

Contribution À La Caractérisation Microbiologique Et Enzymatique D'un Site Extrême : Les Tanneries Traditionnelles De Fès

EL HARCHLI E.H^{*1}, IRAQUI HOUSSAINI M.¹, IBNSOUDA KORAICHI S.¹.

¹Laboratoire de Biotechnologie Microbienne. Faculté des Sciences et Techniques, Fès BP : 2202- Université Sidi Mohamed Ben Abdallah route d'Imouzzer Fès

ABSTRACT: *Microorganisms in general are of abounding sources of unique enzymes that can be particularly used in biotechnology. To face up the growing request of the industrialists notably in the field of biocatalyses, numerous efforts are provided for the research of enzymes of interest. This concerns principally enzymes coming from extremophiles microorganisms. These enzymes will be undoubtedly of a big interest to intervene in close future in industrial techniques. It is as part of a possible promotion of microbic means by use of their enzymes that we accomplished a first job which is interested in an extreme middle ' the traditional tanneries of Fez. In a first shutter, we performed a physicochemical characterization of different stages of tanning; then we undertook the isolation of microorganisms by a bet in culture on appropriate medium and at the end, we could revealed certain of enzymatic potentialities (cellulase, pectinase, amylase, tannase and lipase) that the cleaned microbic isolats culminates.*

Key words : *mediums extremes, tanneries, microorganisms, enzymatiques activities*

RESUMÉ: *Les micro-organismes en général sont d'abondantes sources d'enzymes uniques pouvant être utilisées particulièrement en biotechnologie. Pour faire face à la demande croissante des industriels notamment dans le domaine des biocatalyses, de nombreux efforts sont fournis pour la recherche d'enzymes d'intérêt. Ceci concerne essentiellement les enzymes provenant de microorganismes extrémophiles. Ces enzymes seront sans nul doute d'un grand intérêt pour intervenir dans un futur proche dans les procédés industriels. C'est dans le cadre d'une éventuelle valorisation des ressources microbiennes par utilisation de leurs enzymes que nous avons réalisé un premier travail qui s'intéresse à un milieu extrême "les tanneries traditionnelles de Fès". Dans un premier volet, nous avons effectué une caractérisation physico-chimique des différentes étapes de tannage ; ensuite on a procédé à l'isolement de micro-organismes par une mise en culture sur des milieux adéquats et en fin, nous avons pu dévoiler certaines potentialités enzymatiques (cellulase, pectinase, amylase, tannase et lipase) que culminent les isolats microbiens purifiés.*

Mots clés: *milieux extrêmes, tanneries, micro-organismes, activités enzymatiques.*

I. INTRODUCTION

La tannerie constitue la première opération dans le traitement du cuir avant de le façonner pour produire les différents articles. C'est une activité connue au Maroc depuis des siècles et elle s'est développée au temps des Almohades notamment à Marrakech et à Fès. Bien que des techniques plus récentes aient fait leur apparition, la tannerie traditionnelle existe encore dans la majorité des anciennes villes marocaines. C'est l'une des activités les plus importantes dans l'artisanat traditionnel marocain. Fès est Parmi les principaux centres artisanaux. Une tannerie englobe essentiellement une aire découverte creusée de bassins servant pour le brossage et le rinçage des peaux et aussi des fosses destinées aux bains où ces peaux séjournent. La préparation des peaux comporte une série d'opérations compliquées.

Le procédé le plus ancien est le tannage végétal des peaux qui est effectué principalement à l'aide des extraits de produits végétaux naturels [1] comme l'écorce de mimosa, l'écorce de chêne liège, l'écorce de grenadine, le takaout, le son, la farine, les fientes de pigeon et l'huile vierge. Ces produits ayant des propriétés particulières pour transformer une peau brute en cuir fini. Les peaux fraîches très putrescibles sont séchées ou conservées au sel. Le reverdissage de ces peaux permet de débarrasser les souillures superficielles et les sels. Les étapes d'épilage et de chaulage qui font suite préparent les peaux à la phase importante de confitage.

Il s'agit alors de faire macérer les peaux en vue de favoriser l'action enzymatique ce qui leurs donne une grande souplesse et un grain particulièrement fin. Pour ce faire, les peaux sont trempées dans des bassins de mélange d'eau de puits et de fiente de pigeons sauvages pendant quatre jours en hiver et un jour en été. Ensuite,

les peaux sont lavées, rincées et foulées avec les pieds dans les bassins pour éliminer la fiente des pigeons [2]. Le picklage des peaux par des solutions acides les préparent pour subir l'action du tannage aux des produits naturels contenant des tannins (takaout, mimousa,..). Les étapes de finissage du cuir constituent des teintures par des solutions de colorants et des recouvrements par une couche mince de matière adhérente (résines acryliques, nitrocellulose...). Les fientes de pigeons sauvages contiennent des micro-organismes qui seraient capable de dégraissage et d'assouplissement des peaux. Il s'agit en fait d'un potentiel enzymatique notamment d'activité lipase de ces micro-organismes. L'étape de confitage utilisant les fientes des pigeons constitue alors un passage clé pour le tannage artisanal des peaux.

