 1,5 et 2 litre d'effluent par litre de lait traité et aussi de recycler et réutiliser les eaux non polluées comme les eaux de refroidissement et de condensats [3, 7, 17, 18].

Tableau 3 : Composition biologique moyenne de l'effluent laitier (LVRS) pendant les deux périodes de l'année (basse et haute lactation)

	Coliformes fécaux (UFC/ml)	Streptocoques fécaux (UFC/ml)
Basse lactation	$1,9 \times 10^5$	$2,3 \times 10^5$
Haute lactation	$3,4 \times 10^5$	$3,9 \times 10^5$

Le tableau 3 présente les caractéristiques bactériologiques de l'effluent total rejeté par l'unité LVRS. Le rapport coliformes fécaux / streptocoques fécaux est inférieur à 1, ce qui témoigne d'une contamination fécale d'origine animale (streptocoques fécaux) des échantillons étudiés.

Finalement, les résultats du tableau 1 et 2 montrent l'importance de la quantité de matière organique valorisable dans l'effluent étudié et qu'il est nécessaire de le traiter avant tout rejet ou utilisation éventuelle.

3.2 ÉTUDES DU DÉVELOPPEMENT DES MYCÈTES SUR LE LACTOSÉRUM DOUX ET SUR L'EFFLUENT (ELT)

3.2.1 BIODÉGRADATION DU LACTOSÉRUM DOUX

Dans un premier temps nous avons étudié le développement des champignons *Aspergillus niger*, *Mucor hiemelis* et *Galactomyces geotrichum*, dans une solution de lactosérum déshydraté à différentes concentrations en lactose: 5; 15 et 30 g.L⁻¹. Tenu compte de sa concentration élevée en DCO (environ 6 g DCO.L⁻¹), le lactosérum représente la majeure partie de la charge polluante émise (80 à 85 %) par les industries laitières [10]. La figure 3 désigne la croissance mycélienne sur le lactosérum à différentes concentration de lactose.

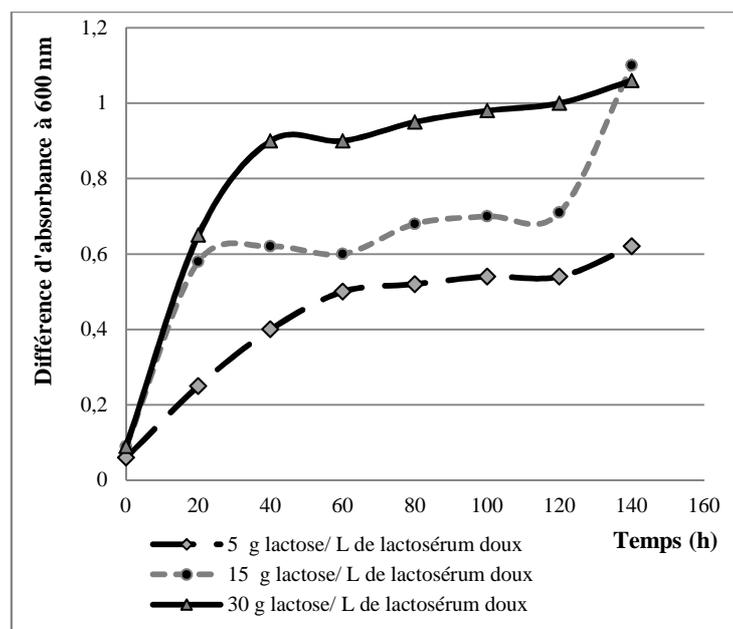


Fig. 3: Croissance mycélienne sur le lactosérum doux à différents concentration de lactose

La concentration du lactose dans la composition de lactosérum semble être un paramètre important dans le développement de la biomasse fongique spécifique puisque la croissance des champignons augmente avec l'augmentation de la concentration en lactosérum. On peut conclure que les champignons étudiés ont la possibilité d'utiliser le substrat carboné (lactose) contenu dans le lactosérum pour se développer.

