**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**
**UNIVERSITE DE MEDEA**

**FACULTE DES SCIENCES**



# Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Sciences de la nature et de la vie

**Spécialité : M2 Microbiologie appliquée**

**Par :**

**Toumi kaouthar** **Chettouf linda** **Rahmouni somia**

**Thème :**

# *Dépollution microbienne en batch des polluants organiques en trace contenant dans un effluent pharmaceutique*

Soutenue publiquement le : 25 /06 /2023., Devant le jury composé de :

| | | | |
|---|---|---|---|
| ***M. Khames M.*** | **MCA** | ***Université de Médéa*** | Président |
| ***Mme. Euldji A*** | **MCA** | ***Université de Médéa*** | Examinatrice |
| ***M. Aines M.*** | **MCA** | ***Université de Médéa*** | Encadreur |
| ***M. Latreche S.*** | ***Doctorant*** | ***Université de Laghouat*** | Co-Encadreur |

**Année universitaire 2022/2023**

# *Dépollution microbienne en batch des polluants organiques en trace contenant dans un effluent pharmaceutique*

**RESUME.** La biomasse algale a attiré l'attention au cours des dernières décennies car elle est polyvalente et peut être utilisée dans différentes industries telles que les industries du traitement des eaux usées. La phycoremédiation est une intrigante et une technique rentable pour éliminer simultanément les polluants émergents des eaux usées de l'industrie pharmaceutique. Ce travail présente une bioremédiation des polluants émergents pharmaceutiques en combinaison (diclofénac (DCF) ampicilline (AMP) et sulfaméthoxazole (SFX)) par la biomasse algale *"Arthrospira Platensis.''* Notre bioremédiation a été effectué en succès car nous obtenons des rendements considérables de bioremédiation des trois polluants émergents en batch DCF, AMP et SFX sont 86.46 ; 70.52 et 70.18 % respectivement. On a suivi l'effet des polluants sur notre souche par le contrôle de l'état physiologique et la détermination de poids sec et la concentration de chlorophylle « a » et le suivi de l'effet de souche sur les polluants par la cinétique de dégradation de ces polluants émergents.

**MOTS-CLES.** Polluant pharmaceutique ; phycoremédiation ; espèce "*Arthrospira Platensis"*

# *Microbial depollution in batch of trace organic pollutants contained in a pharmaceutical effluent*

**ABSTRACT.** Algal biomass has received attention over the past decades as it is versatile and can be used in different industries such as wastewater treatment industries. Phycoremediation is an intriguing and commendable technique for simultaneously removing emerging pollutants from pharmaceutical industry wastewater. This work presents a bioremediation of emerging pharmaceutical pollutants in combination (diclofenac ampicillin and sulfamethoxazole) by algal biomass "*Arthrospira Platensis*». Our bioremediation was carried out successfully because we obtained considerable yields of bioremediation of the three emerging pollutants in batch DCF, AMP and SFX are 86.46; 70.52 and 70.18% respectively. We followed the effect of the pollutants on our strain by controlling the physiological state and determining the dry weight and the concentration of chlorophyll "a" and monitoring the effect of the strain on the pollutants by the kinetics of degradation of these emerging pollutants.

**.KEY WORDS.** Pharmaceutical pollutant; phycoremediation; species "*Arthrospira Platensis"*

# مجتمعة الموجودة في إزالة التلوث عن طريق الكائنات الحية الدقيقة من الملوثات العضوية النفايات السائلة للمستحضرات الصيدلانية

**ملخص.** حظيت الكتلة الحيوية الطحلبية بالاهتمام على مدار العقود الماضية لأنها متعددة الاستخدامات ويمكن استخدامها في صناعات مختلفة مثل معالجة مياه الصرف الصحي. المعالجة الطحلبية هي تقنية مثيرة للاهتمام وجديرة بالثناء لإزالة الملوثات الناشئة في وقت واحد من مياه الصرف الصحي لصناعة المستحضرات الصيدلانية. يقدم هذا العمل معالجة حيوية للملوثات الصيدلانية الناشئة مجتمعة (ديكلوفيناك أمبيسلين وسولفاميثوكسازول) بواسطة الكتلة الحيوية الطحلبية "*Arthrospira Platensis* ". تم إجراء المعالجة البيولوجية لدينا بنجاح لأننا حصلنا على عوائد كبيرة من المعالجة الحيوية للملوثات الثلاثة الناشئة في دفعة ديكلوفيناك ; أمبيسلين وسولفاميثوكسازول والتي تبلغ 86.46؛ 70.52 و70.18 %على التوالي. تابعنا تأثير الملوثات على الكتلة الطحلبية من خلال متابعة حالتها الفسيولوجية وتحديد وزنها الجاف وتركيز الكلوروفيل "أ" ورصد تأثير الكتلة الحيوية على الملوثات من خلال حركية تحلل هذه الملوثات الناشئة.

**الكـلمات الـرئيسيــة.** الملوثات الصيدلانية؛ المعالجة الطحلبية؛ النوع *"Arthrospira Platensis"*

# Remerciements

*Dieu ''الله'' merci pour nous avoir donné la santé, la volonté et le courage sans lesquels ce travail n'aurait pas été réalisé.*

*Tout d'abord nous exprimons notre gratitude et nos remerciements à Mr* ***AINAS Mahfoud (MCB) et LATRECHE Sofiane et AZIZI Ahmed (MCA)*** *nos promoteurs de recherche qui n'a jamais cessé de nous prodiguer conseils, pour avoir dirigé ce travail et pour sons aides pendant toute la durée de réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à exprimer notre gratitude aux membres* ***du jury*** *:*

*Mr* ***KHAMES Maamar*** *Mme* ***EULDJI Amel*** *d'avoir accepté de juger ce travail.*

*Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

***Kaouthar Linda et Somia***

# *Dédicaces*

## *Je dédie ce projet :*

***A ma très chère mère,***

***A mon très cher père,***

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir

et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A Mon cher frère ***Sido*** et sa marie ***Sara***

A Ma chère sœur ***Amina*** et son mari ***Tahar***,

Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

Et mes chers neveux ***Rahma Baraa*** et ***Mouaad***

A mon cher grand-père,

Qui je souhaite une bonne santé.

A ma chère binôme ***Linda***,

Pour sa entente et sa sympathie.

A mon cher fiancé ***Reda***

Pour son indéfectible soutien et son patience infinie.

A mes chères amies ***Rania*** et ***Chaïmaa***

Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.

A toute ma famille,

A tous mes autres amies et mes collègues

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

***MERCII !!***

**Kaouthar ☺**

# *Dédicaces*

## *Je dédie ce projet :*

***A ma très chère mère*** qui m'a soutenu et encouragé durant ces années d'études.

Qu'elle trouve ici témoignage de ma profonde reconnaissance.

A Mes chers frères ***Hamid Aissa et Mohamed*** et leurs femmes.

A Mes chères sœurs ***Safia Souad Sarah*** et ***Amina*** et leurs maris.

Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A ma chère grand-mère,

Qui je souhaite une bonne santé.

A ma chère binôme ***kaouthar***,

Pour sa entente et sa sympathie.

A toute ma famille,

A tous mes chères amies et mes collègues

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

***MERCII !!***

**Linda ☺**

# *Dédicaces*

Remercier Dieu d'abord et en dernier

A celui à qui Dieu a confié le prestige et la dignité. A celui qui m'a appris à donner sans attendre. A celui dont je porte le nom avec fierté. Mon Père, que Dieu ait pitié de lui, quej'ai toujours voulu être avec moi en ce moment (Mon cher Père, que Dieu ait pitié de toi).

Et à mon ange dans la vie. au sens de l'amour et au sens de la tendresse et du dévouement.au sourire de la vie et au secret de existence. À qui était sa supplication le secret de mon succès (ma chère maman).

A mes frères et sœurs et la femme de Mon frère, vous êtes mon soutien et ma ceinture dorsale.

A mes chères amies (Amina, Fatiha, Asma, Halima, Achwak, Hanaa).

À ceux qui me tiennent à cœur, qui me soutiennent et me soutiennent contre vents etmarées, merci.

Puissiez-vous toujours être avec moi

Aux camarades du premier pas et du dernier pas Chacun avec son propre nom.

**Somia ☺**

# TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIÈRES i

ABRÉVIATIONS & NOMENCLAUTRES iii

LISTE DES FIGURES v

LISTE DES TABLEAUX vii

INTRODUCTION GÉNÉRALE 1

CHAPITRE 1. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE 3

**1.1 LES POLLUANTS EMERGENTS** 3

1.1.1 Concept des polluants émergents 3

1.1.2 Les types des polluants 4

1.1.2.1 Les polluants inorganiques 4

1.1.2.2 Les polluants organiques 4

1.1.3 Les voies d'entrée des polluants émergents dans la nature 5

1.1.3.1 Les sources ponctuelles 6

1.1.3.2 Les sources diffuses 6

1.1.4 L'impact des polluants émergents 6

1.1.5 Les polluants de l'industrie pharmaceutique 8

1.1.5.1 Les types des polluants pharmaceutiques 8

1.1.5.1.1 Les antibiotiques 8

1.1.5.1.2 Les antalgiques et les anti-inflammatoires 10

1.1.6 L'effet de l'association des effluents pharmaceutiques 11

**1.2 PROCEDES DE TRAITEMENTS DES POLLUANTS EMERGENTS** 12

1.2.1 Les technologies d'élimination des contaminants émergents 12

1.2.1.1 Méthodes physicochimiques 12

1.2.1.2 Méthodes d'oxydation avancés 13

1.2.1.3 Méthodes biologiques 13

1.2.2 La bioremédiation 14

1.2.2.1 Classifications de bioremédiation 14

1.2.2.1.1 Remédiation microbienne 15

1.2.2.1.2 Bioventing 15

1.2.2.1.3 Biolixiviation 16

1.2.2.1.4 Bio-augmentation 16

1.2.2.1.5 Biostimulation 16

1.2.2.1.6 Biosparging 17

1.2.2.1.7 Phytoremédiation 17

1.2.2.1.8 Mycoremédiation 17

1.2.2.1.9 Phycoremédiation 17

1.2.2.2 L'importance de la bioremédiation 19

**1.3 POTENTIALITE D'UTILISATION DE *SPIRULINE* EN BIOREMEDIATION** 21
1.3.1 Généralité de la spiruline 21
1.3.2 Historiques de la spiruline 22
1.3.3 Morphologies de la spiruline 23
1.3.4 Cycle biologique 24
1.3.5 Taxonomies de la spiruline 24
1.3.6 Cultures de la spiruline 25
1.3.6.1 Systèmes ouvertes 25
1.3.6.2 Systèmes fermés 26
1.3.7 Composition chimique de la spiruline 26
1.3.8 L'utilisation de la spiruline 28
1.3.8.1 L'effet thérapeutique 28
1.3.8.2 L'effet nutritionnelle 29
1.3.8.3 L'effet biotechnologique 30
1.3.9 La bioremédiation des polluants pharmaceutiques par microalgues 30

**CHAPITRE 2. PRODUITS, MATERIELS & METHODES** 33

**2.1. MATERIELS** 33
**2.2. METHODES** 34
2.2.1 Organisme et conditions de culture 34
2.2.1.1 Dispositif expérimentale de culture de la biomasse algale 34
2.2.1.2 Préparation du milieu de culture 35
2.2.1.3 Vérification de la culture d'*Arthrospira platensis* 36
2.2.1.3.1 Suivi morphologique par microscopique 36
2.2.1.3.2 Suivi analytique par spectroscopie UV-Vis 36
2.2.2 Tests de bioremédiation 37
2.2.2.1 Faisabilité de Bioremédiation des PEs mixtes 37
2.2.2.2 Suivi de la cinétique de dégradation des polluants 40

**CHAPITRE 3. RESULTATS & DISCUSSION** 42

**3.1 Vérification de la culture d'*Arthrospira platensis*** 42
3.1.1 Suivi morphologique par microscopique optique 42
3.1.2 Suivi analytique par spectroscopie UV-Vis 42
**3.2 Tests de bioremédiation** 43
3.2.1 Faisabilité de Bioremédiation des PEs mixtes 43
3.2.2 Suivi de la cinétique de dégradation des polluants 48

**CONCLUSION GENERALE** 55
**RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES** 56

# LISTE DES ABREVIATION ET NOMENCLATURE

| *Abréviation* | *Signification* |
|---|---|
| ***ADN*** | Acide désoxyribonucléique |
| ***AMP*** | Ampicilline |
| ***BIO*** | Biomasse |
| ***CE*** | Contaminant émergent |
| ***CMR*** | Cancérogènes mutagènes toxiques pour la reproduction |
| ***CO2*** | Dioxyde de carbone |
| ***DCF*** | Diclofénac |
| ***DO*** | Densité optique |
| ***E. coli*** | Escherichia coli |
| ***GLA*** | Acide gamma linolénique |
| ***H2O2*** | Peroxyde d'hydrogène |
| ***HPLC*** | High Performance Liquid Chromatography |
| ***LA*** | Acide linolénique |
| ***ONG*** | Organisation non gouvernementale |
| ***PCP*** | Précipitation |
| ***PE*** | Polluant émergent |
| ***PEs*** | Polluants émergents |
| ***PGE1*** | Prostaglandine E1 |
| ***PGE2*** | Prostaglandine E2 |
| ***PGF2-α*** | Prostaglandine F2alpha |
| ***PGF-α*** | Prostaglandine F alpha |
| ***PH*** | Potentiel d'Hydrogène |
| ***POP*** | Persistent organique polluants |
| ***R*** | Rendement |
| ***S. aureus*** | Staphylocoque aureus |
| ***SE*** | Sélénium |
| ***SFX*** | Sulfaméthoxazole |
| ***UV*** | Rayonnement Ultraviolet |
| ***UV-Vis*** | Rayonnement Ultraviolet visible |

## *Nomenclature et Symboles*

| ***Lecture*** | ***Désignation*** | ***Unité*** |
|---|---|---|
| *R* | Rendement de dégradation | *(%)* |
| *rpm* | Rotation par minute | *(tr $mn^{-1}$)* |
| *S* | Substrat | *(-)* |
| *T* | Température | *(°C)* |
| *Vmr* | Volume mère | *(ml)* |
| *[C]* | Concentration | *(µg, ng /L)* |

## *Lettres Grecques*

| **Lecture** | **Désignation** | **Unité** |
|---|---|---|
| $\lambda$ | Longueur d'onde | *(nm)* |

## *Indices*

| **Lecture** | **Désignation** |
|---|---|
| *F* | Final |
| *I* | Initial |
| *T* | Totale |

# LISTE DES FIGURES


| Numéros | Titres des figures | Pages |
|---|---|---|
| ***1.1*** | Les polluants émergents et la source de pollution | 5 |
| ***1.2*** | Les voies d'entrée des polluants émergents | 6 |
| ***1.3*** | Exemples des anti-inflammatoires | 10 |
| ***1.4*** | Classification de bioremédiation | 15 |
| ***1.5*** | Représentation schématique du traitement des eaux usées à l'aide de microalgue | 18 |
| ***1.6*** | Morphologie de la Spiruline : Image obtenue par microscopie électronique à Balayage MEB | 21 |
| ***1.7*** | Morphologie de la Spiruline : Image obtenue par microscopie optique | 21 |
| ***1.8*** | Différentes formes prises par la Spiruline | 23 |
| ***1.9*** | Cycle biologique de la Spiruline | 24 |
| ***1.10*** | Photographies, (a) prototype de cuve de culture de spiruline destinée à être placée en extérieur, (b) bassin de culture artisanale de spiruline sous serre ombragée (spiruline du sud-ouest, Cintegabelle) | 26 |
| ***2.1*** | Arthrospira platensis fournie en culture | 33 |
| ***2.2*** | Culture de la spiruline dans les conditions expérimentales | 35 |
| ***2.3*** | Montage expérimentale de bioremédiation | 37 |
| ***2.4*** | Structures chimiques de polluants émergents:(A) Ampicilline, (B) Diclofénac, (C) Sulfaméthoxazole. | 38 |
| ***2.5*** | Procédé de filtration : **(A)** Mélange biomasse /PEs **(B)** Séparation de mélange biomasse/PEs **(C)** Filtrat | 38 |
| ***2.6*** | Etapes de détermination de la chlorophylle a | 40 |
| ***2.7*** | Appareil d'HPLC de type Y9260 SHIMADZU | 41 |
| ***3.1*** | Observation microscopique de spiruline à l'état frais à l'objectif 100x | 42 |
| ***3.2*** | Performance de notre biomasse a bioremédier les polluants émergents pharmaceutiques. *Concentration de biomasse =50% ; pH =9.5 ; T=25 °C ; lumière =2000 Lux ; concentration de polluant =50 µg/L ; temps de traitement= 6 Jours ; VMR=100 mL* | 43 |
| ***3.3*** | Effet des PEs sur la souche *Arthrospira platensis* | 44 |
| ***3.4*** | Effet des PEs sur Le poids sec de la biomasse pendant les jours Condition opératoire : *Concentration de biomasse =50% ; pH = 9.5; T= 25 °C ; lumière = 2000 Lux ; concentration de polluant = 50 µg/L ; temps de traitement= 6 jours ; VMR=100 mL.* | 46 |
| ***3.5*** | Effet des PEs sur Le poids sec de la biomasse pendant les jours Condition opératoire : *Concentration de biomasse =50% ; pH = 9.5; T= 25 °C ; lumière =2000 Lux ; concentration de polluant = 50 ng/L ; temps de traitement= 6 jours ; VMR=100 mL* | 47 |
| ***3.6*** | Effet des PEs sur la concentration de la chlorophylle « a » de la biomasse | 48 |
| ***3.7*** | Le taux d'élimination des PEs séparées pendant 6 jours [PE]=50 µg/L (A) Diclofénac (B) Ampicilline (C) Sulfaméthoxazole | 49 |

| | | |
|---|---|---|
| ***3.8*** | Le taux d'élimination des PEs en batch (DCF, AMP, SFX) pendant les 6 jours [PE]=50 µg/L | 50 |
| ***3.9*** | Le taux d'élimination des PEs séparées pendant 6 jours [PE]=50 ng/L Diclofénac (B) Ampicilline (C) Sulfaméthoxazole | 51 |
| ***3.10*** | Le taux d'élimination des PEs en batch (DCF, AMP, SFX) pendant les 6 jours [PE]=50 ng/L | 52 |
| ***3.11*** | La concentration des PEs séparées pendant 6 jours [PE]=50 µg/L (A) Diclofénac (B) Ampicilline (C) Sulfaméthoxazole | 53 |
| ***3.12*** | La concentration des PEs en batch (DCF, AMP, SFX) pendant les 6 jours [PE]=50 µg/L | 54 |
| ***3.13*** | La concentration des PEs séparées pendant 6 jours [PE]=50 ng/L (A) Diclofénac (B) Ampicilline (C) Sulfaméthoxazole | 54 |
| ***3.14*** | La concentration des PEs en batch (DCF, AMP, SFX) pendant les 6 jours [PE]=50 ng/L | 55 |

# LISTE DES TABLEAUX


| Numéros | Titre des tableaux | Pages |
|---|---|---|
| **1.1** | Les classes des polluants émergents | 3 |
| **1.2** | Exemples d'effets avérés des polluants émergents | 7 |
| **1.3** | Les familles des antibiotiques et leur mode d'action | 9 |
| **1.4** | Taxonomie de l'espèce *Spirulina Platensis* | 25 |
| **1.5** | La composition chimique de *spirulina platensis* SP | 27 |
| **1.6** | Pourcentage d'efficacité d'élimination des ingrédients pharmaceutiques à l'échelle du laboratoire par les microalgues | 32 |
| **2.1** | Composition chimique du milieu Zarrouk | 35 |
| **2.2** | Composition chimique de la solution A5 | 36 |
| **2.3** | Composition chimique de la solution B6 | 36 |
| **3.1** | Le poids sec de la biomasse pendant les jours | 43 |
| **3.2** | Comparaison de taux d'élimination des PEs selon la concentration et le mélange séparé et en batch | 52 |

# INTRODUCTION GENERALE

# INTRODUCTION GÉNÉRALE

La contamination des eaux par les composés chimiques est devenue une préoccupation publique majeure dans presque toutes les régions du monde. Ceci est en raison des effets inconnus à long terme des composés chimiques sur la vie aquatique et sur la santé humaine. Parmi les composés chimiques qui ont reçu une attention particulière on trouve les polluants émergents **(Girard, 2018).**

Les questions liées à la pollution de l'environnement deviennent de plus en plus sérieuses avec l'augmentation de la population, l'urbanisation, l'industrialisation et leurs effets indirects sur les services écosystémiques. Les conséquences comprennent la production excessive de déchets et d'eaux usées, le rejet d'eau non traitée dans les ressources en eau douce et le réchauffement climatique, qui posent de sérieux défis à la communauté scientifique en termes de durabilité de notre planète pour les générations actuelles et futures. Chaque facette de la pollution de l'environnement a sa propre liste de problèmes qui requièrent un savoir-faire et des technologies spécifiques pour relever et surmonter le défi **(Renuka et *al.*, 2015).**

Le traitement des eaux est indispensable pour la préservation de notre environnement. Il permet de limiter l'impact des diverses pollutions liées à l'activité humaine. Il existe de nombreuses techniques dans le domaine du traitement des eaux pour supprimer des matières solides, de l'huile, des graisses, des composés organiques biodégradables ou non-biodégradables, des molécules toxiques, etc. Ces techniques, appliquées seules ou en cascade, permettent d'améliorer le niveau de traitement **(Abouzlam, 2014).**

Des technologies à base de produits chimiques ont été mises au point, parmi lesquelles les procédés d'oxydation avancés sont les plus étudiés et les techniques coagulation/floculation et l'absorption.

Un autre obstacle les techniques de traitement physico-chimique et d'oxydation avancée se heurtent à des limites telles que des efficacités insuffisantes, des sous-produits toxiques et nocifs et des coûts d'exploitation élevés et consommation d'énergie. Ainsi, en alternative à celles-ci, d'autres techniques de dégradation biologique ou de bioremédiation ont été recherchées **(Shah & Shah, 2020).**

L'utilisation de bioprocédés pour l'élimination des polluants présente de nombreux avantages, notamment la possibilité d'une bioremédiation *in situ*, l'absence de pollution secondaire et la viabilité économique de la mise en œuvre **(Pacheco et *al*., 2015).**

Les contaminants émergents (CE) font l'objet d'une attention considérable en raison du risque potentiel qu'ils représentent pour la santé humaine et l'écosystème. Au cours de la dernière décennie, les microalgues ont connu un regain d'intérêt pour la bioremédiation des CE présents dans les eaux usées. Plusieurs études de validation de principe ont été publiées afin de rationaliser l'utilisation des microalgues pour la bioremédiation des CE dans des conditions de laboratoire **(Maryjoseph & Ketheesan, 2020)**.