Les tanneries génèrent de grandes quantités d'eaux usées qui sont caractérisées par de hautes concentrations en matière organique, en azote, en sulfate et autres ions. Ces polluants viennent des peaux brutes ou conservées au sel et aussi des produits auxiliaires ajoutées pendant les actions de traitements des peaux. Les tanneries ont un impact sévère sur la qualité de l'eau, si leurs rejets sont envoyés à l'égout sans traitements. Ce constat laisse penser que les conditions des traitements des peaux engendrent des caractéristiques drastiques et les micro-organismes qui s'y développent seraient extrémophiles. Ces derniers, bien adaptés à ces conditions physicochimiques particulières sont capables d'en retirer l'énergie nécessaire pour leur métabolisme et leur croissance. Au regard de cette biodiversité microbienne et des conditions spécifiques de leur habitat, ne faut-il pas considérer ces écosystèmes atypiques comme une source de nouveaux microorganismes d'intérêt biotechnologiques? [3]. La caractérisation des microorganismes extrémophiles et leur machinerie cellulaire a fait l'objet de travaux intensifs [4 ; 5 ; 6 ; 7 ; 8]. Cela dit, le projet mené lors de ce travail est le premier de son genre au Maroc : c'est une étude pilote qui s'intéresse à la caractérisation des sites de tanneries traditionnelles de Fès en vue du criblage des micro-organismes qui y sont inféodés et de mettre en évidence leurs capacités enzymatiques ce qui permettrait d'exploiter ce nouveau gisement de ressources naturelles en biomolécules, notamment les enzymes pour des fins biotechnologique.

II- MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Station d'étude

La tannerie traditionnelle CHOUARA de Fès de quatre hectares répartie en quatre zones est située dans L'ancienne médina, plantée au centre de centaines de maisons vétustes et dotée de 1200 kassrias (bassins). Elle est classée au patrimoine de l'Unesco. Le tannage désigne l'art des opérations traditionnelles entreprises pour la transformation des peaux brutes en cuirs finis, ce qui permet de recréer et de restituer à la peau sa souplesse perdue. Il s'agit généralement d'une série de quatre étapes principales :

- Étape des bains de chaux ;
- Étape des fosses de fiente de pigeon ;
- Étape des fosses de son ;
- Étape de tannage.

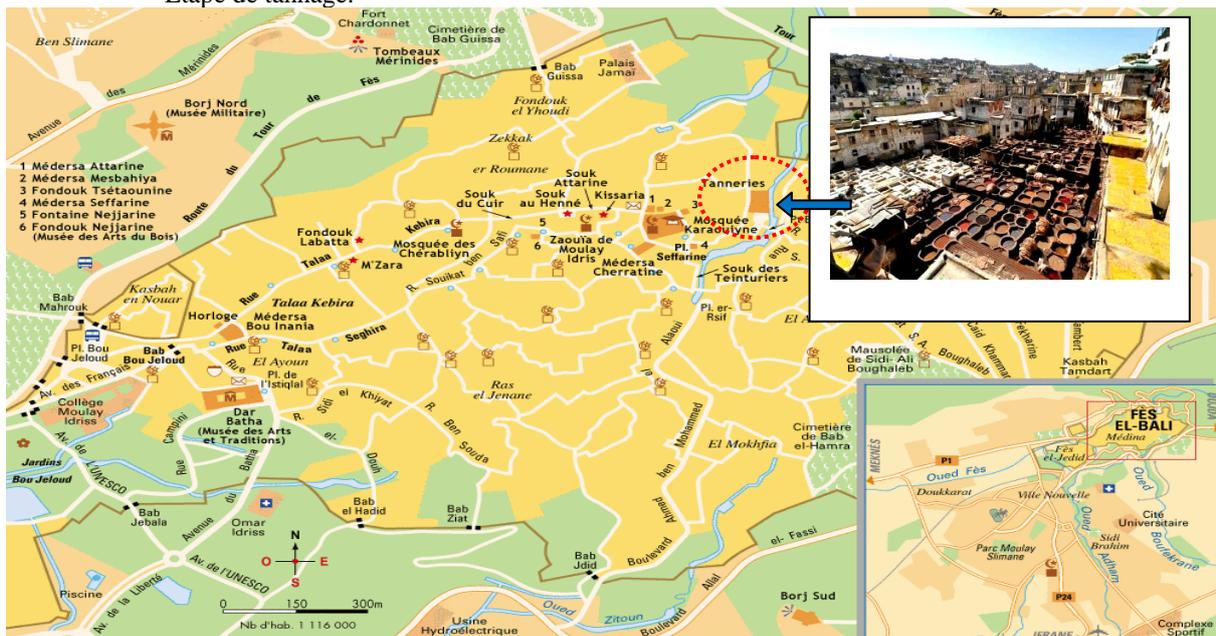


Figure 1 : Tanneries traditionnelles "CHOUARA" de Fès médina (MAROC).

2.2. Caractérisation physico-chimique des tanneries traditionnelles de Fès

La caractérisation physico-chimique des eaux de tannage est primordiale et s'avère d'une grande importance pour l'étude de la composition microbienne de ces milieux. En effet, ces paramètres jouent un rôle fondamental dans la croissance et la multiplication des différents micro-organismes qui y vivent.

2.2.1. Température et pH

La température et le pH jouent un rôle important dans l'environnement aquatique du fait qu'ils régissent presque la totalité des réactions physiques, chimiques et biologiques. Pour notre étude, ces deux paramètres sont mesurés sur place par un pH-mètre type "ORION" indiquant à la fois le pH et la température de l'eau dans chaque étape de tannerie.

