République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université de Dr Yahia- Farés

Faculté de Science et de Technologie



Département du Génie des Procédés

Mémoire de fin D'étude pour L'obtention Du Diplôme De

Master en Génie des procédés et de l'environnement

Option : Génie des Procédés de l'environnement

Thèse

Etude De Capacité Biodégradative Par Microorganisme

Proposé et encadrer par :

- D[r] : FARHET SAMIRA
- M[elle] : NADIA MIHOUBI

Présenté par :

- Remlia Fethia
- Dali Nessrine

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciement

Au terme de ce mémoire nous tenons à remercier, en premier lieu Allah tout puissant qui nous a donne la force, le courage et la patiente pour Terminer ce travail.

Nous tenons à remercier vivement notre promotrice Dr.FERHAT SAMIRA et notre Co- promotrice M^{elle} .MIHOUBI NADIA pour ses encouragements et ses précieux conseils durant le déroulement de ce travail.

Nous remercions aussi D$_r$ .HICHEM TAHRAOUI et ELHOUCIN BENMAMI pour leur aide dans la réalisation de ce travail.

Nos vifs remerciements s'adressent également à nos enseignants qui nous ont suivies pendant nos études de primaire : Moyen, lycée, université.

A la fin, nous tenons à remercier tous ceux qui nous ont tendu la main de prés ou de loin afin de mener à terme cette étude.

Dédicace

Avant tous je remercie dieu qui ma donnée la force pour réaliser ce travail que je dédie à :

Ma très chère mère, qui m'a entouré d'amour, d'affection et qui fait tous pour ma réussite, que dieu la garde.

Mes chères sœurs : Amel Et Chirfa, Khadîdja, Fatima Zahra.

Mes chers frères

Mes amies : Selma, Ilham, Wissem, thoria.

Ma binôme : Nessrine.

Mes collègues de ma promotion << génie de procédé et de l'environnement>>.2020-2021

Fethia.

Dédicace

Avec un cœur ouvert et une immense joie, je dédié ce modeste travail à :

**Mon très cher père, l'exemple d'honnêteté, toujours présent dans mon cœur et mon esprit.*

**Ma très chère mère, symbole de tendresse et d'amour, pour m'encourager et m'accompagner dans tout mon chemin.*

**Mon marie,*

** Mes sœurs : Zhor et Selma.*

**Mon frère : Oussama.*

** Ma binôme : Fethia et sa famille.*

** Tous mes amies sans exception.*

**Mes collègues de ma promotion « Génie de procédés et de l'environnement.*

Nessrine.

Sommaire

I- Généralité sur la pollution des eaux 3
I.1. Introduction 3
I.2. Pollution des eaux 3
I.3. Aspects de la pollution des eaux 3
I.4. Les principaux polluants des eaux 3
I.4.1. Les pesticides 3
I.4.2. Les matières organiques 4
I.4.3. Les métaux lourds 4
I.4.4. Fertilisent 4
I.4.5. Les hydrocarbures 4
I.5. Origine de la pollution 4
I.5.1. La pollution domestique 4
I.5.2. La pollution industrielle 5
I.5.3. La pollution agricole 5
I.6. Définition et classification des pesticides 6
I.6.1. Historique 6
I.6.2. Définition 6
I.6.3. Classification 6
I.7. L'utilisation des pesticides 8
I.8. Dégradation des pesticides 8
I.9. Les propriétés des pesticides 9
I.10. Les effets des pesticides sur la santé 9
I.10.1. Devenir des pesticides dans l'organisme vivant 11
I.11. Les effets des pesticides sur l'environnement 13
I.12. Comportement et transfert des pesticides 13
I.12.1. Dans l'environnement 13
I.12.2. Les risques des pesticides 15
I.13. TRAITEMENT ET L'ELIMINATION DES PESTICIDES 16
I.13.1. Procédés biologiques 16
I.13.2. Adsorption 16
I.14. La biodégradation des polluants organiques (po) 18
I.14.1. Introduction 18
I.14.2. Biodégradation organique 18
II- Partie expérimentale 19
II.1. Introduction 19
II.2. Matériel et méthodes 19
II.2.1. Micro-organismes utilisés 19
II.3. Caractérisation de l'échantillon 22
II.3.1. Acetamipride 20% 22
II.4. Préparation de l'inoculum 23
On fait la stérilisation dans un autoclave pendant 20 minute et à une température 120C°. 24
II.5. La préparation du milieu minéral MM 25
II.6. Préparation des Milieux de culture et test de biodégradation 26
II.7. La croissance bactérienne 28
II.8. Demande chimique en oxygène(DCO) 30
II.8.1. Principe 30
II.8.2. Mode opératoire 30
II.9. Demande biologique en oxygène (DBO_5) 31
II.9.1. Principe 31
II.9.2. Manipulation 32
III- Introduction 35
III.1. Logiciel JMP7 35

Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant : 35
III.2. L'interprétation des résultats de diagramme 41
III.2.1. L'effet des paramètres (ph, c1, c2, T) sur la croissance bactérienne(DO) 41
III.2.2. L'effet des paramètres (ph, c1, c2, T) sur le rendement (R%) 41
III.3. L'interprétation des résultats de diagramme 47
III.3.1. L'effet des paramètres (ph, c1, c2, T) sur la croissance bactérienne(DO) 47
III.3.2. L'effet des paramètres (ph, c1, c2, T) sur le rendement (R%) 48
Conclusion générale 50
Références bibliographiques..... 52

Liste des figures

Figure I-1:Schéma des principales sources de pollution des eaux de surface[10]. 5
Figure I-2: toxicologie et devenir des pesticides [32]. 12
Figure I-3 : devenir des pesticides dans l'organisme [31]. 13
Figure I-4: Cycle de contamination atmosphérique par les pesticides [37]..... 15
Figure II-1: aspect dela*Marinobactercarbonohydroclasticus* SdK644. 19
Figure II-2: aspect de *Klebtiellapneumonie* ATCC25922. 20
Figure II-3: courbe d'étalonnage de l'Acetamipride. 23
Figure II-4: milieu LB. 24
Figure II-5: autoclave. 24
Figure II-6: milieu minéral MM. 25
Figure II-7: solution oligo-élément. 26
Figure II-8: Bain –marie. 27
Figure II-9: l'incubateur. 28
Figure II-10: centrifugeuse utilisé. 29
Figure II-11: spectrophotomètre utilisé. 29
Figure II-12: l'appareille de DCO. 31
Figure II-13: les réactifs de la DCO. 31
Figure II-14:DBO méthode manométrique. 33
Figure III-1:l'écart entre la DO mesurée et la DO calculée. 38
Figure III-2: l'écart entre le rendement mesuré et le rendement calculé. 38
Figure III-3: Diagramme de Pareto rationalisant l'effet de chaque variable sur la croissance. 39
Figure III-4: Diagramme de Pareto rationalisant l'effet de chaque variable sur le rendement. 40
Figure III-5: le diagramme de l'effet des déférents paramètres sur la DO et le rendement. 40
Figure III-6:l'écart entre la DO mesurée et la DO calculée. 44
Figure III-7: l'écart entre le rendement mesuré et le rendement calculé. 45
Figure III-8: Diagramme de Pareto rationalisant l'effet de chaque variable sur la croissance. 45
Figure III-9: Diagramme de Pareto rationalisant l'effet de chaque variable sur le rendement. 46
Figure III-10: le diagramme de l'effet des déférents paramètres sur la DO et le rendement. 47

Liste des tableaux

Tableau I-1: structure chimique caractéristique de certaine famille de pesticide [24]. 7
Tableau I-2: Symptômes généraux pouvant indiquer une intoxication par des pesticides. 10
Tableau II-1: tableau des verreries utilisées. 20
Tableau II-2: tableau des réactifs chimiques utilisés. 21
Tableau II-3: tableau des appareilles utilisées. 22
Tableau II-4: caractérisation de pesticide utilisé. 23
Tableau II-5: les compositions du milieu MM. 25
Tableau II-6: composition d'oligo-élément. 26
Tableau II-7: tableau de gamme. 32
Tableau II-8:Tableau Criblage des facteurs affectant la croissance. 34
Tableau II-9 : tableau de déférents niveaux de chaque facteur. 34
Tableau III-1: tableau des résultats expérimentaux de la souche bactérienne SDK. 35
Tableau III-2: tableau de croissance. 36
Tableau III-3: tableau de rendement 37
Tableau III-4: tableau des résultats expérimentaux de la souche bactérienne kp. 42
Tableau III-5: tableau de croissance. 43
Tableau III-6: tableau de rendement 43

Abréviation

Po : polluant organique.

DCO : demande chimique en oxygène

DBO : demande biologique en oxygène.

UV : spectrophotomètre ultra –visible.

SDK644 : Marinobacterhydrocarbonoclastcus.

KP: Klebtiella pneumonie ATCC25922**.**

DO : densité optique de la croissance bactérienne.

R% : rendement.

DDT : Dichlorodiphenyltrichloroethane.

L: litre .

Mg: miligramme.

PH : potentielle d'hydrogène.

C_1: concentration de pesticide.

C_2 : concentration de l'inoculum.

OMS : l'organisation mondiale de santé.

T : température.

الملخص

يهدف هذا العمل لدراسة قدرات تحلل المبيدات الموجودة في المياه بواسطة سلالتين بكتيريتين منتقاة قصد تفعيلهما في المعالجة البيولوجية للمياه الملوثة بالمبيدات.

في عملنا هذا قمنا باستخدام سلالتين بكتيريتين هما(المارينوبكتار-هيدروكربونوكلاستوس , كلابتيليا- بنوموني) و الهدف من استعمالهما هو تنقية و إزالة المبيدات الملوثة للمياه. وهذا يتم عن طريق استخدام تقنية التحلل البيولوجي مع دراسة تأثير كل من درجة الحرارة ، درجة الحموضة ، تركيز كل من البكتيريا و المبيدات و غيرها...الخ.

وذلك باستعمال برنامج "JMP 7". يستخدم برنامج "JMP" في تطبيقات مثل مراقبة الجودة والهندسة والتصميم التجريبي والبحث العلمي فمن خلاله استطعنا معرفة أي السلالتين لها التأثير لجيد في تحلل و نزع المبيدات.

أثبتت الدراسات التي قمنا بها على أن كل من درجة الحرارة ,درجة الحموضة وتركيز المبيدات و اللقاح لها تأثير ايجابي على المردود و النمو البكتيري و ذلك في كلتا السلالتين (SDK ,KP).بحيث كلما ازدادت قيمة أي منها زاد المردود و النمو . لكن الأكثر تأثيرا هي درجة الحموضة و تركيز اللقاح.

غير أن النتائج أثبتت فعالية بكتيريا (*Klabtiella pneumonie(KP*) في التأثير الكبير و الجيد على المردود و النمو البكتيري و إعطاء أقصى قدر من التحلل البيولوجي للمبيدات يكون أفضل ما هو عليه عند استعمال سلالة SDK.

الكلمات المفتاحية : المبيدات ، التحلل البيولوجي ،السلالة البكتيرية.

Résumé

Ce travail vise à étudier les capacités de dégradation des pesticides présents dans l'eau par deux souches bactériennes sélectionnées afin de les activer dans le traitement biologique des eaux contaminées par des pesticides.

Dans notre travail, nous avons utilisé deux souches bactériennes (***Marinobacter-Hydrocarbonoclactos, Klabtiella Pneumonie***) et le but de leur utilisation est de purifier et d'éliminer les pesticides contaminés par l'eau. Ceci est fait en utilisant la technologie de biodégradation avec l'étude de l'effet de la température, du pH, de la concentration de bactéries et de pesticides, etc... .

Cela se fait à l'aide du programme « JMP 7 ». » Le programme « JMP » est utilisé dans des applications telles que le contrôle de la qualité, l'ingénierie, la conception expérimentale et la recherche scientifique, grâce auxquels nous avons pu déterminer laquelle des deux souches a un bon effet sur la décomposition et l'élimination des pesticides.

Nos études ont prouvé que la température, le pH, la concentration de pesticides et de pollen ont un effet positif sur le rendement et la croissance bactérienne des deux souches (SDK, KP), de sorte que plus la valeur de l'une d'entre elles est élevée, plus le rendement est élevé et plus la croissance. Mais les plus influents sont le pH et la concentration du vaccin

Cependant, les résultats ont prouvé que l'efficacité de la bactérie Klabtiella pneumonie (KP) a un grand et bon effet sur le rendement et la croissance des bactéries et donne une biodégradation maximale des pesticides mieux que l'utilisation de la souche SDK.

Les mots clés : les pesticides, la biodégradation, les souches bactériennes.

Abstract

This work aims to study the degradation capacities of pesticides present in water by two bacterial strains selected in order to activate them in the biological treatment of water contaminated by pesticides.

In our work we have used two bacterial strains (***Marinobacte-Hydrocarbonoclactos, Klabtiella Pneumonia***) and the purpose of their use is to purify and remove pesticides contaminated by water. This is done using biodegradation technology with the study of the effect of temperature, pH, concentration of bacteria and pesticides, etc. etc.

This is done using the "JMP 7" program. "The" JMP "program is used in applications such as quality control, engineering, experimental design and scientific research, through which we were able to determine which of the two strains has a good effect on decomposition and elimination of pesticides**.**

Our studies have proven that temperature, pH, concentration of pesticides and pollen have a positive effect on the yield and bacterial growth of both strains (SDK, KP), so that the higher the value of one of between them, the higher the yield and the greater the growth. But the most influential are the pH and the concentration of the vaccine.

However, the results proved that the efficacy of the bacterium Klabtiella pneumonia (KP) has a great and good effect on the yield and growth of bacteria and gives maximum biodegradation of pesticides better than using the strain SDK.

Key words: pesticides, biodegradation, strains bacterial.

Introduction général

Introduction général

L'utilisation des insecticides, herbicides, fongicides, etc. Regroupés sous le nom de pesticides ou encore produits phytosanitaires, a permis d'améliorer les rendements et la diversité des cultures afin de satisfaire la demande nutritionnelle liée à l'accroissement de la population mondiale. Cependant, cette utilisation a également provoqué des effets indirects et néfastes sur l'environnement. Ainsi des études ont montré la présence de résidus de pesticides dans les aliments ainsi que la contamination des eaux souterraines et superficielles. Malheureusement, une très grande partie des pesticides répandus n'attend pas leur cible [1].

Les pesticides sont ainsi aujourd'hui à l'origine d'une pollution diffuse qui contamine toutes les eaux continentales : cours d'eau, eaux souterraines et zones littorales.

Si les pesticides sont d'abord apparus bénéfiques, leurs effets secondaires nocifs ont été rapidement mis en évidence. Leur toxicité, liée à leur structure moléculaire, ne se limite pas en effet aux seules espèces que l'on souhaite éliminer. Ils sont notamment toxiques pour l'homme [2-3]. Estimer les effets sur les écosystèmes d'une pollution liée aux pesticides s'avère difficile, car il existe un millier de familles de pesticides, soit des dizaines de milliers de principes actifs. Ils sont en outre utilisés à faibles doses et leurs comportements sont très divers. Leur impact dépend à la fois de leur mode d'action (certains sont beaucoup plus toxiques que d'autres), de leur persistance dans le temps (certains se dégradent beaucoup plus rapidement que d'autres) et de leurs sous-produits de dégradation lesquels sont parfois plus toxiques et se dégradent moins vite que la molécule mère [4-5]. Leurs effets sur les êtres vivants sont, eux aussi, encore très mal connus.