Dans ce contexte que s'inscris notre étude et porte sur l'évaluation et le suivi cinétique de biodégradation de trois (03) médicaments par la biomasse algale *Arthrospira platensis.*

Nous avons adopté la démarche expérimentale qui comprend les étapes suivantes **:**

- *Suivi morphologique et analytique de notre souche Arthrospira platensis*
- *Tester la faisabilité de bioremédiation en batch des trois (03) polluants émergents*
- *Suivi de la cinétique de dégradation des polluants en fonction du temps de traitement*

# 1. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUES

# 1. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUES

## 1.1 LES POLLUANTS EMERGENTS

### 1.1.1 Concept des polluants émergents

Les polluants émergents (PE) sont appelés produits chimiques de préoccupation émergente présents dans divers plans d'eau à des concentrations allant du microgramme au milligramme par litre. Ces polluants peuvent être organiques ou inorganiques. Les polluants organiques comprennent les composés pharmaceutiques, les substances de soins personnels, les perturbateurs endocriniens, les hormones, les produits chimiques provenant des industries **(Gondi *et al*., 2022)** et les produits de dégradation de détergents non ioniques, les désinfectants, les phtalates **(Mboula *et al*., 2012.)** .Les polluants inorganiques comprennent les métaux lourds **(Gondi *et al*., 2022)**

***Tableau 1.1 :*** Les classes des polluants émergents **(Barceló, 2003)**

| La classe de polluant | Exemples |
|---|---|
| **Les produits pharmaceutiques :**<br>• Antibiotiques vétérinaires et humains<br>• Antalgiques et anti-inflammatoires<br>• Médicaments psychiatriques<br>• Régulateurs de lipides<br>• B-bloquants<br>• Produits de contraste pour rayons X | <br>Triméthoprime, érythromycine, lincomycine, sulfaméthoxazole<br>Codéine, ibuprofène, acétaminophène, acide acétylsalicylique, diclofénac, fénoprofène<br>Diazépam<br>Bézafibrate, acide clofibrique,<br>Métoprolol, propranolol, timolol<br>Iopromide, iopamidol, diatrizoate |
| Stéroïdes et hormones (contraceptifs) | Estradiol, estrone, estriol, diéthylstilbestrol |
| **Produits de soins personnels :**<br>• Parfums<br>• Agents de protection solaire<br>• Répulsifs pour insectes | <br>Muscs nitro, polycycliques et macrocycliques<br>Benzophénone, méthylbenzylidène camphre<br>N, N-diéthyltoluamide |
| Antiseptiques | Triclosan, chlorophène |
| Additifs d'essence | Éthers dialkyliques, Éther méthyl-t-butylique (MTBE) |
| Sous-produits de désinfection | Iodo-THMs, bromoacides, bromoaldéhydes, cyanoformaldéhyde, Bromate, NDMA |
| Agents tensioactifs et leurs métabolites | Les éthoxylates d'alkylphénol, les alkylphénols (nonylphénol et octylphénol), carboxylates d'alkylphénol |
| Retardateurs de flamme | Éthers diphényliques polybromés (PBDE), Tétrabromo bisphénol A |
| Additifs et agents industriels | Agents chélateurs (EDTA), sulfonates |

### 1.1.2 Les types des polluants émergents

#### 1.1.2.1 Les polluants inorganiques

***Les métaux lourds***

Sont définis comme des métaux d'une densité supérieure à 5 g/cm$^3$. Ils existent sous forme d'éléments purs, d'ions ou de complexes. Leurs multiples applications industrielles, domestiques, agricoles, médicales et technologiques ont conduit à leur large distribution dans l'environnement, suscitant des inquiétudes quant à leurs effets potentiels sur la santé humaine et l'environnement.

Les ions de métaux lourds sont souvent très toxiques. Le chrome (Cr), l'arsenic (As), le cadmium (Cd), le mercure (Hg) et le plomb (Pb) figurent parmi les métaux prioritaires qui présentent un intérêt pour la santé publique. Ils sont classés comme cancérigènes pour l'homme et causent des dommages à de multiples organes, même en cas de très faible exposition. Outre ces éléments toxiques, certains métaux lourds tels que le fer (Fe), le cuivre (Cu), le nickel (Ni), le zinc (Zn) sont essentiels à de nombreux organismes. Cependant, une surabondance de ces éléments entraîne un mauvais fonctionnement des organismes et donc des maladies **(Xing-Yang Wang ,2018)**

#### 1.1.2.2 Les polluants organiques

***Hydrocarbures***

Les hydrocarbures sont des composés organiques contenant exclusivement des atomes de carbone (C) et d'hydrogène (H). On les trouve à l'état liquide (pétrole), solide (charbon) et gazeux (gaz naturel).

***Pesticides***

Les pesticides sont des produits (composés chimiques) répandus volontairement dans l'environnement pour lutter contre les organismes vivants jugés nuisibles : animaux, végétaux, micro-organismes. Ils sont principalement utilisés par les agriculteurs pour lutter contre les animaux (insectes, rongeurs) ou les plantes (champignons, mauvaises herbes) jugés nuisibles aux plantations.

***Retardateurs de flamme***

Sont des additifs utilisés pour minimiser les risques d'incendie des tissus, platiques, etc. De nombreux retardateurs de flamme sont suspectés avoir des effets délétères pour la santé et l'environnement.

***Désinfectants antiseptiques***

Ce sont des produits qui détruits les bactéries, les virus ou les champignons. Ex : l'eau de javel. **(Bellahcen & Yachioui, 2013)**

***Produits pharmaceutiques***

Sont des préparations médicales utilisées dans la médecine moderne et traditionnelle, qui sont indispensables pour prévenir et traiter les maladies ainsi que pour protéger la santé publique.

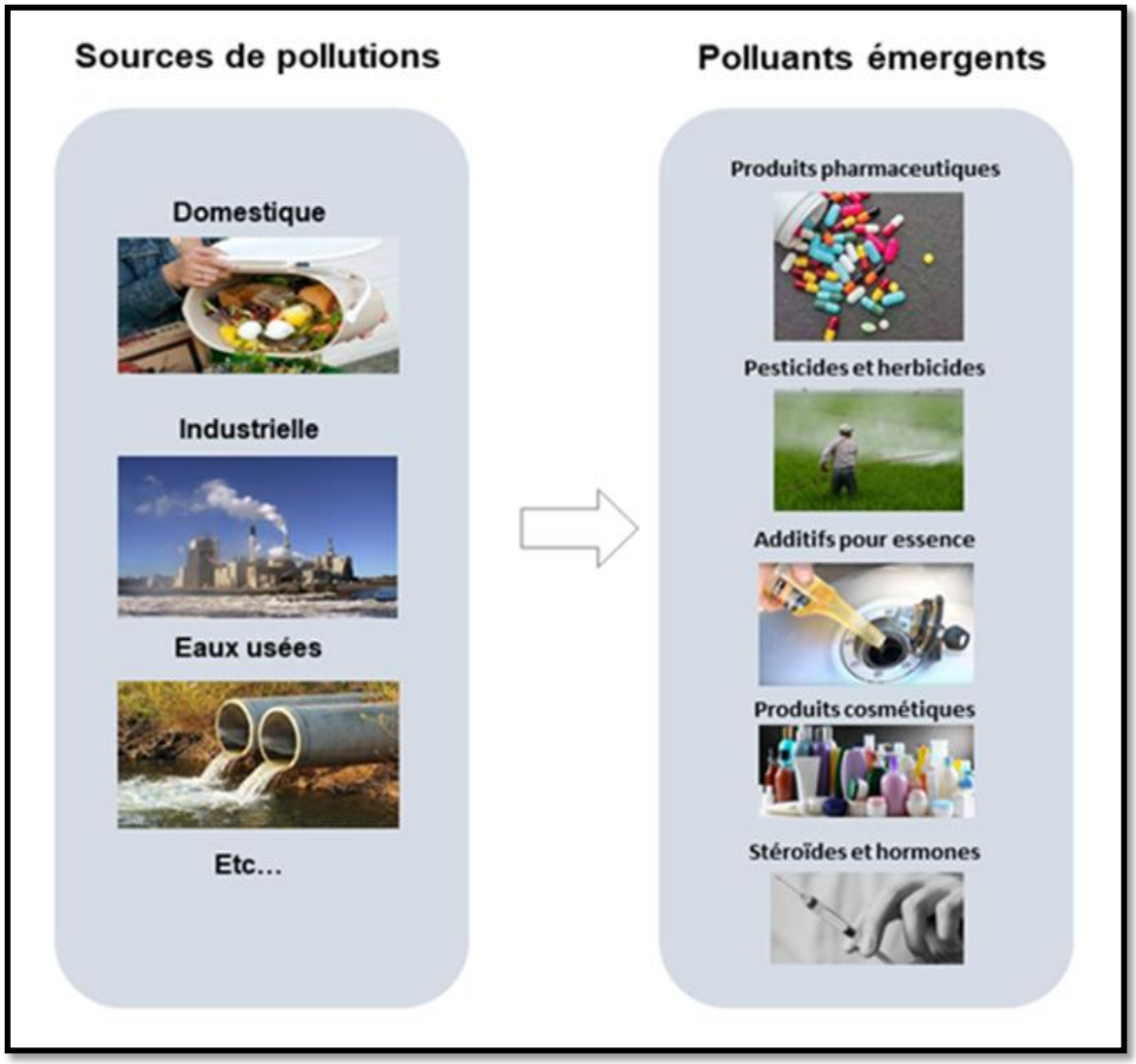



***Fig.1.1.*** Les polluants émergents et la source de pollution **(https://fcsrovaltain.org/les-polluants-emergents-un-nouveau-defi-environnemental-et-reglementaire/)**

### 1.1.3 Les voies d'entrée des polluants émergents dans la nature

Les polluants entrent dans l'environnement par deux grandes voies qui sont les sources ponctuelles et les sources diffuses :

### 1.1.3.1 Les sources ponctuelles

Sont des points d'entrée fixes pour les polluants, elles sont plus faciles à appréhender. Les sources ponctuelles peuvent être : les effluents des usines de traitement des eaux usées, les eaux usées industrielles, les eaux usées domestiques et les lixiviats des décharges

### 1.1.3.2 Les sources diffuses

Quant à elles ne constituent pas des points fixes d'entrée, elles sont ainsi moins faciles à contrôler. Les voies d'entrées dites sources diffuses sont par exemple, les eaux de ruissellement, le lessivage des sols et les eaux souterraines. **(Mboula *et al.*, 2012.)**

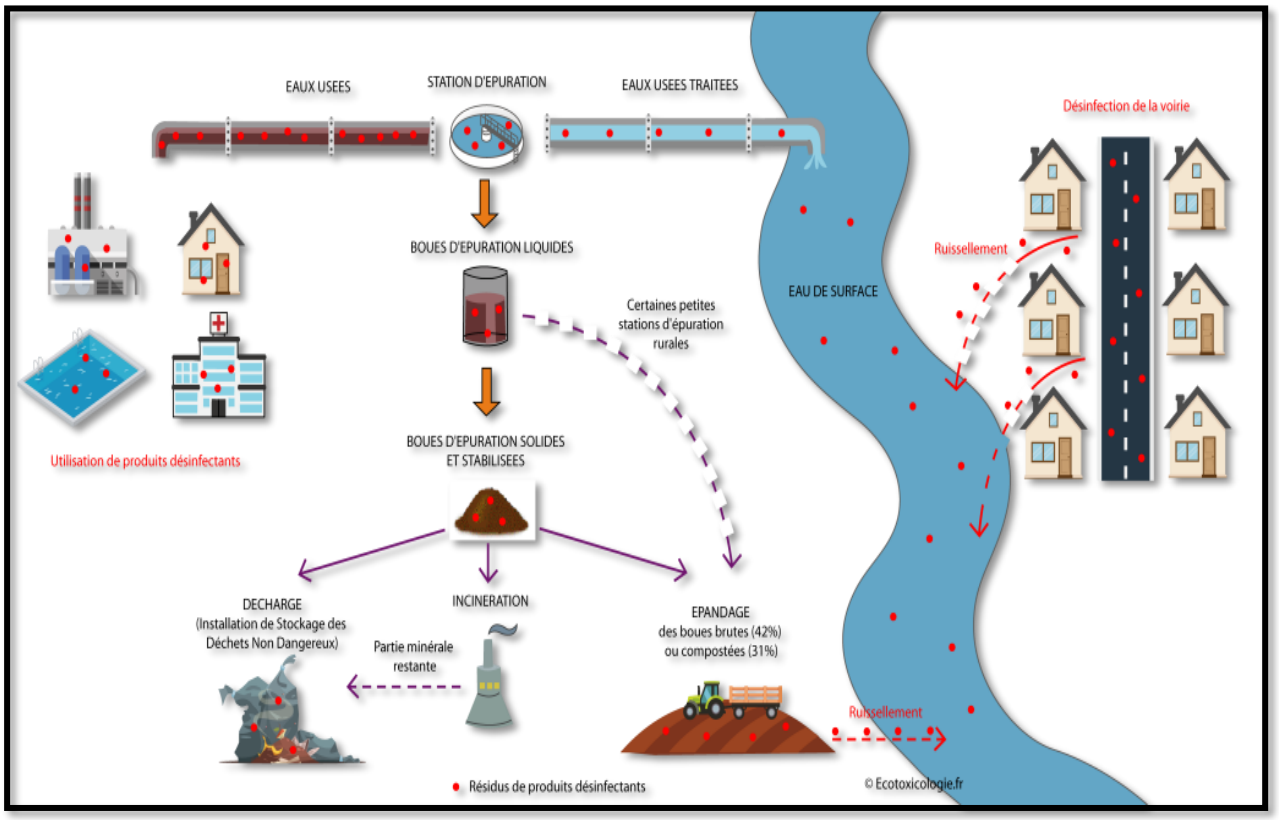



***Fig.1.2.*** Les voies d'entrée des polluants émergents **(https://ecotoxicologie.fr/desinfectants-environnement)**

### 1.1.4 L'impact des polluants émergents

*Effets sur l'environnement et la santé humaine*

La présence des contaminants dans l'environnement entraine des interrogations notamment sur les effets qu'ils peuvent avoir sur l'écosystème. Ainsi, de nombreuses études sont effectuées afin d'identifier les effets probables sur la flore et la faune. Dans la littérature, les études de toxicité les plus rencontrées sont les évaluations d'effet de toxicité aigüe ; des exemples des effets sont présentés dans le tableau 1.2.

***Tableau 1.2 :*** Exemples d'effets avérés des polluants émergents **(Bleu, 2021)**

| Catégories | Impacts sur la santé humaine | Impacts environnementaux |
|---|---|---|
| Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) | • Cancérigène et neurotoxique potentiel | • Ils ont une toxicité aigüe modérée à forte pour la vie aquatique et les oiseaux.<br>• À de fortes concentrations dans le sol, ils peuvent avoir des effets négatifs sur les invertébrés terrestres y compris sur la reproduction, le développement et l'immunité, et peuvent provoquer des tumeurs. |
| Pesticides | • Impacts sur le court terme tels que des maux de tête et des nausées.<br>• Impacts chroniques comme le cancer, les troubles reproductifs et la perturbation endocrinienne | • Peuvent contaminer le sol, l'eau, les pelouses et d'autres végétaux.<br>• Peuvent provoquer une hausse de la mortalité des insectes et des herbes.<br>• Toxique pour d'autres organismes y compris les oiseaux, les poissons, les insectes et les plantes non ciblées. |
| Œstrogènes environnementaux | • Sont liés au cancer du sein chez la femme et au cancer de la prostate chez l'homme.<br>• Les œstrogènes ont des effets très variés sur le corps et le cerveau, notamment sur le traitement des émotions par le biais de facteurs neuropsychologiques. | • un impact sur la physiologie des poissons et peuvent affecter le développement reproducteur des animaux domestiques et sauvages.<br>• Peuvent atténuer les effets d'autres pressions environnementales sur la plante. |
| Phtalates | • Endommagent le foie, les reins et les poumons.<br>• Endommagent le système reproducteur et peuvent entraîner troubles reproductifs et infertilité chez l'homme | • Leur toxicité a un impact sur les animaux, avec des atteintes au foie, aux reins, aux poumons et à l'appareil reproducteur. |
| **Médicaments** | *• Développement de souches de bactérie résistantes aux antibiotiques, pouvant induire un risque grave pour la santé humaine.* | *• Développement de souches de bactéries résistantes aux antibiotiques pouvant perturber les écosystèmes bactériens naturels dans l'environnement.*<br>*• Dans certaines conditions, impact direct sur la reproduction des poissons* |
| Filtres UV | • Certains filtres chimiques sont des perturbateurs endocriniens potentiels | • Perturbateur endocrinien potentiel impactant les animaux.<br>• Créent un film à la surface de l'eau qui entravent les échanges gazeux entre l'air et la mer. |
| Retardateurs de flamme | • Ont des propriétés cancérigènes.<br>• Les retardateurs de flamme bromés ou chlorés peuvent accroître la toxicité d'un incendie car leur combustion génère des fumées toxiques. | • Effets toxiques sur la faune marine |

### 1.1.5 Polluants de l'industrie pharmaceutique

L'industrie pharmaceutique, partie intégrante de l'industrie chimique, est un secteur économique tout à fait singulier, il est marqué par un cadre réglementaire contraignant, à la croisée de la recherche et du développement, du souci de l'intérêt public maximiser la santé et les bénéfices de la vente de produits. Son objet est un médicament et c'est dernier est un produit de consommation qui se distingue des autres produits industriels à plusieurs égards. **(Goethals & Wunderle, 2018).**

Les substances pharmaceutiques sont des molécules possédant des propriétés curatives, préventives ou administrées en vue d'établir un diagnostic. Elles sont classées selon :

- l'effet pour lequel elles sont conçues (antibiotiques, analgésiques …),
- leur structure chimique (parmi les antibiotiques : quinolones, céphalosporines…),
- leur mode d'action (antimétabolites ou agents alkylants).

Leurs propriétés physicochimiques leur confèrent des capacités de franchissement des membranes biologiques. Elles sont généralement considérées comme des polluants émergents comptent tenu du récent intérêt dont elles font l'objet, et sont souvent classées dans une catégorie que l'on qualifie de « micropolluants » car les concentrations retrouvées dans les milieux aquatiques sont de l'ordre du nanogramme ou du microgramme par litre. **(BOCALY Melissa, 2010)**

#### 1.1.5.1 Les types des polluants pharmaceutiques

##### 1.1.5.1.1 Les antibiotiques

L'antibiose est le mot original du terme antibiotique ; le préfixe anti signifie tuer ou combattre. Quant à "bios", il signifie "vie", ce qui est à l'origine un mot grec. Par conséquent, le terme signifie littéralement "tuer la vie". Auparavant, les antibiotiques étaient produits par un micro-organisme et sont considérés comme des composés organiques ou d'origine biologique capables d'inhiber la croissance ou de tuer d'autres micro-organismes à une faible concentration. **(Zaet Abdurraouf, 2018).**

Les antibiotiques sont considérés comme l'une des découvertes les plus signifiantes dans le domaine de la médecine. Ces derniers, jouent un rôle crucial dans la gestion des maladies infectieuses chez l'humain et l'animal. Outre le secteur médical, ils sont utilisés comme facteurs de croissance dans l'agriculture et l'élevage intensif des animaux.

Les antibiotiques sont regroupés selon leur structure chimique ou bien par leur mode d'action. Le tableau 1.3 représente les familles d'antibiotiques et leur mode d'action et des exemples de chaque famill**e.**

***Tableau 1.3 :*** Les familles des antibiotiques et leur mode d'action **(Philippe Lesclous, Vianney Descroix ;2016)**

| **Mode d'action** | **Famille d'antibiotique** | **Exemples de molécules** |
|---|---|---|
| Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne | Bêtalactamines | Amoxicilline<br>Amoxicilline/acide clavulanique |
| | Fosfomycine | Fosfocine |
| | Glycopeptides | Vanocomycine |
| Inhibition de la synthèse protéique bactérienne | Tetracycline | Doxycycline |
| | Macrolides | Azithromycine,<br>Clarithromycine<br>Spiramycine |
| | Lincosamides | Clindamycine |
| | Streptogramines | Pristinamycine |
| | Aminosides | Streptomycine |
| | Phenicolés | Tiamphénicol |
| | Acide fusidique | Acide fusidique |
| | Oxazolidinones | Linézolide |
| Inhibition des acides nucléiques | Produits nitres | Métronidazole |
| | Quinolones<br>Fluoroquinolones | Ciprofloxacine<br>Flumequine |
| | Rifamycines | Rifamycine |
| Inhibition de la synthèse des folates | Sulfamides | Sulfadiazine |
| | Triméthoprime | Triméthoprime |
| Augmentation de la perméabilité de la membrane bactérienne | Polymixines | Colistine |
| | Gramicidines et tyrocidine | Bacitracine et tyrothricine |

### 1.1.5.1.2 Les antalgiques et les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) forment une famille pharmacologique large et hétérogène, mais ils ont tous un point commun : ils inhibent l'une des deux enzymes dégradant l'acide arachidonique, la cyclooxygénase (ou Cox), entraînant une diminution de la synthèse des prostaglandines (PGE1, PGE2, PGF-α, PGF2-α, etc.).

Leur indication première est la douleur rhumatismale due à l'inflammation, mais ils sont maintenant utilisés bien au-delà de cette indication. Si des décennies de baisse des prescriptions en raison de leur faible profil d'innocuité, en particulier chez les personnes âgées, leur statut de médicaments facultatifs sur ordonnance médicale (ou en vente libre) a entraîné une augmentation de leur utilisation, en particulier pour la fièvre et les douleurs non rhumatismale.