2.2.2. Oxygène dissous

Étant l'un des plus importants indicateurs du degré de pollution des eaux qui mesure la concentration du dioxygène dissous dans l'eau (en mg/l ou en pourcentage de saturation). Ce paramètre participe à la majorité des processus chimiques et biologiques en milieu aquatique. La teneur moyenne en oxygène dans les eaux de surface non polluées est de 8 mg/l et ne dépasse guère 10 mg/l. Les concentrations d'oxygène dissous dans les différents échantillons d'eau provenant des quatre étapes de tanneries sont déterminées in situ par oxymétrie. Au laboratoire, le dosage de l'oxygène dissous a été refait par la méthode de Winckler [9].

2.2.3. Conductivité électrique

Ce paramètre renseigne sur le degré de minéralisation d'une eau, il désigne la capacité de l'eau à conduire un courant électrique. Elle est liée à la teneur en substances dissoutes, la charge ionique, la capacité d'ionisation, et à la température de l'eau. Les conductivités électriques des échantillons d'eaux des tanneries sont mesurées par un conductimètre Type "WTW model LF318/set" (unité : le milli-Siemens par centimètre: mS/cm).

2.2.4. Demande biologique en oxygène (DBO₅)

Cette demande Biologique en Oxygène sur 5 jours, représente la quantité d'oxygène nécessaire aux micro-organismes pour dégrader l'ensemble de la matière organique d'un échantillon d'eau maintenu à une température de 20°C, à l'obscurité, pendant 5 jours. Dans notre étude, nous avons mesuré la DBO₅ des échantillons d'eau pour une période étalée sur cinq jours. Le dispositif expérimental est de type: "Oxi-(IS6)". La DBO₅ est alors exprimée en milligrammes d'oxygène par litre d'eau.

2.2.4. Demande chimique en oxygène (DCO)

Cette grandeur mesure toute la matière organique contenue dans un échantillon d'eau naturelle ou usée, qu'elle soit biodégradable ou non. Afin de déterminer la DCO, une oxydation plus poussée par voie chimique est nécessaire. C'est le dichromate de potassium (K₂Cr₂O₇), oxydant puissant qui est utilisé en présence d'acide sulfurique lors d'un chauffage à reflux pendant deux heures. L'intérêt de ce test consiste surtout à la détection de la présence de rejets toxiques qui ne sont pas souvent aperçus par les tests de DBO₅. La DCO est en général plus élevée que celle de la DBO₅ et l'examen du rapport DBO sur DBO₅ est aussi importante. La détermination de la DCO permet en plus de prédire de façon raisonnable la DBO₅. Le dispositif utilisé pour nos mesures de la DCO est réalisé à l'aide d'un dispositif de type : "Hot Record Fusibles T5A".

2.3. Étude de la biodiversité microbienne des tanneries

2.3.1. Échantillonnage

Les échantillons d'eaux des tanneries destinés à l'étude de la biodiversité microbienne sont prélevés à deux périodes différentes. Le premier prélèvement est réalisé pendant le mois de mai, le second est accompli au mois de décembre. De chaque fosse de tannerie, nous avons prélevés des échantillons d'eaux en duplicata. La mise en culture des micro-organismes de ces échantillons est effectuée au laboratoire dans deux milieux de culture différents.

2.3.2. Mise en culture

Pour la croissance et l'isolement des microorganismes nous avons utilisé deux milieux de cultures :

- Le milieu de culture Luria-Bertani (LB) pour la culture des bactéries.
- Le milieu de culture Yeast Pepton Glucose (YPG) pour la culture des levures.

Le milieu gélosé **LB** se compose de Peptone (10g), extrait de levures (5g), NaCl (10g), agar (20g) et eau distillée (1litre). Tandis que, Le milieu gélosé **YPG** est constitué de Peptone (20g), extrait de levures (10g), NaCl (10g), glucose (20g), agar (20g) et Eau distillée (1litre). La kanamycine (antibiotiques) est additionnée au milieu YPG pour éviter les développements bactériens [10, 11].

2.3.3. Préparation des dilutions

À partir des échantillons des trois dernières étapes de tanneries : fiente de pigeon, son et tannage, nous avons prélevé un volume de 1000µl. Ensuite, nous avons préparé des dilutions allant de 10^{-1} à 10^{-4} . Un volume de 100µl des différentes dilutions est étalé sur chaque milieu de culture en triplicata. Les boîtes de Pétri à milieux YPG sont alors incubés à 30°C, alors que ceux des milieux LB sont déposés à 37°C pendant 24 heures.

2.3.4. Purification par épuisement

Les colonies des bactéries et des levures qui ont poussé sur les différents milieux ont subi des purifications par épuisements en vue d'obtention d'isolats microbiens purs. Ces isolats ont constitué une banque de micro-organismes issue des tanneries traditionnelles de Fès. Deux copies de cette récolte sont conservées au glycérol dans des tubes eppendorf à -20°C.

2.4. Caractérisations enzymatiques des micro-organismes purifiés

Pour s'enquérir des potentialités biotechnologiques des souches testées nous avons ciblé les activités enzymatiques très sollicitées en bio-industrie. Nous nous sommes intéressés aux activités cellulases, pectinases, amylases, lipases et tannases.