Les dégâts occasionnés sur l'homme sont très important, les pesticides sont responsables selon l'OMS (l'Organisation Mondiale de la Santé) de la mortalité d'environ 220000 personnes chaque année. Ainsi, la toxicité de ces produits à la fois aigüe et chronique n'affecte pas seulement les utilisateurs (de ce produit) qui les manipulent directement, mais la population dont l'environnement est responsable d'une contamination généralisée de différents milieux naturels [6].

En définitif, la pollution des eaux par les matières organiques est un problème mondial dont les aspects et la portée sont évidemment différents selon le niveau de développement des pays. Il importe que les concentrations des produits polluants soient les plus faibles possibles.

L'impact sur l'environnement des polluants organiques récalcitrants et les risques écologiques qui en découlent nécessitent le développement des procédés innovants capables d'en venir à bout ou tout ou moins diminuer leur concentration dans les systèmes aquatiques.

Plusieurs méthodes de traitements des eaux on été testées ; elles pouvant être mécaniques, chimiques, physiques ou encore biologiques .Leur mise en œuvre peut être simultanée et de façon successive suivant la nature des polluants présents dans les eaux à traiter .Le but étant toujours la dépollution de l'eau rejetée à fin que de sa qualité soit conforme aux normes imposées par chaque pays. On peut citer à titre d'exemple, les techniques de précipitation, l'adsorption, l'extraction liquide-liquide, la filtration membranaire, coagulation-floculation-décantation et la biodégradation [1].

Dans ce travail, le choix s'est porté sur la méthode biologique dans les spécificités attractives ont engendré un grand intérêt de la part des chercheurs pour la compréhension, l'optimisation et l'application de ce procédé. Ce dernier est plus compatible avec l'environnement, simple et beaucoup couteux. Ils s'agit d'un « éco-procédé » qui consiste à dégrader les polluants organiques par les bactéries préalablement sélectionnées et mises dans les conditions optimales afin d'éliminer ou tout au moins diminuer la concentration de c'est substrats toxiques [1].

L'objectif principal de cette étude est d'élaborer des méthodes relativement simples de biodégradation de polluants organiques par un consortium bactérien. Cette biodégradation des pesticides se fait à l'aide des micro-organismes (souches bactériennes). Cette technique est basée sur l'élimination de polluants organiques (pesticides).

Le premier chapitre de ce mémoire sera consacré à une étude bibliographique sur les pesticides ainsi que leurs propriétés physico-chimiques et biologiques, leur impact sur la sante humaines et l'environnement et aussi les différentes techniques de leur traitement. Aussi ce chapitre étudié la biodégradation des polluants organiques.

Le deuxième chapitre, décrira les méthodes expérimentales et les différentes techniques analytiques utilisées au cours de cette étude.

Le troisième chapitre est consacré au résultat d'expérience et discussion.

Chapitre 1 GÉNÉRALITÉ SUR LES PESTICIDES

I-Généralité sur la pollution des eaux

I.1.Introduction

De toutes les composantes de notre environnement, l'eau est sans doute l'élément fondamental de la vie quotidienne .L'eau s'apprête aujourd'hui aux usages les plus divers : domestiques, industriels, agricoles, énergiques ou encore à certains moyens de transport mais elle semble avoir été le premier milieu à montrer des signes visibles de pollution. Ainsi, le problème de la pollution des eaux est devenu un des aspects les plus inquiétants de la dégradation du milieu naturel et pourrait constituer à long terme un réel danger pour l'avenir de l'homme [7].

I.2. Pollution des eaux

La pollution des eaux peut être définie comme une dégradation de celle-ci par les éléments qu'elle a accumulée de son utilisation. Ces éléments indésirables proviennent des excréments chimiques, des rejets provenant d'industries divers, du lessivage des terrains traversées[8]. Le problème de la pollution des eaux représente sans aucun doute l'un des aspects les plus inquiétants de la dégradation du milieu naturel[8].

I.3. Aspects de la pollution des eaux

La pollution des eaux naturelles est la plus sérieuse surtout lorsqu' il s'agies de polluants qui ne sont pas dégradables La pollution résulte de l'introduction dans un milieu de substances conduisant à son altération[9]. En ce qui concerne, les milieux considérés seront les milieux aquatiques : nappes souterraines, cours d'eau, lacs, mers. Le problème se posera dès qu'un rejet aura un effet sur la qualité de l'eau et le milieu récepteur ; si cet effet a des conséquences jugées négatives, il s'agira d'une pollution[9].

I.4.Les principaux polluants des eaux

I.4.1.Les pesticides

Les pesticides ce sont les produits de lutte contre les parasites des cultures et des animaux, leur accumulation dans le sol peut être entrainée dans les eaux par les précipitations. La présence des pesticides en quantité importante dans l'eau provoque chez les animaux des anomalies histologiques au niveau de l'oie, s'accumulent dans les organes nobles[10].

I.4.2.Les matières organiques

Constituent de loin, la première cause de la pollution des ressources en eaux. Ces matière organiques (déjection animales et humaines, graisses…) sont notamment issues des effluents domestiques, mais également des rejets industriel (industries agro-alimentaire, en particulier).La pollution organique peut être absorbée par le milieu récepteur tant que la limite d'auto-épuration n'est pas atteinte[11].

I.4.3.Les métaux lourds

Selon RAMADE en 2000 les métaux lourds est un terme désignant l'ensemble des métaux toxiques de forte masse atomique. Connus pour leur toxicité , certains éléments métalliques , comme Cu ,Zn ,Co ,Ni ,Cr , Sn , présents à l'état de traces ,sont essentiels et indispensables pour les organismes mais en quantités minimes[12]. Les métaux lourds présents dans l'eau et dans les sédiments sont absorbés par les plantes et les animaux marins [12].

I.4.4.Fertilisent

Les engrais chimiques sont propagés dans les sols afin de développer les rendements de végétaux cultivés. Parmi les éléments principaux aux développements des plantes, nous avons l'azote, le phosphore, le potassium et dans une moindre mesure le souffre, le calcium, le magnésium et d'autres oligoéléments. L'usage continu de ces produits contamine donc les eaux superficielles et même les nappes phréatiques[13].

I.4.5.Les hydrocarbures

Ils provenant des industries pétrolières et des transports, ce sont des substances peu solubles dans l'eau et difficilement biodégradables leur densité inferieure à l'eau les fait surnager. En surface, ils forment un film qui perturbe les échanges gazeux avec l'atmosphère [14].

I.5.Origine de la pollution

Suivant l'origine des substances polluantes, on distinguera :

I.5.1.La pollution domestique

Provenant des habitations, elle est en général véhiculée par le réseau d'assainissement jusqu' à la station d'épuration[9].

I.5.2.La pollution industrielle

Provenant des usines, elle est caractérisée par une grande diversité, suivant l'utilisation de l'eau : tous les produits ou sous-produits de l'activité humaine se retrouvent ainsi dans l'eau, qui est un bon solvant [10]:

-Matières organiques et graisses.

-Hydrocarbures.

-Métaux.

I.5.3.La pollution agricole

Provenant des fermes ou des cultures, elle se caractérise par [10]:

- De fortes teneurs en sels minéraux (N, P, K) provenant:

- Des engrais

- Des purins et lisiers (élevage) ;

-La présence de produits chimiques de traitement (pesticides, herbicides…).

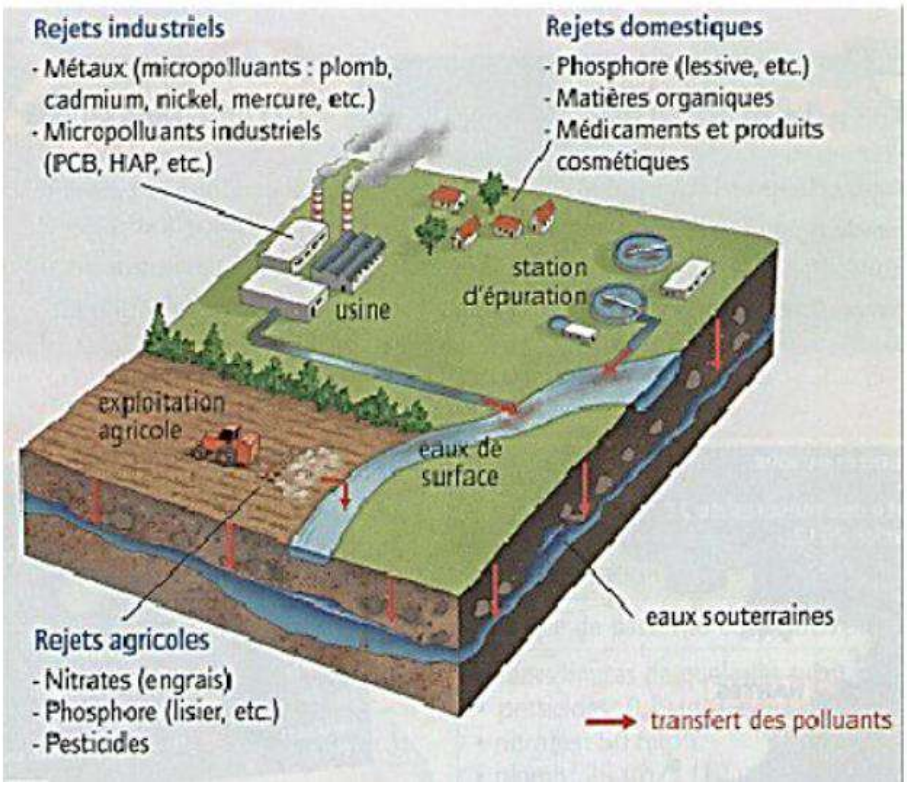


Figure I-1:Schéma des principales sources de pollution des eaux de surface[10].

I.6.Définition et classification des pesticides

I.6.1.Historique

Les premières descriptions de l'utilisation des pesticides remontent à mille ans avant JC avec le soufre. En Orient, dès le XVI^{ème} siècle, l'arsenic et la nicotine étaient utilisés. Au XIX^{ème} siècle, les premières études scientifiques mettent en évidence l'intérêt du sulfate de cuivre pour détruire les plantes adventices. L'utilisation des produits phytosanitaires connaît un réel essor à partir des années 40, période à laquelle les premiers pesticides de synthèse (lindane, DDT, Aldrin, …) apparaissent sur le marché. Les résultats, très positifs quant aux rendements agricoles, ont été immédiats, cependant les premières accusations d'atteinte à la santé humaine et à l'environnement se firent entendre dès les années 60 [15]. Dans les années 70 et 80, la mise sur le marché de molécules moins stables que les organochlorés n'a pas permis la diminution des contaminations. Au contraire, la consommation croissante des produits phytosanitaires en agriculture mais aussi dans d'autres secteurs d'activité a généré non seulement des contaminations des eaux de surface et souterraine mais également des brouillards et des eaux de pluie. En effet, dans les années 90, de nombreuses études scientifiques [16-18] ont relaté la présence de produits phytosanitaires dans les brouillards.

I.6.2.Définition

Les pesticides sont des préparations contenant une ou plusieurs substances chimiques, destinées notamment à protéger les végétaux contre tous les organismes nuisibles où à assurer leur conservation. Les pesticides sont majoritairement utilisés pour des usages agricoles mais aussi pour l'entretien des espaces publics, des infrastructures de transport et le jardinage par les particuliers [19].

Plusieurs autres termes et expressions définissent les pesticides. Ainsi, produits phytosanitaires, produits antiparasitaires à usage agricole, produits agro sanitaires, biocides, sont les autre dénominations de ce terme [20].

I.6.3.Classification

I.6.3.1.Classification biologique

Les insecticides: C'est le plus grand groupe de pesticides, ce sont des substances actives ou des préparations ayant la propriété de tuer les insectes nuisibles, leurs larves et/ou leurs œufs en préservant les insectes utiles comme les abeilles. Jusqu'en 1940 on disposait

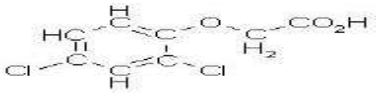
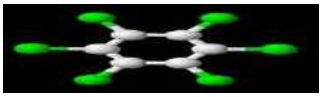
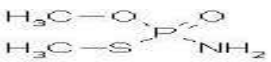
seulement de quelques insecticides. La seconde guerre mondiale a été le point de départ d'un nouveau concept de composés chimiques celui des produits de synthèse organiques, le premier d'entre eux étant le DDT [21].

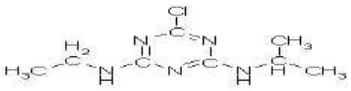
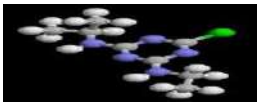
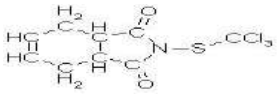
Les herbicides: Ce sont des substances destinées à éliminer les mauvaises herbes adventices des cultures. Les herbicides, avec les fertiliseurs, ont joué un rôle important dans l'augmentation des rendements agricoles dans les pays industrialisés comme l'Amérique du nord, l'Europe .... Ils ont, deux modes d'action sur les plantes: les uns demeurent à la surface avec pénétration locale plus ou moins importante. «Herbicides externes». Les autres pénètrent à l'intérieur des tissus végétaux « herbicides systémiques » [22].

Les fongicides : Les fongicides sont des substances phytopharmaceutiques ayant la capacité de tuer ou d'inhibe le développement des champignons parasites des végétaux [23].Les fongicides généralement utilisés en agriculture sont des substances minérales traditionnelles (soufre, cuivre, mercure) utilisées soit seules, soit en association avec des substances organiques, ainsi que des composés organiques [22].

classification chimique : il s'agit d'un classement technique à partir de molécule principale utilisée. On distingue

Tableau I-1: structure chimique caractéristique de certaine famille de pesticide [24].

Famille de molécules	Exemples	Modèle moléculaire
Les Organochlorés	Le lindane Le DDT Le 2,4-D 	Le lindane 
Les Organophosphorés	Le méthamidophos 	

Les Organo-Azotés	L'Atrazine 	L' Atrazine 
Les Phtalimides	Le Captane 	

I.7.L'utilisation des pesticides

Lorsque toutes les alternatives à lutte chimique ne permettent pas de contenir une nuisance, on a recours aux pesticides. Les pesticides sont utilisés largement dans l'agriculture, totalement 91 Z des ventes. Tandis que 91. qui reste proviennent des secteurs non agricoles [25]. Ajoutant ainssi que dans les pays du tiers monde, certains pesticides sont employés à des fins sanitaires, vis-à-vis de vecteurs de maladies (paladusme, malaria, typhus...) [26], et aussi contribués à limiter les irrégularités de production liées aux grandes catastrophes parasitaires, pour le traitement des parasites dans les maisons, traitement du bois et des textiles, pour les soins des animaux, et pour le traitement des plantes, de jardin ..... [27].

I.8.Dégradation des pesticides

La vitesse de disparition, ou le degré de persistance d'un produit, dépend d'un certain nombre de facteurs qui peuvent être [28] :

Mécaniques (pluie, vent) ou physiques (tension de vapeur, solubilité dans l'eau ou les lipides, codistillation avec l'eau, phénomènes d'adsorption...);

Chimiques (hydrolyse, oxydation, réduction, décarboxylation, isomérisation, photo dégradation...) ;

Biologiques (action des micro-organismes dans le sol et réactions enzymatiques dans les végétaux dans le cas des produits endothoraciques...).