Leur mécanisme d'action explique leurs effets indésirables graves les plus fréquents : les troubles digestifs comme la gastrite ou l'ulcère digestive avec hémorragie et les atteintes rénales comme l'insuffisance rénale aiguë chez les patients à haut risque (personnes âgées, hypovolémiques, déshydratés, etc.). Ces effets indésirables, qui entraînent souvent une hospitalisation, sont connus depuis longtemps et sont généralement évitables si les facteurs de risque sont pris en compte**. (Anne claire, 2020).**

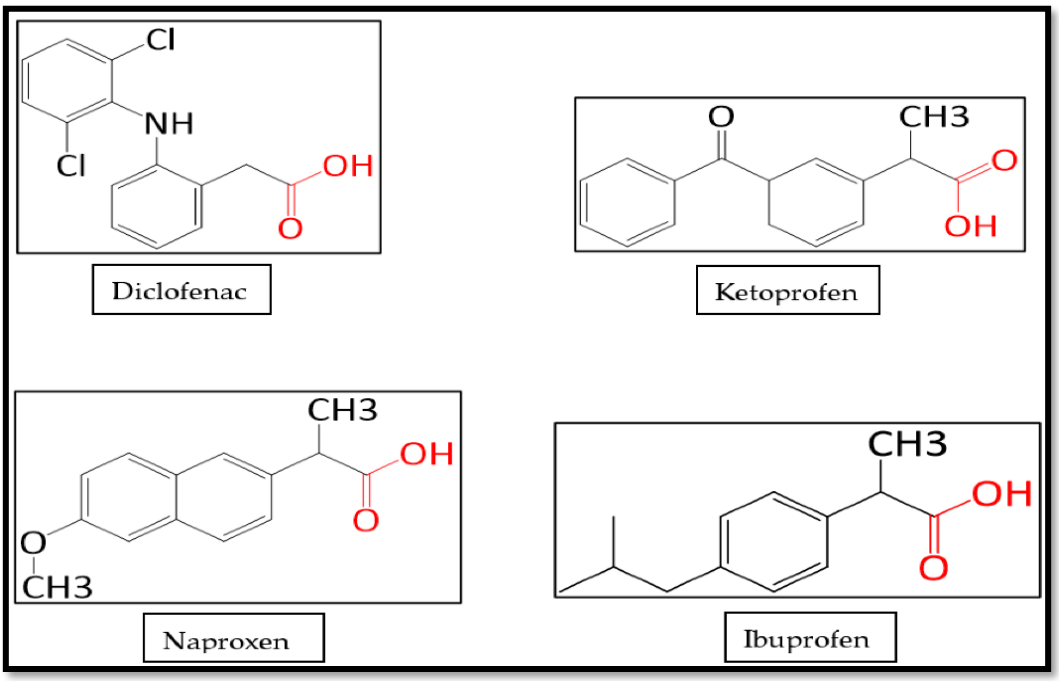



***Fig.1.3.*** Exemples des anti-inflammatoires

### 1.1.6 Effet de l'association des effluents pharmaceutiques

Cependant, des études ont rapporté des effets inattendus, non recherchés et imperceptibles dans les tests normalisés induits par certaines substances (hormones, antibiotiques, régulateurs lipidiques, diurétiques, bêta-bloquants par exemple). Ces effets sont qualifiés de « non standards » et ont lieu au niveau :

- *Moléculaire :* modifications de l'expression des gènes,
- *De l'individu :* augmentation de l'activité cardiaque, modification des comportements concernant l'action de se nourrir ou de protéger le nid par exemple.

Ces modifications pourraient toucher la reproduction, la croissance, la capacité d'évitement des prédateurs, le comportement, la capacité à se nourrir des individus et ainsi impacter des populations. Il est par exemple prouvé que les hormones de synthèse induisent des modifications du cycle de vie des organismes aquatiques en agissant entre autres sur la fécondité.

On peut également émettre l'hypothèse que certaines substances pourraient être cancérigènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction (CMR) et provoquer des effets pathogènes tels que des tumeurs qui apparaissent plus ou moins longtemps après exposition. Il faut donc recalculer les concentrations actives en prenant en compte ces effets. Lorsque cela est fait, il apparaît que les concentrations maximales mesurées de deux autres substances, l'acide salicylique et le paracétamol, sont supérieures aux concentrations actives **(BOCALY Melissa, 2010).**

- *De l'environnement :*

L'une des principales préoccupations liées à la présence de produits pharmaceutiques dans l'environnement est leur présence habituelle sous forme de mélanges complexes plutôt que sous la forme d'un composé unique, ce qui entrave le développement de technologies de nettoyage pour leur élimination des sites contaminés. Les différents produits pharmaceutiques qui sont continuellement et simultanément utilisés et rejetés dans l'environnement peuvent interagir de manière synergique, affectant les organismes non cibles, car ils peuvent posséder des cibles moléculaires similaires. De plus, la concentration environnementale des produits pharmaceutiques, ainsi que leurs effets synergiques et antagonistes, sont directement liés à la zone géographique, aux conditions climatologiques et à la fréquence des rejets d'eaux usées **(Fernandes et *al*., 2021).**

## 1.2 PROCEDES DE TRAITEMENT DES POLLUANTS EMERGENTS

La présence de contaminants dits polluants émergents dans l'environnement a été signalée dans le monde entier au cours des dernières années, principalement en raison du développement dans secteurs industriel et surtout médical. Les méthodes analytiques avec la capacité à détecter ces polluants à des concentrations pertinentes pour l'environnement ont été développé.

### 1.2.1 Les technologies d'élimination des contaminants émergents

Plusieurs technologies sont apparues ces dernières années pour lutter contre la contamination par les produits pharmaceutiques et améliorer leur élimination dans les stations d'épuration, étant donné qu'il s'agit des principaux apports de produits pharmaceutiques dans l'environnement. En résolvant le problème dans les installations de traitement des eaux usées, il est possible d'éliminer une grande quantité de produits pharmaceutiques avant qu'ils ne pénètrent dans l'environnement. Des technologies à base de produits chimiques ont été mises au point, parmi lesquelles les procédés d'oxydation avancés sont les plus étudiés **(Fernandes et *al.*, 2021).**

#### 1.2.1.1 Méthodes physicochimiques

Très souvent, ces méthodes sont utilisées en tant que processus primaires qui sont suivis par des processus biologiques en tant que méthode de traitement secondaire. Ces procédés sont mis en œuvre pour diminuer la charge organique pour le processus biologique suivant. Les méthodes les plus utilisées sont l'électrocoagulation, le traitement à l'ozone et la méthode d'adsorption sur charbon actif. Ces méthodes sont le plus souvent utilisées en conjonction avec la méthode biologique **(Shah & Shah, 2020).**

- **Adsorption**

Adsorption est une approche traditionnelle efficace pour le traitement et le recyclage des composés chlorés, des métaux et des contaminants organiques présents dans les eaux usées Divers EP rejetés par les stations d'épuration des eaux usées et des boues pénètrent dans le sol et les sédiments et présentent un grave danger pour l'environnement et la santé humaine. Il s'agit d'une procédure de transfert de phase dans laquelle les produits chimiques contaminés sont transférés d'une phase fluide à une surface solide et liés par des liaisons physiques et/ou chimiques.

Dans le scénario actuel, divers nanomatériaux ont été développés qui sont utilisés comme adsorbants efficaces pour éliminer les polluants des effluents/eaux usées. Les couches de graphène sont créées en oxydant le graphite et en déposant du méthane et d'autres hydrocarbures. Les ultrasons sont également utilisés pour synthétiser des couches de graphène. Les PCP, les micropolluants, les lixiviats, les médicaments et une gamme d'autres polluants organiques nocifs s'absorbent bien dans charbon actif. **(Kumar *et al.*, 2022).**

- **Coagulation/floculation**

Les techniques de coagulation/floculation sont une technique rentable utilisée pour éliminer les solides en suspension et dissous du lixiviat des eaux usées. Plusieurs agents coagulants, tels que le chlorure ferrique (FeCl3), le sulfate d'aluminium (AlSO4), la silice, le sulfate ferreux (FeSO4), la ferromagnétite et le pyroélectrolyte ont été utilisés pour la déduction et l'élimination des polluants nocifs et dangereux des eaux usées. Du polychlorure d'aluminium (PACl) prémélangé et du charbon actif en super poudre (SPAC)/des nanotubes de carbone (CNT) ont été utilisés pour éliminer les contaminants émergents (CE) de diverses sources d'eau. **(Kumar *et al.*, 2022).**

### 1.2.1.2 Méthodes d'oxydation avancés

Les procédés d'oxydation avancés ont traditionnellement été utilisés pour l'eau potable, mais ils ont un grand potentiel dans le traitement des PEs car ils sont capables de générer des espèces réactives de l'oxygène in situ comme les espèces hydroxyle, H2O2; espèces radicalaires d'ozone et de superoxyde qui ont peu de sélectivité et peuvent minéraliser efficacement les substances en CO2 ; l'eau et les ions ou acides inorganiques parmi lesquelles les procédés d'oxydation avancés sont les plus étudiés . La chloration, l'ozonation, le traitement UV, l'oxydation électrochimique et l'oxydation Fenton et photo Fenton **(Shah & Shah, 2020).**

### 1.2.1.3 Méthodes biologiques

Les méthodes biologiques (bioprocédés) sont apparues comme une approche naturelle, économique et durable qui utilise des bactéries, des champignons, des algues, des plantes et des microbes associés, ainsi que leurs enzymes pour nettoyer le sol, les sédiments et l'eau contaminés par un polluant chimique. Dans une certaine mesure, les micro-organismes utilisent les polluants chimiques comme seule source de carbone pour leur croissance et leur métabolisme normaux et synthétisent une nouvelle biomasse. Cependant, l'introduction d'une

variété de déchets dans le sol particulièrement contaminé par des métaux lourds nocifs a entraîné une perte importante de diversité microbienne **(Kumar *et al.*, 2022) .**

### 1.2.2 La bioremédiation

La dégradation des polluants par les communautés microbiennes est l'un des mécanismes les plus importants pour éliminer ces composés de l'environnement. Les communautés microbiennes sont des dégradeurs essentiels de la matière organique et, en même temps, elles fournissent des nutriments aux autres organismes de la chaîne alimentaire. Par conséquent, ils sont extrêmement importants pour la fonction, le maintien, l'état de qualité et la dépuration naturelle des écosystèmes. Lorsqu'un xénobiotique pénètre dans l'environnement, des changements dans les communautés microbiennes locales peuvent se produire et, par conséquent, les processus écosystémiques peuvent également changer.

Les communautés microbiennes peuvent dégrader les contaminants organiques par des réactions métaboliques et co-métaboliques, ces dernières étant les plus importantes pour l'élimination des polluants. La technologie de bioremédiation repose sur la capacité métabolique des micro-organismes à dégrader les polluants, en tirant parti des processus naturels de détoxification. Pour cela, la sélection et l'isolement de micro-organismes naturels dégradants pour développer des inoculums microbiens capables de dégrader les contaminants cibles, avec une influence minimale à long terme sur la communauté microbienne des sites contaminés sont cruciaux **(Fernandes *et al.*, 2021) .**

#### 1.2.2.1 Classification de la bioremédiation

Les techniques utilisées en bioremédiation sont diverses et efficaces pour restaurer les sites endommagés par divers types de contaminants. Étant donné que les micro-organismes jouent un rôle si essentiel dans la bioremédiation, leur diversité, leur abondance et leur structure communautaire dans les environnements pollués peuvent éclairer les résultats de toute technique de bioremédiation, à condition que d'autres facteurs environnementaux puissent inhiber les activités microbiennes. Voir figure 1.4.

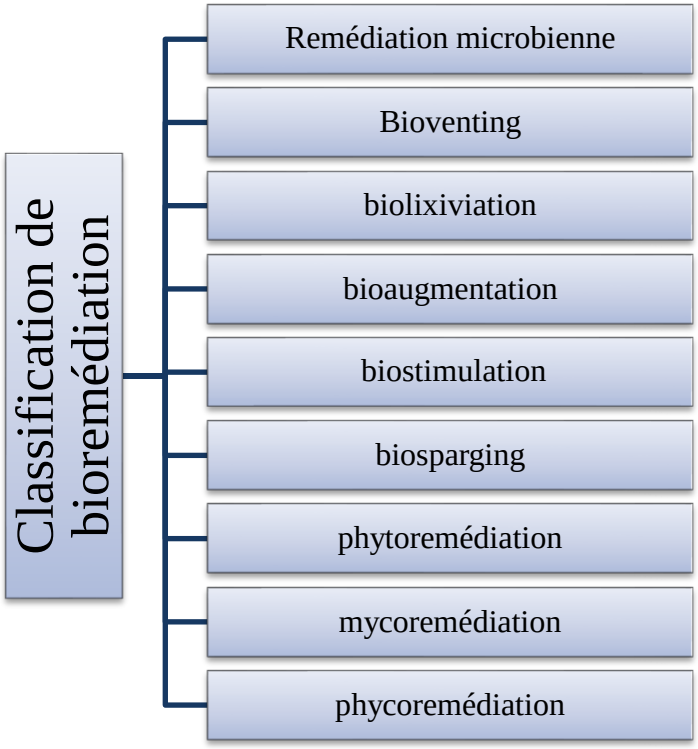



***Fig.1.4.*** Classification de bioremédiation **(Lakhani *et al.*, 2022)**

**1.2.2.1.1 Remédiation microbienne**

La remédiation microbienne est la décomposition complète des polluants en eau et en dioxyde de carbone (pour les polluants organiques) ou en formes moins dangereuses à l'aide de micro-organismes. La bioremédiation est une procédure bénéfique pour l'environnement. Les réacteurs microbiens offrent des conditions optimales pour assurer une croissance microbienne efficace. Les micro-organismes sont omniprésents et entrent en contact avec les contaminants à travers les différents compartiments de l'environnement. Les microbes décomposent les polluants par leurs processus métaboliques intrinsèques, avec ou sans modifications mineures de la voie, ce qui permet au polluant d'être canalisé dans la voie métabolique microbienne commune pour la biotransformation **(Lakhani *et al.*, 2022).**

**1.2.2.1.2 Bioventing**

Le bioventing est la technologie utilisée pour biodégrader les polluants organiques de l'eau. Elle facilite l'activité des bactéries et des archées endogènes et la biodégradation des dérivés d'hydrocarbures en ajoutant de l'air ou de l'oxygène dans la zone non saturée. Lors du bioventing, l'oxygène peut être apporté par injection directe d'air dans la pollution résiduelle du sol. Il contribue principalement à la dégradation des déchets combustibles adsorbés et à la

décomposition des composés organiques volatils (COV) lorsque les vapeurs se déplacent dans un sol biologiquement actif. L'approche du bioventing améliore l'oxydation des hydrocarbures organiques, des insecticides et d'autres polluants dans les composés du sol dégradables par les anaérobies **(Lakhani *et al*., 2022).**

#### 1.2.2.1.3 Biolixiviation

La biolixiviation est une méthode de récupération des minerais et minéraux à faible teneur en métaux à l'aide de bactéries. L'activité des bactéries chimiolithotrophes, notamment les ferro-oxydants et les thio-oxydants de thio-Bacillus, est nécessaire pour convertir les sulfures métalliques insolubles en sulfates métalliques solubles. Les minerais non sulfurés sont traités à l'aide de bactéries et de champignons hétérotrophes. L'extraction des métaux est provoquée par les acides organiques de traitement et l'excrétion de composés coordonnés dans l'atmosphère. Elle est actuellement principalement utilisée pour récupérer le cuivre, l'uranium et l'or. Pour le traitement des minerais d'or, on utilise la lixiviation en cuve. Elle est également utilisée pour recycler les métaux et détoxifier les déchets radioactifs, les boues et les sols pollués par les métaux lourds **(Lakhani *et al*., 2022).**

#### 1.2.2.1.4 Bio-augmentation

La bio-augmentation est le processus d'amélioration de l'efficacité des espèces de micro-organismes par l'ajout des bactéries génétiquement modifiées ayant des fonctions cataboliques complexes afin d'améliorer le taux de dégradation. L'ajout de certaines souches aux réacteurs d'eaux usées pour améliorer la dégradation de produits chimiques spécifiques est une stratégie avant-gardiste pour améliorer l'efficacité de l'élimination. La bio-augmentation se divise généralement en deux stratégies principales : (1) la bio-augmentation par enrichissement en micro-organismes indigènes ; et (2) la bio-augmentation par enrichissement en micro-organismes non indigènes **(Lakhani *et al*., 2022).**

#### 1.2.2.1.5 Biostimulation

La biostimulation est l'insertion d'accepteurs d'électrons, de donneurs d'électrons ou de nutriments dans les espèces microbiennes naturelles afin de les activer. Elle peut être principalement décrite comme l'ajout d'eau et d'oxygène en quantité suffisante dans le sol pour stimuler l'action des dégradateurs microbiens et favoriser le métabolisme. La biostimulation vise à améliorer la capacité de dégradation inhérente à une matrice polluée en apportant des modifications, des nutriments ou d'autres facteurs restrictifs **(Lakhani *et al*., 2022).**

#### 1.2.2.1.6 Biosparging

Le biosparging est une technologie qui utilise des micro-organismes pour biodégrader les constituants organiques. De l'air (ou de l'oxygène) et des nutriments sont introduits dans la zone saturée pour stimuler l'activité biologique des micro-organismes. Cette approche est identique à celle du bioventing dans lequel, en plus, l'air est injecté dans le sous-sol du sol pour aider à éliminer le polluant des endroits contaminés tout en stimulant l'activité microbienne. Cependant, à la différence du bioventing, l'air est délivré à un niveau saturé, ce qui peut permettre aux molécules organiques de remonter vers la zone non saturée et de se biodégrader plus rapidement **(Lakhani *et al.*, 2022).**

#### 1.2.2.1.7 Phytoremédiation

Le processus de phytoremédiation est une méthode à base de plantes qui est à la fois rentable et respectueuse de l'environnement. Il tire parti de la capacité des plantes à concentrer les éléments et composés de leur environnement et à métaboliser diverses molécules dans leurs tissus. Il fait référence à la capacité naturelle de certaines plantes à bioaccumuler des polluants dans le sol, l'eau ou l'air, puis à les dégrader ou à les rendre inoffensifs par un processus appelé biodégradation (Kumar et al., 2022). La phytoremédiation vise à éliminer les métaux lourds dangereux et les contaminants organiques d'un environnement **(Lakhani *et al.*, 2022).**

#### 1.2.2.1.8 Mycoremédiation

La mycoremédiation est un traitement fongique qui utilise des champignons pour assainir les sols pollués ou les effluents nocifs. Il s'agit d'un type de bioremédiation et d'un processus biologique impliquant la purification et l'éradication par un organisme biologique des métaux lourds du sol et d'autres substances. La mycoremédiation est un système de bioremédiation dans lequel des champignons sont utilisés pour décontaminer en transformant une zone sale (généralement des sols contaminés par des polluants) en un état moins contaminé **(Lakhani *et al.*, 2022) .**

#### 1.2.2.1.9 Phycoremédiation

La bioremédiation à l'aide de microalgues, de macro-algues et de cyanobactéries (phycoremédiation) pour l'élimination ou la biotransformation des xénobiotiques présents dans les eaux usées ou des polluants présents dans les effluents gazeux est une technologie émergente très prometteuse en raison de sa viabilité économique et de sa durabilité

environnementale **(Pacheco *et al.*, 2015)**. Les algues jouent un rôle important dans le traitement biologique des eaux usées. Elles peuvent accumuler des substances toxiques organiques et inorganiques, ainsi que des matières radioactives, dans leurs cellules. Par conséquent, ils jouent un rôle important dans l'auto-épuration des eaux usées municipales, industrielles et agro-industrielles. De plus, elles sont le principal producteur dans les systèmes aquatiques, et de nombreuses espèces d'algues s'épanouissent dans les eaux polluées par divers types de déchets organiques en développant plusieurs mécanismes de détoxification, dont la biosorption, la bioaccumulation, la biotransformation, la biominéralisation et la biodégradation *in situ* et/ou *ex situ* **(Touliabah *et al.*, 2022).**

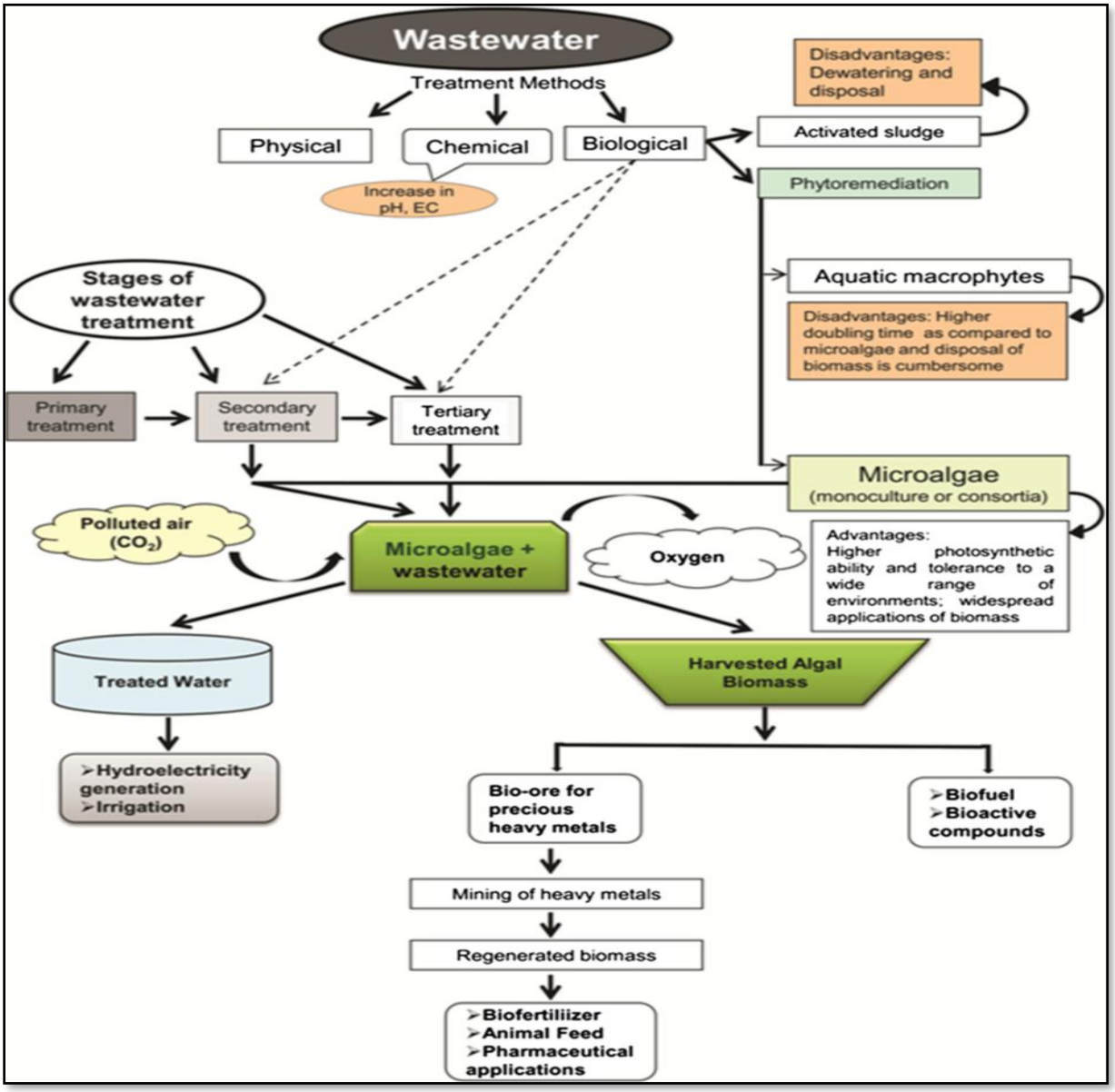



***Fig.1.5***. Représentation schématique du traitement des eaux usées à l'aide de microalgue **(Renuka *et al.*, 2015)**

- **Les avantages de phycoremédiation**

La phycoremédiation est considérée comme une approche efficace, sans danger pour l'environnement et comme un traitement environnemental durable qui ne génère pas de grandes quantités de déchets secondaires (boues). Comparée à diverses technologies physiques et chimiques généralement coûteuses et inefficaces, la phycoremédiation est une technique rentable à la polyvalence limitée qui ne prend pas en compte la séquestration du carbone, la production de boues ou la prévention de la formation d'intermédiaires cancérigènes.