2.4.1. Activité cellulase

Cette activité est visualisée par l'utilisation d'un milieu gélosé à base du carboxy-méthyl-cellulose (CMC) comme seule source de carbone. Le milieu cellulase est un mélange d'un milieu minimum M9 et d'un milieu CMC. Le milieu M9 se compose de Na_2HPO_4 (6g), KH_2PO_4 (3g), NH_4Cl (1g), NaCl (0,5g) et eau distillée (1litre). Le milieu est autoclavé pendant 15min à 120°C. Ensuite, sont ajoutés 1ml d'une solution de CaCl_2 à 0,1molaire et 1ml d'une solution de MgSO_4 à 1molaire. Le milieu CMC se compose de carboxy-méthyl-cellulose (10g), extrait de levure (5g), glycérol (50%) (2ml), agar (20g) et le tampon M9 (quantité pour 1litre). Ce milieu final est autoclavé pendant 15min à 120°C puis coulé dans des boîtes de Pétri. L'incubation des microorganismes sur ce milieu CMC est effectuée pendant 24 heures à 48 heures et à des températures de 37°C et 30°C respectivement pour les bactéries et les levures. L'activité cellulase est ensuite révélée par l'ajout d'une solution de rouge Congo à une concentration de 1mg/ml pendant 15 minutes suivie de trois rinçages avec une solution molaire de NaCl . Les micro-organismes cellulase positifs manifestent alors des auréoles jaunâtres autour de leurs colonies.

2.4.2. Activité pectinase

Afin de cribler les isolats producteurs de pectinase, nous avons réalisé des cultures des micro-organismes purifiés sur un milieu à base d'acide polygalacturonique (PGA). Le milieu PGA est obtenu par l'extrait de levure (5g), PGA (2,5g), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ à 10% (5ml), MgSO_4 molaire (0,5ml), glycerol à 50%(5ml), agar (20g) et l'eau distillée (1litre). Le pH du milieu PGA est ajusté entre 5 à 6 afin d'éviter une acidité qui empêche la solidification du milieu. Le milieu PGA est mélangé à un tampon (pH=8) avec des proportions respectives de 80% et 20%. Ce milieu final est autoclavé pendant 15min à 120°C puis coulé dans des boîtes de Pétri. La visualisation d'activité pectinase extracellulaire a été déterminée par l'ajout sur chaque boîte de Pétri de 3ml d'une solution d'acétate de cuivre à 7,5% pendant 15min suivi de trois rinçages à l'eau distillée. Les colonies pectinase positives sont alors caractérisées par la présence d'auréoles blanchâtres. (Tampon: pH = 8): Na_2HPO_4 (15g) et NaH_2PO_4 (0,7g) / litre d'eau distillée).

2.4.3. Activité amylase

Les isolats microbiens à activité amylase sont détectés par culture sur milieu gélosé à base d'amidon. Ce milieu de culture est formé de Peptone (6g), MgSO_4 (0,5g), KCl (0,5g), amidon de pomme de terre (1g) et eau distillée (1litre). La visualisation des halos clairs d'activité amylase autour des colonies est déterminée par ajout de 3ml d'une solution iodée pendant 15min suivie de deux rinçages à l'eau distillée.

2.4.4. Activité lipase

La mise en évidence de l'activité lipase est effectuée sur milieu de culture à base de rhodamine B. Cette méthode implique la mesure de la fluorescence provoquée par les acides gras libérés grâce à l'action de la lipase sur l'huile d'olive. Une fluorescence quantitative due à la lipase est basée sur l'interaction de la rhodamine B avec les acides gras libérés pendant l'hydrolyse enzymatique d'huile d'olive [10]. Le milieu de rhodamine B est formé d'huile d'olive (30 ml), Tween 80(250µl), rhodamine B (0.02% p/v) et eau distillée (50 ml). 50 ml de ce milieu est mélangé avec 450 ml d'un milieu de base (YPG ou LB). Le milieu final est ajusté à pH= 7. Les colonies à activité lipase développent une fluorescence orange lors de l'exposition des boîtes de Pétri aux radiations UV (350 nm).

2.4. 5. Activité tannase

La détermination de l'activité tannase est établie sur milieux YPG (levures) et milieux LB (bactéries). Ces milieux sont additionnés à 10ml d'une solution d'acide tannique (20 %). Les micro-organismes présentant une activité tannase montrent des auréoles claires qui témoignent de la décomposition d'acide tannique en acide gallique et en glucose.

III. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Caractérisation physico-chimique des tanneries traditionnelles

A l'exception de l'étape de chaux qui montre un pH nettement alcalin, les trois autres phases de tannage présentent des pH très acides. Ceux-ci permettraient alors le développement des micro-organismes acidophiles s'adaptant à ces conditions. La température au sein de tous les bassins est comprise entre 20 et 24°C. Les résultats de la teneur en oxygène dissous sont très faibles ceci laisse penser que l'anaérobiose prédispose dans ces milieux. Étant lié à la charge ionique (calcium, magnésium, nitrate, nitrite...) d'eau, La conductivité électrique de ces biotopes est l'ordre des milli-siemens par centimètres. Cette forte conductivité est essentiellement due à la charge en sels naturels des peaux et aussi en sels de conservation utilisés par les tanneurs avant de procéder au tannage (tableau 1).