I.9.Les propriétés des pesticides

Le devenir des pesticides dans l'environnement c'est-à-dire, leur rétention, leur transport et leur dégradation dépend de leurs propriétés ainsi que de celles des différents compartiments concernés, le sol, l'eau et 1' atmosphère. Quatre ensembles de propriétés sont à considérer pour les pesticides: ce sont les propriétés physico-chimiques, chimiques, spectroscopiques et biologiques [24].

Les propriétés physico-chimiques **:** Placées dans un milieu comme le sol, les molécules d'une substance peuvent être soumises à des phénomènes qui modifient leur état physique sans altérer leur composition et leur structure. Les propriétés correspondant à ces changements d'état concernent soit les substances pures, liquides ou solides [29].

Les propriétés chimiques **:** Les pesticides peuvent participer à des réactions chimiques qui modifient leur composition et conduisent à leur transformation en composés inorganiques lors de leur minéralisation. Ces réactions sont possibles parce que les molécules contiennent des groupes fonctionnels pouvant subir des transformations chimiques sans l'action du rayonnement ultraviolet [29].

Les propriétés spectroscopiques : Les molécules organiques peuvent émettre de l'énergie ou en absorber quand elles sont placées dans un champ électromagnétique. Cette émission et cette absorption dépendent de la composition et des groupes fonctionnels des molécules [29].

Les propriétés biologiques : Elles concernent les effets des pesticides sur les organismes vivants. Ils sont dus à des modes d'action très variés, on distingue habituellement les propriétés toxicologiques quand on considère leurs effets sur les être humains, et les propriétés éco toxicologiques quand on s'intéresse aux autres organismes vivants, animaux et végétaux [29].

I.10. Les effets des pesticides sur la santé

Les pesticides sont conçus pour tuer les « organismes nuisibles », mais certains pesticides peuvent également avoir des effets néfastes sur la santé des humains. La probabilité de subir des effets néfastes sur la santé dépend du type de pesticide et des autres produits chimiques qu'il contient, de la quantité à laquelle vous êtes exposé, de la durée et de la fréquence de l'exposition.

Plus souvent, les pesticides ont une incidence sur le système nerveux (le système de notre organisme qui contrôle les nerfs et les muscles). Les effets généraux sur la santé d'une exposition aiguë (court terme) ou d'une intoxication sont énumérés dans le tableau ci-après.

Tableau I-2: Symptômes généraux pouvant indiquer une intoxication par des pesticides.

Intoxication légère	**Intoxication modérée**	**Intoxication grave**
Un ou plusieurs des symptômes suivants : • irritation des voies nasales, de la gorge, des yeux ou de la peau • céphalées • étourdissements • perte d'appétit • soif • nausées • diarrhée • transpiration • faiblesse ou fatigue • agitation • nervosité • humeur changeante • insomnia	Un ou plusieurs des symptômes d'intoxication légère et des symptômes suivants : • vomissements • salivation excessive • toux • sensation de constriction au niveau de la gorge et du thorax • crampes abdominales • vision trouble • pouls rapide • transpiration excessive • grande faiblesse • tremblement • incoordination motrice • confusion	Un ou plusieurs des symptômes d'intoxication légère, des symptômes d'intoxication modérée et des symptômes suivants : • incapacité de respirer • sécrétions abondantes (mucosité) dans les voies respiratoires • rétrécissement des pupilles (micropupilles) • brûlures chimiques sur la peau • augmentation du rythme respiratoire • perte de réflexes • secousses musculaires irrépressibles • perte de conscience • mort

Certains effets néfastes sur la santé dus à l'exposition à un pesticide peuvent se faire sentir immédiatement. Certains symptômes peuvent apparaître plusieurs heures après l'exposition. D'autres effets peuvent se manifester après plusieurs années, par exemple le cancer. Certains symptômes dus à l'exposition à un pesticide cessent dès la fin de l'exposition.

D'autres peuvent mettre un certain temps à disparaître. Chez les personnes exposées régulièrement à des pesticides, les effets à long terme sur la santé sont plus préoccupants.

Les femmes enceintes ou qui allaitent doivent vérifier auprès de leur médecin si elles peuvent utiliser des pesticides dans le cadre de leur travail, étant donné que certains peuvent être dangereux pour le fœtus (l'enfant à naître) ou le nourrisson.

On recommande aux opérateurs certifiés pour l'application de pesticides ou aux personnes qui utilisent des pesticides dans le cadre de leur travail d'obtenir un bilan de santé régulièrement. Ces personnes doivent informer leur médecin des pesticides qu'elles utilisent ou auxquels elles sont exposées [30].

I.10.1.Devenir des pesticides dans l'organisme vivant

Les voies de pénétration :

Les pesticides pénètrent aisément par toutes les voies de pénétration : cutanée, respiratoire et digestive (voir Figure I-2).

- **Voie respiratoire :**

Dans ce cas les pesticides peuvent être absorbés sous forme d'aérosols ou de poussières, en effet, les produits toxiques vont passer directement dans la circulation en raison du contact étroit entre le sang et l'air alvéolaire [31].

- **Voie cutanée :**

Ce mode de pénétration dépend de la nature du produit et son affinité pour la peau et de l'état de la peau (intacte ou altérée). La pénétration est d'autant plus aisée que le produit et lipophile; c'est le cas des organochlorés [29].

- **Voie digestive :**

Ce mode de pénétration s'observe la plupart du temps lors de la consommation des produits traités par les pesticides. Il dépend du degré de solubilité du produit considéré et des réactions de défense de l'organisme, en particulier le rôle du foie dans la détoxification de ces substances avant leur introduction dans la circulation générale [31].

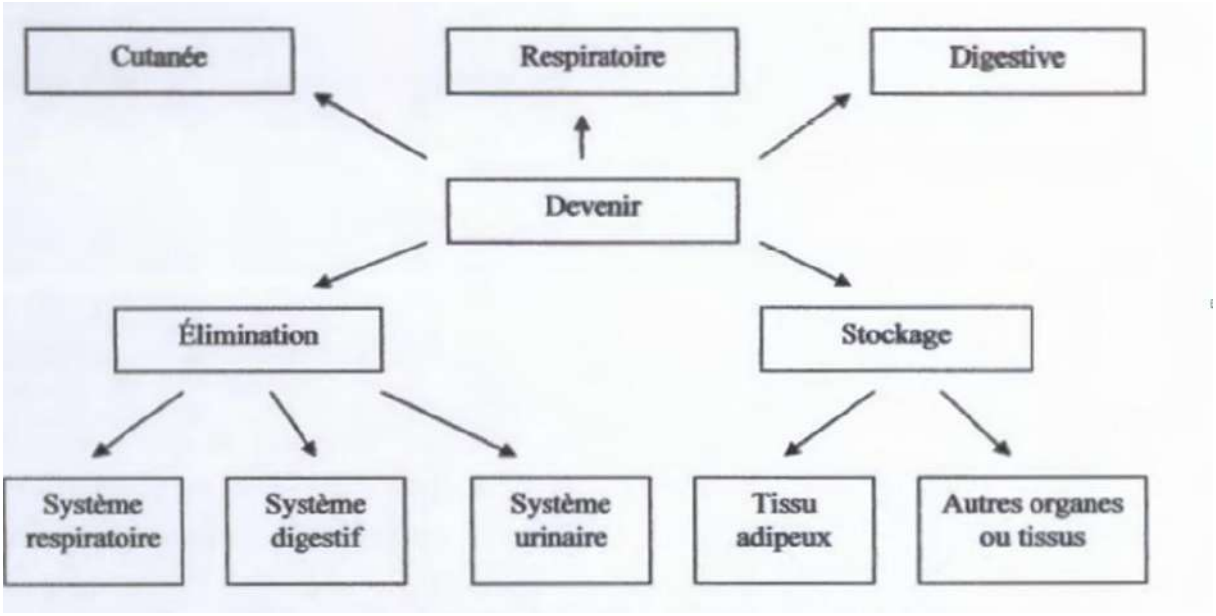


Figure I-2: toxicologie et devenir des pesticides [32].

- **La résorption :**

La résorption des pesticides par les organismes vivants surtout chez l'animal est très bonne quelque soit la voie de contamination. Elle est favorisée par la liposolubilité du produit mais une partie de l'hydro solubilité doit être conservée pour assurer la dissolution du produit mais une partie de l'hydro solubilité doit être conservée pour assurer la dissolution du produit dans la phase aqueuse intracellulaire. Le transport sanguin se fait de façon multi compartimentale, les pesticides se fixent dans les hématies ou sur les protéines plasmatiques avant d'être distribués vers les compartiments de l'organisme. Certains pesticides comme les organochlorés se fixent à la fois sur les hématies et les protéines plasmatiques [21].

- **La distribution :**

La distribution et le devenir du pesticide dans l'organisme intoxiqué sont en fonction de la voie d'administration. Ainsi un composé administré oralement pourrait subir des dégradations au niveau de l'intestin et être éliminé sans pénétrer dans le courant sanguin. Un composé administré par voie orale et/ou intra péritonéale peut être absorbé par la circulation porte et aboutit directement dans le foie, site de son métabolisme [33].

- **Voie d'élimination:**

Les pesticides sont éliminés quand ils ne sont pas stockés par les principales voies suivantes :

-Elimination par voie rénale.

-Elimination par voie digestive.

-Elimination par voie respiratoire.

D'autres voies telles que l'élimination par les glandes mammaires, l'élimination par la bile et l'élimination dans le jaune d'œufs participent aussi aux processus d'élimination [31].

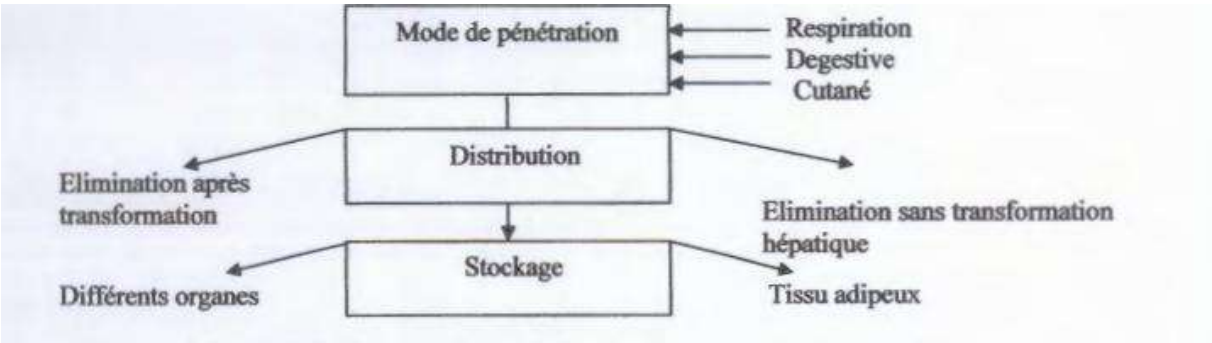


Figure I-3 : devenir des pesticides dans l'organisme [31].

I.11.Les effets des pesticides sur l'environnement

Ils sont complexes et varient selon de nombreux facteurs, dont en particulier : la toxicité et écotoxicité de la matière active, la durée de demi-vie de la matière active ou des métabolites, la dose et l'âge de l'organisme ou l'organisme exposé. Les pesticides peuvent contaminer tous les compartiments de l'environnement (l'air, l'eau et le sol). Certains pesticides rémanents peuvent, longtemps après leur utilisation, persister et passer d'un compartiment à l'autre; soit passivement (désorption, évaporation, érosion ....) soit activement via des processus biologiques (métabolisation, bioturbation, bioconcentration ....) [34].

I.12.Comportement et transfert des pesticides

Les pesticides peuvent se trouver dans l'air, les sols, les eaux (cours d'eau, eau souterraines, zones côtières), les plantes, les produits agricoles et par voie de conséquence, ils contaminent l'homme (qui inspire l'air ou consomme les produits agricoles et les eaux) et toute la chaîne alimentaire par le phénomène de bioaccumulation [35].

I.12.1.Dans l'environnement

Malgré le souci de protection de l'environnement constant et croissant lors de l'utilisation des produits phytosanitaires, seule une faible partie de ces produits entre en contact avec les organismes cibles. Cette partie se disperse alors dans les trois compartiments de l'environnement: l'air, le sol et l'eau.

A-L'air

L'atmosphère constitue une vo1ume majeure pour le transport des pesticides dans l'environnement, trois phénomènes distincts sont à l'origine de la présence des produits phytosanitaires dans l'air :

Soit le départ des pesticides dans l'atmosphère se fait dès le traitement ; on parle de dérive.

Soit, leur présence dans l'air étude à l'érosion éolienne des sols traités (c'est-à-dire le transfert des particules du sol ou de poussière contaminées par le vent).

Soit par volatilisation sous forme gazeuse à partir des plantes ou du sol traité, une fois dans le compartiment aérien, les pesticides sont dégradés, principalement sous l'effet des rayonnements lumineux ou ils sont (voir figure1) [36].

B- Le sol

La plupart des pesticides arrivent sur le sol, sont soumis à un ensemble de mécanismes conditionnant leur devenir et leur dispersion vers les autres compartiments de l'environnement. Parmi ces mécanismes on trouve :

-La transformation (métabolisme par les microorganismes, catalyse ....).

-La rétention (absorption par les végétaux ou microflore du sol). - Le transport (par les végétaux ou par la flore, par lixiviation, lessivage ou ruissellement - Certains nombres de processus physico-chimique [29].

C-L'eau

L'eau est précieuse au quotidien, qu'il s'agisse de boire, de se laver ou de se baigner. Il faut limiter au maximum la probabilité de retrouver des traces des pesticides dans les nappes phréatiques ou les eaux superficielles. Pour cela, il faut sensibiliser les agriculteurs aux bonnes pratiques. Les herbicides sont les composés les plus retrouvés dans les eaux. Les pluies polluées et les dérives lors des applications peuvent être responsables de la contamination des milieux aqueux et entraîner une bioaccumulation des pesticides au niveau de la faune aquatique [29].

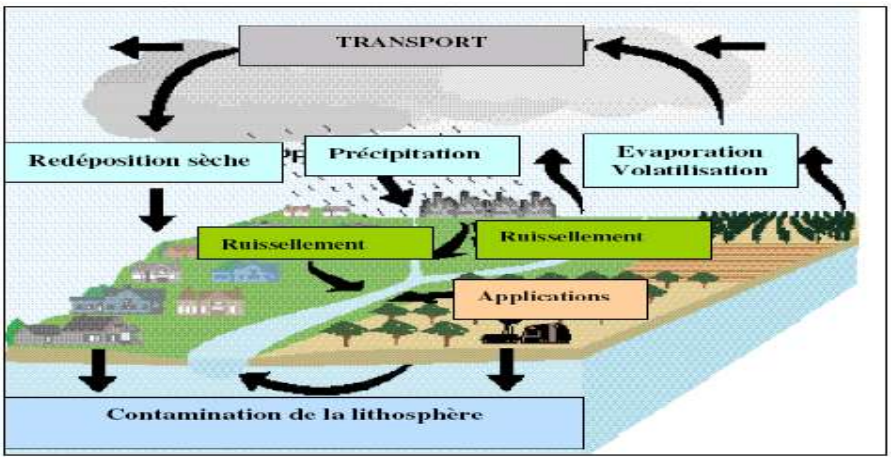


Figure I-4: Cycle de contamination atmosphérique par les pesticides [37]**.**

D – Sur les planes :

Les plantes pesticides n'éliminent pas la totalité des ravageurs, mais maintiennent leurs populations en dessous du seuil de nuisibilité, tout en présentant de nombreux avantages sur les pesticides de synthèse. Généralement moins dangereuses pour la santé, les extraits de plantes pesticides se décomposent rapidement dans l'environnement ; ce qui limite les risques de pollution environnementale et améliore la qualité sanitaire des produits cultivés. Cultivées en association, les plantes pesticides permettent de maintenir l'équilibre entre ravageurs des cultures et animaux auxiliaires associés.