Le coût d'investissement des processus biologiques est 5 à 20 fois inférieur à celui des procédures chimiques conventionnelles. En comparaison, le coût d'exploitation est 3 à 10 fois inférieur à celui des procédures conventionnelles. En outre, la phytoremédiation peut être considérée comme une forme de biorestauration permanente, car elle peut aboutir à la minéralisation complète des polluants, ainsi qu'à une économie bleue et circulaire **(Touliabah *et al*., 2022).**

### 1.2.2.2 L'importance de la bioremédiation

Les procédés de bioremédiation ont pour objectif de traiter la pollution dispersée dans les milieux naturels, en particulier l'eau, l'air et le sol, par dégradation ou accumulation de celle-ci par des microorganismes. La contrainte majeure de ces techniques est qu'elles s'appliquent directement sur le milieu en question. Se pose alors le problème du respect de l'équilibre de l'écosystème. En effet, il faut éviter de retirer la pollution d'un milieu pour la remplacer par une autre. Ainsi, l'implantation dans un milieu naturel de microorganismes génétiquement modifiés pour traiter spécifiquement un type de pollution peut sembler dangereuse, puisque l'impact à long terme de ces organismes sur l'équilibre de leur nouveau milieu est difficile à évaluer. Il en va de même, dans une moindre mesure, pour l'implantation de microorganismes déjà existants, mais étrangers au milieu traité **(LEMAIRE, 2015).**

La bioremédiation est considérée comme une technique respectueuse de l'environnement. Un atout important de cette technique est également son coût, bien inférieur à celui des techniques traditionnelles de décontamination. Par contre, la bioremédiation ne peut être appliquée dans l'urgence, car les durées de traitement s'étalent sur plusieurs années en fonction du degré de pollution **(Vavasseur, 2014).**

Parmi les avantages de la bioremédiation on peut citer principalement :

- Elle est souvent applicable sur le site (bioremédiation in situ) ou à proximité immédiate (quand des installations ex situ sont nécessaires), ce qui réduit les coûts de transport et de manutention.
- Elle perturbe généralement moins le biotope que les méthodes physico-chimiques (sauf pour les sols excavés).
- Elle élimine le polluant en permanence et, appliquée in situ, rend le biotope apte à relancer un processus d'autoépuration en cas de nouvelle pollution du même genre. **(Jacq *et al*., 2000).**
- Elle élimine les effets à long terme possibles avec les méthodes fondées sur le confinement.
- On peut associer, dans une chaine de traitement, plusieurs techniques biologiques (exemples ; deux ou plusieurs réacteurs en cascade, etc…).
- Les techniques biologiques peuvent également être couplées aux techniques de dépollution physico-chimiques **(Jacq *et al*., 2000)**

## 1.3 POTENTIALITE D'UTILISATION DE LA *SPIRULINE* EN BIOREMEDIATION

### 1.3.1 Généralité de la spiruline

Les microalgues sont des micro-organismes photosynthétiques procaryotes ou eucaryotes qui peuvent croître rapidement et vivre dans des conditions défavorables grâce à leur morphologie simple. Les microalgues procaryotes sont connues sous le nom de cyanobactéries (*Cyanophyceae*), et les eucaryotes comprennent les algues vertes (*Chlorophyta*), les diatomées (*Bacillariophyta*), parmi d'autres groupes **(Vanderbent, 2022)**.

La Spiruline est une cyanobactérie (procaryote) multicellulaire qui se présente sous forme filamenteuse et suit une orientation hélicoïdale (Figure 1.6) et (Figure 1.7). Elle appartient à la classe des cyanobactéries capables de réaliser la photosynthèse. Elle fut premièrement classée dans le règne végétal au même titre que la Chlorelle, pour sa composition en pigments propres aux plantes et son activité de photosynthèse. Malgré son appartenance aux microorganismes de type procaryote, qui la distingue des algues unicellulaires, la Spiruline reste généralement considérée sous l'appellation de « microalgue » **(Furbeyre, 2017).** La reproduction de la spiruline, asexuée, se fait par division des filaments **(J.P.Jourdan., 2011).**

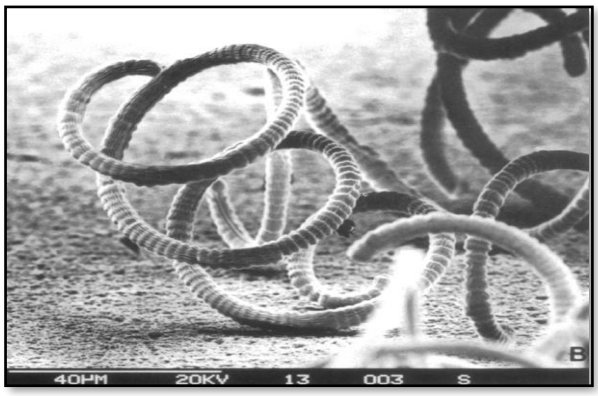



***Fig.1.6***. Morphologie de la Spiruline : Image obtenue par microscopie électronique à Balayage MEB

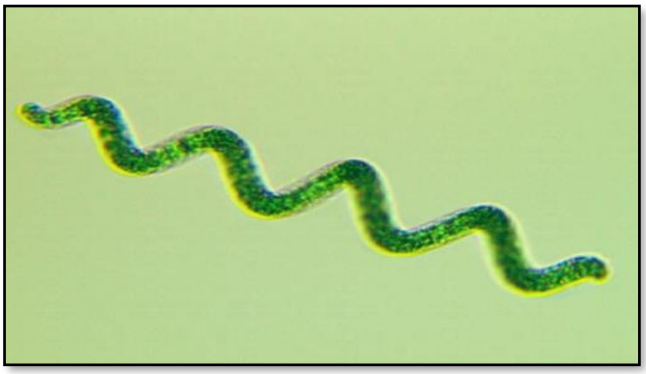


***Fig.1.7.*** Morphologie de la Spiruline : Image obtenue par microscopie optique

### 1.3.2 Historiques de la spiruline

La spiruline a été décrite pour la première fois par Wittrock et Nordstedt en 1844 sous le nom de Spirulina jenneri platensis Nordstedt dans l'Algae aquae dulcia exsicc **(Sguera, 2008.).**

- De 1844 à 1959

En 1844, près de Montevideo, deux chercheurs, Wittrock et Nordsedt, signalent la présence d'une « microalgue » bleu-vert hélicoïdale baptisée *Spirulina jenneri* f. *platensis*. C'est en 1852, que sera publié le premier rapport taxonomique rédigé par Stizenberger qui lui donne le nom d'Arthrospira en raison de sa forme en hélice et de sa structure multicellulaire **(Ahounou, 2018).**

Puis en 1940 pendant la seconde guerre mondiale, Y. Creach, une pharmacienne des troupes coloniales Françaises stationnée à Fort Lamy, aujourd'hui Ndjamena, découvre les galettes d'algues séchées appelées « dihé », et s'y intéresse de près. Elle en rapporte quelques échantillons pour les analyser et les identifier.

En France le botaniste Dangeard rapporte l'expérience d'Y. Creach, et fait une présentation à la société Linnéenne de Bordeaux en 1940 en mentionnant pour la première fois l'utilisation de la spiruline en alimentation humaine. Publié pendant la guerre, son compte rendu passera inaperçu **(Ahounou, 2018).**

En 1959 l'anthropologue Max-Yves Brandily publie dans science et avenir un article sur ces gâteaux d'algues pleins de sable, intitulé : « depuis des lustres une tribu primitive du Tchad exploite la nourriture de l'an 2000 »

- Dans les années 1960

Le botaniste Belge Jean Leonard remonte la filière de la galette verte jusque sur les rives du lac Tchad. En 1964, Leonard et son confrère P. Compère analysent le *dihé* et déterminent la spiruline confirmant ainsi le rapport de Dangeard.

La spiruline sera redécouverte accidentellement par un ingénieur Français Hubert Durand Chastel qui arrive au Mexique pour prendre la direction de Sosa Texcoco, une unité de production de carbonate de soude. La matière première, la saumure, est extraite des sédiments du lac Texcoco. L'un des problèmes de l'exploitation est une matière organique qui perturbe la cristallisation des carbonates. Considérée comme une nuisance, elle est brûlée avec les ordures. C'est en assistant en 1967 à une conférence sur la spiruline au cours d'un congrès sur

le pétrole à Mexico, et suite aux publications de Max Yves Brandily, qu'il fait le rapprochement avec cette substance qui le gênait dans sa production. Il débutera la culture d'*Arthrospira maxima* en 1968 et sa commercialisation se fera en 1976 **(Ahounou, 2018).**

### 1.3.3 Morphologies de la spiruline

La Spiruline est une cyanophycée microscopique d'une longueur moyenne d'environ 250µm. Elle est composée de filaments mobiles de 10 à 12 µm de diamètre non ramifiés et enroulés en spirale, généralement en 6 ou 7 spires. Cette forme hélicoïdale lui donnant l'allure d'un minuscule ressort lui a valu son appellation de « Spiruline ». Cependant les Spirulines présentent différentes formes (Figure 1.8). On trouve des formes spiralées classiques, ondulées et parfois droites. Cette particularité est en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat **(Bensalem, 2018).**

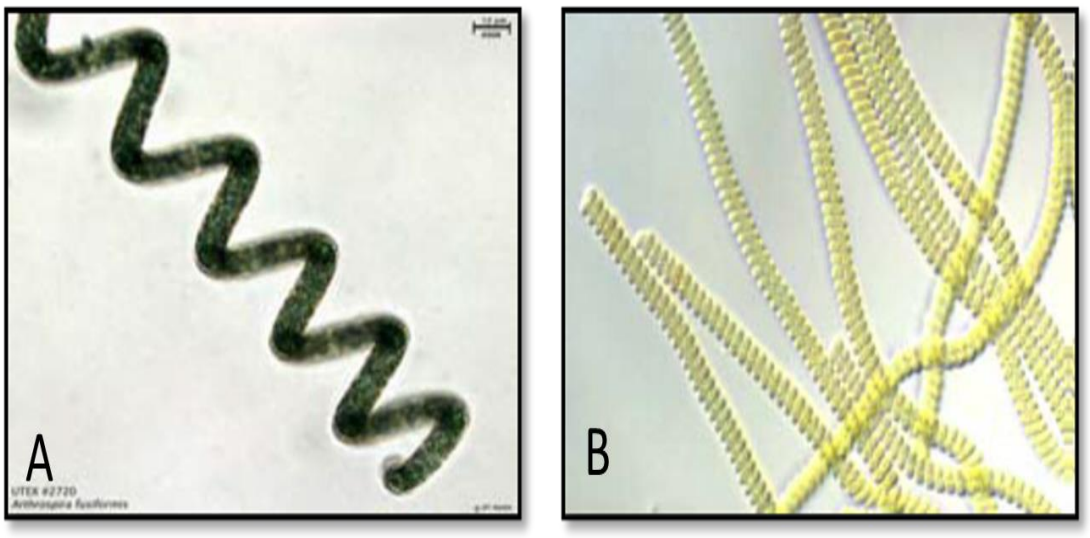



***Fig.1.8.*** Différentes formes prises par la Spiruline,
A = Forme spiralée (*Arthrospira fusiformis)* B = *Arthrospira platensis*

Plus précisément, la Spiruline est constituée de cellules transparentes empilées bout à bout formant ainsi un filament ou trichome. L'enroulement du trichome sur lui-même s'effectue suivant le sens des aiguilles d'une montre lorsqu'on regarde au-dessus de la spirale. Les facteurs environnementaux tel la température auraient cependant une influence sur l'orientation de l'hélice. Cette morphologie typique lui permet de se déplacer dans l'eau en adoptant le mouvement d'une vis. Le système pigmentaire de la Spiruline est constitué de chlorophylle a ; de pigments hydrosolubles, les phycobilines rouge (phycoérythrine) et bleu (phycocyanine) ; de caroténoïdes (ß-carotène, cryptoxanthine).

### 1.3.4 Cycle biologique

La spiruline se reproduit suivant un mode végétatif, une multiplication asexuée qui suit le principe de la bipartition. C'est donc une scission simple par segmentation des filaments qui s'effectue en plusieurs étapes.

- Une fois la maturité atteinte, les filaments de la spiruline forment des nécridies, des cellules ayant un aspect concave.
- Il s'ensuit une fragmentation du trichome à partir des nécridies aboutissant à de nouveaux filaments constitués de 2 à 4 cellules appelées hormogonies.

Ces derniers croissent par division binaire et prennent la forme typique hélicoïdale, chacune des cellules donne deux cellules par scissiparité **(Ahounou, 2018)** Le cycle schématisé dans la figure 1.9.

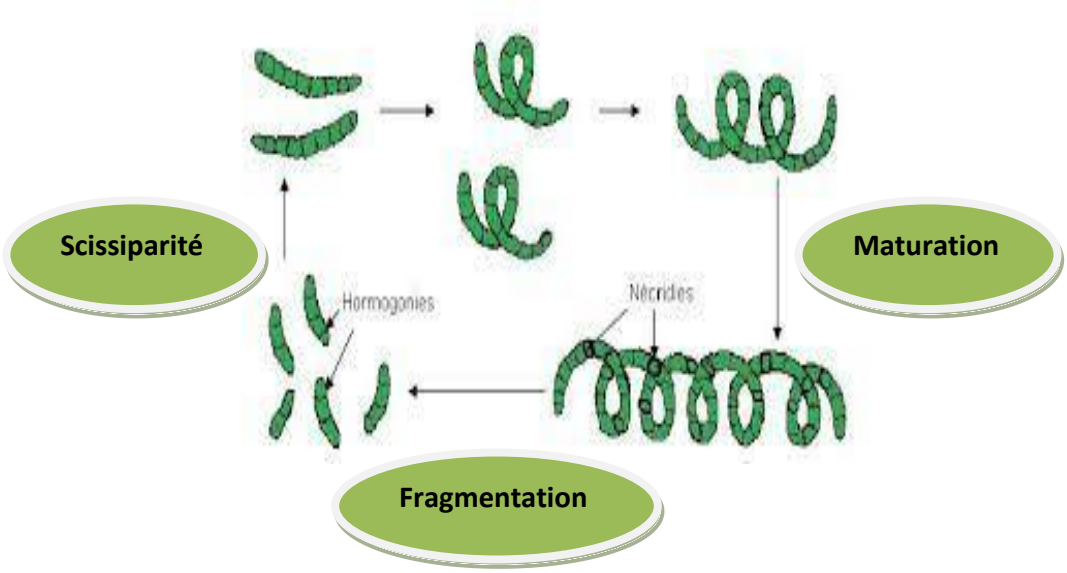



***Fig.1.9.*** Cycle biologique de la Spiruline **(Bensalem, 2018)**

### 1.3.5 Taxonomies de la spiruline

Les spirulines, appartenant à la famille des cyanobactéries font partie des plus anciennes formes de vie photosynthétique apparue sur Terre. Bien que communément appelée spiruline (nom commercial dû à sa forme enroulée en spires), cette cyanobactérie filamenteuse appartient au genre *Arthrospira.* Les algues appartenant à ce genre sont comestibles, contrairement aux algues appartenant au genre *Spirulina*. Dans le genre *Arthrospira*, on retrouve deux espèces principales, *Arthrospira platensis*, originaire d'Afrique, et *Arthrospira maxima*, originaire d'Amérique centrale **(Sp-sa, 2015).**

Dans notre étude, l'espèce utilisée est l'espèce *platensis*, dont la taxonomie est représentée dans le tableau 1.4.

***Tableau 1.4*** **:** Taxonomie de l'espèce *Spirulina Platensis* **(Sp-sa, 2015)**

| | |
|---|---|
| **Règne** | *Monera ou Bacteria* |
| **Sous règne** | *Prokaryota* |
| **Phylum ou division** | *Cyanophyta ou Cyanobacteria* |
| **Classe** | *Cyanophyceae* |
| **Ordre** | *Oscillatoriales* |
| **Famille** | *Oscillatoriaceae* |
| **Genre** | *Arthrospira* |
| **Espèce** | *Arthrospira Platensis* |

### 1.3.6 Cultures de la spiruline

L'intérêt croissant pour les microalgues a entraîné une diversification des systèmes de culture adaptés à l'espèce cultivée et aux molécules d'intérêt cibles : les bassins ouverts à haut rendement (aussi appelés « *open ponds* » ou « *raceways* ») et les photo-bioréacteurs fermés, possédant chacun avantages et inconvénients **(Bonnefond et *al*., 2019)**

#### 1.3.6.1 Systèmes ouvertes

Les cultures de microalgues à grande échelle ont été majoritairement produites dans des systèmes ouverts. Bien que de nombreux procédés existent, ce sont les *raceways* (champ de course) qui ont été les utilisés depuis leur développement dans les années 1950 **(Bonnefond *et al*., 2019)**. Les photo-bioréacteurs ouverts sont, pour certains d'entre eux, soumis aux conditions climatiques telles l'évaporation due au vent, la dilution par les intempéries, les variations saisonnière et quotidiennes de la température et de l'éclairement et sont aussi exposés aux contaminations biologiques extérieures (ex. fientes d'oiseaux) **(Gernigon, 2021)**.

Les *raceways (*figure 1.10 (b)) sont des bassins de faible profondeur (entre 10 et 50 cm), agités mécaniquement à l'aide de roues à aubes. Ils sont considérés à ce jour comme des systèmes économiquement rentables **(Langley et *al*., 2012).**

### 1.3.6.2 Systèmes fermés

Verticaux, horizontaux, plans, annulaires, cylindriques, tubulaires, toriques, spiralés, de type colonne à bulle, en forme de dôme ou encore de pyramide, les photo-bioréacteurs adoptent une grande variété de géométries.

Les photo-bioréacteurs sont définis comme des systèmes fermés, fabriqués avec des matériaux transparents et illuminés de façon interne ou externe par une lumière naturelle (solaire) ou artificielle. Leur design cherche à optimiser la distribution de la lumière et à améliorer l'efficacité du mélange. Clos, ils préservent les cultures des contaminations et permettent de contrôler finement les paramètres de croissance (lumière, température, nutriments, pH, volume de culture, niveau de biomasse, distribution en gaz) afin de maximiser la productivité **(Bonnefond *et al*., 2019)** voir figure 1.10 (b) .

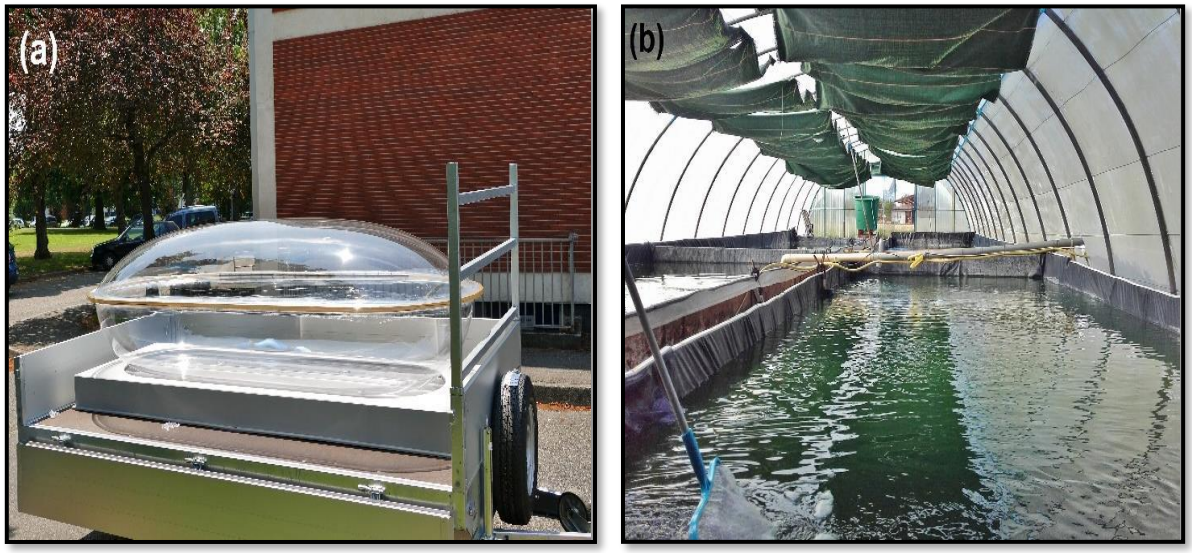



***Fig.1.10.*** Photographies, (a) prototype de cuve de culture de spiruline destinée à être placée en extérieur, (b) bassin de culture artisanale de spiruline sous serre ombragée (spiruline du sud-ouest, Cintegabelle) **(Gernigon, 2021)**

### 1.3.7 Composition chimique de la spiruline

La spiruline contient en poids sec jusqu'à 70 % de protéines, 15 à 25 % de glucides, jusqu'à 11 % de lipides ainsi que des vitamines, des minéraux (principalement des oligoéléments), de la chlorophylle et des phycobiliprotéines. **(Sguera, 2008)**

La spiruline est riche en protéines, en particulier en phycobiliprotéines actives sur le plan antioxydant. Les protéines totales (PT) et les protéines solubles dans l'eau (PSA) ont été

mesurées par la méthode Lowry avec quelques modifications. Les phycobiliprotéines de S. platensis enrichi en Se (sélénium) ont été extraites à l'aide d'un tampon de phosphate de sodium et déterminées par spectrophotométrie. Il contenait une teneur plus faible en acide palmitique (inférieure à 17 %) et une teneur plus élevée en acide olénique (OA), en acide linolénique (LA), (GLA), augmentant respectivement de 12, 26 et 14 %, Les pigments de chlorophylle a (Chl a) et les caroténoïdes totaux (Caro) ont été déterminés par une méthode spectrophotométrique basée sur la mesure de la densité optique de l'extrait d'acétone (90%) de la biomasse algale.

Il a été démontré que la spiruline fournit des pigments (C-PC, APC, β-carotène) et des acides gras poly-insaturés (LA, GLA) qui ont des effets thérapeutiques sur l'homme. L'effet de certains facteurs environnementaux a favorisé la production de ces composés. En revanche, les lipides totaux ont diminué dans une certaine mesure avec la culture de S. platensis enrichie en Se. Cela indique que certaines voies métaboliques peuvent être affectées par l'incorporation de Se dans les cellules d'algues et que certaines molécules biologiquement actives sont renforcées dans les cultures enrichies en Se **(Huang *et al*., 2006)** .

***Tableau 1.5*** :La composition chimiques de *spirulina platensis SP* **(Sotiroudis & Sotiroudis, 2013)**

| Composant | Poids sec relatif % |
|---|---|
| **Protéines** | 50_70 |
| **Glucides** | 15_25 |
| **Lipides** | 6_13 |
| **Nucléiques** | 4.2_6 |
| **Fer** | 0.058_0.18 |
| **Calcium** | 0.13_0 .14 |
| **Phosphore** | 0.67_0.9 |
| **Potassium** | 0.64_1.54 |
| **Caroténoïdes** | 0.37_0.59 |
| **Chlorophylle *α*** | 0.66_1.2 |
| **Ash** | 3_11 |
| **Humidité** | 4_9 |

### 1.3.8 L'utilisation de la spiruline

### 1.3.8. Effet thérapeutique

- Effet antibactérienne et antivirale de la Spiruline :

La spiruline présente de puissantes activités antibactériennes contre les bactéries pathogènes. L'administration de 0,1 % de spiruline a entraîné une clairance bactérienne accrue (E. coli et S. aureus) 30 minutes post-injection avec un nombre presque négligeable de bactéries dans le sang. Cette clairance bactérienne accrue a été attribuée aux effets de potentialisation immunitaire de la spiruline. L'extrait au méthanol de S. platensis a montré une activité antimicrobienne plus puissante que le dichlorométhane, l'éther de pétrole, l'acétate d'éthyle extraits et composants antibactériens volatils.