Des études ont montré que ces organismes sont en général résistants au pH acide (pH de lactosérum et même de l'effluent laitier total), ils peuvent se développer à des températures variantes (de 0°C à 50°C) et supportent souvent des activités de l'eau faibles dans des milieux ayant une forte pression osmotique. Ils sont capables de produire des enzymes hydrolytiques (lipases et protéases utiles dans la biodégradation d'effluents d'industries agroalimentaires). En plus, ces champignons se multiplient par des spores formés à partir du mycélium qui sont des organes de résistance servant à la propagation. En conditions favorables d'humidité les spores peuvent germer et redonner un mycélium qui pourra à son tour sporuler et contaminer un autre milieu. Ces particularités leur confèrent une forte compétitivité, notamment avec les levures et les bactéries, et une large gamme d'utilisation en industries agroalimentaires [7, 14, 16].

3.2.2 BIODÉGRADATION DE L'EFFLUENT DE L'INDUSTRIE LAITIÈRE (ELT)

Dans un deuxième volet, la biodégradabilité de l'effluent laitier total (ELT) par le mélange fongique utilisé, a été étudié. Dans cette partie du travail, le pH a été ajusté à 7 puisque le pH de départ est de 3,5 sauf pour les essais contenant du LDC₇ à 3,5 g.L⁻¹ qui joue le rôle de tampon. Le volume d'effluent est de 1 litre.

Les résultats obtenus sont représentés dans les figures 4 et 5.

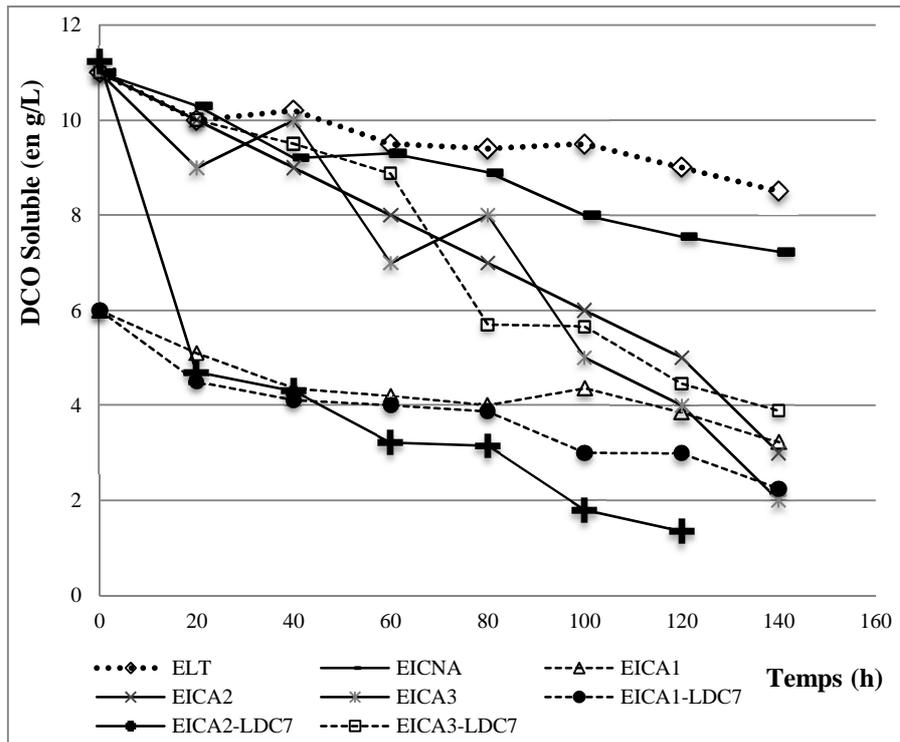


Fig. 4 : Suivi de la DCO soluble sur les différents essais de l'étude

ELT : Effluent laitier total sans inoculation. *EICNA* : Essai inoculé avec les champignons non amplifiés. *EICA1*, *EICA2* et *EICA3* : Essais par les champignons amplifiés pendant 65 heures réalisés respectivement sur le lactosérum à 5 g/L de lactose, sur effluent laitier total et sur l'effluent laitier total après ajustement du pH à 7 avec KOH 10 M. *EICA1-LDC₇*, *EICA2-LDC₇*, et *EICA3-LDC₇* : Essais additionnés avec LDC₇.