L'emploi de ces produits naturels permet dans certains cas d'accroître les rendements, pour un rapport coût-bénéfice similaire à celui des pesticides de synthèse. Pour réaliser leur plein potentiel, il reste toutefois encore plusieurs barrières à lever [38].

I.12.2.Les risques des pesticides

L'intoxication aux pesticides constitue un problème de santé publique dans plusieurs pays à travers le monde .La toxicité des pesticides dépend d'un certain nombre de facteurs tel que : [39]

1-La dose.

2-Le temps pendant lequel la personne est exposée.

3-Le degré d'absorption.

4-La nature des effets de la matière active et de ses métabolites.

5-L'accumulation et la persistance du produit dans l'organisme et la « sensibilité »personnelle (antécédents, patrimoine génétique…).

I.13.TRAITEMENT ET L'ELIMINATION DES PESTICIDES

Ils existent plusieurs méthodes et moyens pour traiter et éliminer les pesticides Parmi ces méthodes, mentionnons :

I.2.2.3. Procédés membranaires

Les procédés membranaires constituent une voie d'avenir dans le traitement de l'eau. Parmi les différentes technologies, la nanofiltration semble la plus adaptée pour un traitement des pesticides [40]. Ainsi, [41] obtiennent, pour l'atrazine et la simazine, les mêmes concentrations en sortie de membrane qu'avec un traitement classique. Néanmoins, les performances vis-à-vis des pesticides semblent dépendre fortement du type de membrane utilisé.[42] notent une élimination de plus de 90% sur une membrane pour 4 pesticides étudiés alors que les trois autres membranes de l'étude retiennent au maximum 50% du diuron et 80% de la simazine. De même, [43] obtiennent un abattement variant de 35% à 85% pour l'atrazine et la simazine selon la membrane utilisée.

I.13.1.Procédés biologiques

La biodégradation est favorable pour les eaux usées présentant un rapport DBO5/DCO> 0,5, par contre elle est très limitée lorsque ce rapport est inférieur à 0,2 [44]. Ce rapport appelé degré de dégradation biochimique, sert de mesure pour la dégradabilité biochimique des polluants dans les eaux usées. La quantité de composés non dégradables biochimiquement est élevée quand ce rapport tend vers zéro [45].

I.13.2.Adsorption

Le matériau adsorbant le plus répandu est le charbon actif. Celui-ci peut s'employer sous diverses formes (charbon actif en poudre, en grain ou, plus récemment, sous forme de tissus), seul ou combiné avec d'autres procédés (oxydation, membranes, support biologique). Longtemps employé pour lutter contre les goûts et les odeurs [46], il est maintenant reconnu que ses propriétés adsorbants touchent un spectre très étendu de pesticides [47].

- **Le Charbon Actif en Poudre (CAP).**

Son usage est un procédé très répandu dans le traitement de l'eau potable, en tête de station, injecté avec les réactifs de coagulation-floculation [48],à des doses allant de 5 à 50

g.m-3. Vu son coût rapidement prohibitif (2,5 à 4 €.kg-1) et la formation de boues qu'il génère, il n'est mis en œuvre que pour lutter efficacement contre les pics accidentels de pollution par les pesticides[49-50]. Les triazines, par exemple, ont une forte affinité avec le charbon actif et [51] rapportent des capacités maximales d'adsorption de 250 mg.g-1 dans leurs conditions d'expérimentation.

- **Le Charbon Actif en Grain (CAG)**

Ce traitement se situe en fin de station, sous forme de lit filtrant granulaire. La durée de vie du filtre va dépendre du type d'eau, de la concentration en pesticides, du charbon actif et de son état [52-53]. Selon [54], un filtre traitant de l'atrazine dans une eau souterraine est efficace pendant 10 mois à 2 ans environ alors que sa durée de vie n'est que de 6 mois à 1 an dans le cas d'une eau de surface.

- **Le couplage CAG / oxydation**

La complémentarité des 2 procédés fait que l'interozonation suivie d'une filtration sur lit de CAG est le procédé de choix en terme de traitement des pesticides et en terme de coûts [55] .Ainsi, [56-57] en effectuant un suivi de la concentration en atrazine étape par étape au sein d'une station de potabilisation, montrent que ce n'est qu'après filtration sur CAG que ce composé est totalement éliminé. En outre, la durée de vie d'un filtre de CAG est prolongée car la matière organique, préalablement oxydée, est moins adsorbable et plus biodégradable [58-59]. Par conséquent, la compétition au niveau de l'adsorption entre matière organique et pesticide est moindre [60].

- **Le couplage CAP / membranes**

Depuis quelques années, l'emploi du CAP a été couplé à celui des membranes. Ceci permet d'utiliser le charbon à ses pleines performances et de bénéficier des avantages inhérents aux membranes [61]. Par exemple rapportent l'application du couplage CAP / Ultrafiltration afin d'éliminer les pesticides.

- **Le charbon actif en tant que support bactérien**

Le charbon actif peut également servir de support bactérien, afin d'éliminer biologiquement les molécules organiques [62-63] ont montré la biodégradabilité de 2 triazines et 2 urées substituées. [64] ont isolé et adapté avec succès des souches bactériennes à la dégradation de l'atrazine et de la simazine. Ces bactéries ont alors pu être inoculées au sein d'un massif de CAG afin d'obtenir une élimination importante des deux pesticides et de pouvoir ainsi étendre la durée de vie du lit [65].

Aujourd'hui, l'adsorption sur charbon actif en grain demeure la seule voie d'élimination efficace des pesticides à grande échelle. Ce procédé a le double avantage de ne pas former de sous-produit de désinfection potentiellement toxique, sujet à réglementation et de ne pas générer de rejets secondaires, tels que les boues dues à l'utilisation du charbon actif en poudre ou les rétentats issus des procédés membranaires.

I.14.La biodégradation des polluants organiques (po)

I.14.1.Introduction

La biodégradation est parmi les premiers moyens importants conduisant à une élimination totale ou partielle des polluants organiques de l'environnement [66].Les recherches antérieures, expliquant ce phénomène par l'oxydation des composés organiques sous l'action de microorganismes, indiquant que ce mécanisme dépend en premier lieu des processus du transfert des polluants organiques à la surface cellulaire et du passage via l'enveloppe cellulaire jusqu'au cytoplasme[67].

I.14.2.Biodégradation organique

La biodégradation des polluants est le processus naturel de décomposition des contaminants par l'action des micro-organismes et des végétaux.

Les activités humaines rejettent parfois des contaminants dans l'environnement. Puisqu'il est souvent impossible de simplement retirer l'eau ou les sols contaminés pour dépolluer un milieu, des solutions biotechnologiques ont été développées afin de permettre la décontamination. Certains polluants peuvent être dégradés, transformés ou accumulés par des micro-organismes ainsi que par certains végétaux. Cette capacité naturelle qu'ont certaines espèces de se nourrir des contaminants en les dégradant permet de remédier à de nombreux problèmes environnementaux [68].

Partie Expérimentale

II-Partie expérimentale

II.1.Introduction

Notre travail est basé sur l'élimination des pesticide en utilisent deux souches bactérienne dans le but de capacité de la biodégradation par micro-organisme.

II.2.Matériel et méthodes

II.2.1.Micro-organismes utilisés

Dans notre travail nous avons utilisé deux souches connues pour dégradation des pesticides.

- **Souche teste la Marinobacterhydrocarbonoclastcus SdK644:**

*La **Marinobacterhydrocarbonoclastcus*** de a été isolée d'un milieu marin contaminé par les hydrocarbures au niveau du port de Khmisti ,c'est une bactérie gram-négative en forme de bâtonnet , qui n'est pas capable de sporuler , extrêmement halotolérante , elle peut pousser dans un environnement avec une concentration de Na cl de 0.08 à 3.5 M. Les bactéries se développent habituellement et vivent dans un environnement a une température de 10 à 45 C° et ph de 6 à 9.5.

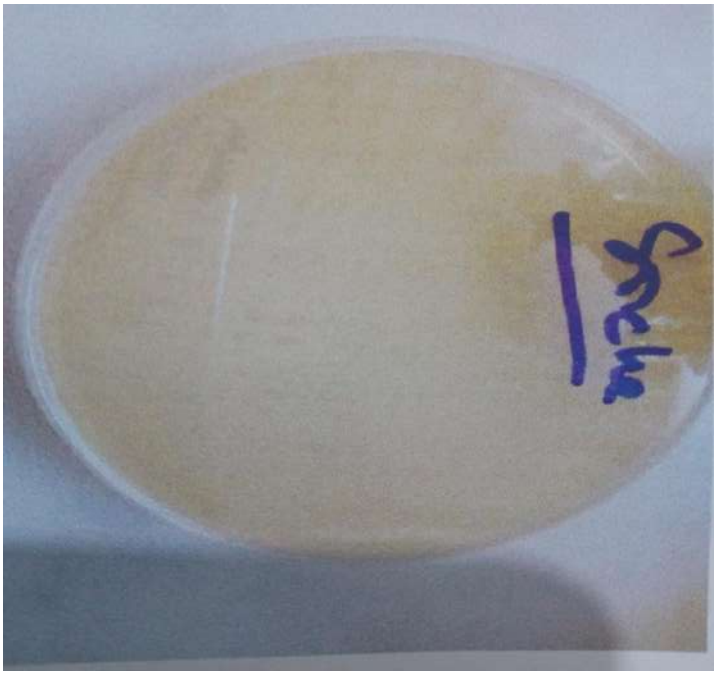


Figure II-1: **aspect dela*Marinobactercarbonohydroclasticus* SdK644**.

- **Klebtiellapneumonie ATCC25922 :**

Le genre ***Klebtiella***, de la famille des entérobactéries, comporte cinq espèces –type est ***Klebtiella***pneumonie qui est la plus fréquente des bactéries a gram –négatif. Cette bactéries est fréquemment isolée de l'environnement (eaux usées, sol, …etc.) .La culture sur une gélose nutritive donne des colonies d'aspect muqueux comme le montre la (Figure II-1).



Figure II-2: aspect de *Klebtiellapneumonie* ATCC25922.

- **Verrerie :**

Tableau II-1: tableau des verreries utilisées.

Verrerie	Volume
-Flacon stérilisés	100ml
- Erlenmayer	250ml
-éprouvette	100/10ml
- fiole	1000/100/50/25ml
- béchers	100ml
pipette graduée	10/20ml
- burette	50ml
- entonnoir.	/

❖**Réactifs chimiques utilisés :**

Tableau II-2: tableau des réactifs chimiques utilisés.

Réactifs	Formule chimique	Purté	Origine
Peptone	Mélange	98%	Riedel-de Haen
L'extrait de levure	/	98%	Riedel-de Haen
Chlorure de sodium	NaCl	99.9%	Riedel-de Haen
Chlorure de calcium	$ca\boldsymbol{cl_2}$	98%	Riedel-de Haen
Chlorure de magnesium	$Mg\boldsymbol{cl_2}$	98%	Riedel-de Haen
Chlorure d'Ammoniac	$N\boldsymbol{H_4}Cl$	98%	Riedel-de Haen
Hydrogéno- phosphate de di potassium	$\boldsymbol{K_2}P\boldsymbol{O_4}$	98%	Riedel-de Haen
Phosphate de potassium mono basique	$k\boldsymbol{H_2}P\boldsymbol{O_4}$	98%	Riedel-de Haen
Chlorure de fer	$FeCl_2$	98%	Riedel-de Haen
Chlorure de zinc	$Zn\boldsymbol{cl_2}$	98%	Riedel-de Haen
Chlorure de manganese	$Mn\boldsymbol{cl_2}$	98%	Riedel-de Haen
Acide Borique	$\boldsymbol{H_3}B\boldsymbol{O_3}$	98%	Riedel-de Haen
Molybdate de sodium	$NaMn\boldsymbol{O_4}$		Riedel-de Haen
Acide chlorhydrique	HCL	35.5%	Riedel-de Haen
Pesticide (Acetamipride)	C10H11CLN4	/	Riedel-de Haen
Hydroxyde de sodium	Na Oh	99%	Riedel-de Haen
Dichromate de potassium	$K_2Cr_2O_7$	99%	Riedel –de Haen
Sulfate de mercure	$HgSO_4$	97%	Riedel-de Haen
Acide sulfurique	H_2SO4	95%	Riedel –de Haen
Sulfate d'argent	Ag_2SO_4	99%	Riedel –de Haen
Sulfate de fer et d'ammonium	$(NH_4)_2Fe\ (so_4)_26H_2O$	98%	Riedel –de Haen

Sulfate de fer	Fe $SO_4 7H_2O$	98%	Riedel-de Haen
Phénanthorline1.10 monohydrate	$C_{12}H_8N_2H_2O$	99%	Riedel – de Haen

❖ **Appareillage:**

Tableau II-3: tableau des appareilles utilisées.

Appareille	Modèle	Pays
Spectrophotomètre VISIBLE Mini 1240	Shimadzu	Japon
Centrifugeuse	D-78532 Tuttlingen	HettichZentrifugen Allemagne
Incubateur	INCUB LG CAP SHAKER 230V EU	USA
Autoclave	OT 012	Turkey
Balance électronique	Itten NOARRV 70	OHAUS –CHANE
Ph –mètre(pH)	Inolal Ph level 1	WTW, GERMANY
Bain marie	Schutzart DIN EN 60529-IP20	Allemagne
Agitateur	IKA-Mini MR	IKA-WerkStraufen Allemagne

II.3.Caractérisation de l'échantillon

II.3.1.Acetamipride 20%

insecticide se forme de poudre.

La caractérisation physico-chimique de ce produit est présentée dans le(tableau 3).

Tableau II-4: caractérisation de pesticide utilisé.

Pesticide	Acetamipride
La famille chimique	Néonicotinoides
La formule chimique	C10H11CLN4
La masse molaire (g/mol)	222.67
Solubilité dans l'eau a 20C°	4.25g/l
Longueur d'onde (nm)	291.5

- **Etablissement de courbe d'étalonnage :**

Avant tracer la courbe d'étalonnage de l'Acetamipride par spectrophotomètre,

Le balayage est nécessaire pour déterminer la longueur d'onde maximale d'adsorption qui est 291.5nm pour le pesticide Acetamipride.