A des concentrations plus faibles, la spiruline a réduit la réplication virale tout en bloquant la réplication des virus à concentration plus élevée. De plus, il a pu être démontré que l'extrait hydrosoluble de Spiruline inhibait pénétration virale dans les cellules et réplication du virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1) dans des cellules HeLa en culture de manière dose-dépendante. À seulement 1 mg/ml, il a été démontré que l'extrait inhibe la synthèse des protéines virales sans supprimer les fonctions de la cellule hôte. Les hamsters nourris à la spiruline avaient des temps de survie prolongés et des taux de survie plus élevés lors d'une provocation avec le HSV-1. L'activité antivirale a été attribuée au polysaccharide sulfaté appelé « *Calcium Spirulan* » (Ca-Sp), dont il a été démontré qu'il inhibe réplication de nombreux virus enveloppés par inhibition de la pénétration virale dans les cellules cibles sans hôte toxicité. Actuellement, il a été démontré que Ca-SP présente une activité contre le cytomégalovirus humain, la rougeole virus, le virus des oreillons, le virus de la grippe A, le virus de l'immunodéficience humaine (VIH-1) ainsi que le HSV-1 **(Jung *et al*., 2019).**

Le Ca-Sp actif pourrait être un bon candidat pour une intervention thérapeutique contre le VIH-1 et d'autres virus en raison de sa faible activité anticoagulante, de sa longue demi-vie dans le sang et de sa bio-activité dose-dépendante

- Activité anti-inflammatoire :

Dans des modèles expérimentaux, l'extrait de phycocyanine de spiruline a montré une activité anti-inflammatoire. L'effet anti-inflammatoire semble être le résultat de la phycocyanine qui inhibe la formation de leucotriène B4, un métabolite inflammatoire de l'acide arachidonique.

La C-phycocyanine est un piégeur de radicaux libres et a des effets hépato-protecteurs importants. Chez la souris et chez le poulet une activité phagocytaire accrue a pu être prouvée. Ceci a été confirmé par deux autres études, montrant une réduction de la maladie hépatique diffuse chronique ou une inhibition sélective de la cyclooxygénase-2 par la C-phycocyanine. Il a également prévenu les maladies inflammatoires de l'estomac et de l'intestin, une condition pour une absorption complète des nutriments. **(Jung *et al*., 2019).**

- Activité antioxydante :

Plusieurs études ont démontré que la Spiruline possède une activité anti-oxydant importante à la foisin vitro et in vivo.

L'activité antioxydante de la spiruline a été analysée contre l'hyperlipidémie induite par l'acétate de plomb et les dommages oxydatifs dans le foie et les reins de rats mâles. Les animaux ont été nourris selon un régime de laboratoire standard avec ou sans 5% de Spirulina maxima dans le régime standard du laboratoire et traité avec trois doses de plomb acétate (25 mg chacun/semaine, injection intrapéritonéale) Les résultats ont montré que la spiruline empêchait le changement significatif induits par l'acétate de plomb sur le statut antioxydant du foie et des reins. De l'autre part, *Spirulina maxima* a réussi à améliorer les paramètres biochimiques du foie et des reins vers les valeurs normales du groupe témoin.

- Effets anticancéreux :

Plusieurs études ont montré que la Spiruline ou ses extraits peuvent prévenir ou inhiber les cancers chez les humains et les animaux. Des études in vitro suggèrent les polysaccharides uniques de la spiruline améliorent l'enzyme du noyau cellulaire activité et synthèse de réparation de l'ADN6 **(Jung *et al*., 2019).**

### 1.3.8.2 Effet nutritionnelle

Le collectif TECHNAP est atteint par l'étude portant sur l'utilisation de la spiruline, étude concluant à son inefficacité pour remédier aux conséquences de la malnutrition, publiée dans les Archives de Pédiatrie, TECHNAP, ONG engagée dans la lutte contre la malnutrition, en particulier par son implication dans la production de spiruline au Bénin, à Pahou, est un collectif rassemblant des ONG ayant les mêmes motivations et méthodes dans le domaine de la nutrition. CODEGAZ, ONG produisant de la spiruline à Koudougou au Burkina Faso, fait partie de ce collectif.

L'équipe scientifique de notre association a, pour sa part, avisé votre rédaction des erreurs majeures relevées au niveau du protocole qui invalident les conclusions de l'étude. Pour mémoire, nous reprenons seulement ici la lacune essentielle qui était l'absence presque totale du contrôle de l'ingestion de la spiruline par les enfants **(Fox *et al*., 2004).**

### 1.3.8.3 Effet biotechnologique

*Spirulina platensis* est un objet modèle biotechnologique pratique, facilement manipulable en laboratoire et dans des conditions industrielles. En raison de son extrêmophilie, il peut être cultivé dans des conditions de porte ouverte, ce qui garantit un faible prix de la biomasse pour la technologie de bioremédiation. **(Cepoi & Zinicovscaia, 2020).**

La cyanobactérie filamenteuse *Spirulina platensis* possède des mécanismes efficaces qui assurent sa survie dans des conditions extrêmes. Cela fait de la spiruline un objet modèle approprié pour les études de bioremédiation. Les ions métalliques sous forme inorganique stimulent la croissance de la biomasse de spiruline uniquement à faible concentration en métal, tandis que les métaux sous forme de composés organiques sont facilement accumulés par la biomasse de spiruline

La cyanobactérie Spirulina platensis peut assurer une bioremédiation efficace des sites pollués par les POP grâce à des mécanismes de bio sorption et de biotransformation métabolique sous l'action d'enzymes spécifiques.

Spirulina platensis est un objet modèle pour les recherches visant à détecter les mécanismes impliqués dans le processus de bioremédiation et à élaborer des procédures efficaces pour l'élimination des polluants de divers milieux aquatiques **(Cepoi & Zinicovscaia, 2020) .**

### 1.3.9 La bioremédiation des polluants pharmaceutiques par microalgues

De nombreuses approches ont été utilisées récemment pour éradiquer les PE des effluents, mais l'adsorption est le moyen le plus économique et le plus facile de traiter ces toxines. Récemment, les microalgues ont fait l'objet d'une grande attention en raison de leur capacité à éradiquer de nombreuses toxines, y compris les PE tels que les contenus pharmaceutiques, les produits de soins personnels et les contenus non pharmaceutiques présents dans les effluents, en raison de leur solution économique, facile et innovante par rapport aux approches traditionnelles. Des matériaux micro-algaux ont été utilisés pour éradiquer les PE. On a constaté qu'ils étaient bien meilleurs que les autres procédés conventionnels **(Hashmi *et al*., 2023) .**

Cependant, la recherche a été principalement menée à l'échelle du laboratoire dans des conditions optimales, mais la demande actuelle est d'augmenter cette approche pour l'éradication des toxines à l'échelle commerciale. Cependant, l'application industrielle des microalgues pour la remédiation des PE n'est pas encore claire en raison d'un écart important entre les résultats de laboratoire et les applications commerciales **(Hashmi *et al.*, 2023) .**

Le potentiel des microalgues à détoxifier les polluants organiques et inorganiques ait été bien documenté au cours des 30 dernières années, ce n'est que récemment que l'on s'est intéressé à l'utilisation des microalgues pour la bioremédiation des PE actuelles. Le couplage de l'élimination des nutriments avec la bioremédiation des PE améliore encore la rentabilité du traitement des eaux usées à base de microalgues, tout en protégeant davantage l'environnement grâce à l'élimination des PEs **(Sutherland & Ralph, 2019) .**

La bioremédiation des CE par les microalgues peut s'expliquer par trois voies clés telles que la bioadsorption, la bioabsorption ou la bioaccumulation et la biodégradation. La bioadsorption des microalgues implique l'adsorption des CE sur la paroi cellulaire des microalgues ou sur des substances polymères extracellulaires (EPS). Les EPS sont généralement excrétées par les cellules et libérés dans le milieu en vrac sous forme de protéines, de lipides, de polysaccharides et d'acides nucléiques. Il existe une interaction non métabolique entre le contaminant (chargé positivement) et la paroi cellulaire de la microalgue chargée négativement, ou les sécrétions. Par conséquent, les métaux lourds et les CE lipophiles et cationiques sont successivement éliminés par cette voie **(Maryjoseph & Ketheesan, 2020)**.

Le tableau 1.6 résume les études à l'échelle du laboratoire qui visaient à bioremédier des composés pharmaceutiques à l'aide de microalgues. On a pu observer que *Chlorella, Chlamydomonas* et *Scenedesmus Sp* sont les espèces les plus fréquemment signalées et les plus étudiées dans ces études de preuve de concept. Cela était principalement dû à la robustesse et à l'adaptabilité de ces microalgues à des conditions environnementales stressantes. Ainsi, la grande diversité des microalgues offre une opportunité de recherche pour la bioprospection des espèces de microalgues qui peuvent éliminer efficacement une large gamme de contaminants pharmaceutiques **(Maryjoseph & Ketheesan, 2020)**.

***Tableau 1.6 :*** Pourcentage d'efficacité d'élimination des ingrédients pharmaceutiques à l'échelle du laboratoire par les microalgues **(Maryjoseph & Ketheesan, 2020).**

| **Ingrédients actifs (% d'élimination)** | **Espèces microalgues** | **Conditions expérimentales** |
|---|---|---|
| Sulfamérazine (84) sulfaméthoxazole (74) sulfamonométhoxine (75) | *H. pluvialis* | Milieu : eaux usées synthétiques pré-stérilisées, Température : 25±1°C, Intensité lumineuse : 12 h : 12 h cycle obscurité/lumière), Durée : 40 jours |
| Acétaminophène (67) | *Chlorelle sorokinienne* | Milieu : Mann et Myers, Température : 25±1°C, pH (7,5 ± 0,5), Intensité lumineuse : 370 µE/m2/s (cycle lumière/obscurité 12/12), Durée : 144 h |
| Lévofloxacine (>80) | *Chlorelle vulgaire* | Milieu : BBM þ1 % (w/v) chlorure de sodium, température 27°C, intensité lumineuse : 45–50 Lmol photon $m^{-2}$ $s^{-1}$ (cycle lumière/obscurité de 16/8 h), durée : 11 jours. |
| Antibiotiques céphalosporines 7-ACA (100) | *Chlamydomonas sp* | Milieu : BM, BBM et BG-11 (spécifique à l'espèce) Intensité lumineuse : 200 µmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ (cycle lumière/obscurité 12/12), température de 26±1°C, CO2 : 2,5 %, taux d'aération : 0,2 vvm, durée : 16 jours |
| Diclofénac (>79) | *Scenedesmus obliquus* | Milieu : Mann and Myers, Température : 25±1°C, Aération : 0,3 v/v/min, CO2 : 7 % v/v |

# 2. MATERIELS & METHODES

# 2. MATERIELS & METHODES

Le but de la présente enquête était d'évaluer la capacité de la biomasse algale *Arthrospira platensis* à éliminer un mélange de produits pharmaceutiques (en batch) issus d'une industrie pharmaceutique : diclofénac, ampicilline et sulfaméthoxazole.

Ainsi, pour répondre aux objectifs de cette étude, nous avons adopté la démarche expérimentale qui comprend les étapes suivantes **:**

- *Tester la faisabilité de bioremédiation en batch des trois (03) polluants émergents.*
- *Suivi de la cinétique de dégradation des polluants en fonction du temps de traitement*.

L'intégralité de ce travail a été réalisée au sein du laboratoire pédagogique de biologie (LPB), de la faculté des sciences, à l'université Yahia Farés de Médéa, durant la période « Février-Mai 2023 ».

## 2.1 Matériel

Cette étude a été conduite sur l'algue bleue verte "***Arthrospira platensis***" appartenant à la classe des cyanobactéries d'origine algérienne de wilaya de Tamanrasset (variété propre à la région). La souche a été aimablement fournie en culture dans des flacons de 500 mL par le laboratoire de faculté des sciences de l'Université de Yahia Farès (Médéa) ; Sous des conditions de culture bien précis.



***Fig.2.1.*** *Arthrospira platensis* fournie en culture

- Les produits chimiques et réactifs utilisés au cours de cette étude sont les suivants :

Diclofénac (99.46%), sulfaméthoxazole (99.84%), ampicilline sodique (91.43%), eau ultra pure méthanol, $NaHCO_3$, $K_2HPO_4$, $NaNO_3$, $K_2SO_4$, NaCl, $MgSO_4(7H_2O)$, $CaCl_2$, $FeSO_4(7H_2O)$, EDTA, $H_3BO_3$, $MnCl_2(4H_2O)$, $ZnSO_4(7\ H_2O)$, $CuSO_4(7\ H_2O)$, $MoO_3$, eau ultra pure.

- L'appareillage utilisé est le suivant **:**

Autoclave de marque OTO12 ; Bec Bunsen ; Etuve de marque Memmert ; Microscope optique de marque Optika microscopes ; Réfrigérateur de marque Liebherr ; Spectrophotomètre de marque UV-1600PC et de marque UVmini-1240 ; Agitateur de marque Agimatic-N ; Balance de marque Kern et de marque DENVER ; centrifugeuse de marque OHAUS ; micropipette 100-1000ul de marque EASY AOT ; micropipette 2-20ul de marque EASY 40+ ; pH mètre de marque pH-2005-pH Meter ; Luxmètre de type 1308SI ; Thermomètre numériques ; conductimètre ; flacons de 500 ml ; pompe air aquarium ; thermostat ; minuteur ; lampe fluorescent.

## 2.2 Méthodes

### 2.2.1 Organisme et conditions de culture

#### 2.2.1.1 Dispositif expérimentale de culture de la biomasse algale

Le dispositif expérimental a été structuré de manière à ce que la souche soit cultivée dans un milieu de culture favorable par la présence des éléments minéraux nécessaires à la croissance dans des flacons (photo-bioréacteurs cylindriques) de 500 mL, maintenus dans des conditions de :

- **Eclairement :** Un éclairage en jour pour les cultures (photopériode 12 :12 à l'aide d'un programmateur) est assuré à l'aide d'une lumière blanche par lampe fluorescente (2500 Lux)
- **Température :** La température est maintenue à une valeur optimale de 32 °C à l'aide de thermostats réglables
- **Débit d'air :** L'agitation des cultures est assurée par barbotage d'air à l'aide de pompes à air avec un débit de 3 L/min pour assurer une bonne aération et permettre aux cellules l'accès aux nutriments et à la lumière

Les échantillons ont été prélevés chaque jour pour mesurer la densité optique (DO), détermination de la productivité et le taux de croissance spécifique.



***Fig.2.2.*** Culture de la spiruline dans les conditions expérimentales

### 2.2.1.2 Préparation du milieu de culture

Le milieu de culture de référence étant le milieu standard Zarrouk (décrit par Zarrouk en 1966.) Il est composé d'eau et éléments nutritifs essentiels pour la croissance d'*Arthrospira platensis*. Les composants de milieu sont pesés et mélangés avec l'eau distillée puis le mélange est agité pendant 20min et par la suite le milieu de culture est ajusté à pH = 9 par addition de NaOH (4N). Il est conservé à l'abri de la lumière à pH égal à 9.5, après stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes. Sa composition est donnée dans le tableau **2.1**

***Tableau 2.1 :*** Composition chimique du milieu Zarrouk **(Zarrouk, C, 1966).**

| Produit chimique | Quantité en g/l d'eau |
|---|---|
| **NaHCO3** | 16 |
| **K2HPO4** | 0.5 |
| **NaNO3** | 2.5 |
| **K2SO4** | 1.0 |
| **NaCl** | 1.0 |
| **MgSO4, 7H2O** | 0.2 |
| **CaCl2** | 0.04 |
| **FeSO4, 7H2O** | 0.01 |
| **EDTA** | 0.08 |

A chaque 1 litre des composants du milieu de base ci-dessus, on a ajouté 1 ml de chacune des solutions d'oligoéléments A5 et B6.

***Tableau 2.2 :*** Composition chimique de la solution A5 **(Zarrouk, C. 1966).**

| Oligo-éléments | Concentration ($g.L^{-1}$) |
|---|---|
| **H3BO4** | 2,86 |
| **MnCl12.4 H2O** | 1,80 |
| **ZnSO4.7 H2O** | 0,22 |
| **CuSO4.7 H2O** | 0,08 |
| **MoO3** | 0,01 |

***Tableau 2.3 :*** Composition chimique de la solution B6 **(Zarrouk, C. 1966).**

| Oligo-élément | $10^4$ x Concentration (g.L-1) |
|---|---|
| **K2Cr(SO4).24H2O** | 960 |
| **NiSO4.7H2O** | 477 |
| **Ti(SO4)3** | 400 |
| **NH4VO3** | 229 |
| **Co(NO3)2.6H2O** | 44 |

### 2.2.1.3. Vérification de la culture d'*Arthrospira platensis*

#### 2.2.1.3.1. Suivi morphologique par microscopique optique

L'observation microscopique de spiruline permet de vérifier l'état de culture et l'étape de croissance, ainsi pour mettre en évidence la mobilité et faire une approche sur la morphologie. Cet examen se réalise en déposant sur une lame porte-objet une goutte de culture de la souche *Arthrospira platensis* à examiner, cette goutte est recouverte d'une lame couvre-objet. La préparation est examinée à l'objectif à immersion (100x), après dépôt d'une goutte d'huile immersion.

#### 2.2.1.3.2. Suivi analytique par spectroscopie UV-Vis

L'évolution de la biomasse algale a été mesurée par absorption a une longueur d'onde de lecture $\lambda$ = 618 nm a pour but de se concentrer sur l'adaptabilité et la croissance de la biomasse.

### 2.2.2. Tests de bioremédiation

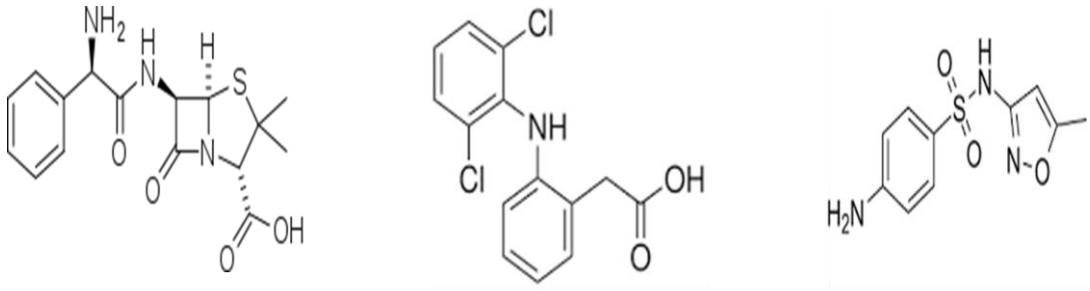
#### 2.2.2.1. Faisabilité de Bioremédiation des PEs

Un test de traitabilité sur l'élimination de trois (03) substances pharmaceutiques séparément (Ampicilline, Diclofénac, Sulfaméthoxazole,) à l'aide de la biomasse algale *Arthrospira platensis* a été réalisée à l'aide de flacons de 250 mL sous des conditions de cultures biens précises (Concentration de biomasse = 50% ; pH = 9.5 ; T = 25 °C ; lumière = 2000 Lux ; concentration de polluant = 50 µg/L et 50 ng/L ; temps de traitement = 6 Jours ; $V_{MR}$ = 100 mL ; débit d'air : 3 L/min).



***Fig.2.3.*** Montage expérimentale de bioremédiation

Les produits pharmaceutiques ont été fournées par le complexe *Antibiotical* du groupe Saïdal de Médéa avec une pureté ≥ 98 % sous forme déshydraté et ont été dopés dans le milieu de culture à une concentration d'environ 50 $\mu g.L^{-1}$ et 50 $ng.L^{-1}$ pour chaque médicament à partir d'une solution mère fraîchement préparée dans l'eau ultra pure avec une concentration de 10 mg/100 mL avant le test de traitabilité.




(A) (B) (C)

***Fig.2.4.*** Structures chimiques de polluants émergents :
(A) Ampicilline, (B) Diclofénac, (C) Sulfaméthoxazole.

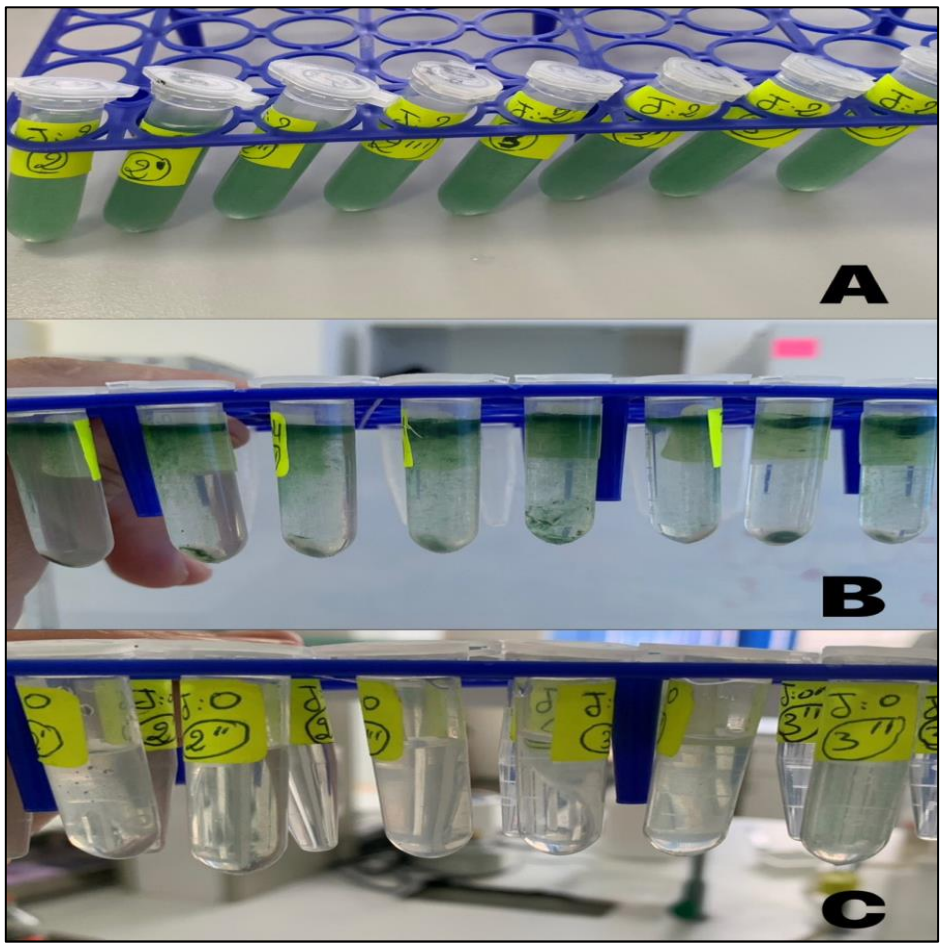



***Fig.2.5.*** Procédé de filtration : **(A)** Mélange biomasse /PEs
**(B)** Séparation de mélange biomasse/PEs **(C)** Filtrat

- **Méthodes analytiques**

### A. Dosage des médicaments (rendement de bioremédiation)

Après une durée de traitement fixe, le mélange biomasse + polluant émergent doit être filtré et analysé par HPLC. Le rendement de bioremédiation de polluant émergents est calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{(H_I - H_F)}{H_I} \times 100$$

Où :

- R (%) représente le rendement de bioremédiation (%)
- Hi est la hauteur du pic du médicament sélectionné au début de l'expérience
- Hf est la hauteur du pic du médicament sélectionné à la fin.de l'expérience

## B. Suivi des paramètres de culture d'*Arthrospira platensis*

### B.1. Contrôle de la viabilité et de l'état physiologique (Examen à l'état frais)

On dépose sur une lame porte-objet une goutte de culture de la souche *Arthrospira platensis* à examiner, cette goutte est recouverte d'une lame couvre-objet. La préparation est examinée à l'objectif à immersion (100x), après dépôt d'une goutte d'huile à immersion. Observations :

- Grossissement 10X, 40X, 100X.
- Diaphragme quasiment fermé pour augmenter le contraste.
- Une intensité lumineuse ajustée.