Tableau .1 : Valeurs de pH, température, oxygène dissous et conductivité électrique des quatre étapes de tannage

| Traitement | Chaux | Fiente pigeon | Son | Tannage |
|---------------------------------|-------|---------------|------|---------|
| pH | 10,49 | 5,40 | 2,74 | 3,16 |
| Température °C | 24,2 | 22,6 | 23 | 20,6 |
| O2 dissous (mg/l) | 0,11 | 0,13 | 0,53 | 0,49 |
| Conductivité électrique (ms/cm) | 28,8 | 19,23 | 24,4 | 12,53 |

La mesure des demandes biologiques et chimiques en oxygène (DBO₅ et DCO) des quatre étapes de tannage représentent la part de matière organique décomposée respectivement par voie biologique et chimique. La DBO₅ importante de la phase "fiente de pigeon" par rapport aux autres phases s'explique par la présence de matière fécale de pigeon riche en matière organique biodégradable. Les valeurs des DCO sont plus importantes que celles des DBO₅ en raison de la présence dans ces fosses de composés chimiques non biodégradables (tableau 2).

Tableau. 2 : Valeur de DBO₅ et DCO des échantillons prélevés exprimés en mg d'oxygène par litre d'effluent

| Traitement | Fiente pigeon | Son | Tannage |
|-------------------------|---------------|-------|---------|
| DBO ₅ (mg/L) | 50 | 31 | 33 |
| DCO (mg/L) | 557,6 | 592,4 | 617,5 |
| DBO ₅ /DCO | 0,1 | 0,06 | 0,05 |

Le rapport DBO₅/DCO qui détermine la fraction biodégradable est. Ce rapport est de 0,1 ; 0,06 et 0,05 respectivement pour l'étape "fiente de pigeon", l'étape "son" et l'étape de tannage. Ces rapports sont inférieurs à la valeur norme qui est de 0,5 ce qui indique que ce site de tanneries traditionnelles se caractérise par un faible pouvoir de biodégradabilité. De l'ensemble de ces caractéristiques découle alors l'aspect extrême des eaux de tanneries et marquent l'intérêt du criblage de leur diversité microbienne.

3.2. Diversité microbienne des eaux de tanneries

La première étape de chaux n'a pas montré de croissance microbienne. Les dénombrements des colonies développées sur les milieux de culture LB et YPG des trois autres étapes de tanneries sont présentés sur la figure 2.

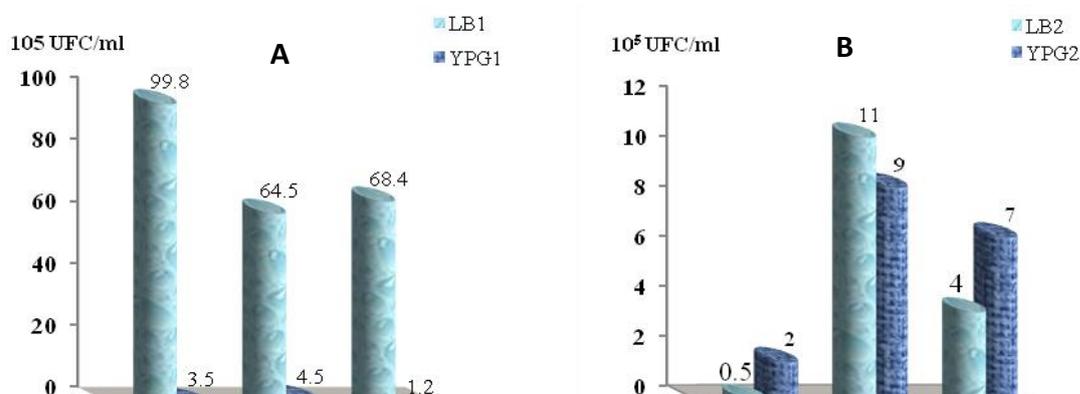


Figure 2 : Variation de la charge microbienne par milieu de culture et par phase des tanneries (A: prélèvements de mai, B: prélèvements de décembre)

La comparaison des graphes A et B montrent qu'une charge microbienne importante est présente dans ces milieux pendant le mois de Mai par rapport au mois de Décembre. Cette richesse microbienne est particulièrement marquée pendant la phase des fientes de pigeon.

Les différentes colonies microbiennes isolées et purifiées par épaissements ont constitué une banque formée de 65 bactéries et 29 levures. Le tableau 4 montre l'inventaire des bactéries et levures isolées à partir des étapes de tanneries (tableau 3).

Tableau 3: inventaire des bactéries et levures purifiées à partir des phases de tanneries

| | | Fiente de pigeon | Son | Tannage |
|-----------------------------|-----------|------------------|-----|---------|
| Prélèvement Mai | Bactéries | 20 | 17 | 10 |
| | Levures | 6 | 8 | 1 |
| Prélèvement Décembre | Bactéries | 9 | 5 | 4 |
| | Levures | 6 | 4 | 4 |