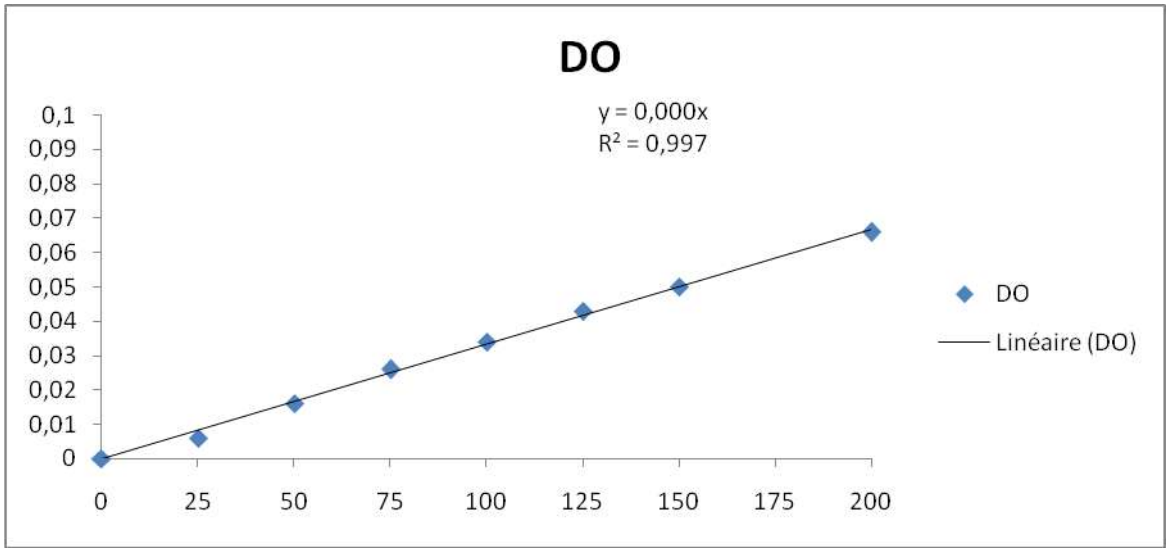


Figure II-3: courbe d'étalonnage de l'Acetamipride.

II.4.Préparation de l'inoculum

Dans un environnement stérile, et à partir d'une culture gélose nutritive on prélève une surface d'environ 10cm² de la meilleure souche productrice sélectionnée, au moyen d'un fil à boucle stérilisé et on l'introduit dans un flacon de 250ml contenant100ml de bouillon nutritif préalablement autoclave.

Ce dernier est appelé le milieu LB (Luria Bertani) ce milieu est composé de 23g de NaCl, 10g de peptone, 5g d'extrait de levure, on met sa dans un volume de 1 litre. Le PH de ce milieu est égal à 7, pour cela on utilise un Ph mètre et une solution basique (NaOH) 1M pour obtenir un milieu modéré avec un PH 7. Cette étape est suivie du processus de stérilisation, qui est réalisé en divisant ce milieu en petits flacons de 100ml et en plaçant dans l'autoclave comme suit :

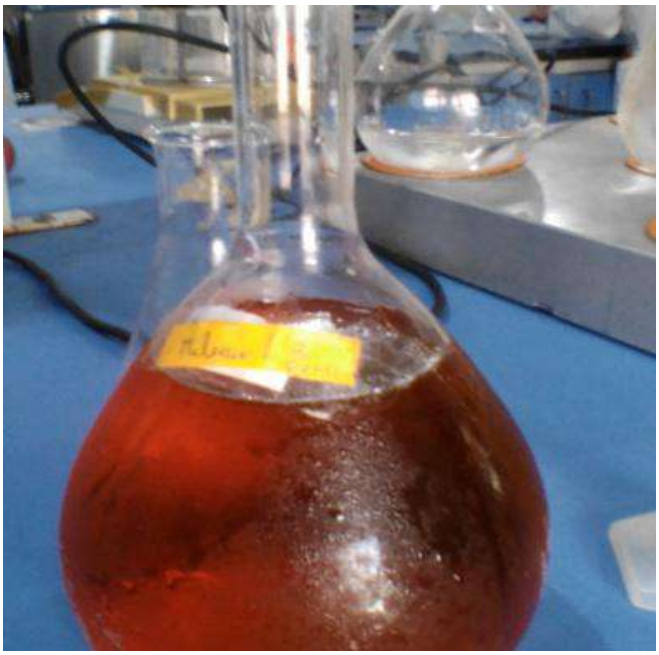


Figure II-4: milieu LB.

On fait la stérilisation dans un autoclave pendant 20 minute et à une température 120C°.



Figure II-5: autoclave.

II.5.La préparation du milieu minéral MM

ce milieu est préparé comme suit :

Tableau II-5: les compositions du milieu MM.

Les composants	Les quantités en gramme
Na Cl	23
K2HPO4	0.3
KH2PO4	0.3
CaCl2	0.05
HCl à 35%	6.7
NH4Cl	0.4
MgCl2	0.33

Après la pesé des quantités et sous l'agitation les composés sont introduits dans 1000ml d'eau distillée.



Figure II-6: milieu minéral MM.

Puis on ajoute dans ce milieu 1 ml de solution des oligo-éléments préparé comme suit (

Tableau II-6).Le PH du milieu MM est égal à 7 avec un solution de Na OH (1M).Afin d'éviter la précipitation des sels prés autoclavage.

Tableau II-6: composition d'oligo-élément.

Composants	Quantité en mg
$ZnCl_2$	70
H_3BO_3	6
$FeCl_2$	1500
$NaMoO_4.2H_2O$	36
$MnCl_2.6H_2O$	100
$CoCl_2$	190



Figure II-7: solution oligo-élément.

II.6.Préparation des Milieux de culture et test de biodégradation

On prend huit flacons d'un volume de 200 ml et mettons dans chacun d'eux 100 ml d'une solution de milieu MM, puis on ajoute une quantité de (20-200 mg/l) de pesticide à PH

(7 et 4.Ce milieu est stérilisé dans l'autoclave a une température de 120C° pendent 20minute :

Après la stérilisation on prend les flacons est on met des concentrations de (1-4)% de la souche bactérienne ***Marinobacterhydrocarbonoclastcus Sdk 644*** , chaque flacon a ses propre conditions comme la température entre (20 et 30 C°) et le temps entre (3 et 10 jours) et l'agitation .

- **Criblage des facteurs affectant la croissance :**

Pour évaluer l'effet de quelques paramètres physicochimiques (température, concentration du pesticides, pH, concentration de l'inoculum,) sur la dégradation de de l'acetamipride et la croissance des deux souches étudié, nous avons utilisés le plan d'expérience factoriel complet, ce dernier est un plan qui permet de repérer rapidement, dans un certain nombre (k) de facteurs, ceux qui sont effectivement influents sur la biodégradation de ce pesticide ou la croissance de la souche. Le nombre de facteurs doit être inférieur au nombre d'essais.



Figure II-8: Bain –marie.



Figure II-9: l'incubateur.

Nous répétons les mêmes étapes pour une deuxième souche ***Klebtiella pneumonie ATCC25922.***

II.7.La croissance bactérienne

La croissance bactérienne est en fait un accroissement ordonné de toutes les cellules de la bactérie. Elle est le résultat immédiat d'une assimilation de la source de carbone par les bactéries. Tout au long de la croissance, il se produit d'un part, un appauvrissement du milieu de culture en nutriments et, d'autrepart, un enrichissement en sous –produit issus du métabolisme. La mesure de la croissance bactérienne peut se faire par plusieurs méthodes directes ou indirectes .La technique la moins couteuse et la plus rapide souvent employée le suivi de l'opacité à la longueur d'onde λ=600 nm(ou densité optique (DO)) de la culture à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

Après la mesure de la croissance bactérienne à λ=600 nm ; on va centrifuger les échantillons pendant 30min (la centrifugeuse utilisé dans la Figure II-10). Puis, on filtre ses échantillons par des filtres seringue de 0.45 µm. En fin on mesure l'absorption à la longueur d'onde λ=291.5nm par spectrophotomètre UV –visible poue évaluer la quantité du pesticide restante dans le milieu (Figure II-11).

La quantité du pesticide peut être évaluée aussi par mesure de la demande chimique en oxygène(DCO) et la demande biochimique en oxygène(DBO5).



Figure II-10: centrifugeuse utilisé.



Figure II-11: spectrophotomètre utilisé.

II.8.Demande chimique en oxygène(DCO)

II.8.1.Principe

Dans des conditions définies, certaines contenues dans l'eau sont oxydées par un excès de dichromate de potassium, en milieu acide et en présence de sulfate d'argent et de sulfate de mercure. L'excès de dichromate de potassium est dosé par le sulfate de fer et d'ammonium**.**

II.8.2.Mode opératoire

Transvaser 10ml de l'échantillon pour analyse, diluer si nécessaire dans un tube à DCO mètre (toujours le volume total est 10ml) :

- Mettre 10ml d'eau distillé dans un tube à DCO mètre (c'est le blanc)(effectuer 2essais à blanc).
- Mettre 10ml d'hydrogenophtalate de potassium dans un tube à DCO mètre (c'est le témoin).
- Ajouter pour chaque tube 5 ml de dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) et quelques billes en verre (régulateur d'ébullition) et agiter soigneusement.
- Ajouter lentement 15ml d'acide sulfurique –sulfate d'argent sous hotte.
- Mettre le DCO mettre en marche à une température 150C°pendant 120minutes.
- Une fois les 120min entame, éteindre le DCO mètre et laisser les tubes refroidir.
- Diluer le contenu de chaque tube dans une éprouvette de 100ml à environ 75 ml.
- Mettre 1à2 goutte de l'indicateur ferroine, et titrer avec la solution sulfate de fer et d'ammonium (sel de mohr).



Figure II-12: l'appareille de DCO.



Figure II-13: les réactifs de la DCO.

-Après on va calculer la DCO, par la formule suivante **:**

$$8000*c\ (v_1-v_2)/v_0 \qquad \text{II-1})$$

II.9.Demande biologique en oxygène (DBO_5)

II.9.1.Principe

La demande biologique en oxygène après 5 jours (DBO_5) d'un échantillon est définit comme étant la quantité d'oxygène consommé par les microorganismes aérobies dans des conditions bien définit telle que la température 20C°, l'obscurité, l'agitation après une durée de 5 jours.

On peut estimer la valeur de la DBO à partir de la valeur de la DCO. DBO5 estimer (mg/l)=80% X DCO.

D'après la valeur de la DBO estimée en mg/l on peut se refaire à un tableau de gamme , qui nous indique le volume à prendre de notre échantillon ainsi que la valeur du facteur.

Tableau II-7: tableau de gamme.

DBO estimée mg/l	Prise d'essai ml	Facteur
0-4	432	1
0-8	365	2
0-200	250	5
0-400	164	10
0-800	97	20
0-2000	43.5	50

II.9.2.Manipulation

- on prend 250 ml de solution de pesticide, on l'introduit dans la bouteille du DBO mètre.
- Introduire un barreau magnétique dedans.
- Placer la capsule qui va contenir 2postilles de NaOH pour capter le DCO.
- Fermer avec l'oxitope et régler à zéro.
- Mettre une étiquette sur chaque bouteille contenant.
- La date du prélèvement et d'analyse, ainsi que l'identification de l'échantillon.
- Mettre la DBO mètre en marche pendant 5 jours.

DBO_5 mg/l = lecture au bout de 5 jours X facteur.



Figure II-14:DBO méthode manométrique.

- **Criblage des facteurs affectant la croissance :**

Pour évaluer l'effet de quelques paramètres physicochimiques (temperature, concentration du pesticides, pH, concentration de l'inoculum,) sur la dégradation de de l'acetamipride et la croissance des deux souches étudié, nous avons utilisés le plan d'expérience factoriel complet, ce dernier est un plan qui permet de repérer rapidement, dans un certain nombre (k) de facteurs, ceux qui sont effectivement influents sur la biodégradation de ce pesticide ou la croissance de la souche. Le nombre de facteurs doit être inférieur au nombre d'essais.

Le plan utilise deux niveaux pour chaque facteur (Tableau II-8), le niveau le plus élevé noté par '+1' et le niveau bas noté par '-1', l'effet des variables sur la croissance sera par la suite calculé). Puisque nous avons au cours de ce test 4 facteurs, le plan d'expérience est une matrice de 16 expériences. Le tableau contient des données qui représentent l'ensemble des expériences qui ont été réalisées. Chaque ligne d'un plan d'expérimentation représente les conditions expérimentales d'une expérience.

Tableau II-8: Tableau Criblage des facteurs affectant la croissance.

N° essai	X1(temperature)	X2(pH)	X3(c1 :pesticide)	X4(c2 :inoculums)
1	-1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1	-1
3	-1	+1	-1	-1
4	+1	+1	-1	-1
5	-1	-1	+1	-1
6	+1	-1	+1	-1
7	-1	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1	-1
9	-1	-1	-1	+1
10	+1	-1	-1	+1
11	-1	+1	-1	+1
12	+1	+1	-1	+1
1	-1	-1	+1	+1
14	+1	-1	+1	+1
15	-1	+1	+1	+1
16	+1	+1	+1	+1

- **Différents niveaux de chaque facteur étudié** :

Tableau II-9 : tableau de déférents niveaux de chaque facteur.

niveau facteur	-1	+1
Température	20°c	30°c
pH	4	7
concentration du pesticide	20mg/l	200mg/l
Concentration de l'inoculum	1%	4%

Chapitre 3 : Discussion et résultats

III-Introduction

Dans ce chapitre on va présenter les résultats obtenus dans ce travail expérimental. Et on interpréter et discuter chaque résultats à fin de vélariser ce projet.

III.1.Logiciel JMP7

JMP est un programme informatique de statistiques mis au point par la division JMP de l'institut SAS. Créé dans les années 1980 en exploitant les avancées graphiques du macintosh, il a ensuite été amélioré et est maintenant disponible sur d'autres systèmes d'exploitation.

JMP est utilisé dans des applications telles que le contrôle de qualité, l'ingénierie, la conception d'expériences et la recherche scientifique.

Pour notre matrice d'expérience ,on a choisi deux réponses :la première réponse est la croissance bactérienne qui a été évalué par mesure de la densité optique à 600nm pour les deux souches étudiées, la deuxième réponse c'est le rendement d'élimination du pesticide étudié ,qui a été évalué par mesure de la DCO d'une solution de pesticide de concentration connue ,et la mesure après incubation et stérilisation sur filtre seringue ; le calcul du rendement est comme suit :

$$\mathbf{R\% = [(DCO_E - DCO_S)/DCO].100} \qquad \text{(III-1)}$$

Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau III-1: tableau des résultats expérimentaux de la souche bactérienne SDK.

	T C°	PH	C1 (pesticide)	C2 (l'inoculum)	DO	R%
1	-1	-1	-1	-1	0.029	62
2	1	-1	-1	-1	0.027	63
3	-1	1	-1	-1	0.02	60
4	1	1	-1	-1	0.042	73
5	-1	-1	1	-1	0.046	75
6	1	-1	1	-1	0.049	77
7	-1	1	1	-1	0.046	75
8	1	1	1	-1	0.049	79
9	-1	-1	-1	1	0.053	82.5

10	1	-1	-1	1	0.058	85
11	-1	1	-1	1	0.054	83
12	1	1	-1	1	0.059	85
13	-1	-1	1	1	0.07	90
14	1	-1	1	1	0.075	91
15	-1	1	1	1	0.079	92
16	1	1	1	1	0.087	92

Une analyse statistique par plan factoriel complet a été réalisée à l'aide de logiciel "JMP7" sur l'ensemble du logiciel de base des données.

❖ **La 1ére souche bactérienne Marinobacterhydrocarbonoclastcus SdK644**

La méthode de plan factoriel complet a permis de trouver la relation mathématique (**(III-2**) entre la croissance bactérienne, le rendement avec les variables indépendantes qui correspondants aux paramètres biologiques. Premièrement, l'équation a pris en compte les 4 variables (Tableau III-2) même celles qui ne semblaient pas avoir un impact significatif sur la variable dépendante. La relation obtenue a été évalué afin de ne conserver que la variable indépendante caractérisée par une valeur de probabilité élevée.

Tableau III-2: tableau de croissance.