### B.2. Contrôle de l'évolution de biomasse (suivi de croissance)

#### B.2.1. Concentration de la biomasse

La biomasse d'*Arthrospira platensis* est évaluée en mesurant la densité optique de la culture chaque jour à λ = 618 nm par un spectrophotomètre **(Tedesco & Duerr, 1989).** Les DO obtenues ont été converties en concentrations de cellule sèche (Poids sec) en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage.

**Détermination du poids sec**

Le poids sec de biomasse d'*A. Platensis* est déterminé par l'équation suivante :

$$PS = \frac{DO - 0.085}{1.1482}$$ **(Ainas, 2018)**

Avec :

PS : le poids sec (gramme)

DO : densité optique (λ = 618 nm)

### B.2.2. Détermination de la teneur en chlorophylle a

Un échantillon de 5 mL de suspension algale additionné avec 5mL de méthanol est centrifugé pendant 5 min à 3500 rpm. Le culot est conservé (le surnageant est rejeté), le culot est remis en suspension dans 5 mL de méthanol et homogénéisé **(Vonshak, 2002).**

Les échantillons sont incubés dans un bain-marie, à 70 °C pendant 2 min. Ensuite, l'échantillon est centrifugé à nouveau pendant 5min à 3500 rpm, et le surnageant est utilisé pour la mesure.

La densité optique de ce dernier est lue au spectrophotomètre (UV - Visible) à 665, 645 et 630 nm. La quantité de chlorophylle est calculée selon l'équation suivante **(Vonshak, 2002) :**

$$[Ch\ a] = 11.6(DO665) - 1.31(DO645) - 0.145(DO630)$$

Avec : « Ch a » c'est la concentration de chlorophylle a en mg/l

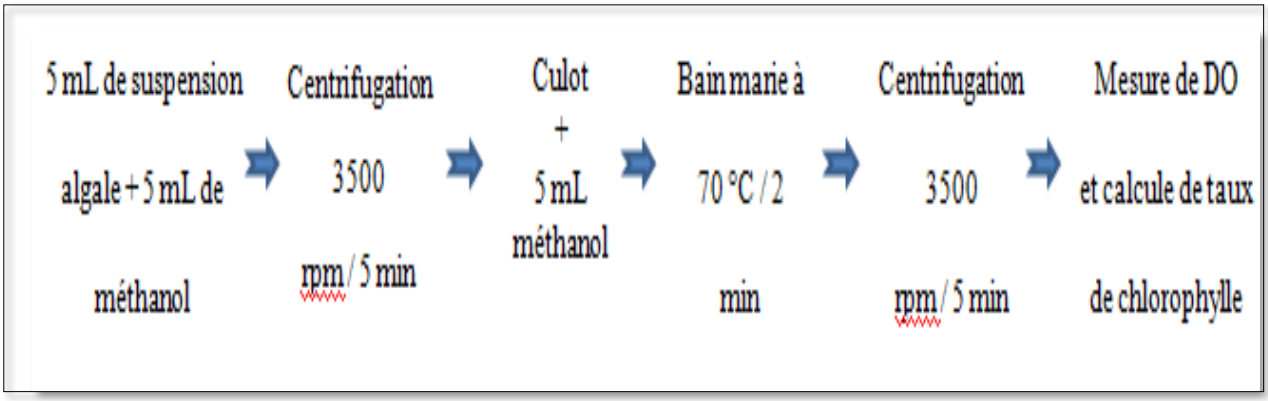



***Fig.2.6.*** Etapes de détermination de la chlorophylle a

### 2.2.2.2 Suivi de la cinétique de dégradation des polluants

Deux expériences de biodégradation d'un mélange de médicaments (Ampicilline, Diclofénac et Sulfaméthoxazole) séparée et en combinaison à l'aide de la biomasse algale *Arthrospira platensis* a été réalisée dans des flacons de 250 mL sous des conditions de cultures biens précises (Concentration de biomasse = 50% ; pH = 9.5 ; T = 25±1 °C ; lumière = 2000 Lux ; concentration des polluant = 50 µg/L et 50 ng/L de chaque médicament ; temps de traitement = 6 Jours; $V_{MR}$ = 100 mL ; débit d'air : 3 L/min).

Pour surveiller la concentration de PEs en comparaison avec des témoins de dégradation de ces trois médicaments séparément dans les mêmes conditions expérimentales, des échantillons de 2 mL ont été prélevés à l'heure habituelle (toutes les 24 h), centrifugés à 4300 ×g pendant 20 min et filtrés à travers un filtre Millipore (0,22 µm) directement dans des flacons ambrés pour analyse HPLC.

L'évolution temporelle de la concentration de DCF, AMP et SMX au cours des expériences ont été suivie à l'aide d'un HPLC UV (Y9260 SHIMADZU) muni d'une colonne C18 (2.1×150 mm, 3.5 µm) SB-C18). Un mélange d'acétonitrile (25%), d'eau ultrapure (65%) et d'acide formique 25 mM (10%) à un débit de 0,5 ML.min-1 a été utilisé comme phase mobile. Les concentrations pharmaceutiques ont été déterminées à une longueur d'onde de 270 nm. Le volume d'injection était de 20 µL. La zone de pic de DCF, SMX et AMP a été utilisée pour estimer le pourcentage de dégradation à l'aide de l'équation suivante :

$$TE(\%) = \frac{(H_I - H_t)}{H_I} \times 100$$

Où : TE (%) représente le taux d'élimination pharmaceutique (%), Hi est la hauteur du pic du médicament sélectionné au début de l'expérience et Ht à un instant t.

La croissance bactérienne a été mesurée par densité optique à 618 nm en utilisant un spectrophotomètre DR6000, Hach.



***Fig.2.7.*** HPLC de type Y9260 SHIMADZU

# 3. RESULTATS & DISCUSSION

# 3. RESULTATS & DISCUSSION

## 3.1 Vérification de la culture d'*Arthrospira platensis*

### 3.1.1 Suivi morphologique par microscopique optique

De point de vue de morphologie l'examen microscopique est un moyen direct qui révèle l'état réel de la culture

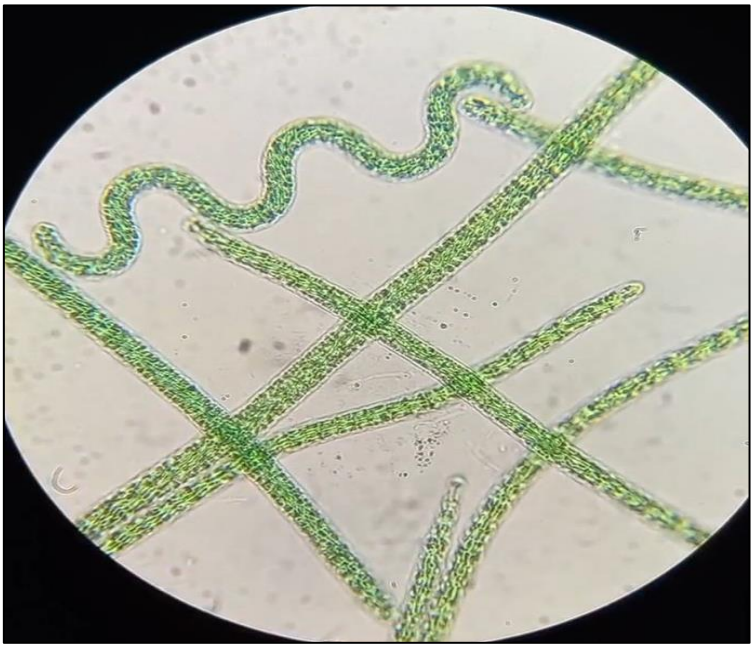


***Fig.3.1.*** Observation microscopique de spiruline à l'état frais à l'objectif 100x

L'observation microscopique de spiruline à l'état frais montre que la souche Arthrospira platensis est mobile, présentée sous une forme droite et filamenteuse à morphologie hélicoïdale du trichome avec une couleur vert vif (figure 3.1). Ce qui confirme que l'échantillon de spiruline été en bonne état de culture selon **(MUHLING., 2000).**

### 3.1.2 Suivi analytique par spectroscopie UV-Vis

L'évolution de la biomasse algale a été mesurée par absorption a une longueur d'onde de lecture λ = 618 nm a pour but de se concentrer sur l'adaptabilité et la croissance de la biomasse.

***Tableau 3.1*** **:** Le poids sec de la biomasse pendant les jours

| **Jours** | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **PS** | 1.80 | 1.61 | 1.60 | 1.53 | 1.70 | 1.72 | 1.46 | 1.54 | 1.65 | 1.59 | 1.45 | 1.58 |

D'après ce tableau nous observons que le poids sec de la biomasse est à l'intervalle de croissance entre [1.40 ; 1.80] donc la souche été en bonne état.

## 3.2 Tests de bioremédiation

### 3.2.1 Faisabilité de Bioremédiation des PEs mixtes

**A. Dosage des médicaments (rendement de bioremédiation)**

Après une durée de traitement fixe, le mélange biomasse + polluant émergent doit être filtré et analysé par HPLC. Le rendement de bioremédiation de polluant émergents est calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{(H_I - H_F)}{H_I} \times 100 \qquad \text{(Eq.3.1)}$$

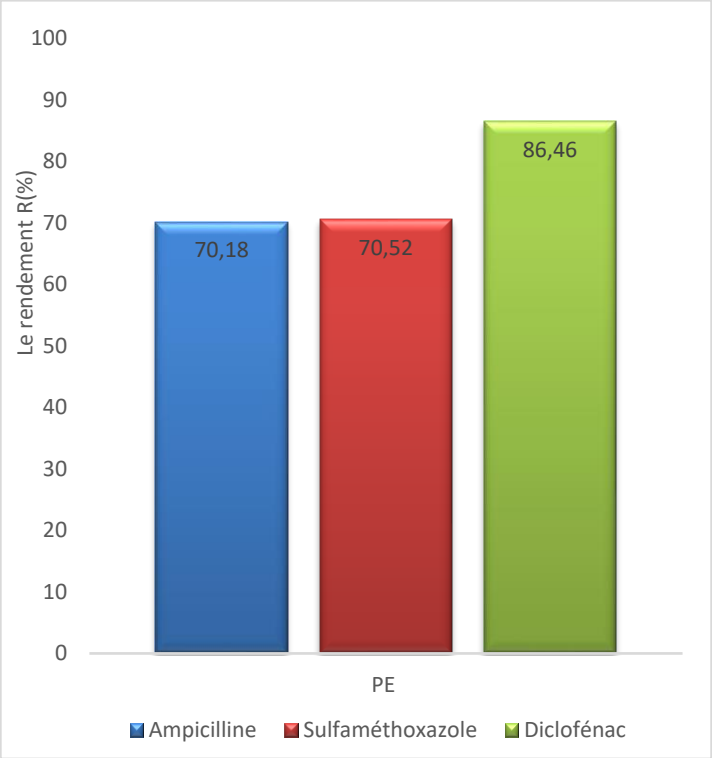



**Fig.3.2.** Performance de notre biomasse a bioremédier les polluants émergents pharmaceutiques.

*Concentration de biomasse =50% ; pH =9.5 ; T=25 °C ; lumière =2000 Lux ; concentration de polluant =50 µg/L ; temps de traitement= 6 Jours ; VMR=100 mL*

Selon la figure 3.2, le rendement de bioremédiation de trois PEs séparés est important, parmi ces résultats on trouve la valeur minimale de R de l'ordre de 70,18 % pour l'ampicilline et la

valeur maximal est de l'ordre de 86,46 % pour le diclofénac et pour le sulfaméthoxazole est de l'ordre 70,52%.

**B. Suivi des paramètres de culture d'*Arthrospira platensis***

**B.1 Contrôle de la viabilité et de l'état physiologique**

On a suivi la morphologie de notre culture *Arthrospira platensis* pendant les 6 jours de bioremédiation.

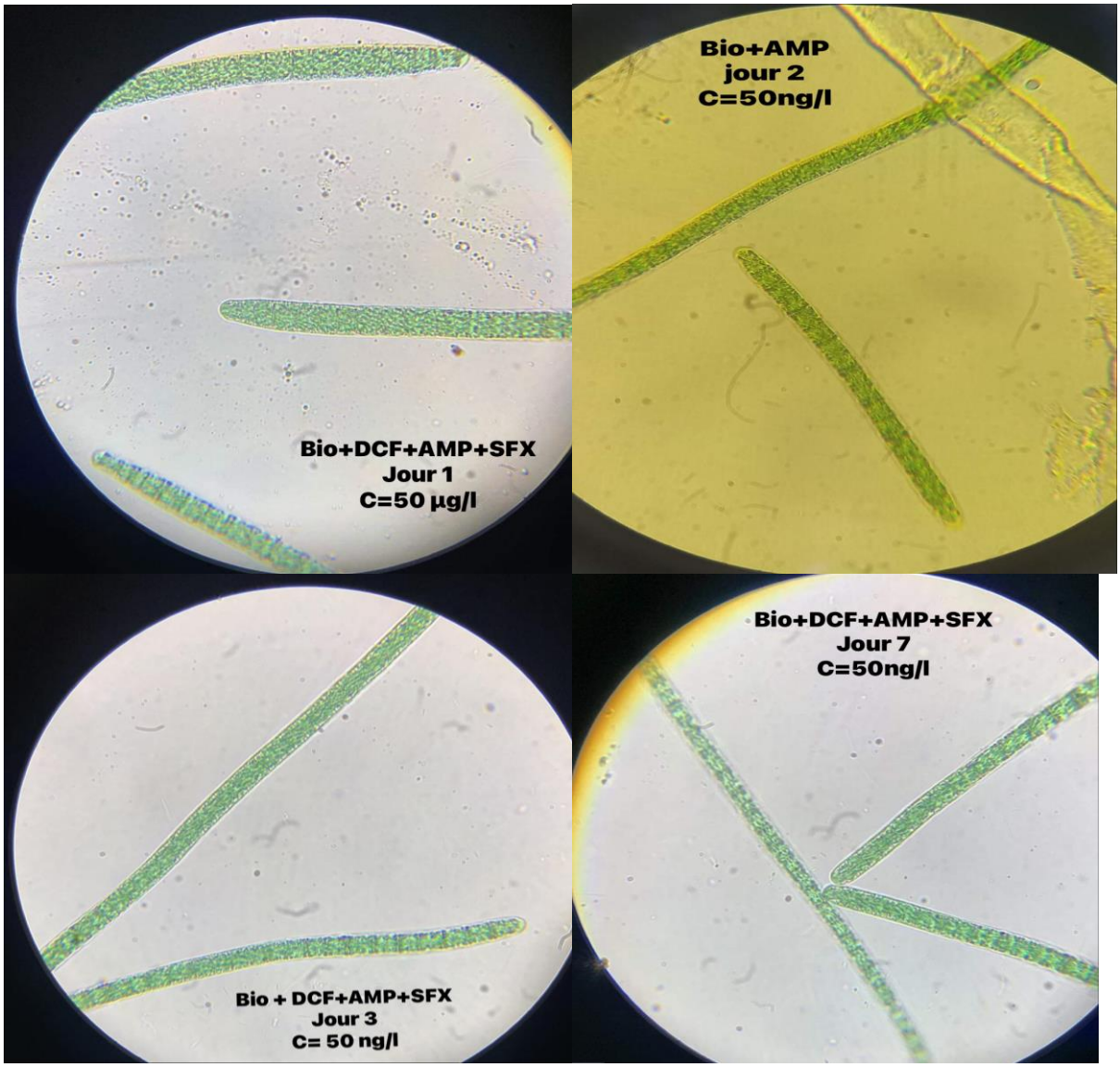



***Fig.3.3***. Effet des PEs sur la souche *Arthrospira platensis*

La figure 3.3 représente l'effet des polluants émergents sur la souche *Arthrospira platensis* pendant les jours de bioremédiation. Nous observons que la souche dans l'état normale Donc nous en concluons que notre biomasse algale contenue sa croissance au présence de stresse des polluants émergents.

**B.2 Contrôle de l'évolution de biomasse (suivi de croissance)**

**B.2.1 Concentration de la biomasse (Détermination du poids sec)**

Les figures suivantes représentent le poids sec de la souche pendant les jours de bioremédiation Le poids sec de biomasse d'*A. Platensis* est déterminé par l'équation suivante :

$$PS = \frac{DO - 0.085}{1.1482} \qquad \text{(Eq.3.2)}$$

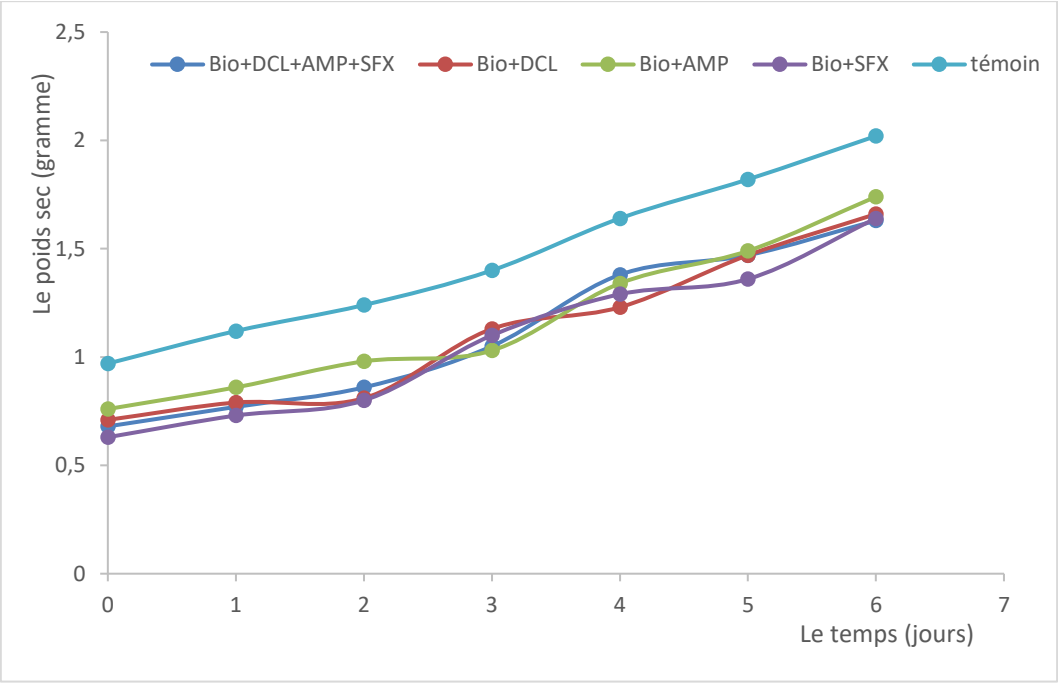



***Fig.3.4.*** Effet des PEs sur Le poids sec de la biomasse pendant les jours

Condition opératoire : *Concentration de biomasse =50% ; pH = 9.5; T= 25 °C ; lumière = 2000 Lux ; concentration de polluant = 50 µg/L ; temps de traitement= 6 jours ; VMR=100 mL.*

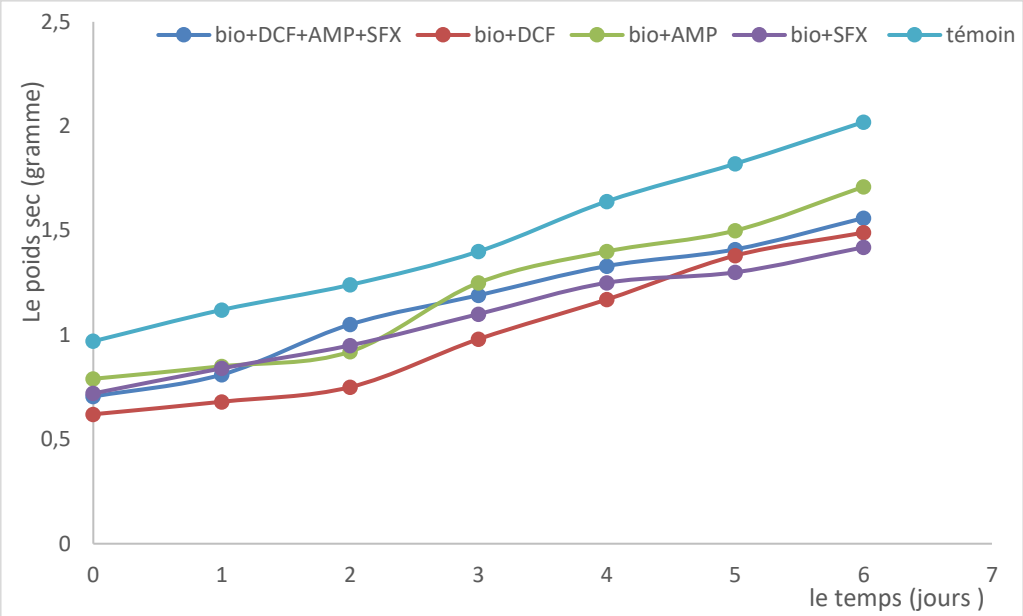



***Fig.3.5.*** Effet des PEs sur Le poids sec de la biomasse pendant les jours

Condition opératoire : *Concentration de biomasse =50% ; pH = 9.5; T= 25 °C ; lumière = 2000 Lux ; concentration de polluant = 50 ng/L ; temps de traitement= 6 jours ; VMR=100 mL*

D'après les résultats obtenus des figure 3.4 et 3.5 nous observons que les valeurs de poids sec sont croissantes pendant les six jours de bioremédiation pour les deux concentration 50µg/L et 50ng/L des PEs mais a des valeurs moins par rapport le témoin et nous avons des valeurs minimales pochées entre l'intervalle de [0,6 à 0,8] pour les 4 échantillons (bio+DCF+AMP+SFX) et (bio+DCF) et (bio+AMP) et (bio+SFX) et des valeurs maximales entre l'intervalle de [1,5 à 1,8].