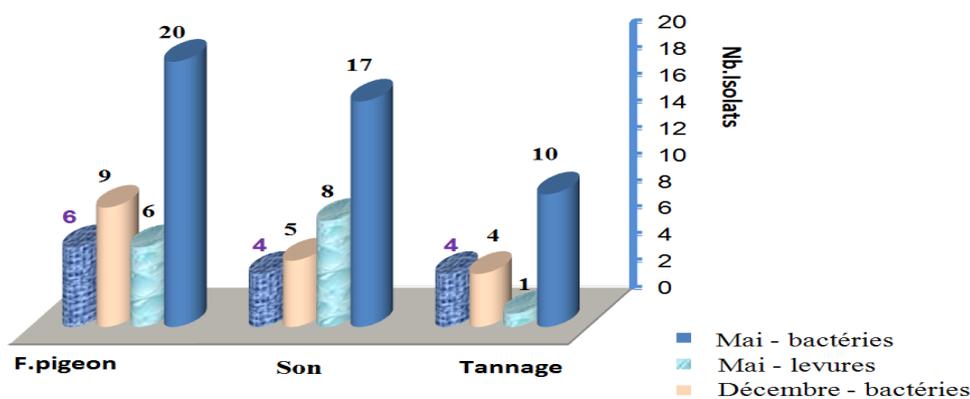


Figure 3 : Isolats microbiens purifiés par milieu de culture et par phase de tanneries (Prélèvements mai et décembre)

3.3. Caractérisation enzymatiques des isolats microbiens

Les isolats microbiens (bactéries et levures) sont testés pour mettre en évidence leur potentiels enzymatiques, l'ensemble des cinq activités enzymatiques étudiés sont portées sur la figure 4.

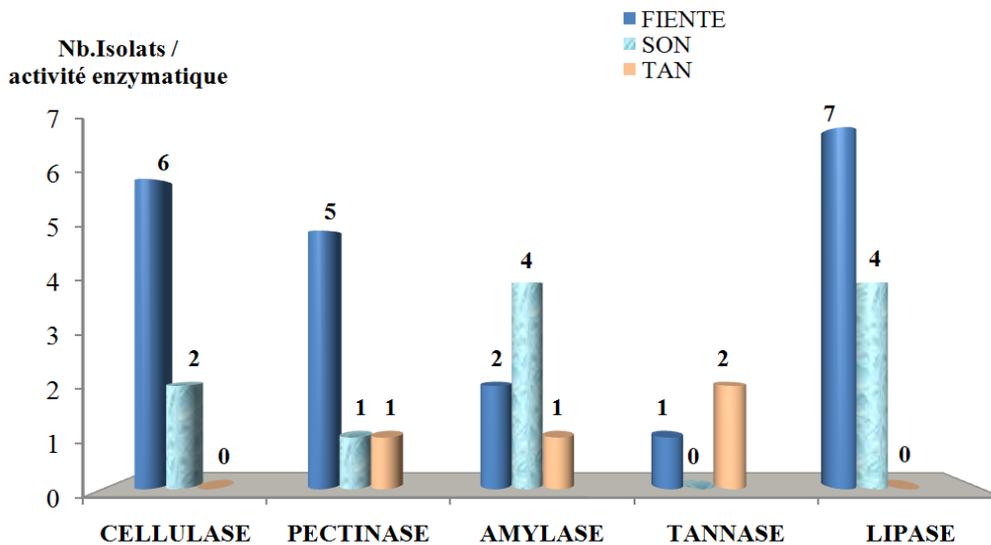


Figure 4 : Activités enzymatiques des isolats purifiés de tanneries

Ces résultats montrent que les expressions des cinq enzymes testées sont manifestées surtout en phase "fiente de pigeon" et en phase "son". Les activités cellulase, pectinase et lipase sont présentes en phase "fiente de pigeon" par rapport à l'activité amylase. Cette figure indique aussi que l'étape de fiente de pigeon est riche en micro-organismes producteurs de lipase. D'autre part, toutes les activités enzymatiques sont faiblement révélées en phase tannage. Ceci serait dû à la charge de produits tannant utilisés par les tanneurs et la teneur faible en matière organique. Pour les activités enzymatiques des bactéries, la phase de "fiente de pigeon" se caractérise surtout par des activités pectinase et cellulase. Alors que pour les expressions enzymatiques des levures se distinguent surtout par l'activité lipase en phase "son".

L'analyse physico-chimique des phases de tannage indique le caractère alcalin de la phase de "chaux" et des pH très acides pour les trois autres phases de tannage (fiente de pigeon, son, tannage) avec des concentrations faibles en oxygène dissous. La figure 5 montre l'effet du pH sur la répartition des biomasses de bactéries et de levures dans les fosses de tanneries.

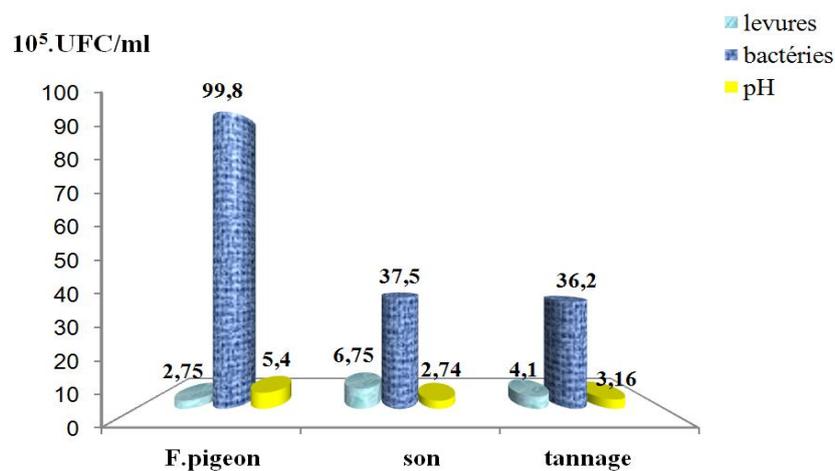


Figure 5 : Effet du pH sur la répartition des biomasses de bactéries et de levures dans les trois phases de tannage.