VARIABLE	COEFFECIENT	STATISTIQUE	PROBABILITE
intercept	0.0526	0.0014	< 0.0001
T C°	0.0030	0.0014	0.081
PH	0.0018	0.0014	0.253
C1 (pesticide)	0.0099	0.0014	0.0009
C2 (inoculum)	0.014	0.0014	0.0002
TC°*PH	0.0016	0.0014	0.283
TC°*C1	-0.0006	0.0014	0.645
PH*C1	0.0008	0.0014	0.588

TC°*C2	-0.0001	0.0014	0.899
PH*C2	0.0010	0.0014	0.483
C1*C2	0.0009	0.0014	0.534

Tableau III-3: tableau de rendement.

VARIABLE	COEFFECIENT	STATISTIQUE	PROBABILITE
Intercept	79.031	0.645	< 0.0001
T C°	1.593	0.645	0.056
PH	0.843	0.645	0.240
C1 (pesticide)	4.843	0.645	0.0007
C2 (inoculum)	8.531	0.645	0.0001
TC°*PH	0.781	0.645	0.280
TC°*C1	-0.718	0.645	0.316
PH*C1	-0.218	0.645	0.748
TC°*C2	-0.906	0.645	0.219
PH*C2	-0.406	0.645	0.556
C1*C2	-1.156	0.645	0.133

$$Y = \beta_0 + \beta_1 T° + \beta_2 PH + \beta_3 C_1 + \beta_4 C_2 + \beta_5 T° * PH + \beta_6 T° * C_1 + \beta_7 PH * C_1 + \beta_8 T° * C_2 + \beta_9 PH * C_2 + \beta_{10} C_1 * C_2 \quad \text{(III-2)}$$

Ensuit, seules deux variables indépendants qui on un pouvoir explicatif élevé pour la variable dépendante ont été retenues (Pr<0.05) ; ainsi la relation peut être réduite à (Eq III.3 et Eq III.4).

Nous avons éliminé les paramètres non significatif dans les deux équations (III.3 –III.4) pour obtenue la relation suivent :

$$\boldsymbol{y = \beta_0 + \beta_3 c_1 + \beta_4 c_2} \quad \textbf{(III-3)}$$

$$\boldsymbol{y = \beta_0 + \beta_3 c_1 + \beta_4 c_2} \quad \textbf{(III-4)}$$

Et la seule déférence entre les deux réponses est dans le β_0 , car le β_0 dans (Eq III.3 et égale 0.0526) et dans (Eq III.4 et égale 79.031).

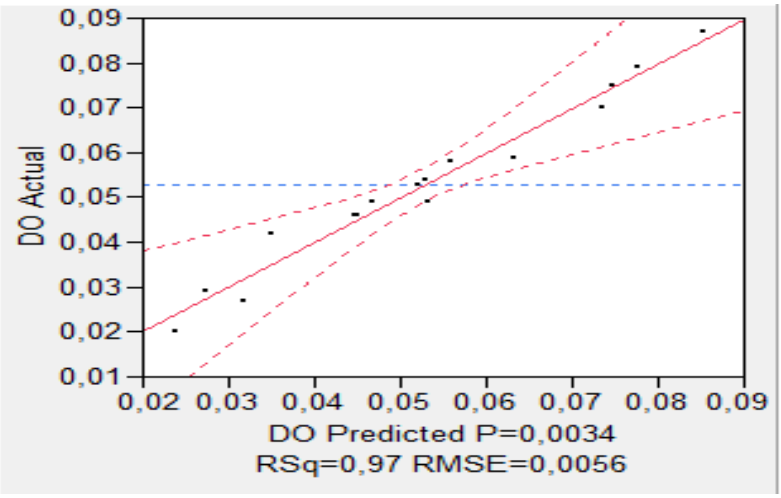


Figure III-1:l'écart entre la DO mesurée et la DO calculée.

L e R^2 représente la Somme des carrés des réponses calculées corrigées de la moyenne sur Somme des carrés des réponses mesurées corrigées de la moyenne.

D'après la figure (III.1) le modèle a donné un R2 = 0,97 proche de 1 et l'indicateur statistique (RMSE=0.0056) très faible, ce qui veut dire notre modèle est très efficace.

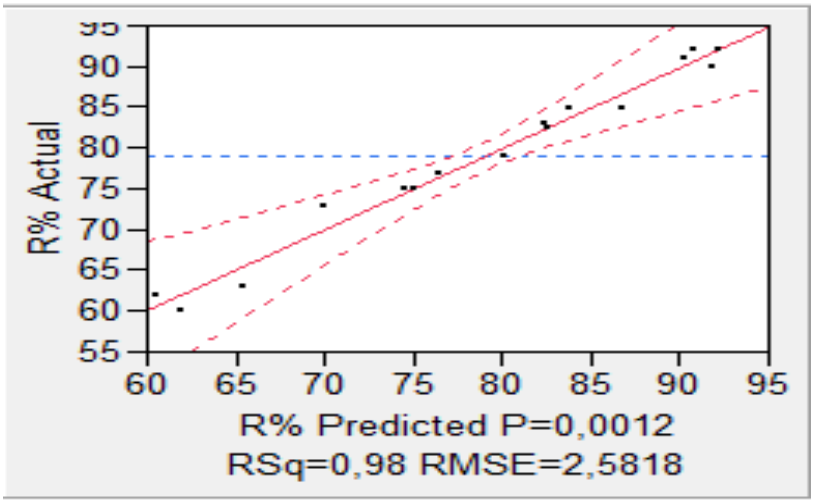


Figure III-2: l'écart entre le rendement mesuré et le rendement calculé.

D'après la figure (III.2) le modèle a donné un R2 = 0.98 proche de 1 et l'indicateur statistique (RMSE=2.5818) faible, ce qui veut dire notre modèle est efficace.

Lorsque l'effet du paramètre testé est positif, l'influence des variables est plus grande avec les niveaux élevés testés et si elle est négative, l'influence des variables était plus grande avec les niveaux bas. La croissance de la souche et donc la dégradation dans les différents ensembles variait de 0,02 à 0,087, rappelant l'importance de la sélection et de l'identification des facteurs importants, le graphique de Pareto a été tracé pour montrer l'effet de toutes les variables sur la dégradation de l'Acetamipride par la première souche (*SDK644*).

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob>|t|
C2 inoculum	0,0141875	0,001405	10,10	0,0002*
C1 Pesticide	0,0099375	0,001405	7,08	0,0009*
TC°	0,0030625	0,001405	2,18	0,0811
PH	0,0018125	0,001405	1,29	0,2533
TC°*PH	0,0016875	0,001405	1,20	0,2834
PH* C2 inoculum	0,0010625	0,001405	0,76	0,4835
C1 Pesticide* C2 inoculum	0,0009375	0,001405	0,67	0,5340
PH*C1 Pesticide	0,0008125	0,001405	0,58	0,5880
TC°*C1 Pesticide	-0,000687	0,001405	-0,49	0,6452
TC°* C2 inoculum	-0,000188	0,001405	-0,13	0,8990

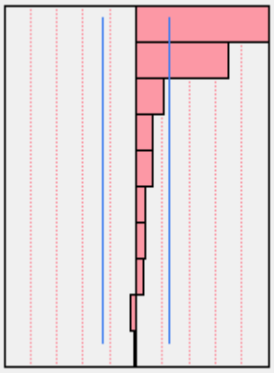


Figure III-3: Diagramme de Pareto rationalisant l'effet de chaque variable sur la croissance.

Comme il est clairement montré (figure III.3), la concentration de l'inoculum, la concentration du pesticide avaient l'influence majeure sur la croissance de la souche, suivis par la température et le pH.

La concentration de l'inoculum est le principal facteur affectant la croissance de la souche bactérienne (SDK 644) avec un coefficient de 0,0141875 nécessitent une concentration élevé en population bactérienne. La concentration du pesticide et le facteur qui affectent la croissance de la souche SDK et donc la biodégradation de l'Acetamipride avec un coefficient de 0,0099375. Ces résultats ont montré que les fortes concentrations en pesticide affectent la croissance et la dégradation de l'herbicide étudié. Et que le ph et la température n'ont pas d'effet important sur la croissance/dégradation.

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob>|t|
C2 inoculum	8,53125	0,645447	13,22	<,0001*
C1 Pesticide	4,84375	0,645447	7,50	0,0007*
TC°	1,59375	0,645447	2,47	0,0566
C1 Pesticide* C2 inoculum	-1,15625	0,645447	-1,79	0,1332
TC°* C2 inoculum	-0,90625	0,645447	-1,40	0,2193
PH	0,84375	0,645447	1,31	0,2480
TC°*PH	0,78125	0,645447	1,21	0,2802
TC°*C1 Pesticide	-0,71875	0,645447	-1,11	0,3161
PH* C2 inoculum	-0,40625	0,645447	-0,63	0,5567
PH*C1 Pesticide	-0,21875	0,645447	-0,34	0,7484

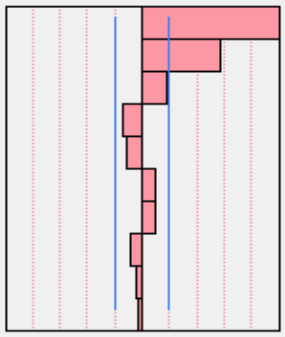


Figure III-4: Diagramme de Pareto rationalisant l'effet de chaque variable sur le rendement.

La (Figure III-4) montré que, la concentration de l'inoculum et la concentration du pesticide avaient l'influence majeure sur la croissance de la souche, suivis par la température.

La concentration de l'inoculum est le principal facteur affectant la croissance de la souche SDK avec un coefficient de 8.53125 nécessitent une concentration très élevé en population bactérienne. La concentration du pesticide et le facteur qui affectent la croissance de la souche SDK et donc la biodégradation de l'Acetamipride avec un coefficient de 4.84375. Ces résultats ont montré que les fortes concentrations en pesticide affectent la croissance et la dégradation de l'herbicide étudié. Et que le Ph et la température n'ont pas d'effet important sur la croissance/dégradation.

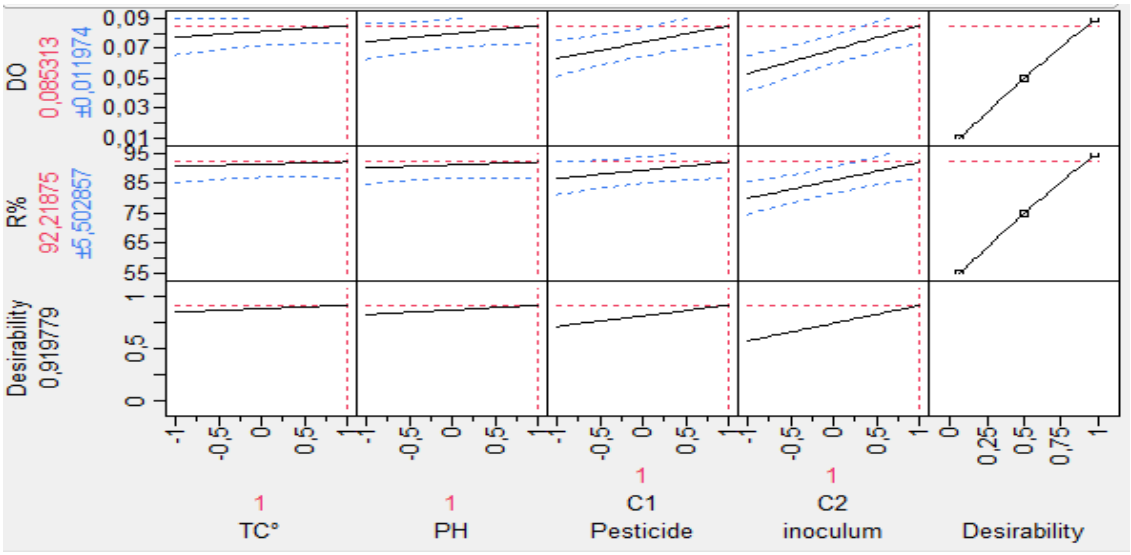


Figure III-5: le diagramme de l'effet des déférents paramètres sur la DO et le rendement.

III.2.L'interprétation des résultats de diagramme

Nous avons obtenues les résultats de diagramme qui étudie l'effet des paramètres (ph, concentration de pesticide, concentration de l'inoculum et la température) sur la croissance bactérienne(DO) et le rendement (R%).Et on commence par suit :

III.2.1.L'effet des paramètres (ph, c1, c2, T) sur la croissance bactérienne(DO)

***L'effet de ph**

A partir de diagramme (figure III.5) on observe que il ya un effet positif de ph sur la croissance bactérienne .Car dans l'intervalle de ph [4 à 7] il ya une augmentation de DO, de sorte qu'à pH 4 sa valeur est de0.074563 et dans le ph 7 sa valeur est de 0.085313.

***L'effet de température**

Dans l'intervalle de la température [20 à 30C°], on remarque que la DO est augmenté parce que à 20C° la croissance bactérienne est de valeur 0.077563 et à 30C° est de valeur 0.085313.

***L'effet de concentration de pesticide**

Dans la concentration 20 mg/l de pesticide la croissance bactérienne est de valeur 0.063313 et dans la concentration 200 mg/l est de

0.085313, donc chaque augmentation de concentration de pesticide la DO est augmente.

***L'effet de concentration de l'inoculum**

Il ya aussi un effet positif de la concentration de l'inoculum sur la DO, car chaque augmentation de la concentration de l'inoculum la DO est augmente. Donc

À [1 %] de concentration de l'inoculum la DO est 0.053313.

À [4 %] de concentration de l'inoculum la DO est 0.085313.

III.2.2.L'effet des paramètres (ph, c1, c2, T) sur le rendement (R%)

On observe que toute les paramètres (ph, température, concentration de pesticide et concentration de l'inoculum) à un effet positif sur le rendement, car chaque augmentation de concentration d l'inoculum le rendement est augmente Ceci est montré par les résultats suivants :

- à Ph [4-7] le rendement est de valeur [90.21875-92.21875%].
- à température [20-30C°] le rendement est de valeur [90.71875-92.21875%.]
- à concentration de pesticide [20-200mg/l] le rendement est de valeur [86.71875-92.21875%].
- à concentration de l'inoculum [1-4%] le rendement est de valeur [80.09375-92.21875%].

❖ **La deuxième souche bactérienne Klebtiella pneumonie ATCC25922**

Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau III-4: tableau des résultats expérimentaux de la souche bactérienne kp.

	T C°	PH	C1 (pesticide)	C2 (l'inoculum)	DO	R%
1	-1	-1	-1	-1	0.125	64.5
2	1	-1	-1	-1	0.127	65.5
3	-1	1	-1	-1	0.129	66
4	1	1	-1	-1	0.132	66
5	-1	-1	1	-1	0.11	53
6	1	-1	1	-1	0.113	54
7	-1	1	1	-1	0.235	89
8	1	1	1	-1	0.253	93
9	-1	-1	-1	1	0.121	63
10	1	-1	-1	1	0.115	53.5
11	-1	1	-1	1	0.145	67
12	1	1	-1	1	0.255	93
13	-1	-1	1	1	0.119	55
14	1	-1	1	1	0.126	65
15	-1	1	1	1	0.246	91
16	1	1	1	1	0.3	95

Une analyse statistique par plan factoriel complet a été réalisée à l'aide de logiciel "JMP7" sur l'ensemble du logiciel de base des données.