Donc la biomasse continue sa croissance en présences de stress.

**B.2.2 Détermination de la teneur en chlorophylle « a »**

La quantité de chlorophylle est calculée selon l'équation suivante :

$$[Ch\ a] = 11.6(DO665) - 1.31(DO645) - 0.145(DO630) \quad \text{(Eq.3.3)}$$

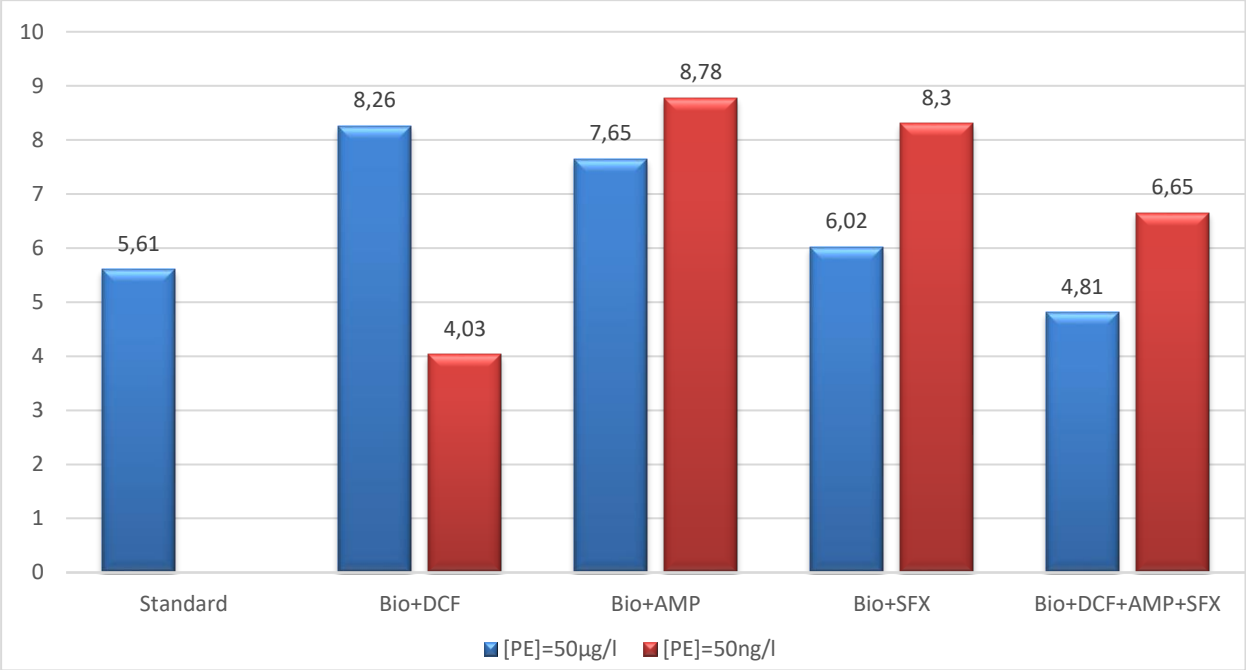



***Fig.3.6.*** Effet des PEs sur la concentration de la chlorophylle « a » de la biomasse

Selon la figure 3.6, pour la concentration 50µg/L des PEs, nous avons des valeurs croissantes par rapport le standard pour les 3 mélanges séparés donc il y a une stimulation de souche et pour le mélange en batch la souche sous stress des PEs

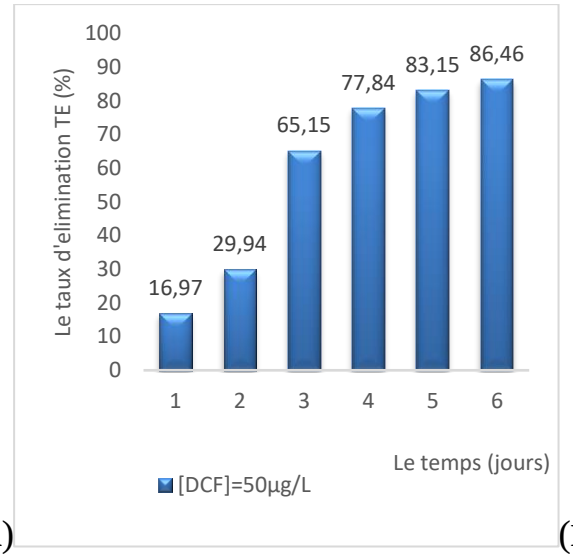
Pour la concentration 50ng/ la souche stressée dans le mélange Bio+DCF et stimulée dans les autres mélanges.

### 3.2.2 Suivi de la cinétique de dégradation des polluants

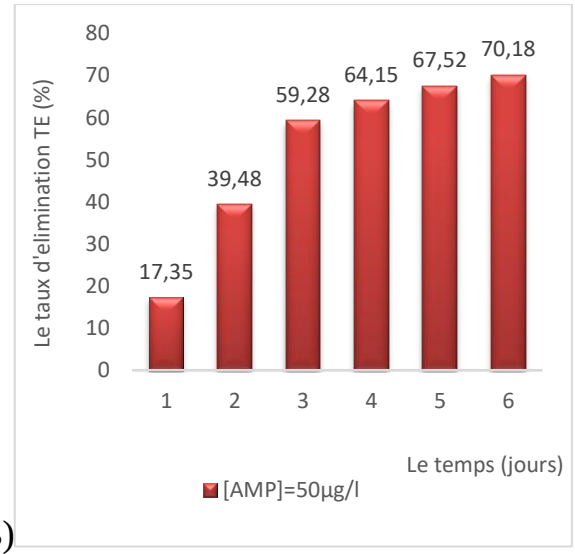
Le taux d'élimination pharmaceutique calculée par l'équation suivante :

$$TE(\%) = \frac{(H_I - H_t)}{HI} \times 100 \qquad \text{(Eq.3.4)}$$

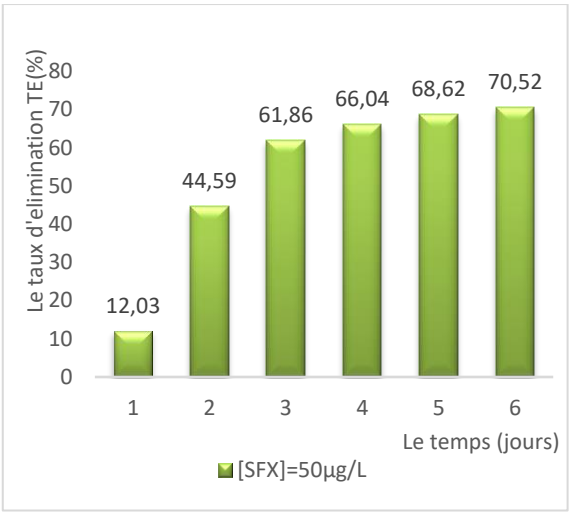
Où : TE (%) représente le taux d'élimination pharmaceutique (%), Hi est la hauteur du pic du médicament sélectionné au début de l'expérience et Ht à un instant t.




**(A)**




**(B)**




**(C)**

**Fig.3.7.** Le taux d'élimination des PEs séparées pendant 6 jours [PE]=50 µg/L

(A) Diclofénac (B) Ampicilline (C) Sulfaméthoxazole

Selon les résultats indiques par la figure 3.7, on a vu une augmentation de taux d'élimination des trois PEs séparées pendant les 6 jours.

Pour la fig.3.7 (A) on observer une valeur minimale de 16,97% pour le 1$^{er}$ jour et une valeur maximale de 86,46% pour le dernier jour. Et la fig.3.7 (B) nous trouvons un minimum de 17,35% le jour 1 et un maximum de 70,18% le jour dernier.et pour la fig.3.7(C) nous observons un taux de 12,03% le premier jour et un taux de 70,52% pour le 6-ème jour.

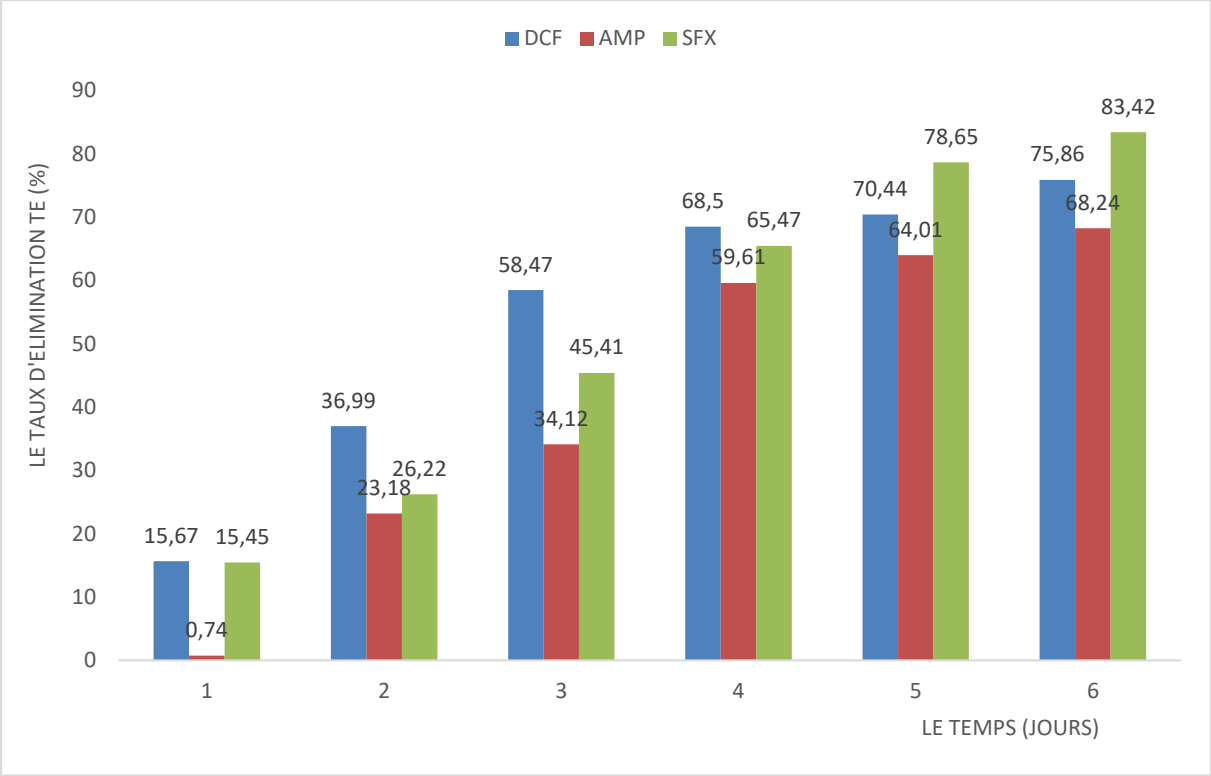



**Fig.3.8**. Le taux d'élimination des PEs en batch (DCF, AMP, SFX) pendant les 6 jours [PE]=50 µg/L

Selon les résultats indiques par la figure 3.8, on a vu une augmentation de taux d'élimination des trois PEs (DCF, AMP, SFX) mélangées pendant les 6 jours.

Pour le DCF nous regardons une augmentation de taux à partir de 15,67% pour le 1$^{er}$ jour jusqu'à 75,86% pour le 6$^{eme}$ jour. Pour le 2eme polluant AMP on a remarqué une valeur minimale très proche de zéro 0,74 % et une valeur maximale de 68,24%. Le SFX on a obtenu une haute valeur maximale de 83,42% par rapport les 2 autres polluants et une valeur de 15,45% pour le minimal.

Ces résultats de DCF sont proches à celles trouves par **(Escapa et *al.*, 2016)** qui varient de valeur taux d'élimination 79,09% par *Scenedesmus obliquus*.

.

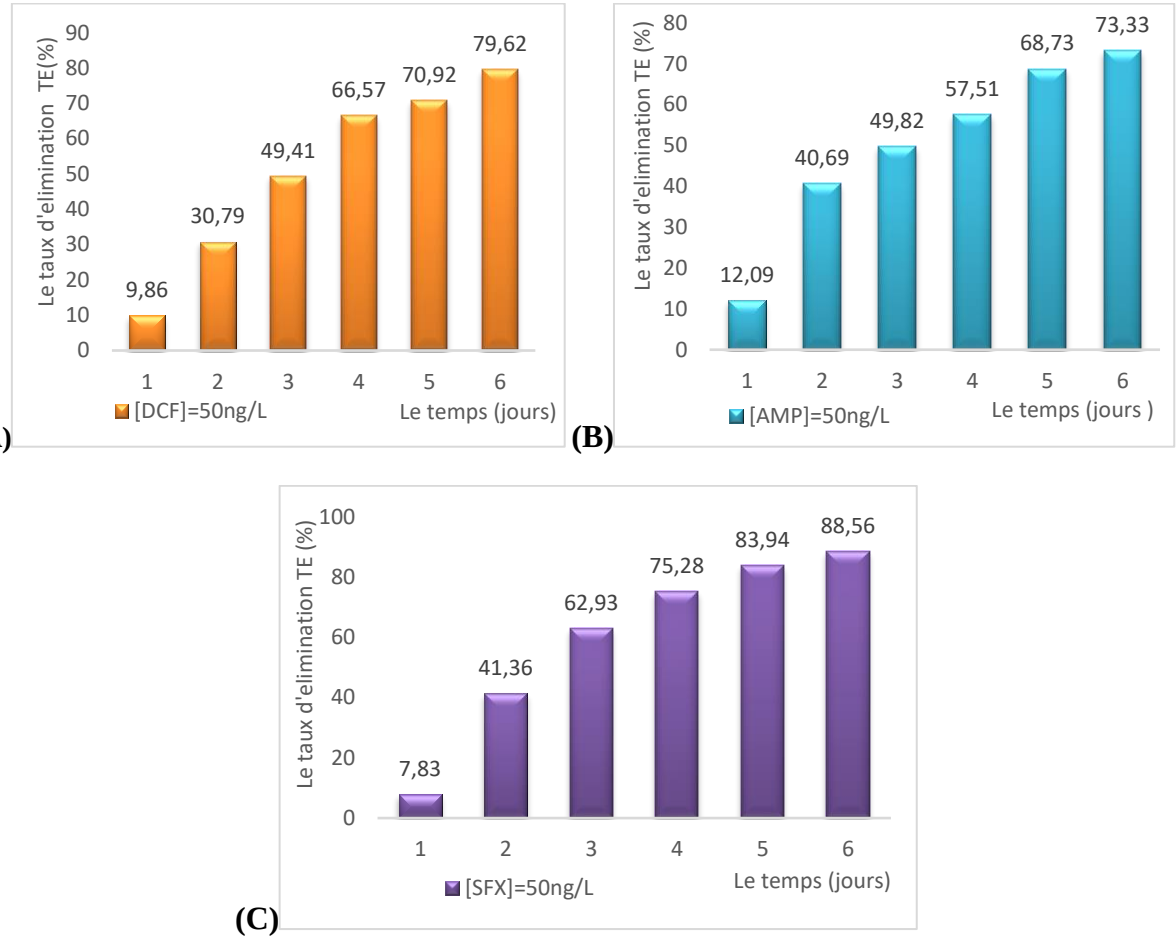



**Fig.3.9.** Le taux d'élimination des PEs séparées pendant 6 jours [PE]=50 ng/L

(A) Diclofénac (B) Ampicilline (C) Sulfaméthoxazole

Les résultats obtenus représentent le taux d'élimination des trois polluants de concentration de 50ng/l.

Pour la fig.3.9 (A) on observer une valeur minimale de 9,86% pour le 1$^{er}$ jour et une valeur maximale de 79,62% pour le dernier jour. Et la fig.3.9 (B) nous trouvons un minimum de 12,09% le jour 1 et un maximum de 73,33% le jour dernier.et pour la fig.3.9(C) nous observons un taux de 7,83% le premier jour et un taux de 88,56% pour le 6eme jour.

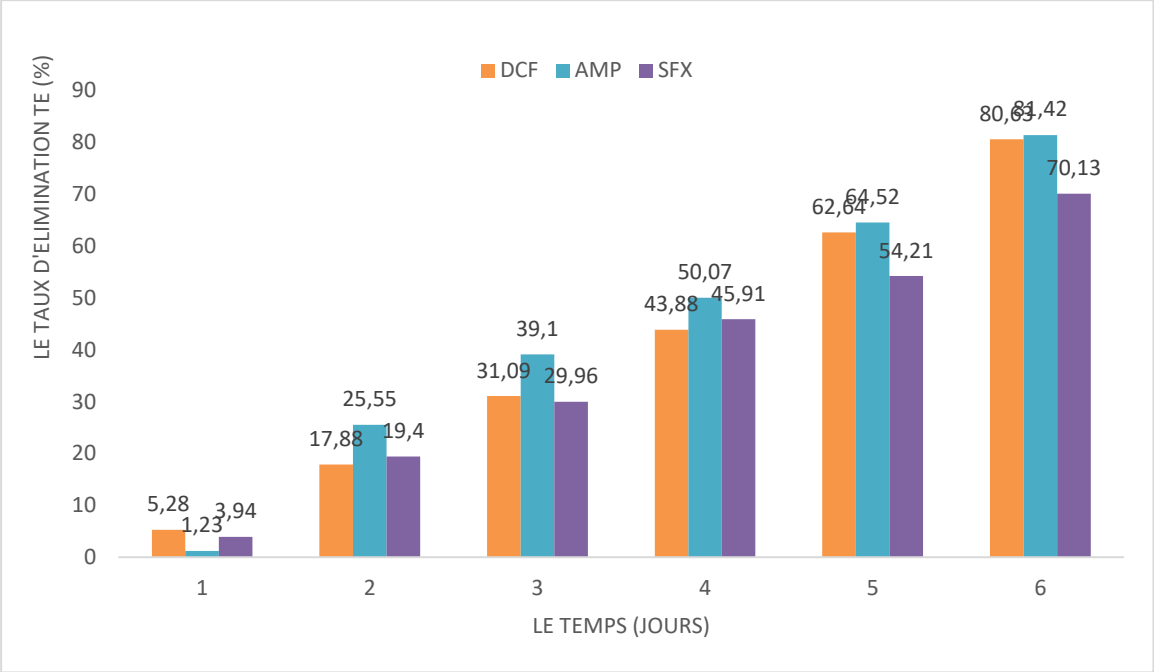



**Fig.3.10.** Le taux d'élimination des PEs en batch (DCF, AMP, SFX) pendant les 6 jours [PE]=50 ng/L

Nos résultats sont comparables à d'autres études qui ont été utilisé *S.oblique* pour la bioremédiation micro algale des effluents des industries pharmaceutique pour éliminer le sulfaméthoxazole( SFX) séparée avec une efficacité d'élimination de 27,7% jusqu'à 46,8% d'après **(Mustafa et *al.*, 2021)** .D'après **(Chojnacka et *al.*, 2022)** une de DCF séparée avec une concentration initial 555.9 ng/L et le taux d'élimination est 70%

On a fait une comparaison de taux d'élimination des trois médicamentes selon les deux cas séparés et en batch avec les concentrations microgramme et nanogramme par litre

***Tableau 3.2 :*** comparaison de taux d'élimination des PEs selon la concentration et le mélange séparé et en batch

| | | DCF | AMP | SFX |
|---|---|---|---|---|
| Concentration µg/l | PE séparé | 86.46% | 70.18% | 70.52% |
| | PE en batch | 75.86% | 68.24% | 83.42% |
| Concentration ng/l | PE séparé | 79.62% | 73.33% | 88.56% |
| | PE en batch | 80.63% | 81.42% | 70.16% |

D'après le tableau 3.2 on a obtenir le meilleur taux d'élimination pour le DCF est 86.48% avec la concentration en µg/l séparé, Et pour AMP le meilleur taux d'élimination environ 81.42% avec la concentration ng/l en batch. Concernant le SFX le pourcentage 88.56% considérer le meilleur taux d'élimination avec la concentration en ng/l séparé.

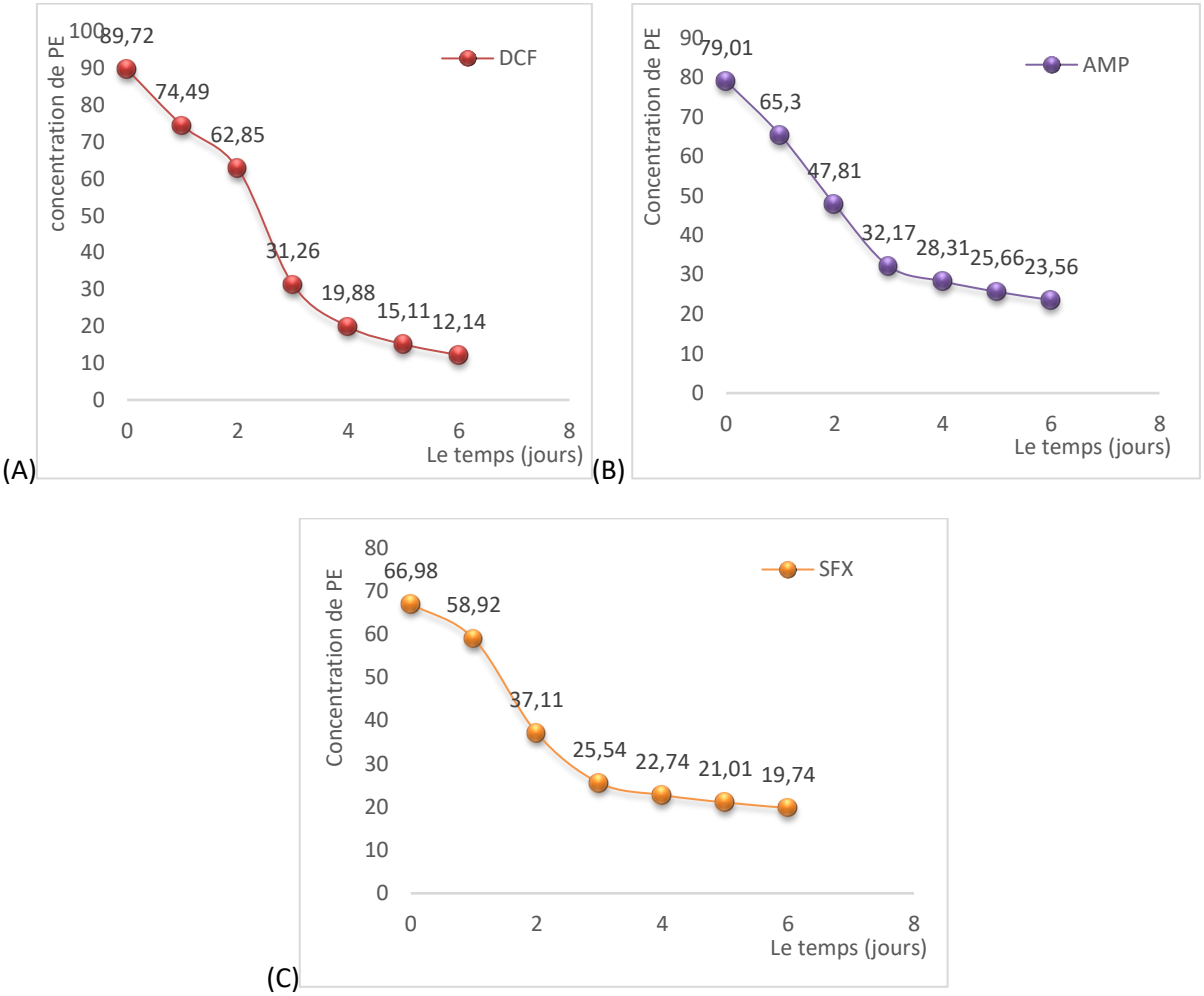



**Fig.3.11.** La concentration des PEs séparées pendant 6 jours [PE]=50 µg/L

(A) Diclofénac (B) Ampicilline (C) Sulfaméthoxazole

Selon les résultats obtenus dans notre expérience (fig. 3.11) on à détecter que les valeurs de la concentration de PEs (50µg/L) séquentiellement diminue pendant les six jours de traitements.