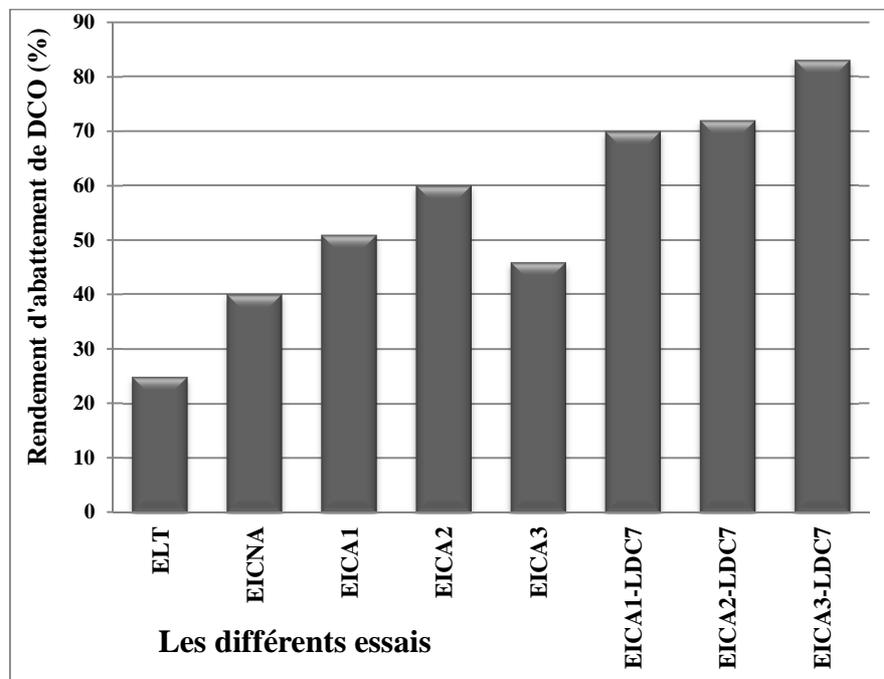


Fig. 5: Rendement de l'abattement de la DCO soluble au bout de 150 h de traitement.

Les tests préliminaires indiquent que les champignons ont la possibilité de se multiplier et de se développer activement sur l'effluent. Ce résultat peut être expliqué par le fait que l'effluent ELT est non seulement riche en lactose et en protéine mais aussi en matières minérales. Les vitesses de développement sont maximales pour les essais avec LDC₇ dès les premières heures de culture et ceci pour les différents essais amplifiés (EICA1-LDC₇, EICA2-LDC₇, EICA3-LDC₇). On remarque aussi qu'il est préférable d'amplifier au préalable les champignons sur l'effluent lui-même pour avoir une bonne croissance.

La figure 5 montre le rendement de l'abattement de la DCO soluble au bout de 150 h de traitement. Le premier résultat a permis de visualiser le rôle de la flore endogène. En effet, on constate que le fait d'aérer et d'agiter l'effluent permet aux micro-organismes présents naturellement dans l'effluent de se développer. Toutefois l'ajout de mycètes amplifiés permet d'augmenter le rendement final de l'abattement de la DCO qui atteint environ 83 %. Pour les essais sans LDC₇ il est préférable d'amplifier les mycètes sur l'effluent lui-même pour obtenir des rendements supérieurs à 70 %. L'abattement de la DCO par la flore endogène est assez élevé mais cela ne se produit jusqu'à la fin de traitement, alors que pour les essais inoculés avec les champignons amplifiés sur l'effluent, la DCO diminue dès les premières heures de traitement. Ainsi, l'utilisation d'une flore exogène spécifique comme le mélange de mycètes (Asn-Muh-Gag) permet de travailler avec des temps de séjour plus courts dans le bassin biologique de la station de traitement des effluents.

4 CONCLUSION

Dans cette étude nous avons essayé d'améliorer le traitement d'effluents de l'industrie laitière par l'utilisation des mycètes spécifiques dans un mélange. Les conditions optimales de croissance ont été déterminées et le traitement de lactosérum et de l'effluent laitier ont été réalisés. Les résultats montrent que les champignons spécifiques se multiplient et se développent en diminuant la DCO avec des rendements de plus de 70% pour le lactosérum et de 83 % pour l'effluent laitier total. Il est préférable d'amplifier les champignons sur l'effluent lui-même afin de les adapter au substrat carboné avant l'étape de biotraitement. La présence d'un garnissage comme le LDC₇ permet d'augmenter les rendements de biodégradation sans influencer la multiplication cellulaire et permet de maintenir le pH par son effet tampon. La présence de sels minéraux dans l'effluent à traiter joue un rôle prépondérant dans le développement des mycètes (Asn-Muh-Gag) et dans l'abattement de la DCO. La mise en commun de deux procédés, l'utilisation de champignons spécifiques amplifiés sur l'effluent lui-même et le garnissage LDC₇ permet de traiter les effluents de l'industrie laitière sans augmentation excessive des boues.