La méthode de plan factoriel complet a permis de trouver la relation mathématique (Eq III.5) entre la croissance bactérienne, le rendement avec les variables indépendantes qui correspondants aux paramètres biologiques. Premièrement, l'équation a pris en compte les 4 variables (tableau III.5 - III.6) même celles qui ne semblaient pas avoir un impact significatif sur la variable dépendante. La relation obtenue a été évalué afin de ne conserver que la variable indépendante caractérisée par une valeur de probabilité élevée.

Tableau III-5: tableau de croissance.

VARIABLE	COEFFECIENT	STATISTIQUE	PROBABILITE
intercept	0.165	0.0061	< 0.0001
T C°	0.011	0.0061	0.1120
PH	0.046	0.0061	0.0007
C1 (pesticide)	0.022	0.0061	0.0162
C2 (inoculum)	0.012	0.0061	0.0960
TC°*PH	0.011	0.0061	0.1309
TC°*C1	-0.001	0.0061	0.7963
PH*C1	0.024	0.0061	0.0104
TC°*C2	0.008	0.0061	0.2199
PH*C2	0.011	0.0061	0.1120
C1*C2	-0.002	0.0061	0.6826

Tableau III-6: tableau de rendement.

VARIABLE	COEFFECIENT	STATISTIQUE	PROBABILITE
intercept	70.843	2.309	< 0.0001
T C°	2.281	2.309	0.368
PH	11.656	2.309	0.003
C1 (pesticide)	43.531	2.309	0.186

C2 (inoculum)	1.968	02.309	0.432
TC°*PH	1.968	2.309	0.432
TC°*C1	0.093	2.309	0.969
PH*C1	5.968	2.309	0.049
TC°*C2	1.531	2.309	0.536
PH*C2	2.031	2.309	0.419
C1*C2	0.156	2.309	0.948

$$Y = \beta_0 + \beta_1 T° + \beta_2 PH + \beta_3 C_1 + \beta_4 C_2 + \beta_5 T° * PH + \beta_6 T° * C_1 + \beta_7 PH * C_1 + \beta_8 T° * C_2 + \beta_9 PH * C_2 + \beta_{10} C_1 * C_2$$

(III-5)

Ensuit, seules deux variables indépendants qui on un pouvoir explicatif élevé pour la variable dépendante ont été retenues (Pr<0.05) ; ainsi la relation peut être réduite à (III.6 et III.7).

Nous avons éliminé les paramètres non significatif dans les deux équations (III.6 –III.7) pour obtenue la relation suivent :

$$y = \beta_0 + \beta_2 ph + \beta_3 c_1 + \beta_7 ph * c_1 \quad \textbf{(III-6)}$$

$$Y = \beta_0 + \beta_2 ph + \beta_7 ph * c_1 \quad \textbf{(III-7)}$$

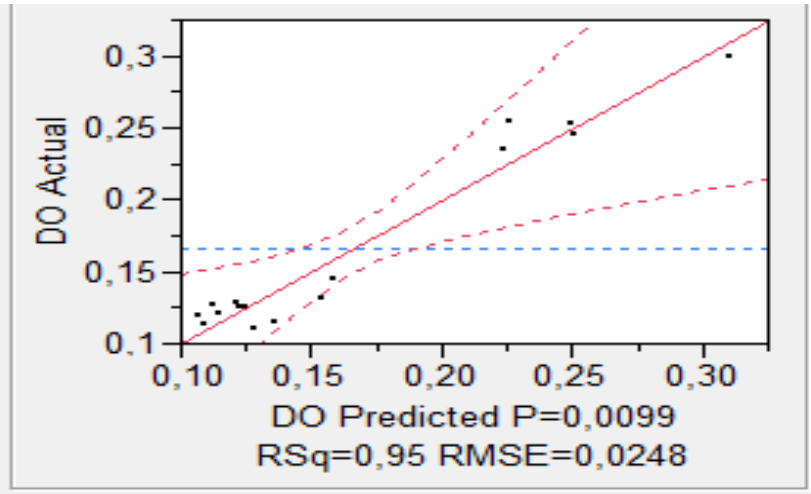


Figure III-6:l'écart entre la DO mesurée et la DO calculée.

D'après la (Figure III-6) le modèle a donné un R2 = 0.95 proche de 1 et l'indicateur statistique (RMSE=0.0248) très faible, ce qui veut dire notre modèle est très efficace.

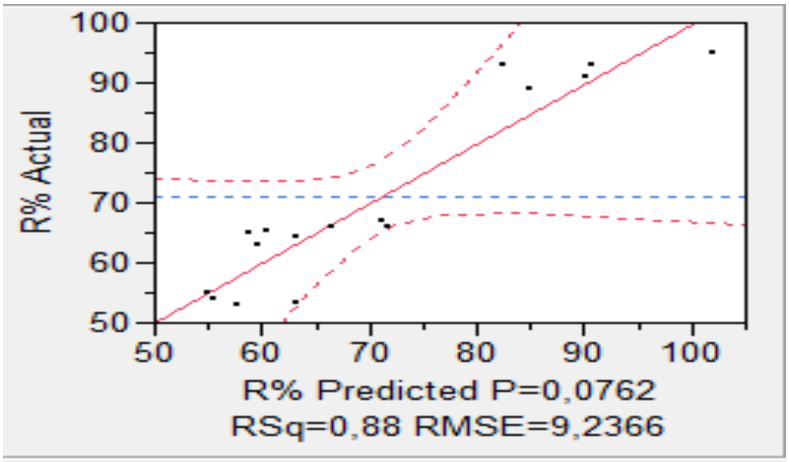


Figure III-7: l'écart entre le rendement mesuré et le rendement calculé.

D'après la () le modèle a donné un R2 = 0.88 proche de 1 et l'indicateur statistique (RMSE=9.2366) faible, ce qui veut dire notre modèle est efficace.

Lorsque l'effet du paramètre testé est positif, l'influence des variables est plus grande avec les niveaux élevés testés et si elle est négative, l'influence des variables était plus grande avec les niveaux bas. La croissance de la souche et donc la dégradation dans les différents ensembles variait de 0,115 à 0,3, rappelant l'importance de la sélection et de l'identification des facteurs importants, le graphique de Pareto a été tracé pour montrer l'effet de toutes les variables sur la dégradation de l'Acetamipride par la deuxième souche (*kp*).

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob>|t|
PH	0,0461875	0,006198	7,45	0,0007*
PH*C1	0,0245625	0,006198	3,96	0,0107*
C1	0,0220625	0,006198	3,56	0,0162*
C2	0,0126875	0,006198	2,05	0,0960
PH*C2	0,0119375	0,006198	1,93	0,1120
T C°	0,0119375	0,006198	1,93	0,1120
T C°*PH	0,0111875	0,006198	1,81	0,1309
T C°*C2	0,0086875	0,006198	1,40	0,2199
C1*C2	-0,002687	0,006198	-0,43	0,6826
T C°*C1	-0,001687	0,006198	-0,27	0,7963

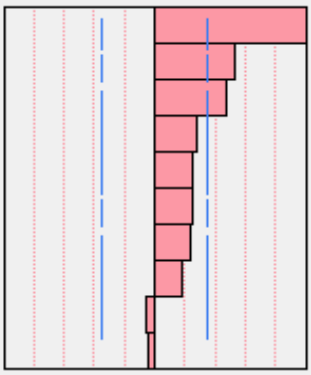


Figure III-8: Diagramme de Pareto rationalisant l'effet de chaque variable sur la croissance.

Comme il est clairement montré (Figure III-8), le ph, l'intersection de ph avec la concentration de pesticide et la concentration de pesticide avaient l'influence majeure sur la croissance de la souche, suivis par la température.

Le ph est le principal facteur affectant la croissance de la souche bactérienne (kp) avec un coefficient de 0,0461875 nécessitent une concentration élevé en population bactérienne. L'intersection de ph avec la concentration du pesticide et le facteur qui affectent la croissance

de la souche *kp* et donc la biodégradation de l'Acetamipride avec un coefficient de 0.0245625.suivi par la concentration de pesticide qui affectent la croissance bactérienne avec un coefficient de 0.0220625. Ces résultats ont montré que les fortes concentrations en pesticide affectent la croissance et la dégradation de l'herbicide étudié. Et que la température et la concentration de l'inoculum n'ont pas d'effet important sur la croissance/dégradation.

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob>|t|
PH	11,65625	2,309161	5,05	0,0039*
PH*C1	5,96875	2,309161	2,58	0,0491*
C1	3,53125	2,309161	1,53	0,1868
T C°	2,28125	2,309161	0,99	0,3686
PH*C2	2,03125	2,309161	0,88	0,4193
C2	1,96875	2,309161	0,85	0,4328
T C°*PH	1,96875	2,309161	0,85	0,4328
T C°*C2	1,53125	2,309161	0,66	0,5366
C1*C2	0,15625	2,309161	0,07	0,9487
T C°*C1	0,09375	2,309161	0,04	0,9692

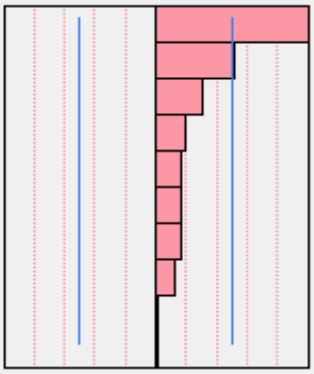


Figure III-9: Diagramme de Pareto rationalisant l'effet de chaque variable sur le rendement.

La (Figure III-9) montré que, le ph et l'intersection de ph avec la concentration du pesticide avaient l'influence majeure sur la croissance de la souche, suivis par la concentration de pesticide, la température et la concentration de l'inoculum.

Le ph est le principal facteur affectant la croissance de la souche kp avec un coefficient de11.65625. Nécessitent une concentration très élevé en population bactérienne. L'intersection de ph avec la concentration du pesticide et le facteur qui affectent la croissance de la souche kp et donc la biodégradation de l'Acetamipride avec un coefficient de 5.96875. Ces résultats ont montré que les forts ph et concentration en pesticide affectent la croissance et la dégradation de l'herbicide étudié. Et que la température et la concentration de l'inoculum n'ont pas d'effet important sur la croissance/dégradation.

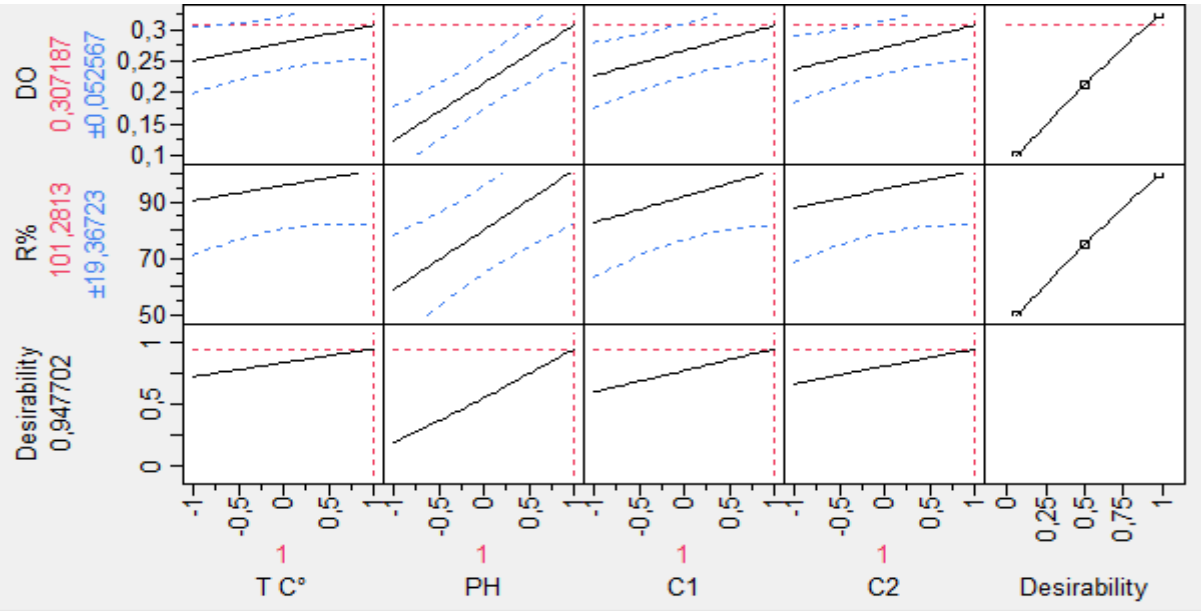


Figure III-10: le diagramme de l'effet des déférents paramètres sur la DO et le rendement.

III.3.L'interprétation des résultats de diagramme

Nous avons obtenues les résultats de diagramme qui étudie l'effet des paramètres (ph, concentration de pesticide, concentration de l'inoculum et la température) sur la croissance bactérienne(DO) et le rendement (R%).Et on commence par suit :

III.3.1.L'effet des paramètres (ph, c1, c2, T) sur la croissance bactérienne(DO)

***L'effet de ph**

A partir de diagramme (Figure III-10) on observe que il ya un effet positif de ph sur la croissance bactérienne .Car dans l'intervalle de ph [4 à 7] il ya une augmentation élève de DO, de sorte qu'à pH 4 sa valeur est de 0.119947 et dans le ph 7 sa valeur est de 0.235302.

***L'effet de température**

Dans l'intervalle de la température [20 à 30C°], on remarque que la DO est augmenté parce qu'à 20C° la croissance bactérienne est de valeur 0.15421 et à 30C° est de valeur 0.177625.

***L'effet de concentration de pesticide**

Dans la concentration 20 mg/l de pesticide la croissance bactérienne est de valeur 0.189271 et dans la concentration 200 mg/l est de 0.279264, donc chaque augmentation de concentration de pesticide la DO est augmente.

***L'effet de concentration de l'inoculum**

Il ya aussi un effet positif de la concentration de l'inoculum sur la DO, car chaque augmentation de la concentration de l'inoculum la DO est augmente. Donc

À [1 %] de concentration de l'inoculum la DO est 0.249313.

À [4 %] de concentration de l'inoculum la DO est 0.310563.

III.3.2.L'effet des paramètres (ph, c1, c2, T) sur le rendement (R%)

On observe que toute les paramètres (ph, température, concentration de pesticide et concentration de l'inoculum) à un effet positif sur le rendement, car chaque augmentation de concentration d l'inoculum le rendement est augmente Ceci est montré par les résultats suivants :

- à Ph [4-7] le rendement est de valeur [58.78125-101.2813%].
- à température [20-30C°] le rendement est de valeur [90.28125-101.28013%.]
- à concentration de pesticide [20-200mg/l] le rendement est de valeur [82.53125-101.2813%].
- à concentration de l'inoculum [1-4%] le rendement est de valeur [90.6525-101.2813%].

Parmis les deux souches bactériennes (*Marinobacterhydrocarbonoclastcus SdK644 ; Klebtiella pneumonie ATCC25922***)** sont utilisées pour la biodégradation de l'Acetamipride. Et d'âpres notre résultats obtenus on observe que :

- La concentration de l'inoculum de la souche SDK **est** plus influencer sur la DO que la concentration de l'inoculum de la souche kp (C_2 de SDK =0.01425, C_2 de *KP* =0.012687).
- Le ph utilisé dans la souche KP à un effet élevé sur DO par rapport le ph de la souche SDK. (Le ph de kp =0.0461875 et ph de SDK= 0.001875).
- Il ya un effet plus élevé de la concentration de pesticide de KP (c1= 0.0245625) que la concentration de pesticide utilisé dans la souche bactérienne SDK (c2=0.009875).

- L’effet de la température dans la souche bactérienne SDK est moins influencer sur la croissance bactérienne(DO) que la température de la deuxième souche KP .Car la (T° de SDK=0.003125 et T° de KP =0.0119375).