Avant de commencer le traitement la concentration de DCL autour de 89 ,72 et l'AMP de 79,01 et pour le SFX de 66 ,98. Apres le traitements la concentration de DCF atteint environ 12,14, pour l'AMP de 23,56 et pour le SFX 19,74.

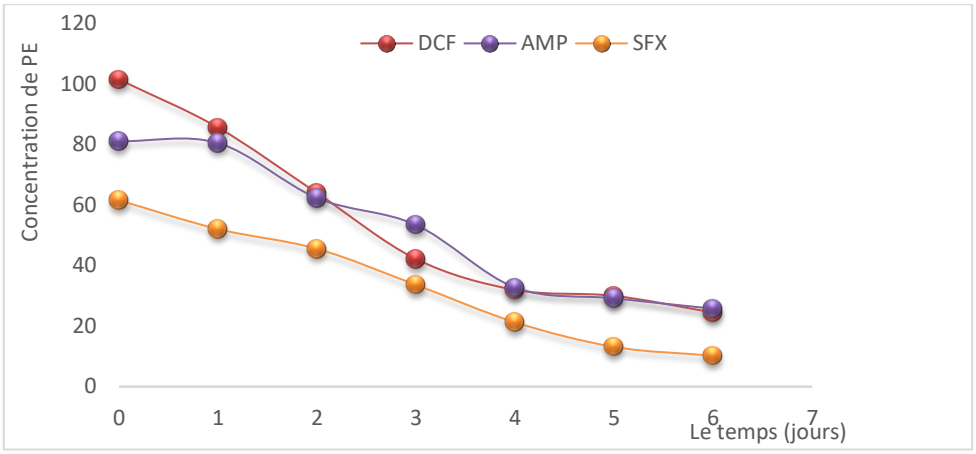
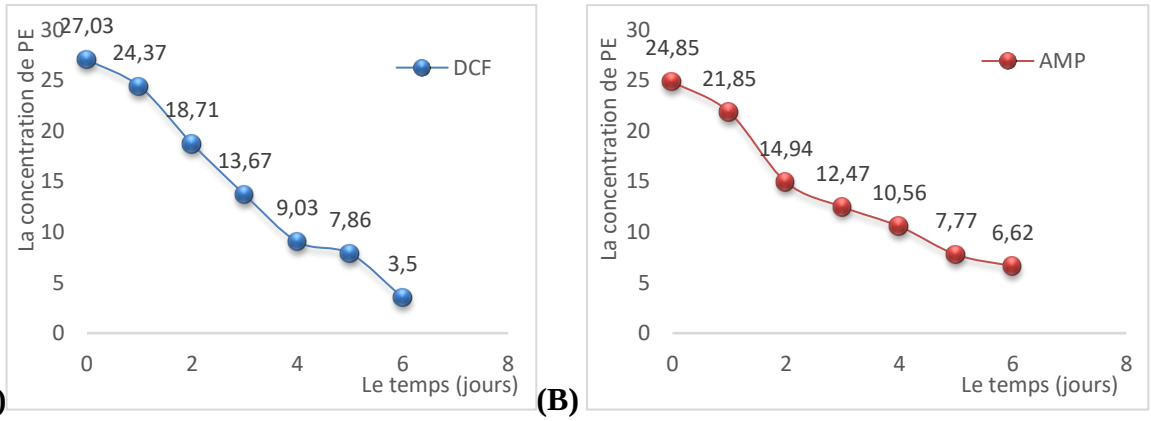



**Fig.3.12.** La concentration des PEs en batch (DCF, AMP, SFX) pendant les 6 jours

[PE]=50 µg/L

Selon les résultats obtenus dans notre expérience (fig.3.12) on à détecter que les valeurs de la concentration de PEs (50µg/L) en batch diminue pendant les six jours de traitements.

Dans le jour zéro la concentration de [DCF, AMP, SFX] est [101,55 ;81,12 ;61,6] respectivement, et dans le dernier jour (le jour 6) nous constatons que la concentration atteinte 24,5 pour le DCF, 25,76 pour AMP et 10,21 pour le SFX.



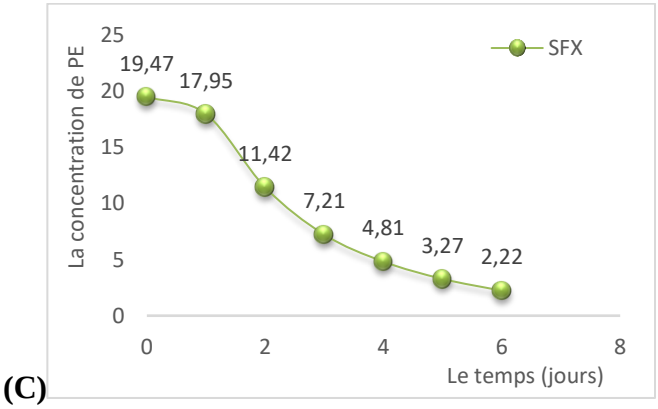




**Fig.3.13.** La concentration des PEs séparées pendant 6 jours [PE]=50 ng/L

(A) Diclofénac (B) Ampicilline (C) Sulfaméthoxazole

L'analyse de la fig.3.11 montre une diminution de la concentration de PEs (50ng/L) séquentiellement pendant les six jours de traitements.

Avant de commencer le traitement la concentration de DCF représenté par la valeur 27,03, l'AMP par la valeur 24,85 et pour le SFX par la valeur 19,47. Apres les six jours on obtient la valeur 3,6 concernant le DCF, 6,26 concernant l'AMP et 2,22 pour le SFX.

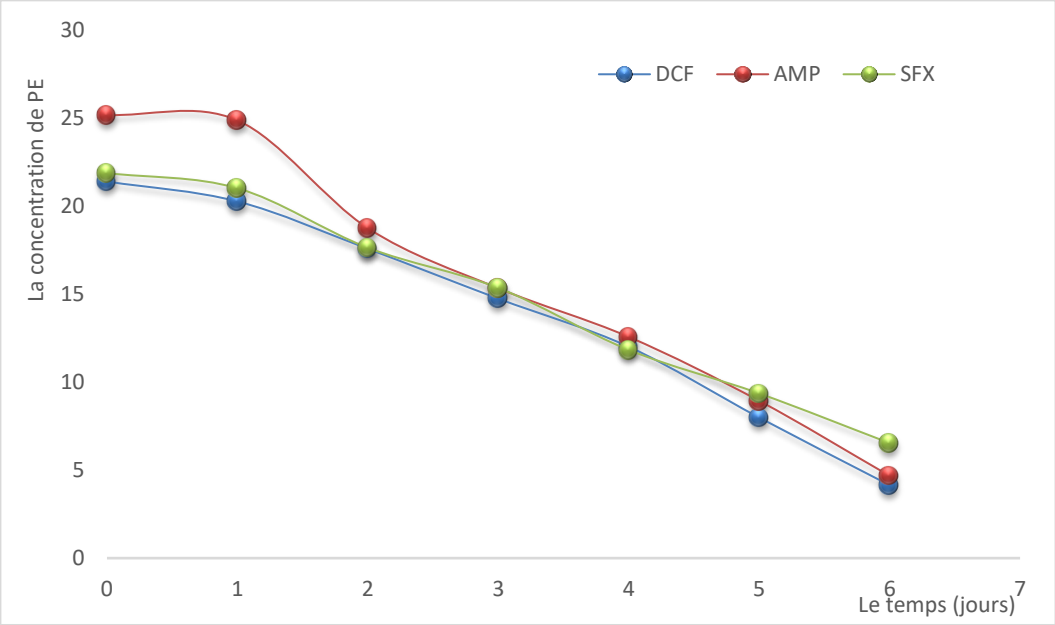



**Fig.3.14.** La concentration des PEs en batch (DCF, AMP, SFX) pendant les 6 jours

[PE]=50 ng/L

L'analyse de la fig.3.12 montre une diminution de la concentration de PEs (50ng/L) en batch pendant les six jours de traitements.

Avant de commencer le traitement la concentration de PEs [DCF, AMP, SFX] est [21,38 ; 25,15 ;21,86], après le traitement de six jours nous remarquons que la concentration a diminué à environ 4,14 pour le DCF, 4 ,67 pour l'AMP et 6,53 pour le SFX.

# CONCLUSION GENERALE

# CONCLUSION GENERALE

Notre dégradation microbienne en batch des polluants organiques en trace contenant dans un effluent pharmaceutique a été effectue en succès sous l'utilisation d'une biomasse algale "*Arthrospira Platensis*".

Le rendement de bioremédiation de trois polluants émergents en batch (diclofénac, ampicilline et sulfaméthoxazole) a été différent de zéro que montre la faisabilité de l'élimination de ces derniers DCF, AMP et SFX et ces rendements 86.46 ; 70.52 et 70.18 respectivement et on représente la cinétique de dégradation de ces polluants à partir de la concentration initiale pendant les six jours.

On a suivi l'effet des polluants sur notre souche par le contrôle de l'état physiologique et la concentration de poids sec et la chlorophylle « a » et le suivi de l'effet de souche sur les polluants par la cinétique de dégradation de ces polluants.

Donc cette stratégie de phycoremédiation est considérée comme une approche efficace, sans danger pour l'environnement et comme un traitement environnemental durable et également une technique économique et son coût, bien inférieur à celui des techniques traditionnelles de décontamination.

*En termes de perspectives d'avenir, ce travail pourra être amélioré par :*

1. *Appliquer ce procédé sur un effluent réel.*
2. *Utilise autres espèces des microalgues pour la bioremédiation des polluants pharmaceutiques en batch.*
3. *Multiplier les polluants pharmaceutiques en batch.*
4. *Proposer un mécanisme de dégradation.*

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES


1) **Abdelly, C. (2006).** *Université de Tunis institut supérieur de l ' éducation et de la formation continue département des sciences naturelles Bioremédiation / Phytoremédiation SN 232 Professeur : Chedly ABDELLY Année Universitaire*. *October*.

2) **Abouzlam, M. (2014).** *Optimisation d ' un procédé de traitement des eaux par ozonation catalytique*. 167.

3) **Ahounou, M. N. (2018).** *La spiruline : Un complément alimentaire en conseil à l'officine. Enquête d'utilisation.* 172.

4) **Ainas, (2018)**

5) **Anne claire, (2020)** Anti-inflammatoires non-stéroïdiennes et infection COVID_2019, la société française de pharmacologie et de thérapeutique

6) **Barceló, D. (2003**). Emerging pollutants in water analysis. In *TrAC - Trends in Analytical Chemistry* (Vol. 22, Issue 10). Elsevier. https://doi.org/10.1016/S0165-9936(03)01106-3

7) **Bellahcen, O. T., & Yachioui, E. M. (2013)**. CULTURE ET PRODUCTION DE SPIRULINA PLATENSIS DANS LES EAUX USEES DOMESTIQUES. In *Larhyss Journal* (Vol. 14).

8) **Bleu, D. U. P. (2021)**. *Les contaminants émergents dans la mer méditerranée*.

9) **BOCALY Melissa. (2010)**. *Impacts des substances pharmaceutiques sur l'eau et les milieux aquatiques-Synthèse documentaire-BOCALY Melissa*.

10) **Bonnefond, H., Combe, C., Cadoret, J., Sciandra, A., Bonnefond, H., Combe, C., Cadoret, J., Sciandra, A., Poten-, O. B., Chimie, B., Bonnefond, H., Combe, C., Cadoret, J., Sciandra, A., & Bernard, O. (2019)**. *Potentiel des microalgues To cite this version : HAL Id : hal-02421830*.

11) **C, L. A. S. B. (2015)**. *Pour l ' obtention du grade de Docteur*. 2014–2015.

12) **Cepoi, L., & Zinicovscaia, I. (2020)**. Spirulina platensis as a model object for the environment bioremediation studies. In *Handbook of Algal Science, Technology and Medicine*. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818305-2.00039-5

*13)* **Chojnacka, K., Skrzypczak, D., Izydorczyk, G., Mikula, K., Szopa, D., Moustakas, K., & Witek-Krowiak, A. (2022)**. Biodegradation of pharmaceuticals in photobioreactors–a systematic literature review. *Bioengineered*, *13*(2), 4537–4556. https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2036906

*14)* **Dr m. Bensalem (médecin de recherche clinique – Service des maladies infectieuses - Centre hospitalier d'Annecy). (2018)**. « La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ? » Revue critique réalisée par cinq experts à partir de documents d ' étape. *Revue Critique*, *1–2*, 18.

*15)* **Escapa, C., Coimbra, R. N., Paniagua, S., García, A. I., & Otero, M. (2016).** Comparative assessment of diclofenac removal from water by different microalgae strains. *ALGAL*, *18*, 127–134. https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.06.008

*16)* **Fernandes, J. P., Almeida, C. M. R., Salgado, M. A., Carvalho, M. F., & Mucha, A. P. (2021)**. Environments — Occurrence, Fate and Bioremediation Prospective. *Toxics*, *9*(257), 1–26.

*17)* **Fox, R., Pagnon, Y., & Weber, B. (2004**). Spiruline et nutrition. *Archives de Pédiatrie*, *11*(5), 465–466. https://doi.org/10.1016/j.arcped.2004.01.029

*18)* **Furbeyre, M. H. (2017)**. *Effets d ' une supplémentation en Spiruline et en Chlorelle sur la croissance et la santé digestive du porcelet au sevrage To cite this version : HAL Id : tel-01661454 Effets d ' une supplémentation la croissance et la santé digestive*.

*19)* **Gernigon, V. (2021)**. *Modélisation multi-échelle de la culture de microalgues*.

*20)* **Girard, B. (2018).** THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L ' UNIVERSITÉ DE M ONTPELLIER Présentée par NGUYEN Trang Hieu. *Thèse*, *Umr 5253*, 1–259.

*21)* **Goethals, C., & Wunderle, M. (2018)**. Le secteur pharmaceutique en Belgique. In *Courrier hebdomadaire du CRISP : Vol. n° 2366-23* (Issue 1). https://doi.org/10.3917/cris.2366.0005

*22)* **Gondi, R., Kavitha, S., Yukesh Kannah, R., Parthiba Karthikeyan, O., Kumar, G., Kumar Tyagi, V., & Rajesh Banu, J. (2022**). Algal-based system for removal of emerging pollutants from wastewater: A review. In *Bioresource Technology* (Vol. 344). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126245

*23)* **Hashmi, Z., Bilad, M. R., Fahrurrozi, Zaini, J., Lim, J. W., & Wibisono, Y. (2023)**. Recent Progress in Microalgae-Based Technologies for Industrial Wastewater Treatment. *Fermentation*, *9*(3), 1–25. https://doi.org/10.3390/fermentation9030311

*24)* **Huang, Z., Zheng, W. J., Yang, F., & Guo, B. J. (2006)**. Chemical composition and selenium distribution in selenium enriched Spirulina platensis biomass. *Chemistry of Natural Compounds*, *42*(6), 636–640. https://doi.org/10.1007/s10600-006-0241-0

*25)* **Jacq, V., Polluants, L. E. S. P., Polluants, L. E. S., Les, D., Naturels, M., & Et, N. (2000).** *Université de Provence Luminy Introduction à la bioremédiation des sols , des eaux et de l ' air Laboratoire de Microbiologie IRD Institut de Recherche pour le*. 1–99.

*26)* **J-P Jourdan (2011).** Manuel de culture de Spiruline [48]

*27)* **Jung, F., Krüger-Genge, A., Waldeck, P., & Küpper, J. H. (2019)**. Spirulina platensis, a super food? *Journal of Cellular Biotechnology*, *5*(1), 43–54. https://doi.org/10.3233/JCB-189012

*28)* **Kumar, V., Agrawal, S., Bhat, S. A., Américo-Pinheiro, J. H. P., Shahi, S. K., & Kumar, S. (2022)**. Environmental impact, health hazards, and plant-microbes synergism in remediation of emerging contaminants. *Cleaner Chemical Engineering*, *2*(April), 100030. https://doi.org/10.1016/j.clce.2022.100030

*29)* **Lakhani, S., Acharya, D., Sakariya, R., Sharma, D., Patel, P., Shah, M., & Prajapati, M. (2022)**. A comprehensive study of bioremediation for pharmaceutical wastewater treatment. *Cleaner Chemical Engineering*, *4*(October), 100073. https://doi.org/10.1016/j.clce.2022.100073

*30)* **Langley, N. M., Harrison, S. T. L., & van Hille, R. P. (2012)**. A critical evaluation of CO 2 supplementation to algal systems by direct injection.

*Biochemical Engineering Journal*, *68*, 70–75. https://doi.org/10.1016/j.bej.2012.07.013

*31)* **Maryjoseph, S., & Ketheesan, B. (2020).** Microalgae based wastewater treatment for the removal of emerging contaminants: A review of challenges and opportunities. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, *2*(September), 100046. https://doi.org/10.1016/j.cscee.2020.100046

*32)* **Mboula, V. M., Maroga, V., & Devenir, M. (2012)**. *Devenir de polluants émergents lors d'un traitement photochimique ou photocatylitique sous irradiation solaire*. https://theses.hal.science/tel-00779791

*33)* **MUHLING.M.(2000).** Characterization of Arthrospira (Spirulina) strains., Durham theses, Durham University

*34)* **Mustafa, S., Bhatti, H. N., Maqbool, M., & Iqbal, M. (2021).** Microalgae biosorption, bioaccumulation and biodegradation efficiency for the remediation of wastewater and carbon dioxide mitigation: Prospects, challenges and opportunities. *Journal of Water Process Engineering*, *41*(November 2020), 102009. https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102009

*35)* **Pacheco, M. M., Hoeltz, M., Moraes, M. S. A., & Schneider, R. C. S. (2015)**. Microalgae: Cultivation techniques and wastewater phycoremediation. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, *50*(6), 585–601. https://doi.org/10.1080/10934529.2015.994951

*36)* **Phillipe Lesclous,Vianrey Descroix (2016)** les antibiotiques:le bon usage, l'information dentaire page (20_22)

*37)* **Renuka, N., Sood, A., Prasanna, R., & Ahluwalia, A. S. (2015)**. Phycoremediation of wastewaters: a synergistic approach using microalgae for bioremediation and biomass generation. In *International Journal of Environmental Science and Technology* (Vol. 12, Issue 4, pp. 1443–1460). Center for Environmental and Energy Research and Studies. https://doi.org/10.1007/s13762-014-0700-2

*38)* **Sguera, S. (2008)**. *Spirulina platensis et ses constituants : intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques*. http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

*39)* **Shah, A., & Shah, M. (2020)**. Groundwater for Sustainable Development Characterisation and bioremediation of wastewater : A review exploring bioremediation as a sustainable technique for pharmaceutical wastewater. *Groundwater for Sustainable Development*, *11*(March), 100383. https://doi.org/10.1016/j.gsd.2020.100383

*40)* **Sotiroudis, T. G., & Sotiroudis, G. T. (2013)**. Health aspects of Spirulina (Arthrospira) microalga food supplement. *Journal of the Serbian Chemical Society*, *78*(3), 395–405. https://doi.org/10.2298/JSC121020152S

*41)* **Sp-sa, S. A. (2015**). *Délivré par UNIVERSITE MONTPELLIER Préparée au sein de l ' école doctorale Sciences des Prévention des Malnutritions et des Pathologies Spécialité : Nutrition / Santé Présentée par JORIS VIDÉ Effets potentiels et mécanismes d ' action antioxydant et anti-*.

*42)* **Sutherland, D. L., & Ralph, P. J. (2019)**. Microalgal bioremediation of emerging contaminants - Opportunities and challenges. *Water Research*, *164*, 114921. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114921

*43)* **Tedesco, M. A., & Duerr, E. O. (1989).** Light, temperature and nitrogen starvation effects on the total lipid and fatty acid content and composition of Spirulina platensis UTEX 1928. Journal of Applied Phycology, 1(3), 201–209. https://doi.org/10.1007/BF00003646

*44)* **Touliabah, H. E. S., El-Sheekh, M. M., Ismail, M. M., & El-Kassas, H. (2022).** A Review of Microalgae-and Cyanobacteria-Based Biodegradation of Organic Pollutants. *Molecules*, *27*(3). https://doi.org/10.3390/molecules27031141

*45)* **Vanderbent, S. (2022)**. Sustainable environment. *Attracting Sustainable Investment*, 17–38. https://doi.org/10.4324/9781003324669-2

*46)* **Vavasseur, A. (2014**). *Bioremédiation des sols et des eaux : application aux pollutions chimique et nucléaire Bioremediation of soil and water : application to chemical and nuclear pollutions*. 80–86.

*47)* **Vonshak, A.2002**. *Spirulina Platensis Arthrospira* : Physiology, Cell-Biology And Biotechnology London, edition taylor et francis.P.252.

*48)* **Xing-Yang Wang (2018**). Polymères conjugués pour l'élaboration de capteurs optiques et résistifs pour l'analyse de l'eau. Thèse de doctorat. Université PARIS-Saclay.

*49)* **Zaet abdurraouf (2018).** Une alternative pour les antibiotiques conventionnelles : un nouveau peptide antimicrobien dérive de la chromogranine A, thèse de doctorat, université de Strasbourg.

*50)* **Zarrouk, C. (1966).** Contribution à l'étude d'une cyanophycée : influence de divers facleurs physiques et chimiques sur ta croissance et la photosynthèse de Spirulina maxima (Setch elardner} Geitler, Thèse présentée à la Faculté des Scien ces de l'Université de Paris).

***Sites WEB:***

1. **https://fcsrovaltain.org/les-polluants-emergents-un-nouveau-defi-environnemental-et-reglementaire**
2. **https://ecotoxicologie.fr/desinfectants-environnement**