L'acidité (paramètre abiotique) a influencé les répartitions spatiales de la microflore totale au niveau de trois étapes de tannage. La phase "fiente de pigeon" montre la plus importante biomasse en bactéries et levures. Ceci peut être lié à la charge en matière grasse des peaux qui sert de source de carbone utilisée pour le métabolisme des micro-organismes. [12] ont mis en évidence l'effet du pH faible sur l'exploitation microbienne des graisses en métabolisme. Il ya alors rétention des acides gras et des ions H⁺ dans le milieu à travers le cycle de Krebs.

Les cellules synthétisent des enzymes spécifiques et non spécifiques pour l'hydrolyse des graisses et l'augmentation de biomasse est en relation avec le catabolisme des graisses (fractions organiques) [13]. Les taux d'abattements des demandes chimiques en oxygène augmentent en allant de la phase "fiente de pigeon" jusqu'à l'étape de tannage (figure 6), ce qui n'est pas accord avec la baisse nette des biomasses. Ceci serait du en fait à l'acidité faible des fosses des traitements par le son et les tanins (pH respectivement de 2,74 et 3,16). Il est aussi important d'indiquer que la concentration des produits (non biodégradables) utilisés en phase finale de tannage est en défaveur avec le développement microbien.

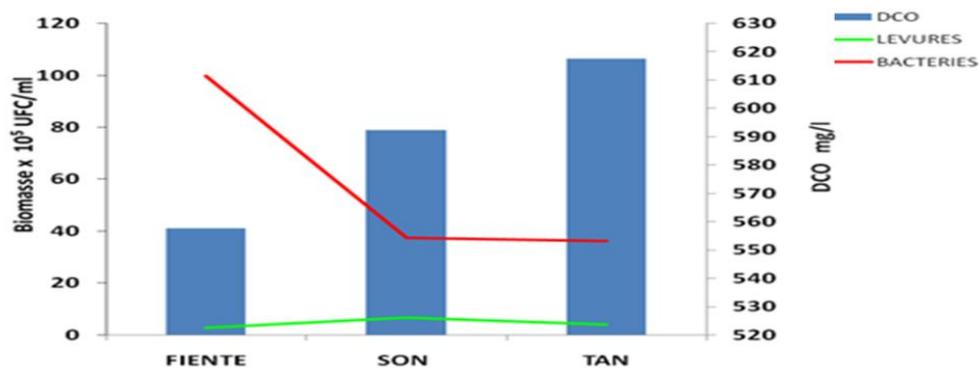


Figure 6 : Variations des biomasses (bactéries et levures) et de la DCO dans les trois phases de tannage.

Les résultats obtenus par l'approche physico-chimique expliquent alors en partie l'approche microbiologique déterminée. Par ailleurs les travaux de [13] ont montré que par traitement biologique d'effluent synthétique à biomasse non adapté, la faible réduction de la DCO ne dépassant pas 51,88%. Il s'agit d'une adaptation des cellules bactériennes et d'une stimulation de leurs équipements enzymatiques pour réduire la matière grasse et produire une nouvelle biomasse.

Ces fluctuations de biomasse microbienne dans les différentes étapes de tanneries concordent avec les travaux [14] sur la diversité bactérienne des tanneries de Fès. Il a été conclu que la diversité bactérienne change durant les processus de tannage et que les échantillons de la phase des fientes de pigeon manifestent un plus haut niveau de diversité bactérienne.

La caractérisation enzymatique des isolats des trois phases de tannage a révélé la présence d'important potentiel d'enzymes produites. Nous avons mis en évidence 61 activités enzymatiques pour l'ensemble de 94 isolats purifiés. La figure 6 présente les répartitions des activités étudiées.

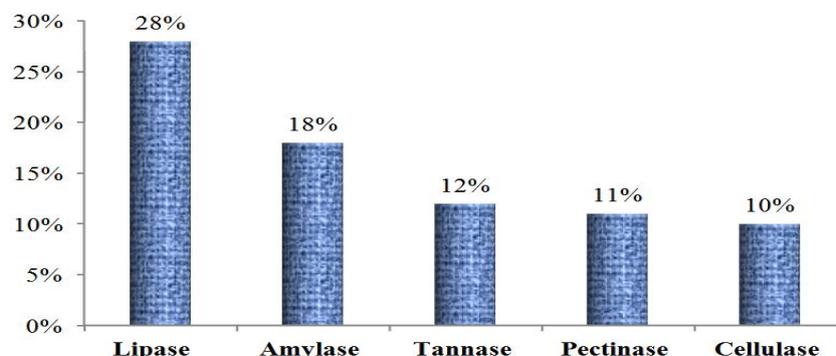


Figure 7: répartition des activités enzymatiques sur les isolats microbiens purifiés

L'activité lipase des isolats microbiens se montre alors prédominante. Ceci est en relation avec les caractéristiques des milieux de tanneries très riche en matières grasses provenant des peaux en traitements. Ce potentiel lipolytique a été bien manifesté chez trois levures isolées.

Le rôle des levures est reconnu en application biotechnologique comme la fermentation, agro-alimentaire, pharmacie et chimie fine [15]. Peu d'études ont ciblé les distributions des levures dans différents sites de traitements d'eaux usées, cependant plusieurs espèces de levures sont spécifiques et accordent à ces traitements la plateforme pour induire le processus unique adéquat [16]. Des lipases de certaines levures ont été purifiées, caractérisées les gènes codant lipases sont clonés (*Candida*, *Geotrichum*, *Trichosporon* et *Yarrowia lipolytica*) [17].