- La Concentration de l’inoculum de la souche SDK est plus influencer sur le rendement que la concentration de l’inoculum de la souche KP car (C2de SDK=8.53125 >C2 de KP=1.96875).

- Le ph de la souche bactérienne (KP) à un effet très élevé sur le rendement que Le ph de la souche (SDK). Parce que on a le ph de kp= 11.65625>>>le ph de SDK = 0.84375.

- L'effet de chacune de la température et de la concentration utilisées dans les deux souches bactériennes sur le rendement est approximativement le même, mais il y a une légère différence montrée dans ce qui suit :

  - Température de la souche SDK =1.59375< Température de la souche KP=2.28125.

  - Concentration de pesticide de la souche SDK=4.84375> concentration de pesticide de la souche KP =3.53125.

Conclusion générale

Conclusion générale

Le but de notre travail était la biodégradation ou l'élimination des pesticides qui ont un effet nocifs sur l'être humain et sur l'environnement, la sante. Dans cette étude, nous sommes basés sur le traitement biologique des eaux contaminées par des pesticides en utilisant deux souches bactériennes (Marinobacterhydrocarbonoclastcus SdK644, Klebtiella pneumonie ATCC25922).

A la lumière des résultats obtenus par l'étude de l'élimination de pesticide par la procédé biologique (la capacité Biodégradative par microorganisme) nous pouvons tirer les remarques suivantes :

-Il ya un effet positif de PH, T°, concentration de l'inoculum et de pesticide sur la DO et sur le rendement dans les deux souches (SDK, KP).

-Pour la souche bactérienne SdK644 on vue que le paramètre plus influencé sur la croissance bactrienne et le rendement c'est la concentration de l'inoculum C2=0.01425 et la concentration de pesticide C1=0.00993, suivie par un faible effet de température et de ph.

-pour la 2émé souche bactérienne KP, on observe que les paramètres plus influencer sur la croissance bactérienne et le rendement sont le ph et la concentration de pesticide C1 .

Enfin ; et d'âpres notre résultats on déduire que la souche bactérienne Klabtiella pnomeuné (kp) est souche plus efficace pour la biodégradation des pesticides que la souche de SDK.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

[1] : AIDA KESRAOUI-ABDESSALEM, Dégradation des pesticides chlortoluron, Carbofuran et bentazone en milieux aqueux par les procédés d'oxydation avancée . Thèse de doctorat, universités Paris-Est et Tunis El Manar .

[2] : Meyer A, Chrisman J, Moreira J.C, Koifman S. Cancer mortality among agricultural workers from Serrana Region, state of Rio de Janeiro, Brazil. Environ Res., 93 (2003) 264-271.

[3] : Viel J.F, Challier B, Pitard A, Pobel D. Brain cancer mortality among French farmers: the vineyard pesticide hypothesis. Arch. Environ. Health., 53 (1998) 65–70.

[4] :Forman S, Novák J, Tykva R, Kás J, Wimmer Z, Ruml T. Evaluation of toxicity of pesticides and their biodegradation products using human cells. Chemosphere, 46 (2002).209-217.

[5]: Guillard C, Fischer M, Herrmann J.M, Agüera A, Tejedor A, Piedra L, Fernandez-Alba A. Analyse des metabolites de degradation photocatalytique de divers pesticides dans les eaux de la région d'Almeria (Espagne). Actes du 30ème congrès du groupe français des pesticides. (2001), pp. 29-37.

[6] : Etudes du stress oxydatif secondaire à la contamination potentielle des eaux d'alimentation de la vie de Jijel par les pesticides. Thèse de magistère de l'université de Jijel, Algérie, P: 34.

[7] :AFIR.D& MEZAOU.A, "Application et dimensionnement d'un procédé de coagulation-floculation pour le traitement des eaux résiduaires de la papeterie de Baba Ali ", mémoire d'ingéniorat, école naturelle de polytechnique, 1984.

[8] : J. Rodier, B. Legube, N. Merlet, R. Brunet, L'analyse de l'eau - 9e éd.: Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer, Dunod, 2009. https://books.google.dz/books?id=qUEGsUBZkL0C.

[9] : D. GAUJOUS, R. CHRÉTIEN, J. CORDONNIER, N. LAURENT, E. PIROU, Teneur en plomb des eaux distribuées et essais de traitement filmogène, (n.d.).

[10] : C. Guillemin, J.-C. Roux, Pollution des eaux souterraines en France. Bilan des connaissances, impacts, et moyens de prévention, Manuels et Méthodes-Bureau de Recherches Géologiques et Minières. (1992).

[11] F. Andreux, La matière organique des sols. Interactions avec les polluants, Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France. 83 (1997) 111–122.

[12] : L. Sigg, F. Black, J. Buffle, J. Cao, R. Cleven, W. Davison, J. Galceran, P. Gunkel, E. Kalis, D. Kistler, Comparison of analytical techniques for dynamic trace metal speciation in natural freshwaters, Environmental Science & Technology. 40 (2006) 1934–1941.

[13] : P. Thonart, Les bioindustries fertilisent la valorisation, Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement. 5 (2001) 131–134.

[14] : J.Mayet,« La pratique de l'eau, Traitements aux points d'utilisation, le Moniteur»,2ème Edition, 1994, P382.

[15] : R. Silent Spring. 40th anniversary , Ed. New York: Houghton Mifflin; 2002.

[16] : Bintein S, Devillers J. Evaluating the environmental fate of atrazine in France, Chemosphere, 32:12 (1996) 2441-2456.

[17]: Glotfelty D.E, Majewski M.S, Seiber J.N. Distribution of several organophosphorus insecticides and their oxygen analogues in a foggy atmosphere, Environ. Sci. Technol., 24 :3 (1990) 353-357.

[18]: Schomburg C.J, Glotfelty D.E, Seiber J.N. Pesticide occurrence and distribution in fog collected near Monterey Californias 25:1 (1991) 155-160.

[19]: Balloy G, Bereult S, Israel R, Robin A, Saout C, Traclok., 2004. Les pesticides dans l'eau potable. France, P : 5-9-10:

[20]: Do mange N ,2005. Étude des transferts de produits phytosanitaires à l'échelle de la parcelled et du basin. Thèse de doctorat, université Louis pasteur strasbourg l,p: 285.

[21]: Bouvier 2005. Contribution à l'évaluation de l'exposition de la population francilienne aux pesticides. Thèse de doctorat, université Rene Descartes-Paris 5.p:23.

[22]: : Manfred et Nicole mole, 2005. Précis des risques alimentaires, édition tee and Doc, paris. p :36, 38 ,46 ,52.

[23] : Frank c.lu, 1991 .Toxicologie, données générales procédures d'évaluation organes cibles évaluation du risque .Masson, p:3-13-228-282

[24] : https:www.cchst.ca/oshanswers/chemicals/pesticides/health_effects.html.

[25] : Aubertot J, Barbier, Carpentier A, Gril J, Guichard, Lucas pH, Savary S, Volts M., 2007. Pesticides, agriculture et environnement .QUAE. p : 6, 17, 28, 29.

[26] : Tauw E et Iwe A., 1994. hch and halogenated pesticides-state of the art for risk assessment and technology development, P: 36.

[27]: Vigouroux villard A, 2006. Évaluation et gestion des risques sanitaires liés à l'environnement niveaux d'imprégnation de la population générale aux pesticides: sélection des substances à mesurer en priorité. Rapport du stage master profitionnelle.

[28] : AIDA KESRAOUI-ABDESSALEM, Dégradation des pesticides chlortoluron, Carbofuran et bentazone en milieux aqueux par les procédés d'oxydation avancée . Thèse de doctorat, universités Paris-Est et Tunis El Manar .

[29] : Toxicités des pesticides .Mémoire de fin d'étude de master de l'université de jijel.

[30] : HTTps: // www.cchts.ca/ oshanswers /chemicals / pesticides /Health –effact.Html.

[31]: Dexote J, 1992. Les urgences toxicologie, Edition maloine. P: 341-345-347. D'expertise scientifique collective, INRA et Cemagref (France).

[32]: El Bakouri H, 2006.developpements de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par utilisation des Substances Organiques Naturelles (S.O.N). Doctorat en science et technique.

[33]: Chorfi Z, 1982. Toxicologie des pesticides, mémoire présente en vue de l'obtention du diplôme d'études supérieure en biologie animale. Université de Constantine, institut de science biologique. p: 31-34.

[34]: Fayerd, 2007. Pesticides. Un article de wikipédia, l'encyclopédie libre.

[35] : Bouziani M, 2007. L'usage immodéré des pesticides: des graves conséquences sanitaires.

[36] : Goguet Jean- Paul., 2003-2005. Les pesticides dans l'air en basse Normandie.

[37] : Fenske R.A, Kedan G, Lu C, Fisker-Andersen J.A, Curl C.L. Assessment of organophosphorus pesticide exposures in the diets of preschool children in Washington State. J. Exposure Analysis Environ. Epidemiol., 12 (2002) 21-28.

[38] :Pierre Silvie ,Pierre Martin. https :// theconversation.com/les-plantes-pesticides-au-secours-des-cultures-86898.

[39] :Ghrebi fahima ;Dégradation des pesticides en milieux aqueuse par un bioprocédé. Mémoire de master de université de yahia fares ,Médea.

[40] : MANDRA V., ANSELME C. et DANIEL L. (1993), Place de la Nanofiltration dans une Chaîne de Traitement d'Eau, L'Eau, l'Industrie, les Nuisances, 161, 54-58

[41] : GAID A., BABLON G., TURNER G., FRANCHET J. and PROTAIS J.C. (1998), Performance of 3 Years' Operation of Nanofiltration Plants, Desalination, 117, 149-158.

[42]: HAIST-GULDE B., BALDAUF G. and BRAUCH H.J. (1993), Removal of Pesticides from Raw Waters, Water Supply, 11, 187-196

[43]: BERG P., HAGMEYER G. and GIMBEL R. (1997), Removal of Pesticides and Other Micropollutants by Nanofiltration, Desalination, 113, 205-208.

[44]: LoeherR.C.Pollutioncontrole for Agriculture, Academic press 1977,NEWYORK ,N Y,P382.

[45]: Bliefert C, perraid R.Chemie d'environnement, air ,l'eau ,sols déchets .2001.Edition De Boeck université , Paris , P .477.

[46] : FOSTER D.M., RACHWAL A.J. and WHITE S.L. (1991), New Treatment Processes for Pesticides and Chlorinated Organics Control in Drinking Water, J. IWEM, 5, 466-477.

[47]: MILTNER R.J., BAKER D., SPETH T.F. and FRONK C.A. (1989), Treatment of Seasonal Pesticides in Surface Waters, Journal of American Water Works Association, 81(1), 43-52.

[48]: MASSCHELEIN W.J. (1996), Processus Unitaires du Traitement de l'Eau Potable, collection Tec & Doc, Edition Cebedoc, Belgique

[49] : CARBONNIER F., PRADOS M. et SCANLAN F.P. (1992), L'Atrazine dans l'Eau : Introduction à l'Analyse de Traces et aux Traitements Industriels, l'Eau, l'Industrie, les Nuisances, 153, 50-53

[50] : HAIST-GULDE B., BALDAUF G. and BRAUCH H.J. (1993), Removal of Pesticides from Raw Waters, Water Supply, 11, 187-196.

[51]: AYELE J., LAVAVASSEUR P. et MAZET M., (1996), Adsorption de triazines sur Charbon Actif en Poudre, J. Water SRT - Aqua, 45(1), 28-34

[52] : CROLL B.T., CHADWICK B. and KNIGHT B. (1992), The Removal of Atrazine and Other Pesticides from Water using Granular Activated Carbon, Water Supply, 10, 111-120.

[53]: MONTIEL A. et WELTE B. (1999), L'affinage de l'Eau par Filtration sur Charbon Actif en Grain. Les Contraintes Imposées par cette Etape de Traitement., Techniques, Sciences et Méthodes, 9, 49-55.

[54] : PEROT J et DEGUIN A. (1992), Elimination de l'Atrazine par Oxydation radicalaire et/ou Adsorption, Water Supply, 10(2), 157-170.

[55] : PEROT J et DEGUIN A. (1992), Elimination de l'Atrazine par Oxydation radicalaire et/ou Adsorption, Water Supply, 10(2), 157-170.

[56] : BOUILLOT P., FAUQUEZ S., BENEZET M et TRANCART J.L. (1991), Bilan sur les Possibilités de Traitement de l'Atrazine dans une Filière de Production d'Eau Potable, Water Supply, 9, 10-14.

[57] : MARCOMINI A., PERIN G., STELLUTO S., DA PONTE M. and TRAVERSO P. (1991), Selected Herbicides in Treated and Untreated Surface Water, Environmental Technology, 12, 1127-1135.

[58]: RIBAS F., FRIAS J., HUGUET M. and LUCENA F. (1997), Efficiency of Various Water Treatment Processes in the Removal of Biodegradable and Refractory Organic Matter, Water Research, 31(3), 639-649.

[59]: WIN Y.Y., KUMKE M.U., SPETCH C.H., SCHINDELIN A.J., KOLLIOPOULOS G., OHLENBUSCH G., KLEISER G., HESSE S. and FRIMMEL F.H. (2000), Influence of Oxidation of Dissolved Organic Matter (DOM) on Subsequent Water Treatment Processes, Water Research, 34(7), 2098-2104.

[60]: DE LAAT J., DORE M. and MALLEVIALLE J. (1991), Influence d'une Préozonation sur l'Adsorbabilité et la Biodégradabilité des Substances Humiques d'Origine Aquatique et sur les Performances des Filtres de CAG, Water Research, 25(2), 151-164.

[61] : GLUCINA K. et LAINE J.M. (1997) Couplage de Procédés Membranaires pour le Traitement des Eaux de Surface, L'Eau, l'Industrie, les Nuisances, 199, 28-32.

[62] : DURAN MORENO A. (1997), Contribution à l'Etude de l'Adsorption et de la Biodégradation de Composés Organiques sur Charbon Actif : Cas du Phénol et de Dérivés Phénoliques, Thèse de Doctorat, Université de Rennes1.

[63] : EL-DIB M.A. and ABOU-WALY H.F. (1998), Biodegradation of Some Triazines and Phenylureas in Surface Waters, Water Research, 32(6), 1881-1887.

[64]: FEAKIN S.J., BLACKBURN E. and BURNS R.G. (1994), Biodegradation of s-Triazines Herbicides at Low Concentrations in Surface Water, Water Research, 28(11), 2289-2296.

[65]: FEAKIN S.J., BLACKBURN E. and BURNS R.G. (1995), Inoculation of Granular Activated Carbon in Fixed Beds with s-Triazines-degrading Bacteria as a Water Treatment, Water Research, 29(3), 819-825.

[66]: Chadli , A.Isolemet et caractérisation de bactéries biodégradants d'hydrocarbures à partir du lixiviat du centre d'enfouissement technique d'Ain Tmouchent .Thése de doctorat : Microbiologie appliquée .Université d'Oran .Faculté des sciences de nature et de la vie,Algérie ,2015.

[67] : Soltani, M .Distribution lipidique des voies métaboliques chez quatre bactéries Gram – négatifs hydrocarbonates. Variation en fonction de la source de carbon. Thèse de doctorat. Université de paris VI. France, 2004.

[68] : https : // www.allprof .qc-ca /Frc/ eleves / bv/sciences / la- biodégradation – polluants –1468.