Dans les perspectives, ces résultats obtenus permettent d'envisager des recherches plus approfondies pour valoriser la biomasse fongique produites dans la production des protéines d'organismes unicellulaires. Ainsi, ils peuvent améliorer les revenus des unités industrielles agroalimentaires.

REFERENCES

- [1] Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural. Recensement Général de l'Agriculture (RGA). *Base de données statistiques*. (2011).
- [2] N. Eloutassi, B. Louasté, L. Boudine and M. Chaouch. Traitement du lactosérum pur issu de l'industrie laitière par la méthanisation. *Rev ScienceLib Environnement*, 5, 131212 (2013), pp 1-11.
- [3] N. Abdili. Valorisation du lactose et du lactosérum en acide succinique par fermentation bactérienne. Doctorat Microbiologie agricole. Faculté des sciences. Université Laval. Québec. (2009).
- [4] N. Eloutassi, B. Louasté and M. Chaouch. Production des sucres simples à partir du lactose issu du lactosérum. *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* 5, 2 (2011), 39-53.
- [5] A.S. Kumar and S. Karunakar. Utilization of whey for the production of instant energy beverage by using response surface methodology. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 4, 2 (2012), 103-111.
- [6] F. Djekmani. Le cadre juridique relatif a la gestion des déchets industriels au Maroc. Ministère de l'Énergie, des Mines, de l'Eau et de l'Environnement. Casablanca. Maroc. (2010).
- [7] A. Hamdani, M. Chennaoui, O Assobhei and M. Mountadar. Caractérisation et traitement par coagulation décantation d'un effluent de laiterie. *Lait*. 84, (2004). 317-328.
- [8] T. K. Ruttara. Functionalization of whey proteins by reactive supercritical fluid extrusion. *J. Sci. Technol.* 34, 4 (2012), 395-402.
- [9] C. V. Spalatel. Biotechnological valorisation of whey. *Innovative Romanian Food Biotechnology*. 10. (2012). 1-15.
- [10] N. Eloutassi, B. Louasté, L. Boudine and M. Chaouch. Traitement physico-chimique et biologique de l'effluent laitier liquide. *Rev. Microbiol. Ind. San et Env.* 7, 2 (2013), 211-227.

- [11] J. Jasko, E. Skripsts, V. Dubrovskis, E. Zabarovskis and V. Kotelenecs. biogas production from cheese whey in two phase anaerobic digestion. *Engineering For Rural Development. Jelgava*. 05, (2011). 26-27.
- [12] ISO 5667/3. Qualité de l'eau et échantillonnage. Guide pour la conservation et la manipulation des échantillons. (1994).
- [13] R. Campbell, R. Miracle, P. Gerard and M. Drake. Effects of Starter Culture and Storage on the Flavor of Liquid Whey. *J Food Sci.*76, 5 (2011), 1-12.
- [14] H. Djelal, M. Perrot and B. D. Grizard. Utilisation de champignons spécifiques pour la biodégradation d'effluents industriels. *Eau, Industrie, Nuisances*. N 3062008, pp 85-90.
- [15] Bulletin officiel du Maroc. Normes marocaines, N° 5062. (2002).
- [16] H. Djelal and A. Amrane, Biodegradation by bioaugmentation of dairy wastewater by fungal consortium on a bioreactor lab-scale and on a pilot-scale. *Journal of Environmental Sciences*. 25, 9 (2013), 1906-1912.
- [17] S. Fellah, B. A. Attarassi and A. F. Chafi. Etude et caractérisation des rejets liquides d'une unité de lait et de produits laitiers. *ScienceLib*. 4, 121005 (2012), 1-18.
- [18] A. S. Kumar and S. Karunakar. Utilization of whey for the production of instant energy beverage by using response surface methodology. *Advance Journal of Food Science and Technology*. 4, 2 (2012), 103-111.