IV. CONCLUSION

Les ressources microbiennes représentent des atouts naturels et réels si leur exploitation est conduite dans des conditions environnementales rigoureuses et que la valorisation de leurs potentialités s'oriente vers des applications biotechnologiques ciblées. Les tanneries traditionnelles CHOUARA de Fès-médina sont à caractère extrême et culminent une richesse microbiennes importantes. Les isolats microbiens purifiés manifestent des activités enzymatiques intéressantes. L'activité lipase suscite l'attention particulière étant donné sa performance dans la catalyse de l'hydrolyse d'esters glycéridiques en milieu aqueux et la synthèse d'esters en milieu non-aqueux [18,19]. Elles sont de ce fait des biomolécules très convoitées sur le marché des enzymes et leurs diverses applications biotechnologiques sont de loin les plus prometteuses.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. Projet Pérennité des Ressources en Eau du Maroc. «Rapport Final Royaume du Maroc Secrétariat d'Etat Chargé de l'Environnement Projet financé par l'USAID/Maroc», Janvier (2004).
- [2]. M. Faouzi, M. Merzouki, Benlemlil M. «Biological treatment of tannery synthetic effluent». Journal of Biotechnology Letters ISSN: 0976-7045 & E-ISSN: 0976-7053, Volume 4, Issue 1, pp.-60-67 (2013).
- [3]. <http://www.universalis.fr/encyclopedie/extremophiles/>
- [4]. JK. Kristjánsson, S. Hjörleifsdóttir, VT. Marteinsson, GA. Alfredsson. «Thermus scotoductus, sp. nov., a pigment-producing thermophilic bacterium from hot tap water in Iceland and including Thermus sp. X-1 », Syst Appl Microbiol 1994;17,1:44-50.
- [5]. M. Madigan, J. Martinko . «Brock. Biologie des micro-organismes». Pearson Éducation, France. 2007.
- [6]. M. Magot M. «Introduction à la microbiologie. Biodétérioration des matériaux». Edited by Lemaitre C, Pèbère N, Festy D. EDP Science. 1998:27-46.
- [7]. FC. Marhuenda-Egea, S. Piere-Velazquez, C. Cadenas , E. Cadenas .«An extreme halophilic enzyme active at low salt in reversed micelles». J Biotechnol 2002,93:159-164.
- [8]. LM. Moreira, MS. Da Costa , I. Sá-Correia. «Plasmid RFLP profiling and DNA homology in Thermus isolated from hot springs of different geographical areas». Arch Microbiol 1995,164:7-15
- [9]. J. RODIER, C. BAZIN, J.P. BROUTIN, P. CHAMBON, H. CHAMPSAUR, L. RODI. «L'analyse de l'eau» 8ème édition, Edition Dunod, Paris, France (1996).
- [10]. Norme ISO 7218 :1996 et norme ISO 7218 :1996(F)
- [11]. Uncertainty of quantitative determination derived by cultivation of microorganisms; Seppo I. Niemelä ; Centre for metrology and accreditation MIKES Publication J4/2003 ; Helsinki Finland (2003)
- [12]. L. Loperena, M. D. Ferrari, V. Saravia, D. Murro, C. Lima, L. Ferrando, A. Fernandez, C. Lareo. « Performance of a commercial inoculum for the aerobic biodegradation of a high fat content dairy wastewater ». Biores. Technol., 98:1045-1051. (2007).
- [13]. A. Fadile Abdelali, F. Elhassani, H. Aissam, M. Merzouki, M. Bellemlil. « Aerobic treatment of lipid-rich Wastewater by a bacterial consortium ». African journal of Microbiology Research. vol;5(30).5333-5342. .(2011).
- [14]. A. Essahale , M. Malki, I. Marin, M. Moumni. « Bacterial diversity in Fez tanneries and Morocco's Binlamdoune River, Using 16S RNA gene based fingerprinting ». Journal of Environmental Sciences 2010, 22(12) 1944-1953.
- [15]. C.P. Kurtzman, J.W. Fell, T. Boekhout. «The Yeasts, a Taxonomic Study». 8^{ème} ed., vol. 1. Elsevier, London, UK, pp. 3-277 (2011).
- [16]. Q. Yan, F.E. Angly, Z. Wang, H. Zhang. «Wastewater treatment systems harbor specific and diverse yeast communities». Biochem. Eng. J. 58-59, 168-176 (2011).
- [17]. Z. Chi, T. Zhang, G. Liu, J. Li, X. Wang, (2009). «Production, characterization and cloning of the extracellular enzymes from the marine-derived yeasts and their potential applications». Biotechnol. Adv. 27, 236-255 (2009).
- [18]. Y. Zheng. «A review on the alkaline lipases of microorganism used for detergent». China Surfact. Deterg. Cosmet. 179, 35-38. (2001).
- [19]. I. Yumoto, K. Hirota, Y. Sogabe, Y. Nodasaka, Y. Yokot, T. Hoshino. «Psychrobacter okhotskensis sp. nov., a lipase-producing facultative psychrophile, Isolated from the coast of the Okhotsk Sea». Int. J. Syst. Ecol. Microbiol. (2003). 53, 1985-1989